

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 982 079**

51 Int. Cl.:

G01N 15/14	(2014.01)
G01N 15/10	(2014.01)
G01N 21/31	(2006.01)
G01N 21/51	(2006.01)
G01N 21/90	(2006.01)
G06T 7/246	(2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.08.2012 PCT/US2012/052914**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.03.2013 WO13033253**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2012 E 12770318 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2024 EP 2751543**

54 Título: **Métodos y aparatos para la detección no destructiva de partículas no disueltas en un fluido**

30 Prioridad:

29.08.2011 US 201161528589 P
30.09.2011 US 201161542058 P
20.08.2012 US 201261691211 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.10.2024

73 Titular/es:

AMGEN INC. (100.0%)
One Amgen Center Drive
Thousand Oaks, California 91320-1799, US

72 Inventor/es:

MILNE, GRAHAM F.;
FREUND, ERWIN y
SMITH, RYAN L.

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 982 079 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

Métodos y aparatos para la detección no destructiva de partículas no disueltas en un fluido

5 ANTECEDENTES

La diferenciación entre varios tipos de partículas es importante para caracterizar la calidad de una formulación dada de un producto farmacológico. Por ejemplo, la baja especificidad en la diferenciación tiene el potencial de confundir objetos, como láminas de vidrio, con partículas proteicas. Se necesita una alta especificidad del sistema de diferenciación para proporcionar decisiones precisas al tomar decisiones sobre las formulaciones. Sin información sobre tipo(s) de partículas en un producto farmacológico particular, puede ser difícil formular apropiadamente el producto farmacológico.

Desafortunadamente, las técnicas de detección de partículas convencionales son inadecuadas para detectar agregados proteicos y otras partículas pequeñas y/o delicadas. Los inspectores humanos no pueden detectar partículas menores que alrededor de 100 micrómetros. Las técnicas de inspección automatizadas son normalmente destructivas; es decir, implican la extracción del fluido de su envase, lo que suele hacer que el fluido no sea apto para uso terapéutico. Además, los sistemas convencionales de inspección no destructiva son solo una instantánea del envase para determinar si hay presentes partículas o no, lo que conduce frecuentemente a mediciones de tamaño de partícula y/o recuentos de partículas imprecisos. Las técnicas de inspección convencionales pueden implicar también la destrucción de más partículas delicadas, como agregados proteicos. Por ejemplo, hacer girar un fluido cargado a alta velocidad (por ejemplo 2000 rpm o más durante varios segundos) puede desgarrar los agregados proteicos en el fluido.

La solicitud de patente US2006/072111 divulga un dispositivo y un método para el recuento y el dimensionamiento no destructivo de partículas no disueltas en un recipiente que está al menos parcialmente lleno de un fluido, según el estado de la técnica.

30 RESUMEN

La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

A diferencia de otros sistemas y técnicas de detección de partículas, los sistemas y las técnicas inventivas funcionan de manera no destructiva: no es necesario extraer el fluido del recipiente para detectar, contar e identificar las partículas en el recipiente. Como resultado, los sistemas y las técnicas inventivas se pueden utilizar para estudiar cambios en e interacciones entre las partículas, el fluido y el recipiente durante largos espacios de tiempo, por ejemplo minutos, horas, días, meses o años. Además, los sistemas y las técnicas inventivas no implican o dan lugar necesariamente a la destrucción de partículas incluso más delicadas, como agregados proteicos pequeños, en el recipiente. También capturas datos de series temporales, es decir, datos que representan las trayectorias de las partículas en el fluido en movimiento. Debido a que los sistemas inventivos utilizan datos de series temporales en lugar de instantáneas de un solo fotograma del recipiente, estos pueden estimar con mayor precisión el número de partículas en el recipiente y los tamaños de partícula. También pueden obtener más información sobre cada partícula, como morfología de partícula y composición de partícula a partir del movimiento de la partícula. Por ejemplo, las partículas que precipitan tienden a ser más densas que las partículas ascendentes.

El anterior resumen es solo ilustrativo y no pretende ser limitante de ningún modo. Además de los aspectos ilustrativos, las realizaciones y características descritas anteriormente, con referencia a los siguientes dibujos y a la descripción detallada se harán evidentes otros aspectos, realizaciones y características.

50 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los dibujos adjuntos, que se incorporan y forman parte de esta memoria descriptiva, ilustran realizaciones de la tecnología divulgada y sirven para explicar principios de la tecnología divulgada junto con la descripción.

Las FIGS. 1A-1C muestran una unidad de inspección visual, un módulo de imágenes de inspección visual y una plataforma de inspección visual respectivamente, que se pueden utilizar para detectar e identificar partículas en un envase que está al menos parcialmente lleno de un fluido.

La FIG. 2A ilustra la preparación de muestras, la carga y el funcionamiento de los sistemas de inspección visuales mostrados en las FIGS. 1A-1C.

La FIG. 2B muestra imágenes procesadas, capturadas por un sistema de inspección visual ilustrativa, de partículas y sus trayectorias en fluido en movimiento en un recipiente.

Las FIGS. 3A-3C ilustran tres tipos de agitación de recipiente que contienen fluido y una o más partículas en preparación a partir de detección e identificación: rotación de un recipiente cilíndrico (FIG. 3A), inversión y rotación de una jeringa (FIG. 3B) y balanceo de una jeringa (FIG. 3C).

5 La FIG. 4 es un diagrama de óptica de rayos de una lente telecéntrica utilizada para obtener imágenes de un recipiente cilíndrico.

La FIG. 5A muestra el menisco líquido y el volumen grabado en un recipiente cilíndrico que contiene fluido.

10 La FIG. 5B ilustra la distorsión y los puntos ciegos en un recipiente cilíndrico creado por la forma del recipiente.

Las FIGS. 5C y 5D ilustran técnicas para compensar la distorsión y los puntos ciegos al obtener imágenes de recipientes cilíndricos.

15 La FIG. 5E ilustra la distorsión y puntos ciegos en un envase cilíndrico creados por la forma del envase para partículas en varias posiciones en el envase.

La FIG. 5F ilustra modelos teóricos de distorsión causada por un envase cilíndrico, correspondiendo cada modelo al mismo envase pero lleno de un fluido con un índice de refracción diferente. La figura también muestra las mediciones experimentales correspondientes que confirman los modelos teóricos.

20 La FIG. 5G ilustra el uso de un elemento óptico correctivo para corregir la distorsión en un recipiente cilíndrico, creada por la forma del recipiente.

25 La FIG. 5H es una vista detallada del elemento óptico correctivo de la FIG. 5G.

La FIG. 5I ilustra un dispositivo para seleccionar uno de varios elementos ópticos correctivos.

30 Las FIGS. 6A-6D muestran sistemas de rastreo de partículas con múltiples generadores de imágenes para capturar datos de series temporales de las partículas en movimiento desde muchos ángulos (FIGS. 6A y 6B), a velocidades de fotograma más elevadas desde el mismo ángulo (FIG. 6C) y a diferentes resoluciones espaciales desde el mismo ángulo (FIG. 6D).

35 Las FIGS. 7A y 7B ilustran la activación de la adquisición de imágenes y la iluminación de partículas de imágenes con generadores de imágenes de doble sensor.

La FIG. 8 es un diagrama esquemático de una configuración flexible multipropósito que incluye fuentes de luz colocadas delante, detrás y debajo del recipiente que se inspecciona.

40 Las FIGS. 9A-9C ilustran la iluminación desde diferentes ángulos para distinguir entre diferentes especies de partículas utilizando las fuentes de luz que se muestran en la FIG. 8.

45 La FIG. 9D muestra una secuencia de iluminación y un diagrama de temporización para utilizar las configuraciones de las FIGS. 9A-9C para distinguir entre diferentes especies de partículas.

Las FIGS. 10A-10C ilustran el reflejo de un recipiente parcialmente lleno de fluido (FIG. 10A) y el posicionamiento de fuentes de luz fuera de una zona definida girando el generador de imágenes alrededor del eje longitudinal del recipiente (FIGS. 10B y 10C).

50 Las FIGS. 10D-10E ilustran un esquema de iluminación alternativo para reducir o eliminar el reflejo de un recipiente.

La FIG. 11 es un diagrama esquemático de una configuración de generación de imágenes adecuada para obtener imágenes de partículas polarizadas (por ejemplo quirales).

55 La FIG. 12 es un diagrama esquemático de una configuración de generación de imágenes adecuada para excitar y obtener imágenes de partículas fluorescentes.

60 Las FIGS. 13A y 13B muestran imágenes de proyección de máxima intensidad de láminas de vidrio (FIG. 13A) y proteínas (FIG. 13B) adquiridas con un sistema de inspección visual ilustrativa.

La FIG. 14 incluye diagramas de flujo que ilustran de manera diferente el proceso general de detección e identificación de partículas, así como el preprocesamiento de imágenes, el rastreo de partículas y los subprocesos de análisis estadístico.

65

Las FIGS. 15A y 15B muestran un fotograma de datos de series temporales antes (FIG. 15A) y después (FIG. 15B) de la sustracción de fondo.

5 La FIG. 16A es un fotograma de datos de series temporales de una partícula que se muestra en escala de grises de ocho bits (mostrada a la izquierda).

La FIG. 16B es un primer plano del fotograma de datos de series temporales mostrado en la FIG. 16A.

10 Las FIGS. 16C y 16D son versiones umbralizadas de fotogramas de datos de series temporales mostrados en las FIGS. 16A y 16B, respectivamente.

Las FIGS. 17A-17D ilustran cómo un par de fotogramas sucesivos de datos de series temporales (FIG. 17A) pueden utilizarse para realizar un rastreo predictivo (FIGS. 17B-17D).

15 La FIG. 18A muestra un fotograma de datos de series temporales en escala de grises que muestra varias partículas.

20 La FIG. 18B muestra una versión umbralizada de la FIG. 18A utilizada para localizar el centro geométrico de una partícula.

La FIG. 19 muestra sucesivos fotogramas de datos de series temporales que ilustran la colisión/oclusión de partículas.

25 La FIG. 20A muestra un fotograma de datos de series temporales con un par de partículas próximas entre sí dentro de una región resaltada.

30 Las FIGS. 20B-20E son fotogramas sucesivos de datos de series temporales que muestran la oclusión de partículas aparente a medida que las partículas en la región resaltada de la FIG. 20A se propagan unas contra otras.

Las FIGS. 21A-21C ilustran la oclusión aparente de una partícula en movimiento causada por la sustracción de un artefacto, como un rasguño o un trozo de tierra, en una pared del recipiente para trayectorias rectas (FIG. 21A), trayectorias curvadas (FIG. 21B) y trayectorias parabólicas (FIG. 21C).

35 Las FIGS. 22A-22C ilustran la ubicación del centro de masa de partículas de forma irregular utilizando datos de series temporales invertidas (FIGS 22B y 22C) y el uso de la ubicación del centro de masa para determinar la trayectoria de la partícula (FIG. 22A).

40 Las FIGS. 23A-23D ilustran la dinámica de fluidos observada y modelada en recipientes cilíndricos. La FIG. 23A muestra cambios en la forma del menisco. Las FIGS. 23B y 23C ilustran la formación de vórtices dentro de un recipiente lleno de fluido y la FIG. 23D muestra trayectorias de partícula en un vórtice ilustrativo.

45 Las FIGS. 24A y 24B muestran primeros planos de fotogramas consecutivos de datos de series temporales invertidas donde las colisiones de partículas no se han resuelto correctamente (FIG. 24A) y el mismo diagrama después de la corrección de errores (FIG. 24B).

Las FIGS. 25A-25E ilustran la dependencia temporal de la medición del tamaño de partícula debido al movimiento de la partícula.

50 La FIG. 25F es un gráfico del diámetro de Feret dependiente del tiempo para la partícula que se muestra en la FIG. 25C.

55 La FIG. 26A muestra fotogramas de datos de series temporales procesados a diferentes intervalos con trazas que indican diferentes trayectorias de partícula.

La FIG. 26B muestra mediciones ilustrativas de varias propiedades de partícula dependientes del tiempo a partir de trayectorias de partícula en la FIG. 26A.

60 Las FIGS. 27A-27F ilustran la detección de una región de interés utilizando iluminación en ángulo trasero. La FIG. 27A muestra una imagen original (fotograma de datos de series temporales) que está sujeta a detección de bordes (FIG. 27B), umbral de escala de grises (FIG. 27C), identificación del menisco y la base del vial (FIG. 27D), determinación de una región de interés (delimitada por líneas punteadas en la FIG. 27E) y recorte (FIG. 27F) para obtener una imagen del fluido visible en el envase.

65 Las FIGS. 28A-28C ilustran la detección de volumen de llenado de un vial retroiluminado. La FIG. 28A muestra una imagen en bruto del vial. La FIG. 28B muestra una región de interés (delimitada por líneas punteadas)

utilizando umbral y detección de borde. Los defectos en la superficie del vial (mostrados en la FIG. 28C) pueden dificultar la detección del volumen de llenado.

5 Las FIGS. 29A-29D ilustran la detección de volumen de llenado de un vial iluminado desde abajo. Las FIGS. 29A y 29B son imágenes en falso color de un recipiente parcialmente lleno (FIG. 29A) y un recipiente vacío (FIG. 29B). Las FIGS. 29C y 29D ilustran la detección automática de menisco de recipientes parcialmente llenos, vacíos y parcialmente llenados.

10 La FIG. 30 muestra un procesador adecuado para procesar datos de series temporales.

La FIG. 31 ilustra un ejemplo de umbral de escala de grises para una imagen que incluye una partícula brillantes y una partícula tenue.

15 La FIG. 32 muestra un histograma de tamaños de partícula aparentes para una población de partículas con un tamaño estándar (100 μm).

La FIG. 33 muestra curvas de recuento de tamaño de partícula aparente para dos poblaciones de partículas, teniendo cada población el tamaño estándar indicado (μm).

20 La FIG. 34 muestra curvas de calibración de recuento de tamaño de partícula aparente para cuatro poblaciones de partículas, teniendo cada población el tamaño estándar indicado (μm).

La FIG. 35 ilustra el ajuste de una superposición de curvas de calibración a una curva de recuento de tamaño de partícula aparente de muestra.

25 La FIG. 36 compara el resultado de dos técnicas de recuento y dimensionamiento de partículas, agrupamiento sin procesar y LENS.

30 La FIG. 37 ilustra un proceso de recuento y dimensionamiento de partículas que presenta diferentes técnicas de dimensionamiento para partículas por debajo y por encima de un tamaño umbral.

Las FIGS. 38A-38C ilustran sistemas de rastreo de partículas con múltiples generadores de imágenes para capturar datos de series temporales de las partículas en movimiento desde múltiples ángulos.

35 La FIG. 39 ilustra la propagación de rayos de luz a través de un envase recibido por cada uno de los dos generadores de imágenes (panel izquierdo) y cada uno de los tres generadores de imágenes (panel derecho) de los sistemas de rastreo de partículas de las FIGS. 38A-C.

40 La FIG. 40 muestra los resultados de detección de partículas para un sistema de detección de partículas automatizado (designado "APT") en comparación con resultados humanos mediante inspección visual.

La FIG. 41 muestra los resultados de detección y clasificación de partículas para un sistema de detección de partículas automatizado.

45 La FIG. 42 muestra un gráfico que resume la linealidad del recuento de partículas como función de la dilución de la muestra para un sistema de detección de partículas automatizado.

La FIG. 43 muestra la precisión del sistema de detección de partículas automatizado utilizado para detectar y contar partículas de agregado proteico.

50 La FIG. 44 muestra los resultados de detección de partículas de agregado proteico para un sistema de detección de partículas automatizado (designado "APT") en comparación con resultados humanos mediante inspección visual.

55 La FIG. 45 muestra un espectrómetro para uso con una unidad de inspección visual.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

60 La FIG. 1A muestra una unidad de inspección visual 100 automatizada ejemplar configurada para detectar y/o identificar de manera no destructiva partículas en un envase transparente 10, que está al menos parcialmente lleno de fluido, como una composición farmacéutica que contiene proteínas, fármacos, productos biotecnológicos, bebidas y otros fluidos translúcidos regulados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU.

65 Aunque la detección de la presencia o ausencia de una partícula se puede conseguir mediante la observación de partes del envase en las que el exterior no es uniforme (por ejemplo el talón), en realizaciones típicas, para mediciones de caracterización de partículas, como el recuento y el dimensionamiento, puede ser necesario mirar las partículas a

través de la pared vertical sustancialmente uniforme del envase para mitigar distorsiones. Esto tiene implicaciones en el volumen mínimo de llenado, ya que la sección transversal bidimensional aparente del fluido en el envase 10 visible para la unidad 100 debe ser de un área apropiada para proporcionar estadísticas utilizables. El volumen de llenado requerido es dependiente del diámetro circular del envase (envases más pequeños, menos volumen de llenado requerido). En diversas realizaciones, el volumen interior del envase puede ser al menos 1% , al menos 5% , al menos 10% , al menos 20% , al menos 30% , al menos 40% , al menos 50% , al menos 60% , al menos 70% , al menos 80% , al menos 90% o al menos 100 % lleno de fluido.

En diversas realizaciones, las técnicas de detección de partículas descritas en el presente documento son de naturaleza óptica. En consecuencia, en algunas realizaciones, las paredes del envase 10 son suficientemente transparentes a la longitud de onda de iluminación para permitir la visualización del líquido contenido en el interior. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el envase 10 puede estar hecho de vidrio de borosilicato transparente, aunque se pueden utilizar otros materiales adecuados. La turbidez del fluido contenido dentro del envase también es importante y debe ser suficientemente baja para permitir el nivel de visualización deseado. En algunas realizaciones, el fluido tiene turbidez en el rango 0-100 NTU (Unidades de Turbidez Nefelométricas, preferentemente 0-20 NTU y más preferentemente 0-10 NTU). Se pueden encontrar prácticas estándar para la medición de la turbidez, por ejemplo el Manual de Orientación de la EPA, Disposiciones sobre Turbidez, Capítulo 3 (abril de 1999).

Los sistemas ilustrativos pueden detectar e identificar partículas transparentes y/o translúcidas que refractan y/o dispersan la luz (por ejemplo agregados proteicos, escamas o láminas de vidrio y manchas de aceite), partículas que reflejan la luz (por ejemplo copos de metal) y/o partículas que absorben la luz (por ejemplo negro de carbón y partículas de plástico) en base a sus diferentes características ópticas. Algunas unidades de inspección visual 100 inventivas pueden detectar tres clases de partículas mediante secuencias de iluminación como las descritas a continuación. Las unidades de inspección visual 100 inventivas también se pueden configurar especialmente para detectar, identificar y/o rastrear proteínas, que pueden aparecer como agregados densamente unidos, sustancias de algodón ligeramente unidas con alto contenido en agua, cristales (reflectantes), sustancias gelatinosas y/o agregados amorfos.

El término "proteína", que puede utilizarse indistintamente con el término "polipéptido", se refiere en su sentido más amplio a un compuesto de dos o más subunidades de aminoácido, análogos de aminoácido o peptidomiméticos. Las subunidades pueden estar unidas por enlaces peptídicos. En otra realización, las subunidades pueden estar unidas mediante otros enlaces, *e.g.*, éster, éter, etc. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "aminoácido" se refiere a aminoácidos naturales y/o no naturales o sintéticos, incluyendo glicina, y los isómeros ópticos D y L, análogos de aminoácidos y peptidomiméticos. Un péptido de tres o más aminoácidos se llama comúnmente oligopéptido si la cadena peptídica es corta. Si la cadena peptídica es larga, el péptido se llama comúnmente polipéptido o proteína. El término "fragmento peptídico" como se usa en el presente documento se refiere también a una cadena peptídica.

El envase 10 puede ser un recipiente rectangular o cilíndrico hecho de vidrio o plástico (por ejemplo una cubeta, un vial, una ampolla, un cartucho, un tubo de ensayo o una jeringa): también puede tener otra forma y/o estar hecho de material diferente, siempre que proporcione la visualización del contenido del envase a la longitud de onda de generación de imágenes. Aunque las realizaciones particulares proporcionan una visualización clara e imperturbable del contenido del recipiente, otras realizaciones pueden cronometrar la generación de imágenes para que coincida con los periodos en los que el envase no está perturbado y/o emplear el posprocesamiento para compensar la distorsión de datos grabados.

La unidad 100 incluye un generador de imágenes 110 con óptica de recogida que proyecta imágenes del contenido del envase en un sensor. En este caso, la óptica de recogida incluye una lente telecéntrica 114 y el sensor es un dispositivo de carga acoplada (CCD) 112. La memoria 140 acoplada al CCD 112 graba y almacena un flujo de imágenes que representan el contenido del envase, y un procesador 130 acoplado a la memoria 140 analiza la secuencia de imágenes como se describe a continuación para detectar e identificar las partículas en el envase 10. Tal como lo entienden los expertos en la materia, el procesador 130 puede implementarse con un ordenador de propósito general adecuadamente configurado (por ejemplo uno que utilice un procesador Intel® Core™ i5 o Advanced Micro Devices Athlon™), una matriz de puerta programable (por ejemplo una FPGA Altera® Stratix® o Xilinx® Spartan®-6) o un circuito integrado específico de la aplicación. La memoria 140 se puede implementar en memoria de estado sólido (por ejemplo memoria flash), disco óptico (por ejemplo CD o DVD) o medios magnéticos, y se puede seleccionar para que sea de cualquier tamaño apropiado (por ejemplo 1 GB, 10 GB, 100 GB o más).

Un sistema de iluminación 120, que incluye una o más fuentes de luz 122a y 122b dispuestas alrededor del envase 10, ilumina el envase 10 y su contenido durante la adquisición de imágenes. La unidad de inspección visual 100 puede estar integrada en un módulo de inspección 160 que incluye también un husillo 150, un agitador, un vibrador ultrasónico u otro agitador para hacer girar, sacudir o agitar el contenido del envase antes de la generación de imágenes y para sujetar el envase 10 durante la generación de imágenes, como se muestra en la FIG. 1(b).

La FIG. 1(c) muestra una plataforma de inspección visual 170 de rendimiento medio a alto que incluye uno o más módulos de inspección 160-1 a 160-5 (generalmente módulos de inspección 160), un robot 180 y una bandeja de viales 172, que sujeta envases 10 no inspeccionados y/o inspeccionados en pozos de envases individuales. Siguiendo instrucciones de un usuario o de un controlador automático (no mostrado), el robot 180 mueve un envase 10 de la

bandeja de viales 172 a un módulo de inspección 160 que captura y graba datos de series temporales de partículas que mueven el envase 10. El robot 180 devuelve entonces el envase 10 a la bandeja de viales 172.

En algunos ejemplos, la capa superior de la bandeja de viales 172 y/o los bordes de los pocillos de los envases están hechos de resina acetálica Delrin® u otro material similar, y los bordes interiores de los pocillos de los envases están biselados para evitar que los envases 10 se rayen a medida que se insertan en se retiran de los pocillos de los envases. La bandeja de viales 172 puede incluir una capa base hecha de aluminio u otro material similar que no se deforme ni se agriete fácilmente. Las paredes de los pocillos de los envases son normalmente gruesas para sujetar los viales de manera segura al transportar la bandeja 172 (por ejemplo por una persona) hacia y desde la plataforma de inspección visual 170. Dependiendo de su construcción, la bandeja de viales 170 puede sujetar los envases 10 en posiciones predefinidas dentro de tolerancias a escala micrométrica para facilitar la recuperación e inserción del envase por parte del robot 180, que puede funcionar con precisión a escala micrométrica.

El robot 180 es un sistema de "recogida y colocación" que extrae los viales de la bandeja 172, mueve cada envase 10 a lo largo de un riel 182 que se extiende desde arriba de la bandeja 172 hasta encima de los husillos 160, y coloca el envase 10 en un husillo 160 particular. Algunos robots también pueden estar configurados para hacer girar el envase 10 antes de colocar el envase 10, obviando la necesidad de un husillo 160. Alternativamente, el robot 180 puede incluir un brazo robótico de seis ejes que puede hacer girar, vibrar y/o agitar (por ejemplo realizar el movimiento de aguja "hacia delante y hacia atrás" descrito a continuación) el envase 10, lo que también obvia la necesidad de husillos 160. Los expertos apreciarán fácilmente que se pueden utilizar otros mecanismos y secuencias de carga y agitación con los sistemas y procesos de inspección visual inventivos.

La plataforma de inspección visual 170 funciona como se muestra en la FIG. 2(a). En el paso 202, los envases 10 a inspeccionar se limpian (por ejemplo a mano utilizando disolventes apropiados), después se cargan en la bandeja 172 en el paso 204. El robot 180 extrae un envase 10 de la bandeja 172 y lo coloca en el husillo 160. A continuación, en el paso 206, el procesador 130 determina el tamaño y la ubicación del menisco y/o de la región de interés (ROI) (por ejemplo la parte del envase 10 llena de fluido) a partir de una imagen del envase estático 10 adquirida mediante el generador de imágenes 110. Alternativamente, el usuario puede especificar la ubicación del menisco y/o la región de interés si el volumen de llenado y la forma y el volumen del envase son conocidos con suficiente certeza. Una vez que el procesador 130 ha localizado la ROI, el husillo 160 hace girar y detiene el envase 10 en el paso 208, lo que hace que el fluido se mueva y las partículas en el envase 10 se suspendan en el fluido en movimiento. En el paso 210, el generador de imágenes 110 graba datos de series temporales en la memoria 140 en forma de una secuencia de imágenes estáticas (llamadas "fotogramas") que representan instantáneas de la ROI, tomadas a intervalos de tiempo espaciados regularmente.

Después de que el generador de imágenes 110 ha adquirido suficientes datos de series temporales, el procesador 130 resta los datos de fondo, que pueden representar suciedad y/o arañazos en una o más de las superficies del envase. También se puede filtrar el ruido de los datos de series temporales, tal como lo entienden los expertos en la materia, y realizar el umbral de intensidad como se describe a continuación. El procesador 130 también invierte el orden de datos de series temporales. Es decir, si cada fotograma de los datos de series temporales tiene un índice 1, 2, ..., $n - 1$, n que indica el orden en el que se adquirió, los fotogramas de los datos de series temporales invertidas se disponen con índices ordenados n , $n - 1$, ..., 2, 1. Si es necesario, el procesador 130 también selecciona puntos inicial y final de los datos a analizar como se describe a continuación. (Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que el procesador 130 puede realizar la sustracción de fondo, el filtrado de ruido, el umbral de intensidad, la inversión de datos de series temporales y la determinación del punto inicial/final en cualquier orden). El procesador 130 rastrea partículas en movimiento dentro o con el fluido en el paso 212, después dimensiona, cuenta y/o caracteriza de otro modo las partículas en base a sus trayectorias en el paso 214.

Cada módulo de inspección 160 puede realizar el mismo tipo de inspección, lo que permite el procesamiento paralelo de los envases 10; el número de módulos 160 se puede ajustar dependiendo del rendimiento deseado. En otras realizaciones, cada módulo 160 se puede configurar para realizar diferentes tipos de inspecciones. Por ejemplo, cada módulo 160 puede inspeccionar partículas a una longitud de onda de iluminación diferente: el módulo 160-1 puede buscar partículas que respondan a la luz visible (es decir, radiación a una longitud de onda de alrededor de 390 nm a alrededor de 760 nm), el módulo 160-2 puede inspeccionar envases utilizando iluminación infrarroja cercana (760-1400 nm), el módulo 160-3 puede inspeccionar envases utilizando iluminación infrarroja de longitud de onda corta (1,4-3,0 μm), el módulo 160-4 puede inspeccionar partículas a longitudes de onda ultravioleta (10-390 nm) y el módulo 160-5 puede inspeccionar partículas a longitudes de onda de rayos X (menos de 10 nm). Alternativamente, uno o más módulos 160 pueden buscar efectos de polarización y/o fluorescencia de partículas.

En realizaciones con diferentes tipos de módulos 160, el primer módulo 160-1 puede realizar inspecciones preliminares, con inspecciones posteriores supeditadas a resultados de las inspecciones preliminares. Por ejemplo, el primer módulo 160-1 puede realizar una inspección en luz visible que sugiere que un envase particular contiene partículas sensibles a la polarización. El procesador 130 puede instruir entonces al módulo 160-2, que está configurado para realizar mediciones basadas en la polarización, para inspeccionar el envase con el fin de confirmar (o refutar) la presencia de partículas sensibles a la polarización. Los datos de series temporales en luz visible adquiridos por el

módulo 160-1 pueden indicar la presencia de varias partículas en un envase particular 10, pero no el tipo de partícula, lo que puede dar lugar a que el procesador 130 ordene, por ejemplo, la inspección infrarroja en el módulo 160-3.

Agitación de envase para inducir el movimiento de partículas

5 Como se describió anteriormente, la agitación mecánica del envase 10 provoca que las partículas en el fondo del envase 10 o en los lados de las paredes internas del recipiente queden suspendidas en el fluido dentro del envase. En realizaciones particulares, el usuario y/o el sistema de inspección visual seleccionan y realizan una secuencia de agitación que provoca que el fluido en el envase entre en un régimen de flujo laminar, que es un régimen en el que el fluido fluye en capas paralelas, sin torbellinos, remolinos o interrupciones entre las capas. En dinámica de fluidos, flujo laminar es un régimen de flujo caracterizado por una difusión de momento elevado y una convección de momento reducido, en otras palabras, el flujo laminar es opuesto al flujo accidentado, turbulento. La agitación también provoca que las partículas se suspendan en el fluido en movimiento. Eventualmente, la fricción provoca que el fluido deje de moverse, momento en el que las partículas pueden adherirse a las paredes del envase o depositarse en el fondo del envase.

En comparación con el flujo turbulento, el flujo laminar produce un movimiento de partículas más suave, lo que facilita la estimación de trayectorias de partículas. (Por supuesto, el procesador también puede estar configurado para estimar trayectorias de partículas en ciertos regímenes de flujo turbulento, siempre que la frecuencia de fotogramas del sensor sea suficientemente rápida para capturar secciones "suaves" de las trayectorias de partículas). Si se desea, el envase se puede agitar de manera que se produzca un flujo sustancialmente laminar. Por ejemplo, un husillo puede hacer rotar el envase a una velocidad específica (o perfil de velocidad) durante un tiempo específico como se determina a partir de mediciones de comportamiento del fluido para diferentes tamaños y formas de envase y/o diferentes niveles y viscosidades de fluido.

25 En una realización particular, un servomotor o motor de pasos acciona un husillo que sujeta un envase cilíndrico, provocando que el envase gire alrededor de su eje central, como se muestra en la FIG. 3(a). El giro del envase 10 a una velocidad suficiente provoca que incluso las partículas pesadas (como copos de metal) se eleven desde el fondo del envase 10 y dentro del fluido. Para muchos fluidos y partículas, el motor acciona un husillo que sostiene el envase 10 a 300 rpm durante aproximadamente tres segundos. (Es posible que se requieran velocidades de giro más elevadas para energizar partículas pesadas). Después de tres segundos de giro, el motor se detiene bruscamente y el fluido se deja fluir libremente en el envase ahora estático. En este punto, el generador de imágenes 110 comienza a capturar vídeo del fluido en rotación. La memoria 140 graba vídeo durante alrededor de un máximo de siete a quince segundos, dependiendo del tamaño del envase bajo escrutinio (la memoria 140 graba menos vídeo de fluido en envases más pequeños debido a que el fluido se ralentiza más rápidamente en los recipientes más pequeños debido al mayor impacto del arrastre de la pared).

40 En otra realización, el husillo hace rotar el envase 10 en una secuencia de agitación/generación de imágenes de dos fases. En la primera fase, el husillo hace girar el envase 10 a 300 rpm durante tres segundos, provocando que las partículas menos densas (y más delicadas), como proteínas, se suspendan en el fluido en movimiento. El generador de imágenes 110 captura entonces vídeo de proteínas en el fluido en movimiento. Una vez que el generador de imágenes 110 ha recogido suficientes datos de series temporales comienza la segunda fase: el husillo hace rotar el envase 10 a alrededor de 1600-1800 rpm durante uno a tres segundos, provocando que las partículas más densas, como copos de metal, se suspendan en el fluido en movimiento, y el generador de imágenes 110 captura datos de series temporales que representan las partículas más densas en movimiento en el envase 10. La rotación de alta velocidad en la segunda fase puede ser suficientemente intensa para disolver o desnaturalizar temporalmente agregados proteicos, que pueden volver a formarse después de que el fluido se ralentice o deje de moverse. La operación bifásica posibilita detectar tanto partículas densas que no se pueden energizar mediante rotación a baja velocidad como proteínas que se pueden desnaturalizar mediante rotación a alta velocidad.

50 Los sistemas inventivos pueden emplear asimismo otras secuencias de rotación, dependiendo (entre otros) de cualquiera de los siguientes parámetros: viscosidad de fluido, nivel de llenado de fluido, tipo de fluido, tensión superficial, forma del envase, tamaño del envase, material del envase, textura del envase, tamaño(s) de partícula, forma(s) de partícula, tipo(s) de partícula y densidad de partícula. Por ejemplo, los sistemas inventivos pueden hacer girar envases grandes durante periodos de tiempo más largos antes de la generación de imágenes del contenido del envase. El perfil de agitación exacto para una combinación fluido/envase dada se puede calcular, caracterizar y/o determinar mediante experimentación rutinaria.

60 Si el módulo de inspección visual utiliza una secuencia de agitación predeterminada para una combinación envase/fluido convenientemente caracterizada, puede desencadenar la adquisición de datos solo cuando el fluido (y las partículas suspendidas) están en un régimen de flujo laminar. Alternativamente, puede adquirir datos de series temporales adicionales y el procesador puede seleccionar automáticamente los fotogramas de inicio y fin en la combinación envase/fluido y/o la secuencia de agitación.

65 En algunas realizaciones, la adquisición de datos se puede desencadenar en base a una característica detectada del flujo de fluido en el envase. Por ejemplo, como se describe en detalle a continuación, en algunas realizaciones, es

posible detectar el menisco del fluido en el envase y monitorizar el movimiento del menisco para determinar cuando un vórtice en el fluido se relaja después del giro. En algunos de estos casos, la adquisición de datos puede comenzar cuando el movimiento detectado del menisco ha vuelto a un estado sustancialmente estable.

5 Cualquiera de los sistemas de inspección visual descritos anteriormente también se puede utilizar para detectar y/o identificar partículas nativas y extrañas en una jeringa 12 que está al menos parcialmente llena de un producto farmacológico 32 u otro fluido, como se muestra en la FIG. 3B. Las jeringas 12 se almacenan frecuentemente con la aguja hacia abajo. Como tal, las partículas pueden depositarse en la aguja 34 de la jeringa. Para visualizar estas partículas, un robot o una persona invierte la jeringa 12, es decir, el robot o la persona hace rotar la jeringa 12 en 180°
10 alrededor de un eje perpendicular a su eje longitudinal para que la aguja 34 apunte hacia arriba. Las partículas que se han depositado en la aguja 34 caen verticalmente, permitiendo la visualización por el generador de imágenes 110. El robot o la persona también puede hacer girar la jeringa durante el volteo para movilizar completamente el fluido.

15 Muchas jeringas 12 tienen cilindros con diámetros internos relativamente pequeños (por ejemplo alrededor de 5 mm), lo que aumenta drásticamente el efecto del arrastre de la pared. Para muchos productos farmacológicos 32, el arrastre de la pared provoca que todo el movimiento del fluido rotacional cese en aproximadamente un segundo. Esto es una ventana de tiempo muy corta para análisis práctico de partículas. Afortunadamente, el balanceo de la jeringa 12 suavemente alrededor de un eje perpendicular a su eje longitudinal, como se muestra en la FIG. 3(c), produce el movimiento de las partículas que dura más de un segundo. El balanceo lateral, que se puede realizar con un robot o
20 manualmente, agita las partículas a través del movimiento de la jeringa 12 y el movimiento de cualquier burbuja(s) de aire 30 que oscile dentro del cilindro de la jeringa 12. Los módulos, unidades y plataformas de inspección visual descritos anteriormente están diseñados para ser reconfigurables y pueden adaptarse a este método de agitación alternativo.

25 Una vez completada la agitación, el sistema de inspección visual debe permanecer inmóvil durante la fase de grabación de vídeo. Debido a la alta resolución de los generadores de imágenes empleados normalmente, la resolución espacial de las imágenes es muy fina (por ejemplo alrededor de diez micrómetros o menos) y puede ser al menos tan fina como el límite de difracción. Para ciertas configuraciones, un movimiento pequeño (por ejemplo diez micrómetros) de la muestra equivale a un píxel completo de movimiento en la imagen detectada. Este movimiento pone en peligro la efectividad de la eliminación de características estáticas (sustracción de fondo), lo que degrada a su vez el rendimiento de las herramientas de análisis y la integridad de datos de salida.

Teniendo esto en cuenta, el aislamiento de vibración es una consideración de diseño clave. En realizaciones particulares, la base de un sistema de inspección visual ilustrativa está aislada mecánicamente del entorno de laboratorio, por ejemplo utilizando amortiguadores de vibraciones, flotadores y/o juntas. Además, dentro de la unidad, las fuentes de vibración, como ordenadores y controladores de robot, se pueden aislar mecánicamente del resto del sistema. Alternativamente, la adquisición de datos se puede sincronizar con el movimiento residual del envase respecto al generador de imágenes o realizar con una cámara que realice desplazamiento de píxeles o algún otro comportamiento de compensación de movimiento. Tal movimiento residual también se puede grabar para su
40 posprocesamiento para eliminar efectos nocivos del movimiento la imagen.

Configuraciones de generador de imágenes

45 Los sistemas de inspección visual ilustrativa pueden utilizar generadores de imágenes estándar listos para usar con cualquier sensor adecuado, incluyendo, entre otros, dispositivos de carga acoplada (CCD) o matrices complementarias de semiconductores de óxido metálico (CMOS). La elección del sensor es flexible y depende en cierta medida de los requisitos de la aplicación en particular. Por ejemplo, los sensores con altas frecuencias de fotograma permiten el mapeo preciso de las trayectorias de las partículas que se mueven rápidamente (por ejemplo en fluidos de baja viscosidad). La sensibilidad y el rendimiento de ruido también son importantes ya que muchas partículas proteicas son transparentes en disolución y dispersan la luz débilmente, produciendo imágenes tenues. Para mejorar el rendimiento de ruido, el sensor se puede enfriar, como se entiende en la técnica. Para la mayoría de aplicaciones, los sensores monocromáticos ofrecen el mejor rendimiento debido a la resolución ligeramente superior a las de cámaras a color, además de disponer de una mayor sensibilidad. Sin embargo, para un pequeño subconjunto de aplicaciones, pueden ser preferentes los sensores de color debido a que capturan el color de la partícula, lo que puede ser muy importante
50 en el establecimiento de su fuente (por ejemplo fibra de ropa). En la investigación de la calidad del producto (también conocida como forense), por ejemplo, los sensores de color pueden ser útiles para distinguir entre diferentes tipos de materiales (por ejemplo fibras) en la planta de fabricación, que pueden contaminar el producto farmacológico.

60 Para una inspección completa del envase, el campo de visión del generador de imágenes debe abarcar todo el volumen de fluido. Al mismo tiempo, el generador de imágenes debe ser capaz de resolver partículas pequeñas. Los sistemas de inspección visual consiguen grandes campos de visión y una resolución fina de sensores de gran formato y alta resolución, como el sensor CCD de ocho megapíxeles Prosilica GX3300 de Allied Vision Technologies (AVT), que tiene 3296x2472 píxeles. Otros sensores adecuados incluyen las cámaras de cinco megapíxeles ACT Pike F505-B y Basler Pilot piA2400-17gm. Cuando se elige la óptica de generación de imágenes para obtener imágenes completas del cuerpo portador de fluido de una jeringa BD Hypak de 1 ml, el sensor CCD AVT Prosilica GX3300
65 captura datos de series temporales con una resolución espacial de aproximadamente diez micrómetros por píxel en

ambas direcciones transversales. La combinación de alta velocidad y alta resolución implica que la grabación de los datos de series temporales puede involucrar grandes frecuencias de transferencia de datos y grandes tamaños de archivo. Como corolario, las técnicas de compresión de vídeo que se describen a continuación están especialmente diseñadas para reducir los requisitos de almacenamiento al tiempo que se preserva la integridad de los detalles finos de las partículas capturadas en la imagen.

La óptica de colección que muestra la región de interés en el sensor debe seleccionarse para proporcionar imágenes nítidas de todo el volumen con un tamaño de punto mínimo igual o menor que el tamaño de píxel del sensor para asegurar que el sistema funcione con la resolución más fina posible. Además, la óptica de recolección tiene preferentemente una profundidad de campo suficientemente grande para adaptarse a todo el volumen de muestra.

Las lentes telecéntricas, como la lente 114 mostrada en la FIG. 4, son especialmente adecuadas para la inspección visual de volúmenes de fluido, ya que están diseñadas específicamente para ser insensibles a la profundidad de campo. Tal como lo entienden los expertos en la materia, una lente telecéntrica es una lente multielemento en la que los rayos principales están colimados y son paralelos al eje óptico en el espacio de la imagen y/o del objeto, lo que da lugar a un aumento constante independientemente de la ubicación de la imagen y/o del objeto. En otras palabras, para un objeto dentro de un cierto rango de distancias de un generador de imágenes con una lente telecéntrica, la imagen del objeto capturado por el generador de imágenes es nítida y de aumento constante independientemente de la distancia del objeto al generador de imágenes. Esto posibilita capturar imágenes en las que las partículas en la 'parte posterior' del envase 10 parecen similares a las de la 'parte delantera' del envase 10. El uso de lentes telecéntricas también reduce la detención de la luz ambiental, siempre que se utilice un plano posterior oscuro uniforme. Las lentes telecéntricas adecuadas 114 incluyen la lente telecéntrica de gran formato NT62-901 de Edmund Optics y la lente telecéntrica de 0,16x de la serie NT56-675 TECHSPEC Silver de Edmund Optics.

Puntos ciegos específicos del envase

Un objetivo de casi cualquier sistema de inspección visual es proporcionar 100 % de inspección de volumen del envase. En realidad, sin embargo, puede haber zonas fijas en las que no se pueden detectar partículas, como se muestra en la FIG. 5A. En primer lugar, el líquido alrededor del menisco puede ser difícil de incorporar en el análisis porque el propio menisco dispersa la luz de manera que potencialmente satura el detector en esa ubicación, oscureciendo cualquier partícula u otras características de interés. En segundo lugar, en el caso de los viales, la base del envase suele estar curvada en el vértice, lo que se conoce generalmente como el 'talón'. El talón curvado tiene el efecto de distorsionar y, en última instancia, oscurecer cualquier partícula que se acerque suficientemente al fondo del vial. En tercer lugar, para las jeringas, el tapón de goma presenta un cono central que se introduce ligeramente en el volumen del envase. La punta de esta cono puede esconder partículas potencialmente, aunque es pequeña. Los puntos ciegos más sutiles se producen debido a la curvatura del vial.

Los envases cilíndricos también pueden provocar un efecto de lente, como se muestra en la FIG. 5B, (indicado por rayos inclinados 18) que sirve para debilitar el rendimiento de la lente telecéntrica. Las paredes curvadas del envase también crean puntos ciegos 14.

La FIG. 5E muestra un ejemplo del efecto de lente provocado por un envase cilíndrico 10. La cámara/el observador está en el fondo de la figura. Como se ha descrito anteriormente, se puede utilizar una lente telecéntrica cuando se obtienen imágenes de partículas en el envase 10 para asegurar que las partículas tienen una apariencia homogénea en la imagen que no depende de su posición en el recipiente, es decir, de su distancia a la cámara. Para conseguir esto, en algunas realizaciones, la profundidad de enfoque de la lente telecéntrica se elige para que sea mayor que el diámetro del volumen de fluido. En algunas realizaciones, en ausencia de un elemento óptico correctivo, la curvatura del envase socava este principio.

Como se muestra, la forma y el aumento de una partícula fotografiada en el envase 10 depende de la posición de la partícula en el envase. Una partícula 501 en la parte delantera y central del envase no está distorsionada en absoluto (recuadro superior). Una partícula 502 idéntica en la parte trasera y lateral está distorsionada al máximo (recuadro inferior). Obsérvese que para un envase cilíndrico, la distorsión se produce únicamente a lo largo del eje horizontal (como es evidente en el recuadro inferior).

Para mitigar estos efectos se colocan ópticas correctivas opcionales, como una lente correctiva 116, entre la lente telecéntrica 114 y el envase 10 como se muestra en la FIG. 5C. La óptica de corrección espacial adicional 118 puede proporcionar una compensación adicional de la distorsión provocada por la forma del envase, como se muestra en la FIG. 5D. En diversas realizaciones, cualquier elemento óptico correctivo adecuado, por ejemplo adaptado en función de la curvatura del envase 10 y/o el índice de refracción del fluido, se puede utilizar además de la lente correctiva 116 y la óptica 118 o alternativamente a estas.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, se puede desarrollar un modelo del efecto de lente causado por el envase cilíndrico 10. El modelo se puede basar en un conjunto adecuado de parámetros que caractericen la distorsión óptica, por ejemplo el diámetro exterior del envase, el diámetro interior del envase, el índice de refracción del envase, el índice de refracción del líquido y la longitud de onda de la luz de iluminación. El modelo se puede desarrollar utilizando

5 cualquier técnica conocida en la materia, incluyendo, por ejemplo, técnicas de trazado de rayos. La FIG. 5F muestra ejemplos de modelos teóricos para el efecto de lente para dos diferentes conjuntos de parámetros de envase (arriba a la izquierda, abajo a la izquierda), junto con datos experimentales para las situaciones físicas correspondientes (arriba a la derecha, abajo a la derecha). Como se muestra, el modelo teórico y los datos experimentales coinciden excelentemente.

10 Con referencia a las FIGs. 5G y 5H, se utiliza un elemento óptico correctivo 503 (como se muestra en una lente) para corregir el efecto de lente descrito anteriormente. El diseño del elemento óptico correctivo podrá basarse en un modelo óptico teórico del envase, datos experimentales indicativos de las propiedades ópticas del envase y combinaciones de los mismos. Como se muestra, el elemento óptico correctivo 503 está hecho de material refractivo con superficies frontal y trasera cilíndricas. En algunas realizaciones, el diseño de la lente se puede determinar utilizando parámetros libres que incluyen el radio de las superficies frontal y trasera, el grosor de la lente, el índice de refracción de la lente y la posición de la lente respecto al envase.

15 En algunas realizaciones, se pueden utilizar otras formas para las superficies frontal y trasera de la lente, por ejemplo formas personalizadas parabólicas o arbitrarias. En algunas realizaciones, la relajación del requisito de que las superficies sean cilíndricas aumentará el tamaño del espacio de parámetros para el diseño del elemento óptico correctivo 503, permitiendo de este modo una corrección mejorada.

20 En algunas realizaciones, el elemento óptico correctivo 503 puede incluir múltiples elementos, aumentando adicionalmente de este modo el espacio de parámetros de diseño. En algunas realizaciones, el elemento óptico correctivo 503 puede corregir otros tipos de distorsión óptica, aberración u otros efectos. Por ejemplo, en casos en los que se utiliza iluminación a múltiples longitudes de onda, el elemento óptico correctivo 503 se puede utilizar para corregir la aberración cromática.

25 En algunas realizaciones, el elemento óptico correctivo 503 se puede diseñar para corregir la distorsión provocada por un envase y/o tipo de fluido particular. Debido a que una única inspección visual automatizada 100 se puede utilizar con múltiples tipos de envase, en algunas realizaciones puede ser deseable permitir que el elemento óptico correctivo 503 se cambie de manera seleccionable para que coincida con el envase 10 específico bajo inspección. Por ejemplo, la FIG. 5I muestra un bastidor 504 que sujeta múltiples elementos ópticos correctivos 503. El bastidor se puede mover (manual o automáticamente) para colocar uno de los elementos seleccionados en la cadena óptica de un generador de imágenes 110. Obsérvese que, aunque se muestra un bastidor, en varias realizaciones se puede utilizar cualquier otro mecanismo adecuado para seleccionar un elemento óptico de un conjunto de múltiples elementos ópticos.

35 Los sistemas de inspección visual alternativos pueden incluir ópticas adaptativas para compensar la distorsión debida a la curvatura del envase. Por ejemplo, la lente telecéntrica 114 se puede configurar para capturar una imagen del envase 10 reflejada por un espejo deformable, como un espejo del sistema microeléctrico-mecánico (MEMS). El sensor 112 utiliza los datos de fondo para derivar la naturaleza y la magnitud de las aberraciones resultantes de curvatura de superficie, defectos de superficie y otras imperfecciones en el envase 10. El sensor 112 devuelve esta información al espejo deformable, que responde ajustando su superficie para compensar las aberraciones. Por ejemplo, el espejo deformable se puede inclinar o curvar en una dirección para compensar la curvatura del envase. Debido a que el espejo deformable responde dinámicamente, se puede utilizar para compensar aberraciones específicas de cada envase 10 individual.

45 Además, el rastreo de partículas se puede ajustar para detectar la desaparición de partículas junto con las ubicaciones conocidas de estos puntos ciegos, lo que permite al programa predecir si y donde podría reaparecer la misma partícula más adelante en la secuencia de vídeo, como se describe a continuación.

50 A continuación se describen técnicas adicionales para tratar problemas relacionados con el punto ciego (por ejemplo, el uso de múltiples generadores de imágenes).

Frecuencia de fotogramas de la cámara

55 El rastreo efectivo de partículas mediante el algoritmo de coincidencia más cercana (voraz) descrito a continuación se puede considerar en función de tres factores principales: la frecuencia de captura de cámara (frecuencia de fotogramas), la densidad de partículas (en la imagen bidimensional) y la velocidad de partícula típica. Para un rastreo realmente eficaz utilizando el algoritmo de coincidencia más cercana, de modo preferente, la cámara debe ser suficientemente rápida para cumplir con el criterio:

60
$$\text{Tasa de cámara} > \frac{\text{Velocidad máxima de partícula}}{\text{Distancia mínima de separación entre partículas}}$$

en realidad, al proyectar un volumen tridimensional sobre una imagen bidimensional, es posible que las partículas parezcan estar muy cerca unas de otras (incluso ocluyéndose entre sí) cuando en realidad están bien espaciadas en el recipiente. Al tener esto en cuenta, tiene más sentido considerar la distancia media del vecino más cercano que

considerar la distancia mínima aparente de separación entre partículas. Obsérvese que aquí la distancia del vecino más cercano es la distancia entre partículas adyacentes en un fotograma dado de series temporales, mientras que la distancia de coincidencia más cercana se refiere a la distancia entre la diferencia de posición observada para una única partícula en fotogramas consecutivos de datos de series temporales. Reescribiendo el criterio de velocidad de cámara en términos de distancia de coincidencia más cercana se obtiene:

$$\text{Tasa de cámara} > \frac{\text{Velocidad máxima de partícula}}{\text{Distancia mínima de separación entre partículas}}$$

los sistemas alternativos de inspección visual pueden utilizar técnicas de rastreo predictivo en lugar de técnicas de rastreo de partículas de coincidencia más cercana (voraz). Las técnicas predictivas utilizan el conocimiento de la trayectoria conocida de una partícula, junto con el conocimiento de las restricciones espaciales del envase y el comportamiento esperado del fluido, para hacer una estimación de la posición más probable de la partícula en un fotograma posterior. Cuando se implementa correctamente, este enfoque puede rastrear con mayor precisión las partículas que se mueven a través de imágenes densamente pobladas a gran velocidad.

Quando se intenta detectar y medir partículas muy pequeñas en envases relativamente grandes, es ventajoso maximizar la resolución espacial del sensor de imagen. En general, esto tiene el efecto directo de reducir la máxima frecuencia de fotogramas alcanzable del sensor.

Inspección visual con múltiples generadores de imágenes

El uso de una única cámara puede verse comprometido por la presencia de puntos ciegos conocidos. Adicionalmente, el mapeo de una distribución de partículas tridimensional en una imagen bidimensional puede dar lugar a ambigüedad debido a la oclusión (por ejemplo como se muestra en la FIG. 5E, donde una partícula en el centro trasero del envase está ocluida por una partícula en el centro frontal). Los sistemas de inspección visual alternativos (por ejemplo como se ve en la FIG. 6) pueden resolver en principio este problema al correlacionar resultados de dos o más sistemas de generación de imágenes. Al correlacionar información de trayectoria posicional de dos o más cámaras, es posible construir mapas de trayectoria tridimensionales detallados, que pueden ser más robustos y menos propensos a errores causados por oclusión (discutidos más adelante) que los mapas de trayectoria bidimensionales.

El aumento de la resolución espacial del generador de imágenes también limita la frecuencia de adquisición de datos (frecuencia de fotogramas) para una concentración de partículas y una velocidad de partículas dadas. Al inspeccionar envases desconocidos, no se puede garantizar que la concentración de partículas sea adecuadamente baja. Al mismo tiempo, para suspender partículas pesadas como vidrio o metal en el fluido, es posible que las frecuencias de rotación en el envase tengan que ser bastante altas, lo que resulta en altas velocidades de partículas en el flujo de vídeo capturado. Una manera de resolver este conflicto es emplear las nuevas configuraciones de hardware de imágenes que se describen a continuación. Suponiendo que ya se están empleando los mejores sensores disponibles comercialmente y que las partículas en el envase están dispersando una cantidad suficiente de luz, aún es posible aumentar la velocidad de adquisición de datos mediante la multiplexación de dos o más sensores, con disparo constante y fiable desde una fuente de disparo dedicada.

Además, se pueden configurar sistemas de inspección visual ejemplares para proporcionar una resolución espacial más fina a 10 micrómetros relajando el requisito de inspección de envase completo y, en su lugar, considerando solo un subconjunto del volumen. En general, para partículas subvisibles, especialmente agregados proteicos, esto es aceptable ya que las partículas más pequeñas tienden a producirse en números más elevados y a distribuirse de manera homogénea en todo el volumen. Alternativamente, los sistemas de inspección visual ejemplares pueden proporcionar tanto inspección de envases llenos como resolución espacial fina utilizando múltiples generadores de imágenes con diferentes aumentos para adquirir datos de series temporales de área amplia y de resolución fina en paralelo.

Se pueden utilizar aumentos alternativos simultáneamente, por ejemplo, como en la FIG. 6A, con un generador de imágenes 1102 para observar el envase lleno y un segundo generador de imágenes 1104 con mayor aumento (por ejemplo un objetivo de microscopio de larga distancia de trabajo) para acercarse a un subvolumen más pequeño y examinar, por ejemplo, partículas muy pequeñas (por ejemplo partículas con diámetros de alrededor de diez micrómetros, cinco micrómetros, un micrómetro o menos). Otros sistemas de inspección visual pueden incluir múltiples generadores de imágenes 1102, 1104 y 1106 dispuestos alrededor de un envase 10 iluminado por uno o más anillos de diodos emisores de luz (LEDs) 1120 montados por encima y por debajo del envase 10 como se muestra en la FIG. 6B. Los generadores de imágenes 1102 idénticos montados en diferentes posiciones proporcionan visión binocular. Un generador de imágenes 1104 con un objetivo de microscopio de larga distancia de trabajo proporciona resolución fina para un subvolumen del envase 10 y un generador de imágenes 1106 con un sensor alternativo (por ejemplo un sensor infrarrojo, bolómetro, etc.) proporciona datos de series temporales adicionales.

Las FIGS. 6C y 6D muestran configuraciones de generación de imágenes alternativas que aprovechan las propiedades de generación de imágenes telecéntrica. En la apertura trasera de la lente telecéntrica, un cubo de división de haz

50/50 1202 divide la imagen proyectada en dos brazos de generación de imagen separados. Cada brazo de generación de imagen puede incluir un sensor 1222 de alta resolución y baja velocidad que funciona de forma intercalada con el sensor 1222 en el otro brazo como se muestra en la FIG. 6C para duplicar la frecuencia de fotografías. Es decir, el funcionamiento simultáneo de los dos sensores 1222 con un desplazamiento de fase relativo de medio ciclo mejora la resolución temporal en un factor de dos. Los flujos de imágenes se pueden combinar a continuación para proporcionar una única película al doble de frecuencia de fotografías nominal del sensor.

Alternativamente, cada brazo puede incluir un diferente sensor, como se muestra en la FIG. 6D, por ejemplo para compensar una pérdida en las matrices de sensores de imagen: cuando más fina sea la resolución de la cámara, más lenta será la frecuencia de fotografías máxima posible de la cámara (por ejemplo 10-50 o 15-25 fotografías por segundo a resolución completa, 50-200 fotografías por segundo a baja resolución, etc.). Para un rastreo preciso de partículas, el parámetro de rendimiento de sensor dominante es la alta resolución temporal (alta frecuencia de fotografías). Sin embargo, para un dimensionamiento de partículas preciso, el parámetro de rendimiento de sensor dominante es la resolución espacial fina (tantos píxeles como sea posible en la imagen). En la actualidad, el principal factor limitante en la resolución espacial y la frecuencia de transferencia de datos es el bus de transferencia de datos. Los generadores de imágenes disponibles pueden adquirir datos de series temporales de un envase de cuatro centímetros de altura con una resolución espacial de unos diez micrómetros por píxel y una frecuencia de transferencia de datos de alrededor de veinticinco fotografías por segundo para un bus de ordenador personal estándar (por ejemplo un bus dual GigE o CameraLink).

La FIG. 6D ilustra una manera de obtener frecuencias de fotografías rápidas y resolución fina: generar imágenes del fluido con un sensor 1222 de alta resolución y baja velocidad y un sensor 1224 con una resolución espacial más modesta pero una frecuencia de fotografías más alta. El disparo externo puede asegurar que las dos cámaras se sincronicen de forma profesional. Dado que las cámaras están viendo copias de la misma imagen, sus datos se pueden correlacionar directamente para producir un análisis de partículas mejorado.

Las FIGS. 7A y 7B ilustran temporización y control de fuentes de iluminación 120 y múltiples cámaras. Tanto en la FIG. 7A como en la FIG. 7B, un controlador de disparo 702 emite dos señales de disparo etiquetadas como ARM 1 y ARM 2 en las FIGS. 7A y 7B-derivadas por decimación de una señal de pulso maestra. La señal de disparo ARM 1 acciona una primera cámara (1102a en la FIG. 7A, 1222a en la FIG. 7B) y la señal de disparo ARM 2 acciona una segunda cámara (1102b en la FIG. 7A, 1222b en la FIG. 7B) de forma intercalada. Es decir, las señales de disparo provocan que la primera y la segunda cámara adquieran secuencias alternas de fotografías. El controlador de disparo 702 también puede accionar la fuente de iluminación 120 con una señal de iluminación que provoca que la fuente de iluminación 120 ilumine el envase cada vez que la primera o la segunda cámara adquiere una imagen. También son posibles otras secuencias de disparo; por ejemplo, el controlador de disparo 702 puede accionar cámaras adicionales y/o combinaciones de cámaras de alta y baja resolución que adquieren imágenes a diferentes frecuencias de fotografías.

Son posibles otras disposiciones, como es evidente para los expertos en la materia. Por ejemplo, los sensores de imagen en cada brazo pueden ser equivalentes entre sí, pero la óptica de recogida puede ser diferente. Un brazo puede incluir una óptica de ampliación de imagen adicional para 'acercar' un subconjunto particular de la imagen, proporcionando una vista simultánea de campo ancho y ampliada.

Configuraciones de iluminación

Los sistemas de inspección visual inventivos aprovechan la manera en la que varias partículas interactúan con la luz para detectar e identificar partículas en envases portadores de fluidos. La interacción de una partícula con la luz es una función compleja de una serie de factores, incluyendo el tamaño, la forma, el índice de refracción, la reflectividad y la opacidad de la partícula. Las partículas proteicas pueden dispersar la luz principalmente a través de refracción, mientras que las partículas de vidrio laminar pueden reflejar predominantemente la luz. Algunas partículas, por ejemplo fibras de colágeno, pueden modificar las propiedades físicas intrínsecas de la luz, como una rotación de polarización. Adaptar la geometría del detector, de la partícula y de la luz para maximizar el contraste entre varios tipos de partículas puede dar lugar a una detección y una diferenciación muy precisas.

Las FIGS. 8-12 muestran varias configuraciones de iluminación que se adaptan o se pueden conmutar/accionar entre diferentes modos de iluminación para tipos específicos de partículas, envase y/o fluido. Por ejemplo, las fuentes de luz pueden iluminar las partículas de tal manera que maximicen la cantidad de luz que reflejan o refractan hacia el detector, mientras mantienen el fondo oscuro para maximizar el contraste entre las imágenes de las partículas y el fondo. Además, las fuentes pueden emitir radiación en cualquier longitud de onda o rango de longitudes de onda adecuado. Por ejemplo, pueden emitir luz blanca de banda ancha (390-760 nm), un haz de banda estrecha (por ejemplo a 632 nm) o incluso radiación ultravioleta o de rayos X. Los rangos adecuados incluyen 10-3000 nm, 100-390 nm (ultravioleta), 390-760 nm (visible), 760-1400 nm (infrarrojo cercano) y 1400-3000 nm (infrarrojo de longitud de onda media). También son posibles emisiones de rayos X (< 10 nm). Cuando se consideran como un conjunto completo, la variedad de opciones de iluminación divulgadas en el presente documento permite que los sistemas de inspección visual detecten e identifiquen todo el rango de partículas que pueden aparecer en productos farmacológicos.

Debido a que algunas partículas se dispersan muy débilmente, con frecuencia es beneficioso irradiar la muestra con la mayor cantidad de luz posible. El límite superior de la irradiación de muestra depende principalmente de la fotosensibilidad del producto examinado. También puede ser necesaria una elección juiciosa de la longitud de onda, especialmente en el caso de productos biológicos; la elección exacta depende del producto iluminado. La luz roja monocromática centrada alrededor de 630 nm representa un 'término medio' y es una longitud de onda fácilmente disponible en términos de fuente de luz asequibles.

Las matrices de LED, como las matrices de LED de la serie LDL2 de CCS Lighting, son efectivas para iluminar las partículas que se ven en productos farmacéuticos; sin embargo, también se podrían utilizar rayos láser colimados. En algunos casos, la óptica de iluminación puede modelar o dar forma al haz de iluminación que se colimará dentro del volumen de fluido (en lugar de fuera del envase). En el caso de fuentes de luz alternativas, si el calentamiento de la fuente de luz es un problema, la luz puede suministrarse al área de inspección mediante uso de guías de ondas ópticas o fibras ópticas 124 como se muestra en la FIG. 8.

La longitud de onda de iluminación se puede elegir en base a la absorción y/o reflectividad del fluido y/o de las partículas analizadas; esto es especialmente importante en productos farmacéuticos sensibles a la luz. La luz roja (630 nm) ofrece un buen equilibrio entre la baja absorción por la proteína y la baja absorción por el agua. La iluminación estroboscópica en sincronización con la adquisición de datos de series temporales protege aún más la integridad de los productos farmacéuticos sensibles a la luz al minimizar la exposición de los productos a la luz incidente. La luz estroboscópica tiene dos ventajas adicionales: los LED funcionan de manera más eficiente cuando se ejecutan de esta manera y la luz estroboscópica reduce el efecto del desenfoque de movimiento, que si se deja desatendido compromete las mediciones de tamaño de partícula como se describe a continuación.

La FIG. 8 muestra un ejemplo de sistema de iluminación reconfigurable 120 que incluye varias fuentes de luz 122a-122f (colectivamente, fuentes de luz 122), que pueden ser LED, láseres, bombillas fluorescentes o incandescentes, lámparas de destello o cualquier otra fuente de luz adecuada o combinación de fuentes de luz adecuadas. Las fuentes de luz 122 pueden emitir radiación visible, infrarroja y/o ultravioleta. Pueden ser de banda estrecha o de banda ancha según se desee y se pueden filtrar utilizando filtros ópticos o polarizadores adecuados. En la FIG. 8, por ejemplo, un polarizador 126 polariza luz emitida por la fuente de luz 122f que retroilumina el envase. Además de la retroiluminación 122f, el sistema de iluminación 120 incluye cuatro fuentes de luz 122a-122d en vértices de un prisma rectangular alrededor del envase 10. Otra fuente de luz 122e ilumina el envase 10 desde el fondo a través de una fibra óptica 124 acoplada a un colimador 126 que apunta al fondo del envase 10. En algunos casos, la fibra 124 y el colimador 126 pueden estar alojados dentro de un eje hueco 128 del husillo utilizado para hacer rotar el recipiente.

Las múltiples fuentes de luz 122 mostradas en la FIG. 8 se pueden utilizar para determinar las propiedades ópticas de una partícula dada para la diferenciación en base a la interacción de la partícula dada con la luz. Como entienden los expertos en la materia, partículas diferentes interactúan con la luz de maneras variables. Los modos comunes de interacción incluyen dispersión, reflexión, oclusión o rotación de la polarización de la luz, como se muestra en la TABLA 1, donde "X" indica que una partícula de este tipo aparecerá utilizando una técnica de iluminación dada, como se ejemplifica en las FIGS. 9A-9D y la FIG. 11 (descritas a continuación). Una "M" indica que las partículas de este tipo podrían aparecer utilizando una técnica dada, pero aún podrían ser detectadas/diferenciadas utilizando técnicas de segmentación de imágenes e identificación de características de posprocesamiento.

TABLA 1: interacción de la luz para varios tipos de partículas

	Tipo de partícula				
	Proteína	Lámina	Opaca	Celulosa	Aire
	Interacción primaria				
Técnica de iluminación	Dispersión	Reflexión	Oclusión	Cambio de polarización	Dispersión
Ángulo trasero	X	X	X	X	X
Fondo		X	M		
Retroiluminación			X		
Polarización		M	M	X	M

Las FIGS. 9A-9C ilustran diferentes patrones de iluminación que se pueden implementar con el sistema de iluminación 120 de la FIG. 8 (algunas fuentes de luz 122 se omiten para mayor claridad) con el fin de diferenciar el tipo de partícula en función de la interacción con la luz. En la FIG. 9A, las fuentes de luz 122a y 122b proporcionan iluminación en ángulo trasero, que es útil para mostrar proteínas, así como la mayoría de partículas que dispersan la luz. En la FIG. 9B, la fuente de luz 122e proporciona luz inferior, que es útil para mostrar partículas reflectantes, como láminas de vidrio, que reflejan la luz hacia el generador de imágenes 110 (flecha horizontal); es posible que las partículas que se

dispersan pero no reflejan la luz (por ejemplo proteínas) no aparezcan en el sensor (flecha diagonal). En la FIG. 9C, la fuente de luz 122f proporciona retroiluminación uniforme, que es útil para mostrar partículas que ocluyen la luz, como metal, plástico oscuro y fibras. Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que también son posibles otras fuentes de luz y/o patrones y secuencias de iluminación.

La FIG. 9D muestra cómo las técnicas de iluminación de las FIGS. 9A-9C se pueden aplicar secuencialmente para capturar datos de series temporales de partículas dispersas, reflectantes y/u ocluidas. En este caso, un sistema que contiene una retroiluminación uniforme, luces en ángulo trasero, una luz inferior y una única cámara alterna la iluminación en cada fotograma, de tal manera que solo una fuente de luz particular 122 (o combinación de fuentes de luz 122) está activa a la vez. Para un único generador de imágenes (no mostrado), se utiliza solo un conjunto de luces por fotograma adquirido de datos de series temporales. La repetición de esta secuencia proporciona un vídeo para cada configuración de iluminación.

La adquisición de una secuencia de vídeo utilizando las técnicas de iluminación mencionadas anteriormente de forma secuencial proporciona un vídeo casi simultáneo para cada fuente de luz 122. Al finalizar, esto proporciona tres vídeos intercalados, uno para cada técnica de iluminación. Para cada vídeo, una partícula en un fotograma dado se puede correlacionar con la misma partícula en los otros dos vídeos utilizando técnicas de iluminación alternantes (descuidando la pequeña diferencia de tiempo entre fotogramas). Utilizando la información mutua contenida en la forma en la que una partícula dada interacciona con las diversas técnicas de iluminación, se pueden sacar conclusiones sobre la composición material de la partícula.

Esta técnica se puede combinar con otra información de extracción de características de imagen con el fin de aumentar la especificidad. Por ejemplo, los vídeos se pueden segmentar automáticamente para determinar las características en cada fotograma. Para cada técnica de iluminación se puede determinar automáticamente información como el tamaño, la forma, el brillo, la suavidad, etc., para cada característica. Esto puede ayudar a diferenciar diferentes tipos de partículas que tienen firmas similares en términos de visibilidad en cada una de las diferentes técnicas de iluminación.

Las FIGS. 10A-10C ilustran cómo reducir el reflejo provocado por reflexión/refracción no deseada de las fuentes de luz 122 del envase 10. La iluminación del envase 10 provoca la aparición de reflejos no deseados en las imágenes capturadas por los generadores de imágenes 110 cuyos ejes ópticos están alineados con la dirección de propagación de la luz de las fuentes de luz 122 que se refleja en la superficie del envase. El reflejo puede oscurecer partículas que de otro modo serían detectables y saturar áreas del sensor. El posicionamiento del generador de imágenes 110 o las fuentes de luz 122 de modo que el eje óptico del generador de imágenes no coincida ni sea paralelo a los rayos de luz emitidos por las fuentes de luz 122 que reflejan la superficie del envase reduce o elimina el reflejo detectado por el sensor. Por ejemplo, colocar la(s) fuente(s) de luz 122 fuera de una zona de exclusión definida mediante rotación del generador de imágenes alrededor del eje longitudinal del envase 10 reduce la cantidad de luz reflejada y/o refractada no deseada capturada por el generador de imágenes. Alternativamente, la zona 100 se puede definir como un plano ortogonal al eje central del envase cilíndrico, con un grosor igual a la altura de las paredes verticales del envase. Tal como se entiende en la técnica, los envases formas más complejas, como paredes cóncavas, pueden tener diferentes zonas de exclusión y diferentes ópticas correctivas.

La iluminación oblicua de las paredes laterales del envase por encima o por debajo de la zona 1000 o directamente desde debajo de la base del contenedor también reduce el reflejo detectado por el generador de imágenes 110. La iluminación del envase 10 desde abajo (por ejemplo con fuente de luz 122e (FIG. 8)) también proporciona un excelente contraste entre partículas que reflejan la luz (por ejemplo láminas de vidrio) y que dispersan la luz (por ejemplo proteínas).

Las FIGS. 10D-10E ilustran un esquema de iluminación alternativo para reducir o eliminar el reflejo del envase 10, donde una o más fuentes de luz 122 se colocan en la zona de exclusión descrita anteriormente (por ejemplo en el plano horizontal del envase 10).

Las FIGS. 10D-10E muestran un modelo de óptica de rayos de la propagación de rayos hacia fuera del sensor del generador de imágenes 110, a través de la óptica de generación de imágenes del generador de imágenes (como se muestra, incluyendo una lente telecéntrica) y de vuelta a través del envase 10. Una fuente de luz colocada a lo largo de cualquiera de los rayos que se propagan desde el sensor refractará o reflejará la luz en el sensor, oscureciendo potencialmente de este modo el envase 10 y su contenido. Sin embargo, obsérvese que hay dos regiones 1001 ubicadas en el plano horizontal del envase 10 y cerca de la pared exterior del envase 10. Como se muestra en la FIG. 10E, si se colocan una o más fuentes de luz 122 en las regiones 1001, el reflejo de las fuentes de luz puede reducirse o eliminarse sustancialmente.

Obsérvese que, debido a que se utilizó una lente telecéntrica en el ejemplo mostrado, solo los rayos de luz que inciden normales al sensor deben considerarse en el modelo de óptica de rayos. Sin embargo, se puede aplicar un enfoque similar para otros tipos de óptica de imagen, teniendo en cuenta rayos adicionales. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se puede retropropagar un conjunto representativo de rayos desde el sensor (por ejemplo incluyendo los rayos principales del sistema de imágenes) para identificar regiones que están libres o sustancialmente libres de

rayos retropropagados. Las fuentes de luz de iluminación se pueden colocar en las regiones identificadas evitando el reflejo.

La FIG. 11 muestra una configuración para distinguir agregados proteicos alargados de celulosa y/o fibras (naturales o sintéticas) con luz polarizada. Un sistema de iluminación 120 emite luz hacia el envase 10, que se atrapa entre polarizadores cruzados 900 que proporcionan una imagen negra en ausencia de partículas. Las partículas que modifican (por ejemplo rotan) la polarización de la luz incidente aparecen en blanco en los datos de series temporales detectados por el generador de imágenes 110.

Si se sabe que las partículas de interés son fluorescentes, se puede emplear generación de imágenes de fluorescencia para la identificación de partículas, como se muestra en la FIG. 12. En este caso, una fuente de iluminación 920 emite luz azul que excita la partícula de interés. Un filtro de banda estrecha 922 (por ejemplo verde) colocado delante del generador de imágenes 110 garantiza que solo llegue al detector la fluorescencia de las partículas excitadas. Estas longitudes de onda de iluminación y filtro se pueden seleccionar para adaptarse a las longitudes de onda específicas de interés.

Por último, es posible detectar (e identificar) partículas como pequeñas piezas de material negro opaco que no dispersan (refractan) no reflejan la luz. Para tales partículas opacas, la muestra debe retroiluminarse directamente desde atrás. Las partículas son entonces identificables como características oscuras sobre un fondo brillante. Las imágenes de partículas opacas se pueden invertir, si se desea, para formar imágenes que están escaladas con la misma polaridad que imágenes de partículas dispersas y reflectantes (es decir, para que las partículas aparezcan como puntos claros sobre fondos oscuros en lugar de puntos oscuros sobre fondos claros).

Plataformas de inspección visual específicas para láminas

Tal como lo entienden los expertos en la materia, las láminas de vidrio son piezas delgadas y flexibles o escamas de vidrio formadas por reacciones químicas que implican las superficies internas de los envases de vidrio. Los sistemas y técnicas inventivos se pueden utilizar y/o adaptar para detectar, identificar y contar láminas de vidrio con el fin de minimizar la probabilidad de administración de fármacos que contienen láminas de vidrio para evitar la administración de fármacos que contengan (cantidades excesivas de) láminas de vidrio. También se pueden utilizar y/o adaptar sistemas y técnicas inventivos para estudiar la formación de láminas de vidrio, que dependen de la composición de una formulación dada y se diferencian de las proteínas y otros tipos de partículas en que reflejan y dispersan la luz. Sin estar vinculados a ninguna teoría particular, parece que ciertas condiciones son más propensas que otras a promover o a dificultar la formación de láminas de vidrio. Por ejemplo, los viales de vidrio fabricados mediante procesos de entubado y/o bajo temperaturas más altas tienden a ser menos resistentes a la formación de láminas que los viales de vidrio moldeado. Las soluciones farmacológicas formuladas a pH elevado (alcalino) y con ciertos tampones, como citrato y tartrato, también se asocian a láminas. La extensión de tiempo que el producto farmacológico permanece expuesto a la superficie interna del envase y la temperatura del producto farmacológico también afectan a las posibilidades de que se formen láminas de vidrio. Para obtener más información, véase, por ejemplo, la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU., Asesoramiento a Fabricantes de Fármacos: Formation of Glass Lamellae in Certain Injectable Drugs (25 de marzo de 2011) (www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm248490.htm).

Con el fin de crear un sistema de diferenciación basado en este principio, el generador de imágenes se puede alinear con un vial de una forma típica y la iluminación incidente se puede orientar a través del fondo del envase (ortogonal al eje de la cámara). Esto produce muy poca señal de las partículas que se dispersan (por ejemplo proteínas) y una gran señal de partículas que reflejan (por ejemplo láminas de vidrio). En otras palabras, a medida que las láminas flotan a través del recipiente, parecen parpadear intermitentemente. Esta técnica ha demostrado ser muy específica en la diferenciación de partículas laminares de agregados proteicos. Además, la señal obtenida utilizando esta técnica de generación de imágenes se correlaciona con la concentración de láminas dentro de un vial. Como resultado, esta técnica no solo se puede utilizar para la detección no destructiva de láminas en productos comerciales, sino también como una herramienta para determinar qué composiciones de formulación dan lugar a presencia de láminas aumentada/disminuida.

Las FIGS. 13A y 13B muestran imágenes de proyección de máxima intensidad (MIP) de láminas de vidrio (FIG. 13A) y proteínas (FIG. 13B) adquiridas con un sistema de inspección visual ilustrativa. Las imágenes MIP convencionales se utilizan en tomografía computarizada para visualizar un espacio tridimensional visto a lo largo de un eje espacial, por ejemplo el eje z. Una imagen MIP convencional típica representa el valor máximo de los datos considerados a lo largo de un rayo óptico paralelo al eje de visualización. Sin embargo, en este caso, las imágenes MIP mostradas en las FIGS. 13A y 13B son visualizaciones de datos que representan la evolución temporal de una imagen bidimensional: son proyecciones a lo largo de un eje temporal en lugar de un eje espacial.

Para crear las imágenes MIP mostradas en las FIGS. 13A y 13B, el procesador selecciona el valor máximo de al menos algunos de los píxeles en los datos de series temporales, donde cada píxel representa la cantidad de luz reflejada (y/o transmitida) desde una ubicación espacial respectiva en el recipiente. El trazado de valores resultantes produce una imagen MIP, como las mostradas en las FIGS. 13A y 13B, que representa el valor histórico más brillante de los píxeles. El procesador puntúa la imagen MIP contando el número de píxeles de la imagen MIP cuyo valor supera

un umbral predeterminado. Si la puntuación supera un valor histórico que representa el número de láminas en un recipiente similar, el procesador determina que es estadísticamente probable que el recipiente contenga láminas de vidrio. El procesador también puede determinar la gravedad de la contaminación de las láminas estimando el número, el tamaño promedio y/o la distribución de las láminas de vidrio a partir de la imagen MIP.

Los sistemas inventivos también pueden utilizarse para distinguir láminas de vidrio de otras partículas en el recipiente, por ejemplo en base a diferencias en la cantidad de luz reflejada por las partículas como una función del tiempo y/o diferencias en la cantidad de luz transmitida por las partículas. Algunas partículas no laminares pueden reflejar la luz de una fuente de luz que ilumina el recipiente desde abajo (por ejemplo fuente de luz 122e en la FIG. 8) al detector. Los trozos de vidrio, los trozos de metal y las fibras extrañas, por ejemplo, podrían aparecer continuamente utilizando una configuración de iluminación inferior. Estos tipos de partículas se detectarán de forma consistente a medida que se mueven a través del envase, a diferencia de las laminillas, que dependen de la orientación y solo son visibles durante unos pocos fotogramas cada vez que se alinean para reflejar la luz hacia el generador de imágenes. El rastreo de partículas se puede emplear en imágenes de series temporales de luz inferior para rastrear partículas visibles pero en movimiento. Estas pistas se pueden eliminar de los cálculos MIP utilizados para la puntuación de láminas o, alternativamente, incluirse en una técnica de información de luz mutua para determinar cómo interacciona una partícula determinada con otras orientaciones de iluminación. Por ejemplo, una partícula de metal que refleja la luz se puede rastrear en la configuración de iluminación inferior. Esa misma partícula ocluye la luz cuando se ilumina con una luz de fondo (por ejemplo la fuente de luz 122f en la FIG. 8). El uso de ambas métricas posibilita diferenciar la partícula metálica de un trozo de vidrio, que refleja la iluminación inferior pero no ocluye la iluminación trasera.

Detección, rastreo y caracterización de partículas

Como se ha descrito anteriormente, la unidad de inspección visual 100 mostrada en la FIG. 1 puede grabar un flujo monocromático de alta calidad y alta resolución (datos de series temporales) de partículas brillantes contra un fondo oscuro. (Alternativamente, las partículas se pueden visualizar como manchas oscuras sobre un fondo blanco). Debido a que el producto farmacológico puede contener una amplia variedad de partículas radicalmente diferentes, los datos de series temporales se pueden analizar utilizando varios enfoques diferentes para diferenciar características en una imagen del fondo. Frecuentemente, la aparición de una partícula en una única imagen (fotograma de datos de series temporales) no es suficiente para hacer estimaciones cuantitativas verdaderamente precisas para objetivos críticos (por ejemplo recuento/tamaño). Por ejemplo, lo que parece ser una única partícula en un fotograma de datos de series temporales puede ser en realidad dos o más partículas que colisionan entre sí o que pasan una junto a la otra, lo que puede dar lugar a recuentos de partículas precisos y/o estimaciones del tamaño de las partículas.

La correlación temporal de las características de la imagen entre fotogramas de una secuencia de vídeo mejora la precisión del recuento de partículas y de las mediciones de tamaño. El proceso de vincular características de imagen en fotogramas consecutivos conjuntamente para formar una trayectoria dependiente del tiempo para cada partícula se conoce como rastreo, registro o asignación de partículas. Existen técnicas de rastreo de partículas para otras aplicaciones (especialmente en el estudio experimental de mecánica de fluidos). Sin embargo, estas aplicaciones emplean típicamente partículas trazadoras esféricas bien definidas. La aplicación del principio a los productos farmacológicos y otros fluidos requiere una solución significativamente más compleja. Además, para algunas especies de partículas, no siempre es práctico el análisis (rastreo) temporal. En tales casos, se puede emplear un enfoque estadístico como alternativa a las mediciones características de rendimiento.

La FIG. 14 proporciona una visión general de la detección e identificación de partículas de alto nivel 1300, que comienza con la adquisición 1310 de datos de series temporales. Los datos de series temporales (y/o datos de series temporales invertidas) se preprocesan 1320 y los datos de series temporales invertidas preprocesados se utilizan para la identificación y medición de partículas bidimensionales 1330, que puede incluir análisis estadístico 1340 y/o rastreo de partículas 1350 de los datos de series temporales invertidas. Como se ha explicado anteriormente, los datos de series temporales invertidas son datos de series temporales cuyos fotogramas se han reordenado en orden cronológico inverso. La generación de informes de partículas 1360 se produce una vez finalizada la identificación y medición de partículas 1330.

Preprocesamiento de datos de series temporales

El preprocesamiento 1320 incluye la eliminación de características estáticas (sustracción de fondo) 1321, supresión/filtrado de ruido de imagen 1322 y umbralización de intensidad 1323. La eliminación de características estáticas 1321 explota el hecho de que hacer girar el envase energiza el fluido y las partículas contenidas en el mismo. Su movimiento dinámico les permite distinguirse de otras características de generación de imagen. Dado que la captura de imagen comienza después de que el envase ha dejado de girar, se supone que todo lo que se mueve es una partícula potencial. Las características estáticas son posteriormente irrelevantes y se pueden eliminar de la imagen para mejorar la claridad.

En una realización, una proyección de intensidad mínima establece una plantilla aproximada para las características de la imagen que son estáticas. Esto incluye, por ejemplo, arañazos, suciedad y defectos que pueden estar presentes en la pared del envase. Esta 'imagen de característica estática' se puede sustraer posteriormente de toda la secuencia

de vídeo para generar una nueva secuencia de vídeo que contiene solo las características en movimiento sobre un fondo negro. Por ejemplo, las FIGS. 15A y 15B muestran un único fotograma de datos de series temporales antes y después de la eliminación de características estáticas. El reflejo, arañazos y otras características estáticas oscurecen partes del envase en la FIG. 15A. La sustracción de fondo elimina muchas de las características estáticas, dejando una imagen (FIG. 15B) con partículas en movimiento más claramente visibles.

Una advertencia de este enfoque es que la mayoría de los defectos del vidrio, como arañazos en la superficie, dispersan una cantidad relativamente significativa de luz, apareciendo de color blanco en las imágenes capturadas, ya que los píxeles del detector están saturados. La sustracción de estas características puede dar lugar a regiones 'muertas' en la imagen. A medida que las partículas se mueven detrás o delante de estos defectos iluminados, pueden ocluirse parcialmente o incluso desaparecer por completo. Para resolver este problema, la 'imagen de característica estática' se puede conservar, analizar y utilizar para correlacionar las posiciones de los defectos con las posiciones de las partículas con el fin de minimizar la influencia de los defectos de la superficie en el tamaño de las partículas y los datos de recuento. (Como nota al margen, se recomienda la aplicación de un protocolo de limpieza antes de operar el sistema para asegurar que los defectos de la superficie se hayan eliminado en la medida de lo posible). Los datos también se pueden filtrar 1322, por ejemplo para eliminar el ruido de alta frecuencia y/o baja frecuencia. Por ejemplo, la aplicación de un filtro de paso de banda espacial a los datos de series temporales (invertidas) elimina o suprime los datos que varían por encima de una primera frecuencia espacial o una segunda frecuencia espacial.

Una vez que se han eliminado las características de fondo, los datos de series temporales se umbralizan 1323 mediante redondeo del valor de intensidad de cada píxel de la imagen a uno de un número predeterminado de valores. Considérese la escala de grises mostrada en las FIGS. 16A y 16C, que están escaladas según la escala de ocho bits mostrada a la izquierda (otras posibles escalas incluyen 16 bits y 32 bits). Cada píxel tiene un valor de intensidad de cero a 255, donde cero representa que no hay luz detectada y 255 representa la máxima cantidad de luz detectada. El redondeo de esos valores de intensidad de 127 a menos de cero y esos valores de intensidad de 128 y hasta 255 produce las imágenes en blanco y negro mostradas en las FIGS. 16B y 16D. Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que también son posibles otros umbrales (y múltiples umbrales).

Detección de partículas

La detección efectiva de partículas en una imagen se basa en una variedad de técnicas de procesamiento y segmentación de imágenes. La segmentación se refiere al proceso computacional mediante el cual las características de interés en una imagen se simplifican en objetos discretos y manejables. Los métodos de segmentación para extraer características de una imagen se utilizan ampliamente, por ejemplo en el campo de imágenes médicas, y estas técnicas se han empleado para la identificación de partículas. En resumen, las imágenes adquiridas de la cámara se preprocesan utilizando umbralización, sustracción de fondo (característica estática), filtrado (por ejemplo filtrado de paso de banda) y/u otras técnicas para maximizar el contraste. Al finalizar, el procesador 130 segmenta la imagen, después selecciona ciertas áreas de la imagen como partículas representativas y categoriza esas áreas en consecuencia. Los enfoques de segmentación adecuados incluyen, entre otros, enfoques relacionados con la confianza, puntos de inflexión, conjuntos de niveles, partición de gráficos, basados en la comprensión, de agrupación de clústeres, de crecimiento de región, multiescala, de detección de bordes y basados en histogramas. Una vez adquiridas las imágenes, la segmentación puede producir información adicional para correlacionar una característica dada en una imagen adquirida con un tipo de partícula. Por ejemplo, la información sobre la característica segmentada dada, como el área, el perímetro, la intensidad, la nitidez y otras características, se puede utilizar para determinar el tipo de partícula.

Rastreo de partículas e inversión de tiempo

Es fundamental que ninguna herramienta de identificación disponible anteriormente considera con todo detalle el comportamiento temporal de las partículas a medida que se mueven alrededor del vial. El recuento y el dimensionamiento de partículas pueden ser imprecisos si solo se miden a partir de una única "instantánea". Sin embargo, los datos de series temporales proporcionan una imagen más completa del comportamiento de las partículas que se puede resolver utilizando rastreo de partículas 1340, que permite la creación de hojas de cálculo dependientes del tiempo para cada partícula individual, permitiendo una medición más robusta y precisa de sus propiedades fundamentales. El rastreo de partículas es una técnica utilizada ampliamente en microscopía de vídeo, así como en ingeniería de dinámica de fluidos (donde se denomina comúnmente como velocimetría de rastreo de partículas o PTV).

Aunque se conoce la PTV, la mayoría de soluciones de rastreo de partículas suponen que el movimiento de las partículas entre fotogramas de vídeo sucesivos es leve y menor que la distancia de separación típica entre partículas una imagen dada. En tales casos, es suficiente vincular las posiciones de las partículas identificando los vecinos coincidentes más cercanos. En muchas aplicaciones, sin embargo, este no es un modelo apropiado. Debido a la velocidad de giro (por ejemplo alrededor de 300 rpm, 1600 rpm y/o 1800 rpm) y las concentraciones de partículas potencialmente elevadas, se puede esperar que las partículas se muevan mucho más lejos entre fotogramas sucesivos que la distancia típica de separación entre partículas. Esto se puede resolver mediante empleo de una forma de rastreo predictivo, que implica la búsqueda de una partícula en una región predicha por el movimiento previo de la partícula. El rastreo predictivo incluye la evaluación de ecuaciones físicas para predecir matemáticamente la posición futura

aproximada de la partícula en el fotograma posterior, como se muestra en la FIG. 17. Para mejorar el rendimiento, esta fase de rastreo predictivo se puede acoplar con el conocimiento del comportamiento local del fluido (si se conoce), por ejemplo como se describe con respecto a la FIG. 21C.

5 La formación de una predicción precisa para una trayectoria dada puede requerir algunos puntos de datos previos en los que basar la trayectoria. Esto presenta un enigma: al comienzo de la secuencia de imágenes, cuando las partículas se mueven a la máxima velocidad, puede haber pocos o ningún dato previo en los que basar las predicciones de posición. Sin embargo, con el tiempo, el arrastre de la pared en el envase provoca que el fluido que rota se ralentice y se detenga en último término. La grabación de datos de series temporales durante el tiempo suficiente produce
10 fotogramas en los que las partículas se ralentizan considerablemente e incluso se detienen.

La inversión de la línea temporal del vídeo 1331 para que las partículas parezcan estáticas inicialmente y acelerar lentamente a medida que avanza el vídeo proporciona puntos de datos "previos" para determinar la trayectoria. Al
15 comienzo del vídeo, donde las partículas apenas se mueven, se puede usar el principio de coincidencia más cercana para construir la fase inicial de cada trayectoria. En un momento adecuado, el sistema puede cambiar entonces al modo predictivo. La inversión de la línea temporal de los datos adquiridos de esta manera mejora drásticamente el rendimiento.

La FIG. 17 muestra una vista general del rastreo predictivo con inversión de tiempo. El objetivo del rastreo de partículas es relacionar la posición de una partícula a_i en el fotograma i con su posición a_{i+1} en el fotograma $i+1$, como se muestra en la FIG. 17(a). Esto es sencillo si el movimiento de la partícula a entre fotogramas es menor que la distancia d a su vecino más cercano, la partícula b . Si la dirección de movimiento de la partícula es desconocida o aleatoria, la metodología más simple es tener una zona de búsqueda, típicamente un círculo de radio r_s , donde r_s se elige de manera que sea más largo que el rango esperado de movimiento de partícula pero menor que la distancia típica de separación entre partículas d , como se muestra en la FIG. 17(b). Después de invertir la línea de tiempo de la película, como en la FIG. 17(c), las partículas parecen comenzar a moverse lentamente. Sin embargo, después de un tiempo, las partículas parecen acelerarse y el método de búsqueda de coincidencia más cercana puede comenzar a fallar. Los primeros fotogramas de datos de series temporales invertidas establecen la trayectoria, proporcionando cierto conocimiento de la velocidad y la aceleración de la partícula. Esta información se puede introducir en ecuaciones apropiadas para predecir la ubicación aproximada de la partícula en el fotograma $i+1$, como se muestra en la FIG. 17(d). Este método de rastreo predictivo es considerablemente más eficaz que el simple rastreo de coincidencia más cercana, en especial en muestras densas y/o de movimiento rápido.

35 **Detección del centro de masa**

Las FIGS. 18A y 18B ilustran la detección del centro de masa para partículas en datos de series temporales (invertidas) después de umbralización. En primer lugar, el procesador 130 transforma una imagen en escala de grises (FIG. 18A) en una imagen umbralizada (FIG. 18B). Cada partícula aparece como una proyección bidimensional cuya forma y tamaño dependen de la forma, el tamaño y la orientación de la partícula cuando se grabó el fotograma. A continuación,
40 el procesador calcula el centro geométrico o centroide de cada proyección bidimensional (por ejemplo como lo indican las coordenadas x_i y y_i) utilizando cualquier método adecuado (por ejemplo el método de plomada, por descomposición geométrica, etc.). El procesador 130 puede comparar la ubicación del centroide de una partícula en particular en una base de fotograma a fotograma para determinar la trayectoria de la partícula.

45 **Oclusión de partículas**

Cada uno de los sistemas de inspección visuales divulgado en el presente documento proyecta un volumen tridimensional, un envase y su contenido, sobre la superficie bidimensional del sensor de imagen. Para un sensor bidimensional dado, es posible que las partículas en el volumen tridimensional parezcan cruzar sus recorridos. Cuando esto sucede, una partícula puede ocluir parcial o completamente otra, como se muestra en la FIG. 19. En la FIG. 19(1), se identifica una nueva partícula en la secuencia de imágenes; el rastreo de la partícula a través de la secuencia de imágenes produce una serie de pasos secuenciales, como se muestra en la FIG. 19(2). Empleo de una zona de búsqueda para buscar posibles coincidencias en tramas consecutivas, como se muestra en la FIG. 19(3). Ocasionalmente, más de una partícula candidata ocupará la zona de búsqueda, como se muestra en la FIG. 19(4), en cuyo caso el sistema selecciona la mejor coincidencia. Como aprecian fácilmente los expertos en la materia, la mejor coincidencia se puede decidir utilizando cualquier combinación de enfoques diferentes. Por ejemplo, los datos que representan una partícula candidata en un fotograma se pueden comparar y correlacionar con los datos que representan una partícula en un fotograma precedente. Los parámetros de comparación y/o correlación incluyendo, entre otros, forma, brillo y/o cambio de apariencia, dan lugar a una coincidencia para la partícula candidata. Los sistemas de inspección visual ilustrativa pueden hacer frente a colisiones, oclusiones y desapariciones temporales de partículas, como la oclusión mostrada en la FIG. 19(5). Cuando se recupera la partícula, como en la FIG. 19(6), se puede reconstruir la pista. Los sistemas ilustrativos también pueden resolver conflictos causados cuando dos pistas (y sus zonas de búsqueda) colisionan, asegurando que se formen las trayectorias correctas, como en la FIG. 19(7).

65 La FIG. 20 ilustra otro caso de oclusión de partículas en una imagen bidimensional: (a) es una imagen típica de partículas en suspensión. Las FIGS. 20(b)-(e) muestran primeros planos de la región en recuadro en la FIG. 20(a),

con dos partículas aproximándose una a la otra desde direcciones opuestas. Los siguientes fotogramas en los datos de series temporales (invertidas) muestran que la oclusión provoca que dos partículas parezcan ser una única partícula, artificialmente grande. Si la oclusión es parcial (FIG. 20(c)), esto puede conducir a la aparición de una única partícula artificialmente grande. Si la oclusión es completa (FIG. 20(d)), entonces la partícula más pequeña puede perderse completamente del campo de visión y el recuento de partículas puede disminuir en uno. Esto puede ser de vital importancia cuando se inspeccionan productos farmacéuticos, ya que la medición de tamaño aumentada artificialmente puede ser suficiente para exceder los umbrales reglamentarios, cuando en realidad el producto bajo escrutinio contiene solo partículas aceptables subvisibles. En la FIG. 20(e), las partículas se han movido unas más allá de otras y el rastreo independiente puede continuar. Mediante análisis de las trayectorias de partículas y los posteriores perfiles de tamaño dependientes del tiempo, el sistema de inspección visual puede corregir automáticamente los errores debidos a la oclusión, lo que conduce a una menor tasa de falsos rechazos.

Contabilización de partículas perdidas

Como se ha discutido, las partículas pueden desaparecer de una parte de una secuencia de vídeo dada por diversas razones. Pueden atravesar un 'punto ciego' y/o una región 'muerta' debido a la eliminación de características estáticas discutidas anteriormente. Finalmente, algunos tipos de partículas pueden exhibir un comportamiento óptico donde aparecen y desaparecen (centellean) con respecto a la óptica de generación de imágenes. En tales casos, el procesador puede predecir el movimiento de estas 'partículas perdidas' de la siguiente manera. Si la partícula vuelve a aparecer en una ubicación esperada dentro de un cierto periodo de tiempo, el procesador puede vincular las trayectorias e interpolar los datos de partículas virtuales para los fotogramas provisionales. Obsérvese que, desde un punto de vista normativo, es importante tener claro que los datos de partículas virtuales se etiquetan adecuadamente para que puedan distinguirse de los datos de partículas medidos reales.

Las FIGS. 21A-21C ilustran una técnica para el rastreo y la recuperación de partículas perdidas, es decir, partículas que desaparecen temporalmente del campo de visión en el transcurso de una secuencia de vídeo. La desaparición puede deberse a la oclusión detrás de otra partícula (más grande), a la oclusión detrás de un defecto superficial, a la transición a través de un punto ciego conocido o simplemente a una propiedad de la geometría óptica de la partícula (por ejemplo algunos tipos de partículas solo pueden ser visibles en orientaciones específicas). El hallazgo o la recuperación de partículas que desaparecen del campo de visión mejora la precisión con la que se pueden detectar e identificar las partículas.

La FIG. 21A ilustra el rastreo predictivo para encontrar una partícula que está ocluida por un defecto en la superficie del recipiente. El defecto de la superficie dispersa una gran cantidad de luz, saturando la correspondiente región de la imagen. Después de emplear la eliminación de características, esto da lugar a una 'zona muerta' en la imagen. Cualquier partícula que atraviese esta zona desaparece temporalmente. El procesador 130 puede recuperar partículas 'perdidas' mediante creación de partículas virtuales para un número finito de pasos. Si la partícula reaparece y se detecta, las pistas están unidas.

Más específicamente, el procesador 130 utiliza el rastreo predictivo para determinar la velocidad de la partícula antes de su desaparición. También puede utilizar el rastreo predictivo y la velocidad de la partícula para extrapolar una posición de partícula esperada. Si la partícula aparece de nuevo en una posición esperada, las posiciones virtuales se pueden vincular para formar una trayectoria completa. Si la partícula no reaparece dentro de una ventana de tiempo predefinida, se puede señalar que se ha perdido permanentemente y ya no se rastrea.

La FIG. 21B muestra como rastrear una partícula que sufre una aceleración significativa o un cambio de dirección mientras está fuera de vista. En lugar de predecir la trayectoria de la partícula, el procesador 130 vincula retrospectivamente trayectorias fragmentadas utilizando la naturaleza del comportamiento local del fluido. En este caso, el procesador 130 unió las trayectorias considerando las características de flujo laminar del fluido a esta velocidad y escala.

La FIG. 21C ilustra cómo las partículas desaparecen y reaparecen a medida que atraviesan puntos ciegos conocidos. En este ejemplo, la partícula atraviesa un punto ciego conocido en el borde extremo del envase. La programación del procesador 130 con información sobre la posición del punto ciego con respecto a la imagen del envase permite al procesador 130 reconstruir la trayectoria.

Irregularidad de forma de partícula

Algunas partículas no son esféricas o suficientemente pequeñas para ser consideradas puntuales, como se supone en la mayoría de las técnicas de rastreo de partículas. De hecho, muchas partículas tienen una forma irregular y pueden dar vueltas y rotar en relación con la cámara a medida que se mueven a través del fluido, como se muestra en las FIGS. 22A-22C. En algunos casos, una partícula de forma irregular puede aparecer como dos partículas separadas, cada una con su propia trayectoria, como se muestra en la FIG. 22B. Tal movimiento impredecible del centro de masa medido del objeto bidimensional puede oscurecer el verdadero movimiento de la partícula. Este comportamiento complica seriamente el proceso de rastreo predictivo. El sistema de inspección visual descrito en el presente documento puede contener funcionalidad para hacer frente al movimiento aparentemente perturbado de una

partícula de forma irregular, por ejemplo mediante cálculo de una trayectoria media como se muestra en las FIGS. 22A y 22C para la partícula de forma irregular.

Dinámica de fluidos específica del envase/producto

El movimiento de las partículas en el envase después del giro es el resultado de la combinación del movimiento del fluido con el efecto de la gravedad. El movimiento del fluido es una función de la viscosidad del fluido, el volumen de llenado, la forma y el tamaño del envase y la velocidad de giro inicial. El rendimiento del rastreo de partículas se puede mejorar significativamente incorporando el conocimiento de las limitaciones físicas del sistema fluido en la construcción de trayectorias.

La dinámica de fluidos de líquidos sometidos a giro en envases convencionales puede ser sorprendentemente compleja bajo ciertas circunstancias. La incorporación de conocimientos de dinámica de fluidos (en lo que respecta a los envases que se utilizan normalmente en la industria farmacéutica) en la construcción de trayectorias constituye un área importante de novedad y desarrollo con respecto al estado de la técnica.

La FIG. 23 muestra algunos ejemplos de comportamiento de fluidos en envases típicos, con los resultados de un modelo computacional comparado con las trayectorias de partículas del mundo real generadas por la plataforma de inspección visual. Los estudios han descubierto sutilezas inesperadas: como ejemplo, en la FIG. 23(d) podemos ver el movimiento de partículas a lo largo de una columna vertical estrecha en el centro del vial, que se debe a la relajación del vórtice creado durante la fase de giro (FIG. 23(a)). A medida que el fluido en esta columna central se mueve verticalmente hacia arriba, puede barrer hacia arriba partículas pesadas que normalmente se espera que se hundan. Esto podría, por ejemplo, causar confusión entre la identificación de burbujas, que se esperaría que subieran, y partículas extrañas que se elevan debido al movimiento de fluidos específicos del recipiente.

Los sistemas de inspección visual ilustrativa pueden aprovechar el conocimiento previo de la dinámica de fluidos esperada de productos farmacológicos para producir resultados más precisos de lo que sería posible de otro modo. La combinación de un modelo físico, como el que se ilustra en la FIG. 23 con el rastreo de partículas de esta manera representa una mejora significativa con respecto a la tecnología existente.

Corrección de errores

Si bien los sistemas de inspección visual divulgados en el presente documento son robustos en la mayoría de condiciones experimentales, la complejidad del desafío de rastrear números mayores de partículas que se mueven en un pequeño volumen tridimensional significa que siempre existe el riesgo de que se introduzcan algunos errores, principalmente en forma de trayectorias incorrectas formadas entre fotogramas sucesivos cuando las partículas 'colisionan'. Este fenómeno se ilustra en la FIG. 24A.

La comprensión de las limitaciones físicas del sistema de inspección visual se puede emplear de forma ventajosa. En términos generales, el movimiento predominante del fluido localmente alrededor de cada partícula es laminar (en lugar de turbulento o aleatorio). Esto significa esencialmente que, con una cámara suficientemente rápida, las trayectorias naturales de las partículas en este sistema deberían variar suavemente, sin cambios repentinos ni bruscos en la dirección, particularmente a medida que las partículas atraviesan el centro del envase en la imagen. Una vez que se completa la vinculación inicial de trayectorias, el sistema puede analizar retrospectivamente las trayectorias de tales errores. Si se detectan, el sistema puede comparar trayectorias cercanas para establecer si se puede encontrar una solución más coherente físicamente. Esto se muestra en la FIG. 24B.

Recuento preciso de partículas

Un recuento de partículas se puede deducir contando el número de partículas en una imagen instantánea tomada en un único momento en el tiempo (por ejemplo como se muestra en la FIG. 24A) después de la detección de partículas, donde cada partícula está etiquetada con un número de recuento. Este enfoque es sencillo, pero tiende a subestimar sistemáticamente el número de partículas en el volumen por una variedad de razones. Por ejemplo, una o más partículas pueden estar ocluidas por otra partícula o un defecto superficial. Las partículas pueden estar en puntos ciegos conocidos (o desconocidos). Además, las partículas extremadamente pequeñas o tenues pueden aparecer y desaparecer de la vista intermitentemente a medida que se mueven a través de los umbrales de medición.

Una ventaja del rastreo de partículas discutido en el presente documento es que puede tener en cuenta todos estos problemas. Como resultado, para un rastreo robusto de partículas, el recuento de partículas se puede mejorar contando el número de pistas de partículas individuales (como en la FIG. 24B) en lugar del número de partículas en una única imagen o un análisis estadístico de varias imágenes. El recuento del número de trayectorias de partícula en lugar del número de partículas en un único fotograma (o conjunto de fotogramas) representa una mejora significativa con respecto a las técnicas convencionales de rastreo de partículas. El tamaño de la mejora varía con el número y (los) tamaño(s) de la partículas presentes. A grandes rasgos, a medida que aumenta el número de partículas, aumenta la posibilidad de oclusión y de este modo la mejora debida a las capacidades temporales del rastreo inventivo de partículas aumenta proporcionalmente.

Dimensionamiento preciso de partículas

Los sistemas convencionales de medición de partículas miden el tamaño de las partículas a partir de imágenes estáticas. Normalmente, esto se realiza mediante medición de la longitud del eje aparente más largo de la partícula, o el diámetro de Feret, como se muestra en la FIG. 25, según los estándares normativos y/o industriales que pueden definir el tamaño de partícula como la dimensión única más larga de la partícula. Bajo esta definición, un cabello de 1 mm se clasifica de la misma manera que una partícula esférica con un diámetro de 1 mm. Teniendo esto en cuenta, a partir de una imagen bidimensional, el diámetro máximo de Feret es una medida razonable de uso. Sin embargo, las mediciones de tamaño de partícula a partir de imágenes estáticas sufren diversos problemas críticos.

En primer lugar, en una proyección bidimensional de un volumen tridimensional, es fácilmente posible que varias partículas se superpongan, creando lo que parece ser una única partícula mucho más grande. En una industria en la que los reguladores establecen límites superiores muy estrictos sobre el tamaño de partícula permitido, este es un problema crítico, especialmente para las aplicaciones de fabricación en las que puede dar lugar a falsos rechazos, especialmente para muestras densamente pobladas.

En segundo lugar, las partículas de forma irregular pueden dar vueltas de forma impredecible (en relación con la cámara) a medida que fluyen alrededor del envase. Con una única instantánea bidimensional, puede ser imposible garantizar que la dimensión más larga de una partícula determinada sea ortogonal al eje de visión de la cámara. Por lo tanto, el sistema puede reducir sistemáticamente el tamaño de las partículas, lo que podría tener consecuencias nefastas en una industria fuertemente regulada. El examen del diámetro máximo de Feret dependiente del tiempo de partícula a medida que fluye alrededor del envase a través del rastreo de partículas proporciona una medida mucho más precisa de la dimensión más grande de la partícula.

En tercer lugar, a medida que las partículas se mueven alrededor de un envase cilíndrico, generalmente alinean su eje longitudinal con la dirección de flujo del fluido circundante, como se muestra en las FIGS. 25A y 25B. En general, para un envase cilíndrico esto significa que las partículas alargadas pueden parecer más grandes en el centro de la imagen que en los bordes laterales extremos. Usualmente, el generador de imágenes detecta el tamaño máximo aparente de partícula (diámetro de Feret) cuando la partícula se desplaza ortogonalmente con respecto al eje óptico del sensor de imagen. Si se rastrea una única partícula a medida que fluye alrededor del envase, se puede medir con precisión su elongación máxima correcta, lo que es difícil de conseguir para un procedimiento de medición estático.

Por último, a pesar de los esfuerzos por minimizar el efecto del desenfoque de movimiento mediante la iluminación estroboscópica (como se ha discutido anteriormente), es posible que se produzca cierto grado de desenfoque de movimiento al principio de la secuencia de captura de imagen, cuando el fluido y las partículas se mueven a la máxima velocidad. Mediante el uso de un análisis dependiente del tiempo del tamaño de partícula, se pueden identificar y suprimir artefactos en los datos debidos al desenfoque de movimiento (que tiende a aumentar el tamaño de partícula medido).

Las FIGS. 25C-25E ilustran el uso de datos de series temporales para rastrear trayectorias de partículas para mediciones más precisas del tamaño de las partículas. La FIG. 25C muestra la pista típica de una microesférica polimérica de 100 micrómetros que se mueve alrededor de un vial después del giro. Las partículas se mueven a la máxima velocidad en relación con la cámara a medida que parecen cruzar el centro del envase, cuando su velocidad es ortogonal a la dirección de visión, como se muestra en la FIG. 25D. Por ejemplo, si la velocidad de giro inicial es 300 rpm y la posición radial de la partícula es r_p 5 mm, la velocidad de la partícula v_p es alrededor de 9,4 m/s. A esta velocidad, un tiempo de exposición de la cámara de solo 10 μ s duplica el tamaño aparente de las partículas debido al desenfoque de movimiento. La FIG. 25E muestra en qué medida puede afectar el desenfoque de movimiento a las imágenes: a la izquierda, las partículas se mueven rápidamente (alrededor de 300 rpm) y se estiran; a la derecha, las mismas partículas están detenidas y parecen más circulares.

La FIG. 25F es un gráfico del diámetro de Feret dependiente del tiempo para la partícula que se muestra en la FIG. 25C. Debido a los efectos de lente del envase cilíndrico, el tamaño aparente de partícula se reduce cerca del borde del envase (marca D del eje derecho). La mejor estimación del tamaño máximo de partícula se produce cuando la partícula atraviesa el centro del envase, a una velocidad modesta (marca B del eje derecho). Si la velocidad es demasiado alta (lo que suele producirse durante los primeros segundos después del giro del envase), el desenfoque de movimiento exagera el tamaño de partícula (marca A del eje derecho). Eventualmente, debido al arrastre de fluido, la partícula dejará de moverse por completo (marca C del eje derecho). En este caso, los valores máximos de rango medio (marca B del eje derecho) son la lectura más precisa del tamaño máximo de partícula.

Caracterización de partículas

La FIG. 26A muestra sucesivos fotogramas de datos de series temporales tanto con las partículas como con sus trayectorias. Las trayectorias más o menos planas representan trayectorias de microesferas poliméricas de 100 micrómetros que imitan los agregados de proteínas. Estas partículas, que son casi neutralmente flotantes, se mueven con el fluido y no se hunden ni se elevan notablemente. Las pistas descendentes verticalmente representan las

trayectorias de perlas de vidrio de 100 micrómetros que rotaban con el fluido inicialmente pero se hundieron inicialmente a medida que avanzaba la secuencia. Las trayectorias ascendentes representan las trayectorias de las burbujas de aire y las partículas con flotabilidad positiva.

5 El rastreo de partículas permite la medición de diversas propiedades dependientes del tiempo que pueden dar indicios importantes sobre la naturaleza de las partículas bajo examen. Por ejemplo, las burbujas de aire, que generalmente pueden considerarse benignas desde el punto de vista normativo, pueden confundir a las máquinas de inspección ópticas actuales, conduciendo a falsos positivos y a rechazos innecesarios. En este caso, el movimiento dependiente del tiempo de la partícula (las burbujas de aire tienden a elevarse verticalmente a medida que el fluido comienza a desacelerarse) conduce a una característica muy obvia que se puede identificar fácilmente a partir de la trayectoria producida por el rastreo de la partícula. Del mismo modo, las partículas de flotabilidad neutra pueden no subir o bajar mucho, mientras que las partículas densas se hunden en el fondo del envase. Las partículas más ligeras pueden ser arrastradas por un vórtice formado por el fluido giratorio y las partículas pesadas pueden tener trayectorias en línea recta.

15 En términos más generales, el proceso de rastreo de partículas produce una hoja de cálculo dependiente del tiempo, como la mostrada en la FIG. 26B, que contiene detalles de todos los parámetros relevantes, incluyendo posición, velocidad de movimiento, dirección de movimiento, aceleración, tamaño (por ejemplo área bidimensional), tamaño (diámetro máximo de Feret), elongación, esfericidad, contraste y brillo. Estos parámetros proporcionan una firma que se puede utilizar para clasificar una partícula como una especie particular. Este enfoque, que se puede conseguir a través de una solución de rastreo de partículas, funciona bien para la mayoría de partículas de interés. La capacidad de categorizar partículas en una base partícula a partícula en función de una serie de mediciones dependientes del tiempo es una ventaja particular de la presente invención.

25 **Compresión de vídeo**

La visualización de partículas muy pequeñas en un envase comparativamente grande se beneficia del uso de sensores de imagen de muy alta resolución. La tasa de captura de imágenes también debe maximizarse para asegurar una construcción de trayectoria precisa. La combinación de estos requisitos da lugar a archivos de vídeo extremadamente grandes, por ejemplo 1 GB, 2 GB, 5 GB, 10 GB o mayores. Para algunas aplicaciones, puede ser necesario archivar el vídeo original además de los datos de análisis. Incluso para conjuntos de muestras de tamaño moderado, los grandes tamaños de archivo involucrados podrían hacer que los costes de almacenamiento sean prohibitivos.

35 La compresión de vídeo de los datos de series temporales (invertidas) se pueden utilizar para reducir los tamaños de archivos de datos de series temporales (invertidas). La protección de la integridad de datos de partículas puede requerir el uso de compresión de vídeos sin pérdida. Los estudios sugieren que las técnicas de compresión con pérdida más utilizadas (y más eficientes) (por ejemplo MPEG) pueden distorsionar y perturbar críticamente la imagen, introduciendo diversos artefactos visuales no deseados.

40 Si bien la compresión sin pérdidas es, en general, comparativamente ineficiente en comparación con la compresión con pérdida, hay una serie de pasos que pueden mejorar su eficacia. La mayoría de fotogramas de datos de series temporales muestran un puñado de objetos pequeños, brillantes sobre un fondo oscuro. El fondo oscuro no contiene información útil. No es realmente negro, sino que está hecho de un ruido aleatorio muy tenue. La sustitución de este fondo por un fondo puramente negro simplifica enormemente la imagen y la hace mucho más eficiente para que funcionen las técnicas estándar de compresión sin pérdida (por ejemplo zip, Huffvuv).

50 Este proceso ya se ha descrito en otras partes de la bibliografía. Lo novedoso aquí, sin embargo, es la decisión específica de lo que realmente constituye el fondo en un fotograma dado. Otros procesos de compresión establecen un nivel de intensidad umbral y asumen que todos los píxeles de la imagen por debajo de este nivel forman parte del fondo. Esta es una estrategia ampliamente efectiva, pero puede resultar en una ligera reducción en el tamaño de las partículas retenidas, y puede eliminar completamente las partículas muy tenues cuyo brillo es del mismo orden que el límite superior del 'ruido' de fondo.

55 Aunque estas técnicas convencionales trabajan con datos de series temporales (invertidas), la compresión utilizada en realizaciones ilustrativas emplea una única fase que analiza el fondo de partículas tenues antes del empleo de umbrales destructivos. Esto asegura el mejor equilibrio entre el mantenimiento de la integridad de datos y la maximización de las reducciones de los requisitos de almacenamiento de datos.

60 **Volumen de llenado/detección de menisco**

65 Las realizaciones automatizadas de la plataforma de inspección visual detectan el volumen de llenado de la muestra con precisión, lo que es importante en aplicaciones de investigación en las que no hay garantía de que el volumen de llenado sea coherente a lo largo de una ejecución particular. Esto es especialmente útil cuando se trata de archivos de datos muy grandes, como los generados por sensores de imagen de alta resolución, lo que provoca presión sobre la transferencia y el almacenamiento de datos. Por esta razón, puede ser deseable limitar la imagen grabada para que no cubra más que el volumen del fluido, ya que cualquier información adicional es irrelevante.

Los sistemas ilustrativos pueden emplear, por ejemplo, algoritmos automatizados de detección de bordes o reconocimiento de características para detectar los límites del envase en la imagen, como se muestra en las FIGS. 27-29 y se describe a continuación. Debido a que tanto el menisco como la base del vial son características singulares y únicas, se puede emplear una serie de posibles configuraciones de iluminación y/o técnicas de procesamiento de imagen para identificar de manera precisa su posición en la imagen. La medición del volumen de llenado y la determinación de la región de la imagen ocupada por el fluido proporciona la región de interés. Específicamente, a partir de la FIG. 8, se pueden utilizar configuraciones que utilizan las fuentes de luz 122f (luz de fondo), 122e (luz inferior) y una combinación de 122a y 122b (iluminación en ángulo trasero) para detectar el volumen de llenado como se describe a continuación.

Las FIGS. 27A-27F ilustran la detección automática de una región de interés dentro de un envase utilizando la iluminación en ángulo trasero 122a y 122b en FIG. 8. La FIG. 27A muestra una imagen estática del envase donde la base del recipiente y el menisco son claramente visibles como objetos distintos brillantes. Como ejemplo, un procesador puede emplear la detección de bordes para identificar las paredes verticales del contenedor y la anchura de la región de interés, w , como se muestra en la FIG. 27B. Para la detección del menisco y la base del vial, cuya apariencia puede ser menos predecible, el proceso puede emplear, por ejemplo, umbrales de intensidad y segmentación para proporcionar una imagen simplificada de la región de interés (mostrada en la FIG. 27C). En esta fase, el procesador puede identificar automáticamente envases que pueden no ser adecuados para el análisis de partículas, por ejemplo, envases cuyas superficies están rayadas y/o cubiertas de suciedad. La efectividad del sistema puede verse comprometida por una turbidez excesiva, defectos en la superficie del envase o una concentración de partículas excesivamente alta (por lo que las partículas individuales ya no se pueden discretizar en la imagen). Si el procesador determina que el recipiente es satisfactorio, los objetos que corresponden al menisco y a la base del vial se pueden aislar y simplificar como se muestra en la FIG. 27D. El procesador define la altura vertical h de la región de interés como la distancia entre el borde inferior del menisco y el borde superior de la base del vial como se muestra en la FIG. 27E. Por último, el procesador puede recortar el flujo de imágenes original utilizando la anchura y la altura de las dimensiones de la región de interés, de modo que solo se registre el área de la imagen ocupada por el fluido visible como se muestra en la FIG. 27F.

Las FIGS. 28A-28C ilustran un proceso similar de detección de menisco llevado a cabo con datos adquiridos utilizando una configuración retroiluminada (por ejemplo una fuente de luz 122f en la FIG. 8). La FIG. 28A muestra un fotograma de datos de series temporales que representa un envase típico fotografiado con una luz de fondo. El menisco, las paredes y la base son claramente distinguibles y se pueden identificar de manera automática mediante la detección de bordes como en la FIG. 28B. Sin embargo, los defectos, como los arañazos, pueden comprometer potencialmente la detección precisa de la posición del menisco si se utiliza tanto una luz de fondo (FIG. 28B) como las luces en ángulo trasero (por ejemplo como en la FIG. 29C, descrita a continuación). En una implementación, utilizamos la umbralización de intensidad de la imagen para identificar el menisco y la base del vial. Dado que se trata de objetos relativamente grandes y debido a su forma dispersan una cantidad de luz relativamente grande hacia el detector, estos pueden identificarse claramente a diferencia de cualquier otra característica que pueda estar presente.

Las FIGS. 29A-29D ilustran la detección de un menisco en un recipiente cilíndrico con un fondo más o menos plano. La detección automatizada del volumen de llenado comienza con la umbralización (FIG. 29A) para detectar el menisco, que luego establece la región de interés y también es una medida del volumen de llenado. A continuación, en la FIG. 29B, la iluminación oblicua resalta los defectos de superficie, como los arañazos (mostrados), el polvo, las huellas dactilares, los defectos del vidrio o la condensación, lo que puede dificultar la detección de bordes. La iluminación del vial desde abajo (por ejemplo utilizando una fuente de luz 122e como en la FIG. 8), como en la FIG. 29C, ilumina el menisco de una manera que es (relativamente) insensible a los defectos de superficie, aquí el menisco es visible aunque la superficie esté muy rayada. La iluminación desde abajo también posibilita diferenciar entre viales vacíos y viales llenos, como se muestra en la FIG. 29D, y detectar de manera precisa la altura del menisco en todos los niveles de llenado entre esos extremos. La iluminación de un vial desde abajo aumenta la efectividad de la detección del menisco, ya que mitiga errores debidos a arañazos y otros defectos de superficie (FIG. 27C). El ajuste de la fuente de luz 122e para iluminar el recipiente en un ligero ángulo disminuye adicionalmente la sensibilidad a defectos de superficie. Para jeringas, que pueden ser difíciles de iluminar desde abajo debido a la ausencia de una base de envase transparente, se puede conseguir un efecto similar mediante iluminación oblicua en un ángulo estrecho.

También se pueden emplear técnicas de inspección similares a la detección de menisco descrita anteriormente para detectar características que socavarían cualquier intento posterior de identificar y analizar partículas suspendidas en el fluido. Esto puede incluir la identificación de líquidos excesivamente turbios, envases dañados críticamente (incluyendo arañazos excesivos o residuos en la superficie) y fluidos en los que la concentración de partículas es tan alta que las partículas ya no se pueden discretizar.

Procesadores y memoria

Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que los procesadores divulgados en el presente documento pueden comprender cualquier dispositivo adecuado que proporcione dispositivos de procesamiento, almacenamiento y entrada/salida que ejecuten programas de aplicación y similares. Los procesadores ejemplares se pueden implementar

en circuitos integrados, matrices de puertas programables y/o cualquier otra arquitectura adecuada. Los procesadores ilustrativos también pueden estar conectados a través de redes de comunicaciones a otros dispositivos informáticos, incluyendo otros procesadores y/o ordenador(es) servidor(es). La red de comunicaciones puede formar parte de una red de acceso remoto, una red global (por ejemplo Internet), una colección mundial de ordenadores, redes de área local o de área amplia y pasarelas de enlace que utilizan actualmente los respectivos protocolos (TCP/IP, Bluetooth, etc.) para comunicarse entre sí. También son adecuadas otras arquitecturas de red de dispositivos electrónicos/ordenadores.

La FIG. 30 es un diagrama de la estructura interna de un procesador 50 ilustrativo. El procesador 50 contiene el bus de sistema 79, donde un bus es un conjunto de líneas de hardware utilizadas para la transferencia de datos entre un ordenador o un sistema de procesamiento. El bus 79 es esencialmente un conducto compartido que conecta diferentes elementos de un sistema informático (por ejemplo procesador, almacenamiento en disco, memoria, puertos de entrada/salida, puertos de red, etc.) que permite la transferencia de información entre los elementos. Conectada al bus del sistema 79 se encuentra la interfaz del dispositivo I/O 82 para conectar varios dispositivos de entrada y salida (por ejemplo teclado, ratón, pantallas, impresoras, etc.) al procesador 50. La interfaz de red 86 permite que el ordenador se conecte a otros diversos dispositivos unidos a una red. La memoria 90 proporciona almacenamiento volátil y/o no volátil para las instrucciones de software de ordenador 92 y los datos 94 utilizados para implementar una realización de sistemas y técnicas de inspección visual ilustrativa. El almacenamiento en disco 95 proporciona almacenamiento (adicional) no volátil las instrucciones de software de ordenador 92 y los datos 94 utilizados para implementar una realización de sistemas y técnicas de inspección visual ilustrativa. La unidad de procesador central 84 también está unida al bus de sistema 79 y proporciona la ejecución de instrucciones del ordenador.

En una realización, las rutinas de procesador 92 y datos 94 son un producto de programa informático (generalmente con referencia 92), que incluye un medio legible por ordenador (por ejemplo un medio de almacenamiento extraíble como uno o más DVD-ROM, CD-ROM, disquetes, cintas, etc.) que proporciona al menos una parte de las instrucciones de software para los sistemas de inspección visual ilustrativa. El producto de programa informático 92 se puede instalar mediante cualquier procedimiento de instalación de software adecuado, como es bien sabido en la técnica. En otra realización, al menos una parte de las instrucciones de software también pueden descargarse a través de una conexión por cable, comunicación y/o inalámbrica. En otras realizaciones, los programas ejemplares son un producto de señal propagada informático 107 incorporado en una señal propagada en un medio de propagación (por ejemplo una onda de radio, una onda infrarroja, una onda láser, una onda sonora o una onda eléctrica propagada a través de una red global como Internet u otra(s) red(es)). Tales medios o señales soporte proporcionan al menos una parte de las instrucciones de software para las rutinas/programas ilustrativos 92.

En realizaciones alternativas, la señal propagada es una onda soporte analógica o una señal digital transportada por el medio propagado. Por ejemplo, la señal propagada puede ser una señal digitalizada propagada a través de una red global (por ejemplo Internet), una red de telecomunicaciones u otra red. En una realización, la señal propagada es una señal que se transmite a través del medio de propagación durante un periodo de tiempo, como las instrucciones para una aplicación de software enviada en paquetes a través de una red durante un periodo de milisegundos, segundos, minutos o más tiempo. En otra realización, el medio legible por ordenador del producto de programa informático 92 es un medio de propagación que el procesador 50 puede recibir y leer, por ejemplo, recibiendo el medio de propagación e identificando una señal propagada incorporada en el medio de propagación, como se ha descrito anteriormente para el producto de señal propagada por programa informático.

En términos generales, el término "medio soporte" o soporte transitorio abarca señales transitorias, señales propagadas, medio propagado, medio de almacenamiento y similares mencionados anteriormente.

Enfriamiento de sensor

En las realizaciones descritas anteriormente, los sensores electrónicos se utilizan para capturar imágenes de partículas. Los sensores electrónicos, como los CCD, están sujetos a varios tipos de ruido aleatorio que sirven para comprometer la integridad de la señal medida, especialmente a bajas intensidades de señal. En algunas realizaciones, los sensores se pueden enfriar para reducir el ruido. El enfriamiento se puede conseguir utilizando cualquier técnica adecuada, incluido, por ejemplo, el uso de enfriadores termoeléctricos, intercambiadores de calor (por ejemplo enfriadores criogénicos), enfriamiento por nitrógeno líquido y combinaciones de los mismos.

En varias realizaciones, la reducción de ruido tiene una ventaja en la detección de partículas, especialmente en relación con la detección de agregados proteicos. En aplicaciones típicas, los agregados proteicos pueden ser relativamente grandes (por ejemplo hasta varios cientos de micrómetros de diámetro), sin embargo, la estructura física de estas partículas de agregado suele ser muy suelta, con baja densidad (una gran proporción de la partícula puede ser porosa y estar llena del medio circundante) y de bajo índice de refracción en contraste con el medio circundante. Debido a estas propiedades físicas, los agregados proteicos pueden dispersar cantidades relativamente pequeñas de luz en comparación con otras partículas, como fragmentos o fibras de vidrio.

Gran parte del ruido que afecta a los sensores electrónicos de imagen contemporáneos es de naturaleza térmica. Este ruido afecta principalmente al extremo inferior del rango dinámico del sensor. Por ejemplo, en algunas realizaciones,

el X % inferior (por ejemplo 10 %) del rango dinámico está ocupado por ruido y debe eliminarse durante el proceso de umbralización de imagen (por ejemplo como se describe anteriormente). El valor umbral para la detección de partículas debe ser, como mínimo, superior a este valor de $\sim X$ %, eliminando de este modo los datos de baja intensidad de señal. Esto puede impedir la detección precisa de partículas tenues, como agregados proteicos. Mediante reducción del ruido, por ejemplo mediante enfriamiento del sensor, se puede utilizar un valor umbral más bajo, lo que permite una detección mejorada de señales de baja intensidad.

La FIG. 31 ilustra el problema de umbralización descrito anteriormente. El panel A de la FIG. 31 muestra un segmento recortado de una secuencia de imágenes típica adquirida utilizando los dispositivos y las técnicas descritos en el presente documento. Como se muestra, las imágenes son imágenes en escala de grises de 8 bits, es decir, cada píxel puede tener un valor de intensidad que oscila linealmente de 0 (negro) a 255 (blanco). La imagen contiene dos partículas, una relativamente brillante y una muy tenue. El panel B de la FIG. 31 muestra un histograma de intensidad que muestra los valores de intensidad del 'fondo' correspondientes al recuadro en la imagen que no contiene partículas.

El sensor exhibe una curva de ruido de fondo gaussiana en el extremo inferior del histograma de intensidad, debido al menos en parte a efectos térmicos. La anchura de esta curva determina el valor umbral para la detección de partículas. En resumen, las partículas deben ser significativamente más brillantes que el ruido de fondo para sobrevivir al umbral.

El panel C de la FIG. 31 muestra un histograma de intensidad para la partícula brillante. La imagen de la partícula tiene un número significativo de píxeles a la derecha del valor umbral en el histograma y, por lo tanto, será fácilmente detectable después de la umbralización.

Por el contrario, como se muestra en el panel D de la FIG. 31, la partícula más tenue tiene un número relativamente pequeño de píxeles por encima del valor umbral, es decir, probablemente se eliminaría durante el proceso de umbralización/segmentación. Sin embargo, si se aplicara enfriamiento u otras técnicas para reducir el ruido de fondo, desplazando de este modo el valor umbral hacia la izquierda, es posible que se detecte la partícula más tenue.

Enumeración basada en luz y dimensionamiento no destructivo (LENS)

Al realizar un dimensionamiento y recuento de partículas no destructivo dentro de un envase, en algunas realizaciones hay artefactos apreciables generados por el propio contenedor. La interfaz líquida refracta la luz que pasa a través del vial, lo que provoca distorsiones apreciables en la imagen o las imágenes de las partículas utilizadas para el procedimiento de dimensionamiento y recuento. Como resultado, las partículas de un tamaño dado aparecen, por ejemplo, hasta cuatro veces más grandes en la imagen, dependiendo de su posición espacial dentro del vial. Obsérvese que, para un envase cilíndrico, la imagen de la partícula solo se estira generalmente a lo largo del eje lateral, no del eje vertical del vial. (Véase la FIG. 5E para una ilustración de estos efectos).

Como se ha indicado anteriormente, en algunas realizaciones, estos efectos de distorsión pueden corregirse (por ejemplo mitigarse o incluso eliminarse) utilizando técnicas ópticas correctivas. Sin embargo, en algunas realizaciones, tal corrección óptica puede ser incompleta o no estar disponible. En tales casos, no se puede realizar una correlación directa del tamaño de una partícula con la correspondiente imagen del detector.

Por ejemplo, la FIG. 32 muestra un histograma para el tamaño de imagen detectada para una población de partículas de tamaño estándar (como se muestra 100 μm de diámetro) (microesferas poliméricas) en un fluido adquirido utilizando un sistema en el que no se ha corregido la distorsión del envase (correspondiente a la situación mostrada en la FIG. 5E). Se muestra claramente una variación significativa en tamaños de imagen aparentes debido a la distorsión del envase.

Esta variación dificulta la diferenciación entre poblaciones de partículas de diferentes tamaños, ya que puede haber una superposición sustancial en el área aparente en el detector de cada tamaño de población. Por ejemplo la FIG. 33 muestra histogramas para el tamaño de imagen detectado para dos poblaciones de partículas de tamaño estándar (como se muestra en 100 μm y 140 μm de diámetro) en un fluido. Se muestra claramente una superposición significativa entre los histogramas para las poblaciones de dos tamaños.

En la presente invención se aplica una técnica de procesamiento para recuperar información precisa de dimensionamiento incluso en presencia del efecto de distorsión descrito anteriormente. El procesamiento se calibra utilizando datos obtenidos mediante estándares de tamaño conocidos. Por ejemplo, la FIG. 34 muestra histogramas de tamaño aparente adquiridos experimentalmente para cuatro poblaciones diferentes de partículas de tamaño estándar (microesferas poliméricas). Aunque se muestran cuatro curvas de calibración, en varias realizaciones se puede utilizar cualquier número adecuado. En algunas realizaciones, se pueden utilizar al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o al menos seis curvas. En algunas realizaciones, el número de curvas está en el rango de 2-100 o cualquier subrango del mismo, como 4-6. En algunas realizaciones, se puede interpolar un conjunto de curvas de calibración experimentales para generar curvas adicionales (por ejemplo correspondientes a valores de tamaño entre los valores medidos experimentalmente).

En algunas realizaciones, las curvas de calibración pueden corresponder a poblaciones de partículas que tienen tamaños reales que difieren en cualquier cantidad adecuada, por ejemplo al menos 1 μm , al menos 5 μm , al menos 10 μm , al menos 20 μm o más, por ejemplo en el rango de 1 μm a 1000 μm o cualquier subrango de los mismos.

5 Una vez que se han determinado las curvas de calibración, se puede obtener la curva de distribución de tamaño aparente para una muestra con partículas de tamaño desconocido (por ejemplo a partir de una imagen o imágenes estáticas o cualquier otra técnica adecuada). La curva de muestra se puede obtener en condiciones experimentales iguales o similares (por ejemplo el mismo tamaño y la misma forma de envase, propiedades de fluido, condiciones de iluminación, condiciones de generación de imágenes, etc.). Esta curva de muestra se compara con las curvas de calibración para determinar la información indicativa de los tamaños de las partículas en la muestra.

10 Se compara una superposición ponderada de las curvas de calibración con las curvas de muestra. La ponderación de la superposición se varía para ajustar la superposición a la curva de muestra, por ejemplo utilizando cualquier técnica de ajuste adecuada conocida en la materia. La ponderación del mejor ajuste a la curva de muestra proporciona información sobre los tamaños reales de la partícula en la muestra. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el número de veces que aparece cada curva de calibración en la superposición de mejor ajuste corresponde al recuento de especies de ese tamaño dentro de la muestra.

15 La FIG. 35 ilustra el ajuste de una superposición de curvas de calibración a una curva de muestra experimental. En este caso, la muestra se preparó de tal manera que se supo que las partículas estaban dentro del rango de 75-125 μm de diámetro. La FIG. 36 muestra los recuentos de tamaño resultantes del ajuste en comparación con los recuentos de tamaño obtenidos mediante agrupación simple del tamaño aparente sin procesar de la imagen correspondiente. Para los datos brutos, hay números significativos de recuentos espurios fuera del rango de tamaño real de 75-125 μm . Por el contrario, los resultados obtenidos a partir del ajuste de las curvas de calibración muestran un número muy reducido de recuentos espurios.

20 Obsérvese que, aunque se ha descrito un posible enfoque para comparar los datos de muestra con los datos de calibración, pueden utilizarse otras técnicas adecuadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la curva de muestra puede descomponerse utilizando las curvas de calibración como funciones de base, de forma similar a la descomposición de Fourier de una forma de onda utilizando funciones de base sinusoidales. En general, se puede utilizar cualquier técnica adecuada de convolución, deconvolución, descomposición u otra técnica.

25 En algunas realizaciones, las técnicas de enumeración basadas en luz y dimensionamiento no destructivo ("LENS") se pueden utilizar en combinación con las técnicas de seguimiento de partículas descritas anteriormente. Por ejemplo, la técnica LENS tenderá a funcionar mejor cuando la forma de las partículas se aproxime a la de las partículas en los estándares de tamaño utilizados para generar los datos de calibración. Además, las técnicas tienden a funcionar bien cuando el número de partículas es alto (por ejemplo mayor que 10, mayor que 50, mayor que 100 o más), lo que proporciona un conjunto de datos más grande para que el algoritmo lo procese.

30 Sin embargo, en algunas aplicaciones, el número de partículas presente puede ser menor. En algunas aplicaciones, la atención puede centrarse en las partículas más grandes en la muestra. Además, en algunas aplicaciones, la muestra puede incluir partículas con tamaños que difieren del tamaño de partículas estándar. Por ejemplo, las fibras serían alargadas en lugar de la forma esférica utilizada en muchos estándares. Bajo estas condiciones, es posible que las técnicas LENS no funcionen de manera efectiva.

35 En general, se puede contar cualquier número de partículas utilizando las técnicas descritas anteriormente. En algunas realizaciones, se determina un límite superior del número de partículas que se puede contar mediante superposición partícula/partícula en la muestra. En general, cuantas más partículas estén presentes en el envase, más probable es que dos no parezcan inconexas antes un único detector 2D. Esta es una función de las partículas por volumen y tamaño de las partículas. Por lo general, las partículas grandes ocupan más área en el detector (por lo tanto hay más superposición para un recuento dado/ml en comparación con las partículas más pequeñas). Por ejemplo, bajo ciertas condiciones, en un vial de 10 cc lleno de 8 ml de líquido se pueden contar hasta aproximadamente 500 partículas con un diámetro de 50 μm antes de que se hagan evidentes los efectos de subrecuento y sobredimensionamiento debido a la superposición de partículas.

40 Sin embargo, las técnicas de seguimiento de partículas presentadas anteriormente pueden ser efectivas para contar y dimensionar partículas relativamente grandes. En consecuencia, en algunas realizaciones se puede utilizar un híbrido de los dos enfoques. La Fig. 37 muestra una realización ejemplar de tal proceso híbrido. En el paso 3701 se graba una secuencia de imágenes, por ejemplo utilizando cualquiera de las técnicas descritas en el presente documento. En el paso 3702, se procesa la secuencia de imágenes (por ejemplo se filtra, se umbraliza, se segmenta, etc.). En el paso 3703, los datos de partículas producidos en el paso 3702 se pueden cribar previamente para partículas por enzima de un tamaño umbral. Estas partículas grandes se pueden eliminar del conjunto de datos y procesar en el paso 3704 utilizando técnicas de rastreo. Esto puede proporcionar mediciones de tamaño dependientes del tiempo de calidad de las partículas grandes. Si hay un fondo de partículas más pequeñas (por debajo del umbral de tamaño) presentes, esto se puede procesar entonces en el paso 3705 utilizando técnicas LENS. Los datos producidos mediante

las dos técnicas diferentes se pueden combinar entonces en el paso 3706 para generar un informe de partículas únicas para el contenedor bajo escrutinio.

5 En varias realizaciones, el umbral de tamaño utilizado para determinar qué técnica se aplica se puede establecer en cualquier umbral adecuado o valor mínimo de alrededor de 1 μm o mayor, por ejemplo alrededor del rango de 1-400 μm de anchura o diámetro de partícula o cualquier subrango del mismo, por ejemplo alrededor de 1 a alrededor de 50 μm , alrededor de 50 a alrededor de 250 μm o alrededor de 75 a alrededor de 100 μm . En algunas realizaciones, los datos de partículas enviados a cada técnica se pueden elegir utilizando criterios distintos del tamaño, por ejemplo información relacionada con la forma de la partícula. En general, se puede utilizar cualquier combinación de criterios
10 adecuada.

Técnicas de generación de imágenes tridimensional y detección de partículas

15 Como se ha indicado anteriormente, en algunas realizaciones, la unidad de inspección visual automatizada 100 puede incluir dos o más generadores de imágenes 110, lo que permite obtener imágenes tridimensionales de los contenidos del envase 10.

20 Por ejemplo las FIGS. 38A-C ilustran una unidad 100 que presenta tres generadores de imágenes 110. Como se muestra, los generadores de imágenes 110 están ubicados en un círculo alrededor del envase 10 a intervalos de 120 grados, sin embargo, en varias realizaciones se pueden emplear más o menos sensores. No es necesario que los ángulos entre sensores de imagen adyacentes sean iguales entre sí, sin embargo, en algunas realizaciones, una disposición de ángulos iguales simplifica las técnicas de procesamiento de imágenes descritas a continuación.

25 En algunas realizaciones, cada generador de imágenes 110 es sustancialmente idéntico. Los generadores de imágenes 110 pueden estar alineados para estar a la misma altura física en relación con el envase 10, con el envase 10 centrado en el campo de visión de cada generador de imágenes.

30 En algunas realizaciones, incluso cuando se tiene cuidado de optimizar esta alineación física se pueden producir pequeños errores en la colocación. Para tener esto en cuenta, los generadores de imágenes 110 pueden estar calibrados por generación de imágenes de un elemento de calibración conocido. Cualquier desviación de alineación lateral o vertical suficientemente pequeña se puede tener en cuenta mediante nuevo muestreo y desplazamiento de las imágenes capturadas en consecuencia. En algunas realizaciones, las imágenes se pueden procesar para corregir variaciones en la sensibilidad u otras diferencias características de rendimiento entre los diferentes sensores utilizados en los generadores de imágenes 110.
35

40 La FIG. 38C muestra un único brazo de generación de imágenes para la unidad 100. Como se ha descrito en detalle anteriormente, mediante el empleo de una disposición de generación imágenes telecéntrica se asegura que solo los rayos sustancialmente paralelos al eje de generación de imágenes alcancen la superficie del sensor del generador de imágenes 110. Como se muestra en la FIG. 39, utilizando técnicas de óptica de rayos geométricos (u otras técnicas adecuadas) se puede establecer un modelo de rayos dentro del envase 10 que se propagarían a través de la pared del envase y alcanzarían la superficie del sensor.

45 Con los vectores de rayos conocidos, se puede tomar un punto o una región de la imagen bidimensional y propagar esa intensidad de nuevo en el envase 10. Tomando una fila horizontal de lo bidimensional a la vez, se puede mapear una cuadrícula horizontal bidimensional dentro del volumen del envase. Las cuadrículas horizontales asociadas a cada uno de los tres generadores de imágenes 110 se pueden superponer para producir un único mapa. Mediante repetición del proceso para filas de sensores horizontales adicionales, se puede construir una pila vertical de cuadrículas bidimensionales para formar una estructura tridimensional (3D), por ejemplo, correspondiente a todo o parte del volumen del envase 10.
50

55 Las partículas candidatas se pueden identificar dentro de la estructura 3D resultante utilizando umbralización de intensidad de una manera similar a la descrita anteriormente. La umbralización se puede realizar en las imágenes bidimensionales originales a partir de los generadores de imágenes 110 o se puede realizar en los mapas horizontales dentro de la estructura 3D tras la superposición.

60 Utilizando una estructura 3D umbralizada se pueden identificar partículas candidatas, obteniendo de este modo una medición directa de la posición 3D de la partícula dentro del volumen de fluido del envase 10. En aplicaciones típicas, la medición de la posición 3D es precisa para la mayor parte del volumen de fluido, sin embargo, en algunos casos, por ejemplo cuando los generadores de imágenes 110 incluyen lentes telecéntricas, se pueden experimentar puntos ciegos debido a la curvatura del envase y al efecto de lente asociado (por ejemplo como se muestra en la FIG. 39, panel derecho).
65

Cuando se utilizan tres brazos de generación de imágenes a ángulos de 120 grados, como se muestra, los puntos ciegos se correlacionan estrechamente en pares (véase la FIG. 39, panel derecho). Puede que el posicionamiento 3D preciso dentro de las tres regiones de punto ciego 3901 sea imposible. Sin embargo, en esas regiones, los datos

posicionales se pueden establecer examinando los datos bidimensionales del brazo de generación de imágenes más cercano.

5 En varias realizaciones, el problema del punto ciego se puede mitigar o eliminar mediante aumento del número de brazos del sensor para asegurar la generación de imágenes en superposición.

10 Aunque se ha descrito un ejemplo de uso de múltiples generadores de imágenes 110 para determinar información 3D sobre el contenido del envase 10, se debe entender que pueden utilizarse otras técnicas. Por ejemplo, en realizaciones que utilizan dos generadores de imágenes se pueden aplicar técnicas de generación de imágenes estereoscópicas para determinar información 3D.

15 En algunas realizaciones, por ejemplo aquellas con muestras estáticas o de movimiento lento, la información 3D se podría obtener utilizando un brazo de generación de imágenes rotatorio, de manera similar a las máquinas de tomografía computarizada médica. El brazo rotatorio adquiriría una serie temporal de imágenes 2D desde varias perspectivas, que podrían utilizarse para construir información 3D, por ejemplo utilizando cualquier técnica adecuada, como las conocidas por la generación de imágenes médica. Si las imágenes se adquieren a una velocidad rápida en relación con la dinámica de la muestra, la imagen 3D puede proporcionar información 3D precisa para la detección de partículas.

20 En algunas realizaciones, la información 3D generada utilizando las técnicas descritas anteriormente puede ser adecuada para detectar una posición de partícula candidata, pero no es ideal para establecer otras características de la partícula. Por lo tanto, en algunas realizaciones se puede utilizar un enfoque híbrido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 3D de una partícula se establece en base a la información 3D (por ejemplo la estructura 3D generada como se describe anteriormente). Una vez que se ha establecido el posicionamiento tridimensional de las partículas, se pueden asociar con estas posiciones las mediciones de tamaño y forma obtenidas a partir de imágenes bidimensionales de algunos o todos los generadores de imágenes 110.

30 En algunas realizaciones, el rastreo de partículas se puede realizar sobre los datos posicionales 3D, por ejemplo utilizando técnicas de rastreo 3D similares a las técnicas bidimensionales descritas anteriormente.

En algunas realizaciones, el rastreo 3D proporciona ventajas, particularmente cuando se utiliza en combinación con imágenes bidimensionales obtenidas de cada generador de imágenes 110.

35 En el rastreo 3D, las oclusiones partícula-partícula (por ejemplo como se muestra en la FIG. 5E) se reducen o se eliminan. En algunas realizaciones se pueden producir posibles oclusiones, por ejemplo para muestras densas en los puntos ciegos donde falla el verdadero posicionamiento 3D.

40 Al igual que en el caso bidimensional descrito anteriormente, en algunos ejemplos se puede utilizar una técnica de rastreo predictivo en el contexto 3D que aprovecha la información relacionada con la dinámica de fluidos con el envase 10.

45 En algunas realizaciones, una vez que se ha rastreado la posición 3D de las partículas, la información sobre características de las partículas (por ejemplo tamaño y forma) se puede agregar a partir de los datos bidimensionales de los múltiples generadores de imágenes 110 en múltiples conjuntos de datos dependientes del tiempo para cada partícula. En algunas realizaciones, esto puede permitir una medición más precisa de las características individuales de las partículas (por ejemplo tamaño y forma) de lo que sería posible con un único sensor de generación de imágenes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, esta técnica permite una detección más clara y una medición del tamaño de partículas alargadas, dado que la apariencia de la partícula ya no depende estrictamente de su orientación respecto a un único generador de imágenes 110.

50 En algunas realizaciones, este enfoque se puede utilizar para mitigar el efecto de lente provocado por la curvatura del envase 10. Utilizando la posición 3D de las partículas, el tamaño de partícula medido en las dos imágenes bidimensionales adquirido por cada uno de los generadores de imágenes 110 se puede ajustar para corregir el efecto de lente, por ejemplo mediante modificación del componente lateral (horizontal) de la medición de tamaño con un factor de escala del efecto de lente. Este factor de escala se puede determinar en base a un modelo óptico de propagación de la luz a través del envase 10 a cada uno de los generadores de imágenes 110, como se detalló anteriormente.

60 **Detección espectral**

La FIG. 45 muestra un sensor 4500 (como se muestra, un espectrómetro de rejilla) que se puede utilizar con una unidad de inspección visual 100 del tipo descrito en el presente documento. Por ejemplo, el sensor 4500 puede formar un cuarto brazo de generación de imágenes utilizado con la realización de la unidad 100 que se muestra en la FIG. 38A.

65

El sensor 4500 se puede utilizar para detectar una característica (por ejemplo una característica espectral) de una o más partículas en el envase 10. Por ejemplo, como se muestra, el envase 10 está iluminado con fuentes de luz de banda ancha 122. El sensor 4500 recibe luz del envase 10 a través de óptica de distorsión correctiva 4501 (por ejemplo de cualquiera de los tipos descritos anteriormente) y una lente telecéntrica 4501. La luz de la lente 4501 se dirige a una rejilla de difracción 4503 que separa los componentes espectrales de la luz, que se fotografían entonces en un sensor de generación de imágenes 4504. En algunas realizaciones, la rejilla de difracción 4503 funciona de tal manera que la posición de la luz incidente a lo largo de una dimensión del sensor 4504 (por ejemplo la dimensión vertical) corresponde a la longitud de onda de la luz. La otra dimensión del sensor de generación de imágenes 4504 corresponde a diferentes posiciones espaciales dentro del envase 10. Es decir, el sensor 4500 proporciona información espectral para una subregión del envase, por ejemplo en la configuración mostrada en la subregión es una "rebanada" horizontal del envase 10.

A medida que las partículas pasan a través de este plano central horizontal, se puede grabar su firma espectroscópica. Al mismo tiempo, como se ha descrito en detalle anteriormente, los brazos de generación de imágenes convencionales de la unidad 100 se pueden utilizar para rastrear la posición de la partícula dentro del envase (por ejemplo en tres dimensiones). Esta información se puede utilizar para determinar cuándo una partícula determinada entra por la subregión de detección cubierta por el sensor 4500. Cuando la partícula entra en la subregión, el sensor 4500 detectará una característica (por ejemplo una firma espectral) de la partícula. La unidad 100 puede generar datos relacionados con esta característica y asociar estos datos a datos indicativos de la identidad de la partícula en los datos de rastreo.

En varias realizaciones, los datos característicos se pueden utilizar para cualquier propósito adecuado, por ejemplo identificando el tipo de partícula. Por ejemplo, la información espectral sobre una partícula dada se puede combinar con el tamaño, la forma, el movimiento u otra información sobre la partícula para determinar el tipo de partícula.

En algunas realizaciones, el sensor 4500 y las fuentes de luz de iluminación 122 se pueden modificar para detectar la fluorescencia de partículas o cualquier otra característica adecuada. En general, se puede detectar cualquier característica espectral de las partículas, incluyendo un color, un espectro de absorción, un espectro de emisión o un espectro de transmisión o una combinación de cualquiera de estos.

Aunque en el ejemplo descrito anteriormente el sensor 4500 está incluido en una unidad 100 que presenta tres brazos de imagen, en otras realizaciones se puede utilizar cualquier otro número adecuado de brazos de generación de imágenes, por ejemplo uno, dos, cuatro, cinco o más. En algunas realizaciones en las que se utiliza un único brazo de generación de imágenes, el sensor 4500 puede estar alineado con el brazo de generación de imágenes, por ejemplo, mediante utilización de un divisor de haz (no mostrado) para dividir un haz de luz del envase 10 y dirigir los componentes directos al único brazo de generación de imágenes y el sensor 4500. En otras realizaciones, por ejemplo, cuando se utilizan múltiples brazos de imagen, el sensor 4500 se puede orientar en cualquier ángulo adecuado con respecto a los generadores de imágenes.

Mediciones in situ de las propiedades de la muestra

En algunas realizaciones, la unidad de inspección 100 puede incluir uno o más detectores (no mostrados) que pueden utilizarse para medir el índice de refracción del fluido en el envase 10. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un rayo láser colimado estrecho fuera del eje puede dirigirse a través de una parte llena de fluido del envase 10 y detectarse para medir el desplazamiento del haz debido a la refracción a través del envase 10. Si el material y la geometría del envase 10 son conocidos, esta información se puede utilizar para determinar el índice de refracción del fluido. En varias realizaciones, se puede utilizar cualquier otra técnica adecuada de detección del índice de refracción.

En algunas realizaciones, el índice de refracción medido del fluido se puede utilizar como parámetro de entrada en cualquiera de los esquemas de procesamiento descritos en el presente documento (por ejemplo el procesamiento utilizado para compensar los efectos de lente provocados por la curvatura del envase 10).

En algunas realizaciones, la unidad de inspección 100 también puede incluir uno o más detectores (no mostrados) que pueden utilizarse para medir información indicativa de la forma del envase 10. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un rayo láser colimado estrecho fuera del eje se puede dirigir a través de una parte llena de aire (por ejemplo superior) del envase 10 y detectar para medir el desplazamiento del haz debido con respecto a una referencia. La deflexión se puede utilizar para medir con precisión el espesor de la pared del contenedor (por ejemplo con una precisión de 0,25 o menos). En varias realizaciones, se puede utilizar cualquier otra técnica adecuada para determinar la forma del envase.

En algunas realizaciones, la información geométrica detectada puede utilizarse, por ejemplo como se ha descrito anteriormente, en la determinación del índice de refracción del fluido en el envase 10. En algunas realizaciones, la información geométrica detectada se puede utilizar como parámetro de entrada para diversas técnicas de procesamiento descritas en el presente documento (por ejemplo el procesamiento utilizado para compensar los efectos de lente provocados por la curvatura del envase 10) o cualquier otro propósito adecuado.

Generación de imágenes por inmersión

5 Como se discute en detalle en el presente documento, en diversas realizaciones, las propiedades refractivas del fluido en el envase 10 pueden provocar efectos de distorsión de imagen no deseados. En algunas realizaciones, estos efectos se pueden mitigar mediante llenado de parte o de la totalidad del espacio entre el envase 10 y un generador de imágenes 110 utilizado para fotografiar el envase con un medio que tiene un índice de refracción que coincide más estrechamente con el índice del fluido que con el del aire.

10 En algunas realizaciones, la distorsión de refracción se puede mitigar adicionalmente mediante coincidencia del índice de refracción del envase 10 con el del fluido contenido en el envase.

En algunas realizaciones, estas técnicas de generación de imágenes por inmersión pueden reducir o eliminar la necesidad de óptica correctiva y/o procesamiento utilizado para reducir la distorsión (por ejemplo el efecto de lente descrito en detalle anteriormente).

15 Control de temperatura de la muestra

20 En algunas realizaciones, la unidad de inspección 100 puede incluir uno o más dispositivos (no mostrados) para el control de la temperatura de la muestra dentro del envase 10. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el dispositivo de control de temperatura se puede utilizar para variar la temperatura del envase dentro del rango de 0°C a 40 °C , 0 °C a 100 °C u otros rangos adecuados. En algunas realizaciones, el dispositivo de control de temperatura puede mantener la temperatura a un valor estable, por ejemplo un valor que varía en menos de 5 °C, 2,5 °C, 1 °C, 0,1 °C, 0,01 °C o menos.

25 El control de la temperatura puede ser particularmente ventajoso en aplicaciones donde el control de temperatura es importante para asegurar que las muestras no se deterioren durante el proceso de detección. En algunas realizaciones, mediante variación de la temperatura de la muestra de una manera controlada, se pueden realizar estudios de estabilidad dependientes de la temperatura y del tiempo para productos sensibles a la temperatura. Por ejemplo, la plataforma se puede utilizar para medir la disolución (o en algunos casos la formación) de agregados proteicos a medida que la temperatura del producto farmacológico aumenta de forma controlada, por ejemplo de 4°C (refrigeración) a 20°C (temperatura ambiente) o a 37°C (temperatura del cuerpo humano).

35 En varias realizaciones, el control de temperatura se puede conseguir utilizando cualquier técnica adecuada. En algunas realizaciones, el entorno dentro de la unidad de inspección puede estar sellado y aislado térmicamente, y la temperatura se puede controlar utilizando, por ejemplo, una unidad de aire acondicionado. En algunas realizaciones, una bobina de calentamiento y un enfriador termoeléctrico (por ejemplo un enfriador Peltier) pueden estar integrados en un portamuestras para el envase 10. En realizaciones en las que se mantienen múltiples envases en una bandeja, la temperatura de la bandeja se puede controlar mediante circulación de un líquido de calentamiento/enfriamiento a través de la bandeja (por ejemplo mediante paso del fluido de trabajo a través de un intercambiador de calor). En general, se pueden usar uno o más sensores de temperatura y/o termostatos para proporcionar un control de temperatura de circuito cerrado.

Técnicas de inspección iterativas

45 En algunas realizaciones, la unidad de inspección 100 puede reejecutar la inspección de una muestra dada con un o más parámetros de operación modificados (por ejemplo velocidad de giro) que se pueden elegir en función del resultado de una ejecución de inspección inicial. Este proceso se puede repetir de manera iterativa para ajustar mejor el parámetro de funcionamiento a la muestra particular bajo inspección.

50 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la inspección se puede reejecutar (por ejemplo con una velocidad de giro modificada) si la salida de una operación de detección y dimensionamiento de partículas devuelve resultados que están fuera de un rango de resultados esperados (lo que indica un error en la inspección inicial).

Mapeo de referencia de fondo para autocalibración

55 Como se ha descrito en detalle anteriormente, en varias realizaciones es deseable caracterizar efectos de distorsión (por ejemplo efectos de lente) provocados por refracción de la luz que pasa a través del envase 10 a un generador de imágenes 110. En algunas realizaciones, la propia unidad de inspección 100 se puede utilizar para mapear las distorsiones provocadas por el envase 10. Este mapa se puede utilizar entonces durante el procesamiento de imágenes para compensar estos efectos.

60 Por ejemplo, en algunas realizaciones se pueden colocar uno o más indicios de calibración (por ejemplo una cuadrícula) detrás del envase 10 como fondo para un generador de imágenes 110. Mediante detección de estos indicios en la imagen adquirida (por ejemplo utilizando la detección de bordes u otras técnicas adecuadas de detección de características) y comparación de su apariencia con su apariencia real conocida, se puede conocer y mapear la distorsión refractiva.

En algunas realizaciones, este enfoque se puede utilizar para corregir la distorsión provocada por envases no cilíndricos, por ejemplo envases que son rotacionalmente simétricos alrededor de un eje, pero con circunferencias variables alrededor del eje (como envases que tienen formas familiares de botellas de refresco de plástico contemporáneas).

5

Autodetección y mitigación de vibración

Como se ha indicado anteriormente, las vibraciones pueden degradar el rendimiento de la unidad de inspección 100. Las vibraciones provocan que características de otro modo estáticas (como defectos cosméticos en la superficie del envase) oscilen durante la adquisición del vídeo. Esto puede reducir el rendimiento de la fase de eliminación de características estáticas mediante la creación de halos oscilantes pequeños pero significativos que sobreviven a la eliminación de características estáticas y provocan potencialmente resultados espurios en los algoritmos de detección de partículas posteriores. En varias realizaciones, se pueden utilizar una o más de las siguientes técnicas para reducir el efecto de la vibración.

15

En algunas realizaciones, las características de halo oscilante que se forman alrededor de las características estáticas se pueden mitigar mediante aumento del tamaño de la región de imagen correspondiente a las características estáticas detectadas (por ejemplo mediante un grosor de uno o varios píxeles), de modo que las áreas de la imagen que contienen los halos oscilantes delgados también se eliminen antes de la fase de análisis de partículas. Sin embargo, en algunas realizaciones, este enfoque puede ser desventajoso en el sentido de que sirve para reducir el área efectiva disponible del sensor.

20

En algunas realizaciones, un algoritmo de cribado para detectar la presencia de características oscilantes. Por ejemplo, las características se pueden detectar mediante procesamiento de la imagen para localizar características que oscilan pero no se trasladan a través de la imagen. En algunas realizaciones, las características se pueden identificar adicionalmente en función de su proximidad a las características estáticas detectadas.

25

En algunas realizaciones, las características de la vibración del envase se pueden detectar a partir de las imágenes capturadas, por ejemplo utilizando detección de bordes para detectar el movimiento de las paredes del envase, de modo que el sistema pueda detectar automáticamente y advertir potencialmente a los usuarios de niveles inaceptablemente elevados de vibraciones ambientales.

30

En algunas realizaciones, las características de la vibración del envase se pueden detectar utilizando sensores físicos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un cabezal de herramienta que sostiene y manipula el envase durante la inspección puede incluir dispositivos de detección de movimiento (por ejemplo acelerómetros de alta precisión) que proporcionan retroalimentación desde la cual el sistema puede proporcionar automáticamente una advertencia a los usuarios con respecto a los niveles de vibración por encima de un umbral establecido.

35

Ejemplos

40

A continuación se proporcionan características de rendimiento ejemplares para una realización de una unidad de inspección visual automatizada 100 del tipo descrito en el presente documento.

Con referencia a la FIG. 40, la unidad 100 se presentaba con envases 10 que incluían respectivamente una sola esfera de polímero de un tamaño conocido. Se realizaron múltiples ejecuciones de detección ($n=80$) en cada envase y se midió el porcentaje de detección (barras de datos etiquetadas como "APT" en la figura). Como se muestra, el porcentaje de detección del sistema era superior al 90 % para tamaños de partícula que oscilaban de 15 a 200 μm de diámetro. Los porcentajes de detección para la misma tarea realizada visualmente por un humano entrenado se presentan para su comparación (barras de datos etiquetadas como "humano"). Obsérvese que la capacidad de detección humana disminuye rápidamente para partículas de tamaño inferior a 200 μm .

45

50

Con referencia a la FIG. 41, en otra prueba, la unidad 100 se presentó con envases que sostienen partículas por encima y por debajo del límite visible de 125 μm de diámetro. La unidad 100 detectó la partícula y también clasificó la partícula en base al tamaño por encima o por debajo del límite visible de 125 μm . Como se muestra, el porcentaje de detección del sistema era superior al 90 % para tamaños de partícula que oscilaban de 15 a 200 μm de diámetro. La unidad 100 también categorizó las partículas detectadas con un grado de precisión muy elevado.

55

Con referencia a la FIG. 42 se crearon series de dilución para múltiples estándares de tamaño, cada serie compuesta por envases que sostienen partículas a una concentración determinada. Los envases resultantes se analizaron por la unidad 100 para proporcionar un recuento de partículas y se utilizó la regresión para determinar los valores de R-cuadrado "R²" para linealidad del recuento frente al factor de dilución inverso. Como se muestra, el valor "R²" era superior a 0,95 para tamaños de partícula que oscilaban entre 15 y 200 μm , lo que indica una excelente linealidad.

60

Con referencia a la FIG. 43, una muestra estresada que contenía partículas proteicas se analizó mediante la unidad 100 para determinar un recuento de partículas agrupado por tamaño de partícula. Se muestra la precisión del recuento de partículas para cada envase tomado durante 10 ejecuciones. Las partículas proteicas son de tamaño desconocido,

65

lo que hace imposible la comparación de la precisión de tamaño absoluto, sin embargo, como se muestra, la precisión del sistema para el recuento y el dimensionamiento de proteínas es alta. El error normalizado era del 3 %, lo que indica una excelente precisión.

5 Con referencia a la FIG. 44, la unidad 100 también se caracterizó en la detección de blancos frente a viales que contenían proteínas. El rendimiento de la unidad 100 se comparó con el de un inspector visual certificado observando el mismo conjunto de viales. La unidad 100 ("APT" etiquetado en la figura) detectó correctamente los 40 viales de proteínas y los 80 blancos en ejecuciones por triplicado. La autoconcordancia en la clasificación de partículas visibles y subvisibles era del 100 %. Los humanos obtuvieron solo alrededor del 85 % en ambas categorías.

10

Conclusión

15 Aquellos con habilidad ordinaria en la materia se dan cuenta de que los procesos involucrados en un sistema automatizado y un método para la detección e identificación de partículas no destructiva (procesamiento de datos de series temporales adquiridos a través de la inspección visual) pueden incorporarse en un artículo de fabricación que incluye un medio utilizable por ordenador. Por ejemplo, tal medio utilizable por ordenador puede incluir un dispositivo de memoria legible, como un dispositivo de disco duro, un CD-ROM, un DVD-ROM, un disquete de ordenador o componentes de memoria de estado sólido (ROM, RAM) que tienen segmentos de código de programa legibles por ordenador almacenados. El medio legible por ordenador también puede incluir un medio de comunicación o transmisión, como un bus o un enlace de comunicaciones, ya sea óptico, alámbrico o inalámbrico, con segmentos de código de programa transportados como señales de datos digitales o analógicas.

25 En el presente documento se utiliza un diagrama de flujo. El uso de diagramas de flujo no pretende ser limitante con respecto al orden de operaciones realizadas. La materia aquí descrita ilustra a veces diferentes componentes contenidos en o conectados con otros componentes diferentes. Se debe entender que tales arquitecturas representadas son meramente ejemplares y que de hecho se pueden implementar muchas otras arquitecturas que obtengan la misma funcionalidad. En un sentido conceptual, cualquier disposición de componentes para obtener la misma funcionalidad está "asociada" efectivamente de tal manera que se obtiene la funcionalidad deseada. Por lo tanto, dos componentes cualesquiera combinados en el presente documento para obtener una funcionalidad particular se puede considerar "asociado" entre sí, de modo que se obtiene la funcionalidad deseada independientemente de las arquitecturas o los componentes intermedios. Del mismo modo, dos componentes cualesquiera asociados también se pueden considerar "conectados de forma operativa" o "acoplados de forma operativa" entre sí para obtener la funcionalidad deseada, y dos componentes cualesquiera capaces de asociarse también se pueden considerar "acoplables de manera operativa" entre sí para obtener la funcionalidad deseada. Los ejemplos específicos de acoplables de manera operativa incluyen, entre otros, componentes físicamente acoplables y/o físicamente interactivos y/o componentes que interaccionan de forma inalámbrica y/o interactivos de forma inalámbrica y/o componentes interactivos de manera lógica y/o componentes que interaccionan de manera lógica.

40 Con respecto al uso sustancialmente de cualquier término plural y/o singular en el presente documento, aquellos con habilidad en la materia pueden traducir del plural al singular y/o del singular al plural según sea apropiado para el contexto y/o la aplicación. Las diversas permutaciones singular/plural se pueden establecer expresamente en el presente documento en aras de la claridad.

45 Los expertos en la materia entenderán que, en general, los términos utilizados en el presente documento y especialmente en las reivindicaciones adjuntas (por ejemplo los cuerpos de las reivindicaciones adjuntas) se entienden generalmente como términos "abiertos" (por ejemplo, el término "incluyendo" debe interpretarse como "incluyendo entre otros", el término "teniendo" se debe interpretar como "teniendo al menos", el término "incluye" se debe interpretar como "incluye entre otros", etc.). Además, los expertos en la materia entenderán que si se pretende citar un número específico de una reivindicación introducida, tal intención se recitará explícitamente en la reivindicación y en ausencia de tal recitación no está presente tal intención. Por ejemplo, como ayuda para la comprensión, las siguientes reivindicaciones adjuntas pueden contener el uso de frases introductorias "al menos un" y "uno o más" para introducir las recitaciones de las reivindicaciones.

55 Sin embargo, el uso de tales frases no se debe interpretar en el sentido de implicar que la introducción de una recitación de reivindicación por los artículos indefinidos "un" o "una" limite cualquier reivindicación particular que contenga tal recitación de reivindicación introducida en una materia que contenga solo una de tales recitaciones, incluso cuando la misma reivindicación incluya las frases introductorias "uno o más" o "al menos un" y artículos indefinidos como "un" o "una" (por ejemplo "un" y/o "una" deben interpretarse típicamente en el sentido de "al menos un" o "uno o más"); lo mismo sucede con el uso de artículos definidos utilizados para introducir recitaciones de reivindicaciones. Además, incluso si se recita explícitamente un número específico de una recitación de reivindicación introducida, los expertos en la materia reconocerán que dicha recitación debe interpretarse típicamente para significar al menos el número recitado (por ejemplo la simple recitación de "dos recitaciones" sin otros modificadores significa generalmente al menos dos recitaciones o dos o más recitaciones).

65 Además, en aquellos casos en los que se utiliza una convención análoga a "al menos uno de A, B y C, etc.", en general se entiende tal construcción en el sentido de que alguien con habilidad en la materia entendería la convención (por

5 ejemplo "un sistema que tiene al menos uno de A, B y C" incluiría, entre otros, los sistemas que tienen A solo, B solo, C solo, A y B conjuntamente, A y C conjuntamente, B y C conjuntamente y/o A, B y C conjuntamente, etc.). En aquellos casos en los que se utiliza una convención análoga a "al menos uno de A, B o C, etc.", en general se entiende tal construcción en el sentido de que alguien con habilidad en la materia entendería la convención (por ejemplo "un sistema que tiene al menos uno de A, B o C" incluiría, entre otros, los sistemas que tienen A solo, B solo, C solo, A y B conjuntamente, A y C conjuntamente, B y C conjuntamente y/o A, B y C conjuntamente, etc.).

10 Tal como se utiliza en el presente documento, el término elemento óptico se puede referir a uno o más elementos refractivos, reflectantes, difractivos, holográficos, polarizadores o filtrantes en cualquier combinación adecuada. Tal como se utilizan en el presente documento, se debe entender que términos como "luz", "óptico", u otros términos relacionados se refieren no solo a la luz visible para el ojo humano, sino que también pueden incluir, por ejemplo, luz en las porciones ultravioleta, visible e infrarroja del espectro electromagnético.

15 La anterior descripción de realizaciones ilustrativas se ha presentado con fines ilustrativos y de descripción. No pretende ser exhaustivo o limitante respecto a la forma precisa divulgada, y las modificaciones o variaciones son posibles a la luz de las enseñanzas anteriores o pueden adquirirse de la práctica de las realizaciones divulgadas. Se pretende que el alcance de la invención se defina mediante las reivindicaciones adjuntas en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato (100) para el recuento y el dimensionamiento de partículas no disueltas en un recipiente (10) que está al menos parcialmente lleno de un fluido, comprendiendo el aparato (100) al menos un procesador (130) configurado para:
- 5 (a) recibir al menos una imagen de las partículas en el recipiente obtenida en condiciones de generación de imágenes especificadas;
- (b) en base a la al menos una imagen, detectar las partículas y determinar información indicativa del tamaño aparente de las partículas detectadas en la al menos una imagen;
- 10 (c) determinar información sobre la población de tamaño de partícula aparente indicativo de una distribución de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas; y
- (d) determinar información sobre la población de tamaño de partícula real indicativo de una distribución de tamaño de partícula real de las partículas detectadas en base a una comparación entre:
- 15 (i) la información sobre población de tamaño de partícula aparente; y
- (ii) información de la población de calibración indicativa de una distribución de tamaño aparente para cada uno de una pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar con diferentes tamaños de imagen en condiciones correspondientes a las condiciones de generación de imágenes especificadas;
- caracterizado por que**
- 20 el procesador (130) está configurado para ajustar una superposición de distribuciones de tamaño aparente para una pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar a la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas mediante:
- minimizar una diferencia entre la superposición y la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas mediante ajuste de la ponderación de las distribuciones de tamaño aparente para la pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar.
- 25 2. El aparato (100) de la reivindicación 1, en donde la pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar comprende al menos cuatro conjuntos con un diferente tamaño estándar respectivo respectivamente.
3. El aparato (100) de la reivindicación 2, en donde el tamaño respectivo de cada uno de los al menos cuatro conjuntos de partículas de tamaño estándar difiere en al menos 1 μm del tamaño respectivo de cada uno de los otros de al menos cuatro conjuntos de partículas de tamaño estándar.
- 30 4. El aparato (100) de la reivindicación 1, estando configurado el procesador (130) para preprocesar al menos una imagen para seleccionar un primer conjunto de partículas para el recuento en base al tamaño aparente de las partículas, en donde (c) y (d) se aplican solo al primer conjunto de partículas.
- 35 5. El aparato de la reivindicación 4, en donde las partículas del primer conjunto de partículas se seleccionan en base a un umbral de tamaño aparente.
- 40 6. El aparato de la reivindicación 5, en donde la al menos una imagen comprende una serie temporal de imágenes y en donde el procesador está configurado para detectar o contar partículas de un segundo conjunto de partículas diferentes del primero mediante determinación de las trayectorias del segundo conjunto de partículas en base a la serie temporal de imágenes.
- 45 7. Un método implementado por ordenador de recuento y dimensionamiento de partículas no destructivo en un recipiente (10) que está al menos parcialmente lleno de un fluido, comprendiendo el método:
- (a) recepción de al menos una imagen de las partículas en el recipiente obtenida en condiciones de generación de imágenes especificadas;
- 50 (b) en base a la al menos una imagen, detección de las partículas y determinación de información indicativa del tamaño aparente de las partículas detectadas en la al menos una imagen;
- (c) determinación de información sobre la población de tamaño de partícula aparente indicativo de una distribución de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas; y
- (d) determinación de información sobre la población de tamaño de partícula real indicativo de una distribución de tamaño de partícula real de las partículas detectadas en base a una comparación entre:
- 55 (i) la información sobre población de tamaño de partícula aparente y
- (ii) información de la población de calibración indicativa de una distribución de tamaño aparente para cada uno de una pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar con diferentes tamaños de imagen en condiciones correspondientes a las condiciones de generación de imágenes especificadas,
- caracterizado por que** el paso (d) comprende:
- 60 ajustar una superposición de distribuciones de tamaño aparente para una pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar a la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas, en donde el paso de ajuste de la superposición de distribuciones de tamaño aparente para la pluralidad de conjuntos de condiciones partículas de tamaño estándar a la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas comprende:
- 65 minimizar una diferencia entre la superposición y la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas mediante ajuste de la ponderación de las distribuciones de tamaño aparente para la pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar.

8. El método de la reivindicación 7, en donde la pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar comprende al menos cuatro conjuntos con un diferente tamaño estándar respectivo respectivamente.
- 5 9. El método de la reivindicación 8, en donde el tamaño respectivo de cada uno de los al menos cuatro conjuntos de partículas de tamaño estándar difiere en al menos 1 μm del tamaño respectivo de cada uno de los otros de al menos cuatro conjuntos de partículas de tamaño estándar.
- 10 10. El método de la reivindicación 7, que comprende, antes de (c) y (d), el preprocesamiento de al menos una imagen para seleccionar un primer conjunto de partículas para el recuento en base al tamaño aparente de las partículas, en donde (c) y (d) se aplican solo al primer conjunto de partículas.
- 15 11. El método de la reivindicación 10, en donde las partículas del primer conjunto de partículas se seleccionan en base a un umbral de tamaño aparente.
- 20 12. El método de la reivindicación 11, en donde la al menos una imagen comprende una serie temporal de imágenes y comprende:
la detección o el recuento de partículas de un segundo conjunto de partículas diferente al primero mediante determinación de las trayectorias del segundo conjunto de partículas en base a las series temporales de imágenes.
- 25 13. Un producto de programa de ordenador para el recuento y el dimensionamiento no destructivo de partículas no disueltas en un recipiente (10) que está al menos parcialmente lleno de un fluido, comprendiendo el producto de programa de ordenador instrucciones no volátiles, legibles por máquina, que, cuando son ejecutadas por un procesador, provocan que el procesador:
(a) reciba al menos una imagen de las partículas en el recipiente obtenida en condiciones de generación de imágenes especificadas;
(b) en base a la al menos una imagen, detecte las partículas y determine información indicativa del tamaño aparente de las partículas detectadas en la imagen
(c) determine información sobre la población de tamaño de partícula aparente indicativo de una distribución de tamaño
30 de partícula aparente de las partículas detectadas; y
(d) determine información sobre la población de tamaño de partícula real indicativo de una distribución de tamaño de partícula real de las partículas detectadas en base a una comparación entre:
(i) la información sobre población de tamaño de partícula aparente y
35 (ii) información de la población de calibración indicativa de una distribución de tamaño aparente para cada uno de una pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar con diferentes tamaños de imagen en condiciones correspondientes a las condiciones de generación de imágenes especificadas;
caracterizado por que el paso (d) comprende:
ajustar una superposición de distribuciones de tamaño aparente para una pluralidad de conjuntos de partículas de tamaño estándar a la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas, en donde el paso de
40 ajuste de la superposición de distribuciones de tamaño aparente para la pluralidad de conjuntos de condiciones partículas de tamaño estándar a la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas comprende:
minimizar una diferencia entre la superposición y la población de tamaño de partícula aparente de las partículas detectadas mediante ajuste de la ponderación de las distribuciones de tamaño aparente para la pluralidad de conjuntos
45 de partículas de tamaño estándar.

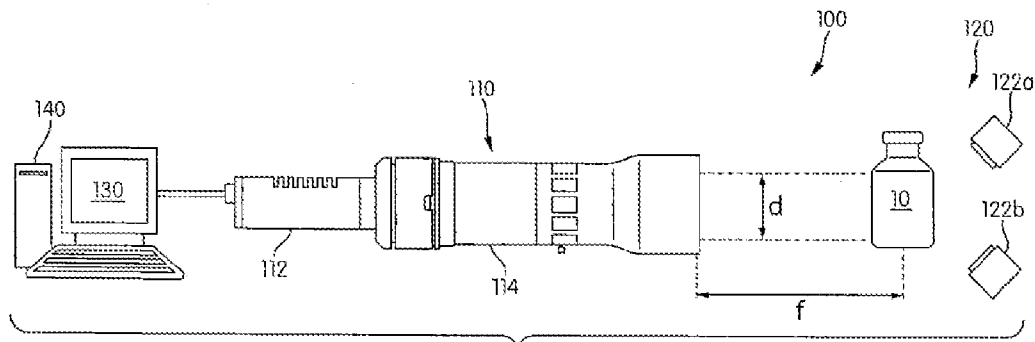


FIG. 1A

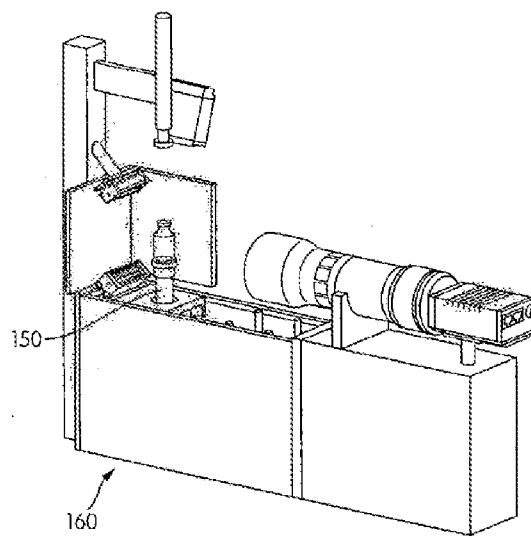


FIG. 1B

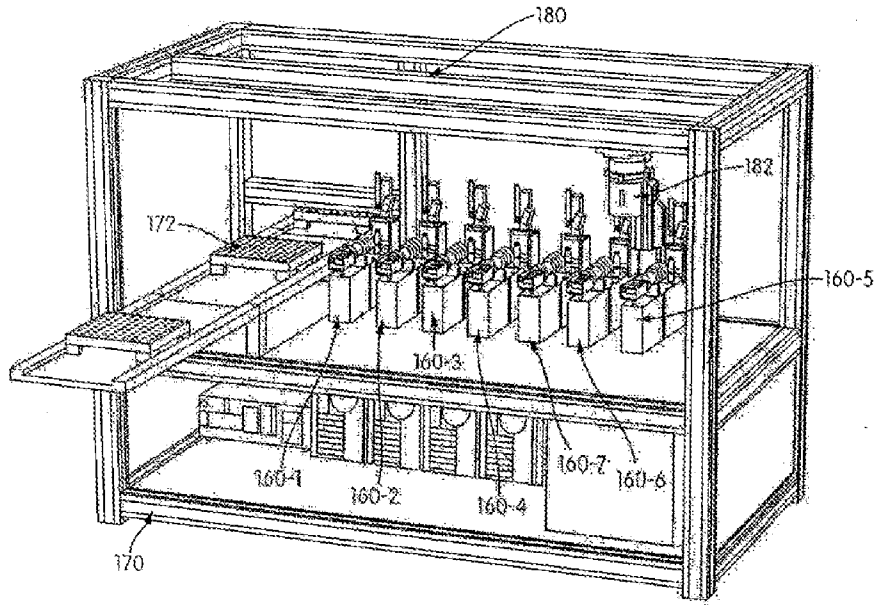


FIG. 1C

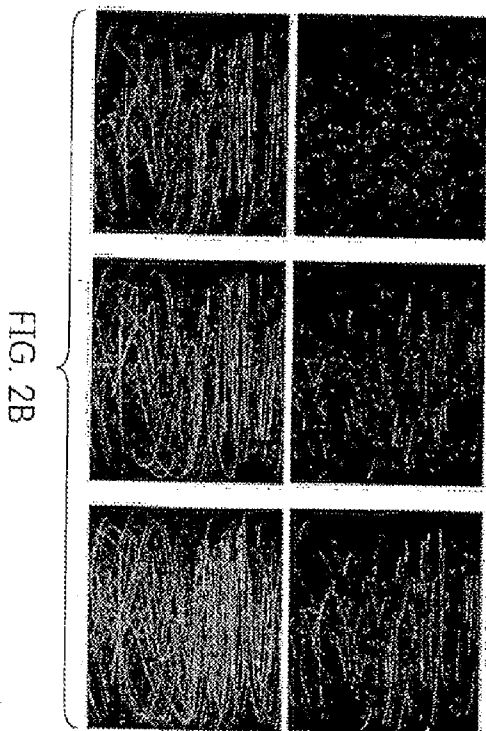


FIG. 2B

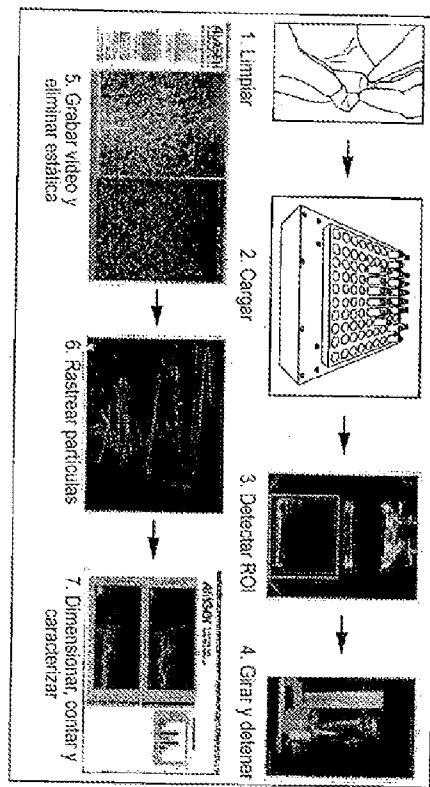


FIG. 2A

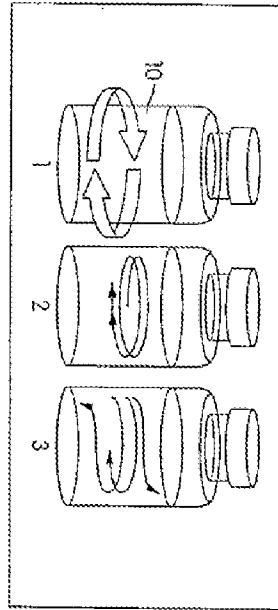


FIG. 3A

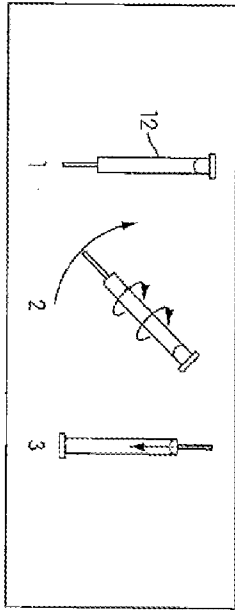


FIG. 3B

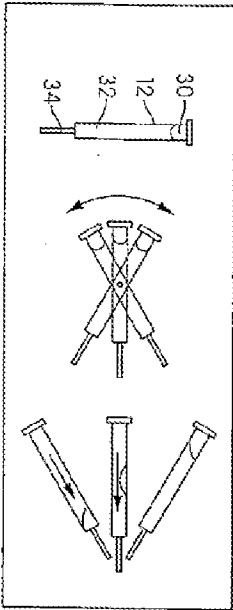


FIG. 3C

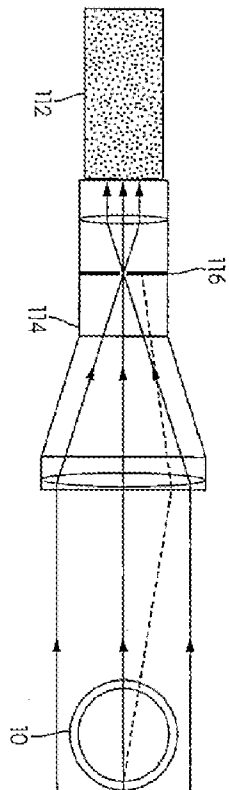


FIG. 4

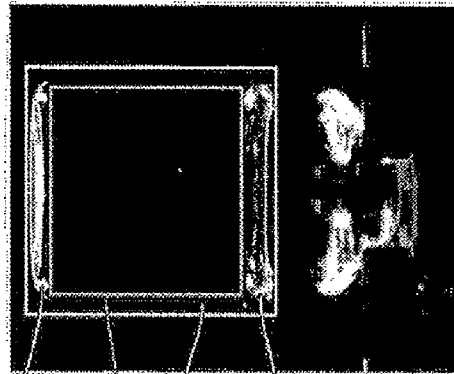


FIG. 5A

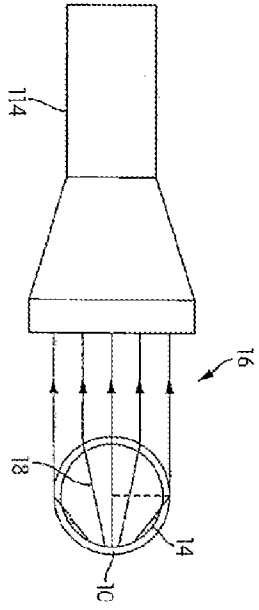


FIG. 5B

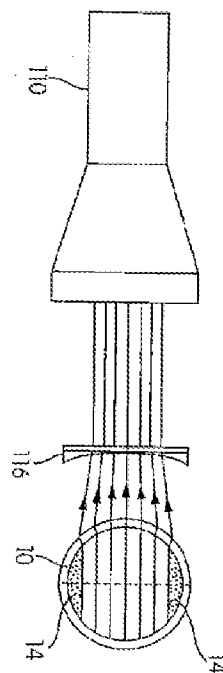


FIG. 5C

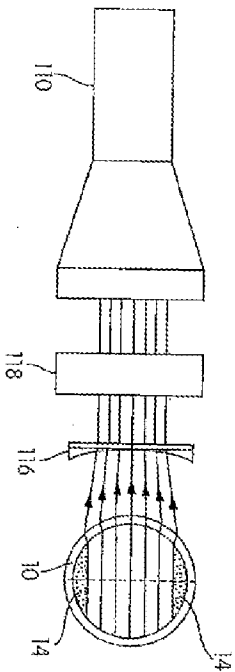


FIG. 5D

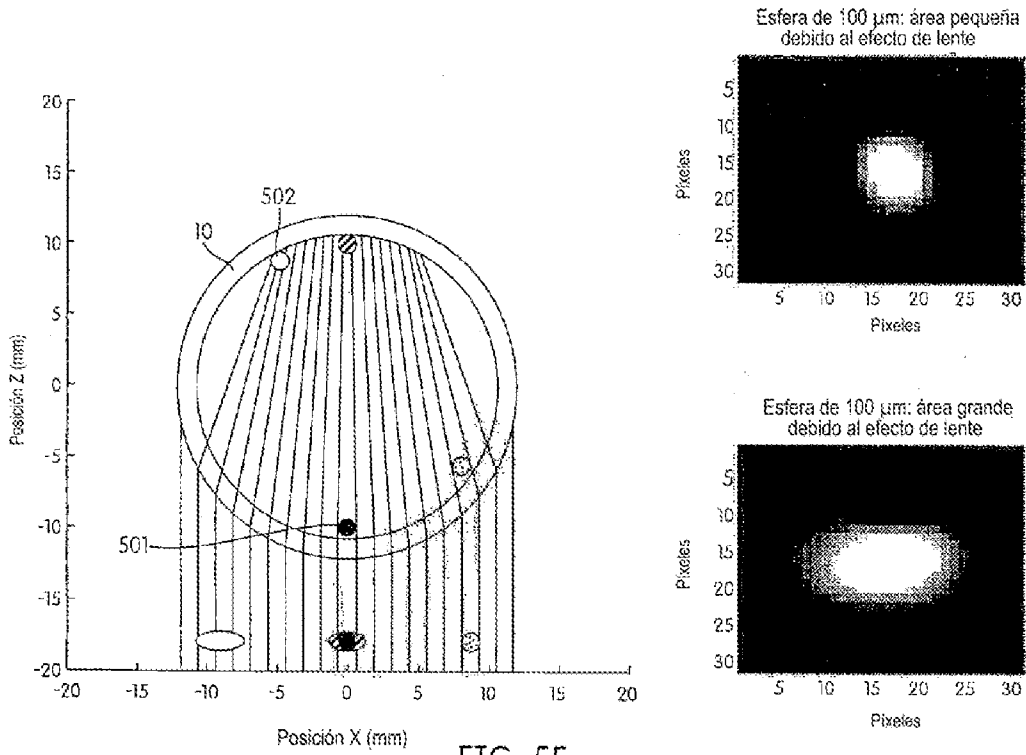


FIG. 5E

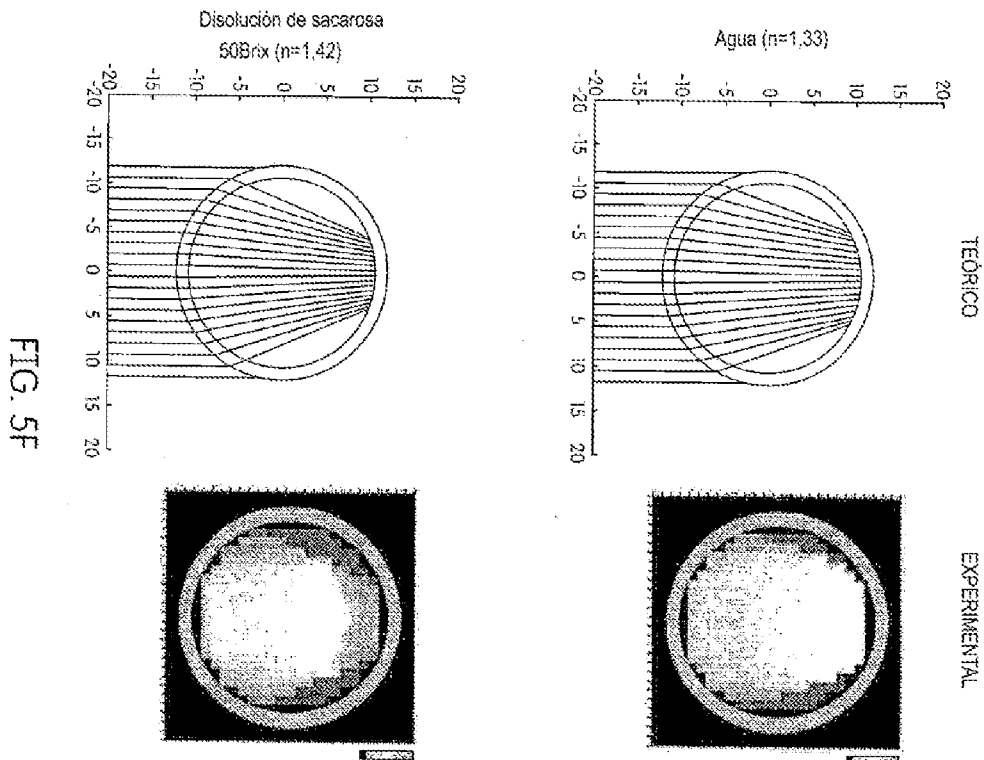
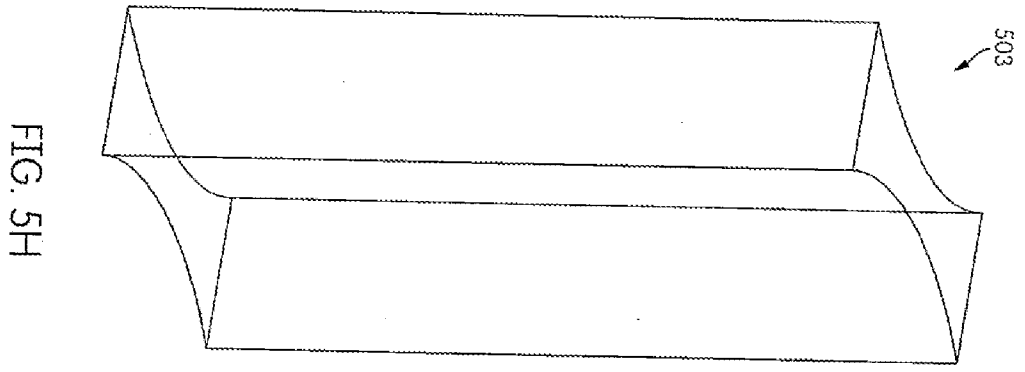
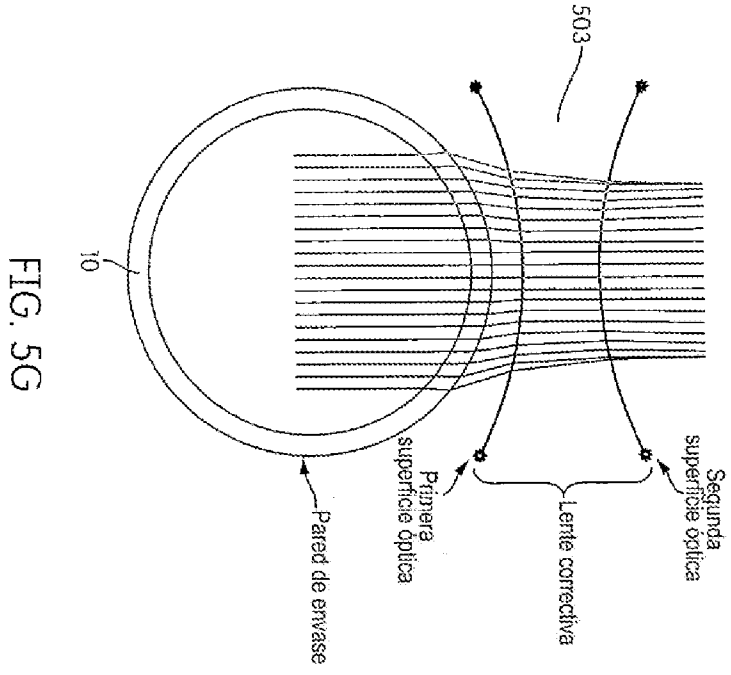


FIG. 5F



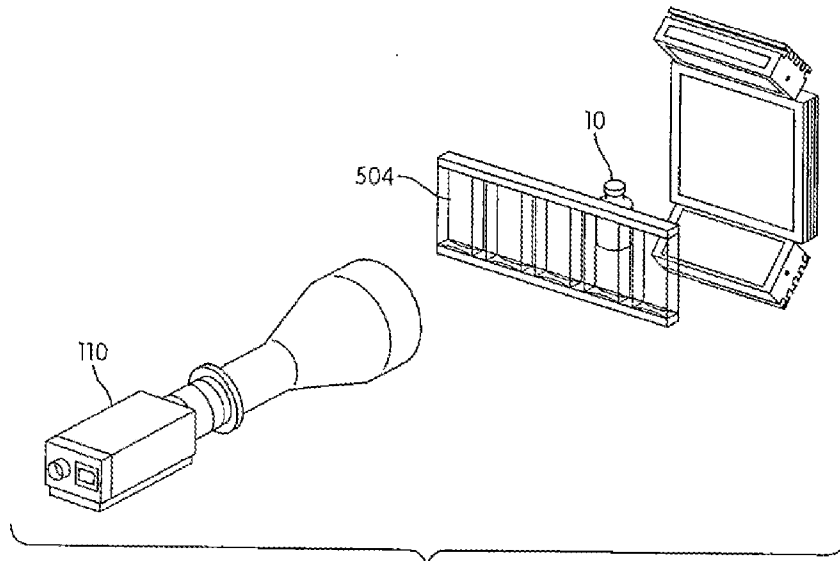


FIG. 5I

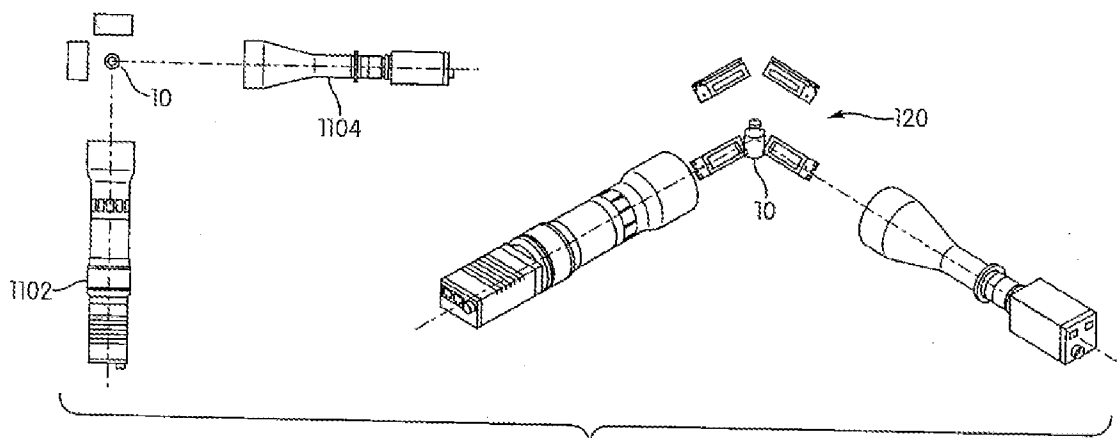
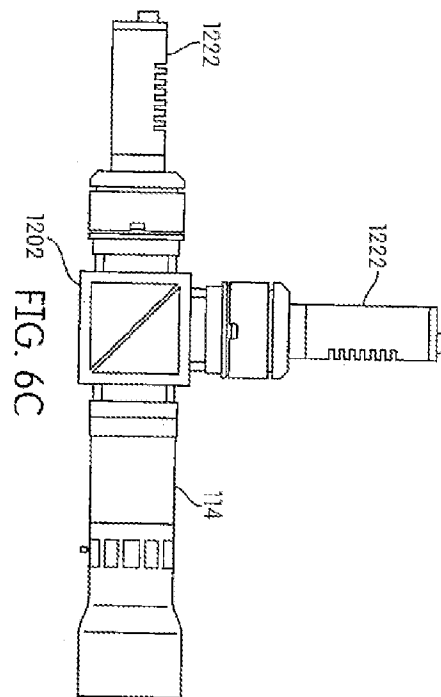
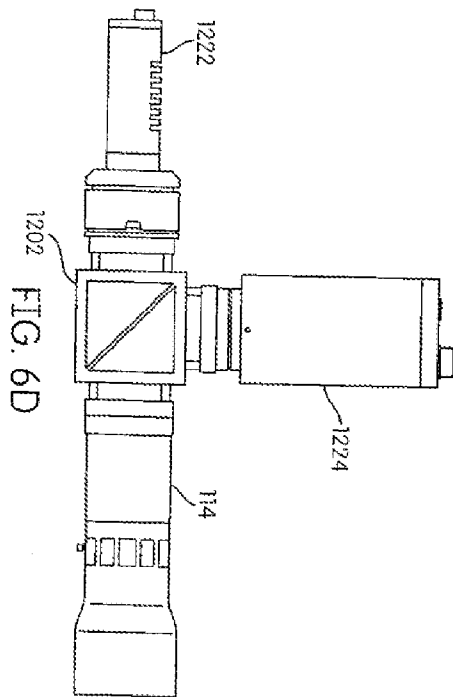
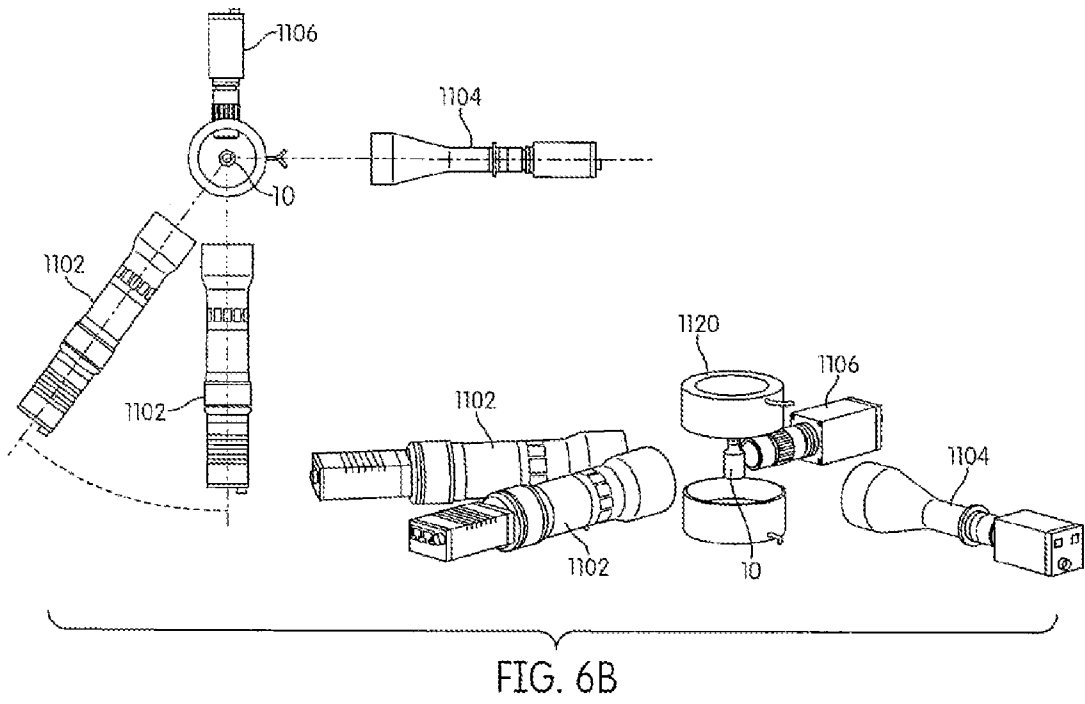


FIG. 6A



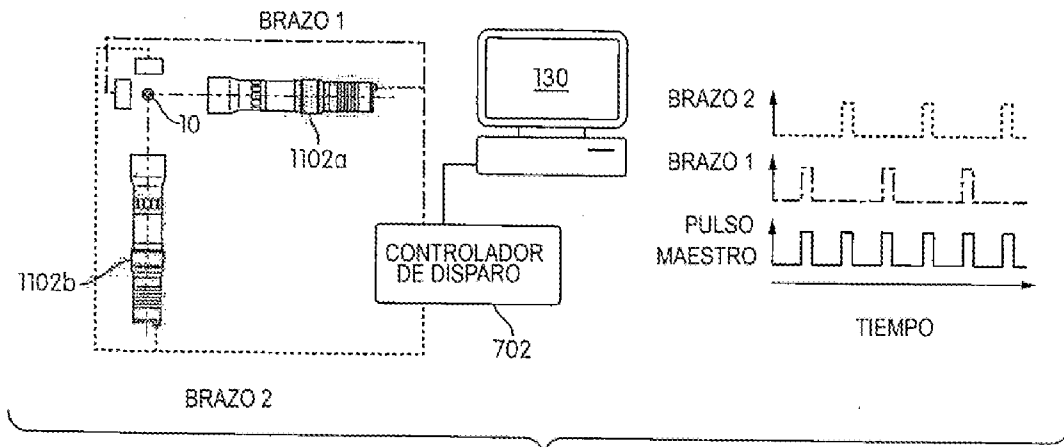


FIG. 7A

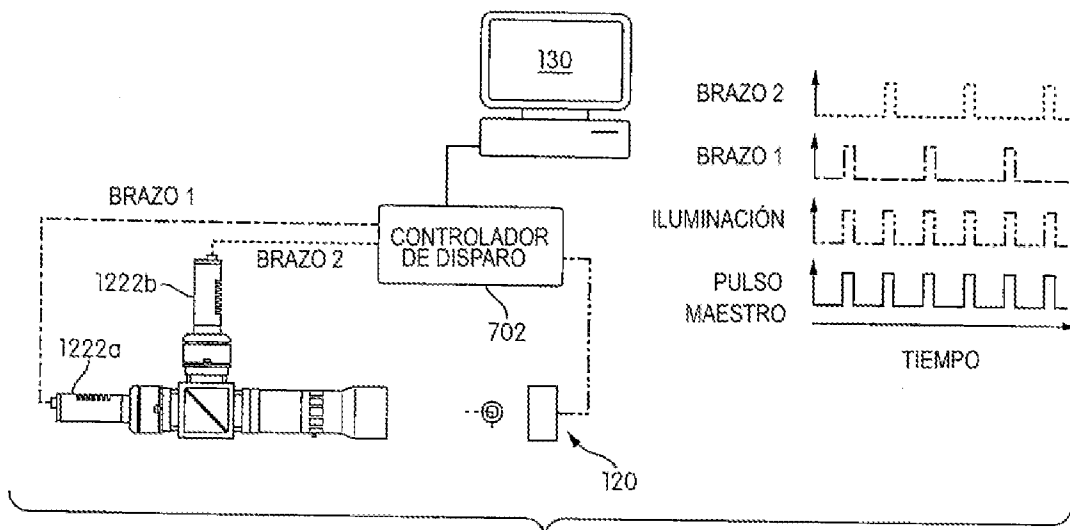
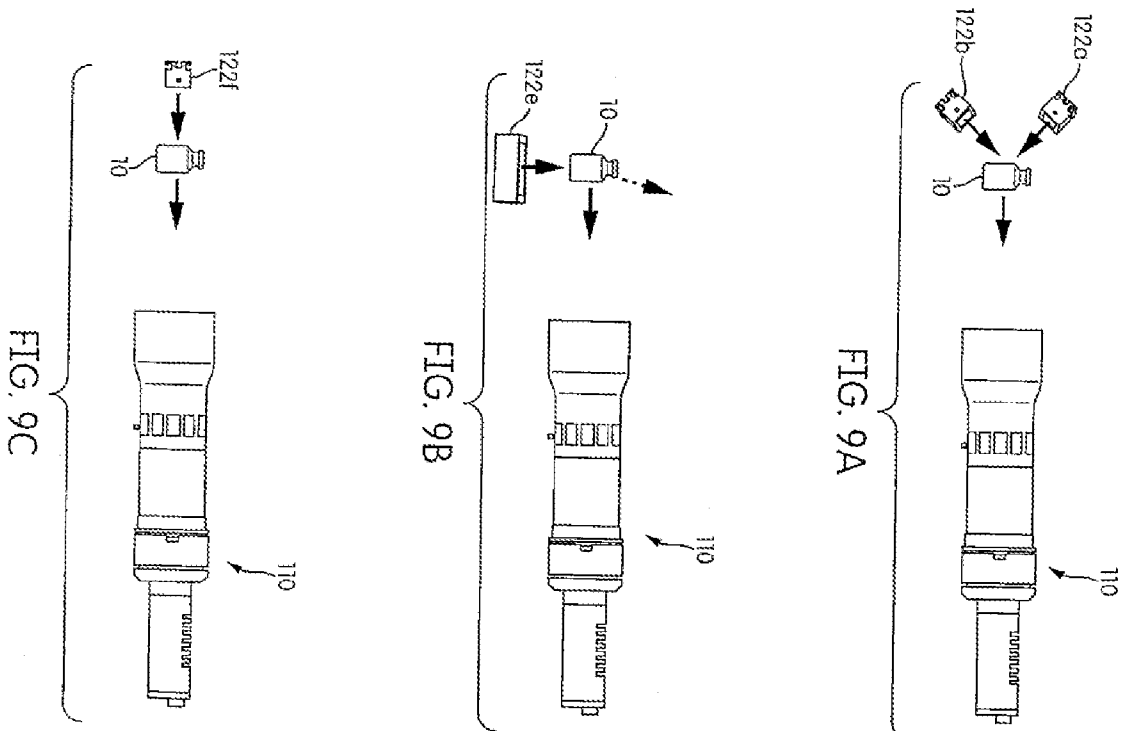
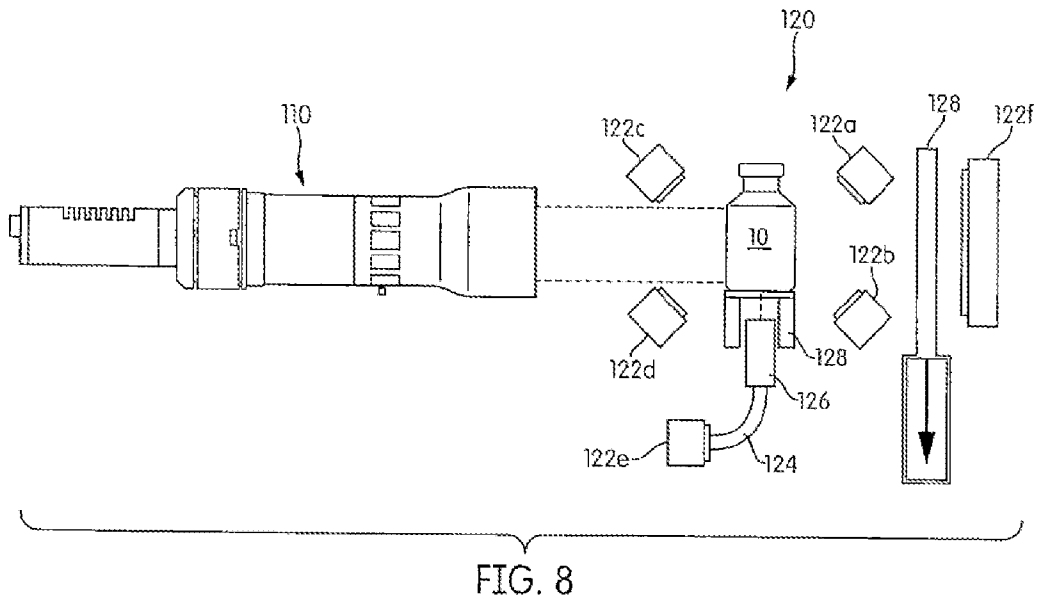


FIG. 7B



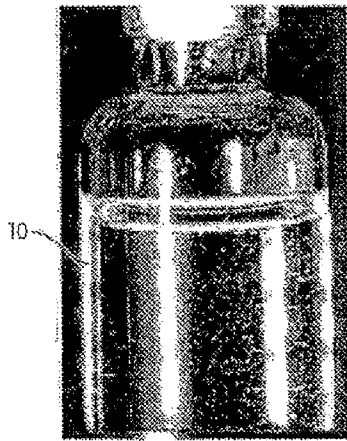
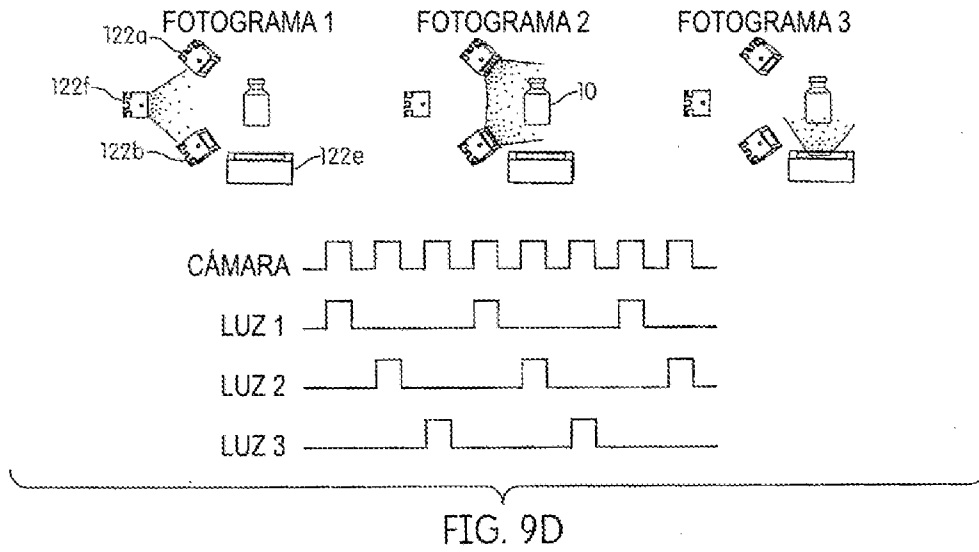
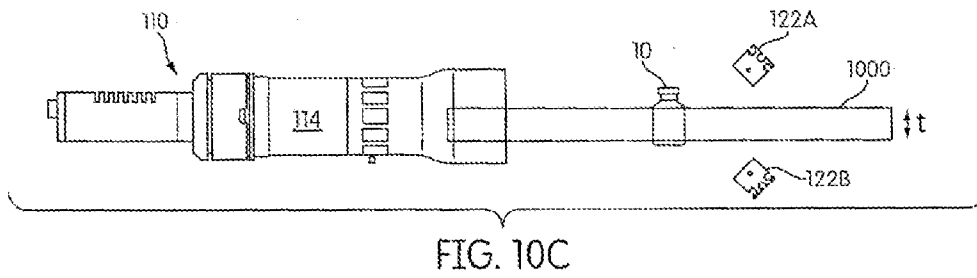
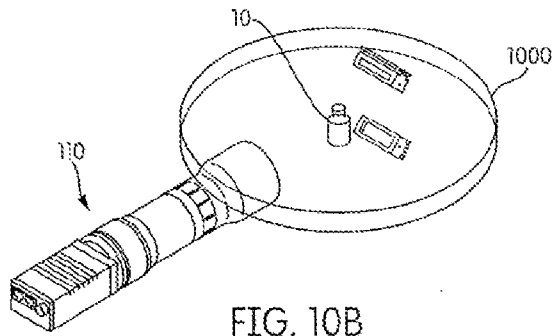


FIG. 10A



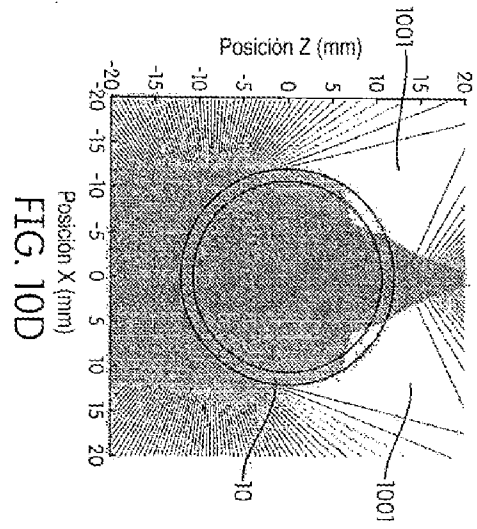


FIG. 10D

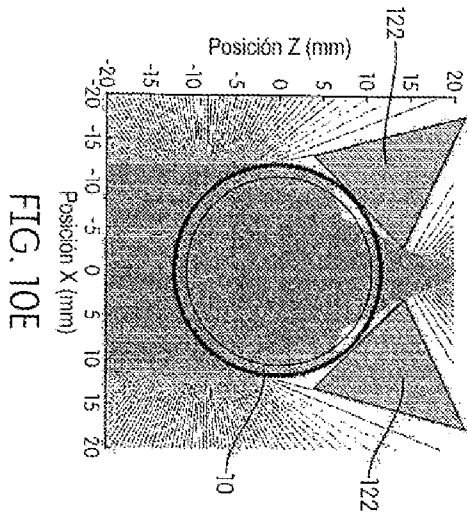


FIG. 10E

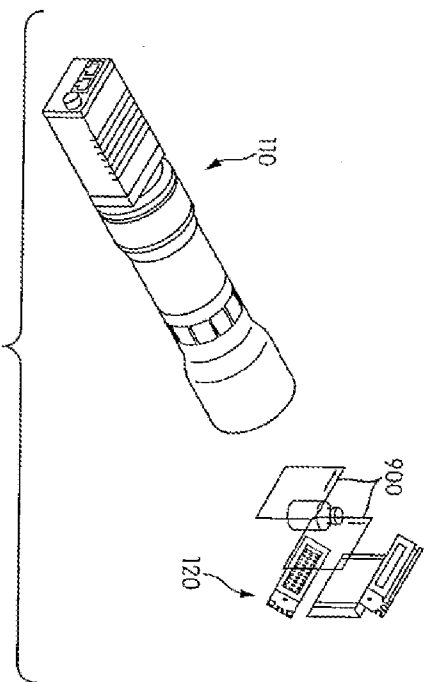


FIG. 11

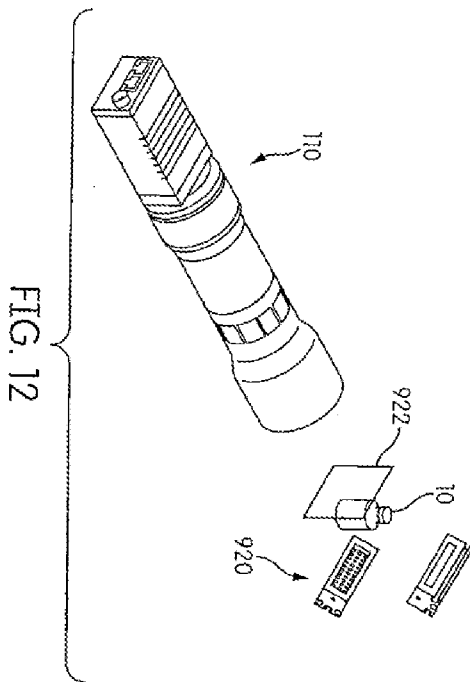


FIG. 12

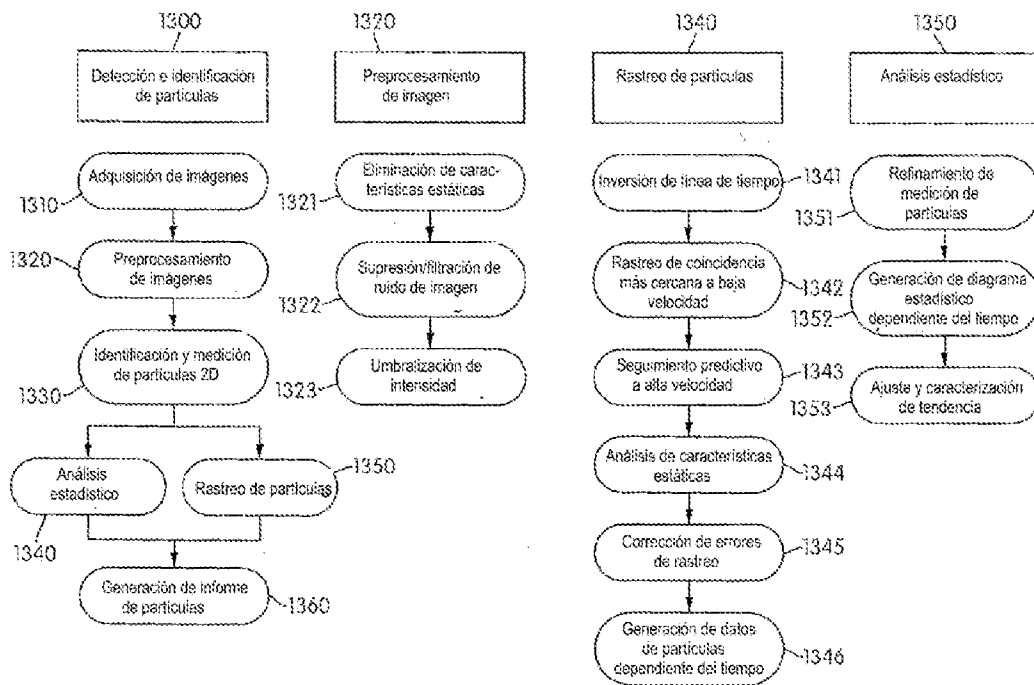
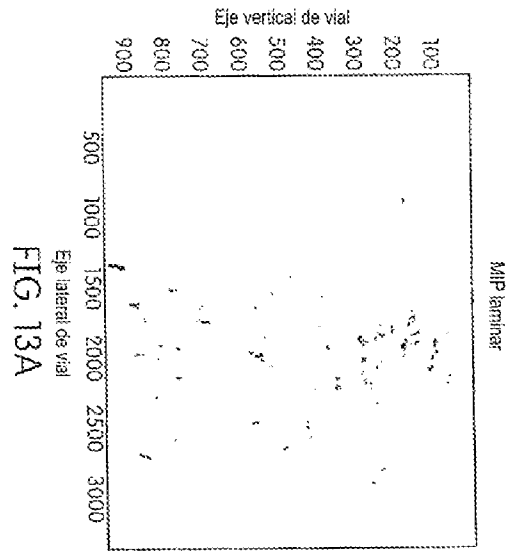
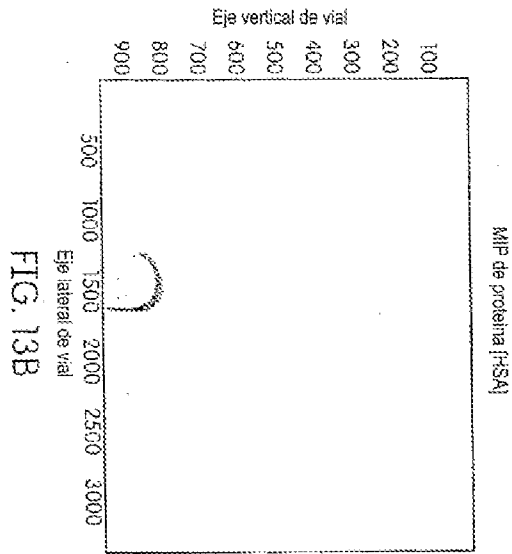


FIG. 14

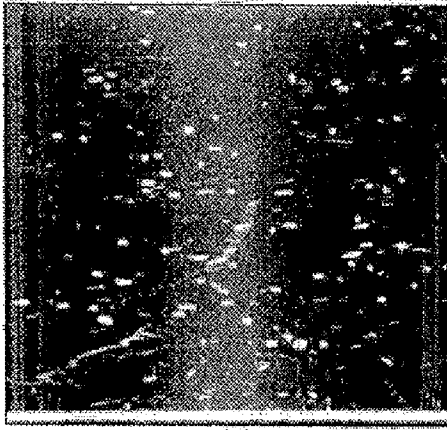


FIG. 15A

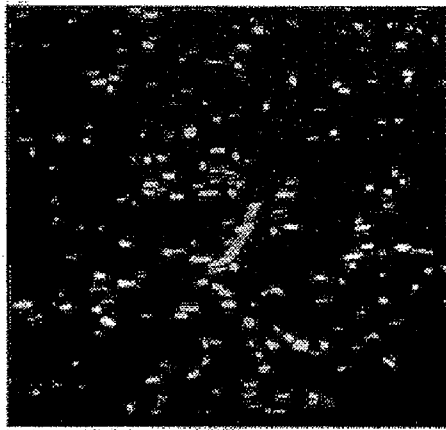
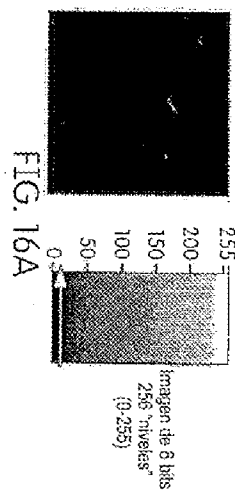
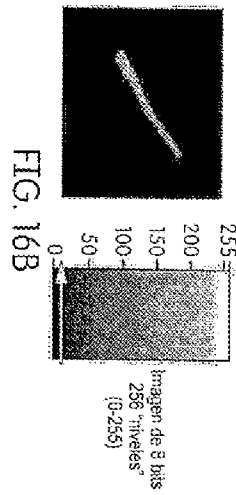
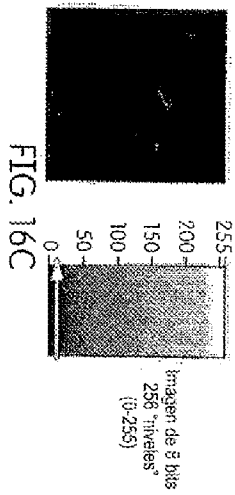
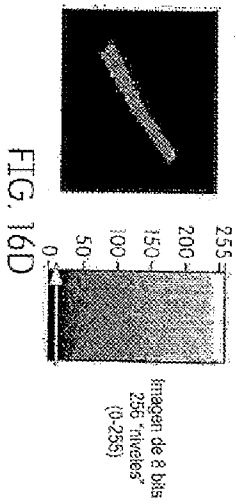


FIG. 15B



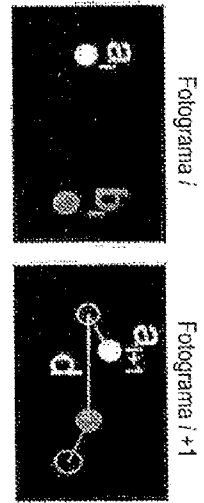


FIG. 17A

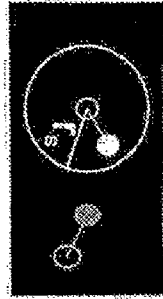
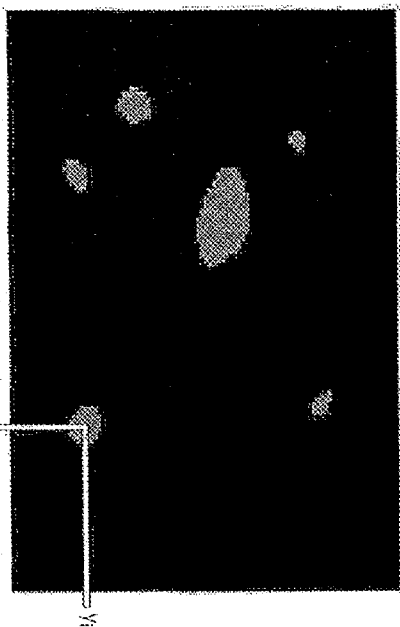
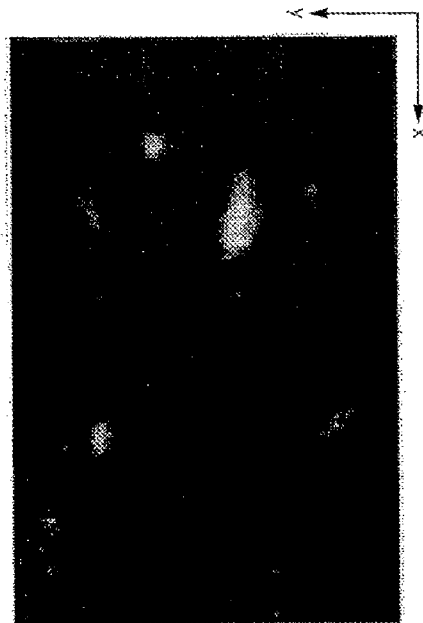
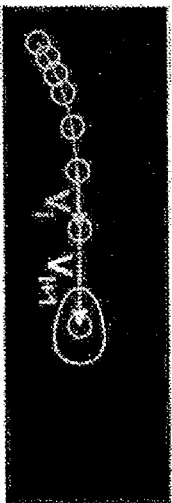
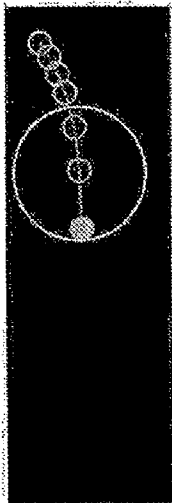
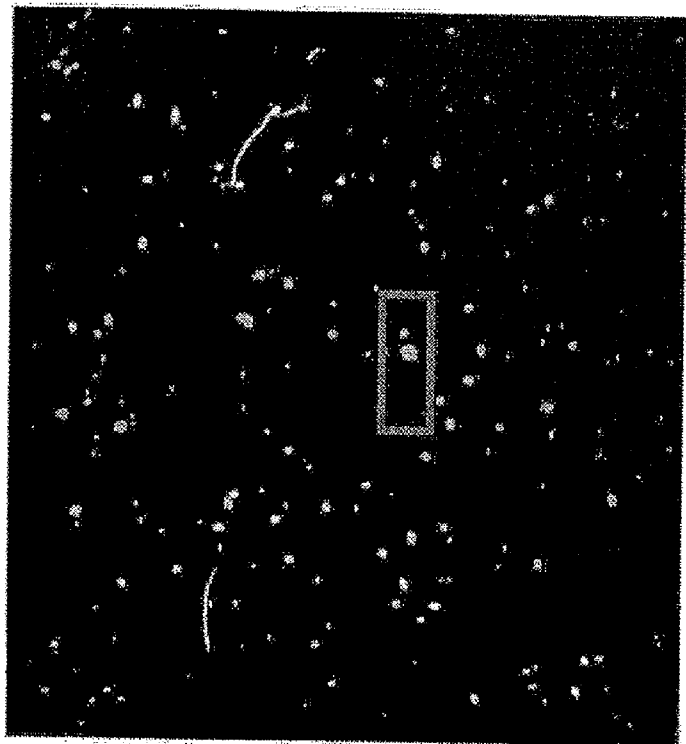
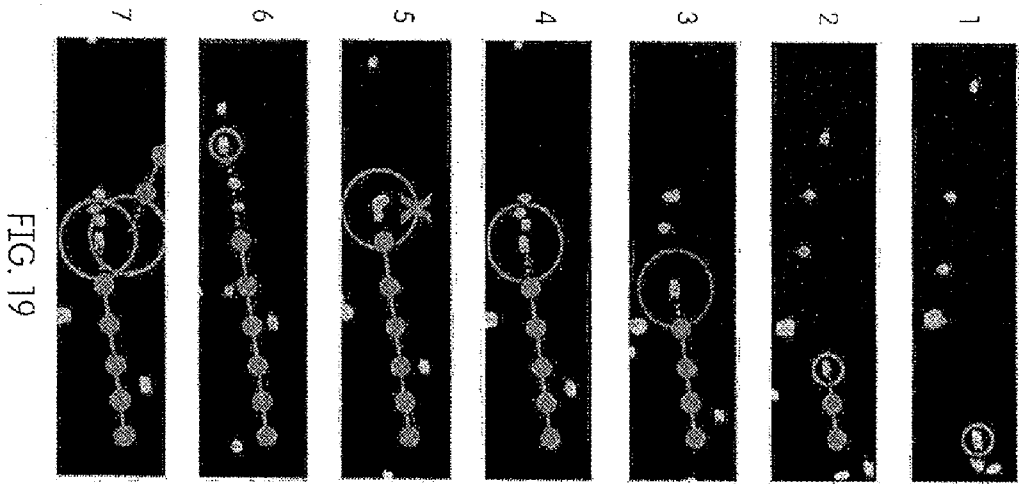


FIG. 17B





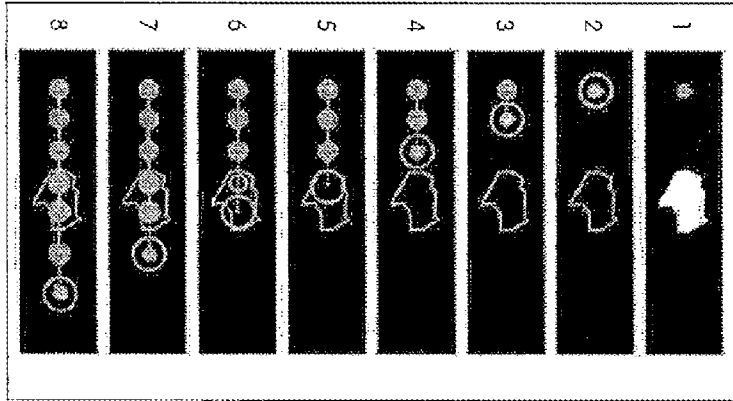


FIG. 21A

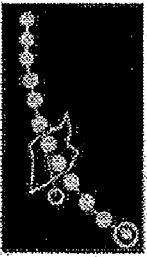


FIG. 21B



FIG. 21C

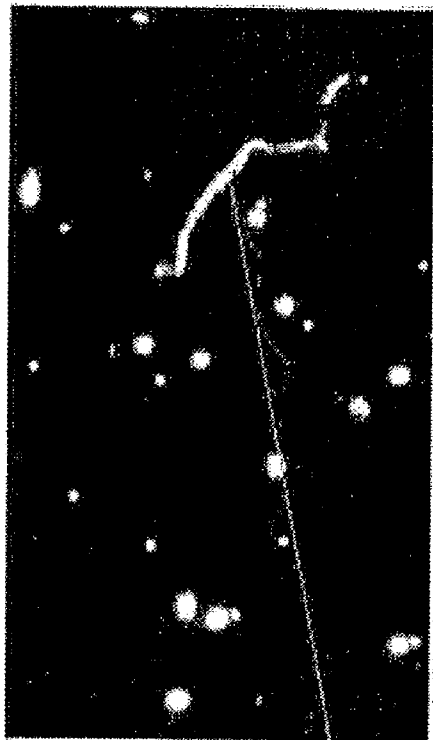


FIG. 22A



FIG. 22B

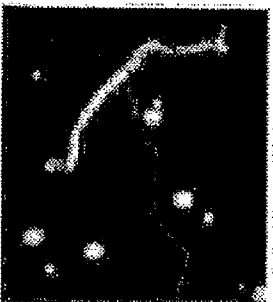


FIG. 22C

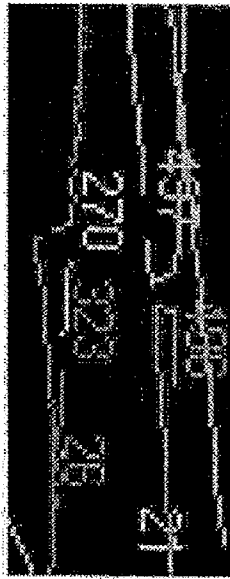


FIG. 24A

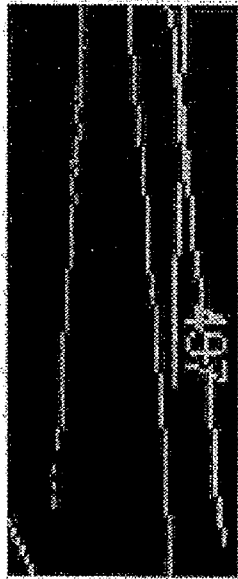


FIG. 24B

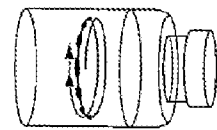


FIG. 25A

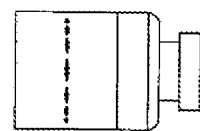


FIG. 25B



FIG. 25C

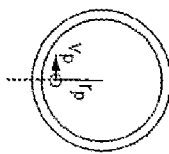


FIG. 25D

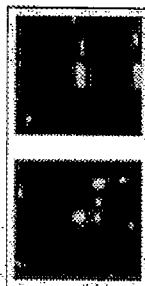


FIG. 25E

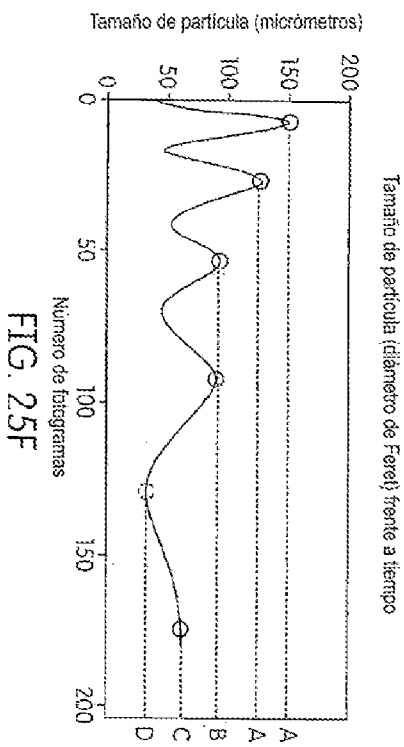


FIG. 25F

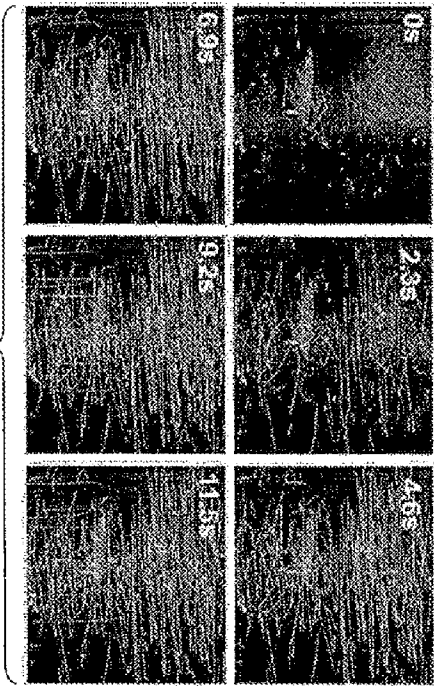


FIG. 26A

Δ	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Posición y Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar	Posición y 10 Partículas Estándar
2	397.838	4.5	3131	0	44	6	1.55	5.918	2.5	170.662	5.385
3	400.825	4.375	3131	0	45	8	1.595	5.127	1.667	172.72	5.385
4	403.815	4.5	3131	0	46	8	1.553	6.472	2	162.64	6.708
5	414.846	4.385	3131	0	47	13	1.528	6.184	2.233	171.255	7.28
6	421	4.109	3131	0	48	14	1.547	5.078	1.75	172.355	7.071
7	426.077	4.368	3131	0	49	28	1.593	4.81	2	172.61	8.544
8	430.885	4.62	3131	0	50	76	1.598	5.054	2.25	172.61	8.222
9	435.929	4.731	3131	0	51	28	1.592	5.107	2.5	174.795	10.198
10	441.833	4.1	3131	0	52	30	1.499	4.567	2.5	175.983	10.44
11	445.988	3.971	3131	0	53	31	1.583	4.765	2	173.914	10.105
12	450.353	4.029	3131	0	54	34	1.507	4.485	2	172.875	10.198
13	454.895	3.743	3131	0	55	35	1.581	4.886	2	171.023	10.77

FIG. 26B



FIG. 27A

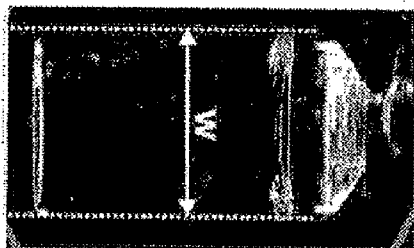


FIG. 27B



FIG. 27C



FIG. 27D

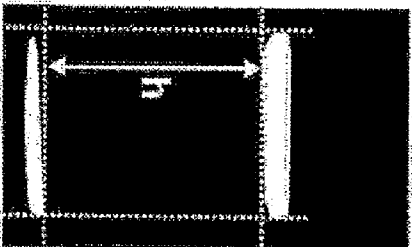


FIG. 27E



FIG. 27F

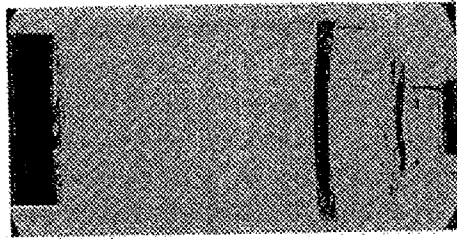


FIG. 28A

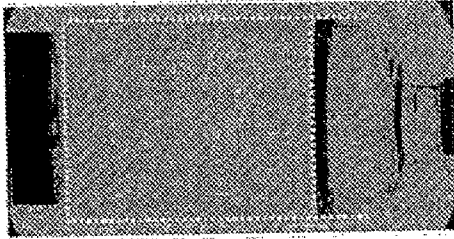


FIG. 28B

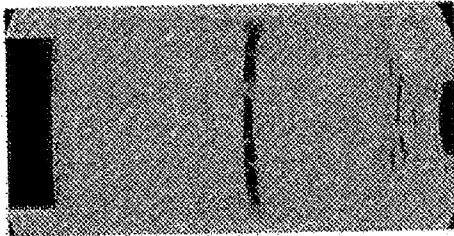


FIG. 28C

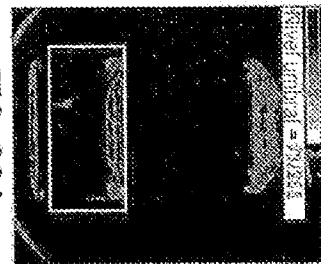


FIG. 29A

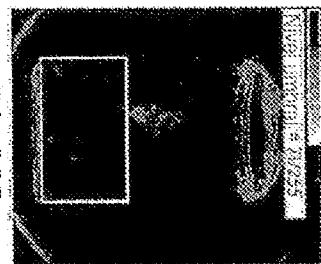
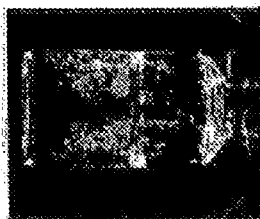


FIG. 29B



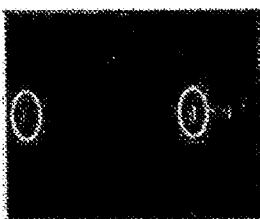
DESPUES
FIG. 29C



ANTES



VIAL VACIO
FIG. 29D



VIAL LLENO

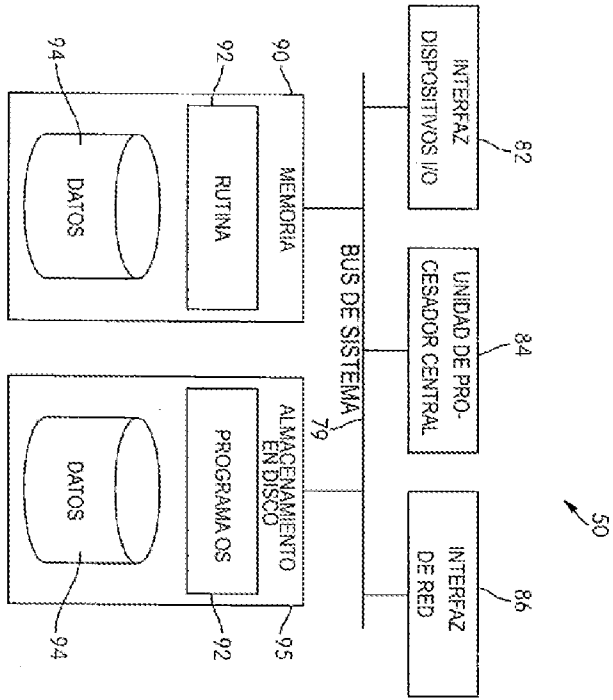


FIG. 30



FIG. 31A



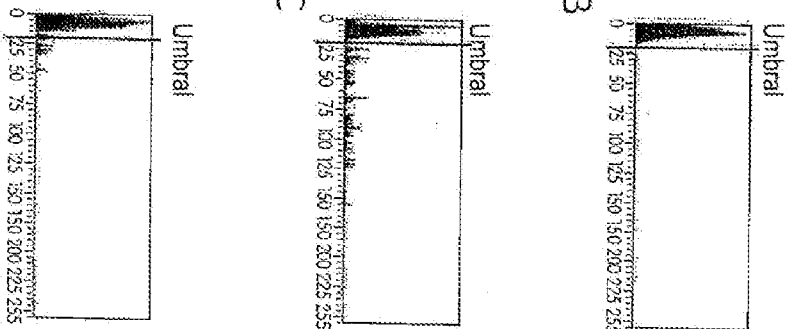
FIG. 31B

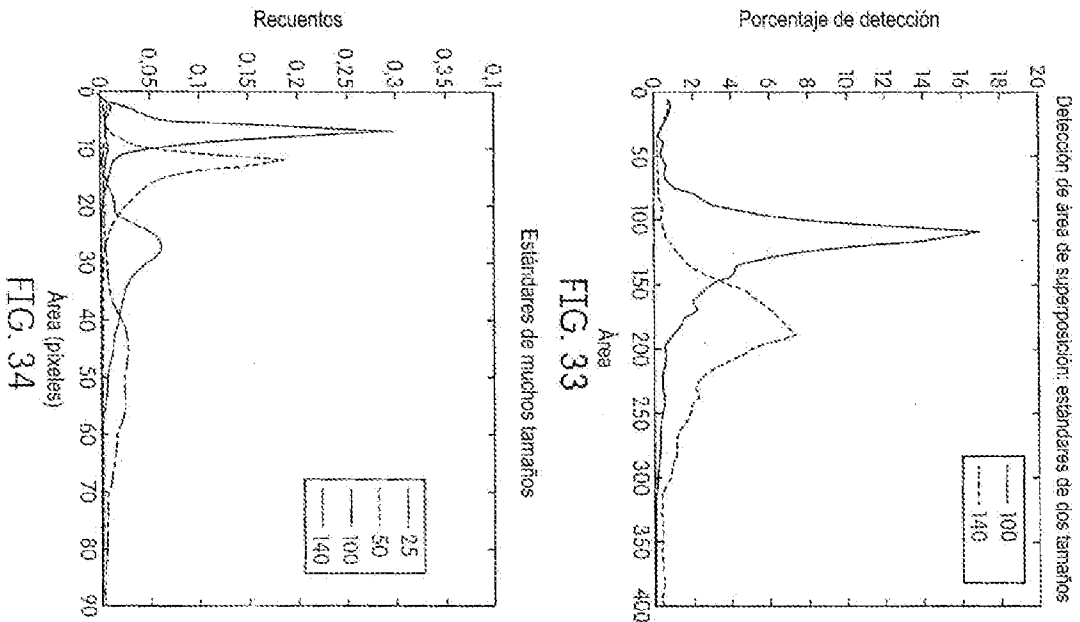
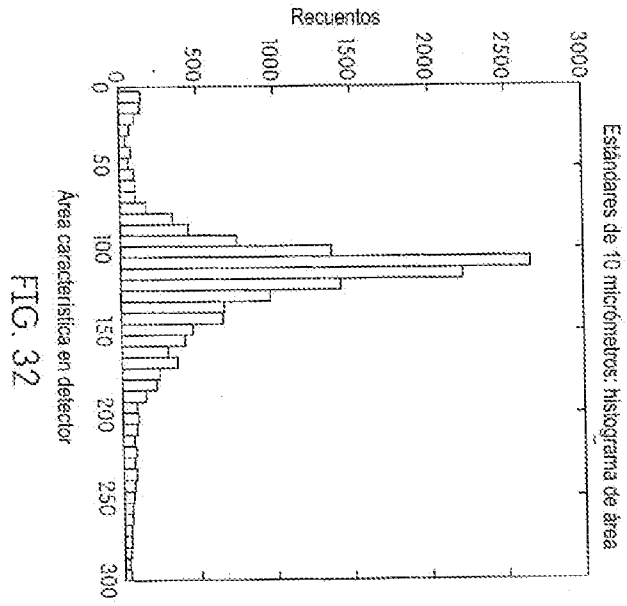


FIG. 31C



FIG. 31D





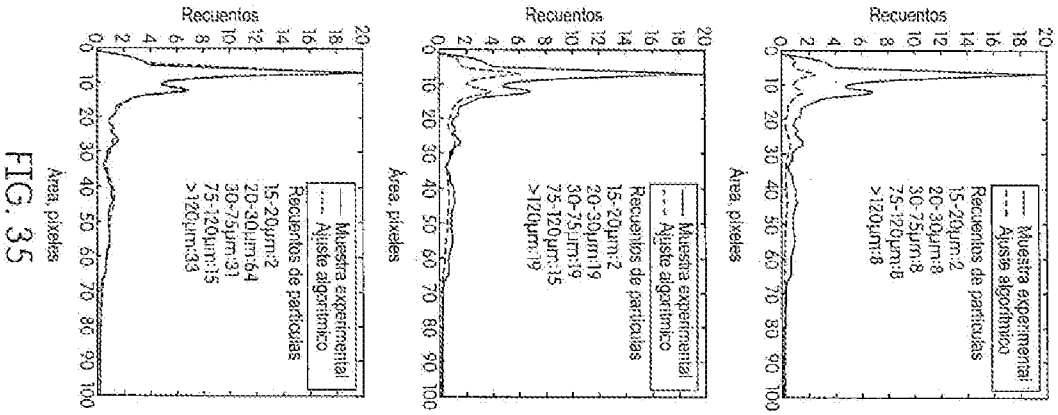


FIG. 35

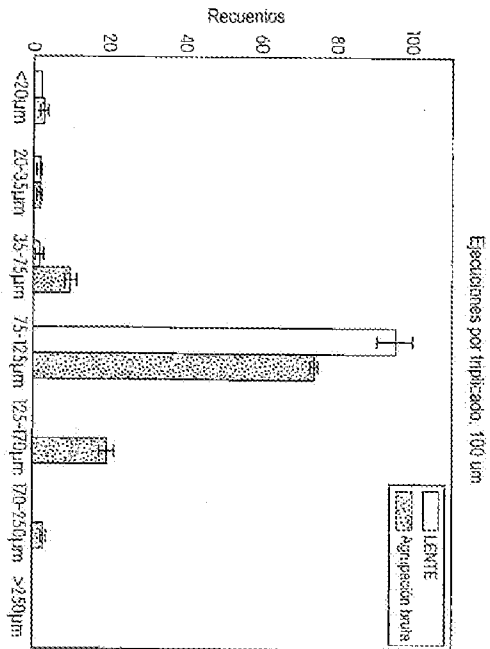


FIG. 36

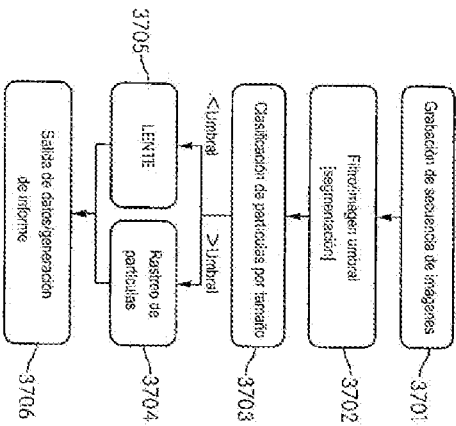
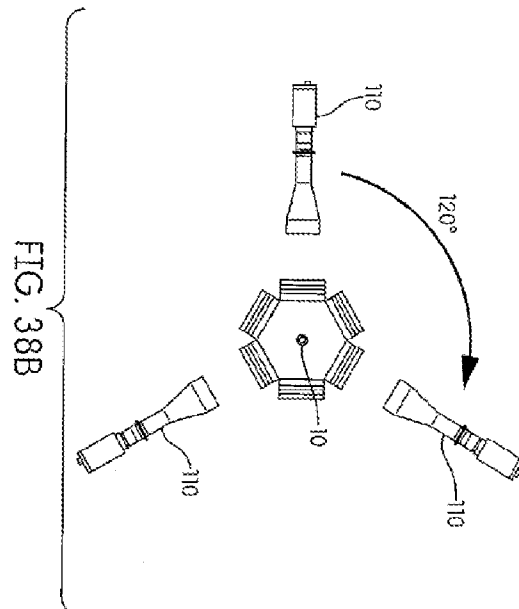
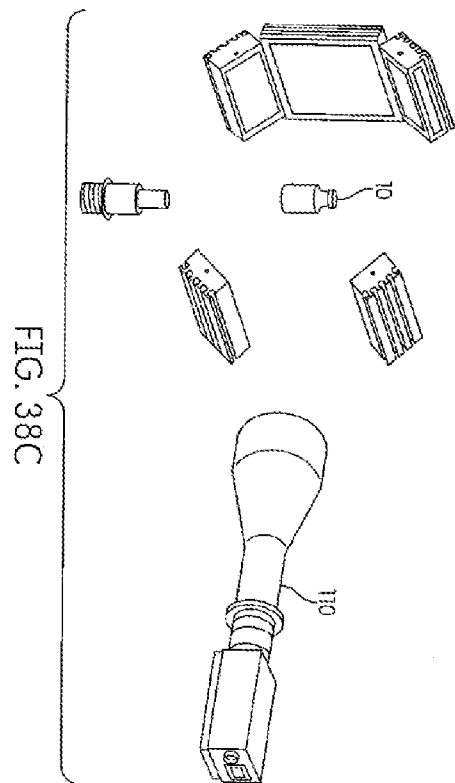
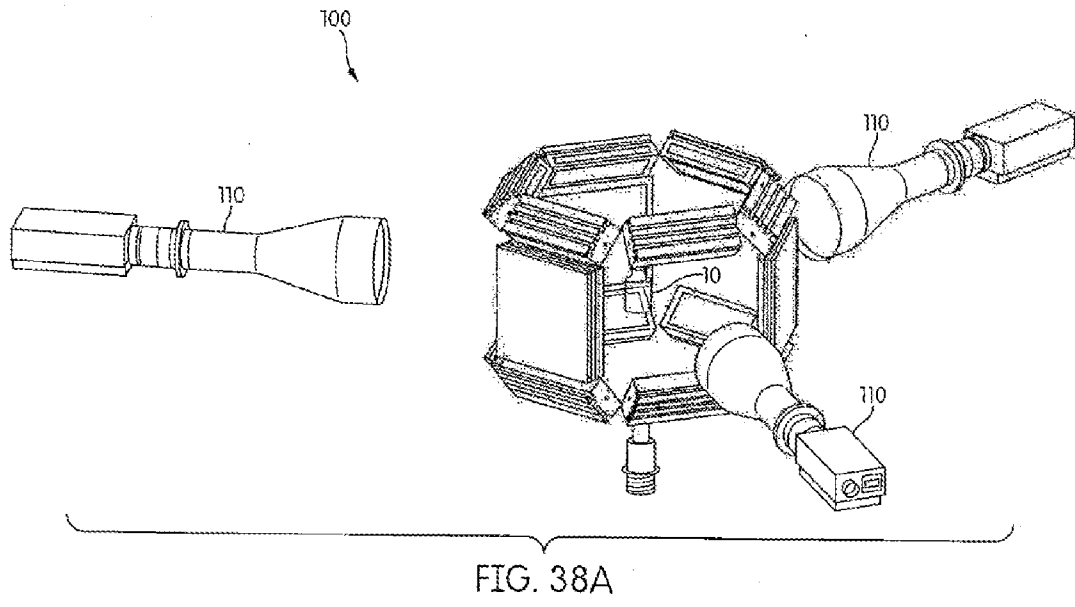


FIG. 37



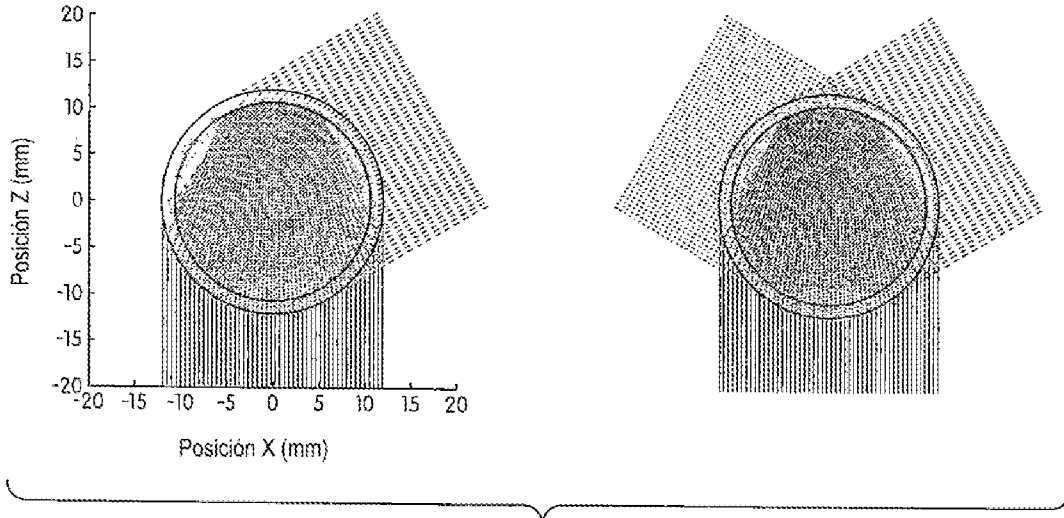


FIG. 39

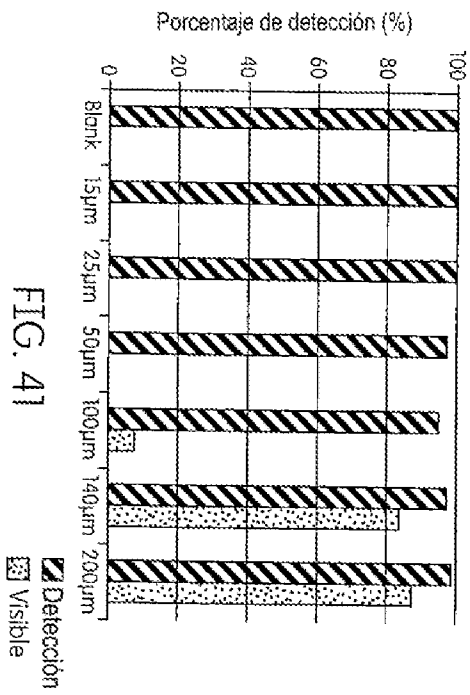


FIG. 41

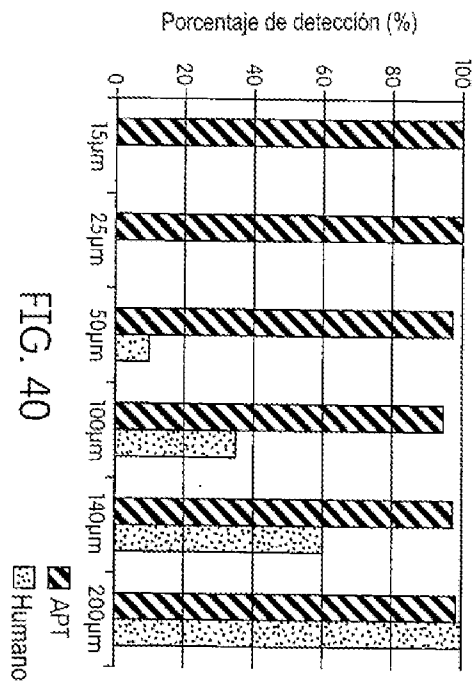


FIG. 40

Tamaño (µm)	Rv2
15	0,995
50	0,993
100	0,995
140	0,957
200	0,985

FIG. 42

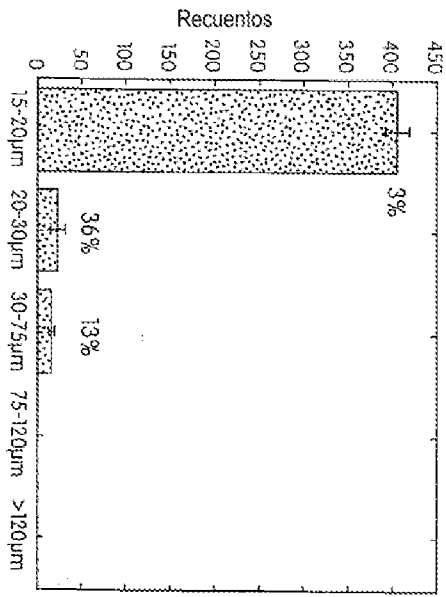


FIG. 43

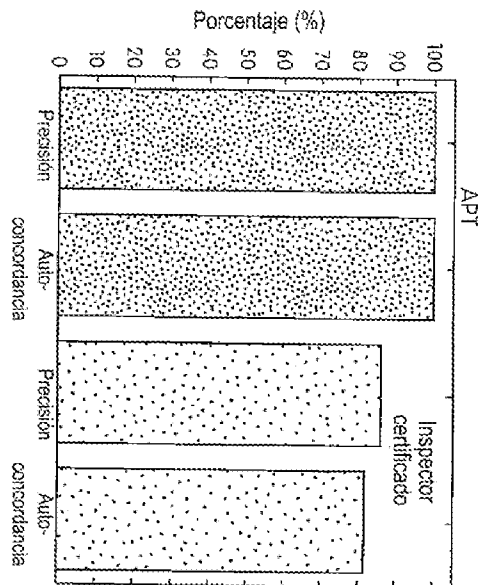


FIG. 44

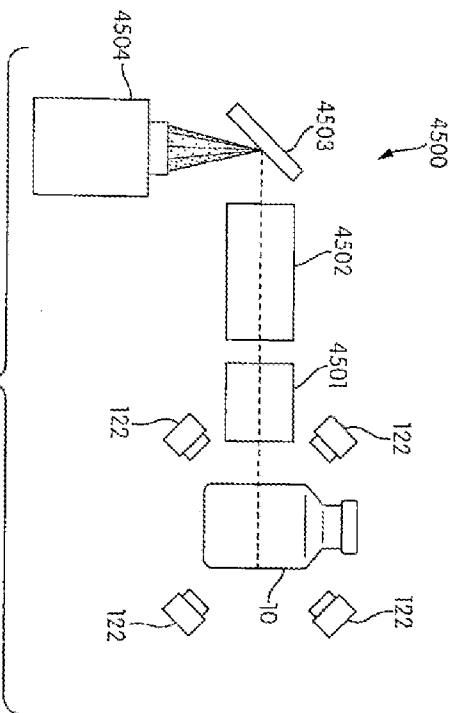


FIG. 45