

**COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN  
FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO  
VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL**

**SAUL ANDRES RIVERO MONTERROSA**

**UNIVERSITARIA DE CARTAGENA  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES  
ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA  
CARTAGENA DE INDIAS D. T. H. Y C.  
2018**

**COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN  
FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO  
VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL**

**SAUL ANDRES RIVERO MONTERROSA**  
Patología

**TUTORES**

**KATHERINE TATIANA REDONDO DE ORO**  
MD. Esp. Patología

**ENRIQUE CARLOS RAMOS CLASON**  
MD. M. Sc. Salud Pública

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES  
ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA  
CARTAGENA DE INDIAS D. T. H. Y C.  
2018**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

**Presidente del jurado**

---

**Jurado**

---

**Jurado**

**Cartagena, D. T y C., junio de 2018**

Cartagena, Junio de 2018

Doctora

**VIRNA CARABALLO**

Jefa Departamento de Postgrado y Educación Continua

Facultad de Medicina

Universidad de Cartagena

L. C.

Cordial saludo.

La presente tiene como fin el dar a conocer la nota cuantitativa y cualitativa del proyecto de investigación a cargo del residente de Patología **SAÚL ANDRÉS RIVERO MONTERROSA**, bajo mi asesoría; el trabajo se titula: “**COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL**”.

Nota cualitativa:

Nota cuantitativa:

**Atentamente,**

---

KATHERINE T. REDONDO DE ORO

Docente de Patología

Universidad de Cartagena

Cartagena, Junio de 2018

Doctor  
**ISMAEL YEPEZ BARRETO**  
Jefe Departamento de Investigaciones  
Facultad de Medicina  
Universidad de Cartagena  
L. C.

Cordial saludo.

Por medio de la presente, autorizo que nuestro trabajo de investigación titulado: **“COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL”**, realizado por **SAÚL ANDRES RIVERO MONTERROSA**, bajo la tutoría de **KATHERINE REDONDO DE ORO**, sea digitalizado y colocado en la web en formato PDF, para la consulta de toda la comunidad científica. Lo anterior es exigencia de la rectoría de la Universidad de Cartagena según circular 021 de la Vicerrectoría Académica de la Universidad de Cartagena del 28 de agosto del 2012.


**Atentamente,**

---

SAUL ANDRES RIVERO MONTERROSA  
Residente de Patología III año  
C.C. 73.190.926

---

KATHERINE T. REDONDO DE ORO  
Docente de Patología  
Universidad de Cartagena

|  |  |                          |
|--|--|--------------------------|
|  <p>1827<br/>¡Siempre a la altura<br/>de los tiempos!</p> | <b>UNIVERSIDAD DE CARTAGENA</b>                        | <b>CÓDIGO:</b> FO-GR-011 |
|  | <b>RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN</b> | <b>VERSIÓN:</b> 00       |
|  | <b>CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR</b>                     | <b>PAGINA:</b> 6         |

| FECHA |    |      |
|-------|----|------|
| DD    | MM | AAAA |
| 08    | 06 | 2018 |

| 1. Presentación del trabajo (trabajo de grado, investigación o tesis).  |                              |            |                      |                |                               |
|---|------------------------------|------------|----------------------|----------------|-------------------------------|
| Código  | Documento de Identidad       |            | Apellidos            | Nombres        | Correo electrónico            |
|   | Tipo                         | Número     |                      |                |                               |
| 8012200002  | CC                           | 73.190.926 | RIVERO<br>MONTERROSA | SAÚL<br>ANDRÉS | acidoriveronucleico@gmail.com |
| Programa  | ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA |            |                      |                |                               |
| Facultad  | MEDICINA                     |            |                      |                |                               |
| Título al que opta  | ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA    |            |                      |                |                               |
| Asesor  | KATHERINE REDONDO DE ORO     |            |                      |                |                               |
| Título de la obra: <b>COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL.</b>  |                              |            |                      |                |                               |
| Palabras claves (materias): Fotomicrografía, Patología digital, Estudio histológico   |                              |            |                      |                |                               |
| 2. Autorización de publicación de versión electrónica del trabajo (trabajo de grado, investigación o tesis).  |                              |            |                      |                |                               |
| <p>Con esta autorización hago entrega del trabajo de grado (investigación o tesis) y de sus anexos (si existen), de forma gratuita en forma digital o electrónica (CD-ROM, DVD) y doy plena autorización a la Universidad de Cartagena, de forma indefinida, para que en los términos establecidos en la ley 23 de 1982, la Ley 44 de 1993, leyes y jurisprudencia vigente al respecto, haga la publicación de éste, con fines educativos. Esta autorización, es válida sobre la obra en formato o soporte material, digital, electrónico o virtual, para usos en red, internet, intranet, biblioteca digital o cualquier formato conocido o por conocer.</p> <p>EL AUTOR, expresa que el trabajo de grado (investigación o tesis) objeto de la presente autorización, es original y la elaboró sin quebrantar ni suplantar los derechos de autor de terceros, de tal forma que el Trabajo es de su exclusiva autoría y tiene la titularidad sobre éste. En caso de queja o acción por parte de un tercero referente a los derechos de autor sobre el trabajo de grado en cuestión EL AUTOR, asumirá la responsabilidad total, y saldrá en defensa de los derechos aquí autorizados; para todos los efectos, la Universidad de Cartagena actúa como un tercero de buena fe.</p> <p>Toda persona que consulte ya sea la biblioteca o en medio electrónico podrá copiar apartes del texto <b>citando</b> siempre la fuentes, es decir el título del trabajo, autor y año.</p> <p>Esta autorización no implica renunciar a la facultad que tengo de publicar total o parcialmente la obra. La autorización debe estar respaldada por las firmas de todos los autores del trabajo de grado.</p> |                              |            |                      |                |                               |
| Sí autorizo   |                              |            |                      |                |                               |
| 3. Firma  |                              |            |                      |                |                               |
| Firma Autor 1   |                              |            | Firma Autor 2        |                |                               |
| _____   |                              |            | _____                |                |                               |
| Firma Autor 3   |                              |            | Firma Autor 4        |                |                               |
| _____   |                              |            | _____                |                |                               |

Cartagena, Junio de 2018

Doctor

**ISMAEL YEPEZ BARRETO**

Jefe Departamento de Investigaciones

Facultad de Medicina

Universidad de Cartagena

L. C.

Cordial saludo.

A través de la presente cedemos los derechos de propiedad intelectual del trabajo de investigación de nuestra autoría titulado: **“COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL”** a la Universidad de Cartagena para la consulta y préstamos a la biblioteca únicamente con fines académicos y/o investigativos descartándose cualquier fin comercial, permitiendo de esta manera su acceso al público.

Hacemos énfasis de que conservamos el derecho como autores de registrar nuestra investigación como obra inédita y la facultad de poder publicarlo en cualquier otro medio.

**Atentamente,**

---

SAUL ANDRES RIVERO MONTERROSA

Residente de Patología III año

C.C. 73.190.926

---

KATHERINE T. REDONDO DE ORO

Docente de Patología

Universidad de Cartagena

Cartagena, Junio de 2018

Doctor

**ISMAEL YEPEZ BARRETO**

Jefe Departamento de Investigaciones

Facultad de Medicina

Universidad de Cartagena

L. C.

Cordial saludo.

Con el fin de optar por el título de: **ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA**, he presentado a la Universidad de Cartagena el trabajo de grado titulado: **“COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL”**. Por medio de este escrito autorizo en forma gratuita y por tiempo indefinido a la Universidad de Cartagena para situar en la biblioteca un ejemplar del trabajo de grado, con el fin de que sea consultado por el público. Igualmente autorizo en forma gratuita y por tiempo indefinido a publicar en forma electrónica o divulgar por medio electrónico el texto del trabajo en formato PDF con el fin de que pueda ser consultado por el público.

Toda persona que consulte ya sea en la biblioteca o en medio electrónico podrá copiar apartes del texto citando siempre la fuente, es decir el título y el autor del trabajo. Esta autorización no implica renuncia a la facultad que tengo de publicar total o parcialmente la obra. La Universidad no será responsable de ninguna reclamación que pudiera surgir de terceros que reclamen autoría del trabajo que presento. Lo anterior es exigencia de la rectoría de la Universidad de Cartagena según circular 021 de la vicerrectoría académica de la Universidad de Cartagena del 28 de agosto del 2012:

**Atentamente,**

---

SAUL ANDRES RIVERO MONTERROSA

Residente de Patología III año

C.C. 73.190.926

---

KATHERINE T. REDONDO DE ORO

Docente de Patología

Universidad de Cartagena



Cartagena, Junio de 2018

Señores

**REVISTA CIENCIAS BIOMÉDICAS**

Jefe Departamento de Investigaciones

Facultad de Medicina

Universidad de Cartagena

L. C.

Estimados señores:

Es mi deseo que el informe final del trabajo de grado: **“COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL”**, que realizado en conjunto con mis asesores y del cual los abajo firmantes somos autores:

- SI, sea considerado, evaluado editorialmente y revisado por pares y publicado en la REVISTA CIENCIAS BIOMEDICAS, órgano de información científica de la Facultad de MEDICINA DE LA Universidad de Cartagena.
- NO, sea considerado, evaluado editorialmente y revisado por pares y publicado en la REVISTA CIENCIAS BIOMEDICAS, órgano de información científica de la Facultad de MEDICINA DE LA Universidad de Cartagena.

---

SAUL ANDRES RIVERO MONTERROSA  
Residente de Patología III año  
C.C. 73.190.926

---

KATHERINE T. REDONDO DE ORO  
Docente de Patología  
Universidad de Cartagena

---

ENRIQUE CARLOS RAMOS CLASON  
Docente departamento de investigaciones  
Universidad de Cartagena

## **AGRADECIMIENTOS**

A Anita y Celeste  
El polo magnético que guía mi brújula.

A Aydée  
Mi progenitora y proveedora de integridad.

A mi tía Zenia,  
César, Roberto, Alejandro, William, Reinhard, Javier y Jorge  
Sin ellos, este logro hubiera sido imposible.

A mis profesores y compañeros.

**CONFLICTO DE INTERESES:** Los autores declaran que no hubo situaciones particulares que causaran conflicto de intereses con el desarrollo de la presente investigación.

**FINANCIACIÓN:** El presente trabajo fue financiado por recursos propios de los autores.

# COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN FOTOMICROGRAFÍAS DE TEJIDO TIROIDEO NO NEOPLÁSICO EN FRESCO VERSUS EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL

## COMPARISON OF MORPHOLOGICAL FINDINGS IN PHOTOMICROGRAPHY OF NON-NEOPLASTIC THYROID TISSUE IN FRESH VERSUS CONVENTIONAL HISTOLOGICAL STUDY

Rivero Monterrosa Saúl Andrés (1)

Redondo de Oro Katherine Tatiana (2)

Ramos Clason Enrique Carlos (3)

(1) Médico. Residente III año Patología. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena.

(2) Médica. Especialista en Patología. Docente de Patología. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena.

(3) Médico. M. Sc. Salud Pública. Docente departamento de investigaciones. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena.

### RESUMEN

**Objetivo:** Proponer la caracterización de hallazgos histológicos en fotomicrografías de tejido tiroideo no neoplásico en fresco y compararlos con el estudio histológico convencional.

**Métodos:** Se seleccionaron cortes de 2 especímenes de tiroidectomía no neoplásicos en fresco, se obtuvieron 48 imágenes fotomicrográficas sin colorear. Se describieron los hallazgos morfológicos bajo luz blanca y usando 3 filtros fotográficos: Negativo, Cian y Magenta en objetivos 4x, 10x y 40x. Se compararon con el estudio histológico convencional y se midió concordancia entre dos observadores.

**Resultados:** Se observó una buena concordancia entre los diferentes filtros fotográficos y la hematoxilina y eosina en algunos hallazgos morfológicos: identificación de folículos, identificación de matriz extracelular y células inflamatorias, siendo mejor en 4x. La concordancia entre los dos observadores fue muy buena.

**Conclusión:** La fotomicrografía de tejido tiroideo no neoplásico en fresco es una alternativa potencialmente útil para evaluar variables morfológicas que ayuden a establecer un diagnóstico.

**Palabras clave:** Fotomicrografía, Patología digital, Estudio histológico (**fuentes DeCS-BIREME**)

## **SUMMARY**

**Objective:** To propose the characterization of histological findings in photomicrographs of fresh non-neoplastic thyroid tissue and compare them with the conventional histological study.

**Methods:** Sections of two non-neoplastic thyroidectomy fresh specimens selected, 48 uncolored photomicrographic images obtained. The morphological findings were described under white light and using three photographic filters: Negative, Cyan and Magenta in 4x, 10x and 40x lenses. Compared with the conventional histological study and the concordance between two observers measured.

**Results:** A good concordance between the different photographic filters and hematoxylin and eosin was observed in some morphological findings: identification of colloid follicles, identification of the extracellular matrix and inflammatory cells, being better in 4x. The reliability between the observers was very good.

**Conclusion:** Photomicrography of fresh non-neoplastic thyroid tissue is a potentially useful alternative to evaluate morphological variables that help establish a diagnosis.

**Key Words:** Photomicrography, Digital pathology, Histological study (**source MeSH, NLM**)

## INTRODUCCION

El diagnóstico histopatológico de las neoplasias se basa en el conocimiento de la histología de tejidos sanos no neoplásicos, las técnicas existentes se fundamentan en tinciones como la hematoxilina y eosina (H&E) en tejido fijado, permitiendo observar en el microscopio detalles celulares y tisulares. El estudio morfológico de los tejidos, o histopatología, se considera el estándar de oro en el diagnóstico de cáncer (1-3), aunque este proceso suele ser demorado, debido principalmente al proceso de fijación, el cual está facilitado por sustancias químicas como el formaldehído, que conservan la estructura del tejido y las células de forma permanente (4).

En patología tiroidea, la citología por aspiración o ACAF, intenta acortar los tiempos de diagnóstico. Es una técnica útil por su alto valor predictivo positivo en neoplasias benignas y malignas pero con muchas limitaciones en lesiones intermedias, con un alto porcentaje de resultados no concluyentes, falsos negativos y falsos positivos, que pueden llevar a la toma equivocada de decisiones terapéuticas (5, 6). Otra técnica que intenta mejorar el tiempo y el rendimiento diagnóstico es la microendoscopia, utilizada en piel, estómago, cámara anterior del ojo e intestino delgado (7). Esta técnica puede ser ejecutada en tiempo real y es usada *in situ* e *in vivo* en dichos órganos con resultados alentadores en Europa y Norteamérica (7-10), pero su alto coste ha limitado su uso y difusión en Latinoamérica, desconociéndose su utilidad en otros órganos como en la glándula tiroidea (8).

La histología convencional también es susceptible a errores técnicos dentro de su proceso, como la aparición de factores que pueden perturbar la interpretación del resultado final por el patólogo: los “artefactos” (1-3). Estos pueden surgir intrínsecamente en el tejido, en el procedimiento quirúrgico por el cual se tomó la muestra o en cualquier punto del procesamiento (2, 3). Así, la calidad de un

preparado histológico se evalúa teniendo en cuenta la ausencia o presencia de artefactos (11-14).

En los últimos años, se han incorporado tecnologías como la fotomicrografía o micrografía, que intentan darle valor agregado a las técnicas histopatológicas, esta consiste en la obtención de imágenes fotográficas de elementos microscópicos (15-18) que pueden ser digitalizadas y ser vistas por el patólogo en un computador o dispositivo móvil (15-19). Usando herramientas de edición de imagen, las fotomicrografías pueden ser editadas para ayudar en la interpretación de detalles morfológicos (20-23), estas herramientas incluyen filtros fotográficos que pueden modificar la saturación, la intensidad y el contraste de los colores originales (24, 25), su uso en histopatología no es nuevo, el filtro polarizador por ejemplo se usa para detectar depósitos de amiloide bajo tinción de Rojo Congo (26). En histología y en patología digital, con ellos se dan toques artísticos que facilitan la interpretación de las imágenes histológicas, destacando los colores originales de la imagen, así, para resaltar los tonos rosados de la eosina se usa el filtro “Magenta” y, para los tonos azules o basófilos, el filtro “Cian” (24, 25). No existen publicaciones acerca de su uso en tejidos sin coloración.

La microendoscopia o “biopsia óptica” (7, 27, 28) es una forma no invasiva de diagnóstico con un sistema a base de luz que realiza un análisis microscópico del tejido superficialmente o en profundidad. Según Ferrer-Roca, su filosofía se caracteriza por “no extraer tejido del organismo, por hacerse *in vivo* e *in situ* y por pretender hacer diagnóstico sin una biopsia intrusiva” (27). Al tejido que se quiere analizar se accede a través de la superficie o por vía endoscópica, las imágenes se adquieren en tiempo real y, según la técnica, van acompañadas de datos complementarios que permiten evaluar la lesión diana, no obstante, aún no se tiene un estándar de oro (28, 29).

Dado lo anterior se propone la factibilidad de desarrollar una tecnología fotomicrográfica que sirva como herramienta para llegar al diagnóstico de lesiones

neoplásicas *in vivo* e *in situ* en la glándula tiroides, un órgano sólido de fácil acceso para punciones. Sin embargo, al parecer no existen estudios publicados que caractericen los hallazgos histológicos en fresco de ningún órgano, que usen fotomicrografías y filtros fotográficos y mucho menos que los comparen con la histopatología convencional.

El objetivo es caracterizar los hallazgos morfológicos en fotomicrografías de tejido tiroideo no neoplásico en fresco y compararlos con el estudio histológico convencional con tinción de H&E.

## **MATERIALES Y METODOS**

Se realizó un estudio piloto de tipo observacional analítico y exploratorio, enmarcado en un macroproyecto de modificación tecnológica de procesos. Se tomó como población sujeto de estudio los cortes histológicos provenientes de especímenes de glándula tiroides obtenidos por tiroidectomía en la Clínica Medellín de Occidente (CMO), sin enfermedad neoplásica, sin contacto con una sustancia fijadora y sin estar en proceso de descomposición. Como control de calidad, para evitar el sesgo del observador y para tener variabilidad en la comparación, se decidió tomar los cortes de dos especímenes de tiroidectomía, pertenecientes a dos pacientes diferentes. A continuación se describe el proceso de selección y procesamiento de las muestras.

**Selección de especímenes:** Se revisó diariamente la programación quirúrgica del quirófano de la CMO para verificar las tiroidectomías subtotales o totales programadas. Se comprobó el arribo y las solicitudes de estudio anatomopatológico de dichos especímenes y los primeros dos que cumplieron con los criterios de selección expuestos, ingresaron al estudio identificándose como A y B.

**Procesamiento macroscópico:** Los 2 especímenes seleccionados entraron al procesamiento macroscópico rutinario sin ser fijados en formol u otro medio de fijación, fueron pesados y medidos. Siguiendo la guía de procesamiento macroscópico de tiroides recomendada por el CAP (2), se hizo la descripción de la superficie externa y se identificaron cuatro cuadrantes nombrados de I a IV siguiendo las manecillas del reloj. Se rotuló cada cuadrante anteponiendo la letra del espécimen (ej: AI, AII, AIII y AIV), de cada cuadrante se realizaron cortes seriados de 3 mm de espesor para exponer el parénquima glandular y analizar sus características macroscópicas.

**Corte:** Una vez realizados los cortes seriados, se seleccionaron aleatoriamente 6 lonjas por cada cuadrante del espécimen que fueron enumeradas del 1 al 6 anteponiendo el código de cada cuadrante (ej: AI1, AI2, AI3, AI4, AI5 y AI6). De cada lonja se tomó un corte cuadrado de 5 x 5 mm con hoja desechable de bisturí N°13 marca Paramount® (Paramount Surgimed Ltd, Delhi, India), posteriormente se adelgazó manualmente a un espesor de 1 mm con una hoja de cuchilla desechable de micrótopo de perfil alto marca Leica® (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Wetzlar, Alemania) con la ayuda de una regla micrométrica marca AmScope® (American Scope Inc., Irvine, Estados Unidos). Se observó la aparición de artefactos de burbujas en los preparados adquiridos, por lo que se decidió reiniciar y completar el proceso congelando el tejido en fresco en un criostato marca Leica® CM1950, se congeló el tejido en gel OCT marca Sakura Finetek® (Sakura Finetek Japan Co., Ltd, Tokio, Japón), lográndose cortes de 15 micras. Esto arrojó un total de 24 cortes por cada espécimen, para un total 48 cortes.

**Toma de la fotomicrografía:** Cada uno de los preparados fue puesto en el visor de un microscopio LED marca Leica® DM500 con cámara microscópica digital EC4 de 3.3 megapíxeles integrada (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemania). De cada corte se obtuvo una fotomicrografía bajo los objetivos integrados en el microscopio: 4x, 10x y 40x. Cada imagen fue convertida de forma predeterminada al formato de imagen digital de alta resolución .tif.



**Aplicación de los filtros fotográficos:** Cada fotomicrografía fue editada con el software de edición de imágenes de licencia libre Photos Google® (Alphabet Inc., Mountain View, Estados Unidos). Se les aplicó los filtros fotográficos así: Luz blanca en 4x, Luz blanca en 10x, Luz blanca en 40x; Negativo en 4x, Negativo en 10x, Negativo en 40x; Cian en 4x, Cian en 10x, Cian en 40x; Magenta en 4x, Magenta en 10x y Magenta en 40x (**Figura 1**). Se decidió complementar el contraste de colores que aportaron los filtros al hacer ajustes adicionales a los parámetros gráficos, por lo que se estandarizó y se aplicó así a todas las imágenes:

- *Luz blanca:* no se ajustaron los parámetros.
- *Negativo:* no se ajustaron los parámetros.
- *Cian:* el brillo se ajustó en +50%, el contraste en -50%.
- *Magenta:* el brillo se ajustó en +100%, el contraste en -100%.

Subsiguientemente, a cada uno de los 48 cortes se le hizo el procesamiento histológico convencional con la tinción de H&E y fueron fotografiadas en la misma cámara a 4x, 10x y 40x. Esto arrojó 15 imágenes por cada corte para un consolidado de 720 observaciones.

**Observación de imágenes histológicas:** Cada imagen digitalizada y editada fue observada por separado por dos patólogos (Observador 1 y Observador 2) en la pantalla de un computador usando el mismo software con el que fueron editadas. En la **Figura 2** se coteja la observación de diferentes hallazgos en un corte histológico según el filtro, en la **Figura 3** se observa una calcificación desde la perspectiva de la H&E a 4x, comparándola con otros filtros bajo otros objetivos. De manera simultánea, se consignaron en el formato de recolección de datos los hallazgos observados en cada imagen, marcando “sí” o “no” según correspondió y se fue evaluando la calidad en cada observación teniendo en cuenta los lineamientos del CAP y la NSH (2, 3).

**Análisis estadístico:** Inicialmente se realizó un análisis estadístico univariado donde se caracterizó la población del estudio. Se calculó concordancia de los

parámetros obtenidos al comparar cada uno de los filtros con el respectivo hallazgo por variable visto en H&E, con el estadístico Coeficiente de Concordancia kappa de Cohen (k), de igual forma para las proporciones pareadas para determinar la consistencia entre los dos observadores se aplicó el mismo estadístico. La valoración de k se realizó teniendo en cuenta los siguientes rangos <0,20 fuerza de concordancia pobre, ente 0,21 y 0,40 concordancia débil, entre 0,41 y 0,60 moderada, entre 0,61 y 0,80 buena y entre 0,81 y 1,0 muy buena o casi perfecta. Además se utilizó la prueba de correlación no paramétrica Coeficiente de Correlación rho de Spearman para investigar las relaciones entre los criterios de calidad identificados entre filtros y H&E. Un valor de  $p < 0,005$  fue considerado como estadísticamente significativo.

**Aspectos éticos:** De acuerdo a la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud, Título II, capítulo 1, artículo 11 y capítulo VI, artículo 47; y a la resolución número 003823 de octubre de 1997 del Ministerio de Salud de Colombia, esta investigación es considerada con riesgo mínimo del tipo investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos. La identidad de los sujetos de estudio permanece anónima pues la misma no es de utilidad para los propósitos del estudio.

## **RESULTADOS**

Los dos especímenes de tiroidectomía enrolados fueron de 2 mujeres con mediana de edad de 41 años. A ambas se les hizo el diagnóstico de bocio y se descartó compromiso por enfermedad neoplásica benigna o maligna. El espécimen A fue reportado como “Bocio coloide multinodular” y el espécimen B como “Bocio adenomatoide”.

## **HALLAZGOS POR HEMATOXILINA Y EOSINA**

La valoración histológica de las 144 observaciones de los 48 cortes por H&E mostró como principal hallazgo el reconocimiento de los folículos coloides y los

núcleos con 95,8% cada uno, seguidos de la identificación de coloide 86,8%, matriz extracelular en 84% y presencia de células inflamatorias en 70,8%. Los hallazgos de menor proporción fueron las calcificaciones y presencia de glándula paratiroides en 2,1% cada uno y los cambios oncocíticos en 8,3%. No se identificó tamaño igual de los folículos coloides ni presencia de neutrófilos. Este comportamiento fue similar con los objetivos 4x, 10x y 40x, **Tabla 1**.

#### **HALLAZGOS FOTOMICROGRÁFICOS CON OBJETIVO 4x**

Usando el objetivo 4x se observó una proporción de acuerdo de identificación de los folículos coloides en el 91,3% usando el filtro Cian, siendo en filtro Luz Blanca de 71,7%; la identificación de núcleos fue más frecuente con el filtro Cian en 78,3% y de 21,7% con el filtro Luz Blanca; la observación de coloide de 87,8% con filtro Cian y de 61% con Luz Blanca; la identificación de matriz extracelular en 77,5% con todos los filtros; la presencia de células inflamatorias en 60,6% con los filtros Cian y Magenta siendo la menor proporción de 42,4% con el filtro Luz Blanca, de estas células los histiocitos fueron más observados con los filtros Cian y Magenta en 83,3% cada uno; el reconocimiento de los vasos sanguíneos fue más frecuente con los filtros Negativo y Magenta con 81,8% cada uno. Por su parte los cambios en la matriz se observaron en 88,9% con todos los filtros. El porcentaje de acuerdo relacionado con la presencia de artefactos fue del 90% en todos los filtros con una mediana de calidad de 60 (RIC= 60 - 70) en el filtro Luz Blanca y de 70 (RIC 70 - 80) con los filtros Negativo, Cian y Magenta, **Tabla 2**.

#### **HALLAZGOS FOTOMICROGRÁFICOS CON OBJETIVO 10x**

Usando el objetivo 10x se observó una proporción de acuerdo de identificación de los folículos coloides en el 84,8% usando los filtro Negativo, Cian y Magenta siendo en Luz Blanca de 82,6%; la identificación de núcleos fue más frecuente con el filtro Cian en 89,1% y de 37% con el filtro Luz Blanca; la observación de coloide de 81% con filtro Magenta y de 61,9% con Luz Blanca; la identificación de matriz extracelular en 67,5% con todos los filtros excepto bajo Luz Blanca; la presencia

de células inflamatorias en 63,6% con los filtros Cian y Magenta siendo la menor proporción de 54,6% con el filtro Luz Blanca, de estas células los histiocitos fueron más observados con los filtros Cian y Magenta en 83,3% cada uno; el reconocimiento de los vasos sanguíneos fue más frecuente con los filtros Negativo y Magenta con 84,2% cada uno; por su parte los cambios en la matriz se observaron en 75% con todos los filtros. El porcentaje de acuerdo relacionado con la presencia de artefactos fue del 80% en todos los filtros con una mediana de calidad de 60 (RIC= 60 - 80) en el filtro Luz Blanca y de 80 (RIC 70 - 80) con los filtros Cian y Magenta, **Tabla 3**.

### **HALLAZGOS FOTOMICROGRÁFICOS CON OBJETIVO 40x**

Usando el objetivo 40x se observó una proporción de acuerdo de identificación de los folículos coloides en el 76,1% usando todos los filtros; la identificación de núcleos fue más frecuente con los filtros negativo y Cian en 89,1% cada uno y de 54,4% con el filtro luz blanca; la observación de coloide fue de 66,7% con los filtros Cian y Magenta cada uno y de 57,1% con luz blanca; la identificación de matriz extracelular fue de 53,6% con todos los filtros; la presencia de células inflamatorias en 80,6% con los todos los filtros excepto Luz blanca donde se encontró la menor proporción de 72,2%, de estas células los histiocitos fueron más observados con todos los filtros en 95,2% cada uno; el reconocimiento de los vasos sanguíneos fue más frecuente con los filtros Negativo, Cian y Magenta con 50,0% cada uno; por su parte los cambios en la matriz se observaron en 71,4% con todos los filtros. El porcentaje de acuerdo relacionado con la presencia de artefactos fue de 3% en todos los filtros con una mediana de calidad de 70 (RIC= 60 - 80) en el filtro luz blanca y de 80 (RIC 70 - 90) con los filtros Negativo, Cian y Magenta, **Tabla 4**.

### **CONCORDANCIA FOTOMICROGRAFIA Y H&E CON OBJETIVO 4x**

Al estimar la concordancia de los hallazgos fotomicrográficos con objetivo 4x con lo reportado con H&E se encontró una concordancia muy buena en la

identificación de cambios en la matriz con  $k=0,9091$  (IC 95%: 0,7863 – 1,0319),  $p<0,0001$  en todos los filtros, también fue muy buena para la identificación de histiocitos que obtuvo con filtro Cian y Magenta una  $k=0,8621$  (IC 95%: 0,7124 – 1,0117) y en los filtros Luz Blanca y Negativo con  $k=0,8140$  (IC 95%: 0,6424 – 0,9855),  $p<0,0001$  en ambos casos. En el reconocimiento de vasos sanguíneos la concordancia fue muy buena con los filtros Negativo y Magenta con  $k=0,8298$  (IC95%: 0,6724 – 0,9872), pero fue solo buena con los filtros Luz Blanca y Cian con  $k \leq 0,80$ , la identificación de papilas mostró una concordancia buena en todos los filtros con  $k=0,7857$  (IC 95%: 0,5537 – 1,0178). Fue observada una concordancia moderada en la identificación de coloide en filtro Cian con  $k=0,6774$  (IC 95%: 0,4241 – 0,9307) y en el filtro Magenta con  $k=0,5484$  (IC 95%: 0,2626 - 0,8342), también se encontraron concordancias casi perfectas en la identificación de calcificaciones y presencia de glándula paratiroides y moderadas en la identificación de matriz extracelular en todos los filtros con  $k=0,5345$  (IC 95%: 0,2919 – 0,7771). Las variables calcificaciones y glándula paratiroides, mostraron una concordancia casi perfecta, a expensas de la baja frecuencia de identificación de estas estructuras en H&E y fotomicrografía. **Tabla 5.**

### **CONCORDANCIA FOTOMICROGRAFIA Y H&E CON OBJETIVO 10x**

La concordancia de los hallazgos fotomicrográficos con objetivo 10x con lo reportado con tinción H&E, mostró una concordancia buena en la identificación de histiocitos con  $k$  entre 0,61 y 0,80 en todos los filtros. Este comportamiento también se observó en el reconocimientos de vasos sanguíneos y cambios en la matriz, en este último con  $k=0,7778$  (IC 95%: 0,5980 – 0,957) en todos los filtros,  $p<0,0001$ . En este objetivo también se observaron concordancias casi perfectas en la identificación de calcificaciones y de presencia de glándula paratiroides en todos los filtros, **Tabla 6.**

## **CONCORDANCIA FOTOMICROGRAFIA Y H&E CON OBJETIVO 40x**

En los hallazgos fotomicrográficos con objetivo 40x comparado con lo reportado histológicamente en H&E se encontraron buenas concordancias para identificación de histiocitos con  $k=0,7513$  (IC 95%: 0,5677 – 0,9349) y cambios en la matriz con  $k=0,6957$  (IC 95%: 0,4925 – 0,8988) en todos los filtros en ambos casos. Por su parte la identificación de formación de papilas mostró una concordancia moderada con  $k=0,4581$  (IC 95%: 0,1320 – 0,7842). En ningún filtro fotográfico ni objetivo se observó una concordancia significativa de identificación de artefactos en las fotomicrografías, tampoco una correlación Rho de Spearman relevante en la ponderación de la calidad de la imagen, **Tabla 7**.

## **CONCORDANCIA INTEROBSERVADOR EN LA VALORACION DE LAS FOTOMICROGRAFIAS**

Al analizar la concordancia de la valoración de las fotomicrografías entre los dos observadores se obtuvieron concordancias casi perfectas o muy buenas en la identificación de formación de papilas, histiocitos, linfocitos, células inflamatorias, matriz extracelular, cambios en la matriz extracelular y reconocimientos de vasos sanguíneos en todos los filtros y objetivos. Por su parte las concordancia interobservador en la identificación de folículos coloides, núcleos, coloide, y artefactos fueron buenas en todos los filtros y objetivos, **Tabla 8**.

## **DISCUSIÓN**

El desarrollo de técnicas que buscan analizar tejido *in vivo* a nivel microscópico con un método no intrusivo o mínimamente invasivo, se ha incrementado en los últimos años (6-8) aunque en nuestro medio no han tenido mucha visibilidad. Sin embargo la factibilidad de estas técnicas abrirían las puertas a logros que pudieran en un futuro potenciar lo que puede hacer un patólogo, más allá de la permanencia aislada en un laboratorio (19, 20, 29). Este proyecto puede ser considerado muestra de ello, pues es un estudio que ha caracterizado variables morfológicas microscópicas al tiempo que ha estandarizado una técnica

diagnóstica innovadora aplicada en tejido en fresco, apoyándose en tecnología pocas veces usada con ese propósito, siendo el primer estudio de su especie, sin un símil en la literatura al parecer.

Inicialmente, se caracterizaron los hallazgos morfológicos en tejido tiroideo no neoplásico en fresco tomando como referencia y estándar de oro el estudio histológico con H&E sobre el mismo tejido. Aunque no existen publicaciones que comparen específicamente estas dos técnicas, el trabajo informado por Miura y Mineta en 2014 (30) es similar en su estructura, al comparar cortes histológicos de tejido tiroideo fijado sano y patológico con imágenes obtenidas con microscopio acústico de barrido (SAM), una técnica de biopsia óptica, caracterizando diferentes variables similares a las evaluadas en este trabajo como la presencia de folículos coloides, fibras de colágeno de la matriz extracelular y la presencia de glándulas paratiroides, así como otras diferentes como la presencia de folículos linfoides. Por medio de la SAM se discriminaron los componentes de la glándula tiroidea con una alta concordancia con el estudio histológico a la más baja magnificación 4x (30), exactamente en el mismo objetivo en el que se tuvo la mejor concordancia en este estudio.

Al comparar lo observado bajo H&E en los 48 cortes, los porcentajes de acuerdo entre los diferentes objetivos y filtros fotográficos nunca fueron superiores a 95%. Mishra y colaboradores en una comparación entre los hallazgos en biopsia por congelación en muestras de tejido en fresco y la histología convencional de diferentes órganos, encontraron discordancia en el diagnóstico de “negativo para neoplasia” en uno de los tres especímenes usados (31).

La concordancia medida por el coeficiente kappa de Cohen en los diferentes filtros y objetivos, comparándolos con la H&E, mostró valores cercanos al 0.8 en el consolidado de las observaciones hechas en 4x. De esta forma, el Reconocimiento de folículos coloides tuvo una concordancia aceptable bajo los filtros Cian y Magenta a 4x. El Reconocimiento de vasos sanguíneos tuvo los

mejores índices de concordancia con significación estadística en 4x. Los Cambios en la matriz, tipificados como fibrosis, demostraron mejor concordancia (incluso cercana a 1) en todos los objetivos usados. No se registraron observaciones positivas para el cambio oncocítico y no se registraron neutrófilos en ninguno de los cortes ni siquiera en los cortes definitivos con H&E. Solo se registró un corte del espécimen A con una calcificación (**Figura 3**) y solo hubo un caso con presencia confirmada con H&E de glándula paratiroides. En estos dos últimos casos, dada su baja frecuencia, se obtuvieron valores perfectos de concordancia constituyendo una sobreestimación clara de la concordancia.

La caracterización de Coloide tuvo un kappa aceptable en 4x, algo que creemos ayudó a la identificación del mismo fue el fenómeno de festoneado, hallazgo observable normalmente con H&E (1, 20), que resultó visible sin coloración incluso bajo luz blanca sin ningún tipo de filtro. De igual forma, la individualización de Células inflamatorias fue más confiable a 4x y solo fueron visibles Linfocitos e Histiocitos.

Este trabajo mostró datos inéditos de concordancia entre el estándar de oro y algunos filtros fotográficos y objetivos, esto favorece que las variables evaluadas se puedan organizar en variables “arquitecturales” y “citológicas”. Dentro de las primeras están aquellas variables con la concordancia más alta en conjunto como Reconocimiento de folículos coloides, Reconocimiento de vasos sanguíneos y Cambios en la matriz. Mientras que en las variables citológicas se resalta la presencia de células inflamatorias como linfocitos e histiocitos, identificación de núcleos y cambios en los núcleos. En este contexto merecen especial atención los dos filtros de color: el filtro Cian y el Magenta, los cuales facilitaron la caracterización de varias variables cuando fueron evaluadas con ellos, este dato no menor, aunque sin significación estadística, indica que el uso de un filtro que favorezca el contraste del tejido en un ambiente “de baja calidad” como en un tejido no fijado y no coloreado, tendría potenciales beneficios técnicos que vale la pena explorar en estudios ulteriores.



Si bien no existen estudios que caractericen los hallazgos histológicos con la ayuda de filtros fotográficos en tejidos en fresco, sí existen técnicas usadas en muestras de bajo contraste, como la observación de células vivas sin tinción bajo luz blanca (32-35). Al igual que se hizo en este estudio al modificar los parámetros de los filtros de color, estas mejoraron el brillo y el contraste en cortes de tejido transparente sin tinción. Neil comparó la observación de células vivas sin tinción en fondos brillantes. Uno de ellos en especial, la microscopía de campo oscuro, resultó ser una técnica eficaz para mejorar la observación de detalles nucleares y citoplasmáticos (35), algo similar a lo logrado usando el filtro "Negativo" en el presente estudio donde los detalles nucleares fueron más fáciles de ver.

La calidad de las fotomicrografías según los criterios extraídos del CAP (2, 3) en los preparados histológicos convencionales de glándula tiroides tomando como estándar de oro la tinción con H&E, fue baja en todos los casos y en todos los objetivos. Solo se demostró una correlación significativa entre los dos observadores. Se encontró que en esta técnica, la asociación de confiabilidad y concordancia entre observadores en el estudio convencional con H&E fueron muy buenas o perfectas en la mayoría de las variables evaluadas.

Como limitaciones del estudio se resalta el bajo porcentaje de acuerdos contra la H&E, el cual puede ser explicado por la baja resolución de la cámara usada, por lo que queda el interrogante si se usara una cámara de mayor resolución, haya más porcentaje de acuerdos con la H&E. Adicionalmente, en este estudio no se aplicaron los filtros y técnicas de mejoramiento del contraste directamente sobre el tejido si no en las imágenes digitalizadas, esta limitación pudiera explicar el por qué la concordancia en los detalles morfológicos no superó el kappa de 0.8 al compararlos con H&E en la mayoría de los casos. De igual forma, no se aplicaron otros filtros fotográficos como el filtro infrarrojo y el polarizador que teóricamente pudieran facilitar la mejor observación de las variables morfológicas. La calidad identificada fue baja pero se explicaría porque los criterios de calidad tenidos en cuenta están basados en preparados histológicos convencionales y no deberían

ser aplicados a una técnica fundamentalmente óptica como la que se estandarizó en el presente estudio. En futuros trabajos deberá aumentarse la muestra y el número de observadores para caracterizar mejor este parámetro.

La principal fortaleza de este estudio está en el hecho de ser una técnica innovadora, al parecer no aplicada antes en tejidos en fresco, sanos ni patológicos, la cual se entiende como una alternativa potencialmente útil para evaluar variables morfológicas que puedan ayudar a establecer un diagnóstico histopatológico.

Para comprender mejor los alcances que esta técnica puede llegar a ofrecer, se recomienda caracterizarla mejor en estudios futuros, ya sea en iguales condiciones al estudio actual con una muestra más grande, en otros escenarios como en tejido tiroideo fresco patológico y usando filtros fotográficos adicionales a los escogidos que pudieran mejorar el rendimiento de esta técnica. Este trabajo es el primer paso en el camino a establecer parámetros de evaluación morfológica en tejidos en fresco sin tinción que sirvan de base para su aplicación ulterior *in vivo*, tanto en glándula tiroides como en otros tejidos sólidos y sirva como base para desarrollar un dispositivo diagnóstico que signifique la conjugación de la histopatología, la fotomicrografía y la biopsia óptica.

## **CONCLUSION**

La fotomicrografía de tejido tiroideo no neoplásico en fresco es una alternativa potencialmente útil para evaluar variables morfológicas que ayuden a establecer un diagnóstico histopatológico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

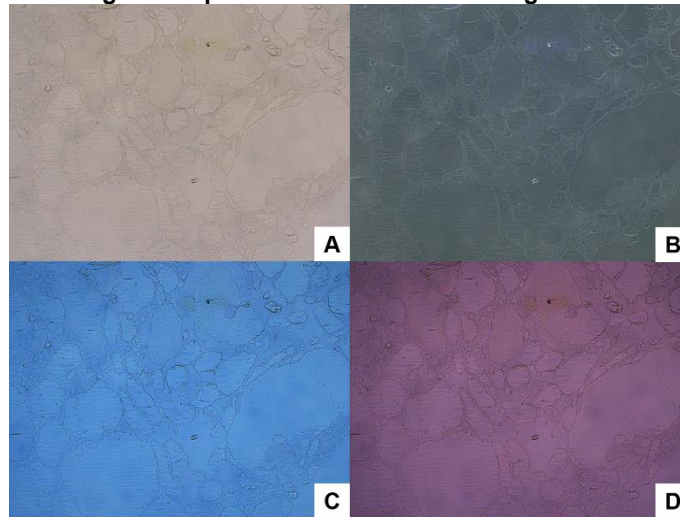
1. Carcangiu ML. Thyroid. In: Mills SE (Editor). *Histology for Pathologists*, 4th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
2. Carson FL. Fixation and Processing. In: Brown RW, *Histologic preparations: common problems and their solutions*. Northfield: CAP Press; 2009.
3. Lott R, Tunncliffe J, Sheppard E, Santiago J, Hladik C, Nasim M, et als. CAP/NSH Histotechnology Committee. *Pre-Microscopic Examination Specimen Handling Guidelines in the Surgical Pathology Laboratory*. Northfield: CAP Press; 2013.
4. Herrera C, Rodríguez JC, Gassiot C, Pino PP, Cid A. Influencia de la demora en el diagnóstico y el tratamiento en la supervivencia de pacientes con cáncer pulmonar. *Rev Cubana Med*. 2007;46(1):10-14.
5. Sharma C. Diagnostic Accuracy of Fine Needle Aspiration Cytology of Thyroid and Evaluation of Discordant Cases. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2015;27:147–153.
6. Brandao MP, Iwakura R, Basilio FS, Haleplian K, Ito AS, Conti de Freitas LC, et als. Optical Characterization of Normal, Benign, and Malignant Thyroid Tissue: A Pilot Study. *J Fluoresc*. 2015.
7. Shin D, Pierce MC, Gillenwater AM, Williams MD, Richards-Kortum RR. High-resolution Fiber-optic Microendoscopy for in situ Cellular Imaging. *PLoS ONE*. 2010;5(6):e11218.
8. Barretto RPJ, Schnitzer MJ. In Vivo Optical Microendoscopy for Imaging Cells Lying Deep within Live Tissue. *Cold Spring Harb Protoc*. 2012;1:1029-1034.
9. Kymionis GD, Diakonis VF, Shehadeh MM, Pallikaris AI, Pallikaris IG. Anterior Segment Applications of In Vivo Confocal Microscopy. *Semin Ophthalmol*. 2015;30(4):243–251.
10. Jonkman J, Brown CM. Any Way You Slice It—A Comparison of Confocal Microscopy Techniques. *J Biomol Tech*. 2015;26:54–65.
11. Carson FL, Hladik C. *Histotechnology A Self- Instructional Text*, 3rd ed. Chicago, IL: ASCP Press; 2009.
12. Oliver C1, Jamur MC. Fixation and embedding. *Methods Mol Biol*. 2010;588:353-62.
13. Bancroft J, Gamble M. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 6th ed. New York, NY: Churchill Livingston; 2008.
14. Nakhleh RE, Fitzgibbons PL, editors. *College of American Pathologists. Quality improvement manual in anatomic pathology*, 2nd edition. Northfield: CAP-Press, 2002.
15. Lehman JS, Gibson LE. Letter to the Editor: Smart Teledermatopathology: A Feasibility Study Of Novel, High-Value, Portable, widely accessible and intuitive

- telepathology methods using handheld electronic devices. *J Cutan Pathol*. 2013;40:513–518.
16. Hong X, Nagarajan VK, Mugler DH, Yua B. Smartphone microendoscopy for high-resolution fluorescence imaging. *J. Innov. Opt. Health Sci*. 2016;9:5.
  17. Saravanan C, Schumacher V, Brown D, Dunstan R, Galarneau JR, Odin M, et al. Meeting Report: Tissue-based Image Analysis. *Toxicol Pathol*. 2017;45(7):983-1003.
  18. Furness PN. The Use of Digital Images in Pathology. *J Pathol*. 1997;183(3):253-63.
  19. Pantanowitz L. Digital Images and the Future of Digital Pathology. *J Pathol Inform*. 2010;1:15.
  20. Hamza SH, Reddy VV. Digital image acquisition using a consumer-type digital camera in the anatomic pathology setting. *Adv Anat Pathol*. 2004;11(2):94-100.
  21. Gabril MY, Yousef GM. Informatics for practicing anatomical pathologists: marking a new era in pathology practice. *Mod Pathol*. 2010;23(3):349-58.
  22. Yagi Y, Gilbertson JR. The importance of optical optimization in whole slide imaging (WSI) and digital pathology imaging. *Diagn Pathol*. 2008;15:3(Suppl 1):S1.
  23. Yagi Y, Gilbertson JR. A relationship between slide quality and image quality in whole slide imaging (WSI). *Diagn Pathol*. 2008;3(Suppl 1):S12.
  24. 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(3):322-331.
  25. Sun W. Learning based particle filtering object tracking for visible-light systems. *Optik (Stuttg)*. 2015;126(19):1830-1837.
  26. Xianghua H, Qingwen W, Song J, Wencui C, Caihong Z, Zhihong L. The clinical features and outcomes of systemic amyloidosis: a cohort of 231 chinese patients. *Clin Kidney J*. 2015;8(1):120–126.
  27. Ferrer-Roca O. Endomicroscopía en anatomía patológica. *Biopsia óptica*. *Rev Esp Patol*. 2009;42(3):167-181.
  28. Ferrer-Roca O. Anatomía Patológica digital. Control de calidad y patoinformática. *Rev Esp Patol*. 2009;42(3):85-95.
  29. Zhang J, Rector J, Lin JQ, Young JH, Sans M, Katta N, et als. Nondestructive tissue analysis for ex vivo and in vivo cancer diagnosis using a handheld mass spectrometry system. *Sci Transl Med*. 2017;6(9):406.
  30. Miura K, Mineta H. Histological evaluation of thyroid lesions using a scanning acoustic microscope. *Pathol Lab Med Int*. 2014;6:1–9.
  31. Mishra S, Gupta M, Bharat V, Bansal R. Qualitative Comparative Study of Frozen Section with Routine Histological Technique. *Nation J Lab Med*. 2016;5(2):44-50.

32. Langhorst MF, Schaffer J, Goetze B. Structure brings clarity: Structured illumination microscopy in cell biology. *Biotech J.* 2009;4:858-865.
33. Neil MAA, Juskaitis R, Wilson T. Method of obtaining optical sectioning by using structured light in a conventional microscope. *Optics Letters.* 1997;2:1905-1907.
34. Barer R, Joseph S. Refractometry of living cells. Part I. Basic principles. *Quart J Microsc Sci.* 1954;95:399-423.
35. Neil MMA, Wilson T, Juskaitis R. A light efficient optically sectioning microscope. *J Microsc.* 1998;189:114-117.

## FIGURAS

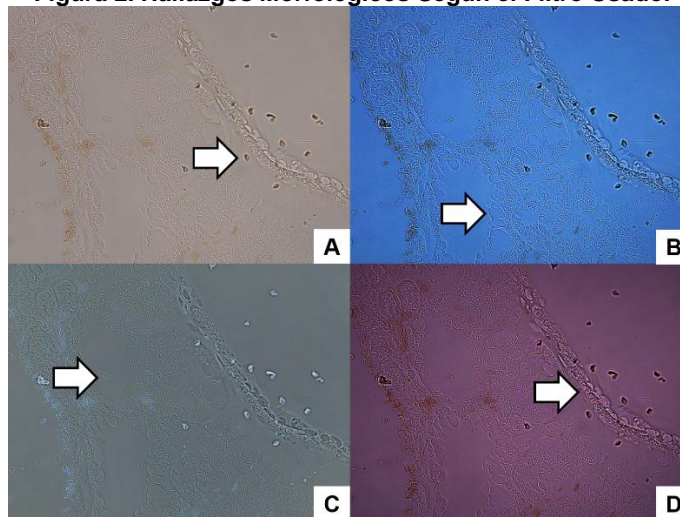
**Figura 1. Aplicación de los Filtros Fotográficos.**



**A:** microfotografía bajo Luz Blanca de tejido tiroideo en fresco sin colorear; **B:** la misma imagen con los colores invertidos (Negativo); **C:** Cian y **D:** magenta.

*Fuente:* Microfotografía B-III1 (4x).

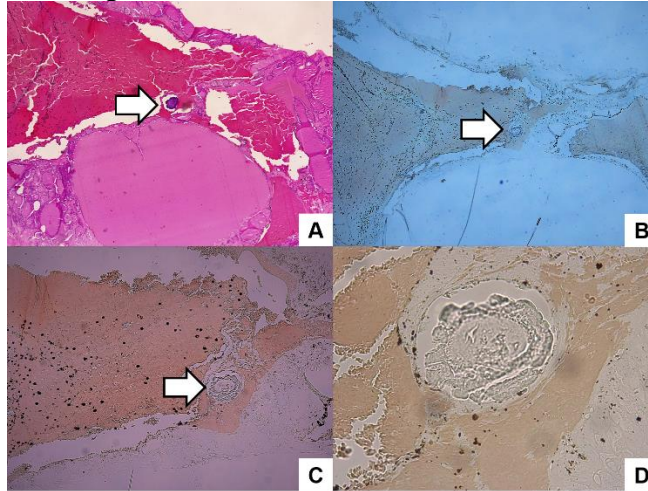
**Figura 2. Hallazgos Morfológicos Según el Filtro Usado.**



**A:** .bajo Luz Blanca, la flecha señala un eritrocito. **B:** bajo filtro Cian, se señala festoneado del coloide, signo morfológico que indica presencia de esa proteína. **C:** bajo filtro Negativo, se indica una célula inflamatoria que se interpretó como un histiocito al interior del folículo coloide. **D:** bajo filtro Magenta, se señala el núcleo de una célula folicular.

*Fuente:* Microfotografía A-III5 (40x).

**Figura 3. Visualización de una Calcificación.**



**A:** .Fotomicrografía en H&E a 4x, la flecha señala una calcificación/concreción. **B:** Fotomicrografía bajo filtro Cian a 4x, la flecha señala la misma calcificación. **C:** Fotomicrografía bajo filtro Magenta a 10x, la fleche indica la misma calcificación, nótese la mejoría en el detalle. **D:** Fotomicrografía bajo Luz Blanca a 40x, se observa la calcificación/concreción en primer plano.

*Fuente:* Microfotografía A-I4.

## TABLAS

**Tabla 1. Frecuencia de hallazgos generales por H&E general y estratificada por objetivos utilizados**

|                                      | TODOS          |                | OBJETIVO        |                |
|--------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
|                                      | N=144          | 4x             | N=48 c/u<br>10x | 40x            |
| Reconocimiento de folículos coloides | 138 (95,8)     | 46 (95,8)      | 46 (95,8)       | 46 (95,8)      |
| Núcleos                              | 138 (95,8)     | 46 (95,8)      | 46 (95,8)       | 46 (95,8)      |
| Coloide                              | 125 (86,8)     | 41 (85,4)      | 42 (87,5)       | 42 (87,5)      |
| Matriz extracelular                  | 121 (84,0)     | 40 (83,3)      | 40 (83,3)       | 41 (85,4)      |
| Presencia de células inflamatorias   | 102 (70,8)     | 33 (68,8)      | 33 (68,8)       | 36 (75,0)      |
| Linfocitos                           | 65 (45,1)      | 21 (43,8)      | 21 (43,8)       | 23 (47,9)      |
| Histiocitos                          | 58 (40,3)      | 18 (37,5)      | 19 (39,6)       | 21 (43,8)      |
| Neutrófilos                          | 0 (0,0)        | 0 (0,0)        | 0 (0,0)         | 0 (0,0)        |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 70 (48,6)      | 22 (45,8)      | 24 (50,0)       | 24 (50,0)      |
| Cambios en la matriz                 | 59 (41,0)      | 18 (37,5)      | 20 (41,7)       | 21 (43,8)      |
| Cambios en los núcleos               | 32 (22,2)      | 5 (10,4)       | 13 (27,1)       | 14 (29,2)      |
| Formación de papilas                 | 29 (20,1)      | 9 (18,8)       | 10 (20,8)       | 10 (20,8)      |
| Cambios oncocíticos                  | 12 (8,3)       | 0 (0,0)        | 6 (12,5)        | 6 (12,5)       |
| Calcificaciones                      | 3 (2,1)        | 1 (2,1)        | 1 (2,1)         | 1 (2,1)        |
| Presencia de glándulas paratiroides  | 3 (2,1)        | 1 (2,1)        | 1 (2,1)         | 1 (2,1)        |
| Tamaño folículos coloides iguales    | 0 (0,0)        | 0 (0,0)        | 0 (0,0)         | 0 (0,0)        |
| Artefactos                           | 59 (41,0)      | 20 (41,7)      | 20 (41,7)       | 19 (39,6)      |
| Calidad% Me (RIC)                    | 100 (90 - 100) | 100 (90 - 100) | 100 (90 - 100)  | 100 (90 - 100) |
| 90                                   | 59 (41,0)      | 20 (41,7)      | 20 (41,7)       | 19 (39,6)      |
| 100                                  | 85 (59,0)      | 28 (58,3)      | 28 (58,3)       | 29 (60,4)      |

**Tabla 2. Hallazgos de las imágenes identificados por objetivo 4x, con porcentaje de acuerdo según lectura por H&E**

|                                      | H&E            | Objetivo 4x  |                  |              |              |
|--------------------------------------|----------------|--------------|------------------|--------------|--------------|
|                                      |                | Luz Blanca   | N=48<br>Negativo | Cian         | Magenta      |
| Reconocimiento de folículos coloides | 46             | 33 (71,7)    | 39 (84,8)        | 42 (91,3)    | 41 (89,1)    |
| Núcleos                              | 46             | 10 (21,7)    | 30 (65,2)        | 36 (78,3)    | 26 (56,5)    |
| Coloide                              | 41             | 25 (61,0)    | 33 (80,5)        | 36 (87,8)    | 35 (85,4)    |
| Matriz extracelular                  | 40             | 31 (77,5)    | 31 (77,5)        | 31 (77,5)    | 31 (77,5)    |
| Presencia de células inflamatorias   | 33             | 14 (42,4)    | 19 (57,6)        | 20 (60,6)    | 20 (60,6)    |
| Linfocitos                           | 21             | 0 (0,0)      | 6 (28,6)         | 6 (28,6)     | 6 (28,6)     |
| Histiocitos                          | 18             | 14 (77,8)    | 14 (77,8)        | 15 (83,3)    | 15 (83,3)    |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 22             | 16 (72,7)    | 18 (81,8)        | 17 (77,3)    | 18 (81,8)    |
| Cambios en la matriz                 | 18             | 16 (88,9)    | 16 (88,9)        | 16 (88,9)    | 16 (88,9)    |
| Formación de papilas                 | 9              | 7 (77,8)     | 7 (77,8)         | 7 (77,8)     | 7 (77,8)     |
| Cambios en los núcleos               | 5              | 1 (20,0)     | 3 (60,0)         | 3 (60,0)     | 3 (60,0)     |
| Cambios oncocíticos                  | 0              |              |                  |              |              |
| Calcificaciones                      | 1              | 1 (100,0)    | 1 (100,0)        | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    |
| Presencia de glándulas paratiroides  | 1              | 0 (0,0)      | 1 (100,0)        | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    |
| Artefactos                           | 20             | 18 (90,0)    | 18 (90,0)        | 18 (90,0)    | 18 (90,0)    |
| Calidad % Me (RIC)                   | 100 (90 - 100) | 60 (60 - 70) | 70 (70 - 80)     | 80 (70 - 80) | 70 (70 - 80) |



**Tabla 3. Hallazgos de las imágenes identificados por objetivo 10x, con porcentaje de acuerdo según lectura por H&E**

|                                      | H&E           | Objetivo 10x |              |              |              |
|--------------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                                      |               | Luz Blanca   | Negativo     | Cian         | Magenta      |
| Reconocimiento de folículos coloides | 46            | 38 (82,6)    | 39 (84,8)    | 39 (84,8)    | 39 (84,8)    |
| Núcleos                              | 46            | 17 (37,0)    | 39 (84,8)    | 41 (89,1)    | 34 (73,9)    |
| Coloide                              | 42            | 26 (61,9)    | 31 (73,8)    | 33 (78,6)    | 34 (81,0)    |
| Matriz extracelular                  | 40            | 26 (65,0)    | 27 (67,5)    | 27 (67,5)    | 27 (67,5)    |
| Presencia de células inflamatorias   | 33            | 18 (54,6)    | 20 (60,6)    | 21 (63,6)    | 21 (63,6)    |
| Linfocitos                           | 21            | 4 (19,1)     | 6 (28,6)     | 6 (28,6)     | 6 (28,6)     |
| Histiocitos                          | 19            | 15 (79,0)    | 15 (79,0)    | 16 (84,2)    | 16 (84,2)    |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 24            | 15 (62,5)    | 17 (70,8)    | 17 (70,8)    | 17 (70,8)    |
| Cambios en la matriz                 | 20            | 15 (75,0)    | 15 (75,0)    | 15 (75,0)    | 15 (75,0)    |
| Cambios en los núcleos               | 13            | 3 (23,1)     | 4 (30,8)     | 4 (30,8)     | 4 (30,8)     |
| Formación de papilas                 | 10            | 3 (30,0)     | 3 (30,0)     | 3 (30,0)     | 3 (30,0)     |
| Cambios oncocíticos                  | 6             | 0 (0,0)      | 0 (0,0)      | 0 (0,0)      | 0 (0,0)      |
| Calcificaciones                      | 1             | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    |
| Presencia de glándulas paratiroides  | 1             | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    |
| Artefactos                           | 20            | 16 (80,0)    | 16 (80,0)    | 16 (80,0)    | 16 (80,0)    |
| Calidad % Me (RIC)                   | 100 (90 -100) | 60 (60 - 80) | 70 (65 - 80) | 80 (70 - 80) | 70 (65 - 80) |

**Tabla 4. Hallazgos de las imágenes identificados por objetivo 40x, con porcentaje de acuerdo según lectura por H&E**

|                                      | H&E           | Objetivo 40x |              |              |              |
|--------------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                                      |               | Luz Blanca   | Negativo     | Cian         | Magenta      |
| Reconocimiento de folículos coloides | 46            | 35 (76,1)    | 35 (76,1)    | 35 (76,1)    | 35 (76,1)    |
| Núcleos                              | 46            | 25 (54,4)    | 41 (89,1)    | 41 (89,1)    | 38 (82,6)    |
| Coloide                              | 42            | 24 (57,1)    | 27 (64,3)    | 28 (66,7)    | 28 (66,7)    |
| Matriz extracelular                  | 41            | 22 (53,6)    | 22 (53,6)    | 22 (53,6)    | 22 (53,6)    |
| Presencia de células inflamatorias   | 36            | 26 (72,2)    | 29 (80,6)    | 29 (80,6)    | 29 (80,6)    |
| Linfocitos                           | 23            | 11 (47,8)    | 13 (56,5)    | 14 (60,9)    | 14 (60,9)    |
| Histiocitos                          | 21            | 20 (95,2)    | 20 (95,2)    | 20 (95,2)    | 20 (95,2)    |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 24            | 11 (45,8)    | 12 (50,0)    | 12 (50,0)    | 12 (50,0)    |
| Cambios en la matriz                 | 21            | 15 (71,4)    | 15 (71,4)    | 15 (71,4)    | 15 (71,4)    |
| Cambios en los núcleos               | 14            | 4 (28,6)     | 5 (35,7)     | 7 (50,0)     | 7 (50,0)     |
| Formación de papilas                 | 10            | 4 (40,0)     | 4 (40,0)     | 4 (40,0)     | 4 (40,0)     |
| Cambios oncocíticos                  | 6             | 0 (0,0)      | 0 (0,0)      | 0 (0,0)      | 0 (0,0)      |
| Calcificaciones                      | 1             | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    |
| Presencia de glándulas paratiroides  | 1             | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    | 1 (100,0)    |
| Artefactos                           | 19            | 7 (36,8)     | 7 (36,8)     | 7 (36,8)     | 7 (36,8)     |
| Calidad % Me (RIC)                   | 100 (90 -100) | 70 (60 - 80) | 80 (70 - 90) | 80 (70 - 90) | 80 (70 - 90) |

**Tabla 5. Concordancia entre la lectura de la imagen con la lectura histopatológica utilizando el objetivo 4x**

|                                      | Kappa  | Luz Blanca       |         |        | Negativo         |         |        | Cian            |         |        | Magenta          |         |  |
|--------------------------------------|--------|------------------|---------|--------|------------------|---------|--------|-----------------|---------|--------|------------------|---------|--|
|                                      |        | IC 95%           | Valor p | Kappa  | IC 95%           | Valor p | Kappa  | IC 95%          | Valor p | Kappa  | IC 95%           | Valor p |  |
| Reconocimiento de folículos coloides | 0,1746 | -0,0417 – 0,3909 | 0,0321  | 0,3171 | -0,0245 – 0,6586 | 0,0026  | 0,4667 | 0,0434 – 0,8900 | 0,0001  | 0,4059 | 0,0095 – 0,8024  | 0,0005  |  |
| Núcleos                              | 0,0226 | -0,0111 – 0,0564 | 0,4586  | 0,1351 | -0,038 – 0,308   | 0,0622  | 0,1351 | -0,038 – 0,308  | 0,0622  | 0,0977 | -0,0325 – 0,2280 | 0,1163  |  |
| Coloide                              | 0,3131 | 0,133 – 0,5128   | 0,0028  | 0,5461 | 0,2903 – 0,8019  | <0,0001 | 0,6774 | 0,4241 – 0,9307 | <0,0001 | 0,5484 | 0,2626 – 0,8342  | 0,0001  |  |
| Matriz extracelular                  | 0,5345 | 0,2919 – 0,7771  | <0,0001 | 0,5345 | 0,2919 – 0,7771  | <0,0001 | 0,5345 | 0,2919 – 0,7771 | <0,0001 | 0,5345 | 0,2919 – 0,7771  | <0,0001 |  |
| Presencia de células inflamatorias   | 0,3153 | 0,1409 – 0,4897  | 0,0027  | 0,4589 | 0,2583 – 0,6595  | 0,0002  | 0,4902 | 0,2866 – 0,6938 | 0,0001  | 0,4902 | 0,2866 – 0,6938  | 0,0001  |  |
| Linfocitos                           | NC     | NC               | NC      | 0,3103 | 0,1008 – 0,5199  | 0,0030  | 0,3103 | 0,1008 – 0,5199 | 0,0030  | 0,3103 | 0,1008 – 0,5199  | 0,0030  |  |
| Histiocitos                          | 0,8140 | 0,6424 – 0,9855  | <0,0001 | 0,8140 | 0,6424 – 0,9855  | <0,0001 | 0,8621 | 0,7124 – 1,0117 | <0,0001 | 0,8621 | 0,7124 – 1,0117  | <0,0001 |  |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 0,7429 | 0,5569 – 0,9288  | <0,0001 | 0,8298 | 0,6724 – 0,9872  | <0,0001 | 0,7865 | 0,6134 – 0,9595 | <0,0001 | 0,8298 | 0,6724 – 0,9872  | <0,0001 |  |
| Cambios en la matriz                 | 0,9091 | 0,7863 – 1,0319  | <0,0001 | 0,9091 | 0,7863 – 1,0319  | <0,0001 | 0,9091 | 0,7863 – 1,0319 | <0,0001 | 0,9091 | 0,7863 – 1,0319  | <0,0001 |  |
| Cambios en los núcleos               | 0,3094 | -0,1593 – 0,7780 | 0,0030  | 0,7288 | 0,3747 – 1,0830  | <0,0001 | 0,7288 | 0,3747 – 1,0830 | <0,0001 | 0,7288 | 0,3747 – 1,0830  | <0,0001 |  |
| Formación de papilas                 | 0,7857 | 0,5537 – 1,0178  | <0,0001 | 0,7857 | 0,5537 – 1,0178  | <0,0001 | 0,7857 | 0,5537 – 1,0178 | <0,0001 | 0,7857 | 0,5537 – 1,0178  | <0,0001 |  |
| Calcificaciones                      | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000 | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 |  |
| Presencia de glándulas paratiroides  | NC     | NC               | NC      | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000 | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 |  |
| Artefactos                           | 0,4765 | 0,2492 - 0,7039  | 0,0004  | 0,4765 | 0,2492 - 0,7039  | 0,0004  | 0,4765 | 0,2492 - 0,7039 | 0,0004  | 0,4765 | 0,2492 - 0,7039  | 0,0004  |  |
| Calidad*                             | 0,153  | -0,138 a 0,419   | 0,2956  | -0,100 | -0,373 a 0,190   | 0,4947  | 0,128  | -0,162 a 0,398  | 0,3803  | 0,046  | -0,241 a 0,326   | 0,7522  |  |

\* se realizó correlación Rho de Spearman para estimar la concordancia

**Tabla 6. Concordancia entre la lectura de la imagen con la lectura histopatológica utilizando el objetivo 10x**

|                                      | Kappa  | Luz Blanca      |         |        | Negativo         |         |         | Cian             |         |         | Magenta          |         |  |
|--------------------------------------|--------|-----------------|---------|--------|------------------|---------|---------|------------------|---------|---------|------------------|---------|--|
|                                      |        | IC 95%          | Valor p | Kappa  | IC 95%           | Valor p | Kappa   | IC 95%           | Valor p | Kappa   | IC 95%           | Valor p |  |
| Reconocimiento de folículos coloides | 0,2836 | -0,032 – 0,599  | 0,0049  | 0,3171 | -0,024 – 0,658   | 0,0026  | 0,3171  | -0,024 – 0,658   | 0,0026  | 0,3171  | -0,024 – 0,658   | 0,0026  |  |
| Núcleos                              | 0,0466 | -0,019 – 0,112  | 0,2847  | 0,1429 | -0,178 – 0,464   | 0,1963  | -0,0633 | -0,129 – 0,002   | 0,6223  | 0,1910  | -0,042 – 0,424   | 0,0244  |  |
| Coloide                              | 0,2184 | 0,0063 – 0,430  | 0,0367  | 0,3333 | 0,0708 – 0,5959  | 0,0055  | 0,3016  | 0,0043 – 0,5989  | 0,0197  | 0,3333  | 0,0246 – 0,6421  | 0,0117  |  |
| Matriz extracelular                  | 0,3182 | 0,0899 – 0,5465 | 0,0063  | 0,3438 | 0,1077 – 0,5798  | 0,0040  | 0,3438  | 0,1077 – 0,5798  | 0,0040  | 0,3438  | 0,1077 – 0,5798  | 0,0040  |  |
| Presencia de células inflamatorias   | 0,1795 | -0,073 – 0,432  | 0,1727  | 0,2381 | -0,022 – 0,498   | 0,0796  | 0,2688  | 0,0056 – 0,5320  | 0,0508  | 0,2688  | 0,0056 – 0,5320  | 0,0508  |  |
| Linfocitos                           | 0,1676 | -0,032 – 0,367  | 0,0843  | 0,2686 | 0,0469 – 0,4902  | 0,0155  | 0,2686  | 0,0469 – 0,4902  | 0,0155  | 0,2686  | 0,0469 – 0,4902  | 0,0155  |  |
| Histiocitos                          | 0,6115 | 0,3837 – 0,839  | <0,0001 | 0,6115 | 0,3837 – 0,8393  | <0,0001 | 0,6578  | 0,4424 – 0,8731  | <0,0001 | 0,6578  | 0,4424 – 0,8731  | <0,0001 |  |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 0,6250 | 0,4203 – 0,8297 | <0,0001 | 0,7083 | 0,5173 – 0,8993  | <0,0001 | 0,7083  | 0,5173 – 0,8993  | <0,0001 | 0,7083  | 0,5173 – 0,8993  | <0,0001 |  |
| Cambios en la matriz                 | 0,7778 | 0,5980 – 0,957  | <0,0001 | 0,7778 | 0,5980 – 0,9575  | <0,0001 | 0,7778  | 0,5980 – 0,9575  | <0,0001 | 0,7778  | 0,5980 – 0,9575  | <0,0001 |  |
| Cambios en los núcleos               | 0,3043 | 0,0288 – 0,579  | 0,0033  | 0,3460 | 0,0540 – 0,6381  | 0,0049  | 0,3016  | 0,0043 – 0,5989  | 0,0197  | 0,3460  | 0,0540 – 0,6381  | 0,0049  |  |
| Formación de papilas                 | 0,4043 | 0,0767 – 0,731  | 0,0005  | 0,4043 | 0,0767 – 0,7319  | 0,0005  | 0,4043  | 0,0767 – 0,7319  | 0,0005  | 0,4043  | 0,0767 – 0,7319  | 0,0005  |  |
| Calcificaciones                      | 1,000  | 1,000 – 1,000   | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000  | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000  | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 |  |
| Presencia de glándulas paratiroides  | 1,000  | 1,000 – 1,000   | <0,0001 | 1,0000 | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000  | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000  | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 |  |
| Artefactos                           | -0,371 | -0,623 - 0,12   | 0,0101  | -0,371 | -0,6234 - 0,1195 | 0,0101  | -0,3714 | -0,6234 - 0,1195 | 0,0101  | -0,3714 | -0,6234 - 0,1195 | 0,0101  |  |
| Calidad*                             | 0,020  | -0,265 a 0,303  | 0,8886  | 0,044  | -0,243 a 0,324   | 0,7623  | 0,022   | -0,264 a 0,304   | 0,8790  | 0,025   | -0,261 a 0,307   | 0,8626  |  |

\* se realizó correlación Rho de Spearman para estimar la concordancia

**Tabla 7. Concordancia entre la lectura de la imagen con la lectura histopatológica utilizando el objetivo 40x**

|                                      | Luz Blanca |                  |         | Negativo |                  |         | Cian    |                  |         | Magenta |                  |         |
|--------------------------------------|------------|------------------|---------|----------|------------------|---------|---------|------------------|---------|---------|------------------|---------|
|                                      | Kappa      | IC 95%           | Valor p | Kappa    | IC 95%           | Valor p | Kappa   | IC 95%           | Valor p | Kappa   | IC 95%           | Valor p |
| Reconocimiento de folículos coloides | 0,2096     | -0,0416 – 0,461  | 0,0178  | 0,2096   | -0,0416 – 0,461  | 0,0178  | 0,2096  | -0,0416 – 0,461  | 0,0178  | 0,2096  | -0,0416 – 0,461  | 0,0178  |
| Núcleos                              | 0,0075     | -0,1153 – 0,130  | 0,9038  | 0,2000   | -0,1955 – 0,596  | 0,1014  | -0,0633 | -0,1293 – 0,003  | 0,6223  | -0,0714 | -0,1542 – 0,011  | 0,5182  |
| Coloide                              | 0,2500     | 0,0688 – 0,4312  | 0,0088  | 0,1605   | -0,0701 – 0,391  | 0,1470  | 0,1795  | -0,0614 – 0,4204 | 0,1147  | 0,1795  | -0,0614 – 0,4204 | 0,1147  |
| Matriz extracelular                  | 0,2525     | 0,0789 – 0,4260  | 0,0085  | 0,2525   | 0,0789 – 0,4260  | 0,0085  | 0,2525  | 0,0789 – 0,4260  | 0,0085  | 0,2525  | 0,0789 – 0,4260  | 0,0085  |
| Presencia de células inflamatorias   | 0,3333     | 0,0617 – 0,6050  | 0,0160  | 0,3684   | 0,0799 – 0,6589  | 0,0103  | 0,2973  | -0,0022 – 0,5967 | 0,0391  | 0,2973  | -0,0022 – 0,5967 | 0,0391  |
| Linfocitos                           | 0,4468     | 0,2203 – 0,6734  | 0,0005  | 0,4921   | 0,2583 – 0,7258  | 0,0003  | 0,4938  | 0,2543 – 0,7334  | 0,0004  | 0,4938  | 0,2543 – 0,7334  | 0,0004  |
| Histiocitos                          | 0,7513     | 0,5677 – 0,9349  | <0,0001 | 0,7513   | 0,5677 – 0,9349  | <0,0001 | 0,7513  | 0,5677 – 0,9349  | <0,0001 | 0,7513  | 0,5677 – 0,9349  | <0,0001 |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos   | 0,3750     | 0,1419 – 0,6081  | 0,0035  | 0,3750   | 0,1319 – 0,6181  | 0,0051  | 0,3750  | 0,1319 – 0,6181  | 0,0051  | 0,3750  | 0,1319 – 0,6181  | 0,0051  |
| Cambios en la matriz                 | 0,6957     | 0,4925 – 0,8988  | <0,0001 | 0,6957   | 0,4925 – 0,8988  | <0,0001 | 0,6957  | 0,4925 – 0,8988  | <0,0001 | 0,6957  | 0,4925 – 0,8988  | <0,0001 |
| Cambios en los núcleos               | 0,3161     | 0,0365 – 0,5956  | 0,0082  | 0,2294   | -0,0677 – 0,526  | 0,1033  | 0,3684  | 0,0779 – 0,6589  | 0,0103  | 0,4234  | 0,1410 – 0,7058  | 0,0020  |
| Formación de papilas                 | 0,4581     | 0,1320 – 0,7842  | 0,0006  | 0,4581   | 0,1320 – 0,7842  | 0,0006  | 0,4581  | 0,1320 – 0,7842  | 0,0006  | 0,4581  | 0,1320 – 0,7842  | 0,0006  |
| Calcificaciones                      | 1,0000     | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 0,6571   | 0,0325 – 1,2818  | <0,0001 | 0,6571  | 0,0325 – 1,2818  | <0,0001 | 0,6571  | 0,0325 – 1,2818  | <0,0001 |
| Presencia de glándulas paratiroides  | 1,0000     | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000   | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000  | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 | 1,0000  | 1,0000 – 1,0000  | <0,0001 |
| Artefactos                           | 0,1331     | -0,1458 - 0,4120 | 0,3437  | 0,1331   | -0,1458 - 0,4120 | 0,3437  | 0,1331  | -0,1458 - 0,4120 | 0,3437  | 0,1331  | -0,1458 - 0,4120 | 0,3437  |
| Calidad*                             | -0,148     | -0,415 a 0,142   | 0,3105  | -0,157   | -0,422 a 0,133   | 0,2827  | -0,135  | -0,404 a 0,155   | 0,3530  | -0,106  | -0,379 a 0,184   | 0,4671  |

\* se realizó correlación Rho de Spearman para estimar la concordancia

**Tabla 8. Concordancia entre observadores.**

| Filtro<br>Obj                       | Luz blanca           |      |                      |      |                      |      | Negativo             |      |                      |      |                      |      | Cian                 |      |                      |      |                      |      | Magenta              |      |                      |      |      |      |
|-------------------------------------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|------|------|
|                                     | 4x                   |      | 10x                  |      | 40x                  |      | 4x                   |      | 10x                  |      | 40x                  |      | 4x                   |      | 10x                  |      | 40x                  |      | 4x                   |      | 10x                  |      | 40x  |      |
|                                     | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K                    | P    | K    | P    |
| Reconocimiento de folículos coloide | ,791                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,0946                | ,000 | ,850                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,946                 | ,000 | 1                    | ,000 | 1                    | ,000 | ,946                 | ,000 | ,921                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,946 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Reconocimiento de vasos sanguíneos  | ,866                 | ,000 | ,952                 | ,000 | ,085                 | ,348 | ,913                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,952                 | ,000 | ,911                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,952                 | ,000 | ,913                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,952 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,297-578, |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Matriz extracelular                 | ,823                 | ,000 | ,746                 | ,000 | ,958                 | ,000 | ,865                 | ,000 | ,743                 | ,000 | ,958                 | ,000 | ,865                 | ,000 | ,743                 | ,000 | ,9578                | ,000 | ,506                 | ,000 | ,743                 | ,000 | ,958 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Cambios en la matriz extracelular   | ,852                 | ,000 | ,698                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,952                 | ,000 | ,951                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,952                 | ,000 | ,951                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,952                 | ,000 | ,951                 | ,000 | 1    | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Núcleos                             | ,733                 | ,000 | ,781                 | ,000 | ,530                 | ,000 | ,478                 | ,001 | ,643                 | ,000 | ,619                 | ,000 | ,619                 | ,000 | ,458                 | ,000 | ,777                 | ,000 | ,589                 | ,000 | ,535                 | ,000 | ,455 | ,001 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,939-1    |      | IC 95%:<br>,000-.098 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.098 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.098 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.098 |      |      |      |
| Cambios en los núcleos              | 1                    | ,000 | 1                    | ,000 | ,878                 | ,000 | 1                    | ,000 | 1                    | ,000 | ,864                 | ,000 | 1                    | ,000 | 1                    | ,000 | ,882                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,878                 | ,000 | ,748 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.098 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Coloide                             | ,618                 | ,000 | ,783                 | ,000 | ,833                 | ,000 | ,791                 | ,000 | ,903                 | ,000 | ,956                 | ,000 | ,882                 | ,000 | ,946                 | ,000 | ,955                 | ,000 | ,818                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,955 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,110-.348 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,110-.348 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Células inflamatorias               | ,948                 | ,000 | ,832                 | ,000 | ,868                 | ,000 | ,913                 | ,000 | ,875                 | ,000 | ,899                 | ,000 | ,913                 | ,000 | ,794                 | ,000 | ,948                 | ,000 | ,913                 | ,000 | ,713                 | ,000 | ,852 | ,039 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Linfocitos                          |                      |      | ,878                 | ,000 | ,750                 | ,000 | ,810                 | ,000 | ,810                 | ,000 | ,753                 | ,000 | ,897                 | ,000 | ,810                 | ,000 | ,858                 | ,000 | ,897                 | ,000 | ,695                 | ,000 | ,736 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Histiocitos                         | ,948                 | ,000 | ,869                 | ,000 | 1                    | ,000 | 1                    | ,000 | ,957                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,951                 | ,000 | ,871                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,951                 | ,000 | ,827                 | ,000 | 1    | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Formación de papilas                | 1                    | ,000 | ,846                 | ,000 | ,897                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,846                 | ,000 | ,897                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,846                 | ,000 | ,897                 | ,000 | 1                    | ,000 | ,846                 | ,000 | ,897 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |
| Artefactos                          | ,792                 | ,000 | ,633                 | ,000 | ,450                 | ,001 | ,792                 | ,000 | ,633                 | ,000 | ,450                 | ,001 | ,792                 | ,000 | ,633                 | ,000 | ,450                 | ,000 | ,792                 | ,000 | ,633                 | ,000 | ,450 | ,000 |
|                                     | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,556-.819 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      | IC 95%:<br>,000-.061 |      |      |      |