

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 075**

51 Int. Cl.:

G06K 9/00 (2006.01)

A61K 35/62 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.03.2013 PCT/EP2013/000855**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.10.2013 WO13159856**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.03.2013 E 13714850 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 2852916**

54 Título: **Método basado en la visión artificial para extraer características relacionadas con la etapa de desarrollo de los huevos de trichuris spp**

30 Prioridad:

27.04.2012 US 201261639229 P

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

15.04.2020

73 Titular/es:

**PARASITE TECHNOLOGIES A/S (100.0%)
Vallerod Banevej 12
2960 Rungsted Kyst, DK**

72 Inventor/es:

**BRUUN, JOHAN MUSAEUS;
CARSTENSEN, JENS MICHAEL y
MOLIIN OUTZEN KAPEL, CHRISTIAN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 754 075 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

Método basado en la visión artificial para extraer características relacionadas con la etapa de desarrollo de los huevos de *Trichuris* spp.

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método basado en la visión artificial para extraer características relacionadas con las etapas de desarrollo de los huevos de *Trichuris* spp., en donde para las etapas finales del desarrollo, una larva está presente dentro del huevo. Más en particular, el método puede usarse para extraer características de los huevos de *Trichuris suis*.

10

Antecedentes de la invención

15

Propósito de la invención.

Se ha demostrado que la exposición a helmintos (lombrices intestinales) tales como los tricocéfalos tiene un efecto mitigante en una serie de enfermedades autoinmunitarias tales como la enfermedad de Crohn [1] y la colitis ulcerosa [2]. Este nuevo tratamiento se conoce como terapia helmíntica y utiliza el comportamiento inmunorregulador [3] de los helmintos en los intestinos donde los huevos de tricocéfalos administrados por vía oral eclosionan en larvas que se establecen por un período de tiempo más corto en una infección intestinal autolimitante.

20

Solo los huevos que contienen una larva completamente desarrollada pueden inducir la respuesta inmunitaria positiva. Por lo tanto, la evaluación de la potencia medicinal se correlaciona con la proporción de huevos con larvas completamente desarrolladas en una suspensión de huevos dada. La presente invención permite una forma automatizada, no invasiva y rentable de evaluar la potencia biológica de una suspensión de huevos particular.

25

Trabajo relacionado

Varios trabajos de investigación han estudiado el uso del análisis de imágenes para separar huevos de parásitos de distintas especies, incluidos los helmintos. Yang y otros [4] y otros [5], [6] tuvieron cierto éxito en la separación de diferentes especies de huevos de helmintos en humanos en función de su tamaño y forma exterior. Tal enfoque no puede usarse para etapas de desarrollo y, por lo tanto, para la potencia biológica, ya que no hay diferencias visibles en el tamaño y la forma exterior de los huevos que contienen una larva y los huevos que no. De manera similar, las larvas en el huevo pueden no estar completamente desarrolladas (ver la figura 15) y, por lo tanto, sin la capacidad de establecerse en el intestino.

30

35

Resumen de la invención

40

La modalidad de la invención se refiere a un método según se reivindica en la reivindicación 1.

Otras referencias a "modalidades" deben entenderse como ejemplos que son útiles para comprender la invención. De acuerdo con la presente invención se proporciona un método basado en la visión artificial para extraer las características relacionadas con las etapas de desarrollo de los huevos de *Trichuris* spp., dicho método comprende:

45

a) obtener y almacenar una o más imágenes digitales de huevos de *Trichuris* spp. suspendidos en una solución líquida, b) detectar uno o más huevos de *Trichuris* spp. en la(s) imagen(imágenes), y c) extraer una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que representa al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado.

50

Para las etapas finales de desarrollo de los huevos de *Trichuris* spp., una larva está presente dentro del huevo. Los huevos de *Trichuris* spp. tienen una forma sustancialmente oblonga o elíptica con un tapón polar sobresaliente en cada extremo. La forma de un huevo de *Trichuris* spp. define de este modo una dirección longitudinal y una dirección transversal del huevo.

55

Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención también se proporciona un método basado en la visión artificial para extraer características relacionadas con las etapas de desarrollo de los huevos de *Trichuris* spp., en donde para las etapas finales de desarrollo una larva está presente dentro del huevo, dichos huevos de *Trichuris* spp. que tienen una forma sustancialmente oblonga o elíptica con un tapón polar sobresaliente en cada extremo, la forma de los huevos de *Trichuris* spp. que definen de este modo una dirección longitudinal y una dirección transversal de los huevos, dicho método comprende:

60

a) obtener y almacenar una o más imágenes digitales de huevos de *Trichuris* spp. suspendidos en una solución líquida, b) detectar uno o más huevos de *Trichuris* spp. en la(s) imagen(imágenes), y c) extraer una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que representa al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado.

65

Las características extraídas se relacionan con el contenido de un huevo, y también pueden indicar las características del contenido del huevo.

5 Debe entenderse que para el método basado en la visión artificial de la presente invención las imágenes digitales obtenidas en la etapa a) pueden almacenarse en la memoria del ordenador. La detección de uno o más huevos de *Trichuris* spp. en la(s) imagen(imágenes) de la etapa b) pueden realizarse ejecutando uno o más programas informáticos o ejecutando instrucciones en un ordenador para detectar de este modo uno o más huevos de *Trichuris* spp. en la(s) imagen(imágenes). De manera similar, la extracción de una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo en la etapa c) puede realizarse ejecutando uno o más programas informáticos o ejecutando
10 instrucciones en un ordenador para extraer dichas una o más características de la región de la imagen del contenido del huevo que representa al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado.

De acuerdo con una o más modalidades de la invención, los huevos de *Trichuris* spp. son huevos de *Trichuris suis*.

15 Se prefiere que para la etapa a) las imágenes digitales almacenadas de los huevos de *Trichuris* spp. comprendan una o más imágenes de campo claro, y que para la etapa c) se extraigan una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que es una región de la imagen del contenido del huevo de campo claro.

20 En una modalidad preferida la región de la imagen del contenido del huevo extraída excluye los tapones polares del huevo de *Trichuris* spp. También se prefiere que la región de la imagen del contenido del huevo extraída excluya la envoltura del huevo de *Trichuris* spp. Aquí, la región de la imagen del contenido del huevo extraída puede tener una forma sustancialmente elíptica, definiendo de este modo una imagen de elipse del contenido.

25 Se prefiere que la extracción de una o más características de la región de la imagen del contenido del huevo incluya una o más mediciones de las estructuras dependientes de la dirección del contenido del huevo. Aquí, la extracción de una o más características de la región de contenido del huevo puede incluir una o más mediciones de las estructuras longitudinales del contenido del huevo y/o una o más mediciones de las estructuras transversales del contenido del huevo. Una o más mediciones de las estructuras longitudinales puede(n) basarse en una medida de las estructuras lineales y/o
30 estructuras de bordes en la dirección longitudinal, y una o más medidas de las estructuras transversales puede(n) basarse en una medida de las estructuras lineales y/o estructuras de bordes en la dirección transversal.

De acuerdo con una modalidad de la invención las estructuras lineales y/o estructuras de bordes se miden a una escala predeterminada.

35 De acuerdo con otra modalidad de la invención una o más mediciones de las estructuras longitudinales puede(n) basarse en una medición de las estructuras lineales y/o estructuras de bordes en la dirección longitudinal a una o más escalas en una representación a múltiples escalas de la región de imagen de la cual se extraen las características. Además una o más mediciones de las estructuras transversales pueden basarse en una medida de las estructuras lineales y/o estructuras de bordes en la dirección transversal en una o más escalas en una representación a múltiples escalas de la región de
40 imagen a partir de la cual se extraen las características. La representación a múltiples escalas de la región de imagen de la cual se extraen las características puede ser una representación piramidal o una representación espacial a escala.

45 Está dentro de una o más modalidades de la invención que una o más mediciones de las estructuras longitudinales del contenido del huevo se basen en una comparación longitudinal de las intensidades de píxeles obtenidas de píxeles direccionados de manera similar en las partes de la imagen primera y segunda que representan al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado, donde la segunda parte de la imagen se obtiene desplazando la primera parte de la imagen uno o más píxeles en una dirección que sigue sustancialmente la dirección longitudinal del huevo. También está dentro de una o más modalidades de la invención que una o más mediciones de las estructuras transversales del contenido del huevo se basen en una comparación transversal de las intensidades de píxeles obtenidas
50 de píxeles direccionados de manera similar en la primera parte de la imagen y una tercera parte de la imagen que representa al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado, donde la tercera parte de la imagen se obtiene desplazando la primera parte de la imagen uno o más píxeles en una dirección que sigue sustancialmente la dirección transversal del huevo.

55 Se prefiere que la comparación longitudinal de las intensidades de píxeles de las partes de la imagen primera y segunda comprenda calcular un coeficiente de correlación longitudinal ρ_{largo} para intensidades de píxeles que representen al menos parte de los píxeles direccionados de manera similar, y que la comparación transversal de las intensidades de píxeles de las partes de la imagen primera y tercera comprenda calcular un coeficiente de correlación transversal ρ_{trans} para intensidades de píxeles que representen al menos parte de los píxeles direccionados de manera similar. Aquí, la extracción de características puede incluir además una medida de relación basada en la relación entre el coeficiente de correlación longitudinal ρ_{largo} y el coeficiente de correlación transversal ρ_{trans} .
60

65 Para modalidades de la invención en donde una o más mediciones de las estructuras longitudinales se basan en una medida de las estructuras de bordes en la dirección longitudinal, y una o más mediciones de las estructuras transversales se basan en una medida de las estructuras de bordes en la dirección transversal, entonces se prefiere que las expresiones que representan una medida o medidas de las estructuras de bordes en las direcciones longitudinal y transversal se

obtengan mediante el uso de un algoritmo detector de bordes. Aquí, el algoritmo detector de bordes puede seleccionarse de los siguientes algoritmos: el algoritmo detector de bordes de Canny, el algoritmo detector de bordes de Sobel y el algoritmo detector de bordes de Prewitt.

5 La expresión o expresiones que representan las estructuras de bordes en la dirección longitudinal, el recuento de bordes longitudinales, puede(n) definirse como la cantidad de píxeles del borde del contenido del huevo, que se obtienen mediante el algoritmo detector de bordes, y que están orientados sustancialmente en la dirección longitudinal, y la expresión o expresiones que representan las estructuras de bordes en la dirección transversal, el recuento de bordes transversales, puede(n) definirse como la cantidad de píxeles del borde del contenido del huevo, que se obtienen mediante el algoritmo detector de bordes, y que están orientados sustancialmente en la dirección transversal. El recuento de bordes longitudinales puede definirse como la cantidad de píxeles del borde del contenido del huevo, que se obtienen mediante el algoritmo detector de bordes y que están orientados en la dirección longitudinal más/menos un ángulo dentro del intervalo de 10-45 grados, tal como dentro del intervalo de 15-35 grados, tal como aproximadamente 22,5 grados, y en donde el recuento de bordes transversales se define como la cantidad de píxeles del borde del contenido del huevo dados por el algoritmo detector de bordes y que se orientan en la dirección transversal más/menos un ángulo dentro del intervalo de 10-45 grados, tal como dentro del intervalo de 15-35 grados, tal como aproximadamente 22,5 grados.

20 La presente invención también cubre modalidades, en donde en la etapa a) las imágenes digitales almacenadas de los huevos de *Trichuris* spp. comprenden una o más imágenes en campo oscuro y en donde en la etapa c) se extraen una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que es una región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro. Aquí, pueden extraerse una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro que se extrae de una región de imagen en campo oscuro que incluye una representación completa de un huevo de *Trichuris* spp. Preferentemente, la región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro extraída excluye los tapones polares del huevo de *Trichuris* spp. También se prefiere que la región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro extraída excluya la envoltura del huevo de *Trichuris* spp. detectado, y aquí la región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro extraída puede tener una forma sustancialmente elíptica, definiendo de este modo una imagen de elipse del contenido.

30 De acuerdo con una o más modalidades de la invención la extracción de características de la etapa c) puede incluir características en campo oscuro extraídas de la región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro, donde la extracción de características en campo oscuro se basa en variaciones en las intensidades de píxeles medidas o extraídas para al menos parte de la región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro. La extracción de características en campo oscuro puede comprender un cálculo del promedio de las intensidades de píxeles extraídos. De acuerdo con las modalidades de la invención la extracción de características en campo oscuro puede comprender un cálculo de la media de las intensidades de píxeles extraídos, la intensidad media de dispersión, y/o un cálculo de la mediana de las intensidades de píxeles extraídos, la mediana de la intensidad de dispersión.

40 La presente invención también cubre modalidades, que comprenden además una etapa de clasificación, en donde al menos parte de las características extraídas de una región de la imagen del contenido del huevo que representa un huevo detectado se usan para clasificar el huevo detectado. Aquí, la clasificación del huevo detectado puede ser una clasificación binaria con respecto a la etapa de desarrollo del huevo, y el huevo detectado puede clasificarse ya sea como que contiene una larva o que no contiene una larva.

45 La clasificación del huevo detectado también puede ser una clasificación de múltiples clases con respecto a la etapa de desarrollo del huevo, donde la clasificación de múltiples clases comprende al menos tres clases de las etapas de desarrollo.

50 La etapa de clasificación puede realizarse ejecutando uno o más programas informáticos o ejecutando instrucciones en un ordenador para determinar o clasificar el huevo detectado como que contiene una larva o no, o para determinar la etapa de desarrollo del huevo detectado. Los resultados de la determinación o clasificación pueden usarse como un indicador de la potencia biológica del huevo, y el sistema informático usado para la clasificación puede generar un informe de los resultados del análisis obtenidos de las diferentes etapas.

55 La clasificación puede basarse al menos en parte en las características extraídas, para cuyas características la extracción incluye una o más mediciones que representan estructuras longitudinales y las estructuras transversales del contenido del huevo. Aquí, la clasificación puede basarse al menos en parte en una medida de relación obtenida de una medida que representa las estructuras longitudinales del contenido del huevo y una medida que representa las estructuras transversales del contenido del huevo. Se prefiere que la una o más mediciones que representan las estructuras longitudinales se basen en una medida de las estructuras lineales y/o estructuras de bordes en la dirección longitudinal, y que la una o más mediciones que representan las estructuras transversales se basen en una medida de las estructuras lineales y/o estructuras de bordes en la dirección transversal. Las mediciones de las estructuras lineales y/o estructuras de bordes en las direcciones longitudinal y transversal pueden medirse de acuerdo con una o más de las modalidades mencionadas en la presente descripción. Está dentro de una modalidad de la invención que una medida que representa las estructuras longitudinales del contenido del huevo tiene que exceder una medida correspondiente que representa las estructuras transversales del contenido del huevo por un factor predeterminado que es mayor que uno para clasificar el huevo como que contiene una larva.

La presente invención también cubre modalidades, en donde la clasificación se basa al menos en parte en las características en campo oscuro extraídas, donde las características en campo oscuro pueden extraerse de acuerdo con una o más de las modalidades descritas en la presente descripción.

5 Breve descripción de las figuras

Lista de figuras:

- Figura 1: Sistema completo de análisis de huevos
- 10 Figura 2: Fase de detección
- Figura 3: Fase de extracción de las características
- Figura 4: Fase de clasificación
- Figura 5: Definiciones de las imágenes
- Figura 6: Alineación de la orientación
- 15 Figura 7: Cálculo del perfil de forma
- Figura 8: Ejemplos de las siete categorías de huevos
- Figura 9: Extracción de la región de contenido del huevo
- Figura 10: Cálculo de la autocorrelación espacial
- Figura 11: Fórmula de correlación
- 20 Figura 12: Orientaciones del borde
- Figura 13: Gráficas de clasificación I
- Figura 14: Gráficas de clasificación II
- Figura 15: Etapas del desarrollo
- Figura 16: Ejemplos de imágenes en campo claro y campo oscuro correspondientes
- 25 Figura 17: Ejemplo de configuración del sistema físico

Características del huevo

30 El análisis presentado se relaciona con los huevos de *Trichuris* spp., es decir, huevos de varias especies del género *Trichuris*, también conocido como tricocéfalos. Los huevos de *Trichuris* spp., en lo siguiente denominados huevos de *Trichuris*, tienen una forma diferente, similar al limón y una envoltura externa lisa. La forma puede describirse como un esferoide prolado, también conocido como elipsoide prolado de revolución, con tapones sobresalientes y operculados en cada extremo (ápice). Cuando se observa desde el lado (vista lateral), la forma de un huevo de *Trichuris* es oblonga y elíptica con tapones sobresalientes en los extremos [7].

35 La longitud (eje mayor) y el ancho (los dos ejes menores) promedio de los huevos de *Trichuris* dependen en cierto grado de la especie específica. Los tamaños de algunas de las principales especies de *Trichuris* son:

40 *Trichuris trichiuria* (tricocéfalos de humanos): 50-58 x 22-27 μm [7], 50-54 x 22-23 μm [8].

Trichuris suis (tricocéfalos de cerdo): 50-68 x 21-31 μm [7], 60 x 25 μm [9]

Trichuris muris (tricocéfalos de ratón): 67-70 x 31-34 μm [7]

45 *Trichuris vulpis* (tricocéfalos de perro): 70-90 x 32-41 μm [7]

Trichuris ovis (tricocéfalos de rumiante): 70-80 x 30-42 μm [7]

50 Configuración experimental

Una configuración genérica es la siguiente:

55 Se coloca una muestra de 40 μl de una suspensión de huevos con aproximadamente 40.000 huevos por ml en un portaobjetos de microscopio o en un recipiente similar con una cubierta de vidrio en la parte superior.

El portaobjetos se coloca bajo un microscopio vertical o invertido y las imágenes se obtienen con un aumento de alrededor de 100-200X, tanto en iluminación de campo claro como de campo oscuro [10]. Pueden observarse los ejemplos de las imágenes en campo claro y campo oscuro correspondientes en la figura 16.

60 Definiciones

La siguiente sección define algunos de los términos que se usan a lo largo de la descripción. Incluye términos relacionados con las posiciones de los huevos y la categorización de los huevos así como también el manejo de imágenes y el análisis de imágenes digitales.

65

Lateral

Un objeto lateral es un objeto prolado que se coloca de lado.

- 5 Un huevo lateral es un huevo que yace de lado. En una imagen, el contorno de tal huevo es elíptico con tapones polares sobresalientes en los extremos.

Vertical

- 10 Un objeto vertical es un objeto prolado que se coloca sobre uno de sus vértices.

Un huevo vertical es un huevo que está en posición vertical sobre uno de sus tapones polares. En una imagen, el contorno de tal huevo es circular o casi circular con un diámetro que corresponde al ancho de un huevo lateral.

- 15 Singularizado

Un objeto singularizado es un objeto que no toca ni se superpone con otros objetos, es decir, está claramente separado de los objetos cercanos.

- 20 Un huevo singularizado es un huevo que no toca ni se superpone con otros huevos o partículas extrañas.

Tocante

Un objeto tocante es un objeto que toca, pero que no se superpone con otros objetos.

- 25

Un huevo tocante es un huevo que toca uno o más huevos o impurezas, pero que no se superpone con ellos, es decir, toda su región de contenido es claramente visible.

Huevo parcialmente cubierto

- 30

Un huevo parcialmente cubierto es un huevo cuyo contorno completo no es distinguible porque el huevo se cubre o está cubierto por uno o más objetos, por ejemplo otros huevos.

Partícula extraña / impureza

- 35

Los términos 'partícula extraña' e 'impureza' se usan indistintamente para describir todos los objetos en las imágenes que no son huevos de *Trichuris*. Esto incluye tanto impurezas orgánicas como inorgánicas tales como partículas de polvo, fibras, minerales, restos de plantas y polen, así como también burbujas de gas, aire o aceite y huevos no de *Trichuris*.

- 40 Objetos múltiples

El término 'objetos múltiples' se usa para describir dos o más objetos que se tocan o se superponen. En el análisis estos se observan y se tratan como el mismo objeto hasta que se dividen en una serie de objetos separados.

- 45 ROI, blob, subimagen

Una ROI (región de interés) es una región rectangular y recortada de una imagen de entrada que contiene el objeto de interés más un margen de su entorno. El blob (objeto binario grande) es una imagen binaria de las mismas dimensiones que indica qué píxeles pertenecen al objeto de interés en la imagen ROI. En esta descripción, estos se denominan colectivamente 'subimágenes' para distinguirlas de las imágenes de entrada del sistema general. Estos términos se ilustran en la figura 5.

- 50

Orientación del huevo / dirección del huevo

- 55

La orientación de un huevo es el ángulo entre su eje longitudinal y el eje x de la imagen. También se llama la dirección del huevo. Observe la mitad izquierda de la figura 6 para obtener una ilustración del sistema de coordenadas de la imagen y los ejes de los huevos.

Etapas de desarrollo / 'que contiene una larva'

- 60

El nivel de embriogénesis y de desarrollo de las larvas dentro de los huevos de *Trichuris* spp., aquí referenciados para huevos de *Trichuris suis*, puede evaluarse siguiendo los cambios morfológicos dentro de la envoltura del huevo [11], [12]. Los huevos pueden clasificarse como huevos no segmentados, huevos que experimentan división celular (1, 2, 3, 6 y muchos blastómeros), huevos que contienen embriones cilíndricos y huevos con larva L1 infecciosa definida y completamente desarrollada [11]. El término 'que contiene una larva' se usa para describir los dos últimos. Las etapas de desarrollo se ilustran en la figura 15.

- 65

Descripción detallada de las modalidades preferidas

5 La descripción de la invención presentada se representa en alrededor de cuatro diagramas de flujo principales que pueden observarse en las figuras 1 a 4. Estos se describen uno a la vez a continuación, y se introducen figuras adicionales en el camino cuando sea necesario.

Figura 1: Sistema completo de análisis de huevos

10 Se pasan una o más imágenes microscópicas a la Fase de detección (ver la figura 2). Las imágenes microscópicas pueden ser tanto multiespectrales (más de una longitud de onda) como multimodales (más de un modo de iluminación). Por lo tanto, una imagen puede consistir en varias bandas, donde cada una representa una combinación de una longitud de onda (por ejemplo, ultravioleta, un color visible o infrarrojo cercano) y un modo de iluminación (por ejemplo, campo claro, campo oscuro o contraste de fase).

15 En la Fase de detección, se detectan todos los objetos en primer plano en una banda elegida o procesada de cada imagen de entrada y se les asigna una de las siguientes seis categorías:

20 Huevos singularizados laterales - huevos de *Trichuris* que no tocan ni se superponen con otros objetos y se ponen de lado.

Huevos singularizados verticales - huevos de *Trichuris* que no tocan ni se superponen con otros objetos y se ponen en posición vertical sobre uno de sus tapones.

25 Huevos tocantes laterales - huevos de *Trichuris* laterales que tocan pero no cubren ni están cubiertos por otros objetos.

Huevos tocantes verticales - huevos de *Trichuris* verticales que tocan pero no cubren ni están cubiertos por otros objetos.

30 Huevos parcialmente cubiertos - huevos de *Trichuris* cuyo contorno completo no es distinguible ya que el huevo cubre o está cubierto por otros objetos, por ejemplo, otros huevos.

Partículas extrañas - Todos los objetos en las imágenes que no son huevos de *Trichuris*.

Durante la Fase de detección a un objeto se le puede asignar una categoría intermedia adicional:

35 Múltiples objetos: Dos o más objetos que se tocan o se superponen. En el análisis estos se observan y se tratan como el mismo objeto hasta que se dividen en una serie de objetos separados.

40 Ver también las definiciones de los términos usados en los nombres de categorías en la sección de Definiciones anterior. En la siguiente descripción, el término 'huevos' se refiere a 'huevos de *Trichuris*' a menos que se indique lo contrario.

En la figura 8 pueden observarse los ejemplos de subimágenes ROI y blob de cada categoría.

45 Se cuentan todos los objetos en las seis categorías principales. El cantidad total de huevos detectados (categorías 1 a 5) puede usarse para evaluar la concentración de la suspensión de huevos analizada, es decir, la cantidad de huevos por ml. Para una buena evaluación, la muestra analizada debe ser representativa de toda la suspensión.

50 El recuento de partículas (categoría 6) puede usarse para evaluar la pureza de la suspensión de huevos analizada, por ejemplo, medida como el número de impurezas o partículas extrañas por ml. Aquí no se presenta un análisis adicional de las impurezas, por ejemplo, una clasificación de múltiples clases de las partículas detectadas.

55 Solo los huevos singularizados laterales y los huevos tocantes laterales se pasan a la fase de extracción de las características (figura 3) ya que estos tienen contenidos claramente visibles y sin obstrucciones. Aquí, se extraen las características cuantitativas relevantes del contenido del huevo para cada huevo. La lista de características resultante se usa en la Fase de clasificación (figura 4), donde cada uno de los huevos se clasifica como que contiene una larva o no (clasificación binaria), o por su etapa de desarrollo (clasificación de múltiples clases). Los resultados de la clasificación pueden usarse como un indicador de la potencia biológica de la suspensión de huevos.

60 El sistema finalmente produce un informe de los resultados del análisis, incluidos los resultados de la detección (por ejemplo, listados y subimágenes de los objetos detectados y sus categorías), resultados de la extracción de características (por ejemplo, listas de características) y resultados de la clasificación (por ejemplo, clases asignadas, medidas de certeza de las clases asignadas etc.).

Figura 2: Fase de detección

65 Esta descripción y la figura 2 ilustran una posible forma de detectar los huevos de *Trichuris* en una imagen de entrada.

(1) Seleccionar o procesar una imagen en niveles de grises

La detección de los huevos se realiza en una sola imagen en niveles de grises (monocromática). Esta imagen en niveles de grises puede ser una de las siguientes:

Una banda de la imagen original (que corresponde a una longitud de onda o un canal de RGB).

Una combinación lineal de bandas, por ejemplo, una representación estándar en escala de grises o una banda de la salida de un algoritmo de reducción de dimensionalidad como el análisis de componentes principales (PCA) o el análisis discriminante canónico (CDA).

Una combinación no lineal de bandas, por ejemplo, un canal de otro espacio de color, por ejemplo, el canal V de HSV, o una banda de la salida de un algoritmo de reducción de dimensionalidad no lineal.

(2) Umbral

La imagen en niveles de grises se compara con el umbral dando como resultado una imagen binaria que indica todos los píxeles en primer plano, en este caso los píxeles con valores por debajo del umbral. El umbral puede ser fijo (por ejemplo, a 0,6), automático (por ejemplo, mediante el uso del método de Otsu [13]) o adaptable a las regiones locales de la imagen.

(3) Procesamiento morfológico

El procesamiento morfológico usado para preparar la imagen binaria para la detección de objetos es el llenado de agujeros y el cierre morfológico.

(4) Identificar objetos (blob)

Los blob (objetos binarios grandes) - grupos conectados de píxeles en primer plano - se extraen mediante el uso de un etiquetado de componentes conectados [14].

(5) Eliminar pequeños blob

Los pequeños blobs se eliminan si su área (recuento de píxeles) está por debajo de un umbral predefinido (por ejemplo, 1000 píxeles). Cada uno de los blob restantes se procesa después uno a la vez.

(6) Alinear los blob

Se crean una copia del blob y de la imagen en niveles de grises original correspondiente. Estos se alinean después con los ejes de la imagen como se ilustra en la figura 6, al rotar el mismo número de grados de manera que la dirección longitudinal del objeto se alinee con el eje vertical del sistema de coordenadas de la imagen.

(7) Calcular el perfil de forma

Se calcula la distancia radial desde el centroide (centro de masa) del blob hasta el borde de blob en ángulos de 0 a 360 grados. El conjunto resultante de las mediciones de (*ángulo, distancia*) se indica como el 'perfil de forma' de blob. Un enfoque similar se usa en [4].

(8) Analizar la forma

El blob y su perfil de forma se analizan después para asignar una categoría al blob. El análisis consiste en las siguientes etapas:

1) Comparar el perfil de forma contra un perfil de forma modelo de un huevo singularizado lateral 'ideal'. Asígnele la categoría "Huevo singularizado lateral" si son suficientemente similares. La medida de similitud podría ser, por ejemplo, la suma de diferencias absolutas entre los dos perfiles de forma, que después se compararían con un valor umbral para tomar la decisión.

2) Comparar el perfil de forma contra un perfil de forma modelo de un huevo singularizado vertical 'ideal'. De manera similar a lo anterior, asígnele la categoría "Huevo singularizado vertical" si son suficientemente similares.

3) Calcular la 'solidez' del blob como la relación entre el área del blob y el área del casco convexo del blob [15]. Los blob con una baja solidez y un área algo más grande (por ejemplo, 1,2 veces más grande) que el área de un huevo singularizado lateral 'ideal' reciben la categoría intermedia de "Objetos múltiples", al resto se les asigna la categoría "Partícula extraña".

4) Si se le da la categoría "Objetos múltiples", el blob se divide en uno o más blob más pequeños mediante el uso de un algoritmo de división de grupos, por ejemplo, mediante el uso del análisis de concavidad [16] o coincidencia de plantillas [17]. Cada uno de estos nuevos blob después se clasifica ya sea como "Huevo tocante lateral" o "Huevo tocante vertical"

si los objetos no se superponen, "Huevo parcialmente cubierto" si se superpone con otro objeto pero aún puede identificarse como un huevo, o "Partícula extraña" si no es ninguna de las anteriores.

Figura 3: Fase de extracción de las características

La entrada a la fase de extracción de las características consta de al menos dos imágenes, una subimagen de ROI y una subimagen de blob. Además, puede incluir cualquier cantidad de otras subimágenes de ROI de la misma región a partir de otras bandas o modos de iluminación, como una subimagen de ROI en campo oscuro usada para características basadas en campo oscuro.

(1) Extraer la región de contenido del huevo

La 'región de contenido del huevo', es decir, la región dentro del huevo donde se localiza el contenido del huevo, se extrae para su análisis adicional. Una forma de hacer esto, la cual es independiente de la orientación del huevo, se ilustra en la figura 9 y consiste en lo siguiente:

- 1) Procesar la elipse que tiene los mismos segundos momentos centrales normalizados que el blob [15]. Esto se denomina 'elipse de blob'. Ver la figura 9 (c).
- 2) Definir una nueva elipse con eje menor de la misma longitud y eje mayor del 95 % de la longitud de la elipse de blob así como también la misma orientación que la elipse de blob. Esta elipse se denomina 'elipse del cuerpo' ya que indica el cuerpo del huevo incluida la envoltura del huevo, pero sin los tapones polares. Ver la figura 9 (d) y (e).
- 3) Definir una nueva elipse con longitudes de eje al 80 % de la longitud del eje de elipse del cuerpo correspondiente. Esta elipse se denomina 'elipse del contenido' ya que indica el contenido del huevo. Ver la figura 9 (f). La región de la imagen cubierta por esta elipse se usa como la 'región de contenido del huevo' en el análisis posterior.

En la figura 9 (g) pueden observarse los ejemplos de regiones de contenido del huevo extraídas de esta manera.

(2) Procesar una o más características anteriores a una o más escalas

Se procesan una o más características para cada huevo en función de la región de contenido del huevo extraída. Cada característica se procesa a una escala elegida que depende del tamaño de los detalles y las estructuras que la característica pretende medir. Además de elegir la escala directamente y cambiar el tamaño de la imagen a esta escala, existen varias formas de representar y trabajar con imágenes a múltiples escalas; tres formas importantes son la representación espacial a escala [18], la representación piramidal de imagen [19] y el análisis de resolución múltiple [20].

(3) Medir estructuras lineales longitudinales/transversales y/o estructuras de bordes

Cuando se ha seleccionado una escala, las estructuras lineales y/o las estructuras de bordes dependientes de la dirección del contenido del huevo se miden a esta escala. Las mediciones se llevan a cabo de acuerdo con las direcciones longitudinales y transversales del huevo, ya sea midiéndolas en el lugar en la orientación original de los huevos o alineando el huevo con los ejes de imagen horizontal y vertical mediante rotación, como se ilustra en la figura 6.

A continuación se presentan una serie de ejemplos de los métodos para construir características basadas en mediciones de las estructuras longitudinales y transversales del contenido del huevo. La idea detrás de esto es construir características basadas en las mediciones de las estructuras dependientes de la dirección y usarlas en la fase de clasificación. La hipótesis subyacente es que los huevos que contienen larvas visibles tienen estructuras longitudinales más prominentes que las estructuras transversales debido a la forma en que las larvas se colocan dentro de los huevos si están presentes. Las larvas completamente desarrolladas tienen larvas más que parcialmente desarrolladas (ver la figura 15).

La medición de estructuras longitudinales y transversales a veces puede simplificarse mediante la alineación de los ejes longitudinal y transversal del huevo con el sistema de coordenadas como se describió anteriormente. Si las versiones alineadas se usan en la extracción de características, se recomienda alinear las subimágenes antes de extraer la región de contenido del huevo.

Ejemplo 1: Características basadas en la autocorrelación espacial

La idea detrás de estas características es medir las estructuras longitudinales y transversales del contenido del huevo mediante el uso de la autocorrelación espacial del contenido del huevo en la dirección longitudinal y transversal. Los coeficientes de autocorrelación espacial longitudinal y transversal del contenido del huevo se procesan de la siguiente manera:

Las subimágenes del huevo se alinean con los ejes de la imagen y se extrae la región del contenido del huevo como se describió anteriormente. La región de contenido del huevo extraída se reduce después a una resolución de aproximadamente 1,4 píxeles por micrómetro para huevos de alrededor de 60 μm de longitud.

La imagen de contenido del huevo reducida a escala resultante, denominada I , formará la base de los cálculos de autocorrelación espacial, que se explican a continuación.

5 Se hacen tres copias de I llamadas I_1 , I_2 e I_3 . De I_1 , se descartan la última fila y la última columna de píxeles (se recortan). Para I_2 , se descartan la primera fila y la última columna de píxeles. Para I_3 , se descartan la última fila y la primera columna de píxeles. Este método se ilustra en la Figura 10 (arriba).

10 Estas tres imágenes tienen ahora las mismas dimensiones, que son iguales a la altura de I menos uno y al ancho de I menos uno. Las tres imágenes contienen la región de contenido del huevo, aunque la región se ha desplazado un píxel hacia arriba en la imagen I_2 en comparación con I_1 y un píxel a la izquierda en la imagen I_3 en comparación con I_1 .

15 Ahora se procesa una región de imagen llamada Ω . Se define como la intersección de las tres regiones de contenido del huevo, es decir, todas las ubicaciones de píxeles (i,j) donde todos de $I_1(i,j)$, $I_2(i,j)$ e $I_3(i,j)$ contienen un píxel de la región de contenido del huevo, como se ilustra en la figura 10 (centro). De esta manera, la región de imagen Ω cubre exactamente las ubicaciones donde se superponen las tres regiones de contenido del huevo.

20 El conjunto de píxeles en I_1 que Ω cubre se llaman A , y de manera similar para I_2 , con B , e I_3 con C , como se ilustra en la figura 10 (abajo). El coeficiente de autocorrelación longitudinal ahora se calcula como la correlación entre A y B y el coeficiente de autocorrelación transversal ahora se calcula como la correlación entre A y C . La fórmula para esto se explica en la figura 11.

25 Los coeficientes de autocorrelación longitudinal y transversal pueden usarse directamente como dos características separadas en la clasificación o pueden combinarse en una sola característica, por ejemplo, la relación entre los dos. La relación entre los dos, definida como el coeficiente de autocorrelación longitudinal dividido por el coeficiente de autocorrelación transversal se define como la 'anisotropía longitudinal'. Una anisotropía longitudinal alta corresponde a un coeficiente de autocorrelación longitudinal relativamente mayor, lo que indica que las estructuras longitudinales y lineales del contenido del huevo son más prevalentes que las estructuras transversales y lineales del contenido del huevo.

30 En la sección de Clasificación se presentan ejemplos del uso de estas características basadas en la autocorrelación espacial para la clasificación.

Ejemplo 2: Características basadas en la detección de bordes

35 Las subimágenes del huevo se alinean con los ejes de la imagen y se extrae la región del contenido del huevo como se describió anteriormente. La región de contenido del huevo extraída se reduce después a una resolución de aproximadamente 2,8 píxeles por micrómetro para huevos de alrededor de 60 μm de longitud.

40 El detector de bordes de Canny [21] se aplica a la región de contenido del huevo a escala reducida para localizar y medir los bordes prevalentes del contenido del huevo. La desviación estándar del filtro gaussiano se establece en 1, y los umbrales de sensibilidad alto y bajo se establecen en 0,15 y 0,05, respectivamente, aunque también podría usarse una determinación heurística automática de estos.

45 Las respuestas de filtro intermedio horizontal y vertical del detector de bordes se usan para calcular la orientación de los bordes prevalentes detectados. Esto se hace mediante el uso de la fórmula predeterminada como se observa en la ecuación (10.2-11) de [22].

Una posible cuantificación de las estructuras de bordes medidas es calcular un 'recuento de bordes longitudinales' y un 'recuento de bordes transversales' como se define a continuación.

50 El 'recuento de bordes longitudinales' se define como el número de píxeles en el borde de la región de contenido del huevo que están orientados principalmente al 'norte' o 'sur'. De manera similar, el 'recuento de bordes transversales' se define como el número de píxeles en el borde que están orientados principalmente al 'este' u 'oeste'. Estar orientado principalmente en una dirección se define aquí para significar que está orientado en esa dirección más/menos un margen de 10 a 45 grados, por ejemplo 22,5 grados, como se ilustra en la figura 12.

55 Los recuentos de bordes longitudinales y transversales pueden usarse directamente como dos características separadas en la clasificación y/o pueden combinarse en una sola característica, por ejemplo, la relación entre los dos. Se sugiere usar la relación como una característica única o usar los dos recuentos de bordes como dos características separadas.

60 En la sección de Clasificación se presentan ejemplos del uso de estas características basadas en la detección de bordes para la clasificación.

Ejemplos de características basadas en campo oscuro

Como una opción o una alternativa a las características descritas anteriormente, el comportamiento/propiedades de dispersión de la luz de las partes internas del huevo bajo iluminación de campo oscuro [10] pueden medirse y cuantificarse de una o más formas y usarse como características en la clasificación.

5 La idea subyacente es que las estructuras internas de los huevos que no contienen una larva son diferentes a las de los huevos que sí contienen una larva. Las estructuras internas del primer grupo de huevos generalmente no son tan ásperas como las del segundo grupo de huevos, y en consecuencia parecen dispersar la iluminación de campo oscuro en un mayor grado. Por lo tanto, puede usarse una cuantificación de la dispersión interna para distinguir entre los dos grupos.

10 Una posible forma de cuantificar la dispersión interna bajo la iluminación de campo oscuro es extraer primero la región de contenido del huevo de la imagen en campo oscuro (en lugar de extraerla de la imagen en campo claro como en los ejemplos presentados anteriormente) y después calcular las estadísticas de las intensidades de píxeles extraídos. Una estadística adecuada sería la intensidad media de dispersión, es decir, la media de las intensidades de píxeles extraídos, o la intensidad media de dispersión, pero también podrían usarse otras estadísticas como la desviación estándar u otros momentos de imagen o estadísticas de orden, incluido un promedio ponderado o una medida de contraste.

15 En la sección de Clasificación se presenta un ejemplo del uso de una característica basada en el campo oscuro para la clasificación.

20 Figura 4: Fase de clasificación

La clasificación de los huevos de *Trichuris* es un problema de clasificación estadística, también conocido como un problema de aprendizaje supervisado. El problema de clasificación puede ser binario, donde cada huevo se clasifica como que contiene una larva o no, o de múltiples clases donde se determina la etapa de desarrollo de cada huevo. Las etapas de desarrollo se definen en la sección de Definiciones. Los resultados de la clasificación pueden usarse como un indicador de la potencia biológica de la suspensión de huevos.

La fase de clasificación presentada se ilustra en la figura 4. Consiste en dos partes; una parte de construcción del modelo y una parte de clasificación real.

30 La parte de construcción del modelo se usa para construir un modelo de clasificación, que después se usa para clasificar los huevos. Para la construcción del modelo, se usa un conjunto de datos anotado que consiste en una matriz de características y un vector de anotación. La matriz de características consiste en una serie de vectores de características que corresponden cada uno a un huevo. Cada vector de características es un vector fila que contiene una o más características para el huevo dado. El vector de anotación es un vector columna con un valor para cada huevo, es decir, la clase determinada manualmente de ese huevo. La anotación manual es realizada por un técnico experimentado quien se usa para clasificar los huevos basado en la inspección microscópica.

40 El modelo de clasificación se basa en todas o un subconjunto de las características en la matriz de características. El número de características influye en la elección del método de clasificación. Existe una gran cantidad de métodos y algoritmos de clasificación, desde la clasificación vecino k-más cercana a través de clasificadores lineales y cuadráticos hasta árboles de decisión, máquinas de vectores de soporte y redes neuronales, solo por nombrar algunos de los enfoques comunes. La elección del algoritmo no es importante en este contexto, por lo que se usa un umbral simple o un análisis discriminante lineal en los ejemplos posteriores.

45 En la parte de clasificación real de la fase de clasificación, el modelo de clasificación construido se aplica para matrices de características de nuevos conjuntos de huevos con clases desconocidas. El resultado de una clasificación es un vector de clases asignadas para cada uno de los huevos. Junto con los resultados de las fases anteriores, los resultados de la clasificación se presentan en un informe de los resultados del análisis. Este informe puede incluir listados e imágenes de los objetos detectados y sus categorías asignadas así como también los puntajes de características, la clase asignada y posiblemente una medida de la certeza de la asignación de clase.

50 A continuación se dan algunos ejemplos de la clasificación basada en algunas de las características que se introdujeron y explicaron en la sección anterior.

55 Ejemplo de clasificación 1: Clasificación basada en las características de Canny

La característica de Canny basada en la detección de bordes presentada dio como resultado dos cantidades; el recuento de bordes longitudinales y el recuento de bordes transversales. Además de usarlos por separado como características, la relación también podría usarse como una característica.

60 Deje que la 'relación de recuento de bordes' se defina como el recuento de bordes longitudinales dividido por el recuento de bordes transversales. Una posible clasificación basada solo en esta característica es usar un único valor de umbral como clasificador, por ejemplo, el valor 1,8. Todos los huevos con una relación de recuento de bordes superior a 1,8 se clasifican como que contienen una larva y el resto se clasifica como que no contienen una larva. En la figura 13 (a) se observa un gráfico de las relaciones de recuento de bordes de 100 huevos, presentados en orden descendente. Tenga

5 en cuenta que para un umbral de 1,8, solo un huevo de cada 100 se clasifica erróneamente basado solo en esta característica de relación de recuento de bordes. Otra forma de clasificar los huevos es usar los recuentos de bordes longitudinales y transversales como dos características separadas como se mencionó. Podría usarse un análisis discriminante lineal con probabilidades empíricas previas para esta tarea. Como se observa en la figura 13 (b), esta clasificación también puede clasificar correctamente todos los huevos excepto uno.

Ejemplo de clasificación 2: Clasificación basada en la anisotropía longitudinal

10 En la sección anterior, la anisotropía longitudinal se introdujo como la relación entre el coeficiente de autocorrelación longitudinal y espacial y el coeficiente de autocorrelación transversal y espacial de la región de contenido del huevo. Similar a las características de recuento de bordes anteriores, esta característica podría usarse para una clasificación unidimensional, o los coeficientes de correlación individuales podrían usarse como características separadas. La Figura 14 (a) muestra una clasificación basada en los coeficientes de correlación individuales.

15 También es posible combinar cualquiera de las características anteriores con otras características, por ejemplo, la intensidad media de dispersión basada en campo oscuro, como se describió anteriormente. Un ejemplo de una clasificación bidimensional basada en la anisotropía longitudinal y la intensidad media de dispersión para otro conjunto de datos puede observarse en la figura 14 (b).

20 Figura 17: Configuración del sistema físico

25 La figura 17 ilustra una posible modalidad de la configuración del sistema físico. La muestra de suspensión de huevos de *Trichuris* spp. se coloca en un recipiente de muestra, y una combinación de fuentes de luz se dirige a la muestra. Una cámara (por ejemplo, una cámara CCD o CMOS) adquiere fotos de la muestra a través de un objetivo, posiblemente un objetivo de microscopio, para obtener la resolución deseada. Se usa un tubo de extensión o similar para asegurarse de que la muestra esté enfocada. Las imágenes digitales adquiridas se transfieren desde la cámara a un ordenador, donde tiene lugar el análisis de imágenes.

30 Referencias

[1] R. W. Summers, D. E. Elliott, J. F. Urban, R. Thompson, y J. V. Weinstock, "Trichuris suis therapy in Crohn's disease.," Gut, vol. 54, núm. 1, páginas 87-90, enero de 2005.

[2] R. W. Summers, D. E. Elliott, J. F. Urban, R. a. Thompson, y J. V. Weinstock, "Trichuris suis therapy for active ulcerative colitis: A randomized controlled trial," Gastroenterology, vol. 128, núm. 4, páginas 825-832, abril de 2005.

[3] A. Reddy y B. Fried, "The use of Trichuris suis and other helminth therapies to treat Crohn's disease.," Parasitology research, vol. 100, núm. 5, páginas 921-7, abril de 2007.

40 [4] Y. S. Yang, D. K. Park, H. C. Kim, M. H. Choi, y J. Y. Chai, "Automatic identification of human helminth eggs on microscopic fecal specimens using digital image processing and an artificial neural network.," IEEE transactions on bio-medical engineering, vol. 48, núm. 6, páginas 718-30, junio de 2001.

[5] D. Avci y A. Varol, "An expert diagnosis system for classification of human parasite eggs based on multi-class SVM," Expert Systems with Applications, vol. 36, núm. 1, páginas 43-48, enero de 2009.

45 [6] E. Dogantekin, M. Yilmaz, A. Dogantekin, E. Avci, y A. Sengur, "A robust technique based on invariant moments - ANFIS for recognition of human parasite eggs in microscopic images," Expert Systems with Applications, vol. 35, núm. 3, páginas 728-738, octubre de 2008.

50 [7] D. Thienpont, F. Rochette, y O. F. J. Vanparijs, Diagnosing helminthiasis by coprological examination. 1986.

[8] L. S. Roberts, J. Janovy Jr., y G. D. Schmidt, Foundations of Parasitology, Seventh edition. 2005.

[9] J. S. Pittman, G. Shepherd, B. J. Thacker, y G. H. Myers, "Trichuris suis in finishing pigs - Case report and review.pdf," Journal of swine health and production, vol. 18, núm. 6, páginas 306-313, 2010.

[10] M. Abramowitz y M. W. Davidson, "Darkfield Illumination | Olympus Microscopy Resource Center," 2012. [En línea]. Disponible: <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/dark>. [Acceso: 26-abr-2012].

60 [11] R. J. S. Beer, "Morphological descriptions of the egg and larval stages of Trichuris suis Schrank, 1788," Parasitology, vol. 67, núm. DEC, páginas 263-278, 1973.

[12] M. I. Black, P. V. Scarpino, C. J. O'Donnell, K. B. Meyer, J. V. Jones, y E. S. Kaneshiro, "Survival rates of parasite eggs in sludge during aerobic and anaerobic digestion," Applied and environmental microbiology, vol. 44, núm. 5, páginas 1138-43, noviembre de 1982.

65

- [13] N. Otsu, "A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms," IEEE Transactions On Systems Man And Cybernetics, vol. 9, núm. 1, páginas 62-66, 1979.
- 5 [14] M. B. Dillencourt, H. Samet, y M. Tamminen, "Automatic Clump Splitting for Cell Quantification in Microscopical Images," vol. 39, núm. 2, páginas 253-280, 1992.
- [15] MathWorks, "MATLAB regionprops," 2012. [En línea]. Disponible: <http://www.mathworks.se/help/toolbox/images/ref/regionprops.html>. [Acceso: 26-abr-2012].
- 10 [16] H. Berge, D. Taylor, S. Krishnan, y T. S. Douglas, "MRC / UCT Medical Imaging Research Unit, Department of Human Biology Division of Clinical Pharmacology University of Cape Town, South Africa," páginas 204-207, 2011.
- 15 [17] G. Diaz, F. Gonzalez, y E. Romero, "Automatic Clump Splitting for Cell Quantification in Microscopical Images," en CIARP'07 Proceedings of the Congress on pattern recognition 12th Iberoamerican conference on Progress in pattern recognition, image analysis and applications, 2007, páginas 1-10.
- [18] A. P. Witkin, "Scale-space filtering: A New Approach To Multi-Scale Description," Acoustics, Speech, and Signal Processing, IEEE International Conference on ICASSP '84., vol. 9, páginas 150 - 153, 1984.
- 20 [19] P. Burt y E. Adelson, "The Laplacian Pyramid as a Compact Image Code," IEEE Transactions on Communications, vol. 31, núm. 4, páginas 532-540, abril de 1983.
- [20] S. G. Mallat, "A Theory for Multiresolution Signal Decomposition: The Wavelet Representation," Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on, vol. 11, núm. 7, páginas 674-693, 1989.
- 25 [21] J. Canny, "A computational approach to edge detection.," IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence, vol. PAMI-8, núm. 6, páginas 679-698, junio de 1986.
- 30 [22] R. S. Gonzalez y R. E. Woods, Digital Image Processing, International Edition. 2008.

REIVINDICACIONES

1. Un método basado en la visión artificial para clasificar las etapas de desarrollo de huevos de *Trichuris* spp., en donde para las etapas finales del desarrollo una larva está presente dentro del huevo, dichos huevos de *Trichuris* spp. que tienen una forma sustancialmente oblonga o elíptica con un tapón polar sobresaliente en cada extremo, la forma de los huevos de *Trichuris* spp. que definen de este modo una dirección longitudinal y una dirección transversal de los huevos, dicho método comprende:
- 5 a) obtener y almacenar una o más imágenes digitales de huevos de *Trichuris* spp. suspendidos en una solución líquida,
 10 b) detectar uno o más huevos de *Trichuris* spp. en la(s) imagen(imágenes),
 c) extraer una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que representa al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado,
- 15 en donde la extracción de una o más características de la región de la imagen del contenido del huevo incluye mediciones de las estructuras dependientes de la dirección del contenido del huevo, dichas mediciones de las estructuras dependientes de la dirección del contenido del huevo incluyen una o más mediciones de las estructuras longitudinales del contenido del huevo y una o más mediciones de las estructuras transversales del contenido del huevo,
- 20 en donde una o más de dichas mediciones de las estructuras longitudinales del contenido del huevo se basan en una comparación longitudinal de las intensidades de píxeles obtenidas de píxeles direccionados de manera similar en las partes primera y segunda de la imagen que representan al menos parte del contenido del huevo de un huevo detectado, donde la segunda parte de la imagen se obtiene desplazando la primera parte de la imagen uno o más píxeles en una dirección que sigue sustancialmente la dirección longitudinal del huevo, y
- 25 en donde una o más de dichas mediciones de las estructuras transversales del contenido del huevo se basan en una comparación transversal de las intensidades de píxeles obtenidas de píxeles direccionados de manera similar en la primera parte de la imagen y una tercera parte de la imagen que representa al menos parte del contenido del huevo de un huevo, obteniéndose la tercera parte de la imagen desplazando la primera parte de la imagen uno o más píxeles en una dirección que sigue sustancialmente la dirección transversal del huevo, y
- 30 d) clasificar, mediante el uso de al menos parte de las características extraídas de una región de la imagen del contenido del huevo que representa un huevo detectado, para cuyas características la extracción incluye una o más mediciones que representan estructuras longitudinales y estructuras transversales del contenido del huevo, la etapa de desarrollo del huevo detectado como
- 35 una clasificación binaria en donde el huevo detectado se clasifica como que contiene una larva o que no contiene una larva, o como una clasificación de múltiples clases que comprende al menos tres clases de etapas de desarrollo.
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en la etapa a) las imágenes digitales almacenadas de los huevos de *Trichuris* spp. comprenden una o más imágenes en campo oscuro y en donde en la etapa c) se extraen una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que es una región de la imagen del contenido del huevo en campo oscuro.
- 40 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde una o más características se extraen de una región de la imagen del contenido del huevo que se extrae de una imagen o región de imagen que incluye una representación completa de un huevo de *Trichuris* spp. detectado.
- 45 4. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la región de la imagen del contenido del huevo extraída excluye la envoltura del huevo de *Trichuris* spp. detectado.
- 50 5. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde en la etapa a) las imágenes digitales almacenadas de los huevos de *Trichuris* spp. comprenden una o más imágenes de campo brillante y en donde en la etapa c) se extraen una o más características de una región de la imagen del contenido del huevo que es una región de la imagen del contenido del huevo de campo brillante.
- 55 6. Un método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la región de la imagen del contenido del huevo de campo brillante extraída excluye la envoltura del huevo de *Trichuris* spp. detectado.
7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde los huevos de *Trichuris* spp. son huevos de *Trichuris suis*.
- 60 8. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la clasificación se basa al menos en parte en las características extraídas, para cuyas características la extracción incluye una o más mediciones que representan estructuras longitudinales y estructuras transversales del contenido del huevo, y en donde una medida que representa las estructuras longitudinales del contenido del huevo tiene que exceder una medida correspondiente que representa las estructuras transversales del contenido del huevo por un factor predeterminado que es mayor que uno para clasificar el huevo como que contiene una larva.
- 65

Sistema completo de análisis de huevos

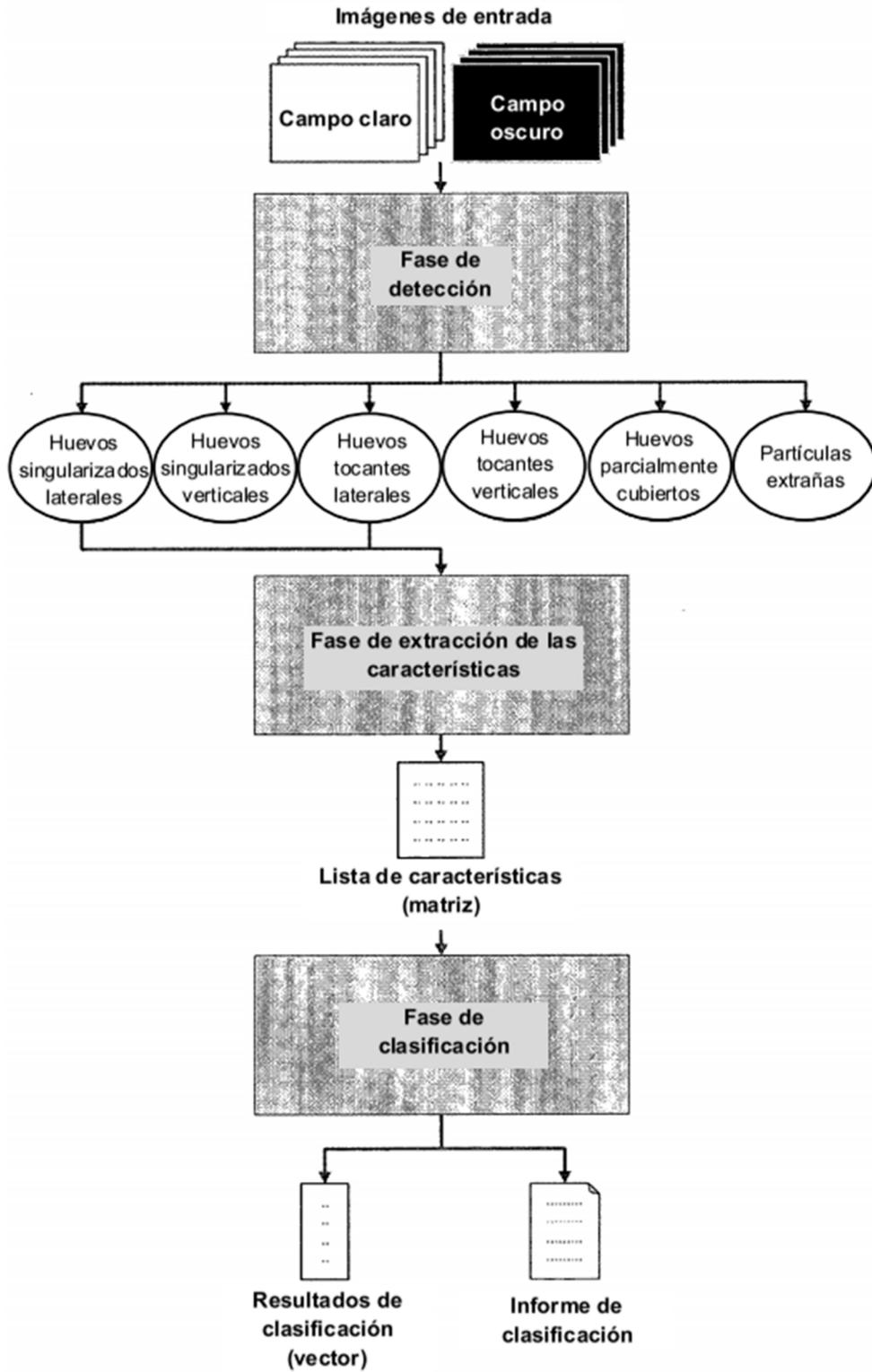


Fig. 1

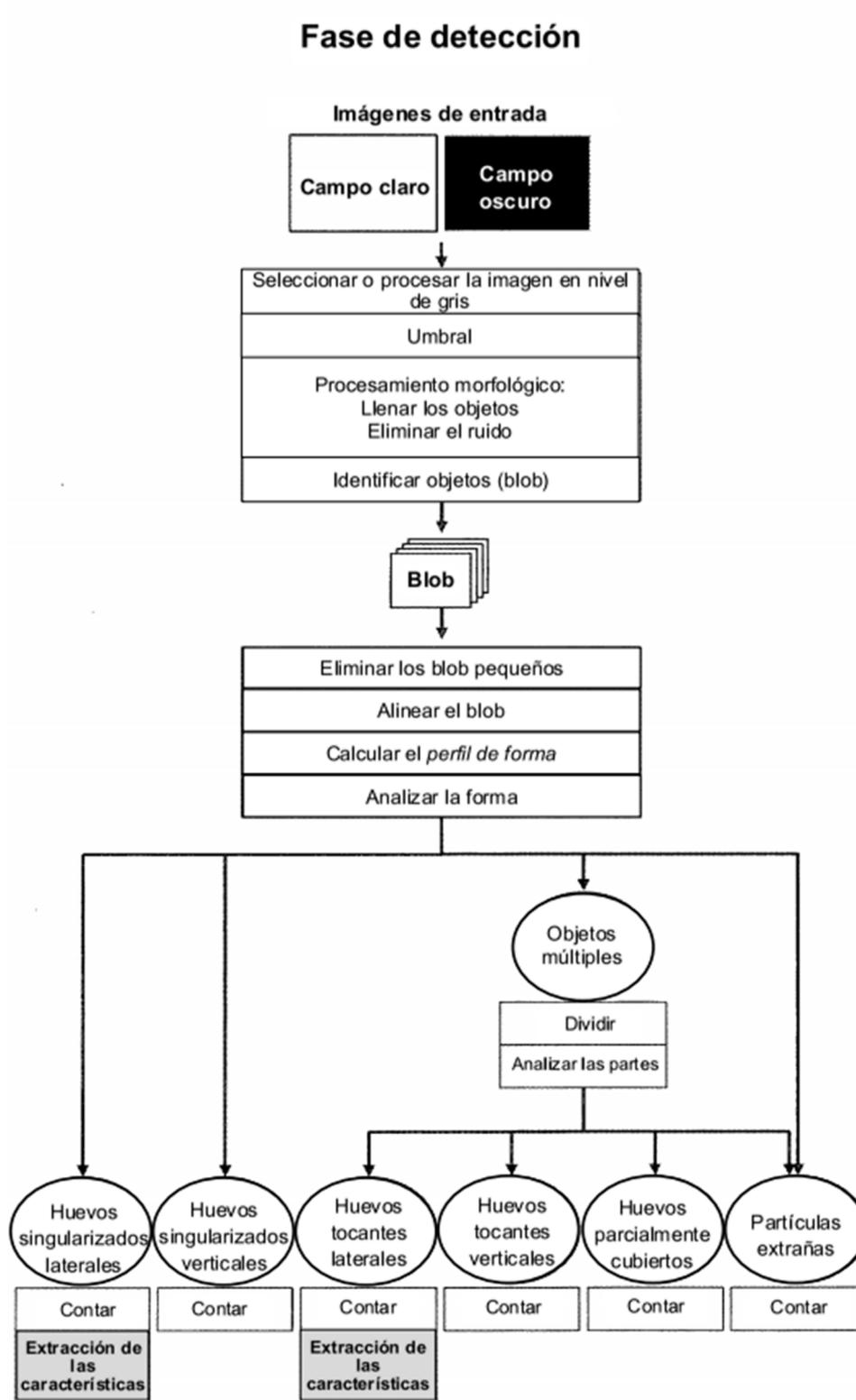


Fig. 2

Fase de extracción de las características

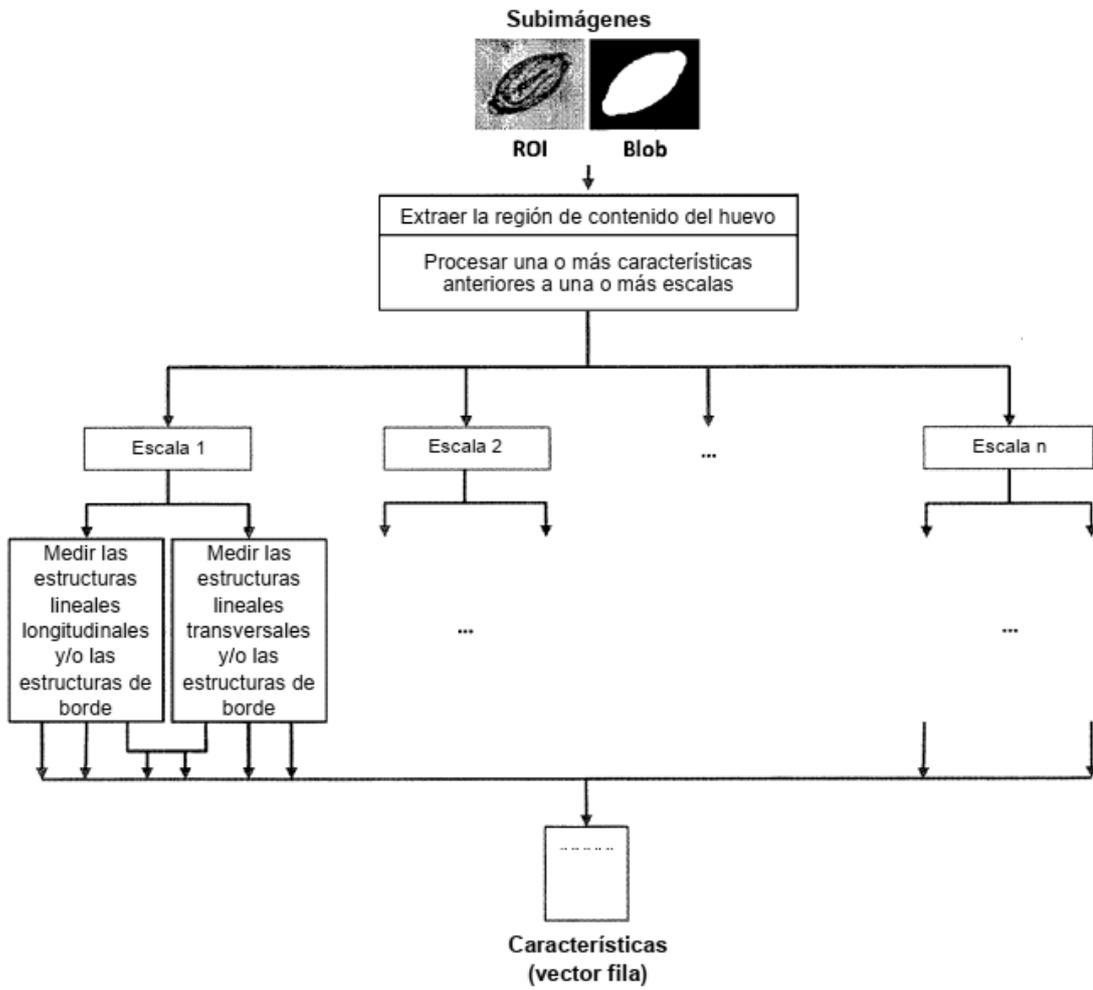


Fig. 3

Fase de clasificación

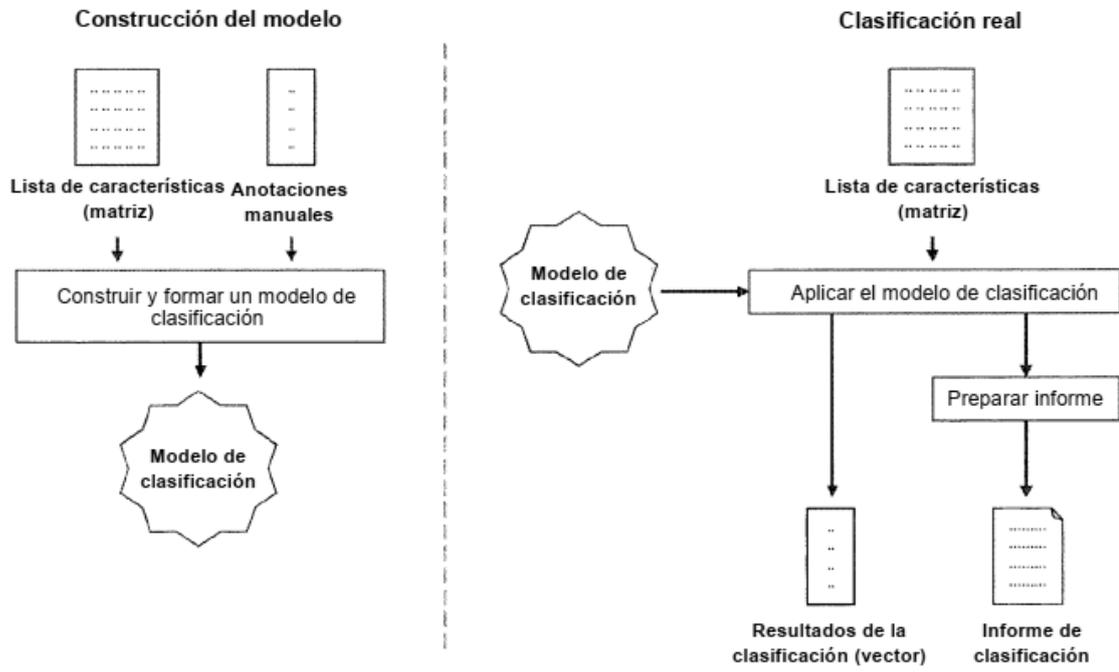


Fig. 4

Definiciones de las imágenes

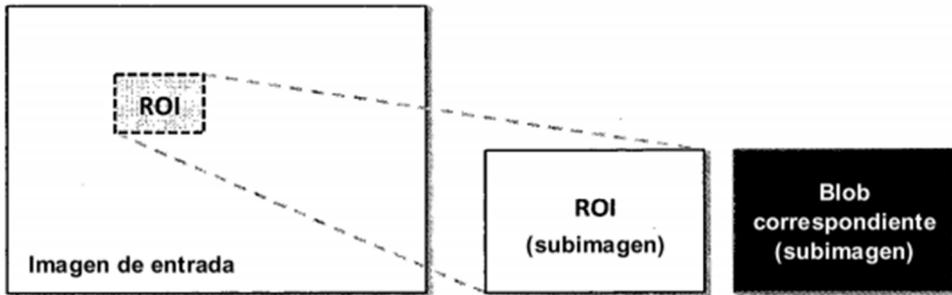


Fig. 5

Alineación de la orientación

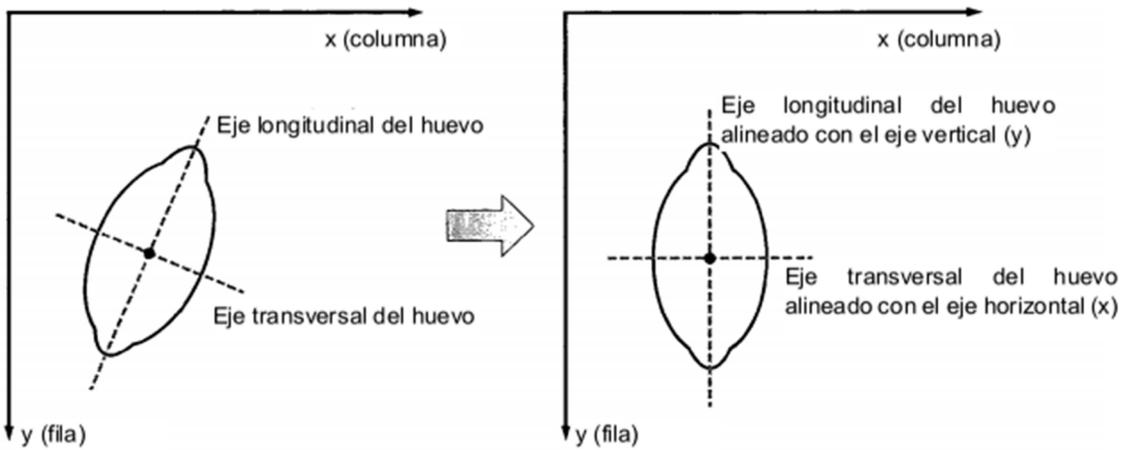


Fig. 6

Cálculo del perfil de forma

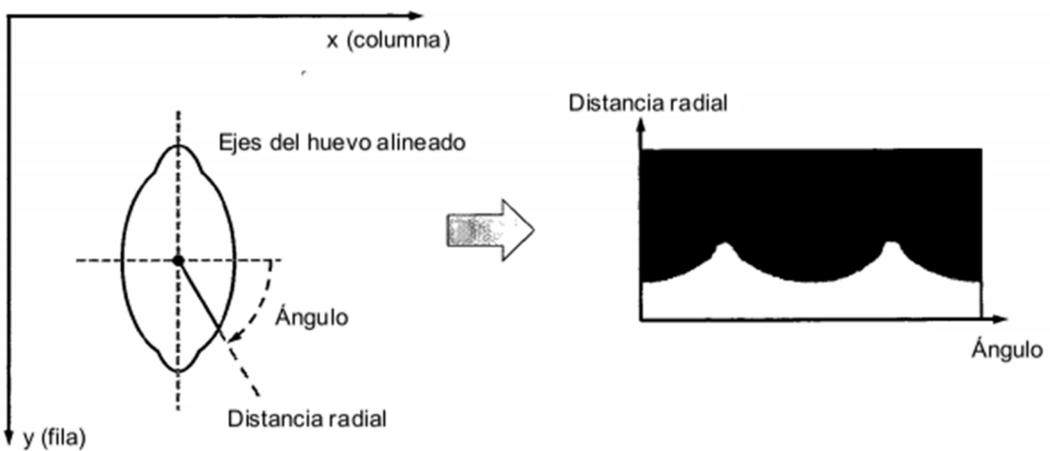
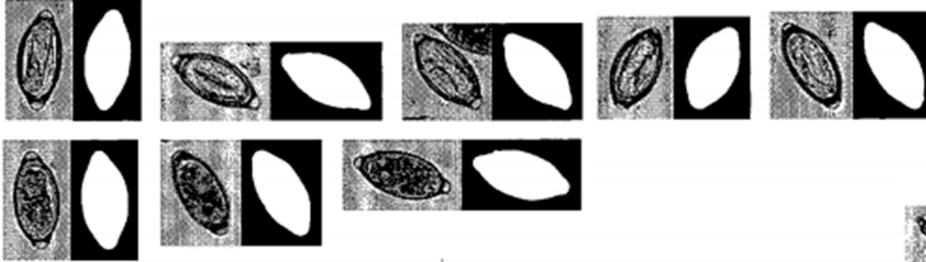


Fig. 7

Ejemplos de las siete categorías de huevos

Huevos singularizados laterales



Huevos singularizados verticales



Huevos tocantes laterales



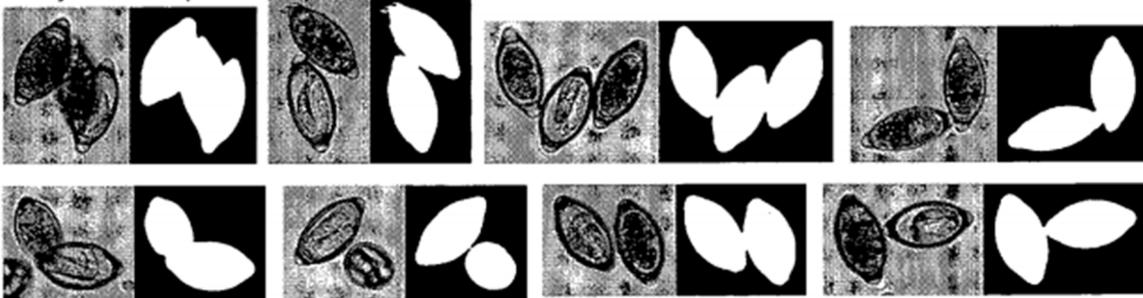
Huevos tocantes verticales



Huevos parcialmente cubiertos



Objetos múltiples



Partículas extrañas

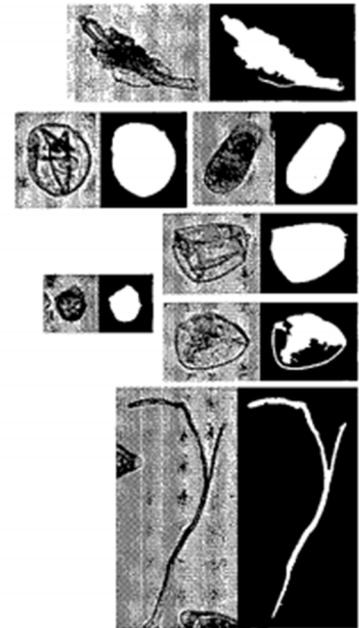


Fig. 8

Extracción de la región de contenido del huevo



(a) Subimagen de ROI (b) Subimagen de Blob (c) 'Elipse de Blob'



(d) 'Elipse del cuerpo' en el blob (e) 'Elipse del cuerpo' en el ROI (f) 'Elipse del contenido' en el ROI

(g) Ejemplos de las regiones del contenido del huevo extraídas (centro) así como también las envolturas y los tapones (derecha)

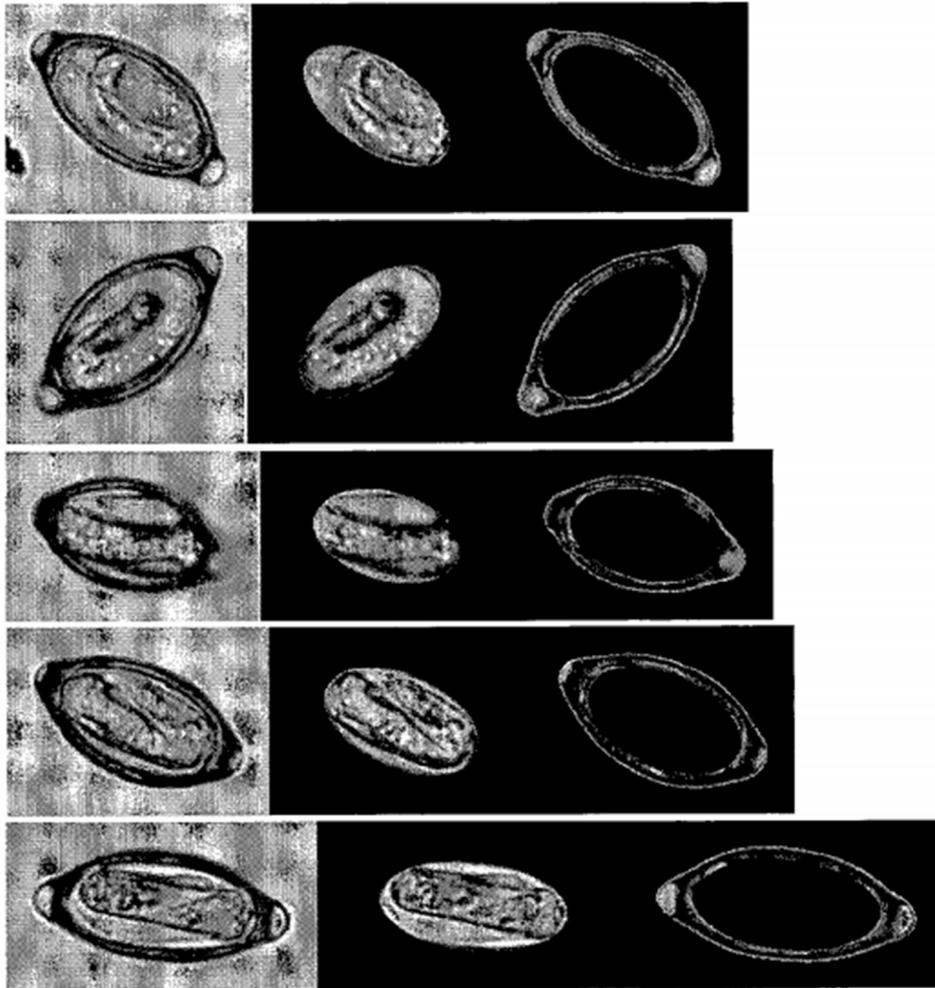


Fig. 9

Cálculo de la autocorrelación espacial

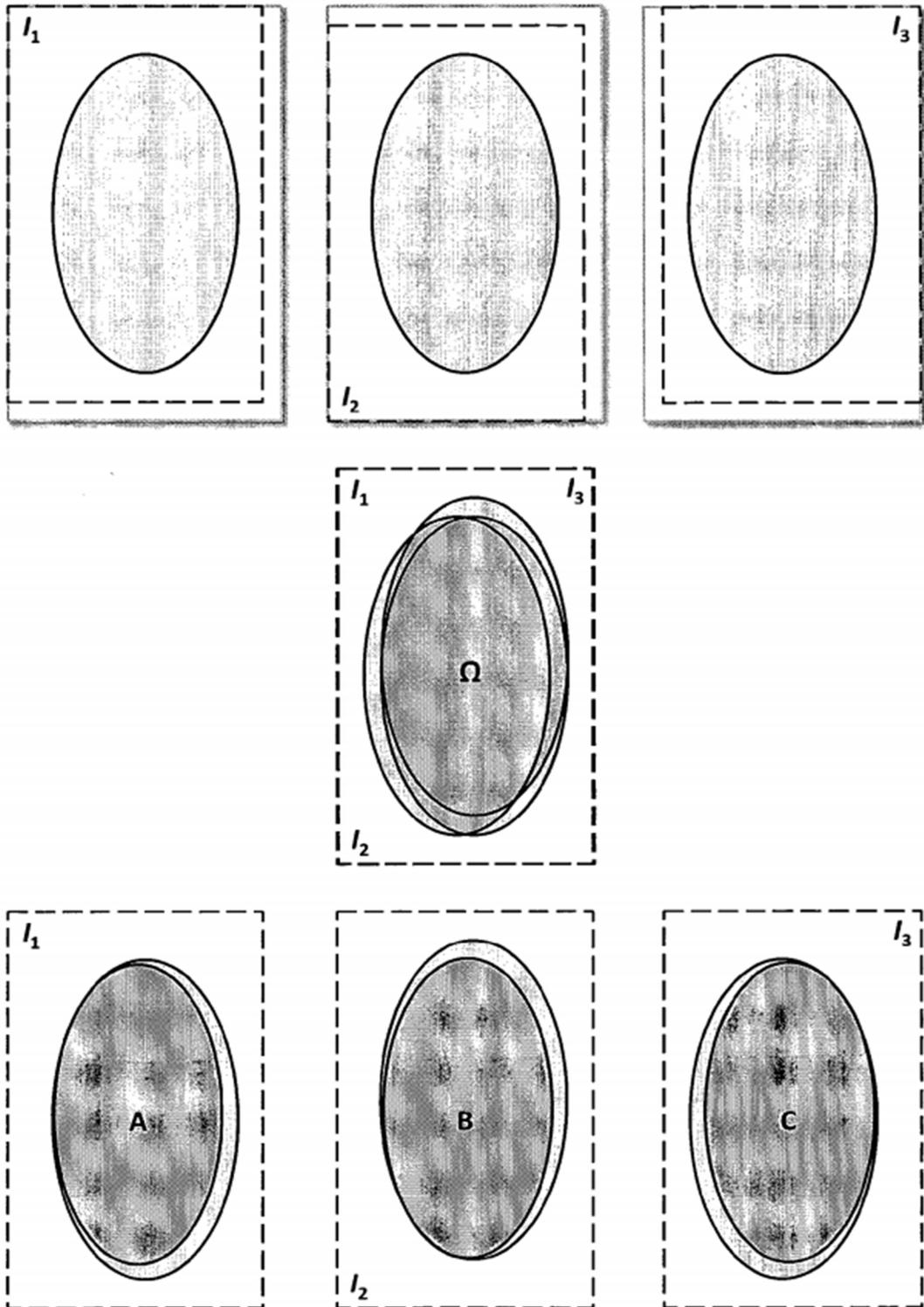


Fig. 10

Fórmula de correlación

Dejar que I_1 e I_2 sean imágenes monocromáticas de las mismas dimensiones, y dejar que Ω sea una región dentro de I_1 , es decir, un conjunto de pares de coordenadas de píxeles que están dentro de I_1 . Después dejar que A sea el subconjunto de píxeles en I_1 que están cubiertos por Ω , y dejar que B sea el subconjunto de píxeles en I_2 que están cubiertos por Ω . Dejar además que $A(i, j)$ sea la intensidad de píxeles de A en el par de coordenadas (i, j) , y de manera similar, dejar que $B(i, j)$ sea la intensidad de píxeles de B en el par de coordenadas (i, j) .

Después definir que la correlación entre A y B es

$$\text{corr}_{\Omega}(A, B) = \frac{1}{|\Omega|} \sum_{(i,j) \in \Omega} \left(\frac{A(i,j) - \mu_A}{\sigma_A} \cdot \frac{B(i,j) - \mu_B}{\sigma_B} \right)$$

donde μ_A es la media de A dada por

$$\mu_A = \frac{1}{|\Omega|} \sum_{(i,j) \in \Omega} A(i,j)$$

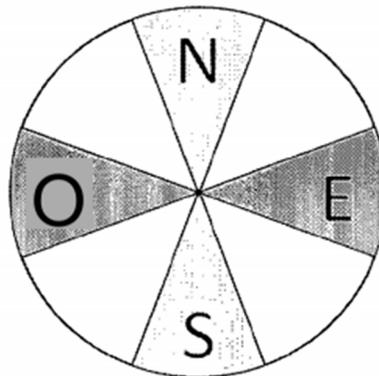
y de manera similar para μ_B y σ_A es la desviación estándar de A dada por

$$\sigma_A = \sqrt{\frac{1}{|\Omega|} \sum_{(i,j) \in \Omega} (A(i,j) - \mu_A)^2}$$

y de manera similar para σ_B , $|\Omega|$ indica el número de pares de coordenadas de píxeles en la región Ω .

Fig. 11

Orientaciones del borde



Definición de las orientaciones de bordes. Cada intervalo es 45 grados de amplitud. N y S constituyen el recuento de bordes longitudinales mientras que W y E constituye el recuento de bordes transversales en la cuantificación de la dirección de los bordes.

Fig. 12

Gráficas de clasificación I

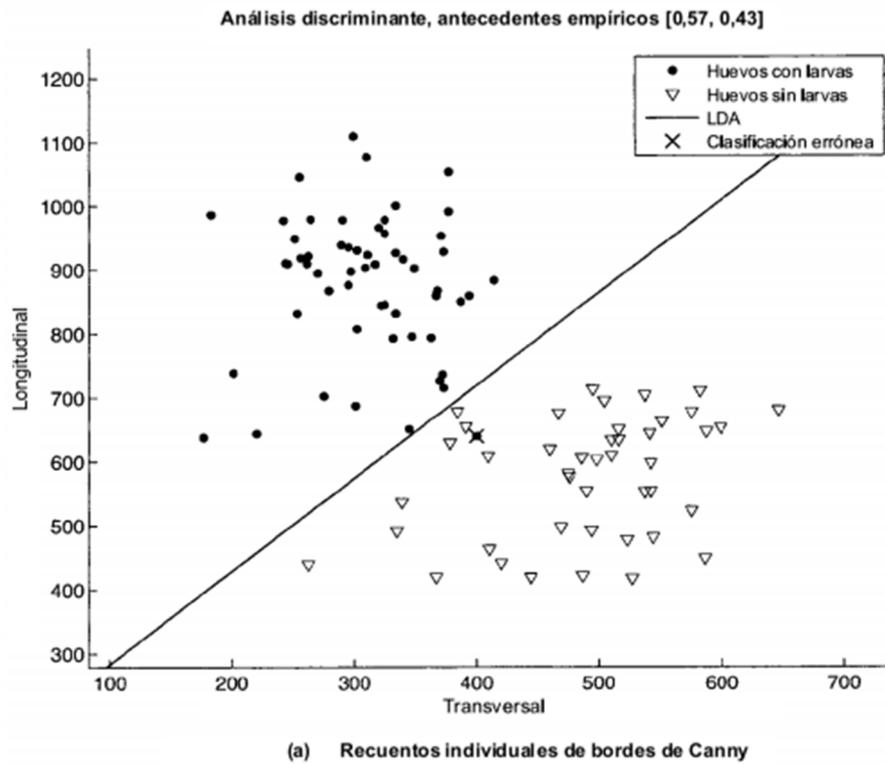
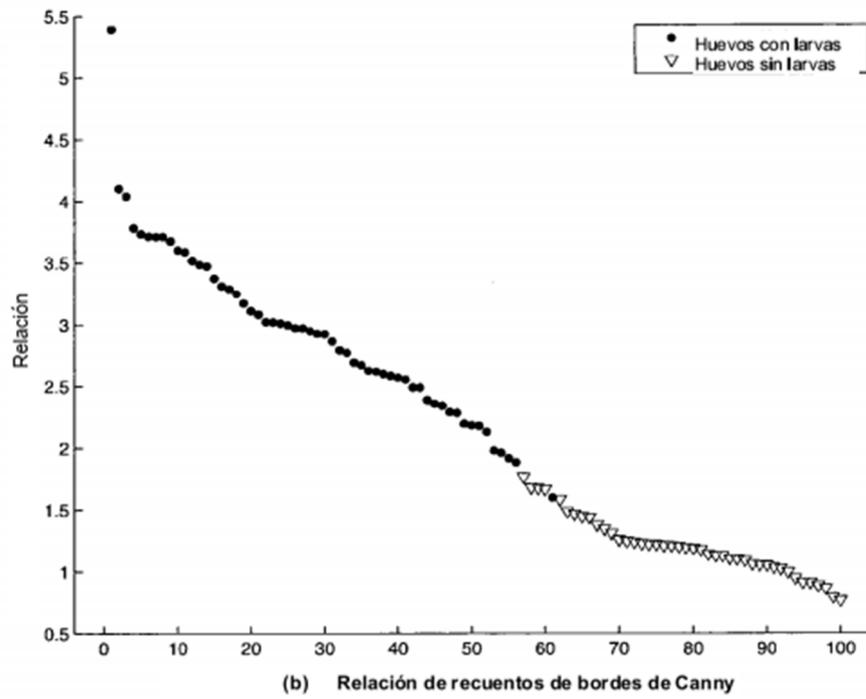
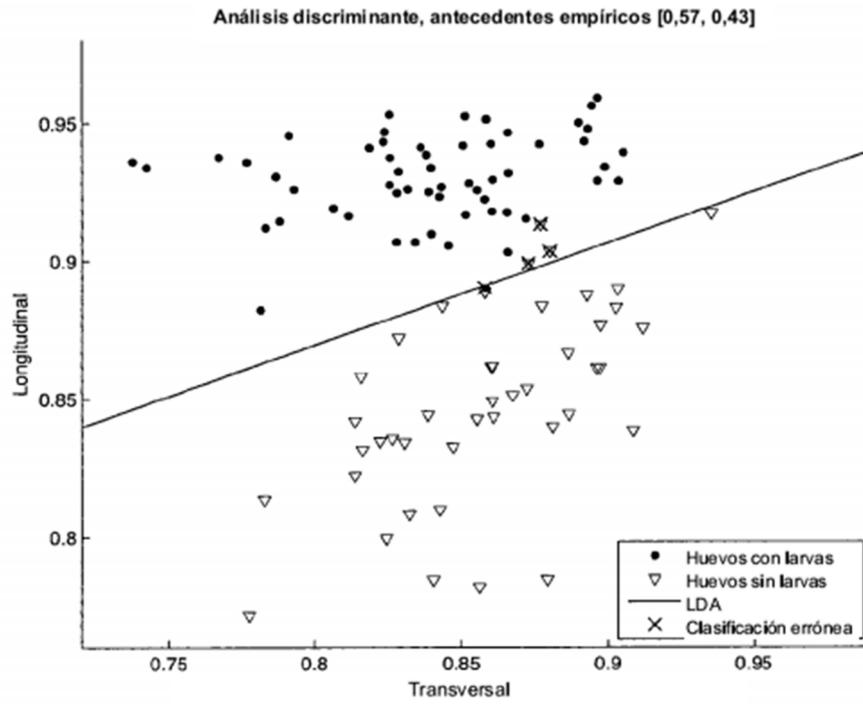
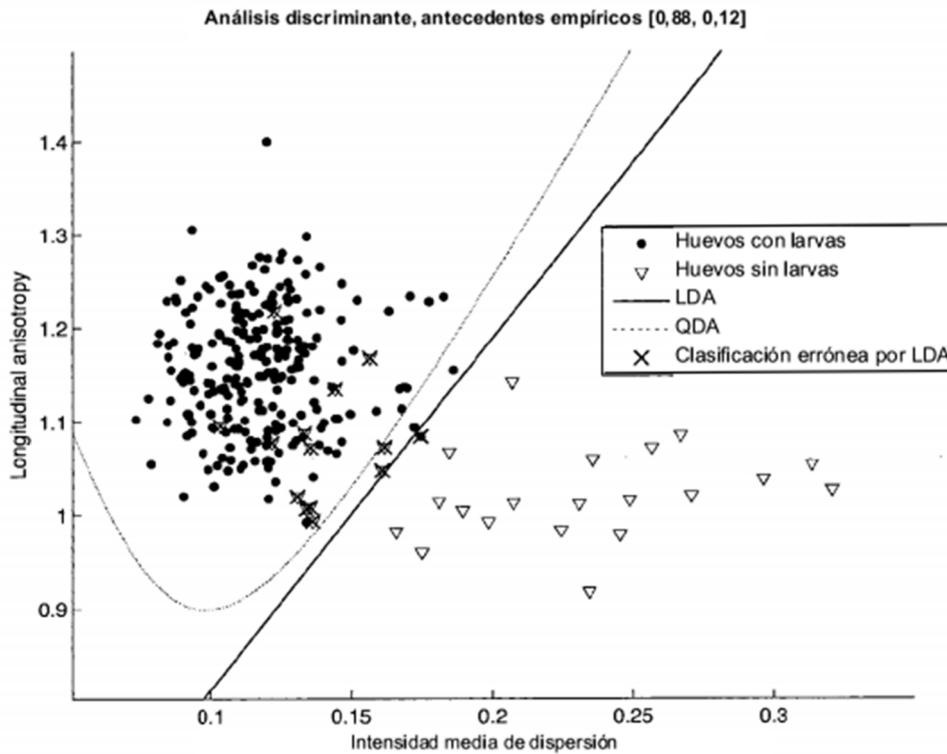


Fig. 13

Gráficas de clasificación II



(b) Autocorrelación longitudinal y transversal



(a) Anisotropía longitudinal e intensidad media de dispersión

Fig. 14

Etapas del desarrollo



Huevo no segmentado

1 célula

1^{ra} escisión (2 células)

2^{da} escisión (3 células)

Escisiones posteriores (varias células)

Larva temprana (embrión corto, grueso, cilíndrico)

Larva completamente desarrollada (larga, esbelta, enrollada)

Fig. 15

Ejemplos de imágenes en campo claro y campo oscuro correspondientes

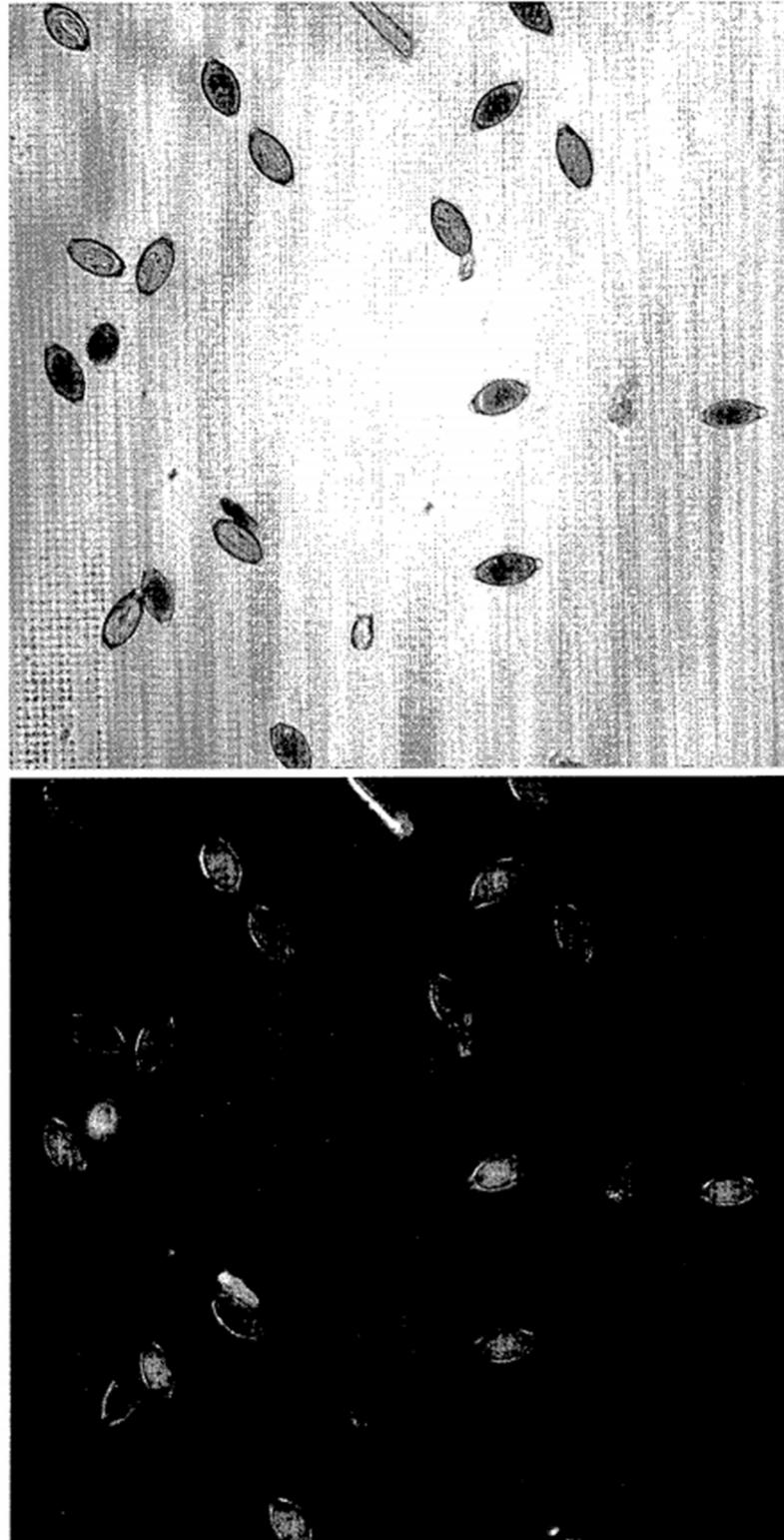


Fig. 16

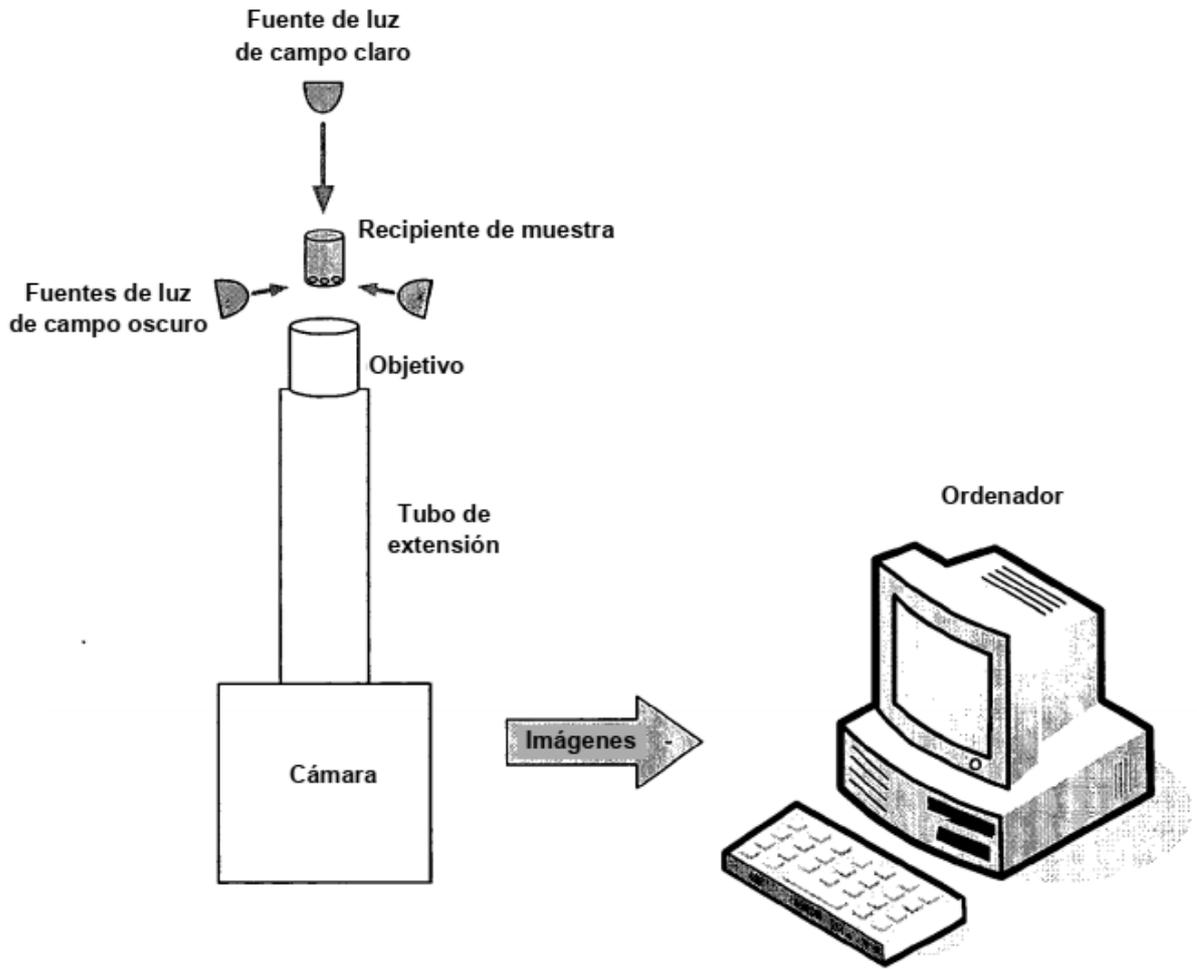


Fig. 17