

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 723**

51 Int. Cl.:

**G06T 7/00**

(2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.11.2019 PCT/US2019/063175**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.06.2020 WO20112722**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2019 E 19824077 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2023 EP 3884463**

54 Título: **Sistemas y procedimientos para detectar el efecto citopático en células**

30 Prioridad:

**30.11.2018 US 201862774160 P**

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

**24.06.2024**

73 Titular/es:

**AMGEN INC. (100.0%)  
One Amgen Center Drive  
Thousand Oaks CA 91320, US**

72 Inventor/es:

**YUAN, YU;  
WANG, TONY, Y. y  
SIMONS, JORDAN, P.**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 973 723 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

Sistemas y procedimientos para detectar el efecto citopático en células

5 **SECTOR DE LA INVENCION**

La presente solicitud se refiere en general a técnicas de detección viral y, más específicamente, a técnicas para detectar el efecto citopático (ECP) en células.

10 **ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR**

15 Cuando un virus infecta una célula huésped, la célula huésped puede sufrir cambios estructurales/morfológicos denominados "efecto citopático" o ECP. En algunas aplicaciones (por ejemplo, al realizar procedimientos de control de calidad en relación con determinados fármacos comerciales, o con fines de investigación y desarrollo), es necesario inspeccionar las muestras de cultivo celular para detectar la presencia de ECP. Por ejemplo, la potencia de las reservas de virus se mide habitualmente mediante ensayos de valoración, que son procedimientos clásicos basados en cultivos celulares que se basan en observaciones visuales de la citopatología inducida por el virus. Una técnica comúnmente utilizada para cuantificar la cantidad de un virus infeccioso es el ensayo de "dosis de infección para cultivo tisular 50 %" o TCID<sub>50</sub>. Los ensayos TCID<sub>50</sub> son ensayos de dilución de punto final que cuantifican la cantidad de virus necesaria para producir ECP en el 50 % de las células de cultivo tisular inoculadas. Los ensayos TCID<sub>50</sub> pueden utilizarse para estudios de eliminación viral (por ejemplo, para determinar la capacidad de un proceso de purificación concreto para eliminar o inactivar un virus), por ejemplo.

25 Convencionalmente, los CPE son detectados manualmente por analistas humanos que inspeccionan las imágenes de los pocillos. Para un ensayo TCID<sub>50</sub>, por ejemplo, un analista humano puede tener que inspeccionar varias imágenes de pocillos que corresponden cada una a un nivel de dilución diferente. La inspección visual manual es un proceso que requiere mucho tiempo, ya que el analista debe inspeccionar cuidadosamente cada imagen para detectar cualquier indicio de ECP. Además, la tarea es complicada —y la precisión de las clasificaciones de ECP o no ECP puede verse afectada— debido al hecho de que diferentes líneas celulares (por ejemplo, las líneas celulares L929, PG4, Vero y 324K) pueden tener diferentes morfologías cuando presentan ECP, así como al hecho de que diferentes virus pueden inducir diferentes efectos citopáticos en las células huésped de una misma línea celular. Los diferentes efectos citopáticos pueden incluir elongación, cuerpos de inclusión, formación de focos, formación de sincitios y/o lisis celular, por ejemplo.

35 La Patente WO 2017/218202 se refiere a la obtención de imágenes de placas de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y a la aplicación de técnicas de aprendizaje profundo. Se obtiene una imagen de un cultivo celular en un sustrato, y la imagen de la placa de pocillos se divide en zonas no superpuestas ("recortes"). Una red neuronal convolucional (CNN) proporciona la probabilidad de inhibición para cada recorte basándose en las características morfológicas conocidas de las células inhibidas, es decir, una probabilidad de ECP para cada recorte. Por último, se estiman la probabilidad media de inhibición de la imagen, la probabilidad mediana de inhibición de la imagen y la proporción de recortes con una probabilidad de inhibición superior a 0,5 para toda la imagen de la placa, es decir, un *estado de ECP de las células contenidas en el pocillo*.

45 **CARACTERÍSTICAS**

Las realizaciones descritas en el presente documento se refieren a sistemas y procedimientos que mejoran las técnicas convencionales de inspección visual utilizadas para la detección de ECP. En particular, un sistema de inspección visual captura al menos una imagen digital de cada pocillo dentro de una placa de pocillos, conteniendo cada pocillo un número de células en un medio (y posiblemente virus, por ejemplo, según una dilución controlada). Tal como se utiliza en el presente documento, "pocillo" se refiere a cualquier medio de cultivo celular a escala de laboratorio que permita la inspección óptica de su contenido. Aunque los pocillos de las placas de pocillos múltiples se describen a modo de ejemplo en el presente documento, se entenderá que siempre que se mencionen "pocillo" y "placa de pocillos", a menos que se indique lo contrario, estos términos pretenden abarcar cualquier entorno adecuado de cultivo celular a escala de laboratorio que permita la inspección óptica de su contenido. Cada imagen de pocillo se preprocesa dividiendo la imagen en una serie de segmentos, o "subimágenes", que corresponden (es decir, representan) cada una a una parte diferente del pocillo. La imagen del pocillo también puede preprocesarse de otras formas, tal como eliminando partes de la imagen que representan zonas fuera del pocillo.

60 Para una determinada imagen de pocillo, cada subimagen se analiza utilizando una red neuronal convolucional (CNN), con el fin de determinar una puntuación para esa subimagen. La CNN puede ser específica para la línea celular del pocillo que se está inspeccionando (por ejemplo, la línea celular L929, PG4, Vero o 324K). La puntuación de cada subimagen es indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP. Por ejemplo, cada puntuación puede ser una probabilidad superior a 0,00000 e inferior a 1,00000. En conjunto, las puntuaciones para las distintas subimágenes pueden utilizarse para determinar (por ejemplo, predecir) el estado de ECP de las células representadas en la imagen del pocillo entero. Por ejemplo, las puntuaciones de las subimágenes se pueden utilizar para determinar, de forma binaria, si el contenido de la imagen del pocillo, en

su conjunto, presenta ECP. En una de realización de este tipo, las puntuaciones de las subimágenes se introducen en una máquina de vectores de soporte (SVM) que clasifica el contenido representado en la imagen del pocillo como "ECP" o "no ECP" (u otra clasificación binaria similar). En otras realizaciones, el estado de ECP no es binario. Por ejemplo, las puntuaciones de las subimágenes pueden utilizarse para determinar una probabilidad de que el contenido de la imagen del pocillo, en su conjunto, presente ECP, tal como una probabilidad igual o inferior a un umbral especificado, por ejemplo, no más de un 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 5 %, 3 %, 2 %, 1 % o 0,1 % de probabilidad de que el contenido de la imagen del pocillo, en su conjunto, presente ECP. Opcionalmente, puede determinarse que un pocillo es "no CPR" o que tiene una probabilidad de que el contenido de la imagen del pocillo, en su conjunto, presente ECP por debajo del umbral especificado, puede seleccionarse para cultivo celular adicional. Por ejemplo, una célula del pocillo (como célula única, o compuesta por una porción del contenido del pocillo) puede transferirse a un nuevo entorno de cultivo, y cultivarse en el nuevo entorno de cultivo. Se puede encontrar información sobre el cultivo celular, por ejemplo, en Green y Sambrook, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (4ª edición) Cold Spring Harbor Laboratory Press 2012.

En algunas realizaciones, el estado de ECP puede determinarse en cada una de una serie de etapas de dilución seriada (por ejemplo, para un ensayo TCID<sub>50</sub>). Dependiendo de la aplicación, el estado de ECP (por ejemplo, clasificación), o los estados de ECP en diferentes etapas de dilución seriada, pueden utilizarse de diferentes maneras. Por ejemplo, una interfaz gráfica de usuario (GUI) puede presentar el estado o estados de ECP a un usuario humano. Como otro ejemplo, el estado o estados de ECP pueden proporcionarse a otra aplicación de software o sistema informático, por ejemplo, con el fin de recopilar estadísticas a través de muchos pocillos y/o placas de pocillos. Los estados de ECP, y/o las estadísticas que tienen en cuenta los estados de ECP de un número de pocillos o placas de pocillos, pueden utilizarse para determinar la capacidad de un proceso de purificación para eliminar o inactivar un virus, por ejemplo (por ejemplo, para un procedimiento de control de calidad durante la fabricación de un fármaco, o para fines de investigación y desarrollo, etc.), o para cualquier otro fin adecuado.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

El experto en la materia comprenderá que las figuras, descritas en el presente documento, se incluyen a título ilustrativo y no limitan la presente divulgación. Los dibujos no están necesariamente a escala, y se hace hincapié, en cambio, en ilustrar los principios de la presente divulgación. Se debe entender que, en algunos casos, diversos aspectos de las implementaciones descritas se pueden mostrar exagerados o ampliados para facilitar la comprensión de las implementaciones descritas. En los dibujos, los caracteres de referencia similares a lo largo de los diversos dibujos se refieren generalmente a componentes funcionalmente similares y/o estructuralmente similares.

La figura 1 es un diagrama de bloques simplificado de un sistema de ejemplo que puede implementar las técnicas descritas en el presente documento.

La figura 2 muestra un sistema de inspección visual de ejemplo que puede ser utilizado en el sistema descrito en el presente documento, tal como el sistema de la figura 1.

La figura 3 muestra imágenes de ejemplo de varias muestras de pocillos de diferentes líneas celulares, con y sin ECP.

La figura 4 muestra un ejemplo de una imagen de pocillo dividida.

La figura 5 es un diagrama de flujo de un procedimiento de ejemplo para detectar el efecto citopático (ECP) en una muestra de pocillo.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los diversos conceptos introducidos anteriormente y analizados en mayor detalle a continuación pueden ser implementados en cualquiera de numerosas maneras, y los conceptos descritos no se limitan a ninguna manera particular de implementación. Los ejemplos de implementaciones se proporcionan con fines ilustrativos.

La figura 1 es un diagrama de bloques simplificado de un sistema 100 de ejemplo que puede implementar las técnicas descritas en el presente documento. El sistema 100 incluye un sistema de inspección visual 102 acoplado comunicativamente a un sistema de ordenador 104. El sistema de inspección visual 102 incluye hardware (por ejemplo, una platina de placa de pocillos, una o más lentes y/o espejos, un generador de imágenes, etc.), así como firmware y/o software, que está configurado para capturar imágenes digitales de pocillos dentro de una platina de pocillos. Aunque la figura 1 muestra, y se describe principalmente en el presente documento con referencia a, una realización en la que el sistema de inspección visual 102 está controlado por el sistema informático 104, se entiende que, en otras realizaciones, el sistema de inspección visual 102 puede implementar pura (o principalmente) el control local (por ejemplo, si el sistema de inspección visual 102 incluye un producto comercial tal como el generador de imágenes CloneSelect de la firma Molecular Devices, LLC).

Una realización de ejemplo del sistema de inspección visual 102 se muestra en la figura 2. Según se observa en la figura 2, el sistema de inspección visual 102 puede incluir una platina 202 que está configurada para recibir una placa de pocillos 204 que contiene un número de pocillos (no mostrado en la figura 2). La placa de pocillos 204 puede ser de cualquier tamaño y/o forma adecuados, y tener cualquier número adecuado de pocillos dispuestos en ella (por ejemplo, 6, 24, 96, 384, 1536, etc.). Además, los pocillos pueden disponerse en cualquier patrón adecuado en la placa de pocillos 204, tal como una matriz rectangular 2:3, por ejemplo.

El sistema de inspección visual 102 incluye, además, un sistema de iluminación 208, y un generador de imágenes 210 que está configurado para adquirir imágenes. El sistema de iluminación 208 puede incluir cualquier número y/o tipo(s) adecuado(s) de fuente(s) de luz configurada(s) para generar una fuente de luz, e ilumina cada pocillo de la placa de pocillos 204 cuando dicho pocillo está posicionado en la trayectoria óptica del generador de imágenes 210. En diversas realizaciones, cada pocillo puede tener una o más porciones transparentes y/u opacas. Por ejemplo, cada uno de los pocillos puede ser totalmente transparente, o puede tener fondos transparentes con paredes laterales opacas. Cada uno de los pocillos puede ser generalmente cilíndrico, o tener cualquier otra forma adecuada (por ejemplo, un cubo, etc.).

El sistema de inspección visual 102 puede generar imágenes de cada uno de los pocillos de la placa de pocillos 204 secuencialmente. Con este fin, el sistema de inspección visual 102 puede configurarse para mover el generador de imágenes 210, y/o uno o más elementos ópticos (por ejemplo, espejos) que ajustan la trayectoria óptica del generador de imágenes 210, para alinear sucesivamente cada uno de los pocillos con la trayectoria óptica del generador de imágenes 210 para el análisis individual de pocillos. Alternativamente, el sistema de inspección visual 102 puede mover la platina 202 a lo largo de uno o más ejes (por ejemplo, x y/o y) para alinear sucesivamente los diferentes pocillos. El generador de imágenes 210, la platina 202 y/u otros componentes del sistema de inspección visual 102 pueden acoplarse a uno o más actuadores motorizados, por ejemplo. Independientemente del mecanismo utilizado para alinear los diferentes pocillos con la trayectoria óptica del generador de imágenes 210, a medida que se alinea cada pocillo, el generador de imágenes 210 adquiere una o más imágenes del pocillo iluminado.

Se entiende que la figura 2 muestra sólo una realización de ejemplo del sistema de inspección visual 102, y que otros son posibles. Por ejemplo, el sistema de inspección visual 102 puede incluir múltiples generadores de imágenes similares al generador de imágenes 210 (por ejemplo, para la generación de imágenes tridimensionales), el sistema de iluminación 208 puede configurarse, en cambio, para proporcionar retroiluminación para la placa de pocillos 204, y así sucesivamente. Además, aunque no se muestra en la figura 2, el sistema de inspección visual 102 puede incluir una o más interfaces de comunicación y procesadores para permitir la comunicación con el sistema informático 104, y/o uno o más procesadores para proporcionar control local de ciertas operaciones (por ejemplo, captura de imágenes por el generador de imágenes 210, si no está controlado por el sistema informático 104).

Refiriéndose de nuevo ahora a la figura 1, el sistema informático 104 puede, en esta realización, estar generalmente configurado para controlar/automatizar la operación del sistema de inspección visual 102, y para recibir y procesar imágenes capturadas/generadas por el sistema de inspección visual 102, como se analiza más adelante. El sistema informático 104 también está acoplado a un servidor de entrenamiento 106 a través de una red 108. La red 108 puede ser una única red de comunicación, o puede incluir múltiples redes de comunicación de uno o más tipos (por ejemplo, una o más redes de área local (LAN) cableadas y/o inalámbricas, y/o una o más redes de área amplia (WAN) cableadas y/o inalámbricas, tales como Internet). Como se analiza más adelante en el presente documento, el servidor de entrenamiento 106 está generalmente configurado para entrenar a uno o más modelos de aprendizaje automático (ML) 109, que el servidor de entrenamiento 106 envía al sistema informático 104 a través de la red 108. En diversas realizaciones, el servidor de entrenamiento 106 puede proporcionar un modelo o modelos ML 109 como un servicio de "nube" (por ejemplo, Amazon Web Services), o el servidor de entrenamiento 106 puede ser un servidor local. Alternativa o adicionalmente, el modelo o los modelos ML 109 se transfieren al sistema informático 104 mediante una técnica distinta de una descarga remota (por ejemplo, transfiriendo físicamente un dispositivo de almacenamiento portátil al sistema informático 104), en cuyo caso el sistema 100 puede no incluir la red 108. En algunas realizaciones, uno, algunos o todos los modelos ML 109 pueden ser entrenados en el sistema informático 104, y luego cargados en el servidor 106. En otras realizaciones, el sistema informático 104 realiza el entrenamiento del modelo localmente sin cargar el modelo o los modelos ML 109 al servidor de entrenamiento 106, en cuyo caso el sistema 100 puede omitir tanto la red 108 como el servidor de entrenamiento 106. Como otro ejemplo más, el sistema 100 puede incluir un entorno de computación en nube en el que el servidor de entrenamiento 106 (u otro servidor que no se muestra en la figura 1 pero que está acoplado comunicativamente al sistema informático 104 a través de la red 108) realiza la puntuación, clasificación y/u otras operaciones que se analizan a continuación en relación con el sistema informático 104. En algunas realizaciones, algunos o todos los componentes del sistema informático 104 que se muestran en la figura 1 (por ejemplo, uno, algunos o todos los módulos 120 a 126) están en cambio incluidos en el sistema de inspección visual 102, en cuyo caso el sistema de inspección visual 102 puede comunicarse directamente con el servidor de entrenamiento 106 a través de la red 108.

El sistema informático 104 puede ser un ordenador de propósito general programado específicamente para realizar las operaciones analizadas en el presente documento, o puede ser un dispositivo informático de propósito especial. Según se observa en la figura 1, el sistema informático 104 incluye una unidad de procesamiento 110, una interfaz de red 112 y una unidad de memoria 114. En algunas realizaciones, sin embargo, el sistema informático 104 incluye dos

o más ordenadores que están ubicados en el mismo lugar o remotos entre sí. En estas realizaciones distribuidas, las operaciones descritas en el presente documento relativas a la unidad de procesamiento 110, la interfaz de red 112 y/o la unidad de memoria 114 pueden dividirse entre múltiples unidades de procesamiento, interfaces de red y/o unidades de memoria, respectivamente.

5 La unidad de procesamiento 110 incluye uno o más procesadores, cada uno de los cuales puede ser un microprocesador programable que ejecuta instrucciones de software almacenadas en la memoria 114 para ejecutar algunas o todas las funciones del sistema informático 104 tal como se describe en el presente documento. La unidad de procesamiento 110 puede incluir una o más unidades de procesamiento gráfico (GPU) y/o una o más unidades  
10 centrales de procesamiento (CPU), por ejemplo. Alternativamente, o además, algunos de los procesadores en la unidad de procesamiento 110 pueden ser otros tipos de procesadores (por ejemplo, circuitos integrados de aplicación específica (ASIC), matrices de puertas programables en campo (FPGA), etc.), y algunas de las funcionalidades del sistema informático 104 tal como se describe en el presente documento pueden implementarse, en cambio, en hardware. La interfaz de red 112 puede incluir cualquier hardware adecuado (por ejemplo, un hardware de transmisor y receptor frontal), firmware y/o software configurado para comunicarse con el servidor de entrenamiento 106 a través  
15 de la red 108 utilizando uno o más protocolos de comunicación. Por ejemplo, la interfaz de red 112 puede ser o incluir una interfaz Ethernet, permitiendo al sistema informático 104 comunicarse con el servidor de entrenamiento 106 a través de Internet o una intranet, etc. La unidad de memoria 114 puede incluir una o más memorias volátiles y/o no volátiles. Se puede incluir cualquier tipo o tipos de memoria adecuados, tales como, por ejemplo, memoria de sólo  
20 lectura (ROM), memoria de acceso aleatorio (RAM), memoria flash, una unidad de estado sólido (SSD), una unidad de disco duro (HDD), etcétera. En conjunto, la unidad de memoria 114 puede almacenar una o más aplicaciones de software, los datos recibidos/utilizados por dichas aplicaciones y los datos producidos/generados por dichas aplicaciones.

25 La unidad de memoria 114 almacena las instrucciones de software de una aplicación de detección de ECP 118 que, cuando es ejecutada por la unidad de procesamiento 110, determina un estado de ECP para el contenido de un pocillo basado en una imagen de pocillo. Mientras que varios módulos de la aplicación 118 se analizan a continuación, se entiende que dichos módulos pueden distribuirse entre diferentes aplicaciones de software, y/o que la funcionalidad de cualquiera de dichos módulos puede dividirse entre diferentes aplicaciones de software.

30 En algunas realizaciones, un módulo de control del sistema de inspección visual (VIS) 120 de la aplicación 118 controla/automatiza la operación del sistema de inspección visual 102, a través de comandos u otros mensajes, de manera que las imágenes de las muestras dentro de los pocillos de la placa de pocillos 204 de la figura 2 pueden generarse con poca o ninguna interacción humana. El sistema de inspección visual 102 puede enviar las imágenes al sistema informático 104 para su almacenamiento en la unidad de memoria 114, u otra memoria adecuada no mostrada  
35 en la figura 1. La operación del módulo de control VIS 120 se analiza en detalle más adelante. Sin embargo, tal como se indicó anteriormente, el sistema de inspección visual 102 puede no ser controlado externamente en ciertas realizaciones, en cuyo caso el módulo de control VIS 120 puede tener menos funcionalidad de la que se describe en el presente documento (por ejemplo, sólo manejar la recuperación de imágenes del sistema de inspección visual 102), o puede omitirse por completo de la aplicación 118.

40 Un módulo de preprocesamiento de imágenes 122 de la aplicación 118 realiza una o más operaciones para preparar una imagen de pocillo dada para su posterior procesamiento. En particular, el módulo de preprocesamiento de imágenes 122 divide una imagen de pocillo en un número de subimágenes, y puede realizar una o más tareas  
45 diferentes (por ejemplo, eliminar porciones de la imagen de pocillo que no representan ningún contenido del pocillo, y/o procesar la imagen de pocillo para mejorar el contraste y/o eliminar ruido, etc.). Las subimágenes pueden ser imágenes cuadradas, rectangulares o tener alguna otra forma adecuada (por ejemplo, una forma de sector circular que se extiende desde el centro del pocillo hasta el perímetro exterior del pocillo). Todas las subimágenes pueden ser del mismo tamaño, o los tamaños pueden diferir (por ejemplo, con imágenes cuadradas más grandes cerca del centro del pocillo e imágenes cuadradas más pequeñas cerca del perímetro exterior del pocillo). La operación del módulo de  
50 preprocesamiento de imágenes 122 se analiza con más detalle a continuación.

55 Un módulo de puntuación de subimágenes 124 de la aplicación 118 analiza cada una de algunas o todas las subimágenes generadas por el módulo de preprocesamiento de imágenes 122 utilizando una CNN (por ejemplo, uno del modelo o los modelos ML 109). Para cada subimagen, la CNN emite una puntuación que indica la probabilidad de que el contenido del pocillo representado en esa subimagen presente ECP. Por lo tanto, cada puntuación puede verse como un nivel de confianza asociado con una clasificación positiva de ECP para una subimagen respectiva. La CNN puede incluir cualquier número adecuado de capas convolucionales para la convolución bidimensional (por ejemplo, para detectar características tales como bordes dentro de las imágenes), cualquier número adecuado de capas de agrupación (por ejemplo, una capa de submuestreo, para reducir el cálculo preservando al mismo tiempo las  
60 ubicaciones relativas de las características), y cualquier número adecuado de capas totalmente conectadas (por ejemplo, para proporcionar un razonamiento de alto nivel basado en características). Alternativamente (por ejemplo, si el sistema de inspección visual 102 implementa técnicas de representación de imagen tridimensionales), la CNN del módulo de puntuación de subimágenes 124 puede utilizar la convolución tridimensional para detectar características en tres dimensiones. La operación del módulo de puntuación de subimágenes 124 se analiza con más detalle a  
65 continuación.

Un módulo de clasificación de ECP 126 de la aplicación 118 analiza las puntuaciones de subimágenes para una imagen de pocillo en particular, y emite un estado de ECP para la imagen de pocillo. El estado de ECP puede ser binario (por ejemplo, "ECP" frente a "no ECP"), en cuyo caso el módulo de clasificación de ECP 126 puede generar el estado introduciendo las puntuaciones de subimagen en una SVM (por ejemplo, uno del modelo o los modelos ML 109). Si las puntuaciones se determinaron para  $n+1$  subimágenes diferentes de un pocillo, por ejemplo, la SVM puede clasificar el estado de ECP para el contenido del pocillo usando un hiperplano de  $n$  dimensiones (por ejemplo, un hiperplano construido durante el entrenamiento por el servidor de entrenamiento 106). En otras realizaciones, el estado de ECP es algún otro indicador adecuado relacionado con la existencia de ECP, la probabilidad de ECP, y/o el grado en que existe ECP, en la totalidad del contenido del pocillo. Por ejemplo, el estado de ECP puede ser una puntuación que indique la probabilidad de que el contenido del pocillo presente ECP. Como tal, el estado de ECP puede expresarse como una probabilidad, tal como un porcentaje. Opcionalmente, puede tomarse una determinación (por ejemplo, si el riesgo de ECP es suficientemente bajo para usar el contenido del pocillo para cultivo celular adicional) basada en si la probabilidad de que el contenido del pocillo presente ECP es inferior a un umbral especificado, por ejemplo, inferior o igual al 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 5 %, 3 %, 2 %, 1 % o 0,1 % de probabilidad de que el contenido del pocillo presente ECP. Como otro ejemplo, el estado de ECP puede ser la porción porcentual del contenido del pocillo (por ejemplo, por área) que presenta ECP. En algunas realizaciones, el módulo de clasificación de ECP 126 también proporciona otra información, tal como información relacionada con la morfología exhibida (por ejemplo, elongación, lisis celular, etc.). La operación del módulo de clasificación de ECP 126 se analiza con más detalle a continuación.

La operación del sistema 100, según algunas realizaciones, se describirá ahora con referencia a las figuras 1 y 2, y con referencia a una realización particular en la que el sistema informático 104 controla el sistema de inspección visual 102 e implementa modelos entrenados por el servidor de entrenamiento 106. Inicialmente, en esta realización, el servidor de entrenamiento 106 entrena el modelo o los modelos ML 109 usando datos almacenados en una base de datos de entrenamiento 130 (por ejemplo, datos de entrada/características, y etiquetas correspondientes). El modelo o los modelos ML 109 incluyen una CNN implementada por el módulo de puntuación de subimágenes 124, y posiblemente una SVM implementada por el módulo de clasificación de ECP 126. La base de datos de entrenamiento 130 puede incluir una única base de datos almacenada en una única memoria (por ejemplo, HDD, SSD, etc.), una única base de datos distribuida en múltiples memorias, o múltiples bases de datos almacenadas en una o más memorias. Para entrenar la CNN implementada por el módulo de puntuación de subimágenes 124, la base de datos de entrenamiento 130 puede incluir un gran número de conjuntos de datos de entrenamiento, cada uno correspondiente a una única subimagen (por ejemplo, con el mismo nivel de ampliación, tamaño y/u otras características que las subimágenes emitidas por el módulo de preprocesamiento de imágenes 122), junto con una etiqueta que indica una clasificación correcta para esa subimagen (por ejemplo, "ECP" o "no ECP"). Las etiquetas pueden ser clasificaciones realizadas por analistas humanos al revisar las subimágenes de entrenamiento. En algunas realizaciones, los datos de entrenamiento incluyen imágenes de una variedad de líneas celulares, para asegurar que la CNN puede puntuar con precisión subimágenes de muestra en diferentes líneas celulares.

Alternativamente, para mejorar la precisión de la clasificación, el modelo o los modelos ML 109 pueden incluir una CNN diferente para cada una de las múltiples líneas celulares (por ejemplo, las líneas celulares L929, PG4, Vero y 324K), habiendo sido entrenada cada CNN utilizando únicamente subimágenes que representan células de la línea celular correspondiente. En tales realizaciones, el sistema informático 104 puede obtener inicialmente copias de las CNN para todas las líneas celulares, y el módulo de puntuación de subimágenes 124 puede seleccionar e implementar la CNN correspondiente a la línea celular que se está inspeccionando actualmente (por ejemplo, según lo indicado por un usuario que introduce la línea celular a través de una interfaz de usuario del sistema informático 104, no mostrada en la figura 1). Alternativamente, el sistema informático 104 sólo puede recuperar la CNN para la línea celular que se está inspeccionando en ese momento según sea necesario (por ejemplo, enviando una solicitud, incluyendo una indicación de la línea celular especificada por el usuario, al servidor de entrenamiento 106). Si el modelo o los modelos ML 109 incluyen una SVM implementada por el módulo de clasificación de ECP 126, la SVM puede o no ser específica de la línea celular que se está inspeccionando en ese momento, dependiendo de la realización.

En algunas realizaciones en las que el modelo o los modelos ML 109 incluyen una CNN (o una CNN por línea celular, etc.) y una SVM (o una SVM por línea celular, etc.), la SVM o las SVM se entrenan utilizando las salidas de la CNN o las CNN. Si el modelo o los modelos ML 109 incluyen una SVM separada para cada línea celular, cada SVM puede entrenarse utilizando las salidas de la CNN entrenada correspondiente a esa misma línea celular. Por ejemplo, para una línea celular determinada, una CNN puede entrenarse utilizando miles de subimágenes de pocillos etiquetadas manualmente por analistas humanos. Las salidas (puntuaciones) generadas por la CNN pueden utilizarse entonces como entradas para el entrenamiento de la SVM, con las etiquetas para el entrenamiento de la SVM (por ejemplo, "ECP" o "no ECP" para imágenes de pocillos enteros) también proporcionadas por un analista humano, o determinadas automáticamente basándose en las etiquetas manuales que se asignaron a las subimágenes.

En algunas realizaciones, el servidor de entrenamiento 106 utiliza conjuntos de datos etiquetados adicionales en la base de datos de entrenamiento 130 para validar el modelo o los modelos ML 109 generados (por ejemplo, para confirmar que un modelo o modelos ML 109 dado proporciona al menos una precisión mínima aceptable). A continuación, el servidor de entrenamiento 106 proporciona el modelo o los modelos ML 109 al sistema informático 104 (por ejemplo, a través de una descarga remota a través de la red 108) o, en una realización informática en la nube,

implementa el modelo o los modelos ML 109 localmente o proporciona el modelo o los modelos ML 109 a uno o más servidores distintos. En algunas realizaciones, el servidor de entrenamiento 106 también actualiza/refina uno o más del modelo o los modelos ML 109 de forma continua. Por ejemplo, después de que el modelo o los modelos ML 109 se entrenen inicialmente para proporcionar un nivel suficiente de precisión, el sistema de inspección visual 102 o el sistema informático 104 pueden proporcionar imágenes adicionales al servidor de entrenamiento 106 con el tiempo, y el servidor de entrenamiento 106 puede utilizar técnicas de aprendizaje supervisadas o no supervisadas para mejorar aún más la precisión del modelo.

Cada uno de los pocillos dentro de la placa de pocillos 204 del sistema de inspección visual 102 se llena al menos parcialmente, de forma automática o manual, con un medio que incluye nutrientes adecuados para las células (por ejemplo, aminoácidos, vitaminas, etc.), factores de crecimiento y/u otros ingredientes, y el pocillo se inocula con células de una línea celular particular. Tal como se utiliza en el presente documento, una "línea celular particular" se refiere a una línea celular que tiene una identidad discreta, tal como una línea celular especificada. A continuación, la placa de pocillos 204 se carga en la platina 202, y el módulo de control VIS 120 hace que el sistema de inspección visual 102 mueva la platina 202, el sistema de iluminación 208 y/u otros componentes (por ejemplo, uno o más espejos) en pequeños incrementos, y active el generador de imágenes 210 (y posiblemente el sistema de iluminación 208) de forma sincronizada, de manera que el generador de imágenes 210 capture al menos una imagen de cada uno de los pocillos de la placa de pocillos 204.

El sistema de inspección visual 102 envía las imágenes al sistema informático 104 para su análisis automatizado, ya sea a medida que se generan las imágenes del pocillo o por lotes una vez que se han generado subconjuntos (o todas) de las imágenes (por ejemplo, después de almacenar localmente todas las imágenes en un disco duro). Al igual que con el proceso de captura de imágenes de pocillos, el proceso de transferencia de imágenes al sistema informático 104 puede ser automatizado (por ejemplo, activado por comandos del módulo de control VIS 120), en algunas realizaciones.

El proceso de obtención de imágenes de los pocillos de la placa de pocillos 204 puede repetirse en determinadas realizaciones y/o escenarios. Para un ensayo TCID<sub>50</sub>, por ejemplo, el módulo de control VIS 120 puede hacer que el sistema de inspección visual 102 capture una imagen de cada pocillo en cada uno de una serie de diferentes niveles de dilución. En algunas realizaciones, el módulo de control VIS 120 (u otro módulo dentro de la aplicación 118) también controla/automatiza un sistema (no mostrado en la figura 1) que establece los niveles de dilución para las muestras de pocillos.

Para cada una de las imágenes del pocillo recibidas del sistema de inspección visual 102, tal como se ha indicado anteriormente, el módulo de preprocesamiento de imágenes 122 divide la imagen del pocillo en subimágenes, y posiblemente realiza una o más operaciones de preprocesamiento, tales como la eliminación de partes de la imagen que representan áreas fuera del pocillo. A continuación, el módulo de puntuación de subimágenes 124 utiliza una CNN del modelo o los modelos ML 109 para puntuar cada subimagen, indicando la puntuación la probabilidad de que el contenido del pocillo representado en la subimagen presente ECP. La puntuación puede ser un nivel de confianza asociado con una clasificación de "ECP", por ejemplo. El módulo de clasificación de ECP 126 analiza entonces todas las puntuaciones de las subimágenes de ese pocillo para determinar el estado de ECP del pocillo. Por ejemplo, el módulo de clasificación de ECP 126 puede utilizar una SVM de modelo o modelos ML 109 para clasificar el contenido del pocillo como "ECP" o "no ECP". Como otro ejemplo, el módulo de clasificación de ECP 126 puede aplicar una o más heurísticas para clasificar el contenido del pocillo (por ejemplo, clasificando el contenido del pocillo como "ECP" cada vez que las puntuaciones de las subimágenes, cuando se suman, superan algún valor umbral, o cada vez que al menos tres subimágenes tienen una puntuación superior a 0,5000, etc.). Independientemente de cómo el módulo de clasificación de ECP 126 utilice las puntuaciones para clasificar el contenido de los pocillos, el proceso puede repetirse para diferentes imágenes de pocillos hasta que se alcance un punto de parada adecuado (por ejemplo, hasta que se analicen las imágenes de todos los pocillos de una placa de pocillos, o hasta que se analicen las imágenes de todos los pocillos en todos los niveles de dilución deseados, etc.).

La aplicación 118 también genera datos de salida que reflejan la clasificación/estado determinado por el módulo de clasificación de ECP 126. Estos datos de salida pueden adoptar diversas formas y utilizarse de diversas maneras, dependiendo de la realización. Por ejemplo, la aplicación 118 puede hacer que una interfaz de usuario (por ejemplo, una GUI mostrada en una pantalla del sistema informático 104 u otro sistema, no mostrado en la figura 1) presente los datos de salida, incluyendo el estado de ECP de una o más imágenes de pocillo, a un usuario. Como otro ejemplo, la aplicación 118 puede enviar los datos de salida a otra aplicación que se ejecuta en el sistema informático 104 (u otro sistema no mostrado en la figura 1), por ejemplo, para activar una siguiente etapa en una eliminación viral u otro proceso. Como otro ejemplo, la aplicación 118 puede, basándose en los datos de salida generados, hacer que las muestras dentro de los pocillos que muestran ECP se descarten o se aparten para otros fines.

La figura 3 representa imágenes de ejemplo de varias muestras de pocillos de diferentes líneas celulares, con y sin ECP, para ilustrar algunos de los retos que pueden estar asociados con la determinación del estado de ECP de una muestra basada en una imagen de pocillo si se utilizan enfoques convencionales. Un primer par de imágenes 300 muestra las líneas celulares L929 (izquierda) y 324K (derecha) que no presentan ECP, mientras que un segundo par de imágenes 302 muestra dos morfologías diferentes de la línea celular L929 cuando presenta ECP. Cada una de las

imágenes del par de imágenes 300 y cada una de las imágenes del par de imágenes 302 puede ser una subimagen de una imagen de pocillo más grande, por ejemplo.

5 Tal como puede verse en los pares de imágenes 300 y 302, las células L929 que presentan ECP pueden ser bastante  
dificiles de distinguir de las células 324K que no presentan ECP. En consecuencia, tal como se ha indicado  
anteriormente, el módulo de puntuación de subimágenes 124 puede implementar una CNN específica para la línea  
celular que se está inspeccionando. El par de imágenes 302 muestra, además, que incluso una única línea celular  
10 puede tener morfologías muy diferentes (por ejemplo, cuando está infectada por diferentes virus). Así, incluso para  
una única línea celular, puede ser beneficioso que el servidor de entrenamiento 106 entrene la CNN correspondiente  
a esa línea celular utilizando muestras con diferentes morfologías. Las subimágenes de pocillos correspondientes a  
diferentes morfologías pueden introducirse intencionadamente en la base de datos de entrenamiento 130, o pueden  
ser simplemente el resultado de tener una base de datos adecuadamente grande (por ejemplo, miles, o decenas de  
miles, etc., de subimágenes de pocillos).

15 Un tercer par de imágenes 304 muestra, a la izquierda, una imagen de un pocillo entero que contiene células de la  
línea celular L929, y a la derecha, una subimagen específica correspondiente a una porción de esa imagen de pocillo.  
Este ejemplo ilustra el hecho de que, convencionalmente, el ECP también puede ser difícil de detectar debido a su  
ubicación dentro del pocillo. En el par de imágenes 304, por ejemplo, el ECP se presenta como una mancha  
relativamente pequeña dentro del pocillo. La ubicación potencial de ECP, y/u otros patrones o tendencias de ECP que  
20 pueden ocurrir con diferentes líneas celulares y/o diferentes virus, pueden ser tenidos en cuenta inherentemente por  
el módulo de clasificación de ECP 126 cuando se analizan las puntuaciones de subimágenes para una imagen de  
pocillo dada. Para asegurar que el módulo de clasificación de ECP 126 pueda manejar tales variaciones, una SVM del  
módulo de clasificación de ECP 126 puede haber sido entrenado usando disposiciones de puntuación de subimágenes  
que reflejen diferentes tipos de patrones y/o ubicación de ECP.

25 La figura 4 representa una imagen 400 de ejemplo de un pocillo 402. El pocillo 402 puede ser uno de los pocillos de  
la placa de pocillos 204, y/o la imagen de pocillo 400 puede ser una imagen que fue generada por el sistema de  
inspección visual 102 en respuesta a un comando del módulo de control VIS 120, por ejemplo. La imagen de pocillo  
400 puede representar una perspectiva ascendente del pocillo 402.

30 El módulo de preprocesamiento de imágenes 122 divide la imagen del pocillo 400 en un número de subimágenes 404.  
Aunque la figura 4 muestra que las subimágenes 404 se generan sólo en áreas de la imagen 400 que representan al  
menos una porción del pocillo 402, en otras realizaciones la imagen del pocillo entero 400 puede dividirse en  
subimágenes de igual tamaño, y/o pueden generarse subimágenes de diferentes tamaños y/o formas.  
35 Independientemente de si la imagen del pocillo entero 400 está dividida, el módulo de preprocesamiento de imágenes  
122 puede descartar o ignorar las porciones de la imagen de pocillo 400 que no representan al menos una porción del  
pocillo 402. Este recorte de la imagen de pocillo 400 puede tener lugar antes o después de la partición en subimágenes  
404. Para asegurar que el módulo de puntuación de subimágenes 124 puede evaluar con precisión subimágenes que  
incluyen parte de la pared del pocillo 402, y/o áreas fuera del pocillo 402, los datos de entrenamiento para la CNN del  
40 módulo de puntuación de subimágenes 124 pueden haber incluido subimágenes similares. Alternativamente, el  
módulo de preprocesamiento de imágenes 122 puede eliminar por completo la pared del pocillo 402, y las áreas fuera  
del pocillo 402, antes del análisis realizado por la CNN del módulo de puntuación de subimágenes 124.

45 La figura 4 también representa una vista ampliada de una de las subimágenes 404. En la realización y el escenario  
representados, la CNN del módulo de puntuación de subimágenes 124 ha generado una puntuación de 0,99999 para  
la subimagen de vista ampliada 404, como resultado de una mancha de ECP en la parte correspondiente del pocillo  
402. Además, aunque no se muestra en la figura 4, se entiende que las puntuaciones para todas las otras subimágenes  
404 también pueden ser determinadas por el módulo de puntuación de subimágenes 124. En otras realizaciones, sin  
embargo, no todas las subimágenes 404 son puntuadas. En una realización de ejemplo en la que el módulo de  
50 clasificación de ECP 126 clasifica el contenido de cualquier pocillo dado como "ECP" siempre que al menos una de  
las subimágenes del pocillo se puntúe por encima de algún umbral (por ejemplo, por encima de 0,90000), por ejemplo,  
entonces el módulo de puntuación de subimágenes 124 puede ahorrar tiempo/potencia de procesamiento dejando de  
analizar subimágenes adicionales tan pronto como la puntuación de una primera subimagen para ese pocillo supere  
el umbral. A modo de ejemplo, el umbral puede ser mayor o igual a 0,70, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,97, 0,98, 0,99 o  
55 0,999 (que también pueden expresarse como probabilidades porcentuales correspondientes, tales como 70 %, 85 %,  
90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o 99,9 %). Cualquier sistema o procedimiento o medio legible por ordenador como se  
ha descrito en el presente documento puede dejar de analizar subimágenes adicionales tan pronto como la puntuación  
de una primera subimagen para ese pocillo supere el umbral.

60 Tal como se indica en el presente documento, en algunas realizaciones en las que el módulo de clasificación de ECP  
126 utiliza una SVM, y la SVM se entrena específicamente para la línea celular que se está inspeccionando. De esta  
manera, el proceso de clasificación realizado por la SVM puede tener en cuenta inherentemente patrones que son  
típicos para esa línea celular. Como un ejemplo relativamente sencillo, si una primera línea celular habitualmente  
presenta sólo manchas localizadas de ECP más pequeñas, mientras que una segunda línea celular puede (con  
65 aproximadamente la misma probabilidad) presentar ECP como pequeñas manchas o áreas contiguas más grandes,  
una SVM para la primera línea celular puede ser más propensa a clasificar el contenido del pocillo 402 como "ECP" si

las subimágenes 404 que tienen puntuaciones altas forman colectivamente un patrón similar a una mancha, mientras que una SVM para la segunda línea celular puede no dar mucho peso (si lo da) al posicionamiento relativo de las subimágenes 404 que tienen puntuaciones altas.

5 La figura 5 es un diagrama de flujo de un procedimiento 500 de ejemplo para detectar ECP en una muestra de pocillo. El procedimiento 500 puede implementarse mediante una o más partes del sistema 100 (por ejemplo, el sistema de inspección visual 102 y el sistema informático 104) u otro sistema adecuado. Como un ejemplo más específico, el bloque 502 del procedimiento 500 puede ser implementado por al menos una porción del sistema de inspección visual 102 de las figuras 1 y 2, mientras que los bloques 504 a 510 pueden ser implementados por el sistema informático 104 (por ejemplo, por la unidad de procesamiento 110 al ejecutar instrucciones almacenadas en la unidad de memoria 114).

15 En el bloque 502 del procedimiento 500, una imagen de un pocillo que contiene células y un medio (y posiblemente virus, por ejemplo, según una dilución controlada) es generada por una unidad de generación de imágenes (por ejemplo, el generador de imágenes 210 de la figura 2). El medio puede contener nutrientes celulares, factores de crecimiento, etc., y se inoculó previamente con células (por ejemplo, células de una única línea celular).

20 En el bloque 504, la imagen del pocillo se preprocesa, al menos dividiendo la imagen del pocillo en múltiples subimágenes que corresponden cada una a una porción diferente del pocillo fotografiado. En algunas realizaciones, el preprocesamiento también incluye una o más operaciones, tales como la eliminación de una o más porciones de la imagen del pocillo que corresponden a una o más áreas fuera del pocillo, por ejemplo.

25 En el bloque 506, para cada una de las subimágenes, se determina una puntuación respectiva utilizando una CNN. El bloque 506 puede producirse completamente después del bloque 504, o parcialmente en paralelo con el bloque 504 (por ejemplo, a medida que se generan las subimágenes). La puntuación de cada subimagen es indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción correspondiente del pocillo presente ECP. La puntuación puede ser un nivel de confianza asociado con una clasificación "ECP", por ejemplo. La puntuación puede ser emitida por la CNN, o el resultado de algún procesamiento posterior de la salida de la CNN y/u otros factores. La CNN puede ser específica de una línea celular concreta correspondiente a las células del pocillo (por ejemplo, la CNN puede haber sido entrenada utilizando imágenes etiquetadas de pocillos que contienen células de esa línea celular). En una realización de este tipo, el procedimiento 500 incluye un bloque adicional, que tiene lugar en algún momento antes del bloque 506, en el que la CNN apropiada se selecciona de entre múltiples CNN asociadas con diferentes líneas celulares (por ejemplo, basándose en una entrada que indica la línea celular que corresponde a las células del pocillo, tal como una entrada del usuario, o un identificador tal como un código de barras asociado con el pocillo).

35 En el bloque 508, se determina el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo basándose en las puntuaciones determinadas en el bloque 506. El estado de ECP puede ser un indicador binario de si las células presentan ECP o no. Por ejemplo, el bloque 508 puede incluir la introducción de las puntuaciones respectivas en una SVM, que genera el estado de ECP (por ejemplo, "ECP" o "no ECP") o un valor en el que se basa el estado de ECP (por ejemplo, basado en uno o más factores adicionales). En otras realizaciones, el estado de ECP no es binario. Por ejemplo, el estado de ECP puede ser una probabilidad de la existencia de ECP, y/o un grado en el que se presenta (o es probable que se presente) ECP.

45 En el bloque 510, se generan los datos de salida que indican el estado de ECP determinado en el bloque 508. Los datos de salida pueden mostrarse a un usuario en una interfaz de usuario de un dispositivo informático (por ejemplo, enviando los datos de salida, y un comando que cause la visualización de los datos de salida, a otro dispositivo o módulo), por ejemplo, y/o pueden enviarse a uno o más módulos de software y/o sistemas informáticos distintos para diversos fines (por ejemplo, para indicar la eliminación viral de un lote particular y/o activar una siguiente fase de desarrollo de la línea celular, etc.).

50 Aunque los sistemas, procedimientos, dispositivos y componentes de los mismos se han descrito en términos de realizaciones ejemplares, no se limitan a ellas. La descripción detallada debe interpretarse únicamente como ejemplo y no describe todas las realizaciones posibles de la invención porque describir cada realización posible sería poco práctico, si no imposible. Se podrían implementar numerosas realizaciones alternativas, utilizando tecnología actual o tecnología desarrollada después de la fecha de presentación de esta patente, que seguirían estando dentro del alcance de las reivindicaciones que definen la invención.

60 Los expertos en la materia reconocerán que puede realizarse una amplia variedad de modificaciones, alteraciones y combinaciones con respecto a las realizaciones descritas anteriormente sin apartarse del alcance de la invención, y que dichas modificaciones, alteraciones y combinaciones deben considerarse dentro del ámbito del concepto inventivo.

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para detectar el efecto citopático, ECP, en una muestra del pocillo, comprendiendo el procedimiento:  
 5 generar, mediante una unidad de generación de imágenes, una imagen de pocillo que representa un pocillo que contiene células y un medio;  
 preprocesar, mediante uno o más procesadores, la imagen del pocillo, en el que el preprocesamiento de la imagen del pocillo incluye la división de la imagen del pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo;  
 10 para cada una de algunas o de toda la pluralidad de subimágenes, determinar, mediante el uno o más procesadores que analizan la subimagen utilizando una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP;  
 determinar, mediante el uno o más procesadores y basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes, un estado de ECP de las células contenidas en el pocillo; y  
 15 generar, mediante el uno o más procesadores, datos de salida que indiquen el estado de ECP;  
**caracterizado por que**  
 determinar el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo incluye hacer una determinación binaria de si las células contenidas en el pocillo presentan ECP y en el que hacer la determinación binaria de si las células contenidas en el pocillo presentan ECP incluye introducir las puntuaciones respectivas a una máquina de vectores de soporte, SVM.
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que:  
 las células contenidas en el pocillo son células de una línea celular concreta; y  
 la red neuronal convolucional se entrena utilizando imágenes etiquetadas de pocillos que contienen células de la línea celular particular.
3. Procedimiento, según la reivindicación 2, que comprende, además, antes de determinar las puntuaciones respectivas:  
 seleccionar, mediante el uno o más procesadores y basándose en una entrada de usuario que indica la línea celular particular, la red neuronal convolucional de entre una pluralidad de redes neuronales convolucionales cada una asociada con una línea celular diferente.
4. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el preprocesamiento de la imagen de pocillo incluye, además, eliminar una o más porciones de la imagen de pocillo correspondientes a una o más áreas fuera del pocillo.
5. Procedimiento, según las reivindicaciones 1 a 4, que comprende, además:  
 hacer que, mediante el uno o más procesadores, una interfaz de usuario muestre los datos de salida que indican el estado de ECP a un usuario.
6. Procedimiento para detectar el efecto citopático, ECP,  
 en una muestra de pocillo, comprendiendo el procedimiento:  
 generar, mediante una unidad de generación de imágenes, una imagen de pocillo que representa un pocillo que contiene células y un medio;  
 45 preprocesar, mediante uno o más procesadores, la imagen del pocillo, en el que el preprocesamiento de la imagen del pocillo incluye la división de la imagen del pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo;  
 para cada una de algunas o de toda la pluralidad de subimágenes, determinar, mediante el uno o más procesadores que analizan la subimagen utilizando una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP;  
 50 determinar, mediante el uno o más procesadores y basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes, un estado de ECP de las células contenidas en el pocillo; y  
 generar, mediante el uno o más procesadores, datos de salida que indiquen el estado de ECP,  
**caracterizado por que**  
 si la puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP supere un umbral especificado, el uno o más procesadores cesan el análisis, y el estado de ECP del pocillo se determina basándose en la puntuación respectiva que supera el umbral especificado.
7. Procedimiento para detectar el efecto citopático, ECP,  
 en una muestra de pocillo, comprendiendo el procedimiento:  
 60 generar, mediante una unidad de generación de imágenes, una imagen de pocillo que representa un pocillo que contiene células y un medio;  
 preprocesar, mediante uno o más procesadores, la imagen del pocillo, en el que el preprocesamiento de la imagen del pocillo incluye la división de la imagen del pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo;

- para cada una de algunas o de toda la pluralidad de subimágenes, determinar, mediante el uno o más procesadores que analizan la subimagen utilizando una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP;
- 5 determinar, mediante el uno o más procesadores y basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes, un estado de ECP de las células contenidas en el pocillo;
- generar, mediante el uno o más procesadores, datos de salida que indiquen el estado de ECP; y
- transferir una célula del pocillo a un nuevo entorno de cultivo, y cultivar la célula en el nuevo entorno de cultivo;
- caracterizado por que**
- se determina que el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo comprende al menos uno de:
- 10 (a) un estado que indica que no hay ECP; o
- (b) una probabilidad por debajo de un umbral especificado de que el contenido de la imagen del pocillo, en su conjunto, presente ECP.
8. Uno o más medios no transitorios legibles por ordenador que almacenan instrucciones que, cuando son ejecutadas por uno o más procesadores, hacen que el uno o más procesadores:
- 15 preprocesen una imagen de pocillo que representa un pocillo que contiene células y un medio, al menos en parte dividiendo la imagen de pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo;
- para cada una de la pluralidad de subimágenes, determinen, mediante el análisis de la subimagen utilizando una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente un efecto citopático, ECP;
- 20 determinen el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes; y
- generen datos de salida que indiquen el estado de ECP,
- 25 **caracterizados por que**
- las instrucciones hacen que el uno o más procesadores determinen el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo al menos haciendo una determinación binaria de si las células contenidas en el pocillo presentan ECP y en el que hacer la determinación binaria de si las células contenidas en el pocillo presentan ECP incluye introducir las puntuaciones respectivas a una máquina de vectores de soporte, SVM.
- 30 9. El uno o más medios no transitorios legibles por ordenador, según la reivindicación 8, en los que:
- las células contenidas en el pocillo son células de una línea celular concreta; y
- la red neuronal convolucional se entrena utilizando imágenes etiquetadas de pocillos que contienen células de la línea celular particular.
- 35 10. El uno o más medios no transitorios legibles por ordenador, según la reivindicación 9, en los que las instrucciones hacen, además, que el uno o más procesadores, antes de determinar las puntuaciones respectivas:
- seleccionen, basándose en una entrada de usuario que indica la línea celular particular, la red neuronal convolucional de entre una pluralidad de redes neuronales convolucionales cada una asociada con una línea celular diferente.
- 40 11. Uno o más medios no transitorios legibles por ordenador que almacenan instrucciones que, cuando son ejecutadas por uno o más procesadores, hacen que el uno o más procesadores:
- preprocesen una imagen de pocillo que representa un pocillo que contiene células y un medio, al menos en parte dividiendo la imagen de pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo;
- 45 para cada una de la pluralidad de subimágenes, determinen, mediante el análisis de la subimagen utilizando una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente un efecto citopático, ECP;
- determinen el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes; y
- 50 generen datos de salida que indiquen el estado de ECP,
- caracterizados por que**
- si la puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP supere un umbral especificado, las instrucciones hacen que el uno o más procesadores cesen el análisis, y el estado de ECP del pocillo se determina basándose en la puntuación respectiva que supera el umbral especificado.
- 55 12. Sistema que comprende:
- un sistema de inspección visual que incluye
- 60 una platina configurada para aceptar una placa de pocillos, y
- una unidad de generación de imágenes configurada para generar imágenes de los pocillos dentro de la placa de pocillos, en la que cada imagen corresponde a un único pocillo; y
- un sistema informático que incluye
- 65 uno o más procesadores, y
- una o más memorias que almacenan instrucciones que, cuando son ejecutadas por el uno o más procesadores, hacen que el sistema informático

preprocese una imagen de pocillo, generada por la unidad de generación de imágenes y que representa un pocillo que contiene células y un medio, al menos en parte dividiendo la imagen de pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo,  
 5 para cada una de algunas o toda la pluralidad de las subimágenes, determine, analizando la subimagen mediante una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que alguna célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente un efecto citopático (ECP),  
 determine el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes, y  
 genere datos de salida que indiquen el estado de ECP,

**caracterizado por que**

10 las instrucciones hacen que el sistema informático determine el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo al menos realizando una determinación binaria de si las células contenidas en el pocillo presentan ECP y en el que las instrucciones hacen que el sistema informático realice la determinación binaria de si las células contenidas en el pocillo presentan ECP al menos introduciendo las puntuaciones respectivas en una máquina de vectores de soporte, SVM.  
 15

13. Procedimiento, según la reivindicación 12, en el que:

las células contenidas en el pocillo son células de una línea celular concreta; y

20 la red neuronal convolucional se entrena utilizando imágenes etiquetadas de pocillos que contienen células de la línea celular particular.

14. Sistema, según cualquiera de la reivindicación 13, en el que las instrucciones hacen, además, que el sistema informático, antes de determinar las puntuaciones respectivas:

seleccione, basándose en una entrada que indica la línea celular particular, la red neuronal convolucional de entre una

25 pluralidad de redes neuronales convolucionales cada una asociada con una línea celular diferente.

15. Sistema que comprende:

un sistema de inspección visual que incluye

30 una platina configurada para aceptar una placa de pocillos, y

una unidad de generación de imágenes configurada para generar imágenes de los pocillos dentro de la placa de pocillos, en la que cada imagen corresponde a un único pocillo; y

un sistema informático que incluye

35 uno o más procesadores, y

una o más memorias que almacenan instrucciones que, cuando son ejecutadas por el uno o más procesadores, hacen que el sistema informático

preprocese una imagen de pocillo, generada por la unidad de generación de imágenes y que representa un pocillo que contiene células y un medio, al menos en parte dividiendo la imagen de pocillo en una pluralidad de subimágenes, correspondiendo cada una de ellas a una porción diferente del pocillo,

40 para cada una de algunas o toda la pluralidad de las subimágenes, determine, analizando la subimagen mediante una red neuronal convolucional, una puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que alguna célula de la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente un efecto citopático (ECP),

determine el estado de ECP de las células contenidas en el pocillo basándose en las puntuaciones respectivas de la pluralidad de subimágenes, y

45 genere datos de salida que indiquen el estado de ECP,

**caracterizado por que**

si la puntuación respectiva indicativa de la probabilidad de que cualquier célula en la porción del pocillo correspondiente a la subimagen presente ECP supere un umbral especificado, las instrucciones hacen que el uno o más procesadores cesen el análisis, y determinen el estado de ECP del pocillo basándose en la puntuación respectiva que supera el umbral especificado.  
 50

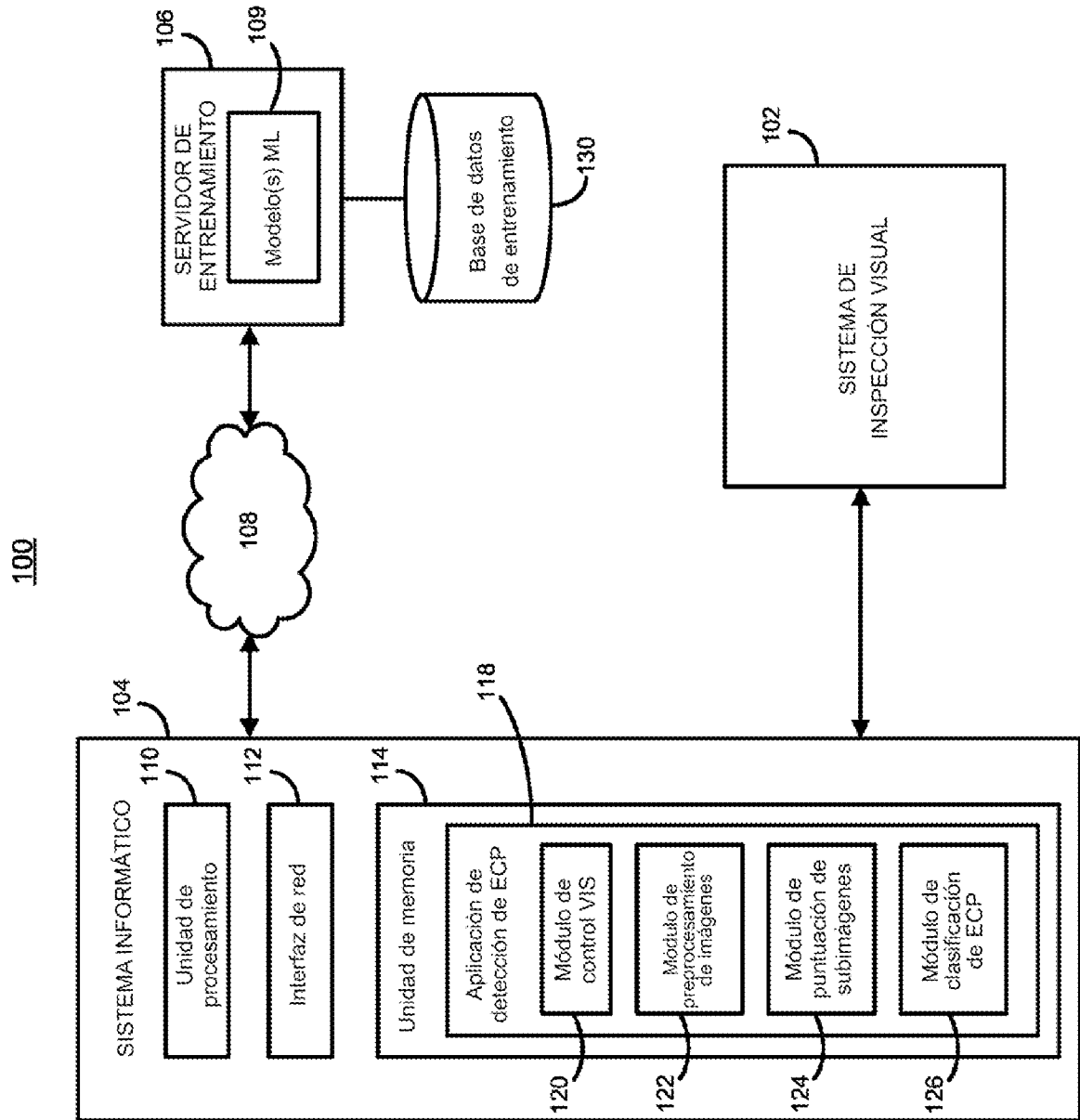
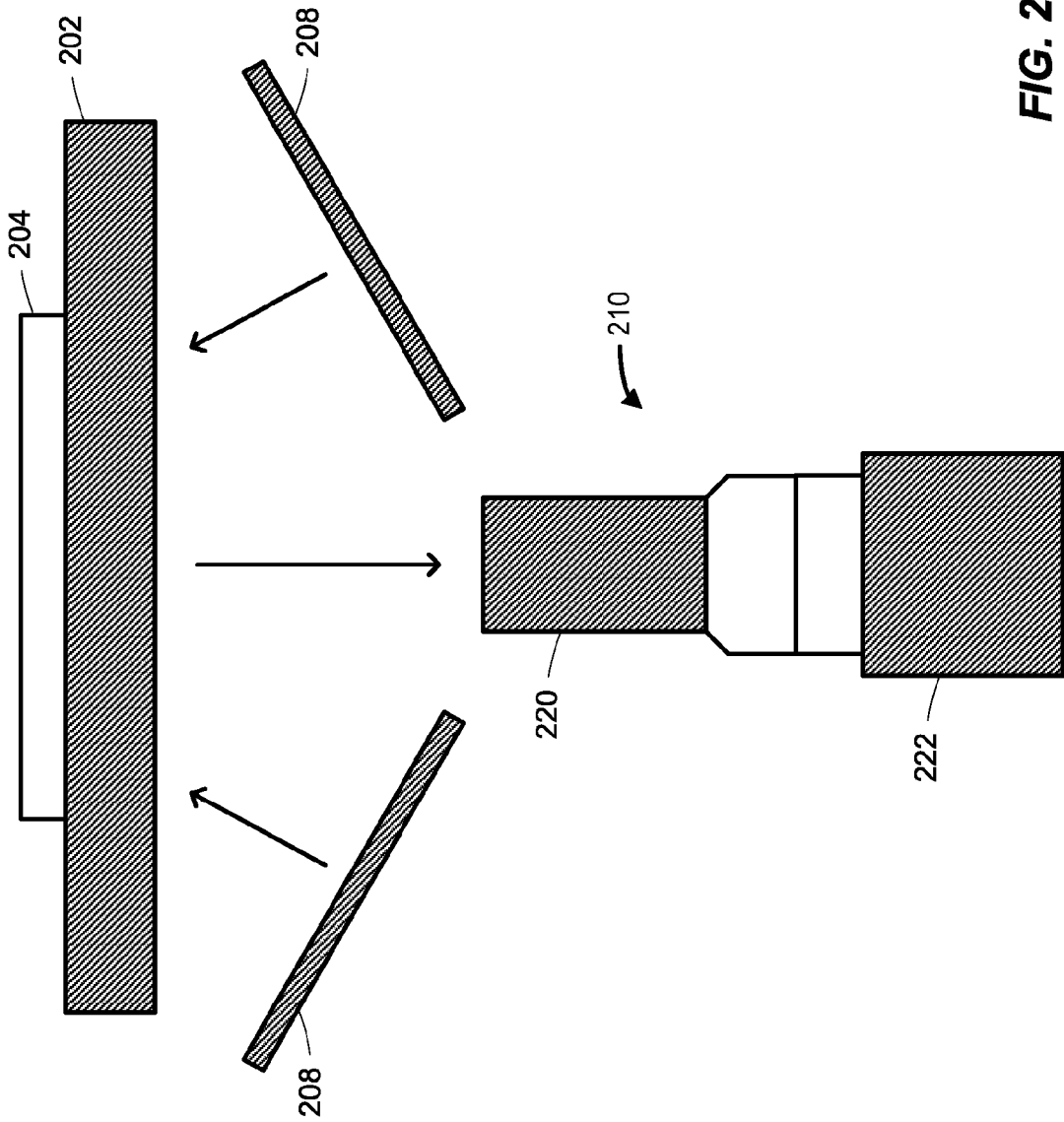


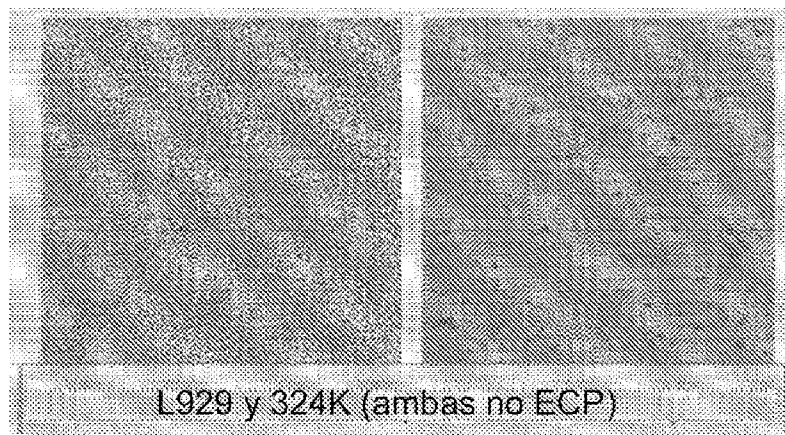
FIG. 1



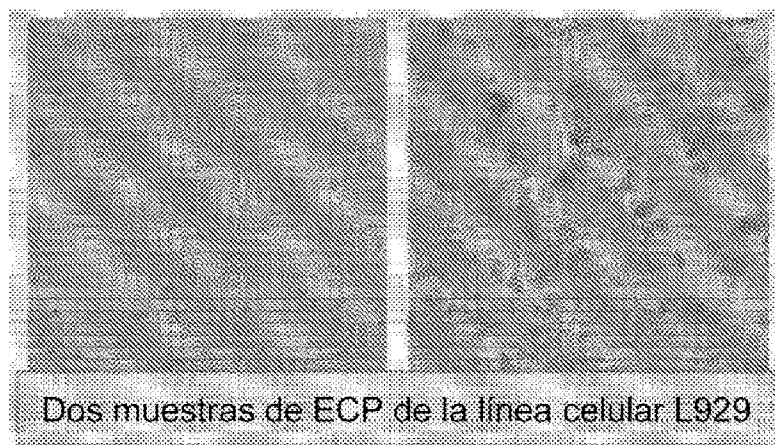
**FIG. 2**

**FIG. 3**

300 →

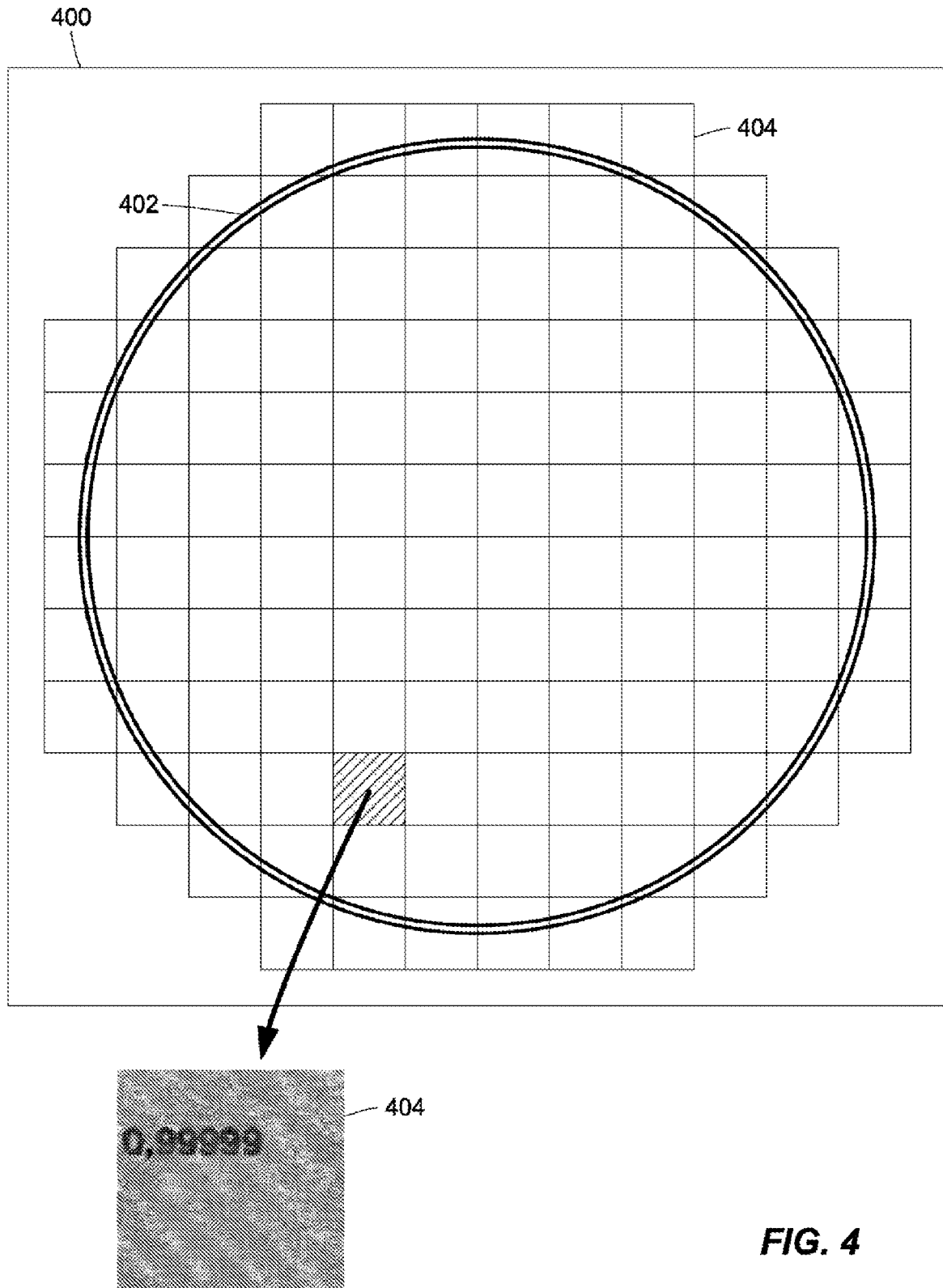


302 →



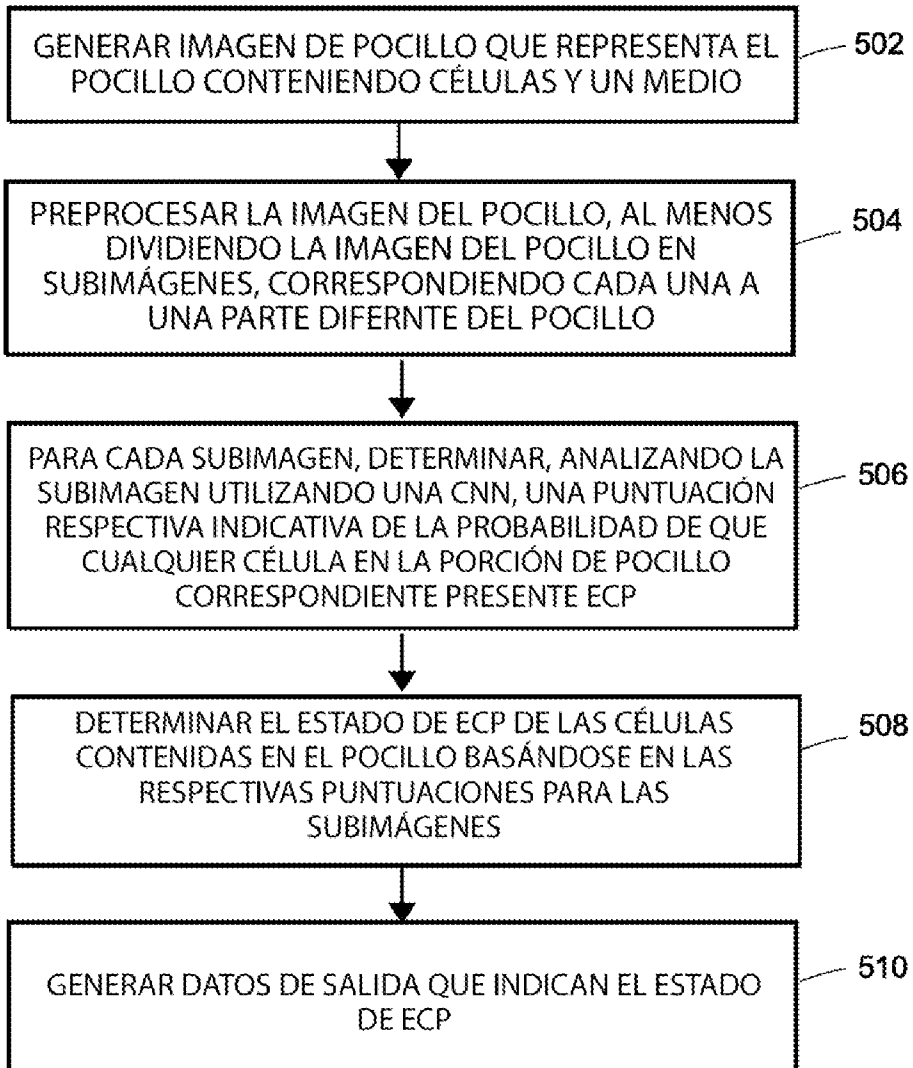
304 →





**FIG. 4**

500



**FIG. 5**