

ITALIAN PATENT OFFICE

Document No.

102012902034580A1

Publication Date

20130922

Applicant

VISIA IMAGING S.R.L.

Title

UN METODO PER LA REALIZZAZIONE DI UNA ANTEPRIMA PER
L'IDENTIFICAZIONE DI UN PREPARATO POSTO SU DI UN VETRINO
ATTRAVERSO L'ACQUISIZIONE DI IMMAGINI NON CONTIGUE

Descrizione a corredo della domanda di brevetto per modello di utilità dal titolo:

**UN METODO PER LA REALIZZAZIONE DI UNA ANTEPRIMA PER
5 L'IDENTIFICAZIONE DI UN PREPARATO POSTO SU DI UN VETRINO
ATTRAVERSO L'ACQUISIZIONE DI IMMAGINI NON CONTIGUE**

A nome di:

VISIA imaging s.r.l., in persona del suo legale
10 rappresentante Dott. Sbaraglia Luigi, con sede legale in
Corso Italia n. 24, CAP 52027 San Giovanni Valdarno (AR),
P.I. 01406610517,
rappresentata dall'Ing. Mario Emmi dello Studio Brevetti
Turini s.r.l., Via Lamarmora n. 55, CAP 50121 Firenze
15 (FI), iscritto all'Albo Consulenti Brevetti con il n. 1298
B.

Inventore designato: FOGGI Alessandro

Ambito dell'invenzione

20 La presente invenzione riguarda il settore tecnico
inerente la tecnica di acquisizione delle immagini
relative ad un vetrino su cui è posto un preparato
biologico.

In particolare l'invenzione si riferisce ad una
25 tecnica di acquisizione immagini, per l'identificazione di
un preparato posto sul vetrino, la quale risulta essere
particolarmente rapida e che consente al contempo
un'eccellente risparmio di memoria del computer associato.

30 Brevi cenni alla tecnica nota

Sono da tempo note le tecniche di acquisizione delle
immagini di un vetrino su cui è posto un preparato
biologico. Grazie a tale tecnologia il patologo può
analizzare comodamente nel proprio personal computer tutte

le immagini precedentemente acquisite elettronicamente. Queste immagini possono essere ingrandite e navigate a piacimento a seconda delle esigenze del patologo e vengono visualizzate con un grado di qualità elevata, esattamente
5 come se le stesse fossero visualizzate attraverso un normale microscopio.

I notevoli vantaggi di questa tecnica nota sono molteplici. Ad esempio il patologo può condividere queste immagini via internet o intranet con altri patologi posti
10 a distanza in centri medici anche tra loro diversi.

Un altro vantaggio è che l'analisi, di qualsiasi natura essa sia, può essere effettuata in qualsiasi momento senza più il rischio di un deperimento del preparato posto sul vetrino.

15 La tecnica utilizzata è denominata, in gergo tecnico, con il termine del "mosaicing" ed è oramai nota ed adottata da molto tempo.

La tecnica prevede una prima fase di acquisizione di immagini al basso ingrandimento allo scopo di creare una
20 anteprima del vetrino, denominata in gergo tecnico "Preview". In pratica il vetrino, con il preparato su di esso posto, viene predisposto su di una slitta mobile la quale è collocata al di sotto di un obiettivo del tutto simile all'occhio di un microscopio. Tale obiettivo è in
25 grado di acquisire immagini a vari ingrandimenti grazie all'ausilio di una telecamera connessa ad un computer per la memorizzazione e la elaborazione delle stesse.

La tavola viene fatta traslare al di sotto dell'obiettivo in modo tale da acquisire una pluralità di
30 immagini (denominate "Tiles" in gergo tecnico) le quali di fatto sono delle porzioni adiacenti di area del vetrino. La successione di immagini acquisite è continua nel senso che la traslazione della tavola mobile, e dunque la successiva acquisizione di una "Tile", è tale per cui una

Tile è esattamente adiacente ad un'altra. Una volta scansionata l'intera area del vetrino, queste immagini vengono tra loro ricomposte utilizzando le coordinate di traslazione della tavola le quali sono momentaneamente memorizzate ed ottenendo così una prima immagine continua ad un primo ingrandimento, detto basso ingrandimento o Preview.

In questa prima fase, infatti, viene selezionato un ingrandimento basso in modo tale che un numero plausibile di acquisizione consenta la ricostruzione del vetrino. Generalmente si usa un primo ingrandimento a 4X che consente una acquisizione di circa 200 campi.

Si ottiene così una prima preview complessiva del vetrino. La preview serve ad individuare le aree di preparato di interesse che verranno così successivamente acquisite all'alto ingrandimento come di seguito descritto.

Una o più aree di interesse del vetrino ripreso al basso ingrandimento vengono dunque selezionate per ritrarre le stesse immagini ad un secondo ingrandimento maggiore del primo.

L'obiettivo seleziona un ingrandimento maggiore e una o più aree di interesse selezionate sulla preview di basso ingrandimento vengono ritratte all'alto ingrandimento con la stessa tecnica del mosaicing sopra descritta, ovvero acquisendo aree adiacenti di immagine e poi tra loro combinandole in una sola immagine finale navigabile.

Il patologo ha dunque a disposizione una preview complessiva del vetrino ed una o più immagini all'alto ingrandimento di potenziali aree di interesse che possono essere navigate ed ingrandite softweristicamente con tecniche oramai note da tempo (tecniche di navigazione ed ingrandimento dei dettagli delle immagini).

Secondo una prima forma nota di acquisizione di dette

immagini al basso e all'alto ingrandimento, tali immagini sono tali per cui non esiste una correlazione tra basso e alto ingrandimento. La preview di basso ingrandimento è mantenuta solo come riferimento visivo dell'intero vetrino su cui si opera e per selezionare le aree di interesse per effettuare l'acquisizione successiva all'alto ingrandimento.

Un perfezionamento di detta tecnica nota è stato presentato nel brevetto Europeo concesso EP1021786 a nome di Bacus Laboratories in cui, oltre alla tecnica già descritta, viene implementato anche un data system che invece correla le coordinate del basso ingrandimento a quelle dell'alto ingrandimento. In questa maniera un punto selezionato nell'alto ingrandimento viene individuato anche nella preview di basso ingrandimento dando così al patologo un chiaro riferimento del punto complessivo in cui si sta effettuando l'analisi.

Sono a questo punto evidenti gli svantaggi tecnici di questa tecnica nota.

In particolare è evidente come un'acquisizione al primo ingrandimento (ovvero al basso ingrandimento) di immagini tra loro adiacenti obblighi ad un elevato numero di acquisizione campi (con il termine campo si intende l'area dell'immagine acquisita e dunque l'immagine stessa o la Tile). Come conseguenza diretta di questo, è evidente che il computer associato deve impiegare molta memoria per elaborare questa immagine in una unica preview, nonostante la stessa abbia prevalentemente una semplice funzione di identificazione di aree di interesse da acquisire successivamente all'alto ingrandimento. Inoltre anche il tempo necessario per scannerizzare tutta l'area del vetrino è molto elevato.

Sintesi dell'invenzione

È quindi scopo della presente invenzione fornire un

nuovo metodo che consenta un'acquisizione rapida e, al contempo, che preservi memoria e tempi di acquisizione.

In particolare è scopo della presente invenzione implementare un metodo di acquisizione di una preview al
5 basso ingrandimento che preservi memoria e sia rapido, sfruttando dunque il fatto che, nella presente tecnica adottata, la preview ha il solo scopo di realizzare una immagine di riferimento che identifica il preparato al solo fine di rendere individuabili le successive aree di
10 acquisizione all'alto ingrandimento.

Questi e altri vantaggi sono dunque ottenuti con il presente metodo per la ricostruzione virtuale di un preparato posto su di un vetrino attraverso l'acquisizione di immagini in accordo alla rivendicazione 1.

15 Il metodo comprendente le operazioni di:

- Predisposizione del vetrino (1) sulla tavola di un microscopio ottico configurato per l'acquisizione elettronica di immagini ad un predeterminato ingrandimento;
- 20 - Selezione di un primo ingrandimento per la realizzazione di una anteprima del vetrino;
- Traslazione (X, Y) della tavola rispetto all'obiettivo del microscopio in modo tale da acquisire un'immagine di un campo (2, 2', 2'') in corrispondenza di ogni
25 traslazione effettuata, detta traslazione essendo tale per cui almeno una parte, preferibilmente tutti, i campi acquisiti (2, 2', 2'') non risultino tra loro contigui (o adiacenti che dir si voglia) ma distanziati di una predeterminata quantità;
- 30 - Composizione delle immagini acquisite (2, 2', 2''), detta composizione producendo una immagine di anteprima del vetrino a detto primo ingrandimento la quale presenta una o più strisce (preferibilmente una pluralità) di discontinuità dell'immagine stessa.

Il presente metodo restituisce una immagine di preview finale comprendente dette strisce di vuoto. Ciò è ottenuto perché nella procedura di ricomposizione della immagine ogni immagine acquisita viene ricollocata come da arte
5 nota alla coordinata di riferimento a cui è stata acquisita. La ricomposizione mantiene dunque le strisce di discontinuità le quali dipendono chiaramente dal numero di campi non adiacenti acquisiti e dunque dalla traslazione impostata nella direzione X e/o Y.

10 In tal maniera, a fronte di una immagine in parte incompleta, si ha fisicamente una acquisizione di un numero notevolmente inferiore di campi in funzione della distanza di distacco tra un campo e il successivo. Il tutto si traduce con un risparmio di memoria ed una
15 velocità di acquisizione notevolmente maggiore.

I vuoti vengono poi riempiti con tecniche note di ricostruzione dell'immagine che ricostruiscono le parti mancanti prendendo come riferimento la zona immediatamente adiacente di immagine.

20 E' dunque evidente come tale processo in qualche modo abbia intrinseco in se un certo errore di approssimazione dell'immagine ricostruita. Tuttavia tale errore, a fronte però del risparmio di memoria e di tempo, è assolutamente accettabile dato che, come detto, tale immagine di preview
25 non è quella che navigherà il patologo ma bensì, come da arte nota, serve solo ad individuare aree di interesse da riprendere al secondo ingrandimento maggiore del primo. L'immagine di preview, una volta ricostruita ed una volta individuate e selezionate le aree di interesse da
30 acquisire all'alto ingrandimento, potrebbe anche tranquillamente eliminarsi.

Segue dunque una normale fase successiva di acquisizione all'alto ingrandimento.

Ulteriori vantaggi sono desumibili dalle

rivendicazioni dipendenti.

Breve descrizione dei disegni

Ulteriori caratteristiche e i vantaggi della presente invenzione risulteranno più chiaramente con la
5 descrizione che segue di alcune forme realizzative, fatte a titolo esemplificativo e non limitativo, con riferimento ai disegni annessi, in cui:

- La figura 1 mostra un vetrino acquisito in accordo al presente metodo;
- 10 - La figura 2 mostra l'immagine equivalente ricostruita e avente l'insieme di righe e colonne costituite da strisce vuote tra loro intersecate a griglia;
- La figura 3 mostra l'immagine ricostruita con la
15 tecnica del "Painting";
- La figura 4 mostra un esempio di riduzione dimensione della immagine;
- La figura 5 mostra un esempio di passaggio da una immagine con strisce vuote ad una immagine ricostruita;
- 20 - La figura 6 mostra graficamente la tecnica FFM usata per la ricostruzione dell'immagine;
- La figura 7 mostra un diagramma di flusso complessivo del metodo in accordo alla presente invenzione;
- 25 - Le figure 8 e 9 mostrano un esempio di post elaborazione dell'immagine in cui il contorno rettangolare
70 che delimita il preparato evidenziato, e che risulta tangente nei punti più esterni del contorno del preparato, viene allargato per compensare un eventuale errore di
30 approssimazione del contorno stesso;
- La figura 10 è un diagramma di flusso che descrive il metodo implementato per effettuare l'identificazione del preparato.

Descrizione di alcune forme realizzative preferite

In una fase iniziale del presente metodo il vetrino viene posto su di una tavola mobile al di sotto dell'obiettivo di un microscopio ottico e viene selezionato un primo ingrandimento a cui effettuare detta
5 acquisizione di immagini (generalmente 4X). In questa fase, come ad arte nota, la tavola trasla sotto l'obiettivo il quale, per ogni posizione, acquisisce un campo (2, 2', 2'') sino a quando tutto il vetrino non è stato scansionato. In questa maniera, ricomponendo le
10 immagini acquisite, si ricostruisce una preview del vetrino.

A differenza di tale arte nota, la traslazione della tavola è adesso tale per cui ogni campo acquisito è distanziato e non adiacente al precedente. In questa
15 maniera l'acquisizione crea delle aree di vuoto, ovvero aree prive di immagine acquisita.

La figura 1 schematizza dunque un vetrino 1 acquisito in accordo al presente metodo e mostra come tutti i campi (2, 2', 2'') siano tutti tra loro distanziati.

20 Solo a titolo di esempio la figura 1 mostra come la Tile 2 (o riquadro di immagine acquisita che dir si voglia) sia separata e distanziata dalla tile 2' lungo la direzione di acquisizione X tale per cui un'area di vuoto è presente tra le due immagini. Partendo dunque dalla
25 prima tile 2 acquisita, la traslazione della tavola su cui è posto il vetrino è tale per cui il secondo campo 2' acquisito non è confinante con il primo ma lascia un "gap" di vuoto. Questa distanza di vuoto viene mantenuta costante lungo tutta la direzione X.

30 Alla stessa maniera, completata la prima riga 10', si passa alle righe successive riposizionando la tavola in modo tale per cui l'obiettivo punta la tile 2'' sottostante la riga 10'. In questo caso la traslazione (X, Y) è tale per cui anche questa tile 2'' appartenente alla

seconda riga 10'' è distanziata dalla riga superiore 10' di un certo gap_Y. A questo punto si continua l'acquisizione delle tiles lungo la riga 10'' esattamente come sopra descritto. Il procedimento si ripete
5 iterativamente sino a quando tutto il vetrino non è stato scansionato. Tutte le righe di acquisizione generate sono dunque tutte tra loro distanziate di una predeterminata quantità, generalmente mantenuta costante e ogni componente della riga è distanziato dal suo successivo di
10 una distanza gap_X generalmente mantenuta costante.

L'immagine finale viene poi ricomposta ricomponendo le singole tiles acquisite e mantenendo inalterate le coordinate di acquisizione di ogni tile. In questa maniera, come da figura 1, si otterrà una immagine finale
15 provvista di una griglia di vuoto. L'immagine finale è dunque realizzata da una pluralità di immagini (2, 2', 2'') tutte tra loro distanziate l'una dall'altra in modo tale da formare una matrice di righe e colonne di spazi vuoti.

20 La figura 2 mostra un esempio di immagine di preview acquisita in accordo al presente metodo e presentante dunque una pluralità di righe e colonne di vuoto che formano una sorta di griglia nell'immagine stessa.

In sostanza, durante l'acquisizione delle immagini al
25 basso ingrandimento, la quantità di traslazione del tavolino mobile (X; Y) al di sotto dell'obiettivo è programmata in modo tale che, acquisita una immagine 2 (riferimento alla figura 1) la successiva immagine risulta non confinante con l'immagine precedente.

30 E' evidente come la traslazione del tavolino, sia in direzione X che in direzione Y, può essere di una quantità qualsiasi e non necessariamente uguale. Tuttavia una traslazione uguale sia in X che in Y consente di ottenere strisce di area prive di immagini (strisce orizzontali che

si intersecano con quelle verticali) tutte della stessa dimensione.

A tal scopo, solo a titolo di esempio e dunque in maniera non limitativa, si indica come nella presente
5 invenzione si sia scelto di programmare una traslazione tale per cui l'acquisizione si riduce di un solo campo nella direzione X e di due campi nella direzione Y. Questo significa che le colonne di strisce bianche, se sommate, equivalgono in larghezza alla larghezza di una immagine
10 mentre le righe di strisce bianche, se sommate, equivalgono come dimensione alla altezza di due immagini.

In tecnica nota, dunque, si acquisiscono generalmente 10X20 campi, ovvero 200 campi in tutto in circa 40 secondi di tempo.

15 In accordo alla presente invenzione si acquisiscono 9x18 campi, dunque 162 campi in soli 32 secondi (vedi i campi di figura 1). E' dunque evidente come sia notevolmente ridotto sia il tempo di acquisizione che la memoria necessaria per contenere ed elaborare dette
20 immagini. Si ricorda che un pixel corrisponde a 2.5 micron e che le dimensioni standard di un vetrino in micron sono 25000 micron x 50000 micron mentre le dimensioni standard sempre del vetrino in pixel sono 10000 pixel x 20000 pixel. La telecamera ha invece una dimensione di 1000X1000
25 Pixel. Con detti dati è facile verificare come la traslazione in direzione X è programmata in modo tale che il gap_x sia di 312 micron (125 pixel) mentre il gap_y sia di 292 micron (117 pixel).

Data la conformazione standard del vetrino si è
30 dunque selezionata una traslazione nella direzione X diversa da quella nella direzione Y.

Con una velocità standard di acquisizione di cinque frame al secondo si è calcolato, come sopra detto, un risparmio di tempo di ben otto secondi sull'acquisizione

di immagine ed una riduzione di ben 38 campi.

Naturalmente, nulla vieterebbe di programmare il sistema in modo tale che le strisce risultino tutte tra loro di larghezze diverse.

5 Inoltre nulla vieta di applicare detto metodo in modo tale che solo una parte delle immagini acquisite siano tra loro distanziate.

Andando avanti nella descrizione del presente metodo, la figura 3 mostra l'immagine complessiva la quale è stata
10 integrata delle aree mancanti.

Questo è facilmente ottenibile implementando un calcolo da parte dell'elaboratore associato ben noto nello stato della tecnica e qui di seguito descritto nel dettaglio a scopo chiarificatore e denominato con
15 l'acronimo (FFM).

Ai fini di ottimizzare la memoria, una operazione preliminare al riempimento dei vuoti prevede una riduzione dell'immagine che consente ulteriormente un risparmio di memoria. Sia nella direzione X che nella direzione Y
20 vengono prelevati in successione e tra loro accoppiati soltanto un Pixel ogni otto Pixel, ovvero un pixel viene prelevato e altri otto esclusi.

L'immagine ricomposta, sebbene privata di un elevato numero di Pixel, risulta comunque ben definita ed
25 accettabile per i presenti scopi.

Si ricorda infatti come, in accordo alla presente invenzione, la preview viene utilizzata a soli fini di identificazione di aree da acquisire successivamente all'alto ingrandimento.

30 Processi di approssimazione che consentono risparmi di memoria e incrementano la rapidità di esecuzione delle acquisizioni sono dunque accettabili, sebbene introducano una imprecisione nella immagine finale.

La figura 4 mostra, a titolo di esempio, una sequenza

di pixel 20 prelevati ad intervalli di otto pixel (un pixel prelevato e otto scartati) e poi ricombinati uno accanto all'altro in modo tale da ottenere una immagine finale più piccola. E' evidente come uno scarto di otto
5 pixel ogni pixel prelevato porta ad una riduzione notevole dell'immagine di ben sessantaquattro volte più piccola rispetto alla originale di partenza. Questa riduzione contribuisce notevolmente alla riduzione di memoria richiesta.

10 E' evidente come, ai fini della presente invenzione, possa comunque escludersi un numero diverso di Pixel da quello di otto indicato.

Andando avanti nella descrizione andiamo maggiormente in dettaglio con la tecnica della ricostruzione dei vuoti
15 con l'algoritmo FFM appartenente alla nota tecnica di "Impanting".

La tecnica, come da figura 5, consente la rimozione della griglia di strisce vuote ricostruendo in maniera sufficientemente fedele l'immagine di preview.

20 Questa tecnica, come mostrato in figura 6, si basa sulla analisi della striscia di area vuota in modo tale da poterla ricostruire sulla base di una analisi dell'area immediatamente adiacente e che forma l'immagine effettiva.

L'approssimazione è naturalmente tanto più precisa
25 quanto minore è la larghezza della striscia che vogliamo ricostruire.

La figura 6 illustra la situazione in cui è necessario assegnare un valore al punto $\mathbf{p}$ situato sul bordo ($\partial\Omega$) della regione (Ω) da ricostruire. All'interno
30 dell'immagine originale si considera un piccolo intorno $B_\varepsilon(\mathbf{p})$ del punto ($\mathbf{p}$) di dimensione (ε). Il valore di ($\mathbf{p}$) verrà determinato dai valori dei punti dell'immagine originale vicini a ($\mathbf{p}$), quindi all'interno di $B_\varepsilon(\mathbf{p})$. Le considerazioni verranno fatte per le immagini a singolo

canale in scala di grigio, visto che l'estensione alle immagini a colori è facilmente attuabile.

Data l'immagine originale $I_q(p)$ e il suo gradiente $\nabla I(q)$ calcolato nel punto (q) , per un (ϵ) sufficientemente
 5 piccolo è possibile considerare l'approssimazione $I_q(p)$ di primo ordine dell'immagine I nel punto p .

$$I_q(p) = I(q) + \nabla I(q)(p - q)$$

10 Il punto p viene calcolato come funzione di tutti i punti q che appartengono a $B_\epsilon(p)$ sommando le stime di tutti i punti q moltiplicati per una funzione di pesatura normalizzata $w(p, q)$ progettata in modo propagare i
 15 dettagli dell'immagine all'interno di $B_\epsilon(p)$.

$$I(p) = \frac{\sum_{q \in B_\epsilon(p)} w(p, q) [I(q) + \nabla I(q)(p - q)]}{\sum_{q \in B_\epsilon(p)} w(p, q)}$$

Per poter ricostruire l'intera regione Ω , dobbiamo
 20 applicare iterativamente l'equazione $I(p)$ a tutti i pixel appartenenti a $\delta\Omega$ aumentando progressivamente la distanza dalla posizione iniziale $\delta\Omega_1$ e facendo avanzare il bordo all'interno di Ω fino a che l'intera regione non è stata ricostruita. Ricostruendo i punti mentre si incrementa la
 25 distanza da $\delta\Omega_1$ fa sì che le aree più vicine all'immagine originale vengano elaborate per prime, come avviene nelle tecniche di riempimento tipiche della pittura manuale. Per implementare questa procedura è necessario un metodo in grado di propagare $\delta\Omega$ all'interno di Ω facendo avanzare i
 30 pixels di $\delta\Omega$ in base alla loro distanza dal bordo iniziale $\delta\Omega_1$. Per risolvere questo problema è stato scelto l'algoritmo FMM, cioè un risolutore dell'equazione *eikonal*:

$$|\nabla T| = 1 \text{ su } \Omega, \text{ con } T = 0 \text{ su } \delta\Omega$$

35

La soluzione T dell'equazione sopra indicata è la

mappa della distanza dei pixels di Ω dal bordo $\delta\Omega$. Gli insiemi di livello (isolinee) di T rappresentano i successivi $\delta\Omega$ risultanti dalla riduzione di Ω necessaria per la ricostruzione. La normale N a $\delta\Omega$ necessaria per l'inpainting è esattamente ∇T . La procedura FMM garantisce che i pixels di $\delta\Omega$ sono sempre elaborati in ordine di distanza crescente T dal bordo, cioè si vanno a ricostruire prima i pixels più vicini all'area nota dell'immagine.

10 Tale tecnica FFM nota è stata selezionata tra altre utilizzabili, comunque equivalenti e note.

Andando avanti nella descrizione della presente invenzione, la figura 7 mostra un diagramma di flusso complessivo del metodo implementato.

15 Il diagramma di flusso mostra una fase di acquisizione di immagine al basso ingrandimento in accordo alla tecnica descritta, ovvero acquisendo campi non contigui ma distanziati tra loro. L'immagine viene dunque composta unendo i campi acquisiti e mantenendo le coordinate di ogni campo acquisito. In tal maniera, come detto, l'immagine finale di preview presenterà una serie di vuoti in forma di righe e colonne dovuti alla traslazione della telecamera tale per cui un campo acquisito non è adiacente ad un altro. L'immagine ottenuta viene poi sotto-campionata, ovvero viene ridotta di dimensioni andando a prelevare un pixel ogni otto (o un numero diverso se necessario). L'immagine sotto-campionata viene poi ricostruita attraverso la tecnica del Painting che implementa l'algoritmo denominato FFM per eliminare le righe e le colonne vuote. Successivamente si procede con una fase di identificazione del preparato ed una post-elaborazione di seguito descritti nel dettaglio.

Per identificazione del preparato si intende l'implementazione di un algoritmo noto di analisi

all'immagine tale per cui, ricostruita l'immagine come sopra spiegato, consente di individuare il contorno del o dei preparati e delimita successivamente gli stessi con un perimetro rettangolare o quadrato di contorno. In questa
5 maniera l'area contornata o delimitata, dunque l'area evidenziata ed individuata analiticamente, è quella che verrà successivamente acquisita all'alto ingrandimento.

La post-elaborazione è una parte che serve a correggere, come di seguito descritto, un eventuale errore
10 di approssimazione dovuto alla tecnica di impanting.

La figura 8 mostra un preparato 100 individuato nella preview 50 complessiva e mostra un contorno 60 evidenziato del preparato e un riquadro 70 che lo delimita in accordo alla tecnica di identificazione del preparato.

15 Come mostrato in figura 9, se una parte 61 di contorno 60 del preparato 100 è ricaduta su di una striscia di vuoto 110, non è detto che l'approssimazione di ricostruzione di tale tratto di contorno (quello 61 indicato in figura 9) con la tecnica di Impanting sia
20 stata delle migliori, dato che non vi è un campo adiacente di immagine di riferimento a cui approcciarsi. In figura 9 il rettangolo tratteggiato in linea sottile mostra l'area di vuoto 110 che contiene una porzione di contorno 61 così come approssimato con la tecnica di Impanting. Non è detto
25 però che questa approssimazione del tratto 61 sia stata corretta e parte del contorno reale potrebbe essere stato perso. Il secondo tratteggio 62, sempre in linea sottile, mostra una possibile variante di quello che potrebbe essere realmente il contorno approssimato erroneamente con
30 il tratto 61.

Al fine di compensare questo eventuale errore, ed evitare il rischio di delimitare con il rettangolo 70 di figura 8 un'area di preparato amputato di una sua parte, in tal caso il software implementa un allargamento

ulteriore del riquadro 70, come appunto da figura 9.

In particolare se uno o più dei lati del riquadro 70 cadono all'interno di una riga o colonna 110 di vuoto allora il sistema implementa un allargamento del riquadro
5 70 stesso nel senso che il lato o i lati che ricadono nella/nelle colonne e/o righe di vuoto vengono traslate sino a fuoriuscire da detto spazio di vuoto.

Si vede a tal scopo, sempre dalla figura 9, come il riquadro originale 70 doveva essere tangente al contorno
10 61. Tale riquadro che ricadeva in una colonna di vuoto 110 è stato allargato generando un nuovo riquadro 70' non più tangente al tratto approssimato 61 ma allargato in modo tale da compensare un eventuale errore.

La quantità di allargamento, sebbene selezionabile
15 liberamente, viene fissata di una quantità tale per cui il lato allargato coincida con il confine dell'immagine successiva acquisita. In sostanza, come da figura 9, l'allargamento è tale per cui il lato del nuovo riquadro 70' è in linea con il lato esterno del riquadro 110 (per
20 lato esterno si intende quello esterno al preparato).

Il diagramma di flusso di figura 10 mostra una implementazione grafica del processo per identificare e contornare un preparato nella preview, anche se tale sistema è già noto.

25 L'analisi è una analisi alla immagine che in ingresso ha una anteprima ricostruita con la tecnica FFM ed in uscita un rettangolo e/o quadrati che contengono le aree di preparato identificate.

Il metodo, mostrato nel diagramma di flusso di figura
30 10, prevede la separazione dei pixel appartenenti al preparato da quelli non appartenenti al preparato in modo da generare una maschera binaria.

E' poi necessario identificare il preparato eliminando fattori di rumore (cioè parti che non sono

preparato) come copri-vetrino e sporco e/o polvere.

La separazione dei pixel appartenenti al preparato da quelli non appartenenti al preparato prevede:

- 5 • Trasformata dell'immagine dai componenti Red-Green-Blue a YCbCr (Luminosità-Crominanza)
- Filtraggio di Law per estrarre un'immagine della tessitura del preparato
- Filtraggio passa-basso gaussiano per ridurre il
10 rumore
- Sogliatura con tecnica basata su istogramma per separare il fondo dal preparato su immagine di tessitura e luminosità
- Estrazione dei perimetri dalla maschera binaria
- 15 • Selezione del/i rettangolo/i di contenimento delle aree identificate.

L'identificazione del preparato, eliminando dalle aree il copri vetrino ed oggetti di sporco, prevede:

- 20 • Filtraggio di Canny su immagine di luminosità
- Trasformata di Hough per identificare le linee presenti nell'immagine
- Rimozione di tali aree identificate come copri vetrino dall'immagine che deve essere sogliata per
25 estrarre la maschera
- La maschera è combinata con la crominanza (immagine contenente informazione del colore) per eliminare i pixel identificati come preparato ma a bassa componente di crominanza (lo sporco è di colore nero-grigio e quindi non ha componente di colore).
- 30

Una volta ricostruita l'immagine di preview al basso ingrandimento, e una volta identificate le aree di interesse con i riquadri 70 sopra descritti, queste stesse aree vengono selezionate al fine di poter effettuare una normale acquisizione ad un secondo ingrandimento maggiore del primo. Le immagini a detto secondo ingrandimento sono quelle che il patologo navigherà per analizzarle e studiare il preparato, potendole nell'eventualità ingrandire ulteriormente nei punti di suo interesse.

10 Le immagini di alto ingrandimento devono essere dunque molto precise e per tal motivo è essenziale che la sopra enunciata tecnica di acquisizione con campi non contigui non venga qui applicata.

15 In tal senso, una volta identificato il preparato nella preview come sopra descritto, è evidente come la stessa preview, non avendo più nessuna utilità, può tranquillamente essere cancellata o eliminata che dir si voglia.

20 Le immagini all'alto ingrandimento vengono poi navigate dal patologo in accordo alla tecnica nota.

RIVENDICAZIONI

1. Un metodo per la ricostruzione virtuale di un
5 preparato posto su di un vetrino (1) attraverso
l'acquisizione di immagini e comprendente le
operazioni di:
- Predisposizione del vetrino (1) sulla tavola di un
microscopio ottico configurato per l'acquisizione
10 elettronica di immagini ad un predeterminato
ingrandimento;
 - Selezione di un primo ingrandimento per la
realizzazione di una anteprima del vetrino;
 - Traslazione della tavola rispetto all'obiettivo del
15 microscopio in modo tale da acquisire un'immagine di
un campo (2, 2', 2'') in corrispondenza di ogni
traslazione effettuata, detta traslazione essendo tale
per cui almeno una parte dei campi acquisiti (2, 2',
2'') non sono tra loro contigui ma distanziati di una
20 predeterminata quantità;
 - Composizione delle immagini acquisite (2, 2', 2'')
in modo tale da ottenere una immagine di anteprima del
vetrino a detto primo ingrandimento, detta anteprima
presentando una pluralità di strisce di discontinuità
25 dell'immagine.
2. Un metodo, secondo la rivendicazione 1, in cui ogni
campo acquisito nella direzione X è distanziato dal
successivo di una quantità gap_X.
- 30
3. Un metodo, secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui
ogni campo acquisito nella direzione Y è distanziato
dal successivo di una quantità gap_Y.

4. Un metodo, secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui dette quantità gap_X e gap_Y sono a scelta:
- Uguali;
 - Tra loro diversi.
- 5
5. Un metodo, secondo una o più rivendicazioni dalla 2 alla 4 in cui gap_X = 312 micron (125 pixel) mentre il gap_y = 292 micron (117 pixel).
- 10 6. Un metodo, secondo la rivendicazione 1, in cui detto primo ingrandimento è un basso ingrandimento, preferibilmente di 4X.
- 15 7. Un metodo, secondo una o più rivendicazioni precedenti, in cui è prevista una successiva operazione di completamento delle discontinuità nell'immagine di anteprima.
- 20 8. Un metodo, secondo la rivendicazione 7, in cui detta operazione di completamento dell'immagine di anteprima prevede una tecnica FFM.
- 25 9. Un metodo, secondo la rivendicazione 7 o 8, in cui è prevista una successiva operazione di identificazione del preparato (100) nell'immagine di preview ottenuta e che comprende la definizione del contorno (60, 61) del preparato (100) e la delimitazione di detto contorno con un elemento di riquadro (70) tangente al contorno in modo tale da contenere il preparato (100)
- 30 identificato.

10. Un metodo, secondo la rivendicazione 9, in cui è prevista una successiva operazione di post-elaborazione del preparato che prevede la verifica di
5 posizione delle righe e colonne di discontinuità presenti nella preview rispetto all'elemento di riquadro (70) che contorna il preparato identificato (100) e, nel caso in cui uno o più lati di detto elemento di riquadro (70) ricadono ove era presente
10 una riga e/o colonna di discontinuità, è previsto l'allargamento dell'elemento di riquadro (70) di una predeterminata quantità.

15

20

25

CLAIMS

1. A method for the virtual reconstruction of a
5 preparation placed on a slide (1) through the
acquisition of images and comprising the operations
of:
- Arrangement of the slide (1) on the table of an
optical microscope configured for the electronic
10 acquisition of images at a pre-determined
magnification;
 - Selection of a first magnification for the
realization of a preview of the slide;
 - Translation of the table with respect to the
15 objective of the microscope in such a way as to
acquire an image of a field (2, 2', 2'') in
correspondence of each translation made, said
translation being such that at least a part of the
acquired fields (2, 2', 2'') are not contiguous
20 between them but are instead distanced of a pre-
determined quantity;
 - Composition of the images acquired (2, 2', 2'') in
such a way as to obtain a preview image of the slide
at said first magnification, said preview having a
25 plurality of discontinuity stripes of the image.
2. A method, according to claim 1, wherein each field
acquired in the X direction is distanced from the
subsequent one of a gap_X quantity.
3. A method, according to claim 1 or 2, wherein each
30 field acquired in the Y direction is distanced from
the subsequent one of a gap_Y quantity.
4. A method, according to claim 1 or 2, wherein said
gap_X and gap_Y quantities are at choice:

- The same;
 - Different between them.
- 5 **5.** A method, according to one or more of claims from 2 to 4, wherein gap_X = 312 micron (125 pixel), while gap_y = 292 micron (117 pixel).
- 6.** A method, according to claim 1, wherein said first magnification is a low magnification, preferably of 4X.
- 10 **7.** A method, according to one or more of the preceding claims, wherein a subsequent operation of completion of the discontinuities in the preview image is foreseen.
- 8.** A method, according to claim 7, wherein said operation of completion of the preview image includes a FFM technique.
- 15 **9.** A method, according to claim 7 or 8, wherein a subsequent operation of identification of the preparation (100) on the obtained preview image is foreseen and comprising the definition of the contour (60, 61) of the preparation (100) and the delimitation of said contour with a square element (70) tangent to the contour so as to contain the identified preparation (100).
- 20 **10.** A method, according to claim 9, wherein an operation of post-elaboration of the preparation is foreseen, said operation comprising the verification of position of the discontinuity lines and columns present in the preview with respect to the square element (70) that contours the identified preparation (100) and, in case
- 30 that one or more of the sides of said square element (70) are positioned where a discontinuity line and/or column was placed, the widening of the square element

- 3 -

(70) of a pre-determined quantity is foreseen.

FIG. 1

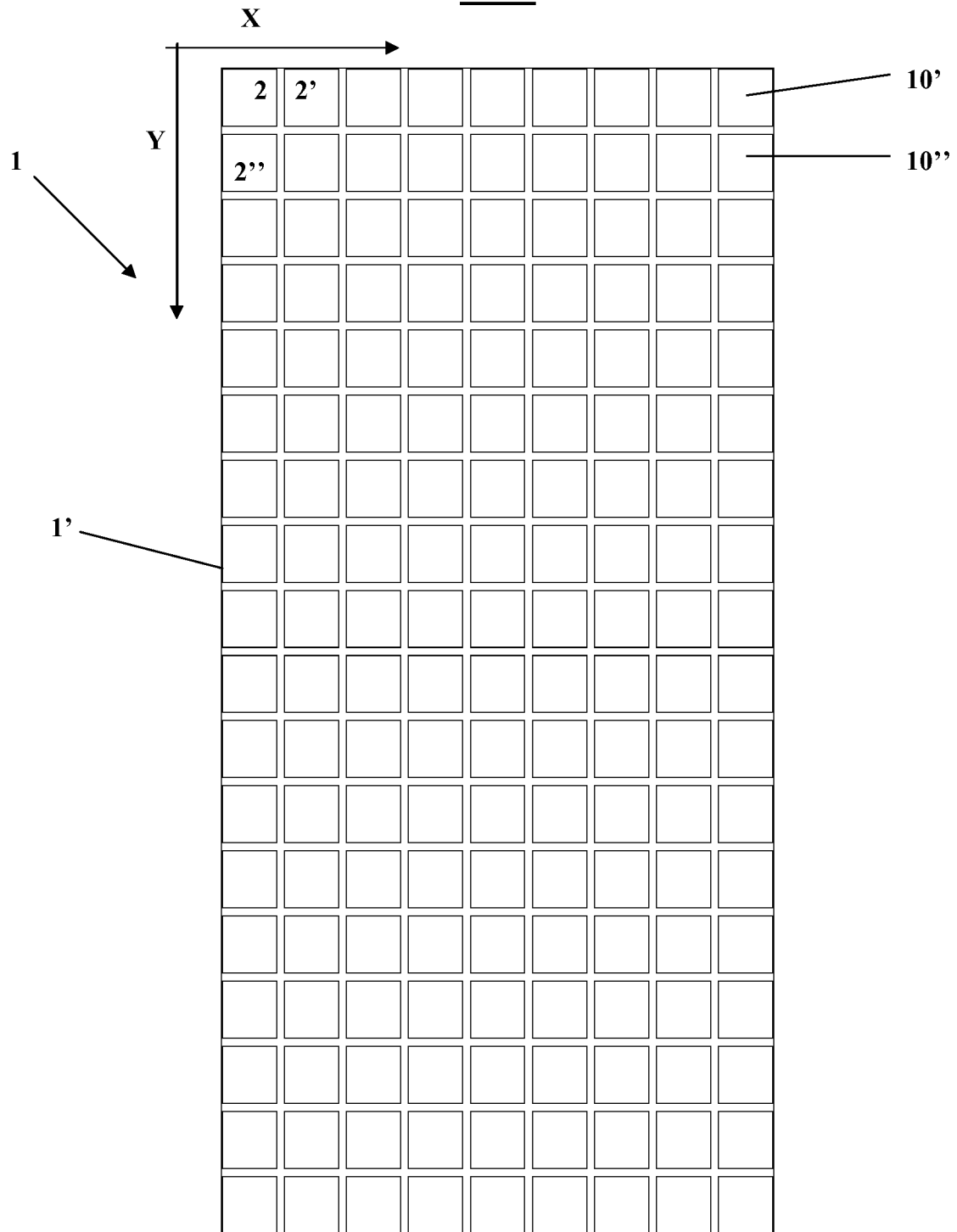
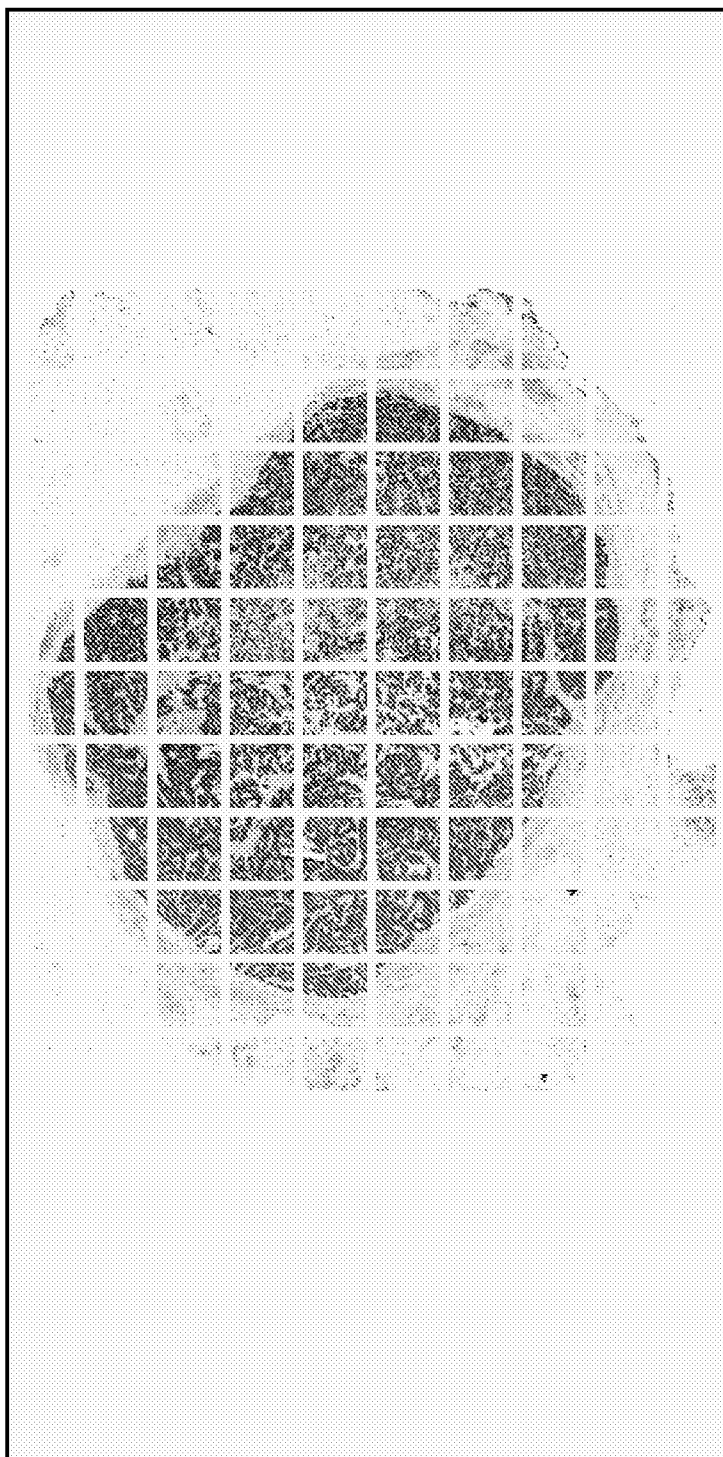


FIG. 2



3/8

FIG. 3

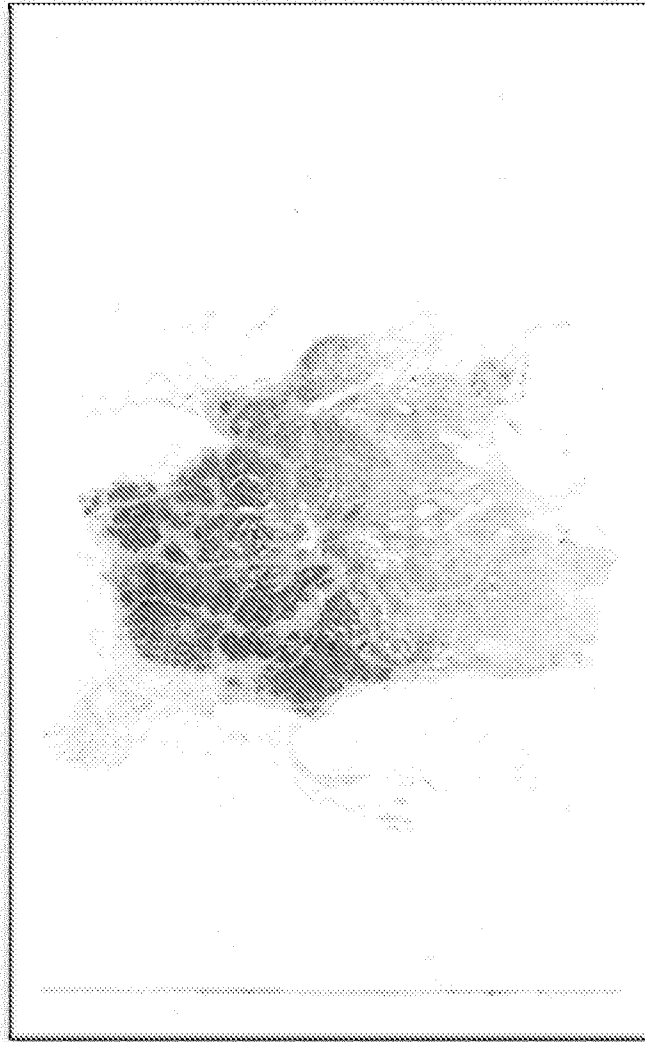


FIG. 4

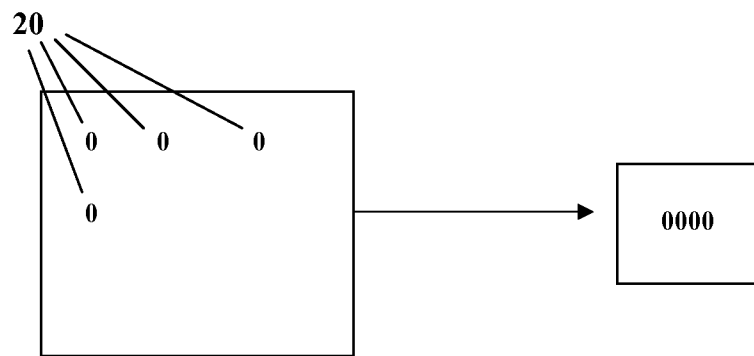


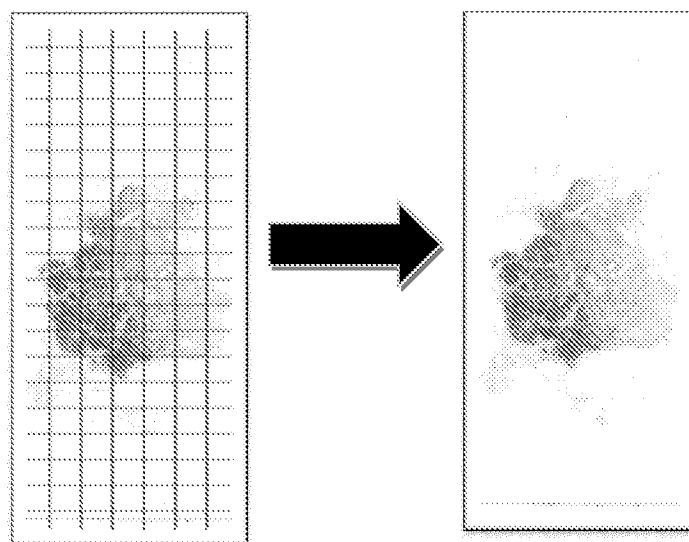
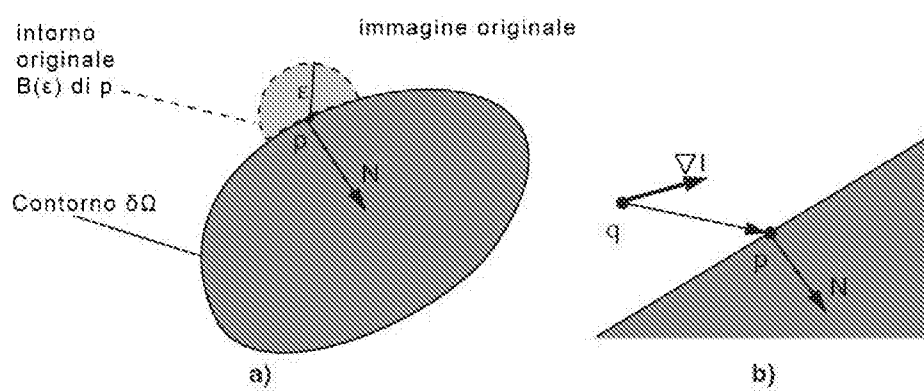
FIG. 5**FIG. 6**

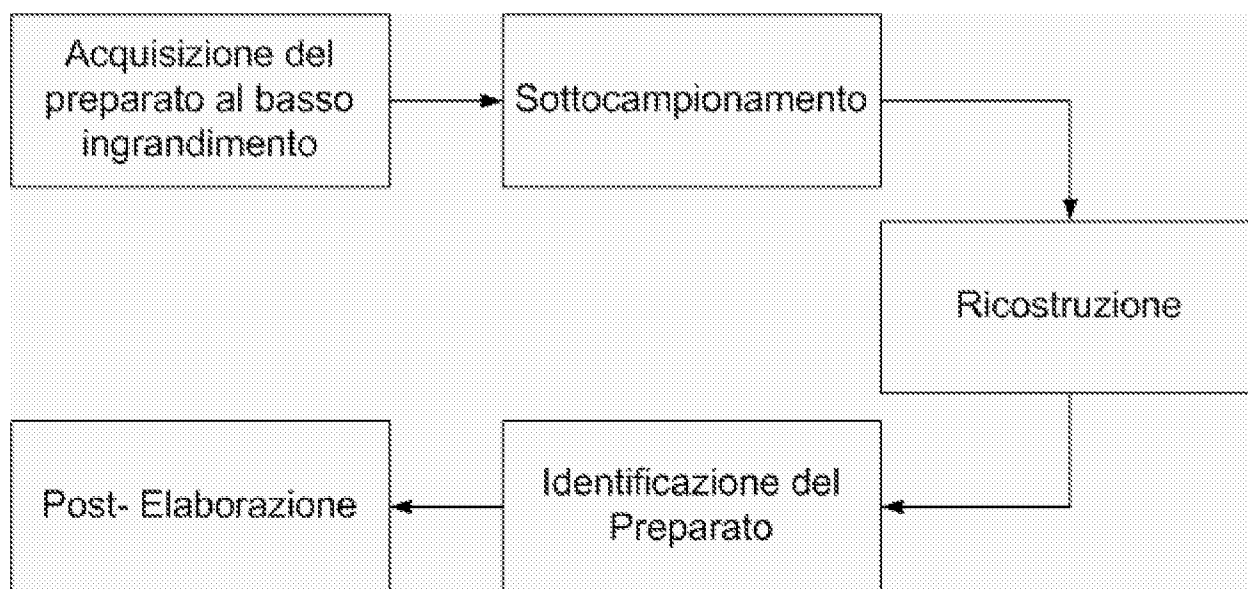
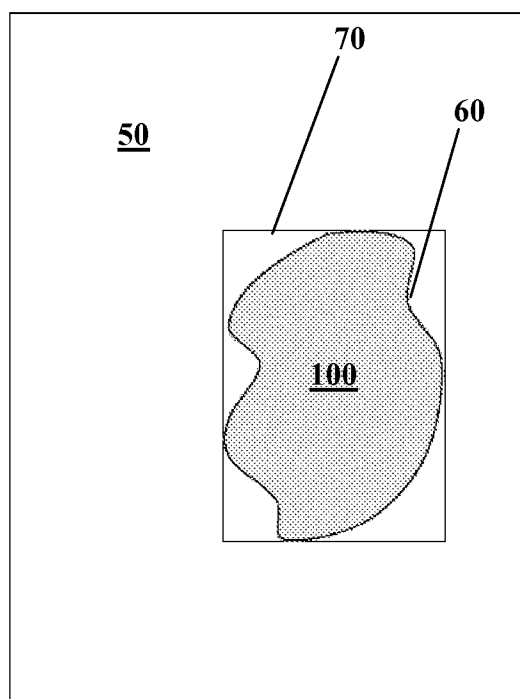
FIG. 7**FIG. 8**

FIG. 9

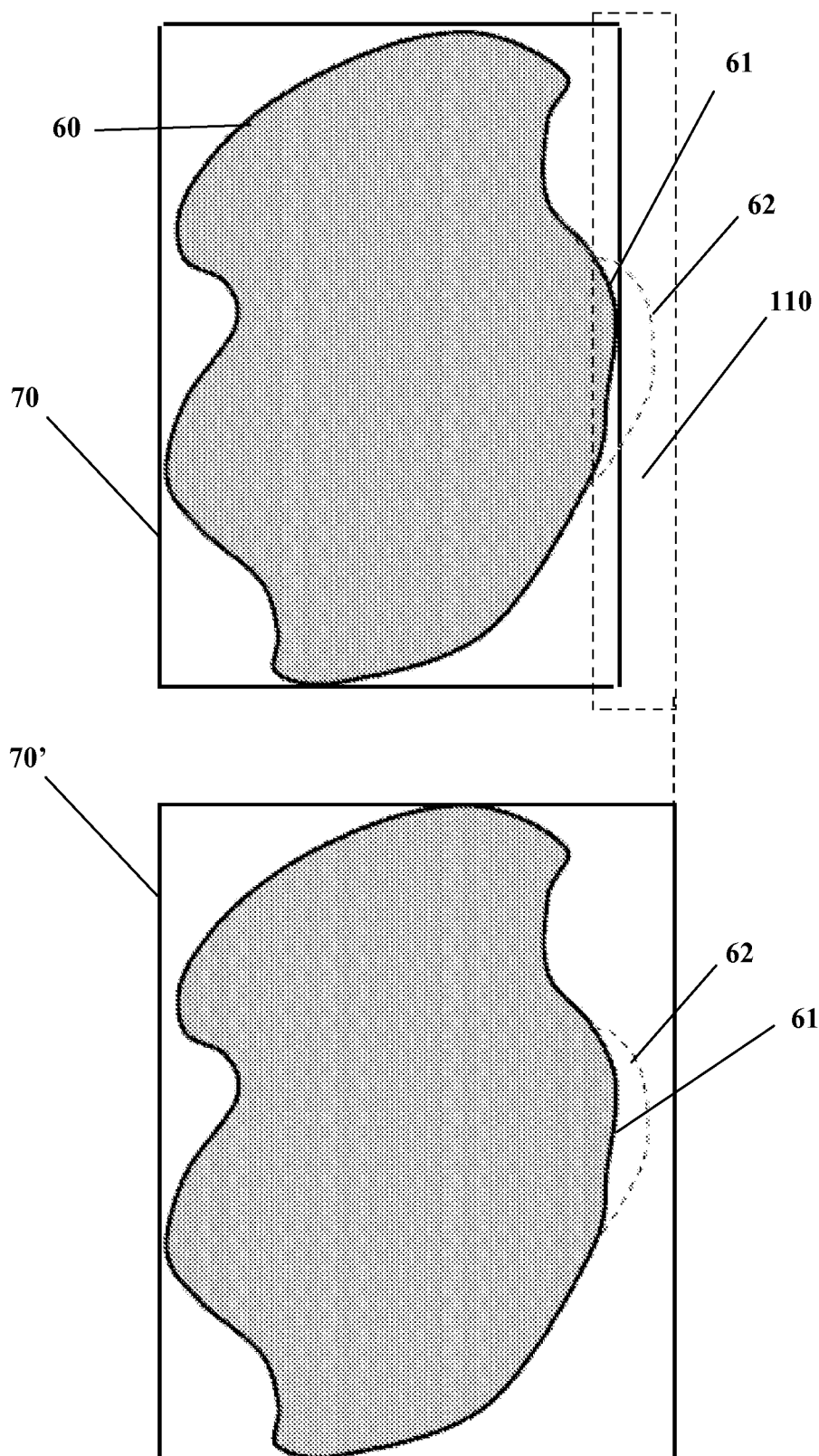


FIG. 10