

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 937**

51 Int. Cl.:

G02B 21/36 (2006.01)

G02B 21/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2010 E 10813042 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2015 EP 2519855**

54 Título: **Sensor para microscopia**

30 Prioridad:

30.12.2009 EP 09306350

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

01.03.2016

73 Titular/es:

**KONINKLIJKE PHILIPS N.V. (100.0%)
High Tech Campus 5
5656 AE Eindhoven, NL**

72 Inventor/es:

**HULSKEN, BAS y
STALLINGA, SJOERD**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 561 937 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

Sensor para microscopia

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de los microscopios digitales de escaneado y ventajosamente se aplica en el campo de la patología digital.

10 En particular, la presente invención se refiere a un método para obtener microscópicamente imágenes de una muestra, con un escáner digital que comprende un sensor que incluye una matriz 2D de píxeles y un microscopio de escaneado digital, también denominado escáner en este documento, que realiza este método.

15 Antecedentes de la invención

Un microscopio de escaneado digital usualmente obtiene una imagen digital de una muestra, tal como una muestra de tejido que se coloca en un portaobjetos de microscopio.

20 Esto se realiza normalmente mediante el escaneado de la muestra sobre todo el portaobjetos del microscopio y la costura de diferentes bandas de la imagen juntas y/o mediante superposición de imágenes medidas en diferentes longitudes de onda.

25 La figura 1 representa esquemáticamente una sección transversal de este portaobjetos de microscopio. Comprende en particular un portaobjetos de vidrio 1 con un espesor típico de 1 mm (milímetros), una hoja de cubierta 2 con un espesor típico de 0,17 mm, un medio de montaje 3 para la fijación y el sellado de una muestra 4, tal como una capa de tejido. El espesor de la muestra 4 puede ser típicamente de aproximadamente 5 m, y para la capa de montaje que incluye la muestra de aproximadamente 10 a 15 μ m.

30 Se sabe, por ejemplo a partir del documento WO2001084209, que los microscopios digitales de escaneado pueden comprender un sensor de línea 1D, también conocido como una cámara de escaneado de línea o como un sensor de matriz lineal. Dichos sensores comprenden sólo una línea, dicho de manera diferente una fila, de píxeles de detección. También se sabe que en comparación con otros tipos de sensores, tal como los sensores de matriz 2D, por ejemplo, los sensores de línea 1D son capaces de proporcionar una mejor operación de escaneado mecánica continua, menos problemas de costura, y pueden permitir el uso de los llamados sensores de línea de integración con retardo de tiempo (TDI).

35 En general, dichos sensores de línea 1D necesitan combinarse con un sistema de enfoque automático eficiente para lograr imágenes de buena calidad de las muestras cuya posición a lo largo del eje Z (dirección de profundidad) puede variar en varias micras (que pueden ser más que la profundidad focal del microscopio). Debe indicarse que este requisito es realmente importante aquí, en particular debido a que el uso de tales sensores inherentemente requiere un alto número de incrementos de escaneado durante la adquisición de la imagen de toda la muestra y, por lo tanto, implica un aumento de los ajustes de enfoque durante el escaneado.

45 A este respecto, el documento WO2001084209 divulga la solución más común conocida en la técnica, que consiste en la generación y el uso de un mapa de enfoque. Este mapa de enfoque proporciona una posición de enfoque óptima medida que se utiliza para el objetivo de escáner de acuerdo con diferentes posiciones de escaneado a lo largo de la trayectoria de escaneado. El mapa de enfoque se crea antes de una adquisición de la imagen real de la muestra y puesta a disposición para su uso como cualquier proceso de adquisición. Durante un proceso de escaneado de la adquisición de la imagen de la muestra, la posición de enfoque del objetivo del escáner se encuentra en una trayectoria que interpola entre las posiciones de enfoque óptimas medidas.

El documento WO 2007 095090 divulga un microscopio de escaneado con un sensor oblicuo.

55 Sumario de la invención

Los inventores de la presente invención se han dado cuenta de que, a pesar de proporcionar algunas ventajas, la combinación de un sensor de línea 1D con enfoque automático basado en el mapa de enfoque puede tener varios inconvenientes.

60 Por ejemplo, la necesidad de tales mapas de enfoque puede limitar el tiempo de procesamiento general del escáner (el tiempo de procesamiento típicamente puede referirse al tiempo total necesario para la producción de una imagen de la muestra o en ciertas circunstancias para producir una banda de imagen de esta muestra) porque, como se ha explicado anteriormente, se requiere al menos una etapa previa de generación del mapa. Además, los numerosos ajustes de enfoque requeridos con un sensor de línea 1D pueden requerir el uso de componentes mecánicos complejos y engorrosos para obtener adquisiciones de imágenes rápidas y precisas. Por ejemplo, pueden requerirse actuadores complejos y engorrosos para el ajuste de la posición de enfoque del objetivo durante el proceso de

escaneado.

Además, debido a los errores de enfoque, a veces el propio proceso de escaneado debe hacerse más complejo. Por ejemplo, a veces se necesita realizar múltiples adquisiciones de la misma área de la muestra.

5 Por lo tanto, un objeto de la invención es proporcionar un nuevo método y un nuevo escáner digital como se define en las reivindicaciones 1 y 14, respectivamente, que supere los problemas anteriormente mencionados.

10 En este efecto, de acuerdo con un primer aspecto de la invención, se presenta un método para obtener microscópicamente imágenes de una muestra con un escáner que comprende un sensor que incluye una matriz 2D de píxeles en un sistema de coordenadas XY, siendo el eje Y sustancialmente perpendicular a la dirección de escaneado, y en el que el escáner está dispuesto de tal manera que el sensor puede imagen una sección transversal oblicua de la muestra.

15 Más precisamente este método comprende las etapas de:

- a) activar una primera sub-matriz de la matriz 2D de píxeles, la primera sub-matriz se extiende principalmente a lo largo del eje Y en una primera coordenada X, y
- b) crear una primera imagen mediante la obtención de la imagen de una primera área de la muestra por medio de la primera sub-matriz de píxeles.

20 Debe indicarse aquí que, mediante sustancialmente se quiere decir que el eje Y preferentemente forma un ángulo de 90° con la dirección de escaneado, pero que un ángulo ligeramente diferente también podría ser utilizado. De hecho, este ángulo debe ser tal que el área escaneada por una sola fila de píxeles durante el escaneado es tan grande como sea posible. Un óptimo puede resultar en la mayor área barrida, y por lo tanto el mayor rendimiento del microscopio de escaneado puede obtenerse cuando el eje Y es exactamente perpendicular a la dirección de escaneado. Sin embargo, otras consideraciones de diseño podrían dar lugar a una desviación razonable. En particular, puede ser razonable elegir el ángulo en un intervalo entre 60 y 120 grados. De hecho, este intervalo todavía proporciona un rendimiento de al menos el 87% (el rendimiento relativo es igual al coseno (90-60)) de la capacidad máxima del escáner.

30 Por lo tanto, según la invención, un sensor de matriz 2D es obligado a actuar como un sensor de línea x mediante el uso de una selección limitada (la sub-matriz) de su área de detección (la letra "x" se refiere aquí a un número entero que como se verá más adelante está por debajo del número total de líneas en el sensor de matriz 2D). Dicho de otra manera, se hace que un sensor de matriz 2D simule funcionalmente la operación de un sensor de línea x. Y como se pondrá de manifiesto de aquí en adelante, utilizando este sensor de línea x simulado en una disposición del escáner donde la sección transversal de la muestra puede obtener una imagen mediante este sensor, permite varias ventajas tales como para superar los problemas mencionados anteriormente. Entre otros, se proporciona un sistema de obtención de imágenes de escaneado con cambio eficiente de profundidad de enfoque durante el escaneado.

40 En realizaciones preferidas de la invención, el sensor de línea x es un sensor de línea 1D. Así, la primera sub-matriz incluye una línea de píxeles. Si se utiliza en un proceso de escaneado, la posición X de la línea se ajusta regularmente durante el análisis a las posiciones actualizadas en las que el escáner determina que la línea estará enfocada. En realizaciones preferidas, el sensor de matriz 2D, del cual se utiliza una primera sub-matriz por ejemplo para actuar como un sensor de línea 1D, se utiliza simultáneamente para extraer información de un intervalo de enfoque más amplio de la muestra, para determinar una posición de enfoque deseada para el sensor de línea simulada. De esta manera, un sistema de obtención de imágenes de escaneado está provisto de un enfoque automático eficiente y de un cambio de profundidad de enfoque eficiente durante el escaneado. En particular, el sensor de matriz 2D solo actúa simultáneamente como un sensor de línea 1D, y como un detector de enfoque de un sistema de enfoque automático. Mediante simultáneo se quiere decir que la imagen y la información de enfoque se capturan exactamente al mismo tiempo, o se capturan de forma intercalada, con un ciclo de trabajo suficientemente alto.

Otras realizaciones de la invención son como sigue:

- 55 - el método comprende además las etapas de:
 - escanear la muestra,
 - activar una segunda sub-matriz de la matriz 2D de píxeles, extendiéndose la segunda sub-matriz principalmente a lo largo del eje Y en una segunda coordenada X, diferente de la primera coordenada X,
 - 60 • crear una segunda imagen mediante la obtención de una imagen de una segunda área de la muestra por medio de la segunda sub-matriz de píxeles;
- el método comprende además una etapa de construcción de una imagen compuesta de la muestra mediante la combinación de la primera y segunda imágenes;
- 65 - el método comprende además una etapa de proporcionar la primera coordenada;

- el método comprende además una etapa de determinación de la primera coordenada X, de tal manera que la primera sub-matriz es capaz de proporcionar la primera imagen en un foco predeterminado;
- el método comprende además una etapa de determinación de la primera y segunda coordenadas X, de tal manera que la primera y segunda sub-matrices son capaces de proporcionar la primera y segunda imágenes en un foco sustancialmente igual;
- el método comprende además:
 - obtener la imagen de una segunda área de la muestra con un subconjunto predeterminado de píxeles de la matriz 2D de dicho sensor, siendo el subconjunto diferente de la sub-matriz de píxeles,
 - derivar la información de foco de esta imagen, y
 - determinar la primera coordenada X a partir de la información de enfoque;
- el método comprende además la activación del subconjunto predeterminado de píxeles, de manera que se extiende principalmente a lo largo del eje X con una forma rectangular;
- el subconjunto de píxeles puede estar distribuido sobre al menos dos regiones distintas de la matriz 2D de píxeles;
- suponiendo que la muestra tiene un cierto espesor, el procedimiento comprende una etapa de proporcionar una información sobre una profundidad dentro del espesor al que la primera sub-matriz de píxeles pueden tomar imágenes de la muestra en un foco predeterminado, y una etapa de determinación de la primera coordenada X, de acuerdo con esta información de profundidad;
- el foco predeterminado puede corresponder a un mejor enfoque;
- la sección transversal de la muestra puede ser oblicua con respecto a la dirección de escaneado;
- el escáner puede comprender un portaobjetos que incluye una superficie de sujeción y la matriz 2D de píxeles puede estar sustancialmente en un plano que forma un ángulo de inclinación con respecto a dicha superficie de sujeción;
- el sensor de matriz 2D se puede controlar para simular un sensor de línea 1D mediante la activación de la primera sub-matriz, de manera que comprende, según el eje Y, menos de tres filas de píxeles, y preferentemente una fila de píxeles solamente, o para simular un sensor TDI de N etapas 1D mediante la activación de la primera sub-matriz, de manera que comprende a lo largo del eje Y, en cada etapa, menos de tres filas de píxeles, y preferentemente sólo una fila única de píxeles;

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se presenta un microscopio de escaneado que realiza el método de la invención.

Breve descripción de las figuras

Estos y otros aspectos y ventajas de la invención se harán más evidentes al leer la siguiente descripción detallada de realizaciones de esta invención, dada como ejemplo no limitativo y hecha con referencia a los dibujos adjuntos, en los cuales:

- La figura 1, ya descrita, ilustra esquemáticamente una sección transversal de un conjunto de portaobjetos de tejido;
- La figura 2 ilustra esquemáticamente un microscopio de escaneado de acuerdo con realizaciones de la invención;
- La figura 3 ilustra esquemáticamente una matriz 2D de píxeles de un sensor utilizado en el microscopio de escaneado de la invención;
- La figura 4 ilustra esquemáticamente un conjunto de portaobjetos de tejido y una proyección de la matriz 2D del microscopio de escaneado de la invención;
- Las figuras 5 ilustran esquemáticamente dos situaciones en las que dicha proyección se cruza con una capa de tejido en dos posiciones diferentes;
- La figura 6 ilustra esquemáticamente la matriz 2D de píxeles, y muestra en particular un subconjunto de píxeles de acuerdo con una realización de la invención;
- La figura 7 ilustra un diagrama de bloques que representa las etapas de un método de acuerdo con realizaciones de la invención;
- La figura 8 ilustra esquemáticamente la matriz 2D de píxeles, y muestra en particular un subconjunto de píxeles de acuerdo con una realización de la invención;
- La figura 9 ilustra esquemáticamente una realización de la invención, utilizando los principios de TDI.

Realizaciones detalladas de la invención

Un microscopio de escaneado de acuerdo con una realización de la invención se ilustra en la figura 2.

Este escáner está dispuesto para obtener imágenes de una muestra (por ejemplo, una capa de tejido no mostrada) que puede ser colocada entre un portaobjetos de vidrio 10 y una hoja de cubierta 11.

Este portaobjetos de microscopio se coloca sobre una superficie de sujeción de un soporte de muestras que no se muestra en la figura.

5 Como puede ser conocido en la técnica, a lo largo de una trayectoria de obtención de imágenes P y partiendo del portaobjetos de microscopio, el escáner puede comprender en particular un objetivo 20 de microscopio, por lo general hecho de una pluralidad de lentes 20a, b, y c, una abertura 21 para el bloqueo de la luz reflejada no dispersada de la muestra de tejido, una lente de tubo 23 y un sensor 24.

10 El sensor 24 comprende una matriz 2D de píxeles, también denominada en este documento como matriz de píxeles. Este sensor es típicamente un sensor de imagen CMOS.

Como puede verse en la figura 2, la matriz de píxeles está inclinada con respecto al eje óptico O de la lente objetivo del microscopio.

15 El escáner comprende además un módulo de control 25 para controlar el proceso de funcionamiento del escáner, y en particular el proceso de escaneado para obtener imágenes de la muestra. El módulo de control comprende típicamente un procesador tal como por ejemplo un FPGA (matriz de puerta de campo programable) o una DSP (procesador de señal digital).

20 Como se sabe en la técnica, mediante el uso de una fuente de luz en un llamado modo reflexivo o de transmisión, un punto de luz puede irradiar un área en la capa de tejido. La luz reflejada o transmitida por este punto se desplaza a través de la lente objetivo del microscopio, la abertura, la lente del tubo y se proyecta sobre y se detecta mediante un área de detección del sensor, es decir, un área de detección de la matriz 2D de píxeles.

25 Un sistema de coordenadas no cartesianas XYZ que se muestra por ejemplo en la figura 3, se utilizará de aquí en adelante, en el que la superficie de la matriz se extiende sobre un plano paralelo a los ejes X e Y, y en el que el eje Z puede ser perpendicular al eje X e Y.

30 Como será evidente para una persona experta en la técnica, como la matriz de píxeles está en la configuración inclinada descrita anteriormente, lo que se proyecta sobre esta matriz es una imagen de una sección transversal oblicua de la muestra, por ejemplo, de la capa de tejido. Cabe señalar aquí que podría ser preferible que la imagen proyectada sobre esta matriz fuera suficientemente oblicua con respecto a la dirección de escaneado para asegurar que la información de la imagen de la muestra a partir de un rango de profundidades suficientemente grande alrededor de un plano de la imagen central se proyecta sobre la matriz de píxeles. El plano de imagen central se refiere aquí al plano en un objeto del que se obtienen las imágenes que es paralelo a la dirección de escaneado y el eje Y. El plano de la imagen central está en una posición en la muestra de tal manera que, tomando imágenes posteriores a partir de una sub-matriz definida por ejemplo como una única línea completa de píxeles (que se extienden a lo largo del eje Y de la matriz de píxeles), a una posición X a lo largo del eje X, más cercano al centro de la matriz de píxeles, produciría una imagen de este plano de la imagen central.

40 Haciendo referencia ahora a la figura 3, se muestra una ilustración esquemática de la matriz de píxeles inclinada del sensor.

45 Todavía por motivos de una ilustración no limitativa, cada píxel de la matriz, por ejemplo, el píxel 30, está representado por un cuadrado y la figura 3 muestra la superficie total de esta matriz.

50 Como puede verse, la superficie de la matriz se extiende sobre un plano paralelo al eje X e Y. En otras palabras, la matriz tiene dos dimensiones (X, Y) que se extienden a lo largo de los dos ejes X e Y del sistema de coordenadas y que comprende una pluralidad de filas (o dicho de otra manera, de líneas) y una pluralidad de columnas, respectivamente.

Debe indicarse que el eje Z puede ser paralelo al eje óptico O y en particular ser utilizado a continuación cuando se hace referencia por ejemplo a la profundidad.

55 Además, el sistema de coordenadas XYZ puede ser cartesiano o no cartesiano. Como resultado, la dirección de escaneado del escáner puede ser perpendicular al eje Z. Sin embargo, en otras realizaciones el eje óptico puede ser perpendicular a la matriz de píxeles. En este caso, la traslación de la muestra puede ser no paralela al plano XY, de modo que una sección oblicua de la muestra con respecto a la dirección de escaneado se proyecta sobre la matriz de píxeles.

60 De acuerdo con realizaciones del método de la invención, el módulo de control 25 activa una primera sub-matriz de píxeles 31 (área punteada en la figura 3) dentro de la matriz de píxeles del sensor a una cierta coordenada (por ejemplo X1 en la figura 3).

65 Debe entenderse que, en comparación con una matriz en el sentido de la invención, una sub-matriz debe comprender un número de píxeles sustancialmente menor. Preferentemente, la superficie de una sub-matriz debe

representar menos de una mitad de la superficie total de la matriz. Más preferentemente, la superficie de una sub-matriz debe representar menos de un cuarto de la superficie total de la matriz.

5 Además, debe entenderse que una sub-matriz que se extiende principalmente a lo largo del eje Y debe significar que el número de columnas es sustancialmente mayor que la de filas. Preferentemente, una sub-matriz de este tipo incluye todos los píxeles de una fila e incluye menos de un tercio del número total de filas de la matriz. Más preferentemente, la sub-matriz incluye todos los píxeles en una fila e incluye menos de tres filas. Aún más preferentemente, la sub-matriz incluye todos los píxeles en una fila e incluye sólo una fila. Dicha configuración se representa como ejemplo no limitativo en la figura 3.

10 Volviendo al método de acuerdo con la realización descrita anteriormente, la sub-matriz de píxeles es sensible a, y por lo tanto, detecta la luz proyectada desde la muestra.

15 A continuación, el módulo de control crea de la misma una primera imagen una primera área de dicha sección transversal.

20 Para crear una imagen de un área más grande las etapas descritas anteriormente pueden repetirse mientras el sensor es escaneado con respecto al portaobjetos de microscopio. En este caso, en cada posición de escaneado se designa y se activa una nueva sub-matriz, y se crea una nueva imagen de cada nueva área en la sección transversal de la muestra. A continuación, a partir de una combinación de estas imágenes, la imagen de área más grande puede crearse y llamarse una imagen compuesta.

25 La coordenada X de la sub-matriz a activar, por ejemplo X1 (ver la figura 3), se puede proporcionar y determinar de varias maneras.

De acuerdo con realizaciones, las coordenadas pueden determinarse en relación con la información de enfoque.

30 En este sentido, en una realización preferida el escáner utiliza el mismo sensor de matriz 2D como se describe anteriormente para la obtención de imágenes y para el enfoque automático continuo.

Mediante continuo se entiende que el enfoque automático se mide y se controla sobre la marcha durante el proceso de escaneado.

35 El escáner de esta realización es capaz de obtener información de enfoque, coordenadas de la sub-matriz a activar para poder crear una imagen con un enfoque predeterminado (por ejemplo cantidad predeterminada de desenfoque o enfocado exactamente), y crear esta imagen utilizando el mismo sensor de matriz 2D.

40 Esta realización puede depender de las siguientes observaciones de referencia con la figura 4 que se proporciona como ejemplo no limitativo.

Esta figura ilustra una vez más el portaobjetos de microscopio con el portaobjetos de vidrio 51, la hoja de cubierta 52 y un medio de montaje 53 que incluye la capa de tejido 54.

45 El sistema de coordenadas XYZ asociado con el sensor se representa de nuevo, pero junto con un nuevo sistema de coordenadas no cartesiano X'YZ asociado con el escáner general.

Suponiendo que el sensor forme un ángulo de inclinación β' con respecto a la superficie del soporte (superficie horizontal idealmente), a continuación, el eje X y X' forman el mismo ángulo entre sí.

50 Por motivos de aclaración, esta figura representa además una proyección 55 de la matriz 2D de píxeles del sensor en el portaobjetos de microscopio. Esta proyección corresponde a lo que el sensor realmente puede detectar y obtener la imagen de este portaobjetos de microscopio.

55 Como se ha explicado anteriormente, el sensor de matriz 2D es capaz de formar una imagen de la sección transversal oblicua de la muestra; la sección transversal prácticamente corresponde a la proyección 55.

60 Esta sección transversal oblicua 55 se cruza con la capa de tejido 54 en las posiciones (véase, por ejemplo, la intersección I o la posición 540). Como es evidente, esta intersección depende mucho de la posición axial de la capa de tejido con respecto al plano focal de la lente objetivo del microscopio. Esto es especialmente porque, como muestra la figura 4, la posición de profundidad (a lo largo de Z) de la capa de tejido 54 en la dirección de escaneado no es uniforme.

65 Puede derivarse que, como una imagen de toda la sección transversal oblicua puede proyectarse sobre el sensor de matriz 2D, esta sección transversal que incluye la capa de tejido 54 siempre estará enfocada en algunos píxeles en la matriz 2D del sensor, a saber, en los píxeles que son capaces de obtener la imagen de la intersección I.

Como se muestra como un ejemplo ilustrado en la figura 5a, cuanto más cerca esté la hoja de cubierta 52 la capa de tejido 54 más hacia la izquierda estará la posición de la intersección de la matriz 2D de píxeles (véase la intersección 58).

5 Debe tenerse en cuenta que en las figuras 5, izquierda se refiere a una dirección paralela a y opuesta al vector X.

Por el contrario, como se muestra en la figura 5b, cuanto más cerca esté la lámina de vidrio 51 de la capa de tejido 54, más hacia la derecha estará la posición de la intersección de la matriz 2D de píxeles (véase la intersección 59).

10 Como resultado, mediante la determinación de la posición, por ejemplo, las coordenadas, de la intersección en la matriz de píxeles es posible determinar qué sub-matriz de píxeles debe activarse para obtener la imagen del área de la muestra correspondiente en el enfoque.

15 Por lo tanto, como se puede ver, el escáner puede utilizar el mismo sensor de matriz 2D para el enfoque automático continuo, así como para la imagen.

En realizaciones de la invención, el enfoque automático del microscopio de escaneado se realiza mediante un número fijo de píxeles seleccionados dentro de la matriz 2D del sensor.

20 Por motivos de claridad, de acuerdo con esta invención, los píxeles utilizados para el enfoque automático serán designados mediante un subconjunto de píxeles, mientras que la sub-matriz definida anteriormente designará píxeles usados para la obtención de la imagen.

25 Por definición, un subconjunto y una sub-matriz pueden diferir sustancialmente entre sí, en particular con respecto a los números o a las posiciones de los píxeles respectivos. Sin embargo, ambos pueden superponerse en el área de la matriz. Por supuesto, puede haber una situación en la que el área de la muestra de la que se obtiene la imagen está a una profundidad en la que la sub-matriz podría coincidir con el subconjunto. Sin embargo, esta situación podría ser excepcional y podría haber al menos una diferencia menor en el contenido de píxeles entre los dos.

30 La figura 6 ilustra un primer ejemplo de un subconjunto de acuerdo con esta realización. En la matriz, esta sub-matriz se distribuye en tres regiones distintas 100, 200, 300. Tres partes 101, 201 y 301 correspondientes del subconjunto tienen, cada una, una forma rectangular mediante la activación de 2 columnas de píxeles que se extienden a lo largo de toda la dimensión X de la matriz.

35 Esta configuración se puede utilizar en el método siguiente.

Por referencia a las figuras 6 y 7, el subconjunto de píxeles 101, 201, 301 se activa en la etapa 700.

40 Una imagen de tres áreas de la muestra correspondiente a las tres partes del subconjunto se crea en la etapa 701.

La información de enfoque se deduce a partir de esta imagen en la etapa 702. Por ejemplo, el módulo de control 25 determina qué píxel(es) del subconjunto haber sido capaces de capturar una imagen enfocada y deduce la(s) fila(s) correspondiente(s).

45 Esta determinación puede hacerse de diversas maneras que la persona experta en la técnica reconocerá fácilmente. Por ejemplo, un algoritmo puede ser utilizado para analizar una imagen producida por el subconjunto y para determinar las características de enfoque. Por ejemplo, el módulo de control puede ejecutar un algoritmo que analiza la nitidez en esta imagen para determinar las características de enfoque en cada píxel del subconjunto. Como una fila se puede definir en las dimensiones X e Y, la(s) coordenada(s) X correspondiente(s) de los píxeles relevantes son conocidos por el escáner.

50 Una sub-matriz de píxeles se designa a continuación para obtener imágenes. En el ejemplo no limitativo de la figura 6, la sub-matriz 401 designada forma un rectángulo que consiste en cuatro líneas de píxeles. Por lo tanto, se pueden proporcionar cuatro coordenadas X. Alternativamente, puede proporcionarse una única coordenada. Esta coordenada puede permitir que el escáner deduzca las otras tres mediante cualquier relación predefinida. Por ejemplo, la única coordenada puede corresponder a una posición en o cercana al centro de la anchura de la sub-matriz.

55 Una vez que se designa la sub-matriz, el método comprende además una etapa 703 para activarla.

60 En la etapa 704, se crea una primera imagen del área en la muestra que corresponde a lo que la sub-matriz puede obtener la imagen.

65 Este método se puede repetir en un proceso de escaneado utilizado para obtener imágenes de más área de la muestra, y típicamente para obtener imágenes de toda la superficie de la muestra.

En este caso, el sensor puede moverse de acuerdo a la dirección de escaneado X' y relativamente respecto a la muestra. A continuación las etapas 700 a 704 se pueden ejecutar de nuevo. Como se explicó anteriormente, aunque la distancia entre la muestra y los sensores cambia durante el proceso de escaneado, la sub-matriz se mueve correspondientemente a lo largo de la dimensión X de la matriz a las coordenadas donde se producen las intersecciones, manteniendo así la muestra en el enfoque deseado. Unas imágenes adicionales se crean y se combinan como es bien conocido en la técnica, para terminar con una imagen compuesta de la muestra.

Puede que no sea necesario realizar las etapas 700-702 en cada posición del escaneado. En lugar de ello, puede haber algunas posiciones donde se realizarían sólo las etapas 703 y 704. En este caso, la última sub-matriz designada podrá ser utilizada de nuevo para la obtención de la imagen. Una ventaja aquí de no realizar las etapas 700 a 702 para cada imagen que se crea, es que menos ancho de banda del sensor disponible se utiliza para la obtención de información de enfoque, dejando más ancho de banda para la adquisición real de la imagen, lo que resulta en un mayor rendimiento del escáner con el coste, sin embargo, de un seguimiento más lento de las variaciones en la posición de enfoque deseada.

De acuerdo con realizaciones de la invención, el número de filas de la sub-matriz es fija durante todo el proceso de escaneado, por ejemplo, a 1 fila para simular un sensor de línea 1D, o a unas pocas filas más para ampliar el área de detección (la figura 6 muestra un ejemplo en el que el ancho de la sub-matriz se fija en 4 filas).

Alternativamente, el número de filas se puede ajustar dinámicamente durante el proceso de escaneado.

Como un ejemplo no limitativo, este número puede diferir en función del número de filas en el subconjunto que se ha determinado que es capaz de proporcionar una imagen con un enfoque predeterminado, por ejemplo, enfocado. Por lo tanto, en algunos casos, la anchura de la sub-matriz puede ser diferente durante el escaneado.

En realizaciones, el escáner se puede ajustar para que la forma de la sub-matriz se ajuste a la forma de dicha intersección I . En consecuencia, en estas realizaciones, la forma de la sub-matriz podría ser de cualquier forma, como doblada, curvada por ejemplo.

Además, en dicha alternativa se puede definir el número máximo de filas de la sub-matriz. De acuerdo con realizaciones de la invención, se pueden utilizar otras configuraciones del subconjunto.

A modo de ejemplos no limitativos, la figura 8 muestra una sub-matriz 800 y un subconjunto de píxeles que se extienden principalmente a lo largo de la misma dirección que la de la sub-matriz, es decir, perpendicularmente a la dirección de escaneado X' . Más precisamente, el subconjunto se distribuye en cuatro regiones distintas que forman cuatro partes designadas por las referencias 801 a 804. Las partes se configuran en pares. Un par está colocado en una misma coordenada X . En particular, un primer par 801, 802 se coloca en la coordenada $X1$, y un segundo par 803, 804 se coloca en la coordenada $X2$. En cada par, una parte (801 o 803) consiste en una fila de 7 píxeles y una parte (802 o 804) que consiste en una fila de 6 píxeles.

Por supuesto, la persona experta en la técnica reconocerá que, como regla general, la configuración del subconjunto puede corresponder a cualquier forma concebible que permita que el sensor se comporte como un sensor de sub-matriz de enfoque automático. Como ejemplo, la forma puede ser circular, curvada, doblada, etc.

De acuerdo con realizaciones de la invención, el subconjunto puede variar durante el proceso de escaneado. Por ejemplo, las coordenadas $X1$ y $X2$ en la figura 8 se pueden usar en una primera posición de escaneado y las coordenadas $X3$, $X4$ se pueden usar en una segunda posición de escaneado. De esta manera, el subconjunto se puede escanear sobre la dimensión X de la matriz, como se representa mediante las flechas en el lado derecho de la figura 8.

A continuación se describirá una primera implementación detallada de una realización.

En esta implementación, la proyección de una sección transversal oblicua de la muestra sobre la matriz 2D del sensor de nuevo se proporciona mediante la inclinación del sensor mediante el ángulo β' con respecto a la superficie de sujeción.

Haciendo referencia de nuevo a la figura 4, el rango de profundidad $\Delta z'_{tot}$ del sistema de enfoque automático puede ser suficientemente grande para ajustes realistas de otros parámetros.

El sensor se supone que tiene N_x píxeles a lo largo del eje X , con un tamaño de píxel a lo largo de este eje b . También se supone que el sensor tiene N_y píxeles a lo largo del eje Y . Para recordar, la dirección de escaneado (a lo largo del eje X') forma un ángulo β' con el eje X .

Como el sensor está inclinado en un ángulo β' , el muestreo lateral y axial está dado por:

$$\Delta x = b \cos \beta'$$

ES 2 561 937 T3

$$\Delta z = b \operatorname{sen} \beta'$$

El muestreo lateral y axial en el portaobjetos de tejido viene dado por:

$$\Delta x' = \Delta x/M$$

$$\Delta z' = n\Delta z/M^2$$

donde M es el aumento y n el índice de refracción del portaobjetos de tejido.
El muestreo axial en el objeto ahora sigue como:

$$\Delta z' = n\Delta z/(\Delta x/\Delta x')^2 = \operatorname{sen} \beta'/\cos^2 \beta' \cdot n\Delta x^2/b$$

Como hay N_x píxeles, el intervalo total de profundidad es:

$$\Delta z'_{tot} = N_x \Delta z' = \operatorname{sen} \beta'/\cos^2 \beta' \cdot N_x n \Delta x^2/b$$

Como el sensor puede ser utilizado para la adquisición de imágenes, así como para la detección del foco, el intervalo de muestreo (es decir, el tamaño del píxel en el espacio de objeto) se determina por la resolución deseada del escáner.

Se da un ejemplo de un escáner "40X", que tiene una resolución de 0,5 μm .

Este ejemplo corresponde a un intervalo de muestreo de 0,25 μm (es decir, el tamaño del píxel).

Así, para un escáner 40X, el tamaño del píxel en el espacio del objeto (es decir, el tamaño de la imagen proyectada en un solo píxel físico con tamaño b) puede ser $x = 0,25 \mu\text{m}$.

En principio, el tamaño de los píxeles en un sensor de imagen CCD o CMOS es libre de elegirse. Se puede estar limitado por el tamaño inferior mediante el tamaño de la característica más pequeña del método de litografía, y en el tamaño superior mediante el tamaño total del sensor que todavía es de coste eficiente, dados una cierta resolución y tamaño de píxel. Hoy en día, un valor práctico para el tamaño de píxel b de un sensor de imagen CMOS que todavía daría lugar a un sensor asequible con un buen rendimiento puede ser de 5 μm .

Esto implica un factor de magnificación M igual a 20 para un escáner 40X.

Suponiendo un índice de refracción n igual a 1,5, esto resulta en un muestreo axial en el espacio del objeto Δz de aproximadamente 1 a 267 veces $\Delta z'$.

Para permitir para el sensor un rango de profundidad de trabajo práctico de un 10 μm , el sensor puede inclinarse para cubrir un intervalo de 2,7 mm en el espacio de la imagen.

Como la reflexión aumentada de la superficie del sensor, y debido al hecho de que el área fotoactiva de los píxeles puede ser un poco hundida en el sustrato, el ángulo de inclinación del sensor puede ser preferentemente menor de 20 grados, y preferentemente incluso alrededor de 10 grados.

Un sensor inclinado con 10 grados puede cubrir un intervalo de profundidad de 2,7 mm en el espacio de la imagen, y por lo tanto 10 μm en el espacio del objeto, si el tamaño del sensor en la dirección x es de alrededor de 16 mm.

Esto puede implicar $N_x = 3200$ píxeles, lo que da como resultado un intervalo de muestreo axial $\Delta z'$ de alrededor de 3,3 nm.

En caso de que esto sea mucho mayor que lo necesario, teniendo en cuenta la profundidad típica de campo de un microscopio 40X de alrededor de 1 μm , puede ser una opción práctica aumentar la separación de los píxeles en el sensor en la dirección X.

El tamaño tiene que seguir siendo el mismo, ya que determina la potencia de resolución (MTF) del microscopio.

De acuerdo con una segunda implementación detallada, una sección transversal oblicua de la muestra de tejido se proyecta sobre el sensor mediante la adición al microscopio de escaneado de un dispositivo óptico.

Este dispositivo está configurado de tal manera que la longitud de la trayectoria óptica desde un punto en la muestra a la región de píxeles en el sensor de la imagen utilizado para este punto varía linealmente de acuerdo con la posición a lo largo de la dirección de escaneado. Un efecto de la adición de un dispositivo de este tipo es que

también la profundidad de enfoque de la imagen proyectada sobre el sensor varía linealmente de acuerdo con la posición a lo largo de la dirección de escaneado. Por lo tanto, el uso de un dispositivo de este tipo permite el mismo efecto que la inclinación del sensor, tal como se propone más arriba en la primera aplicación.

5 En una realización ejemplar, dicho dispositivo óptico es un prisma colocado en la trayectoria luminosa.

Por ejemplo, un prisma 25 puede colocarse justo antes del sensor en la trayectoria de la luz a partir de la muestra. Además, el prisma se puede colocar en las proximidades de, o en contacto directo o indirecto con el sensor.

10 Puede indicarse aquí que, de acuerdo a esta segunda aplicación, es posible colocar el escáner de tal manera que el eje Z es perpendicular al eje X, Y y X'.

Por supuesto, la invención no puede estar limitada a las realizaciones descritas anteriormente.

15 Por ejemplo, puede ser deseable utilizar el escáner de la invención mediante la ejecución de una sola etapa de escaneado para obtener sólo una única primera imagen de un área específica (sin imagen compuesta).

Como un ejemplo no limitativo, puede haber una situación en la que un patólogo obtenga una imagen inicial de la muestra de tejido a una primera resolución.

20 Esta imagen inicial puede haber sido adquirida previamente mediante el escáner de la invención, o mediante otro escáner con o sin una disposición inclinada.

25 La imagen inicial puede haber sido comunicada a esta persona por otro practicante, utilizando cualquier sistema de comunicación (por ejemplo, una intranet, Internet o cualquier otra red de comunicación).

Mediante el análisis de la imagen inicial, el patólogo puede desear mirar algunos detalles en un área específica de la muestra.

30 Por lo tanto, mediante la determinación de esta área, se puede proporcionar información al escáner de la invención a través de una interfaz de usuario para provocar una adquisición de una nueva imagen de esta área específica.

Dicha información puede proporcionarse en diversas formas.

35 Por ejemplo, el patólogo puede ser capaz de introducir directamente la posición de escaneado y/o la coordenada de la sub-matriz que tiene que activarse para la creación de la nueva imagen. El escáner puede entonces mover el sensor con respecto a la muestra de tejido en la posición correcta, activar la sub-matriz en dicha coordenada en la matriz y crear una imagen del área específica a la resolución deseada.

40 Alternativamente, mediante el uso de un ratón, una bola de seguimiento, etc., se puede seleccionar el área específica de la imagen inicial que se muestra en una pantalla del escáner y el módulo de control puede convertir esta información a una posición y coordenada de escaneado para la sub-matriz relevante.

45 Las coordenadas también se pueden proporcionar mediante la recuperación de información desde un medio de almacenamiento tal como una memoria flash, un disco compacto o un disco de vídeo digital. Por ejemplo, el escáner puede recuperar un archivo electrónico que puede haber sido generado, por ejemplo, mediante el escáner de esta invención. Este archivo puede incluir información para determinar todas las posiciones de escaneado y sub-matrices que se han utilizado previamente para crear la imagen compuesta inicial. Cuando el patólogo introduce información en el escáner de un área específica que se desea recuperar, siendo el escáner capaz de deducir a partir de la información contenida en el archivo la(s) posición(es) de escaneado y la(s) sub-matriz(es) a designar/activar en la(s) respectiva(s) posición(es) de escaneado.

50 Una vez la(s) coordenada(s) de la(s) sub-matriz(s) es(son) conocida(s) desde el escáner, el módulo de control mueve el sensor con respecto a la muestra en dicha(s) posición(es), activar esta(s) sub-matriz(es), y crea imágenes.

55 Estos principios podrían aplicarse a muchos otros ejemplos que la persona experta en la técnica reconocerá fácilmente.

60 Por ejemplo, el patólogo puede considerar que un área específica de una imagen inicial no está bien enfocada y puede desear adquirir esta área de nuevo. Una vez más, esta persona puede introducir información al escáner, de modo que se puede(n) determinar la(s) posición(es) de escaneado y/o la(s) sub-matriz(es) a activar.

65 Como otro ejemplo, el patólogo puede desear obtener una imagen de un área específica de la muestra a una profundidad específica en la muestra (a lo largo del eje Z). Como información de entrada, el patólogo puede proporcionar la profundidad deseada y el escáner puede deducir la(s) posición(es) de escaneado y/o la(s) sub-matriz(es) a activar.

Debe indicarse que, en caso de una imagen inicial se forme de antemano, el escáner puede necesitar ajustar algunos parámetros internos para asegurarse de que el área específica forma la imagen en las mismas condiciones. Por ejemplo, si la imagen inicial se ha creado usando un escáner con un ángulo de inclinación diferente o incluso con una configuración no inclinada, el escáner de la invención puede tener que tomar esto en cuenta.

5 A este respecto, una persona experta en la técnica será capaz de determinar los ajustes a realizar, ya que esto pertenece a sus habilidades comunes.

10 De acuerdo con otros aspectos, los principios de la invención, y en particular los descritos anteriormente, pueden estar ventajosamente adaptados para el uso de sensores TDI (integración de tiempo de retardo).

Así, en realizaciones de la invención, una sub-matriz se designa de tal manera que constituye N etapas de un escáner TDI de línea 1D (siendo N un número entero).

15 A modo de ejemplo no limitativo, la realización descrita con referencia a la figura 6 se puede adaptar fácilmente de tal manera que las cuatro líneas de la sub-matriz designada 401 constituye cuatro etapas de una línea cada una.

20 Un ejemplo más detallado de la utilización de TDI de acuerdo con dichas realizaciones se muestra en la figura 9. En esta figura, tres bloques BA, BB, BC de cuatro etapas TDI (por ejemplo, 90A, 91A, 92A, 93A) se designan en la matriz de píxeles.

Debe tenerse en cuenta que un bloque TDI está destinado a ser una sub-matriz de la matriz total de píxeles, que actúa como una unidad TDI funcional.

25 Aunque no es obligatorio, unos huecos G1 y G2 también se pueden definir entre los bloques A, B y los bloques B, C, respectivamente. Los huecos se refieren a áreas de la matriz en las que no hay píxeles fotoactivos definidos o cuando los píxeles no se pueden activar.

30 Una persona experta en la materia podrá derivar de una manera evidente cómo puede operar un sensor TDI de acuerdo con tales realizaciones. Algunas realizaciones se describirán en el presente documento a modo de ejemplos no limitativos. Todos ellos son aplicables a los dos tipos de sensor de obtención de imágenes dominantes, es decir, sensores de imagen CMOS y CCD. Para los sensores de imagen CCD, la acción TDI es típicamente ejecutado en el dominio analógico, copiando la carga de un conjunto de píxeles a otro conjunto de píxeles. Para los sensores de imagen CMOS, la acción TDI se realiza típicamente en el dominio digital, añadiendo el valor digital de un conjunto de píxeles al valor digital de otro conjunto de píxeles. Sin embargo, TDI digital y analógica puede aplicarse a cualquiera de CCD y CMOS.

35 En el resto de este texto, se describe la acción TDI como una transferencia de valor de píxeles, que ha de entenderse como una transferencia de carga analógica si se emplea TDI analógica, y como una transferencia de valor de píxel si se emplea TDI digital.

40 Volviendo a la figura 9 de ejemplo, el sensor se mueve a una posición de escaneado adicional con respecto al portaobjetos del microscopio, mientras se transfiere un valor de píxel. En el ejemplo de la figura 9 se supondrá que la acción TDI trabaja hacia arriba y la traslación de la muestra con respecto al sensor se hace también hacia arriba.

45 La etapa 90A (una etapa preferentemente incluye una línea completa de píxeles) se inicia con valores de píxeles de 0 para cada exposición y valores de píxeles de la etapa 93A forman la imagen final en el bloque A después de cada exposición.

50 Cuando se sigue una sola línea de la imagen de la muestra durante un ciclo TDI completo, el proceso, que se conoce en la técnica, es el siguiente: durante una exposición en un momento $t = 0$, una imagen de la muestra se captura mediante el sensor. En la siguiente exposición en $t = 1$, la muestra se traslada tal que la parte de la imagen de la muestra proyectada en $t = 0$ en la etapa 90A ahora se proyecta en la etapa 91A. Entre las exposiciones $t = 0$ y $t = 1$, los valores de los píxeles en la etapa 90A se copian en la etapa 91A. Durante la exposición en $t = 1$, se añaden los valores de los píxeles resultantes de la exposición en la etapa 91A a los valores ya presentes, que resultó de la exposición en la etapa 90A en $t = 0$. Los valores en la etapa 91A son ahora la suma de los valores de los píxeles resultantes de la exposición de la etapa 90A en $t = 0$ y la exposición de la etapa 91A en $t = 1$. Entre las exposiciones $t = 1$ y $t = 2$, los valores de los píxeles en la etapa 91A se copian en la etapa 92A. Durante la exposición en $t = 2$, se añaden los valores de los píxeles resultantes de la exposición en la etapa 92A a los valores ya presentes, que resultaron de la exposición en la etapa 90A en $t = 0$, más la exposición en la etapa 91A en $t = 1$. Los valores en la etapa 92A, son ahora la suma de los valores de los píxeles resultantes de la exposición de la etapa 90A en $t = 0$ y la exposición de la etapa 91A en $t = 1$, y la exposición de la etapa 92A en $t = 2$. Entre las exposiciones $t = 2$ y $t = 3$, los valores de los píxeles en la etapa 92A se copian en la etapa 93A. Durante la exposición en $t = 3$, se añaden los valores de los píxeles resultantes de la exposición en la etapa 93A a los valores ya presentes, que el resultado de la exposición en la etapa 90A en $t = 0$, más la exposición en la etapa 91A en $t = 1$, y en la etapa 92A en $t = 2$. Los valores en la etapa 93A son ahora la suma de los valores de los píxeles resultantes de la exposición de la etapa 90A

5 en $t = 0$ y la exposición de la etapa 91A en $t = 1$, y la exposición de la etapa 92A en $t = 2$, y la exposición de la etapa 93A en $t = 3$. Como la imagen de la muestra se traslada sobre el sensor en la misma dirección, y a la misma velocidad como la acción TDI, en este ejemplo cuatro exposiciones iguales se han hecho de la misma área en la muestra. Esto es equivalente a un período de exposición cuatro veces más largas sin ralentizar la traslación de la muestra y sin introducir el desenfoque de movimiento adicional.

La descripción anterior se aplica también a otros bloques, tal como bloques BB y BC.

10 Debe indicarse que en tales realizaciones las cuatro etapas de los bloques TDI pueden ser capaces de capturar una imagen de la misma zona en el mismo enfoque.

En consecuencia, las etapas de cada bloque TDI pueden ser tales que se separan de la muestra la misma distancia, aproximadamente.

15 Por ejemplo, haciendo referencia de nuevo a la primera implementación detallada que se describe anteriormente, se pueden utilizar cuatro etapas para cada bloque. Por lo tanto, cada uno de los bloques TDI puede estar constituido por cuatro líneas de píxeles colocadas uno al lado de la otra con un paso que tiene el mismo tamaño que el tamaño de pixel b . Debe indicarse aquí que un paso puede referirse a la distancia entre los centros de dos píxeles vecinos. Cada bloque TDI puede estar separado una distancia de separación mayor que el paso. La distancia de separación
20 determina la resolución Z del posicionamiento de profundidad del sensor. Puede ser ventajoso tener un hueco relativamente grande, mientras se tienen los píxeles individuales de cada bloque TDI más juntos. De esta manera, un intervalo relativamente grande Z se puede obtener sin utilizar demasiados píxeles, porque las etapas individuales de cada etapa TDI están más cerca entre sí. Como resultado, se adquieren a una profundidad similar y, por lo tanto, reducen el ablandamiento de la imagen debido al desenfoque de una o más etapas. Por supuesto, también es
25 posible utilizar no ningún hueco, y tener que los bloques TDI sean sub-matrices de una matriz de píxeles total continua.

30 En vista de los números de parámetros dados en esta primera implementación detallada que se describe anteriormente, la persona experta en la técnica deriva fácilmente que las cuatro etapas de la imagen del sensor TDI aproximadamente a la misma profundidad en la capa de tejido, es decir, dentro de un intervalo aproximado de cuatro veces 3,3 nm.

35 Todavía en este ejemplo de aplicación, para el intervalo de profundidad deseado de $10\ \mu\text{m}$, una opción práctica podría ser de cien (100) grupos de bloques TDI, cada uno conteniendo 4 etapas TDI. Estas cuatro etapas contiguas pueden ser de $20\ \mu\text{m}$ de anchura, mientras que el hueco sería de $140\ \mu\text{m}$ de ancho. Con 400 píxeles a lo largo de la dirección X del sensor, la posición de enfoque se puede ajustar y se analiza con exactitud de $100\ \text{nm}$, que sigue siendo considerablemente menor que la profundidad de campo típica de $1\ \mu\text{m}$ para el escáner 40X en este ejemplo.

40 Opcionalmente, se puede usar un hueco para poner bloques TDI de diferentes colores (por ejemplo, R, G, B). Una iluminación blanca se puede usar con diferentes filtros de color en o frente de las diferentes etapas TDI del sensor. El sensor también puede ser utilizado sin filtros de color. En este caso, una iluminación de color secuencial puede ser utilizada para obtener una imagen a todo color.

45 Aunque la invención se ha ilustrado y descrito en detalle en los dibujos y en la descripción anterior, dicha ilustración y descripción deben considerarse ilustrativas o ejemplares y no restrictivas; la invención no se limita a las realizaciones descritas.

Otras variaciones pueden ser comprendidas y realizadas por los expertos en la técnica en la práctica de la invención reivindicada, a partir de un estudio de los dibujos, la divulgación y las reivindicaciones adjuntas.

50 En las reivindicaciones, la palabra "comprende" no excluye otros elementos o etapas, y el artículo indefinido "un" o "una" no excluyen una pluralidad.

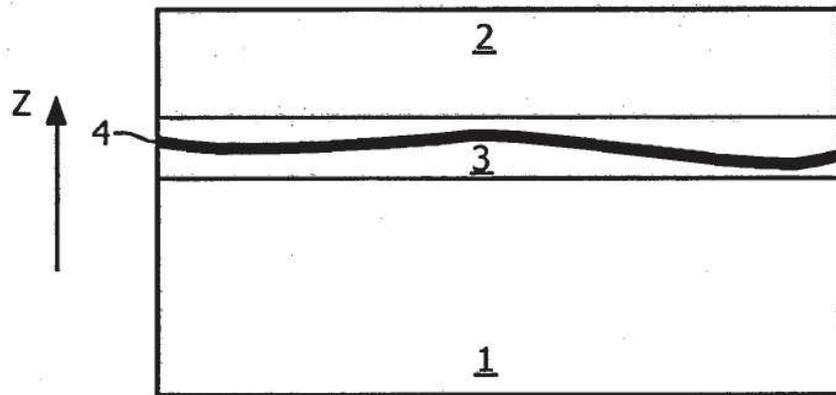
55 El mero hecho de que ciertas medidas se indiquen en las reivindicaciones dependientes mutuamente diferentes no indica que una combinación de estas medidas no se pueda utilizar ventajosamente. Cualquier signo de referencia en las reivindicaciones no debe interpretarse como limitativo del alcance.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para obtener microscópicamente imágenes de una muestra con un escáner que comprende un sensor que incluye una matriz 2D de píxeles en un sistema de coordenadas XY, siendo el eje sustancialmente perpendicular a la dirección de escaneado, en el que el escáner está dispuesto de tal manera que el sensor puede obtener la imagen de una sección transversal oblicua de la muestra, y en el que el método comprende las etapas de:
- 10 • activar una primera sub-matriz de la matriz 2D de píxeles, extendiéndose la primera sub-matriz principalmente a lo largo del eje Y en una primera coordenada X (X1) e incluyendo la sub-matriz una línea de píxeles,
 - crear una primera imagen obteniendo la imagen de una primera área de la muestra por medio de la primera sub-matriz de píxeles, y
 - ajustar la primera coordenada X durante un proceso de escaneado a posiciones actualizadas en las que el escáner determina que la línea de píxeles estará enfocada,
 - 15 • obtener imágenes de una segunda área de la muestra con un subconjunto de píxeles de la matriz 2D de dicho sensor, siendo el subconjunto sustancialmente diferente de la sub-matriz de píxeles,
 - derivar información de enfoque de esta imagen durante un proceso de escaneado determinando qué píxeles del subconjunto son capaces de capturar la imagen enfocada, y
 - determinar la primera coordenada X (X1) a partir de la información de enfoque.
- 20 2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además las etapas de:
- escanear la muestra,
 - activar una segunda sub-matriz de la matriz 2D de píxeles, extendiéndose la segunda sub-matriz principalmente a lo largo del eje Y en una segunda coordenada X (X2), diferente de la primera coordenada X (X1),
 - 25 • crear una segunda imagen mediante la adquisición de la imagen de una segunda área de la muestra mediante la segunda sub-matriz de píxeles.
- 30 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende una etapa de construcción de una imagen compuesta de la muestra mediante la combinación de la primera y la segunda imágenes.
4. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una etapa de proporcionar la primera coordenada.
- 35 5. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una etapa de determinación de la primera coordenada X (X1) tal que la primera sub-matriz es capaz de proporcionar la primera imagen con un enfoque predeterminado.
6. Un método de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende una etapa de determinación de la primera y segunda coordenadas X (X1, X2) tal que la primera y la segunda sub-matrices son capaces de proporcionar la primera y segunda imágenes en un foco sustancialmente igual.
- 40 7. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el subconjunto es un subconjunto predeterminado, comprendiendo el procedimiento una etapa de activar el subconjunto predeterminado de píxeles de manera que se extiende principalmente a lo largo del eje X con una forma rectangular.
- 45 8. Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 7, en el que el subconjunto de píxeles se distribuye en al menos dos regiones distintas de la matriz 2D de píxeles.
9. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la muestra tiene un cierto espesor y el método comprende una etapa de proporcionar una información sobre una profundidad (Z) dentro del espesor en el que la primera sub-matriz de píxeles puede tomar imágenes de la muestra en un enfoque predeterminado, y una etapa de determinar la primera coordenada X (X1), de acuerdo con esta información de profundidad.
- 50 10. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en el que el enfoque predeterminado corresponde a un mejor enfoque.
- 55 11. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la sección transversal de la muestra es oblicua con respecto a la dirección de escaneado.
- 60 12. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el escáner comprende un soporte de muestras que incluye una superficie de sujeción y en el que la matriz 2D de píxeles se encuentra sustancialmente en un plano que forma un ángulo de inclinación con respecto a dicha superficie de sujeción.
- 65 13. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sensor de matriz 2D se controla para simular un sensor de línea 1D mediante la activación de la primera sub-matriz de manera que comprende a lo largo del eje Y, menos de tres filas de píxeles, y preferentemente solo una fila de píxeles, o para simular un sensor TDI de N etapas

1D mediante la activación de la primera sub-matriz de manera que comprende a lo largo del eje Y, en cada etapa, menos de tres filas de píxeles, y preferentemente solo una fila de píxeles.

- 5 14. Un microscopio de escaneado para obtener imágenes de una muestra, comprendiendo el microscopio de escaneado un escáner
- 10 en el que el escáner comprende un sensor que incluye una matriz 2D de píxeles en un sistema de coordenadas XY, siendo el eje Y sustancialmente perpendicular a la dirección de escaneado, en el que el escáner está dispuesto de tal manera que el sensor puede obtener imágenes de una sección transversal oblicua de la muestra, y
- en el que el microscopio de escaneado está configurado para realizar el método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.



Técnica anterior

FIG. 1

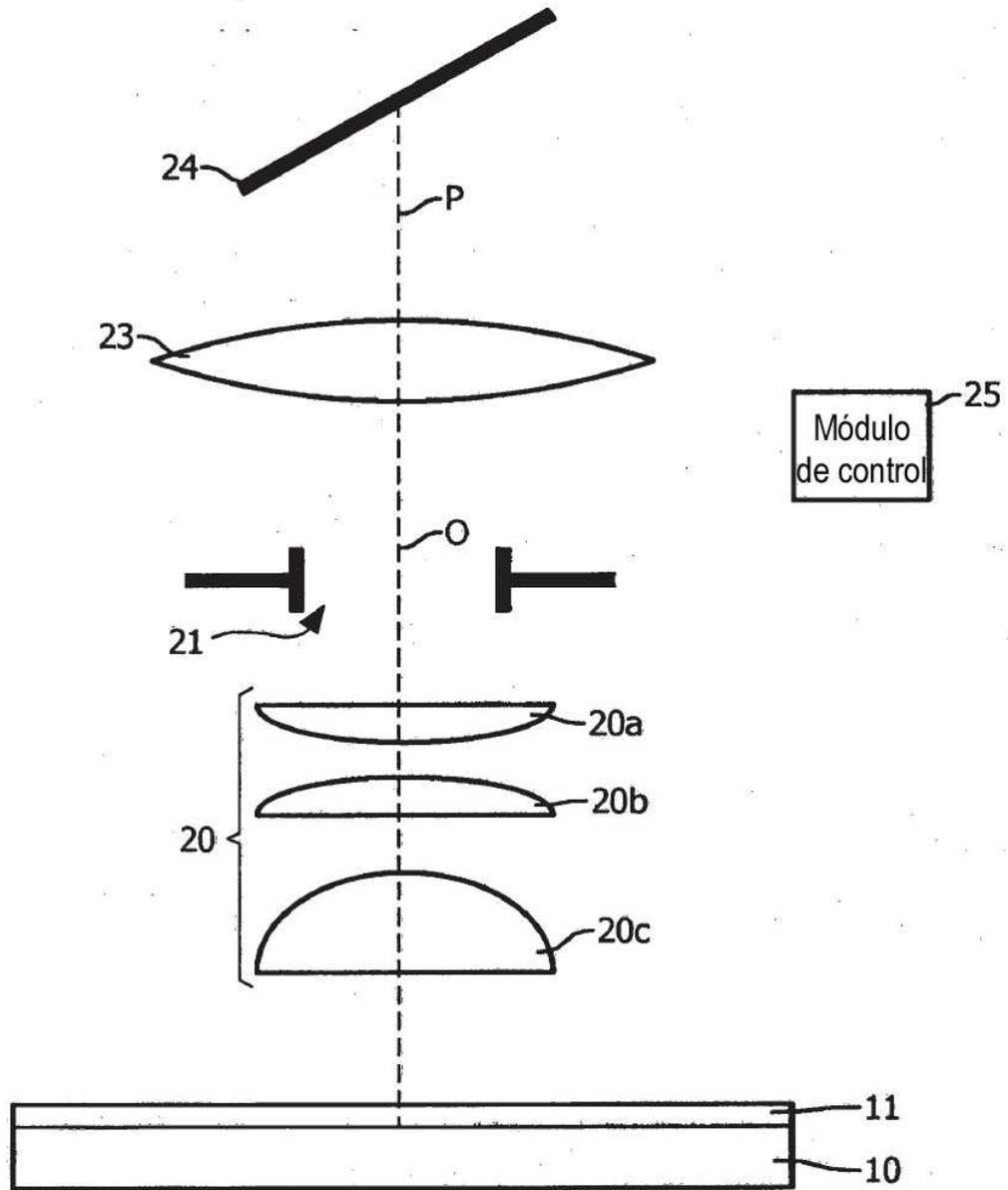


FIG. 2

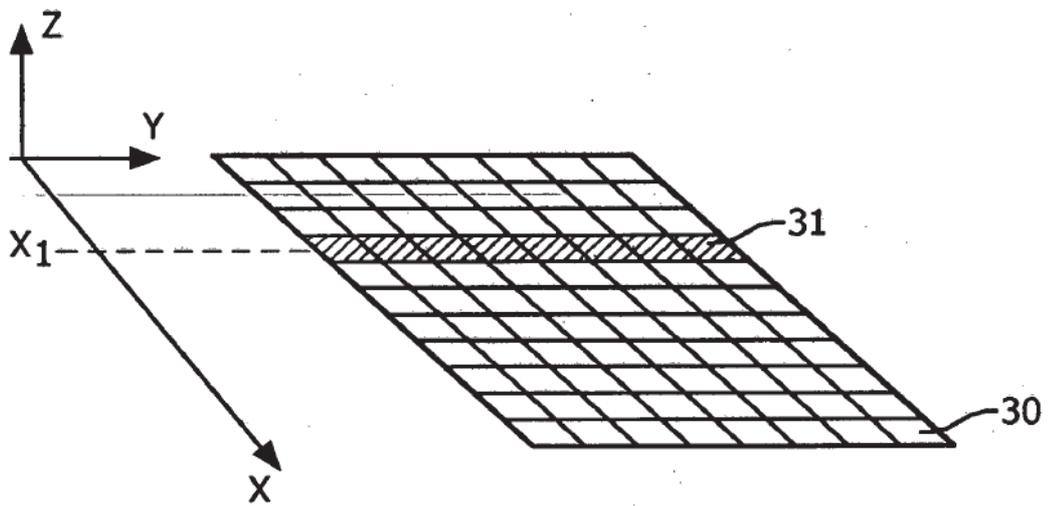


FIG. 3

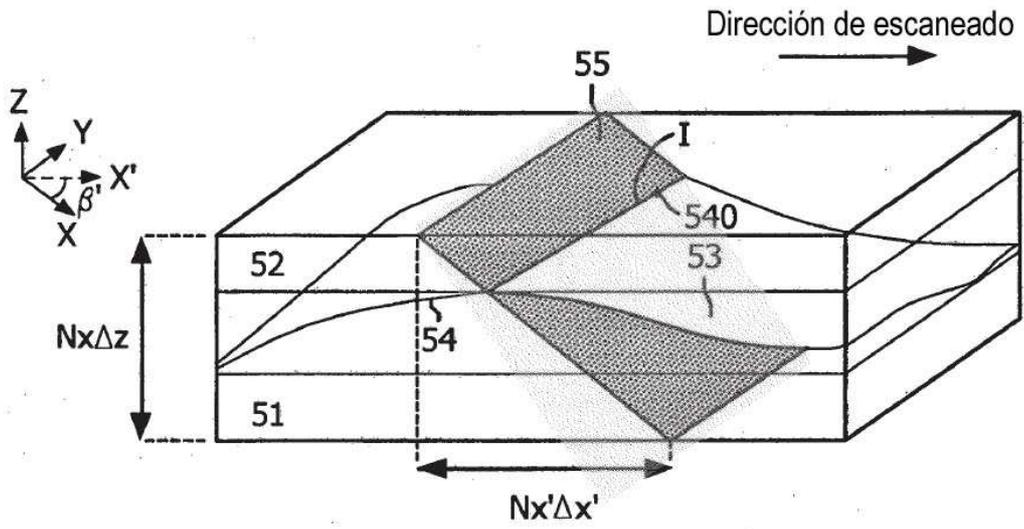


FIG. 4

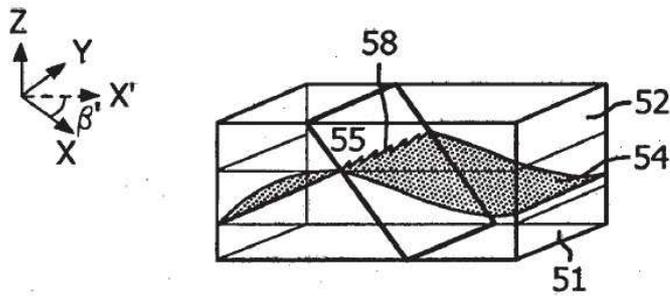


FIG. 5A

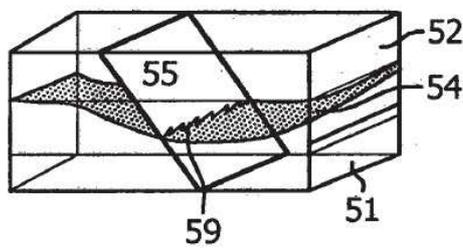


FIG. 5B

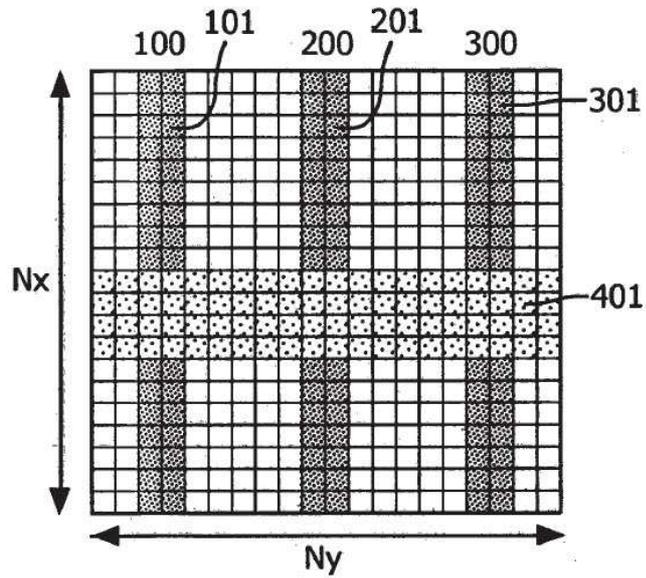


FIG. 6

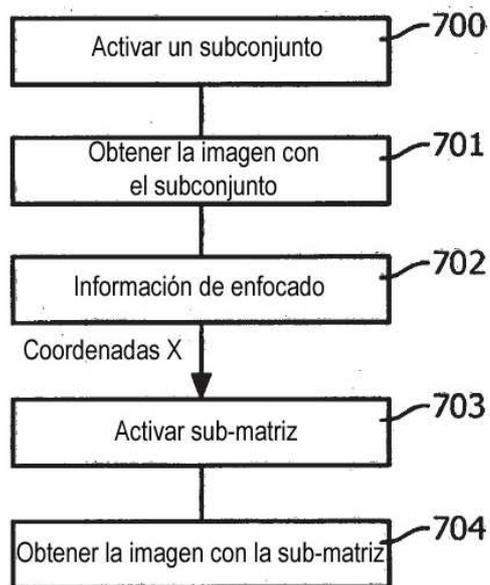


FIG. 7

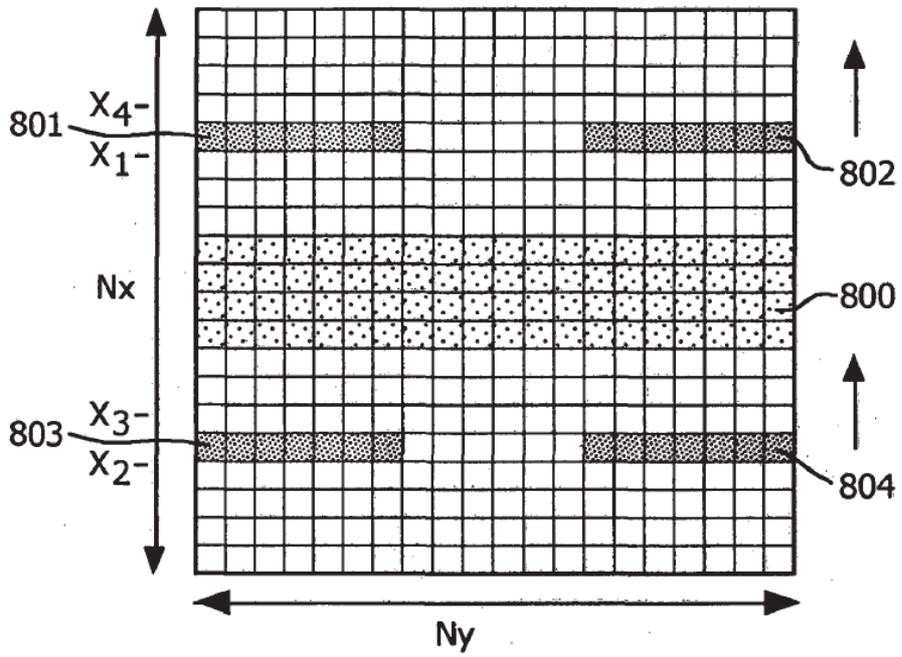


FIG. 8

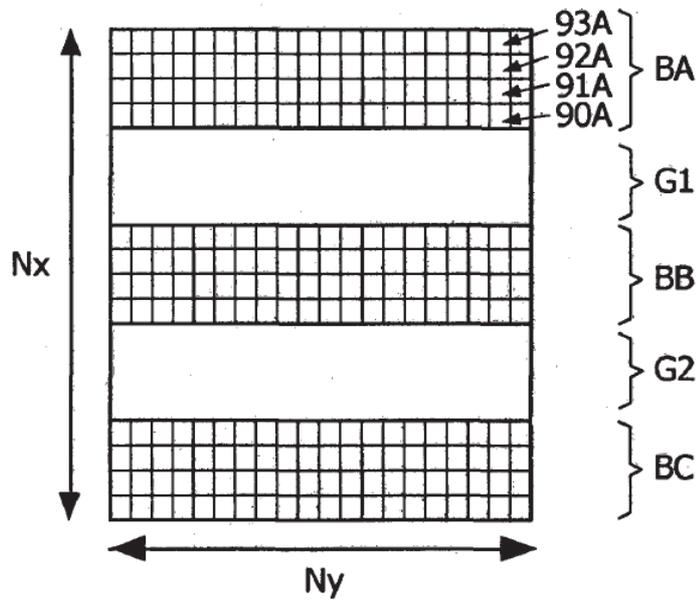


FIG. 9