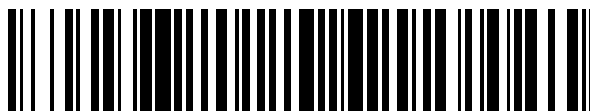


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 500 916**

51 Int. Cl.:

G06T 7/00 (2006.01)

G02B 21/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2009 E 09769502 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.07.2014 EP 2300985**

54 Título: **Procedimiento de análisis celular de una muestra por medio de una placa de análisis virtual**

30 Prioridad:

30.05.2008 FR 0802994

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.10.2014

73 Titular/es:

**NOVACYT (100.0%)
13 avenue de Morane Saulnier
78140 Velizy Villacoublay, FR**

72 Inventor/es:

PELTIER, ERIC

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 500 916 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 de análisis celular de una muestra por medio de una placa de análisis virtual.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de análisis celular de una muestra citológica o histológica dispuesta sobre una placa de análisis, tal como se describe en la reivindicación 1.

La invención se aplica particularmente a unos procedimientos de análisis citológico o histológico.

10 La invención se refiere asimismo a un procedimiento de preparación de una placa de análisis virtual de una muestra para permitir su análisis celular, en particular según un procedimiento de análisis tal como se ha descrito anteriormente.

15 El análisis de muestras se utiliza, por ejemplo, para el diagnóstico de patologías, por ejemplo a partir de células extraídas por frotis (cervicales, vaginales u otros), por punción de órganos (seno, tiroides, ganglios u otros) o también por recogida (orina, lavado broncoalveolar u otros), para detectar cualquier tipo de patología y más particularmente unos estados precancerosos o cancerosos.

20 Las muestras son examinadas por unos observadores especializados y entrenados para detectar las células susceptibles de ser patológicas en una muestra dispuesta sobre una placa de análisis, o portaobjeto de análisis. Con el fin de permitir la detección de células potencialmente patológicas, la muestra sufre un tratamiento, tal como una coloración que permite poner en evidencia, entre otras, las características del núcleo y del citoplasma de las células con el fin de ayudar a la localización y al diagnóstico de las células patológicas. Cuando se observa la muestra, las células potencialmente patológicas muestran entonces diferencias de afinidades tintóreas, de tamaño y de forma,
25 tanto a nivel del núcleo como del citoplasma, con respecto a las células normales.

El análisis se puede realizar de manera manual, sin asistencia particular. En este caso, el médico o el técnico especializado hace pasar unas placas de muestra bajo un microscopio y observa cada una de ellas para detectar las anomalías morfológicas que indican unas células patológicas que pueden corresponder a un estado pre-canceroso o canceroso, por ejemplo. Un método de análisis de este tipo es fastidioso y consume muchísimo tiempo. Además, no ofrece resultados satisfactorios con, sobre todo, un número de "falsos negativos" estimados en aproximadamente el 30%, es decir muestras consideradas como normales, aunque exista una patología en el paciente, en particular pre-canceroso o canceroso, con los riesgos de evolución ulterior del cáncer en un paciente tranquilizado erróneamente.

30 Para mejorar los resultados de los análisis, se ha propuesto mejorar el muestreo, es decir el número de células, su fijación, su coloración y su esparcimiento sobre la placa de análisis, pero también ayudar en su análisis al médico o al técnico especializado, por ejemplo gracias a unos medios informáticos de análisis, tales como unos programas de tratamiento de imágenes y otros.

40 Para ello, se utiliza una cámara o un aparato de toma de imágenes para adquirir unas imágenes de las diferentes zonas de la muestra dispuesta sobre la placa de análisis y comunicar los datos de estas imágenes a un sistema informático que trabaja entonces sobre una placa de análisis "virtual".

45 Este sistema informático permite un tratamiento de la señal, un pre-tratamiento de las imágenes y un análisis comparativo de las imágenes con, eventualmente, unas bases de datos nuevamente creadas o existentes con el fin de acelerar el proceso de análisis y permitir así el análisis de un número más alto de muestras y con el fin de asistir al médico o al técnico especializado. Las imágenes de una muestra son examinadas, por ejemplo, automáticamente y si se localizan algunas zonas que presentan una anomalía, las imágenes correspondientes son comunicadas a un médico o un técnico especializado que puede entonces determinar si estas zonas muestran unas células patológicas o no. El médico o el técnico especializado observa entonces sólo unas zonas anormales sin analizar las zonas consideradas como normales por el sistema informático. Un procedimiento de este tipo permite efectivamente acelerar el análisis.

50 Sin embargo, el médico o el técnico especializado ya no tiene entonces la ocasión de observar unas muestras normales o que presentan unas modificaciones morfológicas menores, lo cual es perjudicial para su apreciación de las muestras y sobre todo para su curva de aprendizaje, incluso la conservación de su agudeza de diagnóstico. En efecto, el análisis de muestras se basa en la formación y la práctica del médico o del técnico especializado para examinar unas muestras y comparar unas zonas normales y unas zonas que presentan unas anomalías. El hecho de suprimir esta práctica por un análisis asistido por ordenador puede llevar a los médicos o a los técnicos especializados a perder sus competencias y así llevar a errores de análisis.

60 La invención pretende paliar los inconvenientes mencionados anteriormente, proponiendo un procedimiento de análisis que, estando al mismo tiempo asistido con el fin de permitir un ahorro de tiempo notable, permita también que los médicos o técnicos especializados se entrenen para observar unas muestras tanto normales como anormales.

65

Para ello, la invención se refiere a un procedimiento de análisis del tipo citado anteriormente que comprende además las etapas siguientes:

- 5 - hacer pasar automáticamente todas las imágenes adquiridas de la muestra sobre un medio de visualización a una velocidad de desplazamiento predeterminada, siendo dicha velocidad adecuada para permitir que un observador analice la imagen y determine si la zona de muestra representada comprende unas células eventualmente patológicas o no,
- 10 - detener el desplazamiento si se detecta por lo menos una anomalía que puede significar la presencia de una célula patológica,

y por que la detención del desplazamiento se realiza de manera automática tras un análisis automatizado de la imagen, siendo dicha detención efectuada si un objeto particular, definido como anormal, es detectado en la imagen.

15 Así, el médico o el técnico especializado observa tanto las zonas normales como las zonas anormales de la muestra y el análisis es más rápido que un análisis manual debido al desplazamiento automático de las imágenes recogidas. Además, el procedimiento según la invención permite reconstituir totalmente la imagen de una muestra con el fin de librarse de la utilización de un microscopio, mediante un aparato de toma de imágenes que permite una adquisición de las imágenes que representa la totalidad de la superficie de la placa de análisis, como se describirá ulteriormente.

20 Según otras características del procedimiento de análisis:

- la velocidad de desplazamiento de las imágenes es regulable,
- 25 - el procedimiento comprende además una etapa de reinicio del desplazamiento después del análisis de la zona de la muestra que presenta una anomalía, siendo dicha etapa de reinicio mandada por el observador,
- el procedimiento comprende una etapa de parada automática del desplazamiento sobre una imagen que no presenta anomalía o que corresponde a objetos necesarios para la evaluación de la representatividad de la muestra, siendo el reinicio del desplazamiento mandado por el observador después de la validación de que la imagen no presenta anomalía,
- 30 - se realizan dos tratamientos diferentes sobre la muestra, siendo dichos tratamientos adecuados para permitir el marcado de células patológicas entre las células de la muestra, efectuándose dos etapas de adquisición de imágenes, permitiendo cada etapa de adquisición la detección de anomalías según uno de los tratamientos efectuados sobre la muestra, siendo los datos de las imágenes adquiridas por cada etapa de adquisición superpuestos de manera que permitan que el observador pase de la imagen de una zona adquirida según una etapa de adquisición, a la imagen de la misma zona adquirida según la otra etapa de adquisición durante el desplazamiento de las imágenes,
- 35 - el paso de la imagen de una zona según una etapa de adquisición a la imagen de la misma zona adquirida según la otra etapa de adquisición se lleva a cabo cuando se ha detectado una anomalía en la imagen,
- 40 - las etapas de tratamiento son unas etapas de coloración o de marcado de la muestra por fluoróforos,
- 45 - la visualización de la imagen adquirida según la otra etapa de adquisición está acompañada de la visualización de informaciones sobre la zona de la muestra visualizada y/o la totalidad de la muestra y/o el paciente sobre el cual se ha realizado la muestra,
- 50 - el procedimiento comprende una etapa de ampliación de una imagen con el fin de permitir el visionado de un detalle de la zona visualizada,
- el porcentaje de ampliación es regulable.

55 La invención se refiere asimismo a un procedimiento de preparación de una placa de análisis virtual de una muestra para permitir su análisis celular, del tipo que comprende las etapas siguientes:

- preparar una muestra,
- 60 - efectuar una primera etapa de tratamiento de la muestra, permitiendo dicho tratamiento marcar las células patológicas con respecto a las otras células,
- efectuar una segunda etapa de tratamiento de la muestra, permitiendo dicho tratamiento marcar, de manera diferente a la de la primera etapa de tratamiento, las células patológicas con respecto a las otras células,
- 65 - depositar la muestra sobre una placa de análisis antes o después, o entre las etapas de tratamiento de la

muestra.

Este procedimiento comprende además las etapas siguientes:

- 5
- efectuar una primera adquisición de imágenes de la muestra dispuesta en la placa de análisis con el fin de obtener una pluralidad de imágenes que representan, cada una, una zona de la placa de análisis, formando dichas imágenes puestas una al lado de la otra una imagen de la totalidad de la muestra, permitiendo dichas imágenes la detección de las células patológicas marcadas por la primera etapa de tratamiento,
- 10
- efectuar una segunda adquisición de imágenes de la muestra dispuesta sobre la placa de análisis con el fin de obtener una pluralidad de imágenes que representan, cada una, una zona de la placa de análisis, formando dichas imágenes puestas una al lado de la otra una imagen de la totalidad de la muestra, permitiendo dichas imágenes la detección de otras anomalías celulares diferentes de las marcadas por la primera etapa de tratamiento,
- 15
- formando dichas imágenes adquiridas una placa de análisis virtual.

Un procedimiento de este tipo permite realizar de manera particularmente simple una imagen de una muestra que permite detectar de dos maneras diferentes unas células eventualmente patológicas y adquirir un gran número de informaciones sobre la muestra, tal como se describirá ulteriormente.

Según otras características del procedimiento de preparación:

- 25
- el procedimiento comprende además una etapa de superposición de los datos de las imágenes adquiridas durante la primera adquisición de las imágenes y los de las imágenes adquiridas durante la segunda adquisición de las imágenes,
- 30
- la primera etapa de tratamiento de la muestra es una etapa de marcado fluorescente,
 - la primera etapa de tratamiento comprende una etapa de introducción de bolas de referencia en las muestras, sirviendo dichas bolas de controles para el desarrollo de la adquisición de imágenes,
 - la segunda etapa de tratamiento de la muestra es una etapa de coloración de Papanicolaou.

35 Una placa de análisis virtual obtenida mediante el procedimiento de preparación descrito anteriormente se analiza después mediante el procedimiento de análisis descrito anteriormente.

La solicitud internacional WO 01/84209 describe un procedimiento de análisis de una muestra citológica en la que se reúne una serie de imágenes con el fin de formar una sola imagen grande compuesta. La imagen compuesta se presenta después a un operador.

Otros aspectos y ventajas de la invención aparecerán con la lectura de la descripción siguiente, dada a título de ejemplo y realizada en referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

- 45
- la figura 1 es una representación esquemática de las diferentes etapas de un procedimiento de preparación de una placa de análisis virtual según la invención,
 - la figura 2 es un organigrama que representa las diferentes etapas de un procedimiento de análisis celular según la invención.
- 50

En referencia a la figura 1, se describe un procedimiento de preparación de una placa de análisis virtual 1 para su análisis celular asistido por un sistema informático. Por placa virtual 1, se entiende un conjunto de informaciones y de datos digitales agrupados que se refieren a una muestra 2.

55 La muestra 2 se obtiene, por ejemplo, por frotis (cervicales, vaginales u otros), por punción de órganos (seno, tiroides, ganglio u otros) o también por recogida (orina, lavado bronco-alveolar u otros). Durante una primera etapa A, la muestra se pone en suspensión, por ejemplo en un tubo o un frasco de muestras 4.

60 Durante una etapa B, la muestra sufre un primer tratamiento que prevé marcar las células patológicas con respecto a las otras células. Según un modo de realización, este primer tratamiento es un marcado fluorescente que permite no sólo marcar las células patológicas, sino también determinar varias características de la muestra. En efecto, este marcado fluorescente pone en evidencia un componente específico del núcleo o del citoplasma y permite hacer destacar al uno con respecto al otro con el objetivo de seleccionar las células potencialmente patológicas. Un marcado de este tipo permite, cuando es específico del ADN, hacer una cuantificación del ADN de las células de la muestra para un análisis de la ploidia por ejemplo o, cuando es específico de una molécula o de un virus oncogénico, tal como el *Human Papilloma virus*, en el caso el frotis del cuello uterino por ejemplo, hacer un cribado

65

de las células potencialmente patológicas.

El marcado fluorescente se realiza, por ejemplo, de manera automática por medio de un autómatas 4 provisto de medios de pipeteo, utilizados al mismo tiempo para la puesta en solución de la muestra y para la mezcla de la muestra con unas moléculas fluorescentes. Según un modo de realización, se introducen unas bolas de referencia en la solución de la muestra 2. Dichas bolas son marcadas por una molécula fluorescente y permiten facilitar el enfoque automático durante la adquisición de imágenes de la muestra, tal como se describirá ulteriormente.

Durante una etapa C, se dispone la muestra 2 marcada en una placa de análisis 6. De manera conocida, el depósito de las células sobre la placa 6 se realiza, por ejemplo, por decantación. La muestra 2 se vierte en una cámara de decantación 8 cuyo fondo está abierto sobre la placa de análisis 6. Unos medios de absorción 10 permiten la absorción de la solución a medida que las células se depositan sobre la placa de análisis 6. Dicho procedimiento de depósito es conocido y no se describirá en detalle en la presente memoria.

Durante una etapa D, la muestra 2 sufre un segundo tratamiento que prevé colorear las células, tal como se describe clásicamente y conocido para un análisis morfológico por el experto en la materia. Según un modo de realización, este segundo tratamiento es una coloración de Papanicolaou. Dicha coloración se conoce desde hace mucho tiempo, y la semiología, ampliamente descrita en la bibliografía, permite el reconocimiento eventual de anomalías que corresponden, por ejemplo, a la presencia de células pre-cancerosas o cancerosas. Esta coloración permite también el reconocimiento de los diferentes tipos de células y de su número con el fin de determinar la calidad representativa de la muestra y, por ejemplo, definir si la muestra es representativa o no. La etapa de coloración de Papanicolaou también puede ser realizada con unos medios de pipeteo automáticos.

La etapa de decantación de la suspensión celular puede ser realizada antes, después o entre las etapas de marcado y de coloración descritas anteriormente.

Las etapas descritas anteriormente, que asocian un marcado fluorescente y una coloración conocida para el análisis celular, son sencillas de realizar y permiten obtener una muestra fácilmente legible y proporcionan unas informaciones complementarias importantes sobre la muestra. Se podrían utilizar otras coloraciones utilizadas en el estado de la técnica, pero adolecen de inconvenientes. Así, se podría considerar una coloración estequiométrica, que ofrece una coloración de las células proporcional a la cantidad de ADN, lo cual permite su cuantificación, y por lo tanto localizar y analizar las células patológicas en el ámbito de la ploidia. Sin embargo, esta coloración particular, cuando se trata de una coloración de Feuglen, por ejemplo, es incompatible con la coloración de Papanicolaou y necesita por lo tanto rehacer un esparcimiento celular sobre el portaobjetos para el análisis del médico o del técnico en citología. Algunas industrias han intentado asociar una coloración estequiométrica con la coloración de Papanicolaou y han utilizado, por lo tanto, una coloración que contiene una tiónina y que necesita una fijación con metanol que es tóxica, y sobre todo que modifica la coloración de Papanicolaou en su interpretación, en particular con unos núcleos cuya cromatina aparece demasiado "negra" para un análisis fino de la composición de dichos núcleos, y por lo tanto conlleva una dificultad de análisis para el diagnóstico de estados pre-cancerosos o cancerosos.

Se puede utilizar un marcador diferente de los marcadores utilizados para la cuantificación del ADN, tal como la hipericina o un marcador específico de proliferación o de agentes patógenos, tales como unos virus oncógenos de tipo *Human Papilloma Virus*, en el caso del frotis del cuello uterino por ejemplo.

Durante una etapa E, la placa de análisis 6 que comprende la muestra, que contiene uno o varios marcadores fluorescentes específicos y coloreada por un colorante conocido para el análisis morfológico de la célula, así como las bolas fluorescentes de referencia que permiten mejorar la gestión del enfoque, se somete, una o más veces, a una fuente de luz excitadora continua o impulsional de la fluorescencia, coherente o no, en cualquier campo espectral que va del ultravioleta al infrarrojo, que ilumina la muestra con el fin de permitir adquirir unas imágenes de la muestra por medio de un aparato de adquisición de imágenes 14. La adquisición de imágenes en fluorescencia permite efectuar un enfoque automático gracias a las bolas fluorescentes de referencia, y obtener así el mayor número de imágenes con un enfoque óptimo. El conjunto de las imágenes de la muestra obtenidas en fluorescencia, que pueden corresponder a una o varias iluminaciones de la fuente de luz excitadora de la fluorescencia, permite diferenciar las células normales de las células patológicas.

Durante una etapa F, la placa de análisis 6 que comprende la muestra, que contiene uno o varios marcadores fluorescentes específicos y coloreados por un colorante conocido para el análisis morfológico de la célula, se somete a una iluminación en luz blanca 16 con el fin de adquirir unas imágenes de la muestra por medio del dispositivo de adquisición de imágenes 14. La adquisición de imágenes en luz blanca permite obtener unas imágenes de la muestra coloreada por la coloración de Papanicolaou y que hace destacar los criterios de diagnósticos estándares que utiliza el experto en la materia para realizar un diagnóstico.

La adquisición de imágenes en fluorescencia se realiza antes de la adquisición de imágenes en luz blanca, con el fin de evitar los fenómenos de blanqueamiento (o "bleaching") de la imagen que se producirían durante la adquisición de imágenes en fluorescencia si la placa fuese previamente iluminada con luz blanca, lo cual perjudicaría el aprovechamiento de las imágenes en fluorescencia.

El aparato de adquisición de imágenes 14 permite escanear la muestra 2 con una resolución muy fina y obtener a partir de una misma placa unas imágenes en fluorescencia o en luz blanca. La placa de análisis está escaneada línea por línea. Así, cada imagen adquirida representa una banda 18 de baja anchura de la placa de análisis. Las imágenes colocadas una al lado de la otra permiten obtener una imagen 20 de la totalidad de la placa de la muestra 6 y por lo tanto de la totalidad de la muestra 2, como se representa en la etapa G de la figura 1. Dicho método de adquisición de imágenes línea por línea es más eficaz que la adquisición "campos por campos" empleada hasta ahora, y permite estandarizar la multiplicidad de los pasos por la fluorescencia y disminuir al mismo tiempo el riesgo de blanqueamiento (o "bleaching"). Así, la imagen 20, obtenida con un solo y mismo aparato 14 y de manera muy simple, es una representación fiel de la muestra que asocia un gran número de informaciones en fluorescencia y en luz blanca.

El aparato de adquisición de imágenes es, por ejemplo, del tipo "Nanozoomer" comercializado por la compañía HAMAMATSU.

Los datos digitales obtenidos con el aparato 14 en fluorescencia y en luz blanca son después superpuestos por un sistema de tratamiento informático con el fin de que el sistema de tratamiento informático pueda pasar unos datos obtenidos bajo una iluminación a los datos obtenidos bajo otra iluminación para cada banda 18 de la imagen de la muestra.

Se obtiene así una placa de análisis virtual formada por la imagen 20 y por datos asociados a esta imagen y que puede ser analizada por un procedimiento de análisis celular que se describirá ahora en referencia a la figura 2.

El análisis celular se realiza mediante un examen de las imágenes de la muestra 2 por el médico o el técnico especializado encargado de detectar las células patológicas, para proponer un diagnóstico que iniciará eventualmente unos exámenes más profundos, incluso un tratamiento. Por razones de seguridad, la presencia del médico o del técnico especializado es obligatoria, de manera que la detección de células eventualmente patológicas no puede ser totalmente automatizada.

Durante una etapa H, las imágenes coloreadas por una coloración estándar, tal como la de Papanicolaou y adquiridas en luz blanca, son proyectadas sobre un medio de visualización tal como una pantalla y pasan bajo los ojos del médico o del técnico especializado para su examen. El desplazamiento de las imágenes está organizado por el sistema informático y se realiza por lo tanto de manera automática. Cada imagen se muestra completamente, sin visualización de datos complementarios sobre el paciente, con el fin de evitar dispersar la atención del médico o del técnico especializado durante el análisis (o "screening" en inglés), y esto durante un tiempo predeterminado calculado para permitir que el médico o el técnico especializado observen la totalidad de cada imagen proyectada y detecten una eventual anomalía en una imagen.

El tiempo de visualización de cada imagen puede ser regulado por el médico o el técnico especializado en función de sus competencias o en función de otras informaciones. Por ejemplo, si la muestra se ha efectuado para un paciente "de riesgo" que tiene una mayor probabilidad de presentar unas células patológicas, el tiempo de visualización puede ser regulado para que sea más largo, con el fin de efectuar un examen más minucioso de la muestra. Las informaciones sobre el paciente pueden estar asociadas a la placa de análisis virtual, entrando estas informaciones en una base de datos y asociándolas a la imagen 20 de la muestra que corresponde al paciente sobre el cual se ha efectuado esta muestra. Los tiempos de visualización pueden ser regulados automáticamente en función de estas informaciones. Por ejemplo, el sistema informático comprende una pluralidad de tiempos de visualización preregulados y que corresponden cada uno a un grado de riesgo de detectar una anomalía sobre el paciente. Este grado de riesgo es indicado por el profesional que efectúa la muestra, y se adjunta a la muestra efectuada. Así, el sistema informático informa del grado de riesgo y regula el tiempo de visualización en consecuencia. El tiempo de visualización puede también ser regulado manualmente por el médico o el técnico especializado.

Las imágenes que se desplazan son, por lo tanto, las adquiridas con la coloración de Papanicolaou. Las imágenes bajo esta coloración permiten detectar la presencia eventual de anomalías que corresponden por ejemplo a la presencia de células pre-cancerosas o cancerosas y cuya semiología, conocida desde hace mucho tiempo, está ampliamente descrita en la bibliografía. Además, como se ha indicado anteriormente, la coloración de Papanicolaou permite verificar si la muestra responde bien a los criterios de Bethesda, en el ámbito del frotis del cuello uterino por ejemplo, y es por lo tanto una muestra válida o no. Los criterios de Bethesda pueden ser verificados de manera automática por el sistema informático por medio de un programa de análisis de imágenes. Este programa puede, por ejemplo, efectuar un recuento de las células sobre la imagen 20 con el fin de verificar si por lo menos 5000 células han sido realmente extraídas y si se han extraído algunos tipos de células control para la buena calidad de la muestra, tales como unas células endocervicales o de la unión. El programa puede adquirir también otras informaciones sobre el esparcimiento celular. Estas informaciones están vinculadas a la imagen 20 por el sistema informático para completar la placa de análisis virtual.

El médico o el técnico especializado observa cada imagen mostrada, en la pantalla, y determina si una anomalía

está presente o no en la etapa I. Esta detección puede ser efectuada también de manera automática por el sistema informático por medio del programa de análisis de imágenes.

5 En el caso en el que ni el médico o el técnico especializado, ni el sistema informático detectan anomalías en la imagen mostrada, el procedimiento vuelve a la etapa H y continúa con la proyección de la imagen siguiente después del final del tiempo de visualización regulado.

10 Según un modo de realización, se prevé una etapa J, durante la cual el sistema informático detiene automáticamente el desplazamiento de las imágenes sobre una imagen sobre la cual no se ha detectado ninguna anomalía y espera una validación del médico o del técnico especializado para reiniciar el desplazamiento. La detención sobre tal imagen permite analizar en detalle unas imágenes denominadas de referencia, con el fin de confirmar lo que se considera como muestra normal. La detención sobre unas imágenes denominadas normales se puede llevar a cabo de manera aleatoria o al final de un cierto número de imágenes mostradas. La descripción del análisis detallado de una imagen se realiza a continuación en relación con el análisis de una imagen que presenta una anomalía.

15 Si una anomalía es detectada por el médico o el técnico especializado y/o el sistema informático durante la etapa I, el procedimiento continúa en la etapa K por la interrupción del desplazamiento de las imágenes.

20 La interrupción del desplazamiento se realiza de manera automática mediante el sistema informático si éste detecta una anomalía, o de manera manual por el médico o el técnico especializado si desea observar una imagen más en detalle o si localiza una anomalía.

25 La imagen se visualiza entonces con un porcentaje de ampliación superior, con el fin de visualizar la anomalía en detalle. Entonces se pueden mostrar unas informaciones sobre el paciente simultáneamente, con el fin de proporcionar una ayuda complementaria a la decisión del médico.

30 El procedimiento según la invención permite una detención automática del desplazamiento de las imágenes sobre una imagen que muestra unos elementos eventualmente patológicos. El procedimiento permite por lo tanto disminuir el porcentaje de falsos negativos y aumentar por lo tanto la sensibilidad de la detección de las muestras patológicas, que corresponde a unas anomalías de las células que habrían escapado de la vigilancia del médico o del técnico especializado, debido a que el sistema informático selecciona las células patológicas sobre las imágenes adquiridas tanto en fluorescencia como en luz blanca, al contrario que el médico o el técnico especializado, cuyo primer análisis se basa sólo en las imágenes en luz blanca, es decir las imágenes de la muestra coloreada por la coloración de Papanicolaou.

35 Durante una etapa L, la imagen mostrada bajo coloración de Papanicolaou, y para la cual se ha interrumpido el desplazamiento, se asocia con la imagen de la misma zona tomada en fluorescencia, con el fin de analizar la muestra marcada por unos fluoróforos, en el plano morfológico y/o espectral. Esta visualización permite que el médico o el técnico especializado afine su análisis de las células visualizadas y confirme o no si algunas son eventualmente patológicas. Además, con la visualización de la imagen en fluorescencia, se pueden mostrar otras informaciones simultáneamente, tales como datos cuantitativos, espectros o informaciones sobre el paciente sobre el cual se ha efectuado la muestra, etc. Este análisis más fino, junto a la detención automatizada del desplazamiento, permite disminuir el número de falsos negativos. Además, en el ámbito de frotis del cuello uterino por ejemplo, el control del diagnóstico por el médico o el técnico especializado de las zonas seleccionadas por el sistema permite conservar el nivel de especificidad del diagnóstico citológico, que es cercano al 95% en este caso. Así, los criterios de sensibilidad y de especificidad del frotis de detección se vuelven más próximos y elevados.

50 Durante esta etapa, el médico o el técnico especializado pueden efectuar libremente una ampliación de zonas particulares de la imagen mostrada, tanto en luz blanca como en fluorescencia. El médico o el técnico especializado puede también cambiar de la imagen bajo coloración de Papanicolaou a la imagen en fluorescencia, como mejor le parezca.

55 El reinicio del desplazamiento puede ser mandado sólo por el médico o el técnico especializado durante una etapa M, por ejemplo por una acción sobre un botón de validación. Esto permite asegurarse de que si el desplazamiento se ha interrumpido de manera automática, la imagen visualizada y que presenta eventualmente una anomalía, ha sido bien examinada por un médico o un técnico especializado, permitiendo asegurar la cadena de seguridad, componente principal de la seguridad de calidad. Esto mismo se aplica para las imágenes normales visualizadas durante la etapa J descrita anteriormente.

60 El procedimiento descrito anteriormente permite un análisis rápido y eficaz de muestras. Este procedimiento disminuye el riesgo de "falsos negativos", obligando a un análisis en profundidad de unas imágenes que presentan una eventual anomalía.

65 Además, la preparación de los médicos o técnicos especializados está preservada, ya que todas las imágenes son visualizadas, tanto las imágenes normales como las imágenes que presentan anomalías. El procedimiento permite

además una gran posibilidad de manipulaciones, en particular por la asociación de las informaciones sobre el paciente y sobre la muestra de los datos de las imágenes visualizadas.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de análisis celular de una muestra citológica o histológica (2) dispuesta en una placa de análisis (6), que comprende las etapas siguientes:
- 5 - realizar por lo menos un primer tratamiento de la muestra (2), siendo dicho tratamiento adecuado para permitir diferenciar las células patológicas de las células sanas de la muestra,
 - 10 - efectuar una adquisición de imágenes de la muestra (2) dispuesta sobre la placa de análisis (6) con el fin de obtener una pluralidad de imágenes que representa, cada una, una zona de la placa de análisis (6), formando dichas imágenes colocadas una al lado de otra una imagen (20) de la totalidad de la muestra,
 - 15 - hacer pasar automáticamente todas las imágenes adquiridas de la muestra (2) sobre un medio de visualización a una velocidad de desplazamiento predeterminada, siendo dicha velocidad adecuada para permitir que un observador analice la imagen y determine si la zona de la muestra representada comprende unas células eventualmente patológicas o no,
 - 20 - detener el desplazamiento si se detecta por lo menos una anomalía que puede significar la presencia de una célula patológica,
- 21 caracterizado por que la detención del desplazamiento se realiza de manera automática tras un análisis automatizado de la imagen, siendo dicha detención efectuada si un objeto particular, definido como anormal, es detectado en la imagen, y
- 25 por que se realizan dos tratamientos diferentes sobre la muestra (2), siendo dichos tratamientos adecuados para permitir el marcado de células patológicas de entre las células de la muestra, efectuándose dos etapas de adquisición de imágenes, permitiendo cada etapa de adquisición la detección de anomalías según uno de los tratamientos efectuados sobre la muestra, siendo los datos de las imágenes adquiridas por cada etapa de adquisición superpuestos con el fin de permitir que el observador pase de la imagen de una zona adquirida según
- 30 una etapa de adquisición a la imagen de la misma zona adquirida según otra etapa de adquisición durante el desplazamiento de las imágenes.
2. Procedimiento de análisis según la reivindicación 1, caracterizado por que la velocidad de desplazamiento de las imágenes se puede regular.
- 35 3. Procedimiento de análisis según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que comprende además una etapa de reinicio del desplazamiento después del análisis de la zona de la muestra que presenta una anomalía, siendo dicha etapa de reinicio mandada por el observador.
- 40 4. Procedimiento de análisis según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que comprende una etapa de detención automática del desplazamiento sobre una imagen que no presenta ninguna anomalía o que corresponde a unos objetos necesarios para la evaluación de la representatividad de la muestra, siendo el reinicio del desplazamiento mandado por el observador después de la validación de que la imagen no presenta ninguna anomalía.
- 45 5. Procedimiento de análisis según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que el paso de la imagen de una zona según una etapa de adquisición a la imagen de la misma zona adquirida según la otra etapa de adquisición se realiza cuando se detecta una anomalía en la imagen.
- 50 6. Procedimiento de análisis según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que las etapas de tratamiento son unas etapas de coloración o de marcado de la muestra por unos fluoróforos.
- 55 7. Procedimiento de análisis según la reivindicación 5, caracterizado por que la visualización de la imagen adquirida según la otra etapa de adquisición está acompañada de la visualización de informaciones sobre la zona de la muestra visualizada y/o sobre la totalidad de la muestra y/o sobre el paciente sobre el cual se ha efectuado la muestra.
- 60 8. Procedimiento de análisis según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que comprende una etapa de ampliación de una imagen con el fin de permitir el visionado de un detalle de la zona mostrada.
9. Procedimiento de análisis según la reivindicación 8, caracterizado por que el porcentaje de ampliación es regulable.
- 65 10. Procedimiento de preparación de una placa de análisis virtual de una muestra (2) con vistas a permitir su análisis celular según el procedimiento de análisis según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, comprendiendo dicho

procedimiento las etapas siguientes:

- preparar una muestra (2),
- 5 - efectuar una primera etapa de tratamiento de la muestra, permitiendo dicho tratamiento marcar las células patológicas con respecto a las otras células,
- efectuar una segunda etapa de tratamiento de la muestra, permitiendo dicho tratamiento marcar de manera diferente a la de la primera etapa de tratamiento las células patológicas con respecto a las otras células,
- 10 - depositar la muestra (2) sobre una placa de análisis (6) antes o después o entre las etapas de tratamiento de la muestra (2),

caracterizado por que comprende además las etapas siguientes:

- 15 - efectuar una primera adquisición de imágenes de la muestra (2) dispuesta sobre la placa de análisis (6) de manera que se obtiene una pluralidad de imágenes que representan, cada una, una zona de la placa de análisis, formando dichas imágenes colocadas una al lado de otra una imagen (20) de la totalidad de la muestra, permitiendo dichas imágenes la detección de las células patológicas marcadas por la primera etapa de tratamiento,
- 20 - efectuar una segunda adquisición de imágenes de la muestra (2) dispuesta sobre la placa de análisis (6) de manera que se obtiene una pluralidad de imágenes que representan, cada una, una zona de la placa de análisis (6), formando dichas imágenes colocadas una al lado de otra una imagen (20) de la totalidad de la muestra, permitiendo dichas imágenes la detección de otras anomalías celulares distintas de las marcadas por la primera etapa de tratamiento,
- 25 - formado dichas imágenes adquiridas una placa de análisis virtual.

30 11. Procedimiento de preparación según la reivindicación 10, caracterizado por que comprende además una etapa de superposición de los datos de las imágenes adquiridas durante la primera adquisición de las imágenes y los de las imágenes adquiridas durante la segunda adquisición de las imágenes.

35 12. Procedimiento de preparación según la reivindicación 10 u 11 caracterizado por que la primera etapa de tratamiento de la muestra es una etapa de marcado fluorescente.

40 13. Procedimiento de preparación según la reivindicación 12, caracterizado por que la primera etapa de tratamiento comprende una etapa de introducción de bolas de referencia en la muestra, sirviendo dichas bolas de controles para el enfoque de la adquisición de imágenes.

45 14. Procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, caracterizado por que la segunda etapa de tratamiento de la muestra es una etapa de coloración de Papanicolaou.

15. Procedimiento de análisis celular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que el análisis se realiza sobre una placa de análisis virtual obtenida mediante un procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14.

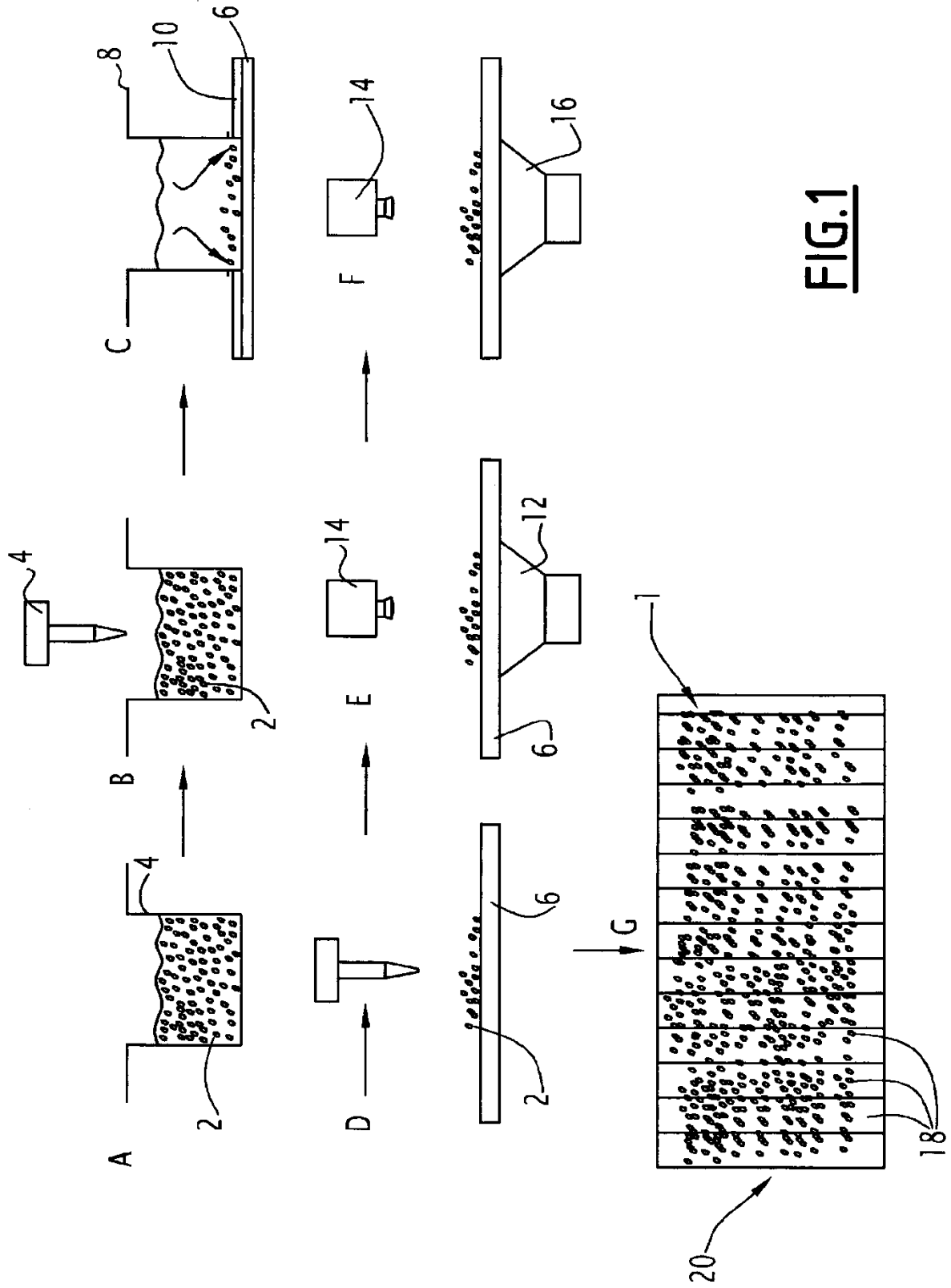


FIG. 1

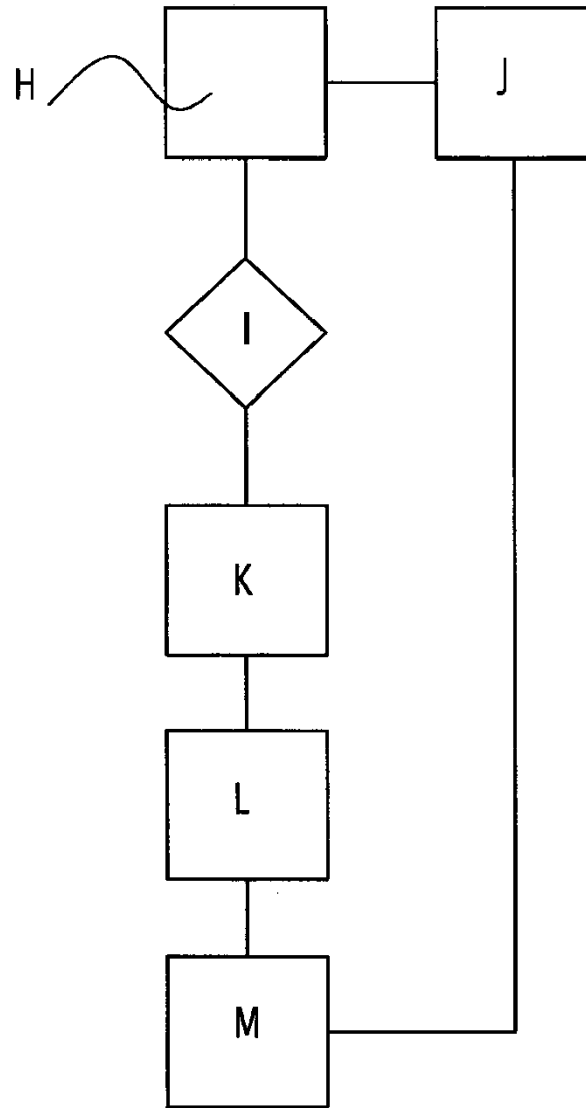


FIG.2