(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 115836241 B
(45)授权公告日 2024.06.25

(21)申请号 202180041233.4
(22)申请日 2021.05.26
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115836241 A
(43)申请公布日 2023.03.21
(30)优先权数据
2008690.6 2020.06.09 GB
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.12.08
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2021/051271 2021.05.26
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/250373 EN 2021.12.16

(73)专利权人 FFEI公司
地址 英国赫默尔亨普斯特德
(72)发明人 马丁·菲利普·古弛
路易丝·乔安妮·科林斯
威廉·海维斯
(74)专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理有限公司 11112
专利代理师 张娜 李荣胜

(51)Int.Cl.
G02B 21/24(2006.01)
G02B 21/36(2006.01)
(56)对比文件
WO 2005119325 A2,2005.12.15
审查员 陈亚娟

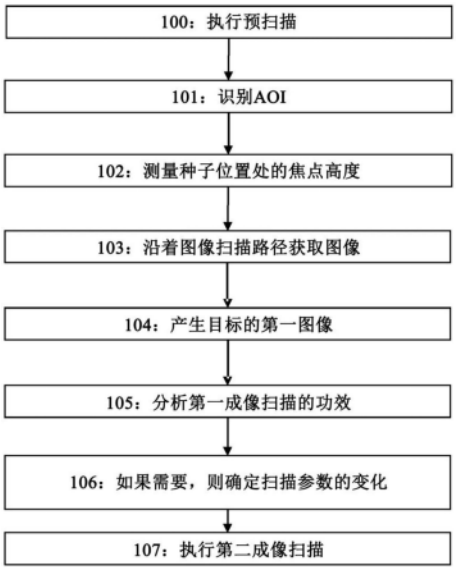
权利要求书3页 说明书10页 附图5页

(54)发明名称

用于分析扫描功效的方法

(57)摘要

提供了一种用于操作显微镜扫描仪的方法。对包括样本的目标(6)上一个或多个感兴趣区域AOI执行第一成像扫描。这包括:沿着图像扫描路径相对于目标(6)移动检测器阵列(3),并且在沿着图像扫描路径的多个位置中的每个位置处获取目标的图像。在成像扫描期间生成焦点控制数据,其中,生成焦点控制数据包括:计算在沿着图像扫描路径的每个所述位置处的焦点评价值。基于所述焦点评价值,沿图像扫描路径调整检测器阵列(3)的焦点高度。使用焦点控制数据分析所述第一成像扫描的功效,并且基于该分析,确定来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化,以用于执行第二成像扫描。



CN 115836241 B

1.一种用于操作包括检测器阵列的显微镜扫描仪的方法,所述方法包括:

执行预扫描以生成目标的预扫描图像,其中,所述目标包括样本,并且其中,所述预扫描的焦点深度超过500微米;

对所述预扫描图像执行自动化图像分析,以产生指示所述样本预期存在于所述目标上的位置的第一概率图;

对所述目标上的一个或多个感兴趣区域AOI执行第一成像扫描,其中,所述一个或多个AOI选自所述第一概率图,并且其中,执行所述第一成像扫描包括:

沿着图像扫描路径相对于所述目标移动所述检测器阵列,并且使用所述检测器阵列在沿着所述图像扫描路径的多个位置中的每个位置处获取所述目标的图像,其中,在所述第一成像扫描期间获取的每个图像的焦点深度低于3微米;

在所述成像扫描期间生成焦点控制数据,其中,生成焦点控制数据包括:计算在沿着所述图像扫描路径的每个所述位置处的焦点评价值;

基于所述焦点评价值,沿所述图像扫描路径调整所述检测器阵列的焦点高度;以及

将沿着所述图像扫描路径的所述多个位置中的每个位置处获取的所述目标的图像进行组合,以形成所述目标的第一图像;

使用所述焦点控制数据分析所述第一成像扫描的功效,并且基于该分析确定来自所述第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化,以用于执行第二成像扫描。

2.根据权利要求1所述的方法,其中,在包括所述一个或多个AOI的第一扫描区域上执行所述第一成像扫描,并且其中,确定一个或多个扫描参数的变化包括:选择所述目标上与所述第一扫描区域不同的第二扫描区域。

3.根据权利要求2所述的方法,其中,分析所述第一成像扫描的功效包括:

识别所述目标上的一个或多个边界位置,在所述一个或多个边界位置处,所述焦点控制数据指示所述检测器阵列对焦于所述第一扫描区域的边界处;以及

其中,选择第二扫描区域包括:调整所述第一扫描区域以并入所述目标的在所述第一扫描区域外部且围绕所述一个或多个边界位置的区域。

4.根据权利要求2所述的方法,其中,分析所述第一成像扫描的功效包括:根据所述焦点控制数据识别所述目标上的一个或多个样本焦点区域,其中,所述焦点控制数据指示所述检测器阵列对焦在整个所述一个或多个样本焦点区域中;以及

其中,选择第二扫描区域包括:插入所述目标的在所述第一成像扫描期间成像的所述一个或多个样本焦点区域外部所述样本延伸穿过的区域。

5.根据权利要求4所述的方法,其中,通过将形状拟合应用于所述样本焦点区域的轮廓来找到被插入的区域的形状。

6.根据前述权利要求2至5中任一项所述的方法,其中,评估所述第一成像扫描的功效还包括:识别所述目标上的一个或多个不良焦点区域,其中,所述焦点控制数据指示在所述第一成像扫描期间,所述检测器阵列在整个所述一个或多个不良焦点区域中是离焦的;以及

其中,确定一个或多个扫描参数的变化包括:调整聚焦过程,以便在所述第二成像扫描期间获得与来自所述第一成像扫描的对应图像相比在所述一个或多个不良焦点区域内的不同焦点高度处的所述目标的图像。

7.根据权利要求1所述的方法,其中,评估所述第一成像扫描的功效还包括:识别所述目标上的一个或多个不良焦点区域,其中,所述焦点控制数据指示在所述第一成像扫描期间,所述检测器阵列在整个所述一个或多个不良焦点区域中主要是离焦的;以及

其中,确定一个或多个扫描参数的变化包括:调整聚焦过程,以便在所述第二成像扫描期间获得与来自所述第一成像扫描的对应图像相比在所述一个或多个不良焦点区域内的不同焦点高度处的所述目标的图像。

8.根据权利要求7所述的方法,其中,所述第一成像扫描还包括:从所述第一图像导出所述目标的第二图像,其中,所述第二图像的分辨率小于所述第一图像的分辨率;以及

其中,分析所述第一成像扫描的所述功效还包括:

对所述第二图像执行自动图像分析,以产生预期存在所述样本的所述目标的区域的第二概率图;以及

识别所述预扫描图像中与所述目标上的位置对应的表面细节,在所述位置处,所述第一概率图指示预期存在所述样本,并且所述第二概率图指示不存在所述样本;

其中,所述一个或多个不良焦点区域不包括所述目标上的具有所述表面细节的位置。

9.根据权利要求8所述的方法,其中,所述第二图像的分辨率近似等于所述预扫描图像的分辨率。

10.根据权利要求7至9中任一项所述的方法,其中,所述焦点控制数据包括:在沿着所述图像扫描路径的每个位置处的所述目标的估计焦面,并且其中,针对沿着所述图像扫描路径的获取图像的每个位置监测所述检测器阵列的实际焦点高度;以及

其中,识别所述目标上的一个或多个不良焦点区域包括:识别一个或多个位置误差位置,在所述位置误差位置处,估计的焦面与所述检测器阵列的实际焦点高度之间的差超过误差阈值。

11.根据权利要求7至9中任一项所述的方法,其中,所述第一成像扫描还包括:根据沿着所述图像扫描路径获取的图像生成所述目标的第一图像;以及

其中,识别一个或多个不良焦点区域还包括:对所述第一图像的一个或多个子区域执行自动图像分析,以识别所述第一图像的焦点是否可接受,并且将所述焦点不可接受的所述目标的每个子区域指定为不良焦点区域,其中,基于所述焦点控制数据选择所述一个或多个子区域。

12.根据权利要求11所述的方法,其中,所述一个或多个子区域包括所述位置误差位置。

13.根据权利要求7至9中的任一项所述的方法,其中,在所述第一成像扫描之前,所述方法还包括:测量所述一个或多个AOI中的至少一个种子位置的对焦位置,并且基于所测量的所述种子位置的对焦位置,在沿着所述图像扫描路径的一个或多个位置处设置所述焦点高度。

14.根据权利要求13所述的方法,其中,所述一个或多个扫描参数选自包括以下各项的组:要成像的所述目标的区域、所述目标上的种子位置的数量以及所述目标上的所述种子位置的位置。

15.根据权利要求13所述的方法,其中,分析所述第一成像扫描的功效包括:识别针对一个或多个所述种子位置测量的对焦位置的误差。

16.根据权利要求15所述的方法,其中,识别所述对焦位置的误差包括:将来自所述第一成像扫描的所述焦点控制数据与在所述第一成像扫描之前针对所述一个或多个种子位置测量的对焦位置进行比较。

17.根据权利要求16所述的方法,其中,将来自所述第一成像扫描的所述焦点控制数据与在所述第一成像扫描之前针对所述一个或多个种子位置测量的对焦位置进行比较包括:将在所述第一成像扫描期间来自所述种子位置的所述焦点控制数据与在所述第一成像扫描之前针对所述一个或多个种子位置测量的对焦位置进行比较。

18.根据权利要求13所述的方法,其中,确定来自所述第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化包括:在所述目标上的所述焦点控制数据指示所述检测器阵列在所述第一成像扫描期间离焦的位置处,选择新的种子位置。

19.根据权利要求13所述的方法,其中,在多个AOI上执行所述第一成像扫描,其中,通过在每个所述种子位置处垂直于所述目标的表面的位置范围内,调整所述检测器阵列的焦点高度,来测量所述对焦位置;以及

其中,分析所述第一成像扫描的功效包括:根据所述焦点控制数据计算所述多个AOI中的每个AOI中的所述样本的平均焦点高度;以及

其中,响应于发现所述多个AOI中的第一AOI和第二AOI的平均焦点高度之间的间隔超过阈值距离,确定来自所述第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化包括:修改在监视所述第一AOI中的种子位置处的对焦位置时所述焦点高度被调整的位置的范围,以排除从所述第一成像扫描计算出的所述第一AOI的平均焦点高度,其中,针对所述第一AOI计算出的平均焦点高度超过针对所述第二AOI计算出的平均焦点高度。

20.根据权利要求19所述的方法,其中,针对所述第二AOI计算出的平均焦点高度是来自包括针对所述多个AOI中的每个AOA计算出的平均焦点高度的组的最低焦点高度。

21.根据权利要求13所述的方法,还包括:

使用所述检测器阵列来对所述目标执行所述第二成像扫描,其中,确定的所述一个或多个扫描参数相对于所述第一成像扫描的变化被实现。

22.一种包含指令的计算机程序产品,所述指令在使用包括检测器阵列和包括样本的目标的显微镜扫描仪被执行时,使得所述显微镜扫描仪执行前述权利要求中任一项所述的方法。

用于分析扫描功效的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于分析使用显微镜扫描仪获取的成像扫描的功效的方法。

背景技术

[0002] 对于病理学载玻片,将组织的活体组织切片固定在作为支撑的石蜡块中。从块中取出约4μm厚的薄层,放置在载玻片上。然后,对载玻片进行染色以显示感兴趣的组织和背景组织。通过蒸发除去石蜡,并将保护性盖玻片粘在组织上。通过使用全载玻片成像扫描仪,组织被扫描到数字文件,以供病理学家检查或供软件算法检查和指示是否存在疾病。通常,用于数字化图像的像素尺寸为约0.25μm,并且成像的自然孔径将焦点深度限制为约1μm。其上固定有组织的载玻片是不平坦的,误差在1μm内。完美制造的载玻片的标准方程表明,载玻片将在其自身重量下弯曲约2μm,并且由于载玻片的制造和安装导致的变形可能产生大得多的误差。通常,组织本身不总是具有均匀的厚度,组织的一些部分被切成比其它类型薄,或者组织被切成楔形。

[0003] 如果全载玻片成像扫描仪不扫描焦点深度内的组织,则焦点深度外的那些区域将不适于诊断或者可能在诊断中产生错误。因此,全载玻片成像扫描仪通常具有诸如由US9116035所述的聚焦跟踪机构,以实现跨所有组织的正确聚焦。然而,由于许多原因,组织的聚焦的跟踪可能在整个组织上不是完美的。

[0004] 一旦已经扫描了载玻片,就可以通过分析扫描图像来确定关于扫描质量的良好程度的多个方面。例如,通过检查在诸如细胞的组织物的边缘处的梯度,可以分析组织聚焦的程度。对于整个载玻片,这需要相当大的处理能力。具有0.25μm像素的典型15×15mm区域将具有3.9千兆个像素。在压缩之前,RGB图像将是11Gb的数据。详细检查完整的图像(例如在US2019/0266726A1中出现的)将是缓慢的。

[0005] 希望能够在成像扫描完成之后立即快速检查图像。如果在载玻片仍在扫描仪中时识别出扫描中的错误,则可以改变扫描条件并执行第二扫描,该第二扫描将不具有第一扫描的错误。该第二扫描可以具有仅被调谐到该载玻片类型的控制参数,或者其可以具有不同的开始条件,但是通常可以调整控制参数以改进扫描。在载玻片仍在扫描仪中时检查整个3.9千兆个像素图像可能是不实际的。本发明在找到更快和更有效的用于分析扫描图像的功效的方法的背景下进行,以便在需要的情况下可以执行第二扫描,该第二扫描校正在第一扫描中发现的任何缺陷。

发明内容

[0006] 本发明的第一方面提供了一种用于操作包括检测器阵列的显微镜扫描仪的方法,该方法包括:对目标上的一个或多个感兴趣区域AOI执行第一成像扫描,其中,目标包括样本,并且其中,执行第一成像扫描包括:沿着图像扫描路径相对于目标移动检测器阵列,并且使用检测器阵列在沿着图像扫描路径的多个位置中的每个位置处获取目标的图像;在成像扫描期间生成焦点控制数据,其中,生成焦点控制数据包括:计算在沿着图像扫描路径的

每个所述位置处的焦点评价值;以及基于所述焦点评价值,沿图像扫描路径调整检测器阵列的焦点高度;使用焦点控制数据分析第一成像扫描的功效,并且基于该分析,确定来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化,以用于执行第二成像扫描。

[0007] 因此提供了一种改进的方法,其使用在成像扫描期间生成的焦点控制数据来分析成像扫描的功效。传统上,仅为了执行成像扫描的目的而生成焦点控制数据,而从成像扫描产生的图像将被查看以评估扫描是否成功。相反,上述方法使用焦点控制数据来分析成像扫描的功效。这可以通过多种不同的技术(如将要讨论的)来实现,并且这些技术中的每一种都有助于快速且有效的结果,而不会对计算机处理资源提出高要求。该结果可以是对来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化的确定,使得可以在第二成像扫描中采取校正动作。这确保了用户可以以最小的延迟获得目标的高质量扫描图像。

[0008] 在特别期望的实施方式中,在包括所述一个或多个AOI的第一扫描区域上执行第一成像扫描,并且确定一个或多个扫描参数的变化包括:选择目标上与第一扫描区域不同的第二扫描区域。这可以是例如焦点跟踪数据指示最初选择的一个或多个AOI太小以至于不能完全捕获由样本占据的目标区域的情况。病理学家通常希望捕获扫描图像内的整个样本,因此如果分析表明第一扫描区域太小,则相应地增加扫描区域是有利的。然而,成像扫描是耗时的,因此为了减少第二成像扫描所需的时间,期望仅将第二扫描的扫描区域增加到包含样本所需的量。因此,分析第一成像扫描的功效优选地包括:识别目标上的一个或多个边界位置,在一个或多个边界位置处,焦点控制数据指示检测器阵列主要对焦于第一扫描区域的边界处;以及选择第二扫描区域优选包括:调整第一扫描区域以并入目标的在第一扫描区域外部且围绕一个或多个边界位置的区域。第一扫描区域可以增加包围边界位置的预设量,以试图包含第一扫描区域外部的样本的轮廓。替代地,可以对目标上的样本的形状进行数学预测。特别地,分析第一成像扫描的功效可以包括:根据焦点控制数据识别目标上的一个或多个样本焦点区域,其中,焦点控制数据指示检测器阵列主要对焦在整个一个或多个样本焦点区域中;以及选择第二扫描区域可以包括:插入目标的在第一成像扫描期间成像的一个或多个样本焦点区域外部样本延伸穿过的区域。可以通过对样本焦点区域的轮廓应用形状拟合,诸如对从焦点控制数据确定的组织边缘拟合圆或弧或样条曲线,来找到被插入的区域的形状。这使得能够对样本延伸到第一扫描区域外部的位置进行更智能的估计,使得扫描区域延伸覆盖样本所必需的量,而不会在目标的不存在样本的区域上延伸。

[0009] 评估第一成像扫描的功效优选地还包括:识别目标上的一个或多个不良焦点区域,其中,焦点控制数据指示在第一成像扫描期间,检测器阵列在整个一个或多个不良焦点区域中是离焦的。不良焦点区域可以在确定第二扫描区域的过程中使用。替代地或另外,确定一个或多个扫描参数的变化可包括:调整聚焦过程,以便在第二成像扫描期间获得与来自第一成像扫描的对应图像相比在目标的一个或多个区域(如,一个或多个不良焦点区域)内的不同焦点高度处的目标的图像。在对焦点控制数据的分析指示在第一成像扫描期间在一个或多个AOI中检测器阵列没有被适当地聚焦在样本上的情况下,可能发生这样的情形。然后确定新聚焦过程形式的扫描参数的变化,使得在第二成像扫描期间,检测器阵列在这些区域内具有不同的焦点。

[0010] 通常,在第一成像扫描之前进行预扫描,该预扫描在大得多的焦点深度处执行,以便获得目标的低分辨率图像,从该低分辨率图像中可以选择一个或多个AOI。特别地,该方

法优选地还包括:执行预扫描,以生成目标的预扫描图像,其中,预扫描的焦点深度超过500微米,并且其中,在第一成像扫描期间获取的每个图像的焦点深度低于3微米;以及对预扫描图像执行自动化图像分析,以产生指示样本预期存在于目标上的位置的第一概率图,其中,一个或多个AOI选自第一概率图。已经发现,执行预扫描以识别一个或多个AOI的这个过程特别快速和有效,使得能够设置可以执行第一成像扫描的参数。

[0011] 检测器阵列优选地包括光电检测器阵列,通常被布置为窄的CCD条。这样,检测器阵列通常是行检测器,但它也可以是2D相机。第一成像扫描通常还包括从沿着所述图像扫描路径获取的图像生成目标的第一图像。这样的图像可以对应于由检测器阵列沿着图像扫描路径获取的各个图像或“行”中的每一个的组合。因此,第一图像可以具有相对高的分辨率,因此需要相当多的计算机处理资源来加载。因此,优选地,从第一图像导出目标的第二图像,其中第二图像的分辨率低于第一图像的分辨率。用户可以查看第二图像以获得低放大率的目标的“快照”,而不需要由计算系统加载第一图像中存在的附加数据。有利地,该第二图像可以进一步用于帮助识别先前描述的一个或多个不良焦点区域,因为与用于选择一个或多个AOI的预扫描图像相比,它将具有小得多的焦点深度。因此,可能在预扫描图像中可见并且被错误地识别为对应于样本区域的目标上的诸如污垢或划痕的表面细节将可能不会出现在第一或第二图像中。因此,这对识别该表面细节是有帮助的,从而不会不必要地在目标的被表面细节遮挡且可能不存在样本的区域上执行第二扫描。因此,分析第一成像扫描的功效可以进一步包括:对第二图像执行自动图像分析,以产生预期存在样本的目标的区域的第二概率图;以及识别预扫描图像中与目标上的位置对应的表面细节,在该位置处,第一概率图指示预期存在样本,并且第二概率图指示不存在样本;其中,一个或多个不良焦点区域不包括目标上的具有所述表面细节的位置。第二图像的分辨率优选地等于或近似等于预扫描图像的分辨率。这使得能够使用与用于生成第一概率图的算法相同或类似的算法来生成第二概率图,而不用承担更多的处理资源。这也使得能够在第一概率图和第二概率图之间进行有效比较,以便识别表面细节。

[0012] 焦点控制数据还可以包括针对目标的估计焦面(也称为“目标高度”)和/或检测器阵列的实际焦点高度。因此,根据该数据,可以识别检测器阵列的位置和期望在第一成像扫描期间获取的任何图像的位置之间的差异。这个差异是已知的位置误差。可存在对位置误差的容许偏差,但是当超过该容许偏差时,可以识别相应的位置以用于执行第二成像扫描。例如,焦点控制数据可以包括在沿着图像扫描路径的每个位置处的目标的估计焦面,并且可以针对沿着图像扫描路径的获取图像的每个位置监测检测器阵列的实际焦点高度。识别目标上的一个或多个不良焦点区域可以包括:识别一个或多个位置误差位置,在位置误差位置处,估计的焦面与检测器阵列的实际焦点高度之间的差超过误差阈值。误差阈值通常近似等于或大于检测器阵列的焦点深度。

[0013] 如背景技术部分中所讨论的,用于分析图像质量,尤其是分析样本是否充分聚焦在图像中的自动图像分析技术是已知的。然而,这样的技术通常是计算密集的,因此是耗时的。因此,希望限制应用了这种技术的图像区域,以便排除已知对焦的图像区域。分析图像的过程然后可以被限制到剩余区域,在该剩余区域中,焦点被认为是不良的或未知的。有利地是,这可以通过使用焦点控制数据来实现。特别地,第一成像扫描还可以包括从沿着图像扫描路径获取的图像生成目标的第一图像,如先前所讨论的。识别一个或多个不良焦点区

域然后可以进一步包括:对第一图像的一个或多个子区域执行自动图像分析,以识别第一图像的焦点是否可接受,并且将其中焦点不可接受的目标的每个子区域指定为“不良焦点区域”,其中,基于焦点控制数据选择一个或多个子区域。优选地,一个或多个子区域包括位置误差位置。还可以基于由位置误差位置占据的目标的区域来确定一个或多个子区域。

[0014] 确定一个或多个扫描参数的变化可以包括调整用于第二成像扫描的聚焦过程,如先前所讨论的。该聚焦过程可以依赖于对目标上的至少一个种子位置的对焦位置的测量。特别地,在第一成像扫描之前,该方法通常还包括测量一个或多个AOI中的至少一个种子位置的对焦位置,并基于所测量的种子位置的对焦位置,在沿着图像扫描路径的一个或多个位置处设置焦点高度。因此,变化的一个或多个扫描参数可以选自包括以下的组:要成像的目标的区域、目标上的种子位置的数量以及目标上的所述种子位置的所述位置。此外,分析第一成像扫描的功效可包括:识别针对一个或多个种子位置测量的对焦位置的误差,这可通过比较来自第一成像扫描的焦点控制数据与在第一成像扫描之前针对一个或多个种子位置测量的对焦位置来执行。例如,将来自第一成像扫描的焦点控制数据与在第一成像扫描之前测量的一个或多个种子位置的对焦位置进行比较可以包括:将在第一成像扫描期间的来自种子位置的焦点控制数据与在第一成像扫描之前测量的一个或多个种子位置的对焦位置进行比较。通常沿着图像扫描路径调制检测器阵列的焦点高度,以便基于所获取的焦点控制数据来跟踪目标的估计的焦面。因此,在第一成像扫描期间,检测器阵列的焦点高度将不必到达种子位置的测量的对焦位置,然而,如果焦点高度显著不同(例如,差高于阈值间隔),则对焦位置可被识别为错误的。在沿着图像扫描路径的一个或多个位置处的焦点高度基于所测量的种子位置的对焦位置,因此如果发现该对焦位置是错误的,则这通常将影响成像扫描的功效。然后,确定来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化可以包括:在目标上的焦点控制数据指示检测器阵列在第一成像扫描期间离焦的位置处,选择新的种子位置。

[0015] 可以在多个AOI上执行第一成像扫描,并且通过在每个种子位置处垂直于目标的表面的位置范围内,调整检测器阵列的焦点高度,来测量对焦位置。如果由于载玻片倾斜、载玻片变形、组织的厚度变化而导致这些中的每一个的平均焦点不相似或不在预期的容许偏差内,则可以假设在成像扫描期间,检测器阵列将不能正确地聚焦在AOI中的至少一个中的样本上。因此,分析第一成像扫描的功效可以包括:根据焦点控制数据计算每个所述AOI中的样本的平均焦点高度。然后,响应于发现第一所述AOI和第二所述AOI的平均焦点高度之间的间隔超过阈值距离,确定来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化可以包括:修改在监视第一AOI中的种子位置处的对焦位置时焦点高度被调整的位置的范围,以排除从第一成像扫描计算出的第一AOI的平均焦点高度,其中,针对第一AOI计算出的平均焦点高度超过针对第二AOI计算出的平均焦点高度。AOI的最低焦点水平通常将给出正确的组织焦点水平的良好指示。因此,针对第二AOI计算出的平均焦点高度优选是来自包括针对每个AOI计算出的平均焦点高度的组的最低焦点高度。该技术使得能够确定第二成像扫描的参数,从而正确地对每个AOI成像。

[0016] 一旦设置了第二成像扫描的参数,具体地,确定了来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化,就可以执行第二成像扫描。因此,该方法通常还包括使用检测器阵列执行目标的第二成像扫描,其中,确定的一个或多个扫描参数相对于第一成像扫描的变化被

实现。

[0017] 本发明的第二方面提供了一种包含指令的计算机程序产品,当使用包括检测器阵列和包含样本的目标的显微镜扫描仪来执行该指令时,该指令使得显微镜扫描仪执行第一方面的方法。第二方面具有与结合第一方面所讨论的类似的特征和优点。

[0018] 显微镜扫描仪通常是明视场显微镜扫描仪,优选地仍然是虚拟显微镜,并且计算机程序产品通常对应于非瞬态计算机可读介质,诸如硬盘驱动器。目标可以采取多种形式,然而,优选地,目标包括生物组织样本。目标优选地在表面高度上没有显示出显著的变化,因此基本上是平的。例如,目标可以是已经被切片并保留在平的玻璃载玻片之间的染色的组织提取物。

附图说明

[0019] 现在将参考以下说明来讨论本发明的实施例,其中:

[0020] 图1是根据本发明的实施例操作的显微镜扫描仪的示意图;

[0021] 图2是表示本发明的实施例的流程图;

[0022] 图3是示出根据本发明的实施例的用于分析成像扫描的功效的过程的流程图;

[0023] 图4A是根据本发明的实施例获取的预扫描图像的示例;

[0024] 图4B是根据本发明的实施例获取的第二图像的示例;

[0025] 图5A是根据本发明的实施例识别的目标上的不良焦点区域的第一示例;以及

[0026] 图5B是根据本发明的实施例识别的目标上的不良焦点区域的第二示例。

具体实施方式

[0027] 在图1中示出了明视场显微镜扫描仪1的示例。该显微镜扫描仪1包括扫描头2,该扫描头2包括线性光电检测器阵列形式的行扫描仪3。扫描头2还包括可调焦点系统4和预扫描相机12。提供了压板5,在该压板5上定位有包含样本的病理载玻片形式的目标6。驱动机构7将扫描头2连接到轨道8,使得扫描头可以相对于目标6移动,如箭头9所示。轨道8还可以允许扫描头2横向移动(垂直于扫描头2的光轴11和扫描方向9),以对相邻条带进行成像。使用计算机系统10形式的电子控制器控制显微镜扫描仪1。在图1中还提供了坐标轴,以供下面的示例参考。纵坐标z轴与扫描头2的光轴和目标6的焦点高度对准,而横坐标x轴表示扫描方向(平行于图1中的箭头9)。目标6的表面在xy平面中对准,并且可调焦点系统4的透镜可沿z轴移动。在替代示例中,扫描头2保持静止,而目标6在xy平面中移动,以便在扫描过程中实现扫描头2和目标6之间的相对运动。预扫描相机12还可以形成与扫描头2分离的单元,并且可以独立于扫描头2操作。

[0028] 现在将参考图2至图5描述执行根据本发明的实施例的方法的显微镜扫描仪1的操作。该方法开始于步骤100(图2),在步骤100,执行预扫描以获取目标6的预扫描图像。扫描头2沿着轨道8来回移动,以使用预扫描相机12获取目标6的图像。预扫描相机12被配置为在1mm的焦点深度处获取目标的图像,该焦点深度明显高于样本的厚度(通常在2μm至10μm之间)。因此,在预扫描期间不调整预扫描相机12的焦点高度,并且以相对低的分辨率(例如1200dpi(47行/mm))快速产生预扫描图像。预扫描图像提供目标6上的样本的轮廓的概览,从该概览可以选择一个或多个感兴趣区域AOI以用于在第一成像扫描期间成像。成像扫描

以比预扫描慢得多的速度进行,因此期望在成像扫描期间仅对目标6上存在样本的那些区域成像。可以排除目标的“空白”或“空”区域。在步骤101,使用常规软件处理预扫描图像,以便将其中样本在预扫描图像中可见的每个区域识别为AOI。更具体地,使用预扫描图像的自动图像分析来产生指示样本预期存在于目标上的位置的第一概率图,以从第一概率图选择一个或多个AOI。通常,可选择AOI的边界以便恰好位于(如从预扫描图像识别的)样本的外边缘外部,使得样本完全包含在AOI内。然后,可以使用计算机系统10向用户显示具有划定的一个或多个AOI的预扫描图像。可选地,如果需要,用户然后可以使用计算机系统手动调整一个或多个AOI的边界。

[0029] 然后,该方法进行到步骤102,在步骤102,在每个AOI内(通常在AOI的中心)在xy平面中选择种子位置,并且使用行扫描仪3在该位置测量样本的焦点高度。可调焦点系统4的焦点高度在焦点高度的预定范围内变化,以便以约1μm的焦点深度在沿着z轴的多个不同的焦点位置处从目标6获得图像信息。然后,通过使用焦点评价值形式的焦点参数,从每个焦点位置处的图像信息计算对焦位置。通常,焦点评价值是图像内的复杂度的数值度量,其中,值越大,图像中的细节越详细。更准确对焦的图像具有相应的更高的评价值。然后,将具有最高评价值的焦点高度存储为针对种子位置的测量的对焦位置,并且对识别的任何剩余的种子位置重复该过程。

[0030] 计算扫描头2将移动经过的图像扫描路径,使得行扫描仪3对一个或多个AOI的整个表面进行成像。行扫描仪3沿图像扫描路径移动到起始位置,并聚焦在相应AOI的对焦位置。然后,第一成像扫描在步骤103开始,在步骤103,行扫描头2移动经过图像扫描路径,并且获得目标6上的多个相邻位置的图像。对于每个位置,记录焦点控制数据,该焦点控制数据包括:行扫描仪3的焦点评价值、对焦水平的位置的估计以及行扫描仪3的实际焦点高度。可以使用本领域已知的技术(如US9116035B2中所描述的)来计算估计的对焦水平。在沿着图像扫描路径的每个xy位置之间,在估计的对焦位置的方向上调整行扫描仪3的焦点高度或者将行扫描仪3的焦点高度调整到估计的对焦位置。以这种方式在一个或多个条带中对目标6进行成像,直到每个AOI都被完全成像。然后,在步骤104,将由行扫描仪3获取的各个图像组合在一起以形成目标的第一图像。

[0031] 期望第一图像包括在xy平面上的整个样本,并且始终对焦。然而,在前述方法步骤中可能发生许多误差,这阻碍了这种情况的发生。然后,在步骤105,分析第一成像扫描的功效(其可以被认为是第一成像扫描产生预期结果的程度)。该分析可以包括用于检查相应标准的任意数量的单独子过程,其示例将参考图3进一步详细讨论。然而,通常,该分析涉及关于以下项的评估:成像的目标上的区域是否充分覆盖由样本占据的目标6的区域,和/或样本是否在整个图像中正确聚焦。重要的是,参考在第一成像扫描期间获取的焦点控制数据来执行该过程。这种分析不需要计算,因此可以以时间高效的方式有效地识别第一成像扫描中的误差。如果识别出任何误差,则在步骤106确定扫描参数的变化,从而可以在第二成像扫描中校正这些变化。然后在步骤107,利用扫描参数(诸如,所使用的聚焦过程或成像的目标6的区域)的相关变化执行第二成像扫描,以便提高成像扫描的功效。

[0032] 现在将参考图3的流程图更详细地讨论图2的实施例。在步骤201,执行第一成像扫描,使得使用行扫描仪3对每个AOI成像。这相当于图2中的步骤103。然后该方法进行到步骤202,在步骤202,计算机系统10执行一系列测试中的第一个,以分析第一成像扫描的功效。

询问在第一成像扫描期间是否对多于一个AOI成像,并且如果答案为“是”,则该方法进行到步骤203,否则进行到步骤205。

[0033] 如果由于载玻片倾斜、载玻片变形、组织的厚度变化导致AOI的平均焦点高度彼此不相似或不在预期的容许偏差内,则可以假定AOI中的至少一个将不具有正确的焦点。通常,行扫描仪3将错误地聚焦于目标6的盖玻片顶部上的某物,并且如果在盖玻片顶部上存在足够的细节,则其将看起来已经被扫描。在这种情况下,焦点水平之间的盖玻片厚度差通常为约170μm。因此,在步骤203,评估每个AOI的平均焦点是否与容许偏差相匹配。找到具有最低平均焦点高度的AOI,并且将容许偏差设置在与最低平均焦点高度相差的阈值差内。阈值可以根据应用来设定,但是它通常超过样本的厚度,在这种情况下为20μm。更一般地,阈值通常可以在10μm至30μm的范围内选择。如果每个AOI的平均焦点均低于该阈值,则可以假定行扫描仪3没有聚焦在盖玻片的区域上,并且该方法进行到步骤205。否则,如果AOI的平均焦点超过阈值,则该方法进行到步骤204。在步骤204,确定来自第一成像扫描的扫描参数的变化,以执行第二成像扫描。特别地,确定聚焦过程中的变化。AOI的最低平均焦点高度将给出正确的组织焦点水平的良好指示。这使得能够在步骤204执行新的扫描,但是因为现在已知近似的焦点水平,所以在步骤102为每个种子位置搜索的焦点高度的范围可以被限制到例如先前找到的阈值焦点范围内。这确保了行扫描仪3在第二成像扫描期间不会聚焦在盖玻片上,从而提高了扫描的功效。

[0034] 在步骤205,生成焦点评价组织图,其指示在前一成像扫描期间针对沿着图像扫描路径的每个位置计算的焦点评价值。根据焦点评价值,可以确定行扫描仪3在哪里对焦。在存在组织的位置,即使在稍微离焦的区域上,焦点评价值也将较大。这给出了组织存在的位置的替代图。如果在第一成像扫描期间成像的第一扫描区域的边缘处记录了高的焦点评价值,则可以假设AOI被设置得太小而不能捕获所有组织。在步骤206,识别在AOI的边界处焦点评价值高于阈值数量的任何“边界位置”。如果识别出一系列相邻的边界位置,其指示第一扫描区域太小而不能捕获样本,则该方法进行到步骤207。

[0035] 在步骤207,通过计算比第一扫描区域覆盖更大部分的目标的第二扫描区域来确定扫描参数的变化。第二扫描区域可以仅仅是对不够大的第一扫描区域的边界的小的增加,或者是样本形状的数学预测,诸如将圆或弧或样条曲线拟合到根据焦点评价组织图确定的组织边缘。期望的是,不要不必要地增加扫描区域以便覆盖其中可以假定不存在样本的目标区域,因为这将不必要地增加扫描时间。可选地,如果已知用户改变了边界位置处的AOI边界,那么可以假定用户不期望扫描所有组织。否则,然后在新的扫描区域上执行第二成像扫描,以便对未包括在第一成像扫描中的位置中的样本进行成像。

[0036] 如果焦点评价图没有指示第一扫描区域太小而不足以捕获样本,则该方法从步骤206进行到步骤208。在步骤208,识别预扫描图像中可见的任何表面细节。这是通过将预扫描图像与从第一成像扫描获取的成像数据进行比较来实现的。从步骤104(图2)可以回想起,产生了与在成像扫描期间获取的各个图像的组合对应的目标的第一图像。该图像将具有与预扫描图像完全不同的数值孔径,并且因此具有与预扫描图像完全不同的焦点深度。预扫描图像将具有较大的焦点深度,该较大的焦点深度表示载玻片和盖玻片的表面上的缺陷(诸如,灰尘和划痕)处于对焦状态,而成像扫描的小的焦点深度表示载玻片和盖玻片的表面上的灰尘和划痕不处于对焦状态。然而,在可以将来自第一成像扫描的成像数据与预

扫描图像进行比较之前,第一图像的分辨率被按比例缩小到与预扫描图像相似或相同的分辨率。

[0037] 典型的全载玻片成像图像文件包含多层图像,每层图像的分辨率不同。这使得图像查看应用程序能够缩小图像并在图像周围移动,而不必访问大量数据。例如,如果图像文件具有0.25μm的像素,并且查看应用程序示出2000×3000个像素,以示出这需要读取6M个像素,其在未压缩的情况下是18M字节的数据。在压缩的情况下,这可能仅是2M字节的数据。如果要求观看者在较低分辨率"缩小"下显示较大区域,例如10x区域,则从0.25μm的像素数据读取该区域将需要60M个像素或20M字节的压缩数据。为了避免这种情况,通常,文件包含接近所需分辨率的附加图像。例如,其可具有比观察者可读取并用于显示的全0.25μm分辨率数据低8倍的分辨率的图像。这将使观察者仅能读取大约8M个像素或3M字节的数据。这种布置如何操作是无关紧要的,然而,从高分辨率(HR)数据导出的这种较低分辨率数据的存在使得能够快速访问分辨率比全扫描分辨率低的图像数据。该低分辨率数据在此将被称为目标的"第二图像",并且在步骤208被分析以识别表面细节。第二图像通常具有与预扫描图像相似或相同的分辨率。例如,这些图像的分辨率可以在两倍的范围内。然后,第二图像可以分辨与预扫描图像相似尺寸的特征,并且可以比HR"第一图像"快得多地被处理(例如快大约4000倍)。

[0038] 图4A示出了目标的预扫描图像的示例,在图像的中上部示出了两个划痕。从第一图像得到的、具有与预扫描图像相似或相等的分辨率的对应的第二图像在图4B中示出,并且没有示出这些划痕。将回想到,在步骤101中生成预扫描图像的第一概率图,以便识别一个或多个AOI。在步骤208中,以类似的方式生成概率图(本文中称为"第二概率图"),但使用目标的第二图像来识别图像的明显示出了样本的区域。然后从第一概率图中减去第二概率图,以示出目标的其中表面细节在第一图像中可见的区域。

[0039] 然后,该方法从步骤208进行到步骤209,在步骤209,分析来自第一成像扫描的焦点控制数据,以识别一个或多个"不良焦点区域",在该不良焦点区域中,行扫描仪3没有聚焦在样本上。这可通过识别目标上的在第一成像扫描期间焦点评价值低于阈值数的位置来实现。可以预期,针对目标上的发现表面细节的位置记录的焦点评价值可以低于该阈值。这样的位置可能仅被成像,因为它们在步骤101中未被正确地识别为具有组织,因此不必在这些位置重复成像扫描。然而,如果剩余一个或多个不良焦点区域(除表面细节位置之外),那么方法进行到步骤210。可选地,如果不良焦点区域具有最小尺寸,例如在任何方向上至少具有0.5mm的长度,则该方法仅从步骤209进行到步骤210,否则进行到步骤211。可选地,最小尺寸可以由计算机系统10的用户设置。在步骤210,确定新的聚焦过程,用于执行第二成像扫描。在这种情况下,确定应当在一个或多个不良焦点区域内重复第一成像扫描,但是该第一成像扫描以在步骤101针对附加种子位置找到的对焦位置进行。在这些附加位置处测量对焦位置的情况下,第二成像扫描将继续进行,其中,行扫描仪3在一个或多个不良焦点区域上的不同焦点高度处对目标进行成像。

[0040] 如果步骤209的结果是没有剩余的不良焦点区域,则该方法进行到步骤211。对于沿着图像扫描路径的每个位置,当获取图像时,焦点控制数据提供了对样本的正确焦点高度(也称为"焦面")的估计,以及行扫描仪3的实际焦点高度的记录。由此,可以确定扫描仪聚焦在组织焦点的一个焦点深度之外的位置,从而使得能够识别已知焦点错误的组织区

域。这在组织的最边缘处可能更典型,因为扫描仪必须在接近组织时预测组织的焦点所在位置。由于许多因素,诸如组织在边缘处更薄或更厚或者载玻片变形,而导致预测是错误的,并且当扫描仪到达组织时,在经过透明载玻片之后,焦点机构识别出预测误差,但是它可能花费少许距离来校正预测误差。可能发生的产生这种焦点跟踪误差的其它条件可以包括快速改变组织焦点,诸如当组织折叠在其自身上或弯曲时。

[0041] 在步骤211,创建位置误差图,在该位置误差图中,识别出所有这样的组织区域:对于这些区域,行扫描仪3的实际焦点高度偏离样本的实际焦面至少1μm,或者正确的焦点高度是未知的。图5A示出了目标的图像,其中,透明载玻片被示为白色,而对焦的样本区域被示为灰色。将不良焦点区域(其中位置误差超过1μm或焦点是未知的)显示为黑色。将存在对位置误差的容许偏差,但是当误差太大时,可以认为该误差是不可接受的。在识别了以黑色示出的区域之后,可以在步骤213例如使用类似于(较早讨论的)US2019/0266726中描述的算法来执行限于这些区域的第一图像的质量的自动分析。可以替代地使用其他自动分析技术,包括2D标准偏差、梯度分析和边缘滤波(如本领域已知的)。分析结果将是图像的焦点对于用户的目的(通常用于执行病理评估)是可接受的,或者是不可接受的。尽管图像分析过程通常在计算上要求高,但是因为现在仅需要第一图像的一小部分用于分析,因此它可以相对快速地完成。在图5A的示例中,需要检查少于1%的图像。替代地,可以只检查焦点未知的组织区域的HR“第一图像”,这意味着以这种方式分析图像的更小部分。

[0042] 图5B提供了目标图像的第二示例,除了(在执行了上述图像分析技术之后)现在被识别为具有可接受的焦点质量的区域也是灰色之外,该目标图像与图5A的目标图像相同。如果在第一图像中剩余任何不良焦点区域(对应于标记为黑色的那些区域),或者如果这样的区域超过第一图像的阈值部分,则可以确定扫描参数的改变,以用于执行第二成像扫描。例如,可以确定应当重复第一成像扫描,以对剩余的不良焦点区域内的附加种子位置进行对焦测量。可选地,可以将所得到的误差图显示给用户,作为对要检查图像的哪些区域的指导,这将提高任务的速度和准确性。

[0043] 如果在步骤212确定位置误差不超过焦点深度,或者质量不可接受的不良/未知焦点区域未占据第一图像的阈值部分,则该方法前进到步骤214。将在第一成像扫描之前最初为一个或多个种子位置计算的对焦位置与在第一成像扫描期间识别的位置的估计焦面进行比较。如果它们不相似,例如在彼此的阈值间隔内,则可以假定已经产生误差,并且该方法进行到步骤215。在步骤215,确定聚焦过程的变化以执行第二成像扫描。特别地,种子位置在目标上移动。然后,可以如图2中所述地进行第二成像扫描,但是使用新的种子位置。如果步骤215的结果是每个种子焦点与从焦点控制数据确定的跟踪焦点匹配,则确定第一成像扫描是可接受的。然后,扫描参数将不需要改变以执行第二成像扫描,并且在步骤104中生成的目标的第一图像可以显示给用户以用于分析。

[0044] 将理解,步骤203、206、209、212和214中的每个涉及用于使用焦点控制数据分析第一成像扫描的功效并且基于该分析确定来自第一成像扫描的一个或多个扫描参数的变化以用于执行第二成像扫描的过程的示例。在执行第二成像扫描之后,参考图3讨论的质量控制过程通常将被重复,直到由先前成像扫描产生的成像数据被确定为是可接受的或者已经达到迭代的阈值次数。在替代实施例中,在启动第二成像扫描之前,可以单独地或以任何组合执行这些过程中的任何过程。因此,可以在开始第二成像扫描之前识别扫描参数的多个

变化,以便进一步减少在开始第一成像扫描和输出适合于由用户分析的目标的图像之间经过的总时间。

[0045] 总之,因此提供了一种用于操作显微镜扫描仪的改进方法,包括用于分析由成像扫描生成的数据以便确保目标已经被正确成像的方法。有利地,使用在成像扫描期间生成的焦点控制数据来执行分析。这使得能够以快速和有效的方式获得结果。如果由于该分析而在第一成像扫描中识别出任何误差,则识别出扫描参数的变化,使得可以执行校正该误差的第二成像扫描。

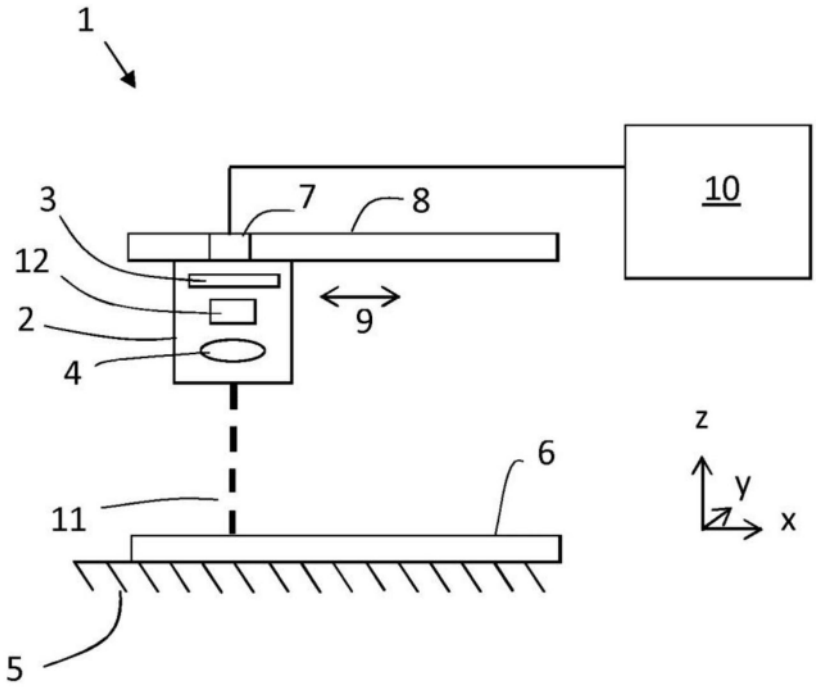


图1

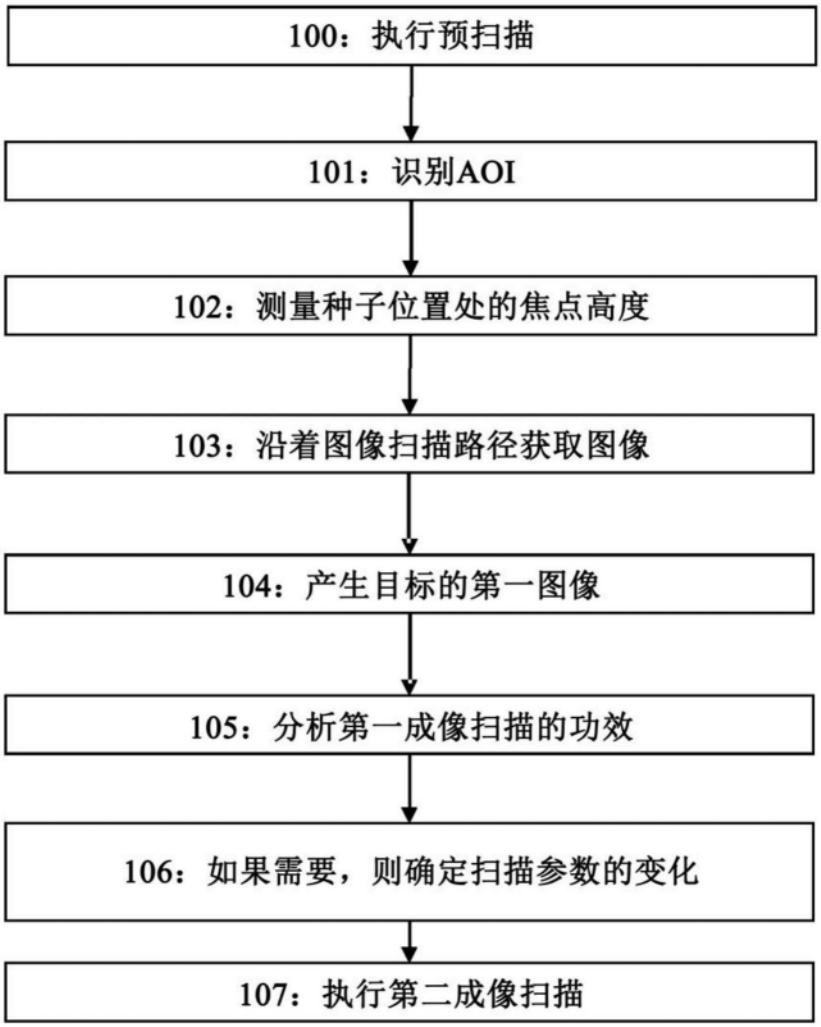

100：执行预扫描
101：识别AOI
102：测量种子位置处的焦点高度
103：沿着图像扫描路径获取图像
104：产生目标的第一图像
105：分析第一成像扫描的功效
106：如果需要，则确定扫描参数的变化
107：执行第二成像扫描

图2

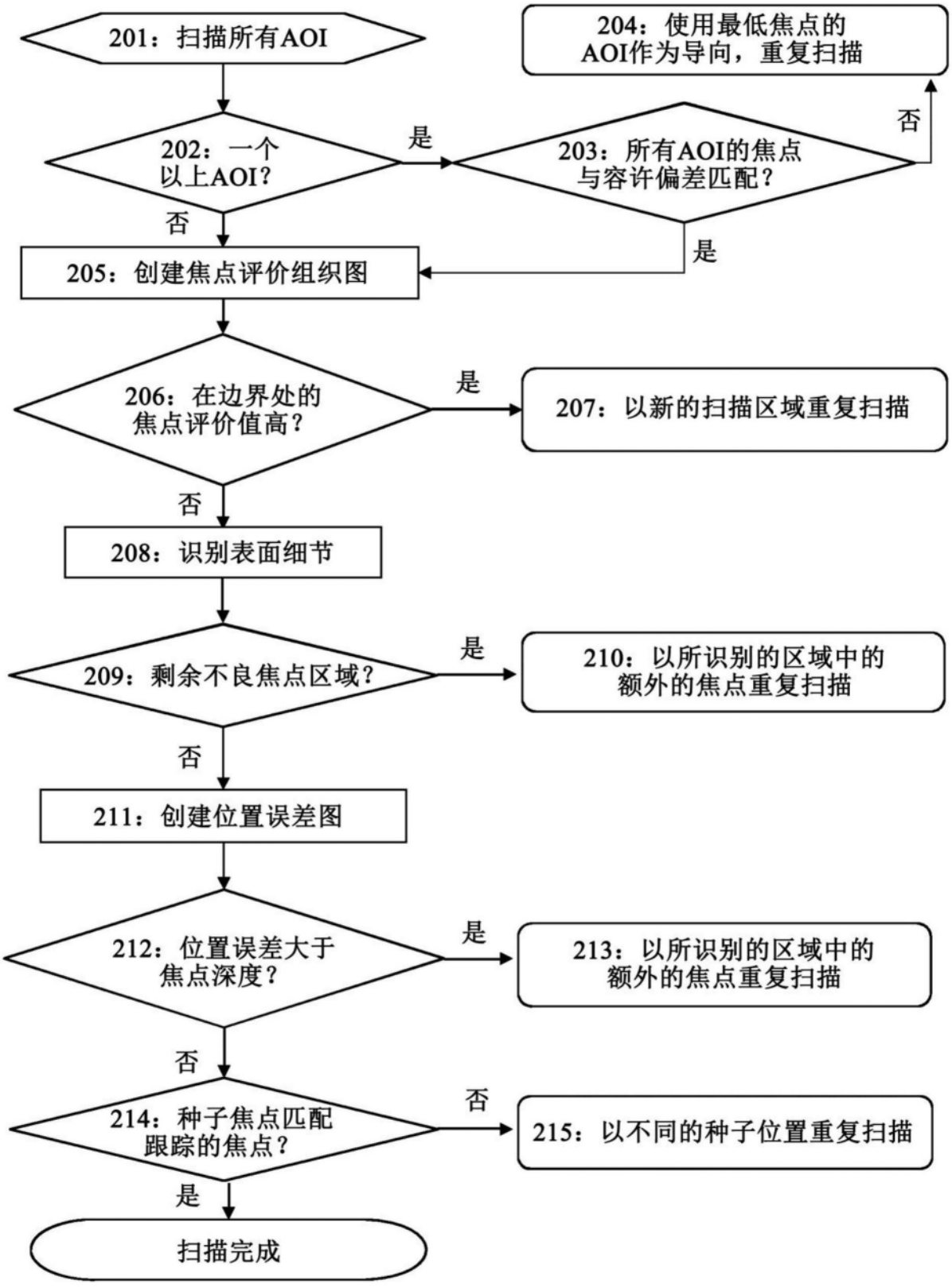

201：扫描所有AOI
202：一个以上AOI?
是
203：所有AOI的焦点与容许偏差匹配?
否
204：使用最低焦点的AOI作为导向，重复扫描
否
是
205：创建焦点评价组织图
206：在边界处的焦点评价值高?
是
207：以新的扫描区域重复扫描
否
208：识别表面细节
209：剩余不良焦点区域?
是
210：以所识别的区域中的额外的焦点重复扫描
否
211：创建位置误差图
212：位置误差大于焦点深度?
是
213：以所识别的区域中的额外的焦点重复扫描
否
214：种子焦点匹配跟踪的焦点?
否
215：以不同的种子位置重复扫描
是
扫描完成

图3

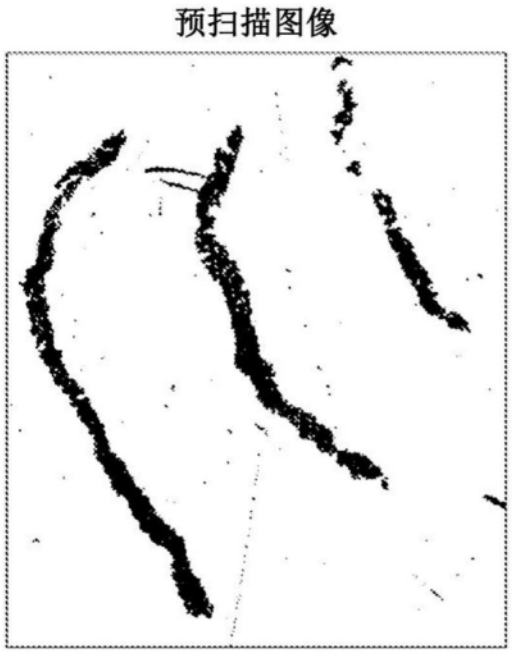


图4A



图4B

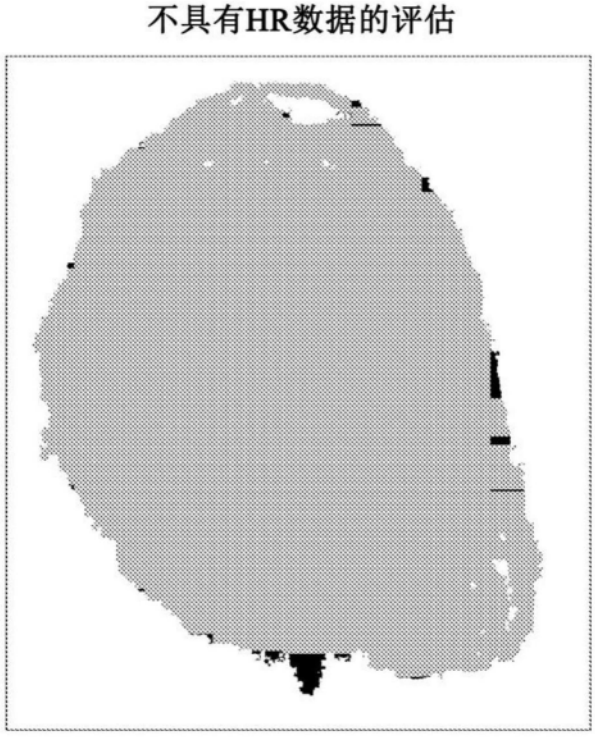


图5A

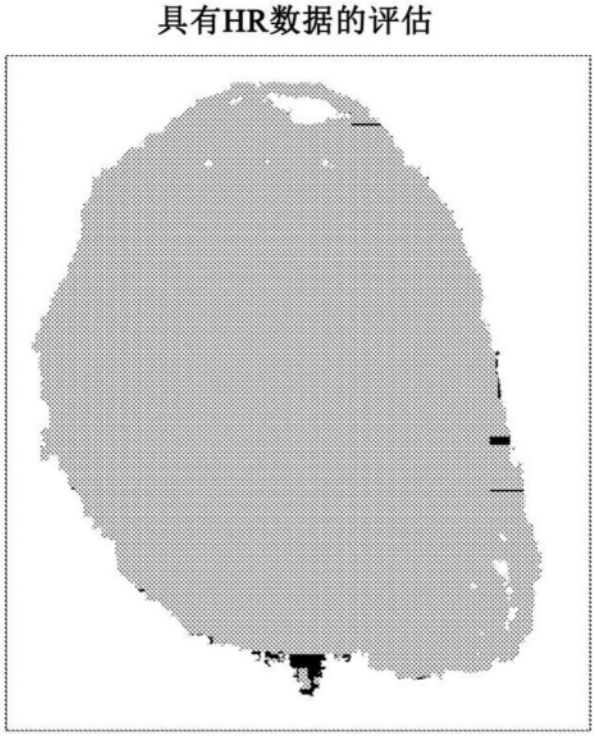


图5B