

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 500**

51 Int. Cl.:
G06K 9/46

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09772085 .8**

96 Fecha de presentación: **15.06.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2188760**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.2010**

54 Título: **PROCEDIMIENTO Y DISPOSITIVO PARA IDENTIFICAR UN CONTORNO Y UN PUNTO MEDIO DE UN OBJETO.**

30 Prioridad:
30.06.2008 DE 102008030874

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.02.2012

73 Titular/es:
**Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der
angewandten Forschung e.V.
Hansastraße 27c
80686 München, DE**

72 Inventor/es:
**ZERFASS, Thorsten;
BERGEN, Tobias y
STECKHAN, Dirk**

74 Agente: **Arizti Acha, Monica**

ES 2 374 500 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento y dispositivo para identificar un contorno y un punto medio de un objeto.

5 Los ejemplos de realización de la presente invención se refieren a un procedimiento y un dispositivo para la identificación de un contorno y de un punto medio de un objeto. Además los ejemplos de realización se refieren a una segmentación de leucocitos en fotografías microscópicas de extensiones sanguíneas.

Una parte importante de la hematología es el cuadro hemático diferencial. Los sistemas del ámbito de la "microscopía asistida por ordenador" (CAM) permiten un análisis automático de extensiones sanguíneas y ayudan a los hematólogos en la clasificación de las células y forman con ello una complemento necesario para el moderno diagnóstico hematológico de laboratorio.

10 Los sistemas de hematología modernos proporcionan rápidamente información importante, precisa y de alta eficacia sobre la población celular de la sangre periférica. No obstante a menudo en clínicas y laboratorios hasta el 40% de las muestras se diferencian a posteriori manualmente bajo el microscopio. En especial esta última etapa puede acelerarse y objetivizarse con ayuda de un sistema de microscopía asistida por ordenador. Así tanto se reduce la laboriosidad, como se aumenta la calidad del resultado, lo que en particular es válido también para muestras de sangre peculiares.

15 Basándose en conceptos innovadores de tratamiento de imagen, los leucocitos (glóbulos blancos) en la extensión sanguínea se localizan y clasifican en subclases clínicamente relevantes. En este sentido se toman a menudo conjuntos de datos de referencia preclasificados por expertos, que pueden ampliarse también en cualquier momento, como base para la clasificación.

20 El reconocimiento seguro y la segmentación exacta de glóbulos blancos en extensiones tintadas de la sangre periférica forman la base para la creación automática, basada en imágenes, del cuadro hemático diferencial en el contexto del diagnóstico de laboratorio médico. A menudo en una primera etapa se lleva a cabo una segmentación a baja resolución (por ejemplo, objetivo 10x) para la localización de los glóbulos blancos. En una segunda etapa, a mayor resolución (por ejemplo, con un objetivo 100x), la segmentación exacta de las células es un requisito para una alta precisión de las siguientes etapas de la clasificación. La precisión de la segmentación se refiere, por ejemplo, también a una
25 segmentación exacta del núcleo y el plasma de la célula, que es particularmente deseable para poder determinar las características para el núcleo y del plasma por separado. La precisión de la segmentación tiene por último un efecto decisivo sobre la calidad de la clasificación de la célula.

30 La variedad de los glóbulos blancos que aparecen en una extensión sanguínea en conexión con su distribución cromática y texturización en cada caso características, elevan la dificultad en la clasificación en el marco de una automatización completa. En el caso de procedimientos convencionales para la segmentación de glóbulos blancos, la separación exacta de núcleo y plasma, así como la separación de eritrocitos (glóbulos rojos) adyacentes no está resuelta de manera satisfactoria. Igualmente no se tratan todos los tipos de leucocitos con los algoritmos conocidos.

Ejemplos de procedimientos convencionales para la segmentación están descritos en los siguientes documentos:
35 SINHA, N. y A. RAMAKRISHNAN: Automation of differential blood count. En: TENCON 2003. Conf. on convergent Technologies for Asia-Pacific Region, vol. 2, págs. 547 - 551, 2003; LIAO, Q. y Y. DENG: An accurate segmentation method for white blood cell images. En: IEEE Intern. Symposium on Biomedical Imaging, págs. 245 - 248, 2002; RAMOSER, H., V. LAURAIN, H. BISCHOF y R. ECKER: Leukocyte segmentation and classification in blood-smear images. En: 27th Annual Intern. Conf. of the Engineering in Medicine and Biology Society, págs. 3.371 - 3.374, Sep. 2005; LEZORAY, O. y H. Cardot: Cooperation of color pixel classification schemes and color watershed: a study for
40 microscopic images. IEEE Trans. on Image Processing, 11(7): 783 - 789, 2002; NILSSON, B. y A. HEYDEN: Segmentation of Dense Leukocyte clusters. págs. 221 - 229, 2001; ONGUN, G., U. HALICI y K. LEBLEBICIOGLU: Automated contour detection in blood cell images by an efficient snake algorithm. Nonlinear Analysis, 47:5839 - 5847(9), 2001.

45 Para la identificación de regiones en un color o distribución cromática característicos se utilizan a menudo procedimientos de valor umbral. Los procedimientos de valor umbral convencionales comprenden, por ejemplo, el procedimiento de Otsu (OTSU, N.: A threshold selection method from gray level histograms. IEEE Trans. Systems, Man and Cybernetics, 9:62 - 66, 1979) el procedimiento de Kittler (KITTLER, J. y J. ILLINGWORTH: On threshold selection using clustering criteria. IEEE Trans. Systems, Man and Cybernetics, 15(5): 652 - 654, 1985; KITTLER, J. y J. ILLINGWORTH: Minimum error thresholding. 19(1): 41 - 47, 1986) o el procedimiento de Kapur (KAPUR, J., P. SAHOO y A. WONG: A new method for gray level picture thresholding using the entropy of histogram. Computer Vision, Graphics and Image Processing, 29(3): 273 - 285, 1985)

55 Para obtener finalmente un contorno continuo del objeto o de la célula, pueden utilizarse, por ejemplo, algoritmos de seguimiento de trayectoria. El procedimiento de Dijkstra (DIJKSTRA, E. W.: A note on two problems in connection with graphs. En: Numerische Mathematik, Bd. 1, S. 269 - 271. Mathematisch Centrum, Amsterdam, Países Bajos, 1959) representa un posible procedimiento de seguimiento de trayectoria convencional.

El documento D1, "Unsupervised cell nucleus segmentation with "active contours" de Pascal, Bamford y Brian Lovell da a conocer que el objetivo de separar núcleos celulares del plasma celular en imágenes celulares cervicales habituales que

5 presentan manchas de Papanicolaou (Pap), es un problema clásico del análisis de imágenes, que puede resultar extremadamente importante para el desarrollo de sistemas exitosos para el análisis automático de manchas Pap en el reconocimiento de cáncer de cuello de útero. Aunque los procedimientos de valor umbral sencillos en algunos casos pueden extraer el núcleo celular, llevar a cabo con ello un examen a máquina de grandes archivos de imágenes resulta bastante difícil. Modelos habituales de perfiles activos, tal como los que se implantaron por Kass, Witkin y Terzopoulos (1988), ofrecen una serie de ventajas en la aplicación sobre el problema arriba mencionado, pero sufren las desventajas conocidas, tales como la inicialización y minimización. Se demuestra que un algoritmo de perfiles activos duales, basado en una búsqueda Viterbi, es capaz solventar muchos de estos problemas y de llevar a cabo una segmentación exacta en un 99% de una base de datos de 20130 imágenes celulares dotadas de manchas Pap.

10 Partiendo de este estado de la técnica existe una necesidad de un procedimiento para la segmentación (por ejemplo, de leucocitos en cuadros hemáticos diferenciales), que, a diferencia de los procedimientos convencionales, resuelva los siguientes problemas planteados:

(a) segmentación robusta de distintas clases de células, (b) segmentación robusta en caso de eritrocitos adyacentes y

15 (c) segmentación robusta en caso de variaciones en coloración e iluminación.

Además es deseable no sólo reconocer y segmentar las células sanguíneas, sino reconocer de modo fiable en general los contornos de objetos en imágenes digitales, para poder clasificarlos a continuación.

Este objetivo se resuelve mediante un procedimiento según la reivindicación 1, un dispositivo según la reivindicación 9 o un programa informático según la reivindicación 10.

20 La idea principal de la presente invención consiste en que, en un procedimiento para identificar un contorno de un objeto en una imagen digital, en el que el objeto presenta con respecto a un espacio de color un primer valor de tono de color y un fondo presenta un segundo valor de tono de color, en un primer momento se determina un punto medio de objeto provisional del objeto. A continuación partiendo del punto medio de objeto predeterminado provisionalmente se determinan puntos de imagen candidatos de contorno. Esto ocurre por medio de trayectorias que se alejan del punto medio de objeto y la detección de un cambio del primer valor de tono de color al segundo valor de tono de color, correspondiendo la posición del cambio en el espacio de color al punto de imagen candidato de contorno. Alternativamente puede utilizarse también un cambio o un salto de un gradiente de color en un espacio de color empleado para la identificación de los puntos de imagen candidatos de contorno. Cada punto de imagen candidato de contorno presenta por tanto una distancia hasta el punto medio de objeto provisional o hasta uno mejorado y está ordenado con respecto a un ángulo polar. Además se determinan zonas de puntos de imagen candidatos de contorno adyacentes, en las que una variación de las distancias de los puntos de imagen candidatos de contorno se sitúa por encima de un valor umbral. Entre dos zonas se eliminan finalmente los puntos de imagen candidatos de contorno, de manera que el contorno se determina basándose en los puntos de imagen candidatos de contorno que quedan.

35 Una idea principal adicional de la presente invención consiste en que un punto medio de objeto puede identificarse en una imagen digital, estando definido un contorno del objeto mediante una multitud de puntos de imagen candidatos de contorno, mediante la siguiente secuencia de etapas. En primer lugar se determina como antes un punto medio de objeto provisional. Después se realiza una determinación de distancias entre la multitud de puntos de imagen candidatos de contorno y el punto medio de objeto provisional. Sigue una evaluación de las distancias, para obtener una medida de calidad, indicando la medida de calidad una probabilidad de que el punto medio de objeto provisional se encuentre en el medio del contorno. El procedimiento descrito se repite para un punto medio de objeto adicional, de manera que se obtiene una medida de calidad adicional. Por último tiene lugar una selección de un punto medio de objeto a partir del punto medio de objeto provisional o el adicional usando la medida de calidad y la medida de calidad adicional.

45 La medida de calidad puede determinarse en este caso, por ejemplo, determinándose en primer lugar una distancia media de las distancias y determinándose a continuación un rango de oscilación de las distancias respecto a la distancia media, de manera que a partir del rango de oscilación determinado se identifica la medida de calidad.

50 A continuación tiene lugar la sustitución del punto medio de objeto provisional por un punto medio de objeto mejorado (por ejemplo, por medio de un desplazamiento del punto medio de objeto provisional). Entonces tiene lugar una nueva determinación de las distancias de los puntos de imagen candidatos de contorno respecto al punto medio de objeto mejorado. Las distancias recién determinadas pueden a su vez promediarse y determinarse el rango de oscilación de la distancia en torno al valor medio. Siempre que el rango de oscilación haya aumentado, se descarta el punto medio de objeto mejorado, sin embargo, siempre que el rango de oscilación haya disminuido, el punto medio de objeto provisional se reemplaza por el punto medio de objeto mejorado.

55 Los puntos medios de objeto mejorados pueden, por ejemplo, determinarse iterativamente mediante una cuadrícula cada vez más fina, estando asociado a cada cuadrante de cuadrícula (o punto de cuadrícula) un valor de calidad, que indica la probabilidad de que el verdadero punto medio de objeto se encuentre en el cuadrante de cuadrícula (o en el entorno del punto de cuadrícula). Para el ejemplo de una célula orgánica, el valor de calidad, por ejemplo, corresponde al porcentaje del cuadrante de cuadrícula ocupado por el núcleo celular. Alternativamente el valor de calidad puede

valorarse también en función de si el punto medio de núcleo celular está contenido en el cuadrante de cuadrícula o cómo de lejos está el punto medio de núcleo celular.

5 Opcionalmente puede ser ventajoso efectuar antes de la determinación del contorno del objeto o antes de la determinación del punto medio de objeto un procesamiento previo de imagen, pudiendo comprender el procesamiento previo de imagen distintas formas de filtro. Los filtros pueden, por ejemplo, retirar por filtrado determinadas componentes de color o hacer visibles estructuras por medio de su color específico. Para ello pueden transformarse imágenes digitales, por ejemplo, en distintos esquemas de color o espacios de color (por ejemplo, espacio de color RGB, espacio de color HSV).

10 El espacio de color RGB especifica el color de un punto de imagen mediante los porcentajes de las tres componentes de color: rojo, verde, azul. En el espacio de color HSV se indica el color de un punto de imagen mediante un valor H (tipo de color), un valor S (saturación) y un valor V (*Value* o luminosidad).

15 La segmentación descrita a continuación en detalle se refiere sobre todo a los leucocitos, aunque el procedimiento según la invención puede aplicarse de igual manera a otros objetos, pudiendo ser los objetos, por ejemplo, inclusiones en materiales (por ejemplo, espacios huecos, que deben detectarse y clasificarse en el caso de un ensayo de material). En otros ejemplos de realización es posible asimismo segmentar y/o clasificar tejido biológico enfermo tal como, por ejemplo, tejido tumoral. La clasificación se refiere en este caso, por ejemplo, a la detección del tamaño y/o forma del objeto, de manera que el objeto puede asociarse a clases de tamaño o clases de forma (redonda, angulosa, ovalada, etc.). Ejemplos de realización pueden usarse por tanto para cada forma de reconocimiento de objeto y clasificación de objeto, que debe llevarse a cabo automáticamente.

20 La segmentación de leucocitos descrita más en detalle a continuación (como un ejemplo de objetos) representa un componente importante de un sistema CAM para la creación de cuadros hemáticos diferenciales. Como entrada para ello puede servir una fotografía (imagen) de un fragmento del portaobjetos, conteniendo el fragmento al menos un leucocito. Habitualmente se prepara una fotografía de este tipo, por ejemplo, con un aumento de 630 a 1.000 veces, para garantizar una ilustración suficiente de glóbulos blancos. Alternativamente pueden emplearse aumentos en un intervalo entre 200x y 1.500x. El campo de entrada se presenta, por ejemplo, en forma de una imagen de color RGB con una profundidad de color de, por ejemplo, ocho bits por canal. El objetivo es en este caso obtener una separación exacta de leucocitos y otros objetos contenidos en la imagen. Además es razonable una separación entre núcleo y plasma en el interior del leucocito.

30 Ejemplos de realización permiten una segmentación exacta respecto a los bordes del núcleo y del plasma, por ejemplo, en el caso de leucocitos, pudiendo segmentarse en comparación con procedimientos convencionales todos los distintos tipos de leucocitos. Además los leucocitos a modo de ejemplo pueden asimismo segmentarse completamente con eritrocitos adyacentes. Frente a las oscilaciones en la iluminación y coloración los ejemplos de realización se comportan de modo sumamente robusto. Los ejemplos de realización proporcionan en particular para células sanguíneas blancas una segmentación a una alta resolución.

35 A continuación se ilustran más en detalle ejemplos de realización de la presente invención haciendo referencia a los dibujos adjuntos. Muestran:

- la figura 1 un diagrama de flujo para un procedimiento según un ejemplo de realización de la presente invención.
- la figura 2 un diagrama de flujo para un sistema CAM;
- 40 la figura 3 una representación para una variación de valores de color en el núcleo celular, el plasma celular y el fondo;
- la figura 4 una representación de zonas con variaciones de la distancia radial por encima de un valor umbral;
- la figura 5 un diagrama de flujo detallado para la segmentación;
- la figura 6 a a 6h una representación de resultados intermedios de las etapas de procedimiento individuales;
- la figura 7 una representación para la ilustración una búsqueda iterativa del punto medio de la célula;
- 45 la figura 8 una representación para la eliminación de puntos de imagen candidatos de contorno entre posiciones de curvatura extrema; y
- la figura 9 una representación de un procesamiento previo por medio de un filtro de Kuwahara.

50 Antes de explicar más en detalle a continuación la presente invención por medio de los dibujos, se hace constar que los elementos iguales en las figuras están dotados de los mismos o similares números de referencia y que se omite una descripción repetida de estos elementos.

La figura 1 muestra un diagrama de flujo para un ejemplo de realización de la presente invención. En primer lugar se realiza una determinación de un punto 110 medio de objeto provisional, pudiendo estimarse el punto medio de objeto

provisional por medio de una imagen digital en primer lugar. A continuación de esto se realiza una determinación de puntos 120 de imagen candidatos de contorno, que se determinan, por ejemplo, mediante una transición de color o un cambio del gradiente de color a lo largo de las trayectorias que se alejan del punto medio de objeto provisional. Siempre que la imagen digital se represente en general mediante un área de valores de punto de imagen en un espacio de características, los puntos de imagen candidatos de contorno pueden determinarse mediante un registro de un cambio desde una primera sección hasta una segunda sección en el espacio de características o mediante un registro de una superación de una intensidad predeterminada de una variación de característica en el espacio de características. En el caso más sencillo el espacio de características es el espacio de color (por ejemplo, RGB o HSV), aunque puede ser por ejemplo, una transformación del espacio de color.

En una etapa posterior se eliminan puntos 130 de imagen candidatos de contorno, refiriéndose la eliminación de puntos de imagen candidatos de contorno a aquellos puntos de imagen candidatos de contorno que se detectaron entre regiones de curvatura extrema en la segunda etapa 120.

La curvatura extrema puede detectarse, por ejemplo, mediante un salto (fuera de un área de tolerancia) de la distancia de un punto de imagen candidato de contorno respecto al punto medio de objeto provisional. Tras la etapa 130 de eliminación pueden usarse los puntos de imagen candidatos de contorno que quedan, para determinar el contorno del objeto, lo que, por ejemplo, puede suceder mediante una interpolación o un seguimiento de trayectoria entre los puntos de imagen candidatos de contorno que quedan. Una interpolación puede, por ejemplo, usarse para puentear secciones pequeñas, mientras que el seguimiento de trayectoria es ventajoso para cerrar en el contorno secciones mayores que, por ejemplo, han aparecido por la eliminación de puntos de imagen candidatos de contorno. Para el seguimiento de trayectoria puede emplearse, por ejemplo, el procedimiento convencional de Dijkstra.

La figura 2 muestra un diagrama de flujo para un sistema CAM convencional, que, por ejemplo, puede usarse para la clasificación de células sanguíneas. En una primera etapa 210 tiene lugar en este caso una localización de una célula sanguínea blanca a, por ejemplo, baja resolución (por ejemplo, con un objetivo con resolución por cinco, por seis o por veinte). En la segunda etapa de localización 220 se identifica asimismo una célula sanguínea, que está dispuesta lo más centrada posible en la imagen, que se examina entonces en las etapas siguientes con mayor precisión. En una tercera etapa 230 tiene lugar ahora una ampliación de la fotografía, de modo que la célula sanguínea localizada en la segunda etapa 220 en o cerca del medio de la imagen se amplía de manera correspondiente. La ampliación puede realizarse, por ejemplo, con un objetivo con una ampliación de más de 50 veces o con un objetivo con ampliación de más de cien veces o con ampliación de doscientas veces. En la cuarta etapa 240 tiene lugar a continuación la segmentación del objeto (por ejemplo, células sanguíneas blancas), describiéndose más en detalle esta etapa más adelante mediante ejemplos de realización de la presente invención. En una quinta etapa 250 tiene lugar, usando los resultados de la segmentación, una extracción de características. La extracción de características puede comprender, por ejemplo, una determinación del tamaño de la célula, la forma de la célula (por ejemplo, redonda, ovalada, oblonga, difusa). Con los resultados de la extracción de características en la quinta etapa 250 puede tener lugar finalmente en la sexta etapa 260 una clasificación de los objetos (como, por ejemplo, las células sanguíneas blancas).

La figura 3 ofrece una representación gráfica de cómo pueden variarse súbitamente, en una transición del núcleo celular al plasma celular o del plasma celular al fondo, determinadas componentes del espacio de color. La variación de una componente de color puede comprender, por ejemplo, una combinación de colores en el espacio de color RGB, pero comprende del mismo modo también variaciones en la luminosidad o la saturación, si por ejemplo, en lugar del espacio de color RGB se emplea el espacio de color HSV. Además de variaciones de componentes de color también puede usarse un cambio de un gradiente de color (en el espacio de color usado) para la detección de la transición. Como ejemplo se muestra en la figura 3 la variación de las componentes de color a lo largo de una dirección, que lleva por ejemplo desde el punto 660 medio de objeto hasta el punto de imagen candidato de contorno K. La línea discontinua 114 representa la curva de borde del núcleo 114 celular y la línea discontinua 110 la curva de borde del contorno de célula (es decir curva de borde del plasma 116 celular). Puesto que el núcleo celular presenta un color o combinaciones de color específicos, en la línea 114 de frontera se produce un cambio repentino de la componente de color F_i correspondiente, que en esta representación se designa con F_1 . La componente de color F_1 presenta sin embargo tanto dentro del núcleo 114 celular (a la derecha de la línea 114) como fuera del núcleo 114 celular (a la izquierda de la línea discontinua 114) ciertas fluctuaciones σ_1 , σ_2 , cuyo valor medio se distingue sin embargo claramente entre sí, por ejemplo, en más de un 30%. La componente de color F_1 puede ser, por ejemplo, también una combinación de dos colores, por ejemplo, la proporción de color verde respecto a azul (g/b) en el espacio de color RGB.

El plasma celular presenta una coloración distinta a la del núcleo celular, de manera que en el campo del plasma 116 celular, es decir entre la línea discontinua 114 y la línea discontinua 110, otra componente de color (u otra combinación de colores), que se designa en este caso con F_2 , presenta un valor claramente excesivo. También para la otra componente de color F_2 pueden producirse, tanto dentro del plasma 116 celular como fuera del plasma 116 celular, fluctuaciones σ_3 , σ_4 , distinguiéndose sin embargo claramente entre sí los valores medios para F_2 dentro y fuera del plasma 116 celular, por ejemplo en más de un 30%.

La tinción del núcleo celular así como del plasma 116 celular y del fondo de la célula (a la izquierda de la línea 110) tiene lugar en este caso mediante un procesamiento previo elegido de manera correspondiente de la extensión sanguínea y puede depender del procedimiento elegido.

Un procedimiento sencillo de detectar la transición entre núcleo celular y plasma celular o entre plasma celular y fondo es la superación o no de un valor umbral T_i (por ejemplo, si $F1 > T1$ o $F2 > T2$), representando $T1, T2, \dots$ para las componentes de color $F1, F2, \dots$ valores umbral específicos.

5 Para identificar los puntos de imagen candidatos de contorno K , se empleó un cambio desde una primera sección hasta una segunda sección del espacio de color y este cambio corresponde a la clara caída de la componente $F2$ en el caso de la línea discontinua 110. Es decir, el procedimiento elegido de manera correspondiente debe ser sensible a una caída súbita de la componente $F2$, pero no a un aumento súbito de la componente $F2$, tal como aparece, por ejemplo, en el caso de la línea 114 de frontera de núcleo. Alternativamente, el fondo también puede detectarse mediante una componente de color específica (por ejemplo, la combinación de colores $(r+g+b)/3$), de manera que el punto de imagen candidato de contorno K viene dado de este modo, si se cumple, por ejemplo, que $(r+g+b)/3 = T3$ (salvo una tolerancia de, por ejemplo, el 10%). El valor umbral $T3$ puede determinarse, por ejemplo, de manera adaptativa para una respectiva imagen (por ejemplo, en función de una luminosidad promedio) y en general no es un valor umbral fijo.

15 La determinación de los puntos de imagen candidatos de contorno K por medio de un cambio desde una primera sección hasta una segunda sección del espacio de color representa una posibilidad. Alternativamente también puede usarse un cambio o un salto de un gradiente de color (en un espacio de color empleado) para la determinación de los puntos de imagen candidatos de contorno K .

20 La figura 4 muestra una representación de las distancias radiales R de los puntos de imagen candidatos de contorno K en función de un ángulo polar θ , representando R y θ coordenadas polares para la imagen digital. Los puntos de imagen candidatos de contorno están ordenados a este respecto según su ángulo θ y una parte de los puntos de imagen candidatos de contorno están representados mediante cruces. Siempre que el punto medio se haya elegido de manera adecuada (véase la descripción en cuanto a la figura 5) las distancias R de los puntos de imagen candidatos de contorno K oscilan poco o apenas. Esto puede ilustrarse porque los puntos de imagen candidatos de contorno K oscilan en torno a un valor medio de distancia R_m únicamente en un área de Δ . El rango de oscilación Δ de las distancias de los puntos de imagen candidatos de contorno K es tanto más pequeño, cuanto más se aproxima la forma de la célula sanguínea blanca a un círculo y cuanto mejor se haya hallado el punto medio del círculo a modo de ejemplo. Sin embargo, si en la pared de la célula sanguínea blanca se ha depositado, por ejemplo, una célula sanguínea roja y se han identificado también paredes de célula de la célula sanguínea roja como puntos de imagen candidatos de contorno, entonces hay zonas Z ($Z1, Z2, Z3, \dots$), en las que la distancia radial R aumenta mucho súbitamente y en el caso extremo está presente un salto. El salto o la distancia radial R que aumenta súbitamente de los puntos de imagen candidatos de contorno K se basa, por ejemplo, en que los puntos de imagen candidatos de contorno correspondientes no forman un límite de contorno de la célula sanguínea blanca a modo de ejemplo, sino que, en lugar de ello, representan puntos de contorno, por ejemplo, de una célula sanguínea roja adyacente. La pared de célula de la célula sanguínea roja adyacente se encuentra concretamente a una distancia claramente mayor respecto al punto medio de núcleo provisional.

35 Como ejemplo, la figura 4 muestra una primera zona $Z1$, que empieza con la posición del punto de imagen candidato de contorno $K1$ y termina con la posición de un segundo punto de imagen candidato de contorno $K2$. La zona $Z1$ se caracteriza porque, dentro de la zona $Z1$ el crecimiento en la distancia R presenta un valor $\Delta R1$, que es superior al rango de oscilación Δ , que todavía puede tolerarse. Entre el segundo punto de imagen candidato de contorno $K2$ y un tercer punto de imagen candidato de contorno $K3$, las distancias R de los puntos de imagen candidatos de contorno K situados en medio muestran a su vez sólo un reducido rango de oscilación, mientras que entre el tercer punto de imagen candidato de contorno $K3$ y un cuarto punto de imagen candidato de contorno $K4$ se forma a su vez una zona $Z2$ que se caracteriza por un rápido descenso de las distancias R . Puntos de imagen candidatos de contorno dentro de la segunda zona $Z2$ presenta una diferencia $\Delta R2$ en su distancia R , que es superior al rango de tolerancia Δ . A partir del cuarto punto de imagen candidato de contorno $K4$ las distancias de los puntos de imagen candidatos de contorno individuales oscilan de nuevo únicamente dentro del rango de tolerancia Δ . Puesto que el ángulo polar θ sólo adopta valores entre 0 y 2π (o alternativamente entre $-n$ y $+n$), la función representada en el punto 2π es idéntica a la función en $\theta = 0$ (2π -periódica).

50 Las zonas Z pueden determinarse por tanto también por medio de un procedimiento de valor umbral, por ejemplo, la primera zona $Z1$ viene dada por $\Delta R1 > \Delta$ y la segunda zona $Z2$ por $\Delta R2 > \Delta$. En general las zonas pueden mediante la referencia $\Delta R > T$, siendo ΔR el crecimiento radial de puntos de imagen candidatos de contorno adyacentes y representando T un valor umbral, que puede coincidir, por ejemplo, con Δ . El valor umbral T puede, por ejemplo, un determinado porcentaje (por ejemplo, el 5% o el 10% o el 50%) de la distancia R , al que se refiere el aumento ΔR .

55 Los puntos de imagen candidatos de contorno K_e , que se encuentran entre las zonas $Z1$ y $Z2$, no son por tanto puntos de contorno del leucocito y deben eliminarse posteriormente. Alternativamente los puntos de imagen candidatos de contorno K_e que han de eliminarse también pueden determinarse a través de la curvatura, que tendría una curva de interpolación de todos los puntos de imagen candidatos de contorno K . Las zonas Z pueden determinarse también porque esta curvatura supera un valor límite. Este procedimiento funciona de manera fiable, pero es necesario un procedimiento de interpolación, que efectúa un promediado, de manera que localmente una curva que solo varía débilmente (por ejemplo, $\Delta R/R < 0,01$).

La figura 5 muestra un diagrama de flujo detallado para un procedimiento según otro ejemplo de realización de la presente invención, que presenta una serie de etapas opcionales (en comparación con la figura 1), que pueden mejorar el resultado.

5 En una primera etapa 510 se realiza en primer lugar de nuevo una localización. Puesto en la imagen de entrada a menudo pueden estar presentes varios leucocitos y para el resto de etapas de procesamiento debe seleccionarse una única célula, a menudo es deseable llevar a cabo en primer lugar la localización. En la localización en la primera etapa 10 510 se localizan en primer lugar, por ejemplo, los leucocitos contenidos en la imagen. Esto puede ocurrir, por ejemplo, por medio de un procedimiento de valor umbral, en el que puede emplearse la información de color de los píxeles individuales. En este sentido puede servir como criterio, por ejemplo, la proporción entre el canal verde y el azul de una imagen de entrada, empleándose imágenes en color de tres canales en los tres colores básicos rojo, verde, azul. Un píxel, que cumple la propiedad $g/b > T2$, representando T2 un valor umbral, se clasifica entonces como píxel de leucocito. En este sentido g y b corresponden al valor de verde y de azul del píxel y T2 es un valor umbral fijo, que puede determinarse empíricamente. Por ejemplo, el valor umbral T2 puede presentar un valor de 1,0, 1,2 ó 1,4. A partir de la máscara binaria así producida con diferentes regiones de leucocito se selecciona (localiza) ahora una. Esta selección puede ocurrir, por ejemplo, con ayuda de los siguientes criterios:

- 15 (i) No debe quedarse por debajo de un tamaño mínimo predeterminado. El tamaño mínimo es en este caso un parámetro de sistema y puede establecerse, por ejemplo, de manera absoluta en píxeles. Su valor se calcula a partir de un tamaño mínimo físico esperado de las células y la ampliación o resolución del sistema de microscopio.
- 20 (ii) De entre todas las regiones que cumplen el criterio (i), se selecciona aquella que presenta la menor distancia respecto al punto medio de la imagen de entrada y que por tanto se ilustra lo más centrada posible en la imagen de entrada. Esto debe basarse en que, después de la localización de las células individuales a baja resolución, cada célula se acerca a alta resolución de tal manera que se encuentre en el centro del campo de visión.

25 En una segunda etapa 520 tiene lugar un tratamiento de imagen. La finalidad del tratamiento de la imagen es una mejora de la calidad de imagen para el siguiente procesamiento. Para ello se cuenta, por ejemplo, con una supresión de estructuras perturbadoras como, por ejemplo, un ruido de imagen, manchas etc. Para ello pueden aprovecharse diferentes procedimientos convencionales de tratamiento de imagen. Posibles procedimientos convencionales son a este respecto un filtrado de la imagen de entrada con un filtro de suavizado que contiene aristas, como por ejemplo, un filtro de mediana o un filtro de Kuwahara (véase la figura 9). Alternativamente pueden usarse también filtros de difusión anisótropos.

30 En una tercera etapa 530 tiene lugar una generación de puntos de imagen candidatos de contorno. Para ello se genera, por ejemplo, en primer lugar una cantidad de puntos candidatos para el contorno de leucocito. A menudo el reborde correcto del leucocito se encuentra o bien en una transición desde el primer plano hasta los píxeles de fondo Cf,b (= línea discontinua 110 en la figura 3) o bien en una transición desde el leucocito hasta un eritrocito eventualmente adyacente Cl,e. Posibles puntos de contorno (=puntos de imagen candidatos de contorno) pueden generarse, por ejemplo, siguiendo rayos (=trayectoria) adecuados desde un punto medio estimado dentro del leucocito hacia fuera, de modo que los candidatos de contorno se generan entonces a lo largo de los rayos que discurren hacia fuera, en caso de que tenga lugar una transición correspondiente (por ejemplo, en un espacio de color). El número de rayos que discurren hacia fuera puede elegirse a este respecto tan elevado que se genere una cantidad suficientemente densa de puntos de imagen candidatos de contorno. Por ejemplo, el número de rayos puede situarse en más de 100, aproximadamente 150 o aproximadamente 180 o entre 150 y 300. Para poder detectar la citada transición, se marcan de manera correspondiente píxeles de fondo, de leucocito y de eritrocito. Esto puede suceder, por ejemplo, tal como sigue:

35 (A) Segmentación del fondo: Una segmentación del fondo puede realizarse, por ejemplo, por medio de la luminosidad, marcándose todos los píxeles cuya luminosidad supera un valor umbral como fondo. En la imagen RGB puede parametrizarse la luminosidad, por ejemplo, mediante la combinación de colores $(r + g + b)/3$, siendo r, g, b en cada caso los valores de color rojo, verde y azul en la imagen RGB. El valor umbral puede ascender, por ejemplo, a un valor entre 150 y 400 o entre 220 y 270 o aproximadamente 245 (por ejemplo, en una escala de intensidad de 0 a 500). Para evitar, por ejemplo, la aparición de eventuales partículas perturbadoras en la imagen, puede ser razonable además procesar posteriormente la máscara de fondo mediante un filtro morfológico (denominado Opening o Closing).

40 (B) Separación de leucocitos y eritrocitos: para identificar transiciones de leucocitos a eritrocitos, se realiza, por ejemplo, en primer lugar una segmentación por píxeles del primer plano segmentado después de la etapa (A). Esta segmentación puede realizarse, por ejemplo, debido a diferentes características de color o textura. En el caso más sencillo se emplea un procedimiento de valor umbral, para conseguir con ayuda de un tono de color de los píxeles (canal Hue de la imagen transformada por HSI/HSV) una separación de leucocitos y eritrocitos. El valor umbral puede determinarse con ayuda de procedimientos de valor umbral conocidos (por ejemplo, el procedimiento de Otsu).

55 En una cuarta etapa 540 tiene lugar una determinación del punto medio y una transformación polar. Suponiendo que los leucocitos presentan por lo general un reborde convexo y a menudo son aproximadamente redondos, se estima en esta etapa el punto medio de la célula en primer lugar y partiendo de este punto medio se calcula una transformación polar de los píxeles candidatos de contorno extraídos en la etapa previa (puntos de imagen candidatos de contorno K). Como punto medio de la célula Pz sirve, en el caso más sencillo, el punto de corte o centro de gravedad de la región del

leucocito seleccionado. Todos los puntos de imagen candidatos de contorno K se transforman polarmente ahora con respecto a este punto central $P_z(x_0, y_0)$ con ayuda de la función $f(x, y)$:

$$f : \mathbb{R}^2 \rightarrow ([-\pi, \pi], \mathbb{R}^+) \quad , \quad (1)$$

$$\begin{bmatrix} \theta \\ R \end{bmatrix} = f(x, y) = \begin{bmatrix} \arctan((y - y_0) / (x - x_0)) \\ \sqrt{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2} \end{bmatrix} \quad , \quad (2)$$

5 siendo x e y dos coordenadas ortogonales, que parametrizan la imagen.

Presuponiendo que la célula realmente sea aproximadamente circular y que el punto se haya determinado correctamente, se obtendría por tanto como (posible) contorno de célula una función aproximadamente constante, es decir independiente del ángulo θ y constante en la distancia R (el radio). Sin embargo, cuanto más se desvíe el punto central usado del punto medio de la célula real, más se desviará la función transformada polarmente de una constante.

10 Por tanto es deseable una estimación del punto medio robusta. Una estimación robusta del punto medio de la célula puede realizarse con ayuda de los puntos de imagen candidatos de contorno K estimados en la etapa previa (tercera etapa 530, generación de puntos de imagen candidatos de contorno).

La determinación del punto medio de la célula puede lograrse además mediante un procedimiento de optimización, buscando dentro de la célula el punto medio de la célula óptimo. Las etapas individuales de un procedimiento de este tipo pueden resumirse como sigue:

15 (1) Establecimiento de una cuadrícula homogénea con una distancia de cuadrícula t a modo de ejemplo, pudiendo presentar la cuadrícula, por ejemplo, un tamaño de 3×3 puntos de cuadrícula y posicionándose de modo que el centro de la cuadrícula coincide con el punto medio actual.

20 (2) Calcular una medida de calidad para cada punto de cuadrícula o para cada cuadrante de cuadrícula. La medida de calidad evalúa a este respecto la probabilidad con la que el punto de cuadrícula actual corresponde al punto medio de la célula y se calcula, por ejemplo, adaptando con ayuda de un procedimiento de estimación robusto (por ejemplo, RANSAC) un modelo a los puntos candidatos de contorno y después se determina, por ejemplo, el error cuadrático medio (Mean Square Error, MSE) de los puntos de contorno del modelo correspondiente. Como modelo puede usarse a este respecto, en el caso más sencillo, una función constante para la coordenada r .

25 (3) Siempre que la distancia de cuadrícula t sea mayor que el tamaño de un píxel, el procedimiento puede continuar con la etapa (1), pero reduciéndose la distancia de cuadrícula de manera correspondiente (por ejemplo, se establece que $t \rightarrow t/2$ o $t \rightarrow t/3$).

30 En una quinta etapa 550 tiene lugar una ponderación de los candidatos de contorno, por ejemplo, de la siguiente manera. Puesto que tras la determinación de posibles candidatos de contorno, algunos puntos dentro de la cantidad $C_{f,b}$ no representan ningún punto de contorno en el borde del leucocito y estorban para un tratamiento adicional, se requiere eliminar estos puntos perturbadores en primer lugar. Para ello pueden determinarse, por ejemplo, puntos dentro de la cantidad $C_{f,b}$, en los que aparece una fuerte curvatura del contorno. La fuerte curvatura puede producirse, por ejemplo, mediante un salto o un aumento repentino de la distancia R respecto al punto medio. Entre los puntos con curvatura más fuerte se descartan ahora todos los puntos de contorno potencialmente defectuosos K_e (véase también la figura 4), en caso de que el segmento de contorno se desvíe mucho de una función constante. Esta desviación puede determinarse a su vez con un procedimiento de valor umbral. La búsqueda de tales puntos corresponde, por ejemplo, a la localización de eritrocitos, que se encuentran adyacentes a los leucocitos.

35 En una sexta etapa 560 tiene lugar un seguimiento de trayectoria, en el que los puntos identificados en la etapa previa (=puntos de imagen candidatos de contorno que quedan) se unen con ayuda de un procedimiento de seguimiento de trayectoria para dar una curva cerrada (contorno).

40 En una séptima etapa 570 tiene lugar un procesamiento posterior del contorno de leucocitos, ya que el contorno identificado en la sexta etapa 560 todavía puede contener algunos puntos atípicos, que deben eliminarse. Esto puede suceder, por ejemplo, procesando todo el contorno por medio de un filtro de mediana.

45 En una octava etapa 580 tiene lugar finalmente una segmentación del núcleo celular. Para identificar en esta etapa el núcleo celular, se aplica en toda la región dentro del contorno de plasma (=dentro de los puntos de imagen candidatos de contorno K dispuestos de manera convexa) un procedimiento de valor umbral. Este procedimiento de valor umbral puede usar a su vez la proporción entre el canal verde y azul como base (como en la primera etapa 510). Puesto que con la aplicación del procedimiento de valor umbral todavía pueden existir algunas regiones perturbadoras dentro del plasma, es razonable eliminar en una etapa de procesamiento posterior adicional estas regiones perturbadoras. Para ello puede usarse, por ejemplo, a su vez un filtro morfológico Open/Close.

50

Las figuras 6a a 6h muestran los resultados intermedios de las etapas de procedimiento individuales.

La figura 6a muestra la imagen de entrada con un leucocito 610, que presenta un núcleo 615 celular y está delimitado por un contorno 600. Entre el contorno 600 y el núcleo 615 celular se encuentra el plasma celular. En el leucocito 610 están dispuestos varios eritrocitos 620, sin que pueda verse claramente la línea de separación exacta entre el leucocito 610 y los eritrocitos 620 en la imagen de entrada. El leucocito 610 está representado delante de un fondo 650 (por ejemplo, un suero, sangre u otro fluido). La imagen de entrada presenta por lo general varios leucocitos, habiéndose centrado la figura 6 ya en uno de los varios leucocitos 610. La representación mostrada en este caso puede aplicarse del mismo modo para células 610 orgánicas comunes y otras células 620 orgánicas. Únicamente a modo de ejemplo se describirán a continuación adicionalmente el ejemplo de los leucocitos como células 610 orgánicas y los eritrocitos como otras células 620 orgánicas.

La figura 6b muestra en primer lugar un procesamiento previo, que puede comprender, por ejemplo, un filtrado de Kuwahara, siendo el filtrado de Kuwahara a modo de ejemplo un filtro de suavizado no lineal, que contiene cantos. Este procesamiento previo con filtro opcional es a menudo razonable para representar de manera más clara los perfiles de objetos en la imagen, de modo que la posterior segmentación del leucocito 610 dé mejores resultados.

La figura 6c muestra el resultado de la etapa siguiente, en la que se ha estimado en primer lugar un punto 660 medio y partiendo del punto 660 medio se dibujan trayectorias 670a, b, c.... en forma de estrella. A lo largo de las trayectorias 670 dibujadas en forma de estrella se identifican en esta etapa de procedimiento en primer lugar los puntos candidato de contorno K, que están representados en la figura 6c como contorno 600. Los puntos candidatos de contorno K pueden detectarse a este respecto, por ejemplo, mediante un cambio desde un primer valor de tono de color a un segundo valor de tono de color (por ejemplo mediante una variación repentina de una componente de color determinada, véase la figura 3). Como consecuencia se determinan tanto los puntos 600 de contorno como los puntos de imagen candidatos de contorno Ke suplementarios, que forman un contorno de los eritrocitos o del fondo 650, pero que no representan puntos de contorno del leucocito o del fondo 50. Además, con este procedimiento de valor umbral se detectan puntos de contorno de una sección 605 de contorno (entre los puntos de imagen candidatos de contorno K1 y K4), que representan una línea de separación entre el leucocito 610 y los eritrocitos 620. Finalmente, se localiza puntos de imagen candidatos de contorno Kw adicionales, que se encuentran o bien del eritrocito 620 o bien dentro del leucocito 610. Tanto los puntos de imagen candidatos de contorno Kw adicionales como los puntos de imagen candidatos de contorno Ke suplementarios se refieren a puntos de imagen candidatos de contorno, que no son necesarios ni molestan para la segmentación del leucocito y se eliminan por tanto en una siguiente etapa de procedimiento.

La figura 6d muestra cómo puede optimizarse el punto 660 medio. Puesto que el punto medio se estimó en una primera etapa (por ejemplo a través de una estimación del centro de gravedad del leucocito o del núcleo del leucocito) a menudo el punto 660 medio no corresponde al verdadero punto medio del leucocito 610. Para conseguir una mejora puede disponerse, por ejemplo, una cuadrícula G sobre el leucocito de tal manera que la mayoría o todos los puntos de imagen candidatos de contorno K, Ke, Kw posibles se registren por la cuadrícula G. La cuadrícula G puede ser, por ejemplo, una cuadrícula 3x3, encontrándose los respectivos tres puntos de cuadrícula a una distancia de cuadrícula t y estando dispuesto el punto medio estimado, por ejemplo, en el centro en la cuadrícula. A continuación la cuadrícula puede afinarse ahora de tal manera que el cuadrante de cuadrícula con la mayor probabilidad de que dentro del cuadrante de cuadrícula se encuentre el punto 660 medio, se dote de una cuadrícula adicional más pequeña. La cuadrícula G1 más pequeña puede comprender, por ejemplo, de nuevo una cuadrícula 3x3, presentando cada punto de cuadrícula de la cuadrícula G1 más pequeña una distancia de cuadrícula de $t/3$ y asociándose a cada punto de cuadrícula a su vez una medida de calidad, que indica la probabilidad de que se encuentre el verdadero punto 660 medio dentro del cuadrante de cuadrícula. Este proceso puede continuarse sucesivamente hasta que se haya identificado el verdadero punto 660 medio con una probabilidad suficiente (por ejemplo con una tolerancia a errores del 20% o del 10% o del 5%). Alternativamente pueden continuarse las iteraciones para la determinación del punto medio hasta que el tamaño de un segmento de cuadrícula o cuadrante de cuadrícula corresponda a un píxel (un punto de imagen).

Para poder estimar la idoneidad del respectivo punto 660 medio en el procedimiento iterativo, puede desenrollarse o desarrollarse, por ejemplo, la imagen, de modo que R y θ formen un sistema de coordenadas ortogonal. Siempre que el punto 660 medio se encuentre en muy buena coincidencia con el verdadero punto medio, el contorno 600 se aproximará lo máximo posible a una línea esencialmente plana en la imagen desarrollada, independientemente de las secciones que presenten los puntos de imagen candidatos de contorno Ke suplementarios. En general, a menudo puede partirse del hecho de que un leucocito 610 presenta una forma casi redonda.

Las figuras 6e y 6f muestran el proceso de desarrollo. La figura 6e coincidente con la figura 6c (el punto 660 medio no se ha dibujado en este caso) muestra candidatos de contorno, diferenciándose entre una transición con respecto al fondo 650 y una transición de un leucocito 610 a un eritrocito 620 (entre los puntos de contorno K1 y K4).

La figura 6f muestra el resultado del desarrollo, correspondiendo el punto R = 0 al punto 660 medio y representando R la distancia radial desde el punto medio. El punto 660 medio está representado por tanto en la figura 6f como la línea superior, aumentando hacia abajo la distancia radial R desde el punto 660 medio. En dirección horizontal está representado a este respecto el ángulo polar θ . Por consiguiente en la figura 6f está representado el eritrocito 620 y el leucocito 610 de manera deformada, siendo el contorno 600 prácticamente constante al menos por trozos.

En general, las funciones presentan una estructura ondulada en el desarrollo, lo que requiere una mejora del punto medio. Para la determinación de la calidad para el respectivo punto 660 medio puede calcularse ahora un valor medio para los puntos 600 de contorno y determinarse el cuadrado medio de la distancia (rango de oscilación) del valor medio determinado. Cuanto mayor sea el rango de oscilación, peor será el valor medio determinado en cada caso. Siempre que el rango de oscilación determinado se sitúe por encima de un valor umbral, puede continuarse el proceso iterativo (hasta cuadrículas cada vez más pequeñas, véase la figura 6d). En cada etapa iterativa debe reducirse el rango de oscilación; siempre que aumenta el rango de oscilación esto puede interpretarse al mismo tiempo como que con ello se ha hallado un punto 660 medio determinado ya muy idóneo.

La figura 6f muestra por tanto el contorno 600 así como la sección 605 de contorno (a la izquierda junto a K1). Además se muestran los puntos de imagen de contorno K_e , que se encuentran a una mayor distancia del contorno 600, puesto que la distancia radial R de los puntos de imagen de contorno K_e que han de eliminarse respecto del punto 660 medio es claramente mayor (véase la figura 6d).

Para averiguar qué puntos de imagen de contorno pertenecen a los puntos de imagen de contorno K_e que han de eliminarse, pueden unirse todos los puntos de imagen candidatos de contorno K para dar una curva, representando los puntos con curvatura más extremadamente pronunciada (por ejemplo entre el punto de imagen de contorno K_1 y el punto de imagen de contorno K_2) un indicio de que el contorno 600 en estas posiciones da un salto y siguen los puntos de imagen de contorno K_e que han de eliminarse.

La figura 6g muestra el resultado después de la eliminación de los puntos de contorno suplementarios K_e . Después de la eliminación de los puntos de contorno suplementarios K_e puede usarse, por ejemplo, un algoritmo de seguimiento de trayectoria, para unir el contorno 600 con la sección 605 de contorno suplementario para dar un contorno 600 unitario.

La figura 6h muestra el resultado de esta segmentación, es decir el leucocito 610 presenta un contorno 600 unitario, que discurre parcialmente entre el leucocito 610 y el eritrocito 620. Además, el leucocito presenta un núcleo 615.

La figura 7 ilustra la búsqueda iterativa del punto 660 medio de la célula. Sobre la región que contiene los puntos de imagen candidatos de contorno K se dispone en primer lugar una cuadrícula. La cuadrícula puede presentar, por ejemplo, 3×3 puntos de cuadrícula (o en general $N \times M$ puntos de cuadrícula, con $N, M = 2, 3, 4, \dots$), de modo que todos los puntos de imagen candidatos de contorno K identificados posibles se sitúen dentro de la cuadrícula. A cada segmento de cuadrícula (cuadrante de cuadrícula) o punto de cuadrícula se le asocia entonces una medida, que indica la probabilidad de que dentro del punto de cuadrícula esté presente el punto 660 medio de la célula 610. A continuación se selecciona el segmento de cuadrícula que presenta la máxima probabilidad de que dentro de este segmento de cuadrícula se ubique el punto medio de la célula. A continuación se dispone en el segmento de cuadrícula identificado una nueva cuadrícula G_1 (por ejemplo, de nuevo una cuadrícula 3×3) y se repite el procedimiento, de modo que de nuevo a cada segmento de cuadrícula de la segunda cuadrícula G_1 se le asocia una probabilidad de que dentro del segmento de cuadrícula esté dispuesto el punto 660 medio de la célula. Después de que se haya identificado a su vez el segmento de cuadrícula con la máxima probabilidad, se dispone sobre el segmento de cuadrícula identificado una tercera cuadrícula G_2 y se repite la secuencia de etapas sucesivamente. Con ello se aproxima de manera iterativa (mediante una granularidad más fina) el punto medio de la célula al verdadero punto medio de la célula.

La probabilidad que puede asociarse a cada segmento de cuadrícula puede identificarse, por ejemplo, como sigue. Se asume, por ejemplo, que el punto medio (u otro punto) del segmento de cuadrícula representa el punto 660 medio de la célula. A continuación tiene lugar una transformación de coordenadas de las posiciones de los puntos de imagen candidatos de contorno K a coordenadas polares con respecto al punto medio asumido, es decir, se calcula una coordenada de distancia R_i respecto al punto 660 medio de la célula asumido (= punto medio del respectivo segmento de cuadrícula $i=1, \dots, 9$) y una correspondiente variable angular polar. Con ello se obtienen para los puntos de imagen candidatos de contorno funciones $R_i = R_i(\theta)$ (una función para cada segmento de cuadrícula).

Sin embargo, puesto que para el verdadero punto medio de la célula los puntos de imagen candidatos de contorno forman una función casi constante ($R = \text{constante}$), las funciones para los segmentos de cuadrícula individuales se distinguen mucho unas de otras y por regla general no se asemejan a una función constante. Cada función R_i para los puntos de imagen candidatos de contorno K , que puede aproximarse lo antes posible mediante una función constante (de entre las nueve curvas), representa a este respecto el punto de cuadrícula con la máxima probabilidad para el punto 660 medio de la célula. Como medida para la aproximación a una función constante puede servir a este respecto, por ejemplo, el error cuadrático, formándose en primer lugar un valor medio y a continuación determinándose el error cuadrático. En otros ejemplos de realización pueden tomarse también otras magnitudes estadísticas como medida para la probabilidad de que el punto 660 medio de la célula se sitúe en un segmento de cuadrícula. Otro ejemplo sería la desviación estándar o una medida ponderada de la desviación.

En la figura 7 en el lado derecho se muestra el contorno 600 de los puntos de imagen candidatos de contorno K , con el que la estimación del punto medio ya ha proporcionado un muy buen resultado (el contorno 600 es casi constante por amplias áreas). La estimación del punto medio mostrada a la derecha en la figura 7 es resultado por tanto de un desarrollo del contorno (mostrado a la izquierda en la figura 7), alrededor de un punto 660 medio y hacia fuera, que proporciona ya una buena estimación.

La figura 8 muestra una representación de la cantidad K_e de puntos Cf,b, que deben eliminarse entre dos posiciones de curvatura extrema. La figura 8 muestra a la izquierda a este respecto, a su vez, el contorno desarrollado, que contiene todavía los puntos de imagen candidatos de contorno K_e suplementarios que han de eliminarse y la figura 8 muestra a la derecha la representación correspondiente, en la que se han eliminado los puntos de imagen candidatos de contorno K_e suplementarios que se han eliminado. El contorno 600 de los puntos de imagen candidatos de contorno K, que señalan la transición entre el plasma celular y el fondo 650, salta a este respecto desde el primer punto de imagen candidato de contorno K1 al segundo punto de imagen candidato de contorno K2, habiéndose identificado el segundo punto de imagen candidato de contorno K2 erróneamente como un punto de contorno entre el plasma celular y el fondo 650 y representando en realidad un punto de contorno entre el eritrocito 620 y el fondo 650. Al unir el contorno 600 con los puntos de imagen candidatos de contorno K_e suplementarios que han de eliminarse se formaría por tanto en la posición del primer punto de imagen candidato de contorno K1 una curvatura muy pronunciada, que es un claro indicio de que los puntos de imagen candidatos de contorno K_e suplementarios no pertenecen al contorno de la célula del leucocito 610. Por consiguiente se eliminan los puntos de imagen candidatos de contorno K_e suplementarios situados entre este tipo de saltos o este tipo de curvaturas pronunciadas. El resultado se muestra en la figura 8 a la derecha, en la que se han eliminado los puntos de imagen candidatos de contorno K_e , que representan un borde de contorno de los eritrocitos. El contorno 600 puede unirse entonces con la sección de contorno 605, marcando el contorno 605 la línea de frontera entre los leucocitos y los eritrocitos.

La figura 9 muestra un tratamiento de imagen por medio de un filtro de Kuwahar, que representa un filtro de suavizado no lineal y que obtiene las aristas y es razonable para un procesamiento previo de la imagen (véase KUWAHARA, M., K. HACHIMURA, S. EIHO y M. KINOSHITA: Digital Processing of Biomedical Images. Plenum Press, Nueva York, EE.UU.: 1976). Tal como muestra la figura 9, se forma a este respecto alrededor de un punto 161 de imagen dado un campo con un número impar de puntos de imagen (5x5 en la figura 2b), de modo que el punto 161 de imagen dado se sitúe en el medio del campo. Finalmente se forman cuatro regiones 161a, 161b, 161c, 161d, de modo que el punto 161 de imagen central en cada caso representa un punto de esquina de las cuatro regiones 161a, ..., 161d. Para cada región se forma una luminosidad promedio con una desviación estándar correspondiente. El filtro de Kuwahara asocia ahora al punto 161 de imagen central el valor promedio de la región que presenta la menor desviación estándar.

En ejemplos de realización pueden usarse también los procedimientos de valor umbral convencionales mencionados al inicio, para registrar un cambio en un valor de tono de color determinado (por ejemplo, para registrar los puntos de imagen candidatos de contorno K a lo largo de la trayectoria). Igualmente pueden usarse los algoritmos para hallar trayectorias convencionales mencionados en ejemplos de realización, por ejemplo, para unir la multitud de puntos de imagen candidatos de contorno K para dar un contorno 600 continuo.

En ejemplos de realización adicionales se identifican los campos con curvatura más pronunciada o saltos a la distancia R en una representación en frecuencia. Siempre que el contorno 600 sea idealmente casi circular, aparecen sólo bajas frecuencias. Los saltos (curvaturas pronunciadas) se muestran sin embargo a altas frecuencias que aparecen de forma multiplicada en la representación en frecuencia y pueden identificarse, por ejemplo, igualmente por medio de un procedimiento de valor umbral.

Otros ejemplos de realización comprenden un procedimiento, en el que la pluralidad de trayectorias 670 comprende entre 50 y 400 o entre 140 y 220 o aproximadamente 180 trayectorias o un procedimiento en el que las etapas de determinación del punto medio de objeto provisional y el adicional presentan una etapa de disposición de una cuadrícula con un primer y un segundo segmento de cuadrícula, eligiéndose como punto medio de objeto provisional un punto predeterminado en el primer segmento de cuadrícula. Como punto medio de objeto adicional se elige un punto predeterminado en el segundo segmento de cuadrícula, comprendiendo la etapa de selección una selección de un segmento de cuadrícula con la máxima medida de calidad.

Otros ejemplos de realización comprenden un procedimiento en el que se detecta el cambio del valor de tono de color por un cambio en el canal H de una imagen transformada por HSI o HSV. En el procedimiento a modo de ejemplo, la determinación del contorno 600 basándose en los puntos de imagen candidatos de contorno K que quedan comprende un procedimiento de seguimiento de trayectoria, creando el procedimiento de seguimiento de trayectoria una curva cerrada como contorno 600.

En el procedimiento según la invención, por ejemplo, la multitud de trayectorias 670 puede situarse entre 50 y 400 o entre 140 y 220 o comprender aproximadamente 180 trayectorias.

Ejemplos de realización comprenden también un dispositivo, en el que el medio para la evaluación está formado para determinar la medida de calidad y la medida de calidad adicional a partir de un rango de oscilación de las distancias R respecto a una distancia media R_m .

En particular se hace referencia a que, dependiendo de las circunstancias, el esquema según la invención también puede implementarse en software. La implementación puede tener lugar en un medio de almacenamiento digital, en particular un disquete o un CD con señales de control legibles electrónicamente, que pueden actuar conjuntamente con un sistema informático programable, de modo que se lleve a cabo el procedimiento correspondiente. En general, la invención se refiere por tanto también a un producto de programa informático con código de programa almacenado en un soporte legible por máquina para llevar a cabo el procedimiento según la invención, cuando el producto de programa

informático se ejecuta en un ordenador. En otras palabras, la invención puede realizarse por tanto como un programa informático con un código de programa para llevar a cabo el procedimiento, cuando el programa informático se ejecuta en un ordenador.

5 Los ejemplos de realización anteriores describen por tanto también un procedimiento así como un dispositivo correspondiente para identificar un punto (660) medio de una célula (610) orgánica con un núcleo (615) celular y plasma celular para segmentarla en una imagen digital, estando delimitado el plasma celular mediante un contorno (600) del objeto (610) respecto de un fondo (650) y estando definido por una multitud de puntos de imagen candidatos de contorno (K), con las siguientes etapas: (a) determinar un punto medio de objeto provisional; (b) determinar las distancias (R) de la multitud de puntos de imagen candidatos de contorno (K) respecto al punto medio de objeto provisional; (c) evaluar las distancias (R), para obtener una medida de calidad para el punto medio de objeto provisional; (d) determinar un punto medio de objeto adicional y repetir las etapas (b) y (c) para los puntos medios de objeto adicionales, para obtener una medida de calidad adicional; y (e) seleccionar un punto (660) medio de objeto a partir del punto medio de objeto provisional y el adicional utilizando la medida de calidad y la medida de calidad adicional. La etapa (c) puede presentar las siguientes subetapas, concretamente (c1) determinar una distancia media (R_m) de las distancias (R); (c2) determinar un rango de oscilación de las distancias (R) respecto a la distancia media (R_m), para determinar la medida de calidad a partir del rango de oscilación determinado. La etapa (a) puede presentar una etapa de disposición de una cuadrícula con un primer y un segundo segmento de cuadrícula, eligiéndose como punto medio de objeto provisional un punto predeterminado en el primer segmento de cuadrícula y eligiéndose como punto medio de objeto adicional un punto predeterminado en el segundo segmento de cuadrícula, pudiendo comprender la etapa (e) una selección de un segmento de cuadrícula con la máxima medida de calidad. A este respecto, las etapas (a) a (d) pueden continuarse iterativamente, disponiéndose en el segmento de cuadrícula con la máxima medida de calidad una cuadrícula adicional con una multitud de segmentos de cuadrícula adicionales, asociándose a cada segmento de cuadrícula adicional una medida de calidad adicional y seleccionándose un segmento de cuadrícula adicional con la máxima medida de calidad adicional.

10

15

20

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para identificar un contorno (600) de un objeto (610) en una imagen digital, con las siguientes etapas:
 - determinar un punto (660) medio de objeto provisional;
 - 5 determinar puntos de imagen candidatos de contorno (K) como puntos de imagen sobre una pluralidad de trayectorias (670) que se alejan del punto (660) medio de objeto provisional mediante el registro de un cambio desde una primera sección hasta una segunda sección de un espacio de características basado en un área de valores de punto de imagen de la imagen digital o mediante el registro de la superación de una intensidad predeterminada de una variación de característica en el espacio de características, realizándose el registro a lo largo de las trayectorias (670) que se alejan y presentando los puntos de imagen candidatos de contorno (K) distancias (R) respecto al punto (660) medio de objeto provisional y estando ordenados de acuerdo con un ángulo polar (θ);
 - 10 evaluar las distancias (R), para obtener una medida de calidad para el punto medio de objeto provisional;
 - determinar un punto medio de objeto adicional y distancias adicionales de los puntos de imagen candidatos de contorno (K) respecto al punto medio de objeto adicional;
 - 15 evaluar las distancias adicionales, para obtener una medida de calidad adicional, indicando la medida de calidad y la medida de calidad adicional las probabilidades de que el punto (660) medio de objeto provisional o adicional en cuestión se encuentre en el medio del contorno (600);
 - seleccionar un punto (660) medio de objeto mejorado a partir del punto medio de objeto provisional o el adicional utilizando la medida de calidad y la medida de calidad adicional;
 - 20 determinar zonas (Z) de puntos de imagen candidatos de contorno contiguos, dentro de las cuales una variación de las distancias (R) o de las distancias adicionales de los puntos de imagen candidatos de contorno (K) se encuentra por encima de un valor umbral (T);
 - eliminar puntos de imagen candidatos de contorno (K_e), que se encuentran entre las zonas (Z) de puntos de imagen candidatos de contorno contiguos y presentan distancias (R) mayores que los puntos de imagen candidatos de contorno (K) que quedan; y
 - 25 determinar el contorno (600) basándose en los puntos de imagen candidatos de contorno (K) que quedan.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el valor umbral (T) corresponde al 5% o al 10% o al 50% de la distancia (R).
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende además la etapa de un procesamiento previo de la imagen digital, presentando el procesamiento previo un filtrado de la imagen digital, presentando un filtro un filtro de suavizado que contiene aristas o un filtro anisotrópico, o presentando el procesamiento previo un registro de tamaños de objetos y una eliminación de objetos, que se encuentran por debajo de un tamaño mínimo.
- 30 4. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, que además presenta la etapa de un procesamiento posterior para el contorno (600), comprendiendo el procesamiento posterior un filtro de mediana o un filtro morfológico.
5. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de determinación de puntos de imagen candidatos de contorno (K) presenta una verificación de puntos de imagen, en cuanto a si una suma de sus tres componentes de color en un espacio de color RGB pasa un umbral predeterminado.
- 40 6. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, en el que el objeto (610) es una célula (610) orgánica con un núcleo (615) celular y plasma celular, estando delimitado el plasma celular por el contorno (600) de un fondo (650), comprendiendo el procedimiento además una determinación de un núcleo celular y presentando la determinación del núcleo celular una verificación de puntos de imagen, en cuanto a si la proporción de una componente de color verde respecto de una azul supera o no un valor umbral.
- 45 7. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, que presenta además la etapa de una separación entre la célula (610) orgánica y células (620) orgánicas adicionales, detectándose la separación de leucocitos y eritrocitos (620) por un cambio de un valor de tono de color o de un cambio de gradiente de color adicional.
- 50 8. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, que presenta además la etapa de una segmentación del núcleo (615) celular, determinándose puntos de imagen del núcleo (615) celular por un

procedimiento de valor umbral, en el que la proporción entre la componente verde y la azul de una imagen RGB supera o no un valor umbral.

- 5 9. Dispositivo para identificar un contorno de un objeto en una imagen digital, presentando en la imagen digital el objeto (610) un primer valor de tono de color, y un fondo (650), un segundo valor de tono de color, con las siguientes características:
- un medio para la determinación de un punto (660) medio de objeto provisional;
- 10 un medio para la determinación de puntos de imagen candidatos de contorno (P) como puntos de imagen sobre una pluralidad de trayectorias (670) que se alejan del punto (660) medio de objeto provisional mediante el registro de un cambio desde una primera sección hasta una segunda sección de un espacio de características basado en un área de valores de punto de imagen de la imagen digital o mediante el registro de la superación de una intensidad predeterminada de una variación de característica en el espacio de características o mediante el registro de una superación de una intensidad predeterminada de una variación de característica en el espacio de características, realizándose el registro a lo largo de las trayectorias (670) que se alejan y presentando los puntos de imagen candidatos de contorno (K) distancias (R) respecto al punto (660) medio de objeto provisional o respecto a uno mejorado y estando ordenados de acuerdo con un ángulo polar (θ);
- 15 un medio para la evaluación de las distancias (R), para obtener una medida de calidad para el punto medio de objeto provisional, indicando la medida de calidad la probabilidad de que el punto (660) medio de objeto provisional se encuentre en el medio del contorno (600),
- 20 un medio para la selección de un punto (660) medio de objeto mejorado utilizando la medida de calidad;
- un medio para la determinación de zonas (Z) de puntos de imagen candidatos de contorno contiguos, dentro de las cuales una variación de las distancias (R) de los puntos de imagen candidatos de contorno (K) se encuentra por encima de un valor umbral (T);
- 25 un medio para la eliminación de puntos de imagen candidatos de contorno (Ke) entre las zonas (Z) de puntos de imagen candidatos de contorno, presentado los puntos de imagen candidatos de contorno que han de eliminarse distancias (R) mayores que los puntos de imagen candidatos de contorno (K) que quedan; y
- un medio para la determinación del contorno (600) basándose en los puntos de imagen candidatos de contorno que quedan.
- 30 10. Programa informático con un código de programa para llevar a cabo el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8, cuando el programa informático se ejecuta en un ordenador.

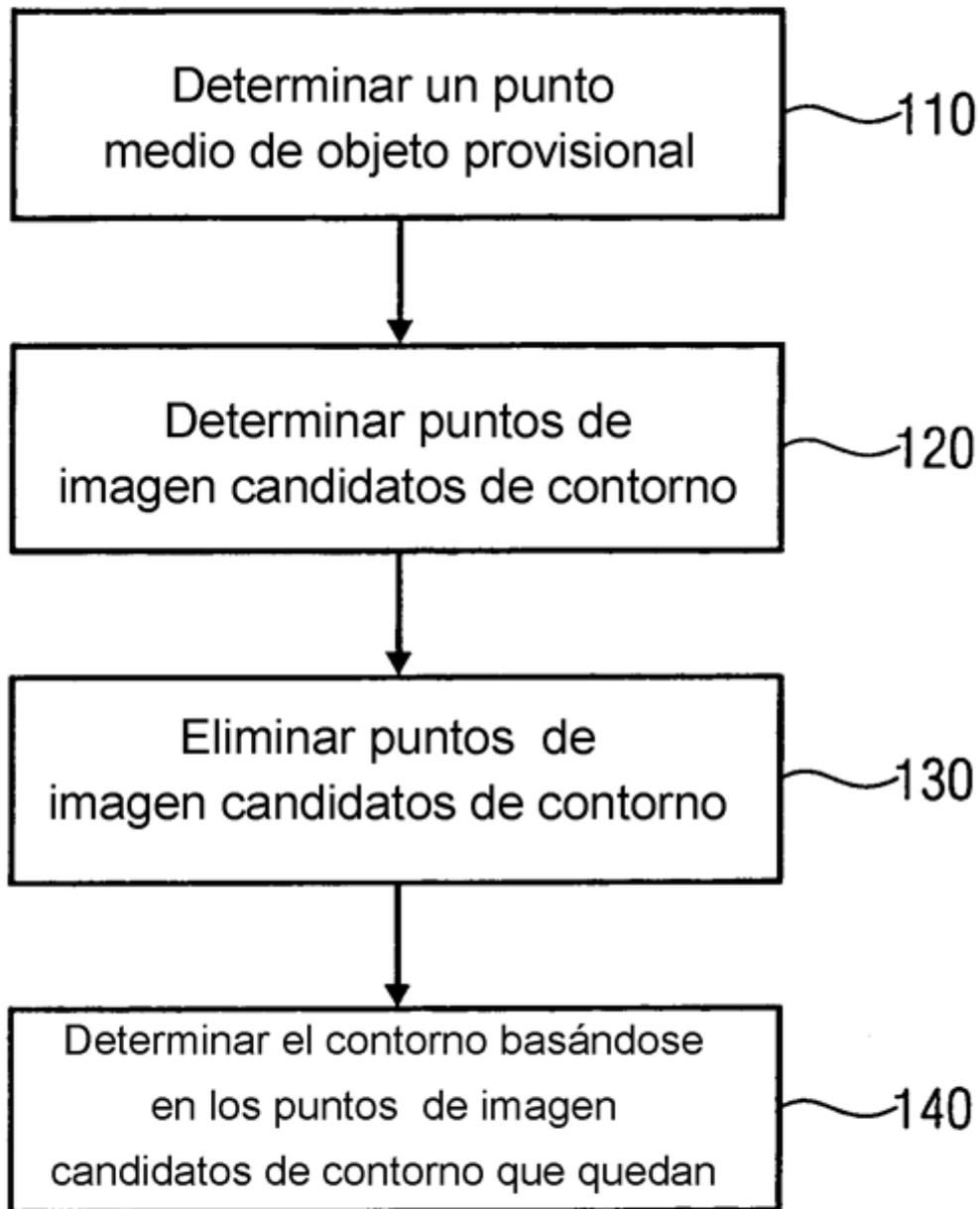


FIG 1

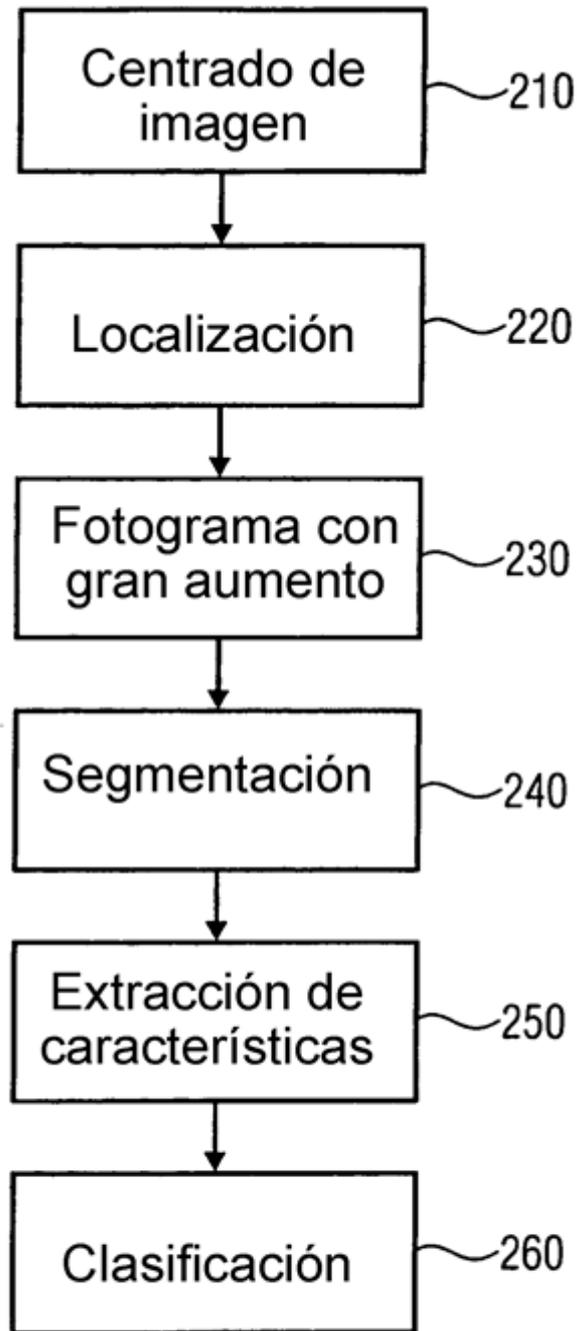


FIG 2

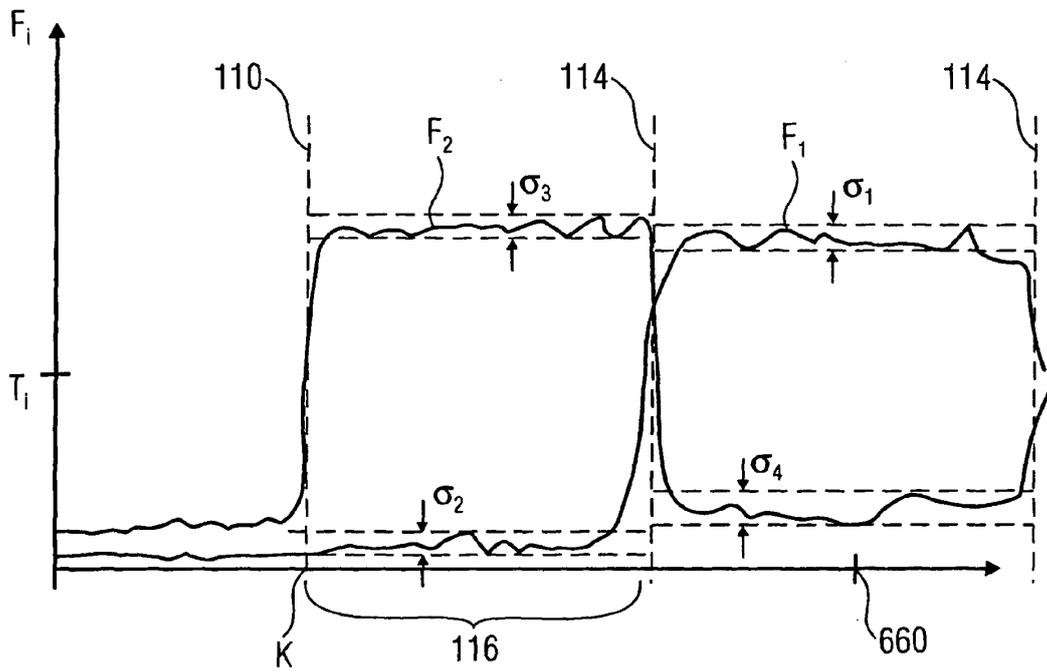


FIG 3

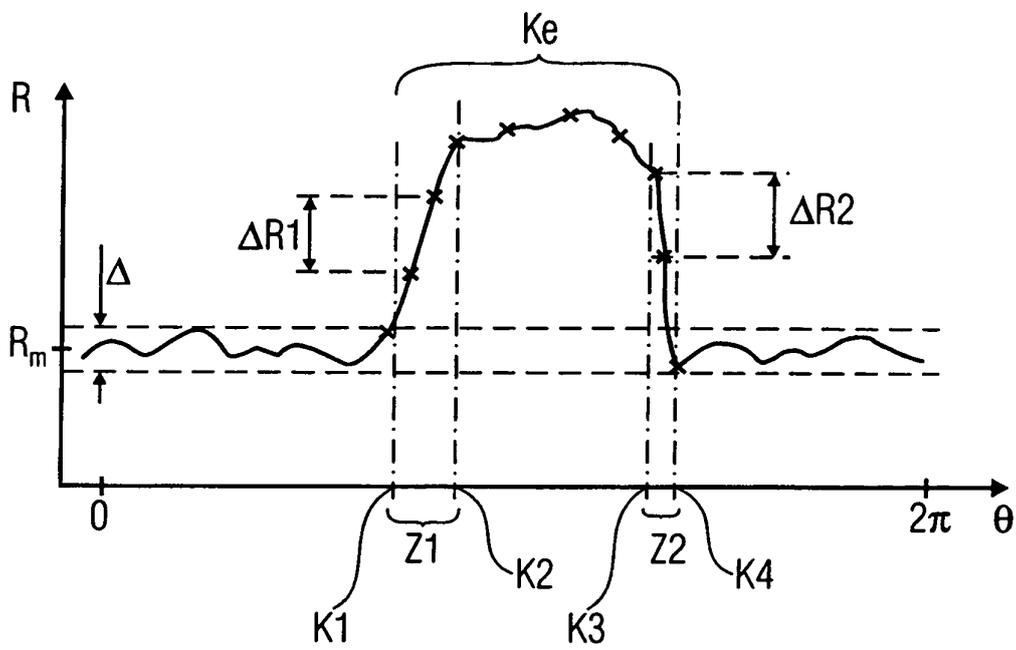


FIG 4

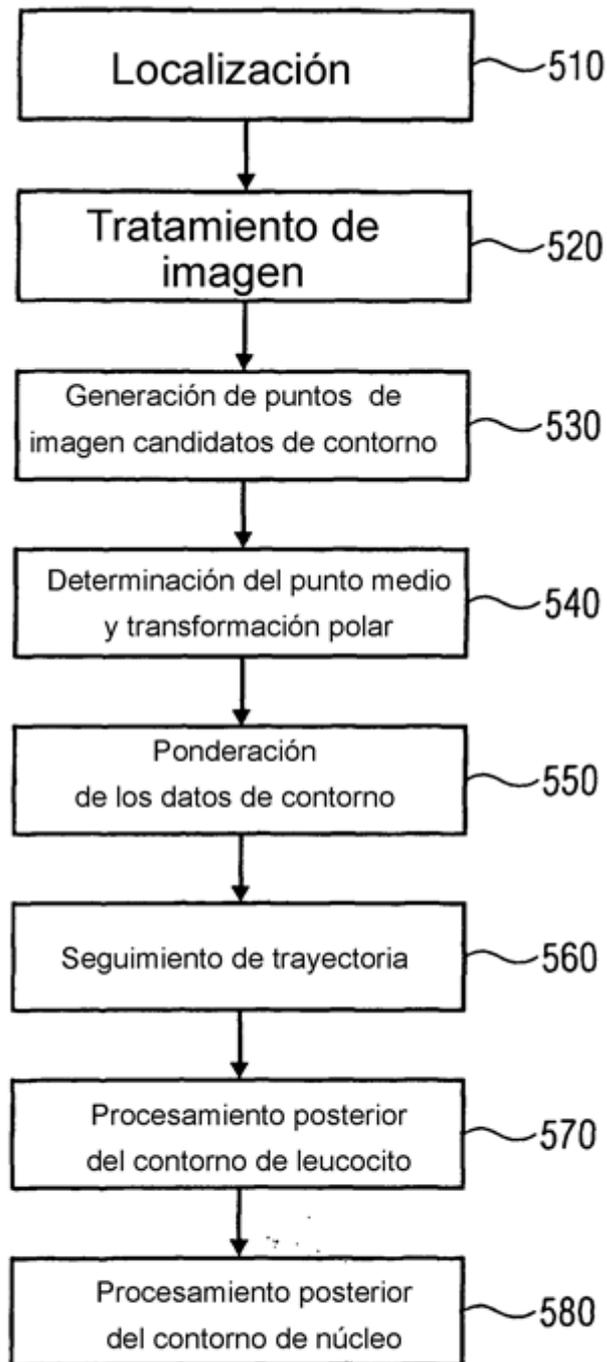


FIG 5

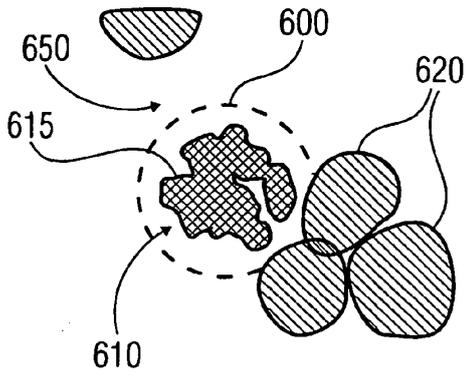


FIG 6A

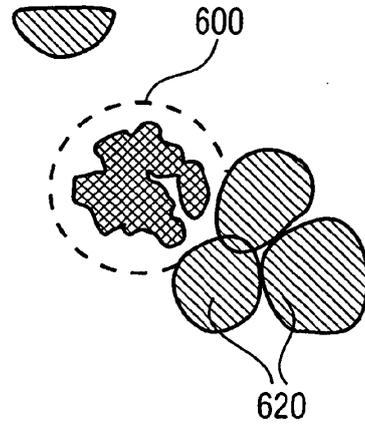


FIG 6B

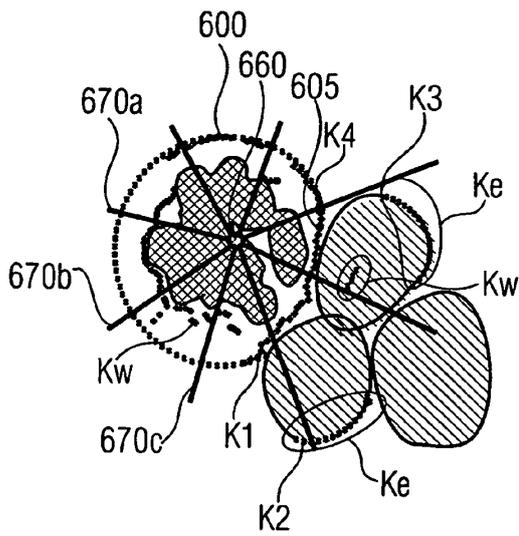


FIG 6C

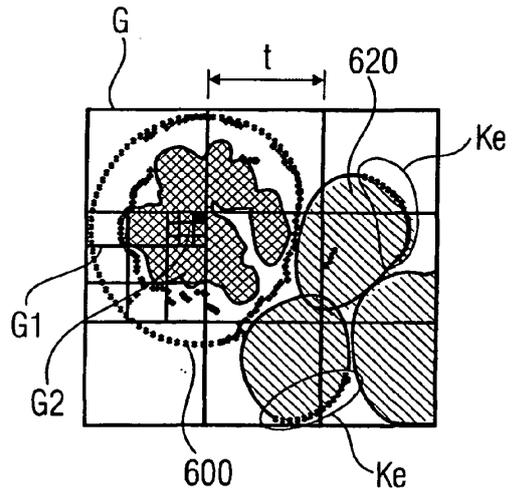


FIG 6D

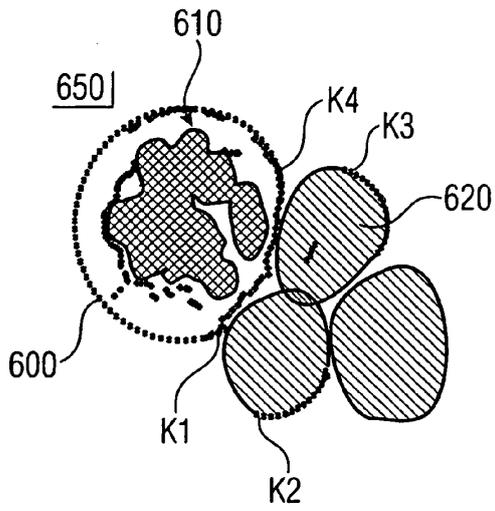


FIG 6E

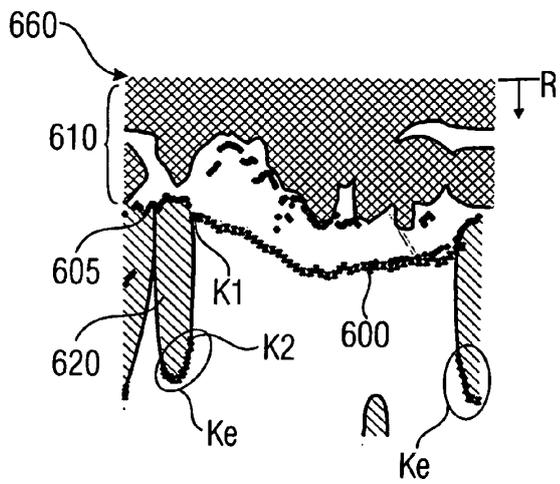


FIG 6F

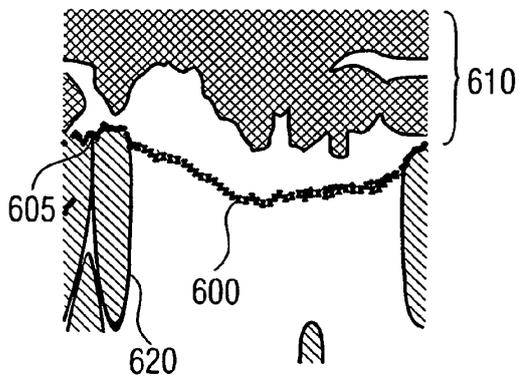


FIG 6G

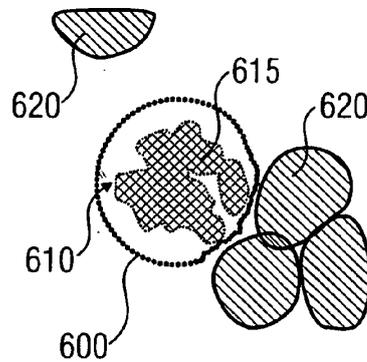


FIG 6H

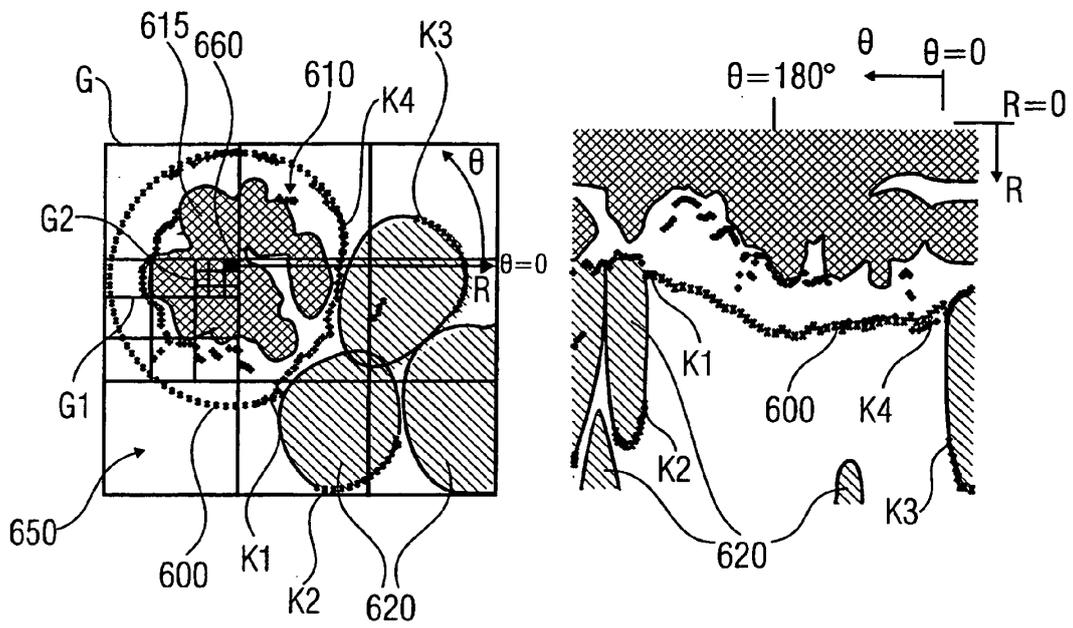


FIG 7

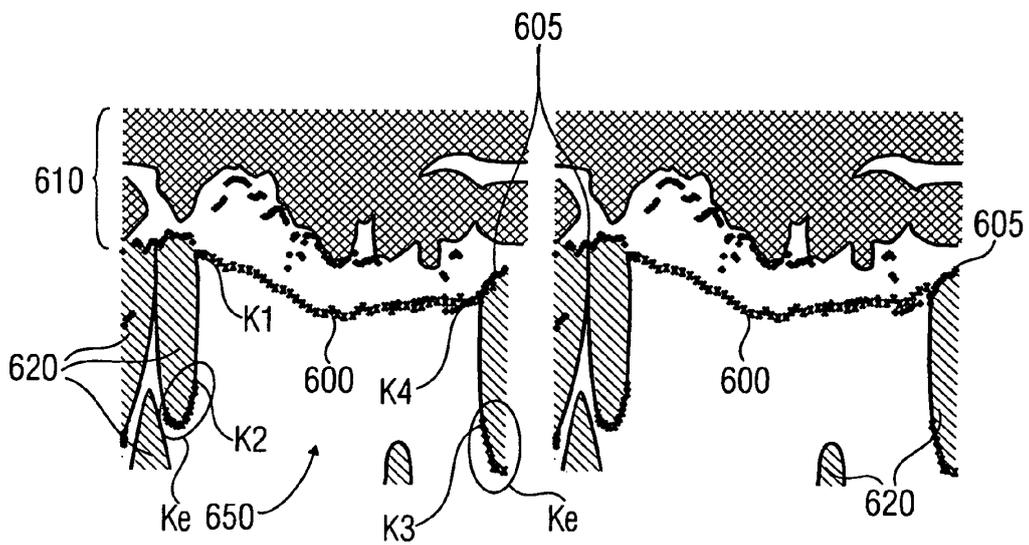


FIG 8

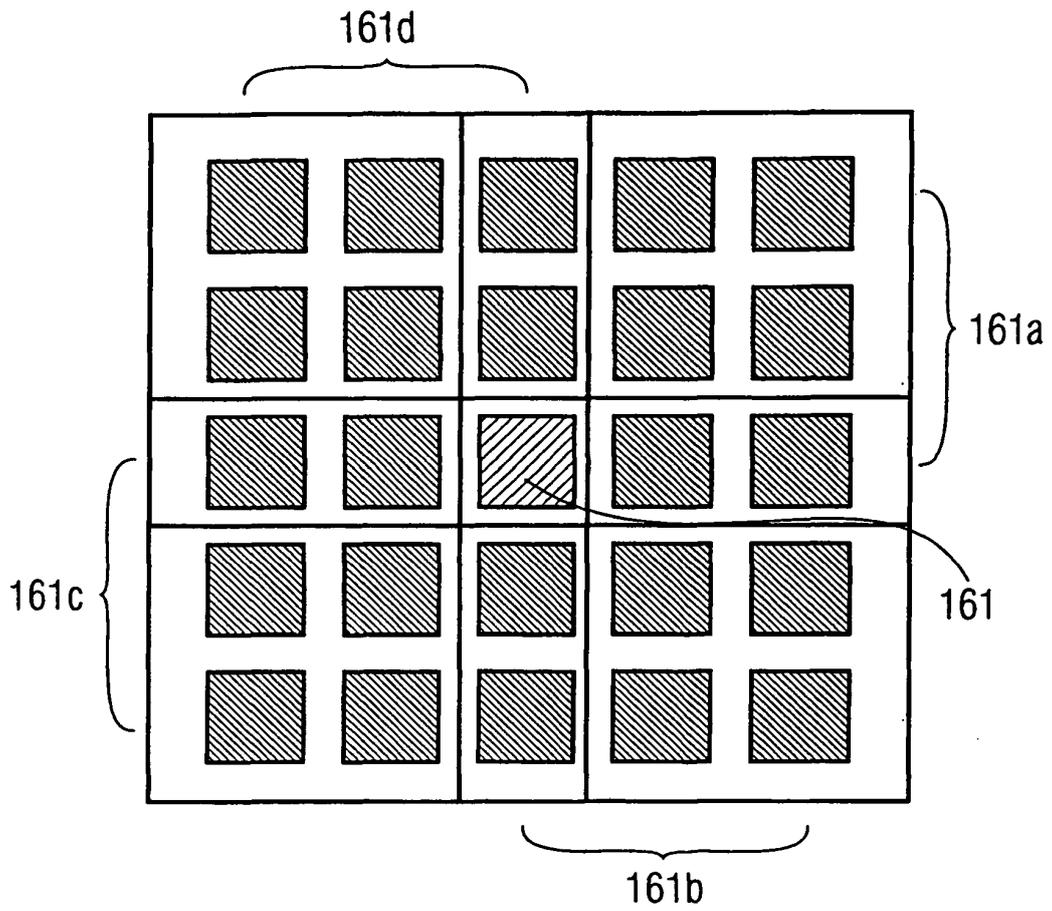


FIG 9