



(51) Clasificación Internacional de Patentes:
G06K 9/00 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2014/070393

(22) Fecha de presentación internacional:
9 de mayo de 2014 (09.05.2014)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201330671 9 de mayo de 2013 (09.05.2013) ES

(71) Solicitante: UNFVERSITAT POLITÈCNICA DE
CATALUNYA [ES/ES]; TiHers, Jordi Girona 31,
Catalunya, E-08034 Barcelona (ES).

(72) Inventores: ALFÉREZ BARQUERO, Santiago; Jordi
Girona 31, Edificio TiHers Planta 1, E-08034 Barcelona
(ES). RODELLAR BENEDÉ, José; Jordi Girona 31,
Edificio TiHers 1a planta, E-08034 Barcelona (ES).

MÚJICA DELGADO, Luis Eduardo; Jordi Girona 31,
Edificio TiHers 31 1a planta, E-08034 Barcelona (ES).
RUIZ ORDÓÑEZ, Magda; Jordi Girona 31, Edificio
TiHers 1a planta, E-08034 Barcelona (ES). **MERINO
GONZALEZ, Anna;** Jordi Girona 31, Edificio TiHers 1a
planta, E-08034 Barcelona (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección nacional admisible): AE,
AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN,
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE,
KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO,
RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV,
SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección regional admisible):

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: COMPUTER-IMPLEMENTED METHOD FOR RECOGNISING AND CLASSIFYING ABNORMAL BLOOD CELLS, AND COMPUTER PROGRAMS FOR PERFORMING THE METHOD

(54) Título : MÉTODO IMPLEMENTADO POR ORDENADOR PARA RECONOCIMIENTO Y CLASIFICACIÓN DE CÉLULAS SANGUÍNEAS ANORMALES Y PROGRAMAS INFORMÁTICOS PARA LLEVAR A CABO EL MÉTODO

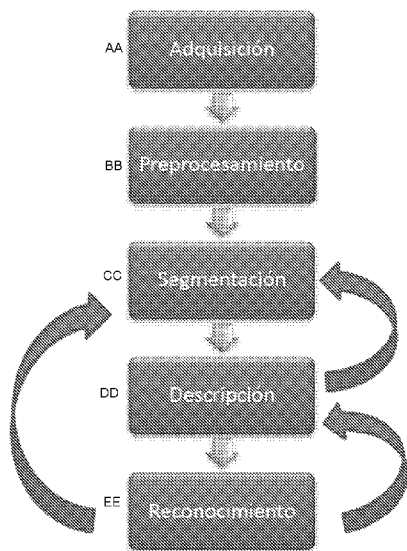


Fig. 1

AA acquisition
BB pre-processing
CC segmentation
DD description
EE recognition

(57) Abstract: The invention relates to a method consisting in classifying cells on the basis of automatic processing techniques and analysis of blood samples, which includes acquiring digital images of abnormal blood cells from blood cells, and then: segmenting said digital images of abnormal cells, providing identified regions of the nucleus, cytoplasm and outer área of the cell of said abnormal blood cells of said digital images; calculating intrinsic characteristics of each of said identified regions of the nucleus, cytoplasm and outer área of the cell of said abnormal blood cells, comprising calculating the geometric characteristics of said identified regions; automatically recognising and classifying abnormal blood cells on the basis of said calculated intrinsic characteristics of said identified regions; and using said recognised and classified abnormal blood cells for carrying out a diagnostic orientation of hematological diseases.

(57) Resumen: El método realiza una clasificación de células en base a técnicas de procesamiento automático y de análisis de muestras de sangre que incluye adquirir imágenes digitales de células sanguíneas anormales procedentes de células sanguíneas, y: segmentar

[Continúa en la página siguiente]



ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euro-asiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones según la Regla 4.17:

- *sobre el derecho del solicitante para solicitar y que le sea concedida una patente (Regla 4.17(H))*

Publicada:

- *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*
- *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))*

dichas imágenes digitales de células anormales proporcionando regiones identificadas del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales de dichas imágenes digitales; calcular características intrínsecas de cada una de dichas regiones identificadas del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprendiendo calcular las características geométricas de dichas regiones identificadas; reconocer y clasificar automáticamente células sanguíneas anormales en base a dichas características intrínsecas calculadas de dichas regiones identificadas; y usar dichas células sanguíneas anormales reconocidas y clasificadas para realizar una orientación diagnóstica de enfermedades hematológicas.

**Método implementado por ordenador para reconocimiento y clasificación de células
sanguíneas anormales y programas informáticos para llevar a cabo el método**

Sector de la técnica

- 5 La presente invención concierne en un primer aspecto, en general, a un método implementado por ordenador para reconocimiento y clasificación de células sanguíneas anormales, y en particular a un método que comprende usar dichas células sanguíneas anormales reconocidas y clasificadas para realizar una orientación diagnóstica de enfermedades hematológicas.
- 10 Un segundo aspecto de la invención concierne a programas informáticos adaptados para realizar algunas de las etapas del método del primer aspecto.

Estado de la técnica anterior

- 15 La sangre periférica (SP) es un fluido orgánico fácilmente accesible, por lo que su estudio representa el eslabón analítico inicial en el diagnóstico de la mayoría de enfermedades hematológicas o no hematológicas.

- El diagnóstico de más del 80 % de enfermedades hematológicas se consigue mediante estudios morfológicos que tienen como punto de partida la SP. A partir de técnicas automatizadas de procesamiento de imágenes mediante una red neuronal artificial, se han
- 20 desarrollado equipos que realizan una preclasificación de las células nucleadas de SP teniendo en cuenta cientos de cálculos a partir de aspectos morfológicos, tales como coloración, tamaño, forma y textura de las células, entre otros. Sin embargo, estos analizadores, aunque representan un avance tecnológico de gran interés, no son capaces de identificar y preclasificar las células sanguíneas patológicas, especialmente las células linfoides, que pueden
- 25 circular en la sangre periférica en determinadas neoplasias linfoides, cuya identificación morfológica suele ser una tarea compleja.

- Debido a la dificultad que supone la correcta preclasificación automatizada de las células linfoides anormales, se han publicado pocos trabajos utilizando diferentes métodos de procesamiento digital de imágenes con resultados satisfactorios, y algunos de ellos todavía a
- 30 día de la presentación de la presente invención continúan en estudio [1]. El problema se ha abordado mediante la extracción de un número importante de medidas y parámetros que describen las características morfológicas de interés en las células, junto a sistemas de

reconocimiento de patrones para la clasificación de las diferentes células en categorías [2], [3], [4].

Por ejemplo, las células de Leucemia Linfóide Crónica o LLC se describen típicamente como pequeños linfocitos con cromatina agrupada y escaso citoplasma, por el contrario, las células de Tricoleucemia o HCL tienen un citoplasma poco basófilo y abundante de bordes irregulares o vellosos. Por lo que la diferenciación morfológica entre varios tipos de células linfoides no es trivial, debido en gran parte a la falta de valores objetivos para definir las variables citológicas, por lo que se requiere de elevada experiencia y habilidad.

- 10 [1]. F. Scotti, "Robust Segmentation and Measurements Techniques of White Cells in Blood Microscope Images," 2006 IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference Proceedings, Dec. 2006, pp. 43-48.
- [2]. Bergmann, M., Heyn, H., Müller-Hermelink, H.-K., Harms, H., Aus, H.M. (1990) Automated recognition of cell images in high grade malignant lymphoma and reactive follicular hyperplasia. Analytical Cellular Pathology, 2:83-95.
- 15 [3]. Foran, D. J., Comaniciu, D., Meer, P. et Goodell, L.A. Computer-Assisted Discrimination Among Malignant Lymphomas and Leukemia Using Immunophenotyping, Intelligent Image Repositories, and Telemicroscopy. IEEE Trans. on Information Technology in Biomedicine, 4(4):265-273, 2000.
- 20 [4]. Juan, J., Sigaux, F., Flandrin, G. (1985) Automated Classification of Lymphoid Cells. Analytical and Quantitative Cytology and Histology, 7:38-46.

Resumen de la invención

Por tanto, existe un interés general en poder identificar descriptores o características intrínsecas de la célula linfóide que posibiliten la clasificación de diferentes patologías mejorando para ello el reconocimiento y la clasificación automática de dichas células, y de este modo permitir una mayor precisión en la detección y reconocimiento de enfermedades hematológicas como los diferentes tipos de leucemias, incluyendo las neoplasias linfoproliferativas B y T leucemizadas.

30 La invención proporciona para ello, de acuerdo a un primer aspecto, un método implementado por ordenador para reconocimiento y clasificación de células sanguíneas anormales, que comprende, al igual que las técnicas conocidas, realizar una clasificación de células en base a técnicas de procesamiento automático de imágenes y de técnicas de análisis de muestras de sangre, que incluye adquirir imágenes digitales de células sanguíneas anormales o atípicas, por ejemplo células linfoides o blásticas, procedentes de una pluralidad de células sanguíneas.

35

De una manera característica, y al contrario de las soluciones previamente conocidas en el estado del arte, el método propuesto comprende realizar las siguientes etapas:

- a) segmentar dichas imágenes digitales de células anormales proporcionando regiones identificadas del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales de dichas imágenes digitales;
- b) calcular características intrínsecas de cada una de dichas regiones identificadas del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprendiendo y calculando al menos las características geométricas de dichas regiones identificadas;
- c) reconocer y clasificar automáticamente células sanguíneas anormales con base en dichas características intrínsecas calculadas de dichas regiones identificadas; y
- d) usar dichas células sanguíneas anormales reconocidas y clasificadas para realizar una orientación diagnóstica de enfermedades hematológicas.

Para mejorar la calidad de las imágenes de las células sanguíneas, preferiblemente, de acuerdo a una realización, y previo a realizar dicha segmentación, se realiza una etapa de pre-procesamiento de dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales adquiridas.

Por otro lado, de acuerdo a otra realización, para la segmentación de las células se tiene en cuenta la forma variable de las mismas, con diferentes tonalidades y texturas tanto en el núcleo como a nivel del citoplasma, y que la periferia del citoplasma puede mostrar prolongaciones. La segmentación de las células se puede realizar mediante dos técnicas diferentes. Por ejemplo, bien mediante la utilización de una técnica de contornos activos en dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales utilizando el Flujo de Vector Gradiente (GVF) o por el contrario, mediante la utilización de una técnica de agrupación de las componentes de diferentes espacios de color y la transformación Watershed en dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales.

De acuerdo a un ejemplo de realización, el cálculo de las características intrínsecas de dichas regiones identificadas del núcleo, del citoplasma y de la región externa de dichas células sanguíneas anormales comprende además extraer características estadísticas de primer orden, por ejemplo, la media, desviación estándar, asimetría estadística, etc. de dichas regiones identificadas basadas en un histograma de la región identificada.

De acuerdo a otro ejemplo de realización, el cálculo de las características intrínsecas de dichas regiones identificadas del núcleo, citoplasma y del área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprende además calcular características estadísticas de

segundo orden, por ejemplo, el contraste, homogeneidad, entropía, etc. de dichas regiones identificadas en base a una matriz de coocurrencia de cada región identificada.

De acuerdo a otro ejemplo de realización, dicho cálculo de las características intrínsecas de las regiones identificadas del núcleo, citoplasma y del área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprende extraer características de granularidad del núcleo y del citoplasma identificado mediante la aplicación de una técnica de morfología matemática.

De acuerdo a otro ejemplo de realización, dichas características estadísticas de primer y segundo orden, y las características de granularidad del núcleo y del citoplasma son calculadas en diferentes componentes de varios espacios de color.

Finalmente, de acuerdo a otro ejemplo de realización, dicho cálculo de las características intrínsecas de dichas regiones del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprende calcular un parámetro de vellosidad del citoplasma identificado, en donde dicha segmentación se realiza mediante la utilización de una técnica de agrupación de las componentes de diferentes espacios de color y la Transformación Watershed en dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales.

El parámetro de vellosidad se calcula, de acuerdo a un ejemplo de realización preferido, utilizando una segmentación de umbral de un componente de color verde de las células sanguíneas anormales calculando el número total de píxeles de dicha región de color verde segmentada de la imagen digital.

La clasificación de las células sanguíneas anormales comprende al menos una clasificación en cinco grupos diferentes. De una manera preferida estos cinco grupos serán: N o pacientes sanos; HCL o pacientes con Tricoleucemia; LLC o pacientes con Leucemia Linfocítica Crónica; MCL o pacientes con Linfoma del manto leucemizado; y B-PLL o pacientes con Leucemia Prolinfocítica de células B.

Finalmente, dichas etapas a) hasta c) se repetirán tantas veces como imágenes digitales de células sanguíneas anormales sean adquiridas.

La invención, de acuerdo a un segundo aspecto proporciona varios programas informáticos para llevar a cabo el método del primer aspecto de la presente invención.

30

Breve descripción de los dibujos

Las anteriores y otras ventajas y características se comprenderán más plenamente a partir de la siguiente descripción detallada de unos ejemplos de realización con referencia a los dibujos adjuntos, que deben tomarse a título ilustrativo y no limitativo, en los que:

la Fig. 1 muestra un diagrama de flujo que incluye las diferentes etapas del método
5 propuesto por la presente invención para un ejemplo de realización;

la Fig. 2 ilustra un diagrama de flujo del esquema general del método propuesto por la invención, para el caso de aplicar una transformación Watershed;

la Fig. 3 ilustra un diagrama de flujo de la metodología general para la segmentación de las células linfoides;

10 la Fig. 4 muestra un ejemplo de la etapa de la metodología de segmentación, en donde se obtiene la región que limita a una célula linfoide normal;

la Fig. 5 muestra un ejemplo de las diferentes etapas para obtener la transformación Watershed de la célula completa a través de la imposición de mínimos de marcadores sobre el gradiente de la componente Y, en una célula linfoide en un paciente con MCL;

15 la Fig. 6 muestra un ejemplo de varias células de un paciente con MCL y su correspondiente imagen etiquetada obtenida después de aplicar la transformación Watershed para obtener las regiones completas de cada célula;

la Fig. 7 muestra las segmentaciones completas de las células utilizadas como ejemplos en las figuras anteriores;

20 la Fig. 8 muestra el esquema general que se sigue para realizar la extracción de las características intrínsecas o descriptores de acuerdo a un ejemplo de realización de la presente invención;

la Fig. 9 muestra la imagen de un linfocito con su respectivo histograma;

25 la Fig. 10 muestra la creación de la matriz de co-ocurrencia, con distancia de 1 pixel, de acuerdo a un ejemplo de realización;

la Fig. 11 muestra el ejemplo de una curva granulométrica completa para el caso de la célula linfoide normal de la Fig. 9; y

30 la Fig. 12 muestra las etapas para calcular el descriptor de vellosidades de un Tricoleucocito de acuerdo a un ejemplo de realización de la presente invención: donde en a) se muestran las líneas de Watershed calculadas; en b) la región de interés para describir las vellosidades, en c) el histograma resultante para la región de interés; y en d) los píxeles entre las intensidades 70 y 215 de la componente verde.

Descripción detallada de un ejemplo de realización

En la Fig. 1 se expone un diagrama de flujo que representa las etapas básicas del método propuesto. Estas etapas básicas para realizar el procesamiento digital de imágenes de células incluyen: adquisición, pre-procesado, segmentación, descripción (extracción de las principales características morfológicas), y reconocimiento y clasificación.

Tal como se ha comentado anteriormente, la presente invención proporciona un nuevo mecanismo implementado y/o ejecutado en un ordenador para identificar descriptores o características intrínsecas de las células sanguíneas anormales, como por ejemplo la célula linfocítica, que posibiliten la clasificación de diferentes enfermedades o patologías, por ejemplo neoplasias. Para ello, la metodología propuesta desarrolla una segmentación que separa las regiones del núcleo, citoplasma y periferia del borde externo del citoplasma o área externa de la célula, a partir de las cuales se pueden realizar los cálculos de las diferentes variables. El análisis de las variables, se realiza preferiblemente por medio de un análisis discriminante lineal, donde se separan las clases referentes a cada una de las diferentes patologías.

El primer paso a realizar, al igual que las técnicas conocidas en el estado del arte, es la preparación de las muestras de sangre y la adquisición de las imágenes digitales. Existen diferentes factores que afectan a la calidad de la adquisición y del procesado de las imágenes, derivadas del frotis de SP: a) proceso de tinción; b) variaciones en la iluminación; c) distorsiones geométricas ópticas debidas al tipo de lente y microscopio; d) formato en el que se guardan las imágenes; e) ruido aleatorio; f) falta de contraste entre niveles de tonalidad, etc. Para mejorar la calidad de las imágenes de las células sanguíneas se pueden aplicar diferentes técnicas, tales como: filtrado espacial y frecuencial, transformaciones de color, manipulaciones del histograma y otras.

Posteriormente, se realiza una tinción de las células sanguíneas para lo que pueden utilizarse diversas técnicas, entre las que se destacan la tinción de May-Grünwald-Giemsa (MGG), que resalta los componentes básicos de la célula. Es de gran importancia desarrollar un proceso metodológico preciso y automatizado para conseguir frotis de SP de gran calidad en cuanto a la tinción, ya que es el primer paso para el proceso de adquisición, y es fundamental para el desarrollo de los posteriores algoritmos de procesamiento. Así, extensiones de baja calidad darán lugar a imágenes degradadas, es decir, con la inclusión de ruido a todo el sistema de análisis. Para la observación de las células sanguíneas el método más ampliamente utilizado es mediante un microscopio óptico y con objetivos de inmersión de 50 o 100 aumentos (500 o 1000 aumentos totales). Sin embargo, tal como se ha comentado anteriormente,

recientemente se han desarrollado técnicas automatizadas para la adquisición y preclasificación de imágenes de las células sanguíneas. Dichos equipos llevan incorporado un microscopio motorizado, así como una cámara digital. Un ejemplo de estos equipos es el CellaVision DM96.

5 Una vez las imágenes de las células han sido adquiridas, de acuerdo a un ejemplo de realización y de una manera característica de la presente invención, se realiza una etapa de pre-procesamiento que atenúa o realza las características de la imagen, tales como bordes, límites o también puede modificar el contraste. Este procedimiento no aumenta la información presente en los datos, pero sí incrementa el rango dinámico de las propiedades de una imagen para facilitar su manipulación. Algunas de las técnicas de pre-procesado que pueden utilizarse son el filtrado de las imágenes mediante la aplicación de filtros Gaussianos, filtros mediana, filtro Wiener y/o convolución con Wavelets, con el objetivo de disminuir el nivel de ruido. Por otro lado, las imágenes teñidas con MGG son de color azulado y púrpura, por lo que también es posible aplicar sobre ellas un tratamiento por color de las imágenes de las células sanguíneas, que pueda separar, resaltar o extraer los mejores perfiles.

10

15

 Seguidamente, se realiza la segmentación de las imágenes de las células anormales para separar las regiones del núcleo, citoplasma y periferia del borde externo del citoplasma, a partir de las cuales se pueden realizar los cálculos de las variables. Para la segmentación se tiene en cuenta que: la forma de las células es variable, con diferentes tonalidades y texturas tanto en el núcleo como a nivel del citoplasma y que la periferia del citoplasma puede mostrar prolongaciones.

20

 La segmentación en el método propuesto puede realizarse de acuerdo a dos alternativas diferentes. Por ejemplo, bien utilizando una segmentación de contornos activos o utilizando segmentación de color por agrupación y la transformación Watershed. En el primer caso, el método reconoce los componentes celulares utilizando información del color de la imagen original de la célula y mediante la aplicación de técnicas de detección de contornos en una componente H del espacio de color HSV se obtiene la totalidad de la célula. De igual modo, la totalidad del núcleo de la célula se obtiene también utilizando un espacio de color RGB.

25

30 En el segundo caso, el método utiliza la composición de los diferentes colores en la imagen de la célula debida a la tinción que se aplica sobre la muestra de sangre, especialmente en los colores azul, magenta y rosado, vistos como una primera aproximación perceptiva. La técnica desarrollada involucra de una manera preferida la segmentación mediante la

agrupación de colores para la obtención directa del núcleo y de forma indirecta para la segmentación de toda la célula linfoide. La Fig. 3 muestra la metodología general propuesta, que a su vez contiene sub-algoritmos que se utilizan a lo largo de la segmentación. A continuación se mencionan los procedimientos más importantes de la metodología citada:

- 5 · Sólo células: este algoritmo toma como entrada la imagen original y produce como salida una imagen etiquetada en donde se separan las regiones de las células linfoides del resto. La parte principal de este algoritmo utiliza la técnica de agrupación *Kernel Spatial Fuzzy C-means* (KSFCM) a las componentes Cian y Magenta del espacio de color CMYK para aislar los hematíes de la célula linfoide. Posteriormente, se aplica la
- 10 transformación Watershed para obtener cada región que contiene células.
- Aproximación RG del núcleo: su entrada es la imagen original y produce una simple aproximación del núcleo del linfocito, utilizando una combinación de las componentes roja y verde del espacio RGB. Su utilidad reside en que se puede ubicar de forma aproximada dónde se encuentran las células de interés.
- 15 · Núcleo XYZ: este procedimiento utiliza principalmente la técnica de agrupación KSFCM sobre el espacio de color XYZ para aislar los grupos del núcleo, citoplasma y fondo. Para segmentar el núcleo de forma precisa, requiere como entrada la imagen original y la región de interés de las células linfoides (obtenida en *Sólo células*). Como resultado produce una máscara binaria del núcleo(s) de la(s) célula(s) linfoides, el
- 20 gradiente de la componente Y del espacio de color XYZ, así como el grupo fondo de la agrupación.

En primer lugar, la imagen original es preprocesada a través de un filtro que suaviza pero que conserva los bordes de los objetos. Seguidamente se genera una máscara binaria de la región "real" donde se encuentran los linfocitos (extO), a partir de la máscara aproximada del núcleo (obtenida combinando las componentes R y G) y la imagen etiquetada que separa las células (producto de *Sólo células*). La Fig.4 muestra el proceso anterior para una célula linfoide normal : la Fig. 4a representa una célula linfoide normal, la Fig. 4b es la máscara binaria que se aproxima al núcleo, la Fig. 4c muestra la matriz etiquetada que separa las células en diferentes regiones y la Fig. 4d es la máscara binaria resultante que encierra al

25 linfocito de interés. El perímetro de esta última región que limita a la(s) célula(s) linfoide(s) se utiliza como el marcador externo para ser usado en la transformación Watershed.

La siguiente etapa del proceso consiste en determinar el núcleo real y la consecuente generación del marcador interno de la WT para el citoplasma. La Fig. 5 muestra los diferentes

pasos aplicados sobre una célula (Fig. 5a) de un paciente con Linfoma de Células del Manto. La máscara binaria del núcleo se logra mediante la subrutina *Núcleo XYZ* (Fig. 5b), en la cual se ha utilizado la imagen original y la región que rodea a las células de interés (extO). Posteriormente, se adelgaza la máscara del núcleo si llega a tocar al marcador externo y esta

5 "mejora" es tomada como la segmentación final del núcleo, con algunas operaciones de morfología matemática. Esta misma máscara binaria se usa como marcador interno de la WT que determinará el citoplasma. La Fig. 5c muestra la superposición de ambos marcadores. Así, el marcador externo e interno son impuestos como mínimos en el gradiente de la componente Y (Fig. 5d y Fig. 5e), para luego realizar una transformación Watershed y generar así una

10 imagen etiquetada donde se encuentra toda la(s) célula(s) linfocito(s), como se muestra en la Fig. 5f.

En este punto, ya se han generado de forma indirecta las tres regiones de interés: el núcleo, la célula completa y la región que rodea la célula. Sin embargo, el objetivo final es separar las máscaras binarias de cada región para cada célula, puesto que se puede presentar

15 que existan varios linfocitos por imagen. En este caso, y en un perfeccionamiento de la presente invención, el procedimiento anterior es similar pero se debe separar las diferentes regiones por célula. La Fig. 6 muestra un ejemplo con cuatro linfocitos de un paciente con MCL y su correspondiente imagen etiquetada producto de todas las etapas anteriormente mencionadas. Por esto, se crea otra etapa en la cual se separan las máscaras de las posibles

20 diferentes células. Este procedimiento es resaltado por el bloque sombreado Máscaras de la Fig. 3, cuyo producto final son las máscaras binarias de la célula, del núcleo y de la región que rodea a la célula. A continuación se describen algunos ítems importantes que preferiblemente el algoritmo realiza en la etapa del bloque Máscaras:

- Une las regiones de la célula completa cuando hay varios núcleos a partir de la imagen etiquetada producto de la WT.
- Determina el número de núcleos por cada región celular y el número de niveles etiquetados para cada zona de acuerdo a la imagen etiquetada de la WT.
- Crea las zonas etiquetas correspondientes a las regiones que encierran cada región producida por la WT (sin tener en cuenta el fondo).
- Determina los restos de citoplasmas que atraviesan las fronteras de las regiones que delimitan cada célula linfocito.
- Obtiene las líneas que delimitan la célula, el núcleo y la región externa a la célula.

- Obtiene las máscaras para cada célula separando los casos: (1) se presenta un sólo núcleo por célula, (2) se presentan varios núcleos por célula en cuyo caso (a) existen varias células, cada una con un núcleo ó (b) se presentan una célula con varios núcleos.
- Para las máscaras resultantes: se eliminan aquellas células en los bordes de la imagen y se eliminan hematíes que se puedan presentar en la región que rodea a la célula por medio de la región sin hematíes del grupo fondo (del espacio XYZ).

La Fig. 7 compara los resultados de la segmentación para las tres células linfoides mostradas anteriormente.

El proceso de segmentación descrito y que se resume en la Fig. 3 comprende además la creación de una base de datos de máscaras binarias (1 dentro del objeto, 0 fuera del mismo) correspondientes a las tres regiones (núcleo, célula completa y región que rodea la célula) para todo el conjunto de células.

Una vez realizada la segmentación, el método comprende la extracción de características o descriptores según un esquema como el mostrado en la Fig. 8.

La descripción es la etapa en la cual se extrae la información sobre los objetos de la imagen que se desean analizar. Las características que se pueden calcular dependen tanto del razonamiento cualitativo como del cuantitativo y de la evaluación de descriptores matemáticos abstractos que pueden suministrar información. En la tabla 1 se muestran todos los descriptores utilizados de una manera característica por la presente invención de acuerdo a varios ejemplos de realización.

<u>Tipo de descriptor</u>		<u>Descriptor cuantitativo</u>	
Descriptor del perfil citoplasmático (1)		Estimación de las vellosidades	
Descriptores geométricos (10)		Área de la célula Excentricidad cónica de la célula Área del núcleo Excentricidad cónica del núcleo Relación núcleo - citoplasma Excentricidad del núcleo respecto al citoplasma	Diámetro de la célula Perímetro de la célula Diámetro del núcleo Perímetro del núcleo
		Citoplasma	Núcleo
Descriptores de color – textura (34 x 3)	Descriptores estadísticos de primer orden (12 x 3)	Media Desviación estándar Asimetría (Skewness) Curtosis Energía Entropía	Media Desviación estándar Asimetría (Skewness) Curtosis Energía Entropía
	Descriptores estadísticos de segundo orden (14 x 3)	Contraste Homogeneidad	Contraste Homogeneidad

		Correlación Energía Entropía Varianza Varianza de la diferencia	Correlación Energía Entropía Varianza Varianza de la diferencia
	Descriptores de granulometría: calculados sobre la curva granulométrica (8 x 3)	Media Desviación estándar Asimetría Curtosis	Media Desviación estándar Asimetría Curtosis

Tabla 1. Descriptores de la célula sanguínea. Se utilizaron un conjunto de 113 descriptores: 1 del perfil citoplasmático, 10 geométricos, y 34 de textura aplicados a los tres planos de color del espacio Lab

A continuación se detallan los principales descriptores calculados o utilizados de una manera preferida en la presente invención:

Descriptores Geométricos:

5 *Área:* se define como el área interna del objeto en cuestión, se calcula contando el número de píxeles que contiene la región.

Diámetro: se define como el diámetro de un círculo con la misma área que la región.

Excentricidad cónica: se calcula como la excentricidad de una elipse cuyo segundo momento es igual al de la región. Una excentricidad igual a 1 representa un segmento
10 rectilíneo, mientras que si es 0 representa un círculo.

Perímetro: es la longitud de todo el borde de la región.

Relación núcleo/citoplasma: Para el caso específico que se estudia, la relación núcleo - citoplasma se calcula dividiendo el área del núcleo entre el área del citoplasma.

Descriptores de color - textura:

15 Estos descriptores permiten extraer información acerca de la textura de la imagen. Estos fueron aplicados a cada plano de color del espacio $L^*a^*b^*$, sobre la región del núcleo y del citoplasma, obteniéndose un total de 96 descriptores. El espacio de color CIE $L^*a^*b^*$ es el más completo espacio de color creado por la Comisión internacional de Iluminación (Commission internationale de l'éclairage). Este describe todos los colores visibles al ojo
20 humano y fue creado como un modelo referencia independiente del dispositivo. Dado que Lab fue creado para aproximarse a la visión humana, este es perceptualmente uniforme y su componente L se aproxima bastante a la percepción humana de la Luminosidad. Las tres coordenadas del modelo CIELAB representan la luminosidad del color ($L = 0$ produce negro y $L = 100$ representa un blanco difuso; blancos especulas pueden ser de valor más alto), la
25 posición entre rojo/magenta y verde (valores de a negativos indican verde, mientras que

valores positivos representan al magenta) y la posición entre amarillo y azul (valores negativos de b producen colores azules y valores positivos indican amarillo).

A continuación se explica cada descriptor según su interpretación estadística u obtención:

5 - Descriptores estadísticos de primer orden: El histograma es una función que muestra para cada valor de pixel i , el número de pixeles $H(i)$ (proporcional a la frecuencia) que en la imagen tienen ese valor. En la forma gráfica del histograma, i se representa por el eje horizontal, y $H(i)$ por el vertical. La Fig. 9 es un ejemplo del histograma de la componente verde de una imagen de un linfocito de sangre periférica. Puesto que la imagen es una matriz

10 rectangular discretizada, los pixeles toman el valor i en un rango $[0, L-1]$ (L no es necesariamente el número de valores que pueden tomar los pixeles, sino el número de contenedores bajo los cuales se calculan las frecuencias del histograma). El histograma también se puede interpretar como la función de densidad de probabilidad. Por ejemplo $p(i=3) = H(3)/16$, es la probabilidad de que un pixel, que pertenece a una imagen de 4×4 elementos,

15 tenga valor 3. Es decir, que $p(i)$ es la densidad de probabilidad, calculada como la frecuencia del nivel respectivo, dividida entre el número de contenedores (L). En la tabla 2 se muestran los parámetros estadísticos de primer orden: media, desviación estándar, asimetría, curtosis, energía y entropía, obtenidos a partir del histograma.

 - Descriptores estadísticos de segundo orden: Los descriptores de segundo orden

20 pueden proveer más información acerca de la textura de los objetos que se desean analizar. Estos parámetros son definidos a partir de la matriz de co-ocurrencia. Este arreglo matricial, representa la probabilidad conjunta de que dos pixeles tengan un valor de intensidad " i " y " j ", respectivamente, a una distancia d en una dirección determinada. La matriz de co-ocurrencia considera no sólo la información sobre los niveles de intensidad, sino también la posición de

25 los pixeles con valores de intensidad similares.

Nombre	Formula
Media	$\mu = \sum_{i=0}^{L-1} ip(i)$
Desviación estándar	$\sigma = \sqrt{\sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu)^2 p(i)}$
Asimetría estadística	$\frac{\sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu)^3 p(i)}{\sigma^3}$
Curtosis	$\frac{\sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu)^4 p(i)}{\sigma^4}$
Energía	$\sum_{i=0}^{L-1} p^2(i)$
Entropía	$\sum_{i=0}^{L-1} \log_2(p(i)) p(i)$

Tabla 2. Descriptores estadísticos de primer orden

En la Fig. 10 se muestra, de acuerdo a un ejemplo de realización preferido, una posible
 5 matriz a utilizar por el método propuesto de tamaño 4 x 4 con tres niveles de intensidad. Al
 lado, se muestra la matriz de co-ocurrencia, con distancia $d = 1$ y dirección diagonal que
 apunta hacia el noroeste. Su dimensión es 3 x 3, pues los niveles de intensidad son: 0, 1 y 2. El
 elemento en la posición (1,1) de la matriz de co-ocurrencia indica que el nivel "0" está junto al
 nivel "0" 2 veces, en la dirección diagonal noroeste. El elemento en la posición (2,3), relaciona
 10 el nivel "1" junto al nivel "2" en la misma dirección, presentándose una vez. En la tabla 3 se
 definen matemáticamente los descriptores de segundo orden utilizados, a partir de la matriz
 de co-ocurrencia.

- Descriptores de Granulometría: La granulometría determina la distribución de
 tamaños de las partículas en una imagen, para ello se utiliza generalmente la Morfología
 15 matemática para *estimar* la distribución de partículas indirectamente, sin tener que identificar
 y medir cada una de estas sobre la imagen.

Nombre	Formula
Uniformidad o energía	$f_1 = \sum_i \sum_j p(i, j)^2$
Contraste	$f_2 = \sum_{i=1}^{N-1} n^2 \left\{ \sum_{i=1}^N \sum_{\substack{j=1 \\ i-j =n}}^N p(i, j) \right\}$
Correlación	$f_3 = \frac{\sum_i \sum_j (ij) p(i, j) - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y}$
Varianza	$f_4 = \sum_i \sum_j (i - \mu)^2 p(i, j)$
Entropía	$f_5 = -\sum_i \sum_j p(i, j) \log[p(i, j)]$
Varianza de la diferencia	$f_{10} = \sum_{k=0}^{N-1} \left[k - \sum_{i=0}^{N-1} i p_{x-y}(i) \right]^2 p_{x-y}(k)$
Homogeneidad	$f_{15} = \sum_i \sum_j \frac{1}{1 + i - j } p(i, j)$
$p(i, j)$ es el valor del elemento (i, j) en la matriz de co-ocurrencia; $\sum_i = \sum_{i=1}^N$; $\sum_j = \sum_{j=1}^N$	
N es la dimensión de la matriz de co-ocurrencia ($N \times N$). μ es la media de μ_x y μ_y $p_x(i) = \sum_{j=1}^N p(i, j)$; $p_y(j) = \sum_{i=1}^N p(i, j)$; $\mu_x = \sum_{i=1}^N i p_x(i)$; $\mu_y = \sum_{j=1}^N j p_y(j)$ $\sigma_x = \sqrt{\sum_{i=1}^N p_x(i)(i - \mu_x)^2}$; $\sigma_y = \sqrt{\sum_{j=1}^N p_y(j)(j - \mu_y)^2}$; $Q(i, j) = \sum_{k=1}^N \frac{p(i, k) p(j, k)}{p_x(i) p_y(j)}$ $p_{x+y}(k) = \sum_{i=1}^N \sum_{\substack{j=1 \\ i+j=k}}^N p(i, j)$; $k = 2, 3, \dots, 2N$; $p_{x-y}(k) = \sum_{i=1}^N \sum_{\substack{j=1 \\ i-j =k}}^N p(i, j)$; $k = 0, 1, \dots, N-1$	

Tabla 3. Descriptores de segundo orden, obtenidos con la matriz de co-ocurrencia.

- Puesto que las partículas claras con cierta forma regular son más brillantes que el fondo de la imagen, la Granulometría consiste en aplicar *openings* incrementando el tamaño del elemento estructural de esta operación morfológica. La idea básica es que las operaciones de *opening* con un tamaño particular deberán tener un efecto mayor sobre las regiones de la imagen que contienen partículas claras con un tamaño similar. En cada paso se calcula la suma de los valores de intensidad de los píxeles en la imagen resultante de operar con el opening.
- Esta suma (cuando se normaliza por la suma de las intensidades de los píxeles de la región original se denomina función de distribución del tamaño para la granulometría) deberá disminuir tanto como se incremente el tamaño del elemento estructural, dado que los openings reducen la intensidad de las partículas brillantes. Este procedimiento produce un vector donde cada elemento es igual a la suma de las intensidades de los píxeles de la imagen operada (con opening) y cada localización del vector representa un tamaño del elemento estructural. Para enfatizar los cambios entre openings sucesivos, se calcula la diferencia entre elementos adyacentes de este vector 1D. Para visualizar los resultados estas diferencias (si se

ha normalizado es la función de densidad de la distribución del tamaño para la granulometría) son graficadas, en donde cada pico es un indicio de la distribución de tamaño dominante sobre las partículas de la imagen.

Si todo el procedimiento descrito anteriormente se realiza con la operación
5 morfológica de *closing*, el método se denomina Antigranulometría. La principal diferencia de ésta, radica en que se mide la distribución del tamaño de las partículas oscuras. Es decir, que a medida que se ejecuta un nuevo *closing* (incrementando el tamaño del elemento estructural) se tiene un mayor efecto de la operación sobre los gránulos oscuros.

La granulometría produce información sobre las partículas brillantes, mientras que la
10 antigranulometría lo hace respecto a las partículas oscuras. Una forma de aprovechar ambas metodologías es unir las densidades de distribución en una sola. El resultado es la Curva Granulométrica, en la cual se refleja la distribución de las operaciones con *closing*, colocándolas en las coordenadas negativas (tamaño del elemento estructural para el *closing*). La distribución para las iteraciones con *opening* se deja igual y se colocan en las coordenadas
15 positivas (tamaño del elemento estructural para el *opening*). Por último, el valor de la densidad para el tamaño cero se coloca cero, para no afectar el aporte total de las densidades en posteriores medidas cuantitativas. El resultado es una gráfica como se muestra en la Fig. 11, con cierta simetría y que abarca todos los tamaños desde el *closing* hasta el *opening*.

El método propuesto utiliza, de acuerdo a un ejemplo de realización, preferiblemente
20 cuatro medidas para la extracción de información sobre la curva granulométrica del núcleo y el citoplasma de los linfocitos: la media, la desviación estándar, la asimetría estadística y la curtosis.

- Descriptor del perfil citoplasmático: Se ha implementado un descriptor que puede
25 estimar la cantidad de vellosidades presente en el borde exterior del citoplasma analizando la región externa a la célula, la cual ha sido segmentada previamente junto al núcleo y la célula. Se estima la cantidad de píxeles de esta región que "no pertenecen al fondo", mediante el número de píxeles de una nueva segmentación por umbralización entre, por ejemplo, los niveles de intensidad 70 y 215 de la componente verde. En la Fig. 12, se muestra las diferentes etapas para calcular el descriptor del perfil citoplasmático de un Tricoleucocito.

30 Finalmente, todos los descriptores calculados se almacenan en un vector fila por cada célula. Es decir, que para un conjunto determinado de células se tiene una matriz con tantas filas como células se desee analizar. Una vez las características de cada célula han sido

calculadas, se utilizan dichas características para clasificar las células anormales en 5 grupos diferentes. Generalmente, estos cinco grupos serán: N; HCL; LLC; MCL o B-PLL.

De acuerdo a un ejemplo de realización preferido, el método propuesto se ha realizado sobre 1500 imágenes digitales de células linfoides de SP teñidas con May-Grünwald-Giemsa en el CellaVision DM96 (Cellavision AB, Lund, Sweden). Las imágenes corresponden a: 180 imágenes células características de pacientes sanos (H), 301 imágenes de células linfoides características de pacientes con Tricoleucemia (HCL), 542 imágenes de células linfoides características de pacientes con Leucemia Linfocítica Crónica (LLC), 401 imágenes de células características del linfoma de las células del manto (MCL) y 75 imágenes de células linfoides características de la leucemia prolinfocítica B (B-PLL). Así, se ha creado una base de datos de descriptores en forma de matriz de 1500 (células) x 44 (descriptores). Con el fin de analizar las características de cada una de las patologías mencionadas, se ha implementado el algoritmo de clasificación supervisado *Análisis Discriminante Lineal* (LDA).

Con el algoritmo de clasificación LDA se realiza una validación cruzada de 10 folders (10-fold cross-validation). Esta técnica divide el conjunto de datos en 10 subconjuntos igualmente espaciados. Entonces, un solo subconjunto es usado para validar mientras los nueve restantes son utilizados para el entrenamiento. De esta forma, se repite este proceso preferiblemente 10 veces, usando cada subconjunto como los datos de validación. La proporción de células mal clasificadas fue tan sólo del 1.93%. La tabla 4 muestra la matriz de confusión correspondiente a todo el proceso.

Conocidos	Predichos					%Correcto
	H	HCL	CLL	MCL	B-PLL	
H	179	0	0	0	2	98.9
HCL	5	294	0	0	2	97.7
CLL	5	0	536	0	1	98.9
MCL	4	0	0	391	6	97.5
B-PLL	3	1	0	0	71	94.7

Tabla 4. Matriz de confusión de la técnica de validación cruzada (10-fold) usando LDA.

El alcance de la invención está definido en el siguiente conjunto de reivindicaciones adjuntas.

Reivindicaciones

1. Método implementado por ordenador para reconocimiento y clasificación de células sanguíneas anormales, que comprende realizar una clasificación de células en base a técnicas de procesamiento automático y de técnicas de análisis de muestras de sangre que incluye
5 adquirir imágenes digitales de células sanguíneas anormales procedentes de una pluralidad de células sanguíneas, caracterizado porque comprende realizar las siguientes etapas:
 - a) segmentar dichas imágenes digitales de células anormales proporcionando regiones identificadas del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales de dichas imágenes digitales;
 - 10 b) calcular características intrínsecas de cada una de dichas regiones identificadas del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprendiendo calcular al menos las características geométricas de dichas regiones identificadas;
 - c) reconocer y clasificar automáticamente células sanguíneas anormales en base a
15 dichas características intrínsecas calculadas de dichas regiones identificadas; y
 - d) usar dichas células sanguíneas anormales reconocidas y clasificadas para realizar un diagnóstico de enfermedades hematológicas.
2. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende realizar, previo a dicha segmentación, una etapa de pre-procesamiento de dichas imágenes digitales de células
20 sanguíneas anormales adquiridas.
3. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha segmentación se realiza empleando una técnica de contornos activos en dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales utilizando el Flujo del Vector Gradiente (GVF).
4. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha segmentación se
25 realiza empleando una técnica de agrupación de las componentes de diferentes espacios de color y transformación de Watershed en dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales.
5. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho cálculo de las características intrínsecas de dichas regiones identificadas del núcleo, del citoplasma y de la
30 región externa de dichas células sanguíneas anormales comprende además extraer características de primer orden de dichas regiones identificadas basadas en un histograma de la región identificada.

6. Método según las reivindicaciones 1 o 5, caracterizado porque dicho cálculo de las características intrínsecas de dichas regiones identificadas del núcleo, citoplasma y del área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprende además calcular características de segundo orden de dichas regiones identificadas en base a una matriz de coocurrencia de cada región identificada.

7. Método según las reivindicaciones 1, 5 o 6, caracterizado porque dicho cálculo de las características intrínsecas de las regiones identificadas del núcleo, citoplasma y del área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprende además extraer características de granularidad del núcleo y del citoplasma identificado mediante la aplicación de una técnica de morfología matemática.

8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 5, 6 o 7, caracterizado porque dichas características de primer orden, segundo orden y de granularidad son calculadas en diferentes componentes de varios espacios de color.

9. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho cálculo de las características intrínsecas de dichas regiones del núcleo, citoplasma y área externa de la célula de dichas células sanguíneas anormales comprende además calcular un parámetro de vellosidad del citoplasma identificado, en donde dicha segmentación se realiza mediante la utilización de una técnica de agrupación de las componentes de diferentes espacios de color y Transformación de Watershed en dichas imágenes digitales de células sanguíneas anormales.

10. Método según la reivindicación 9, caracterizado porque dicho parámetro de vellosidad se calcula utilizando una segmentación de umbral de un componente de color verde de las células sanguíneas anormales calculando el número total de píxeles de dicha región de color verde segmentada de la imagen digital.

11. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha clasificación de las células sanguíneas anormales comprende al menos una clasificación en cinco grupos diferentes.

12. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende repetir dichas etapas a) hasta c) tantas veces como imágenes digitales de células sanguíneas anormales sean adquiridas.

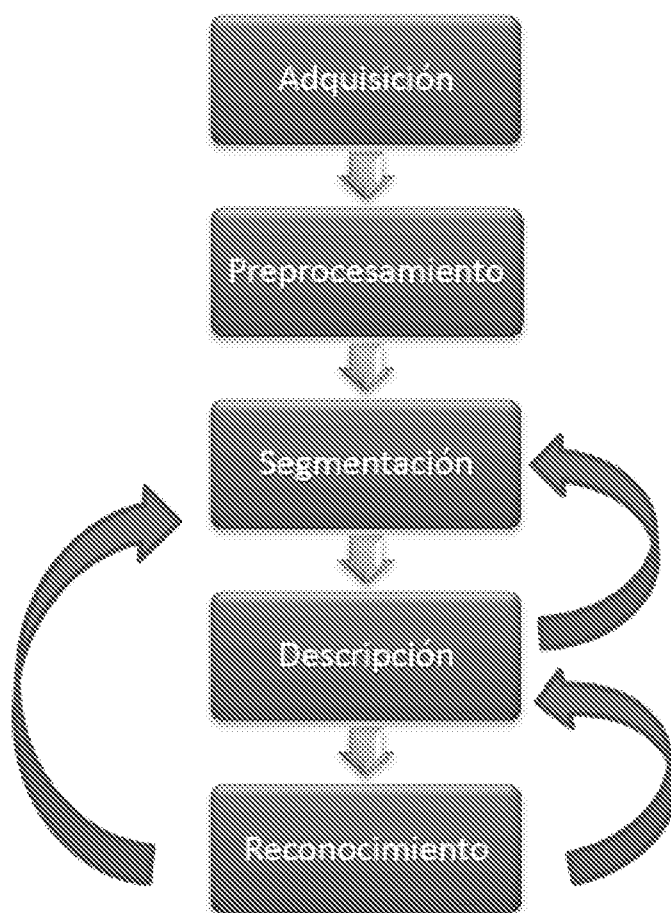
13. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dichas células sanguíneas anormales son células linfoides.

14. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 12, caracterizado porque dichas células sanguíneas anormales son células blásticas.

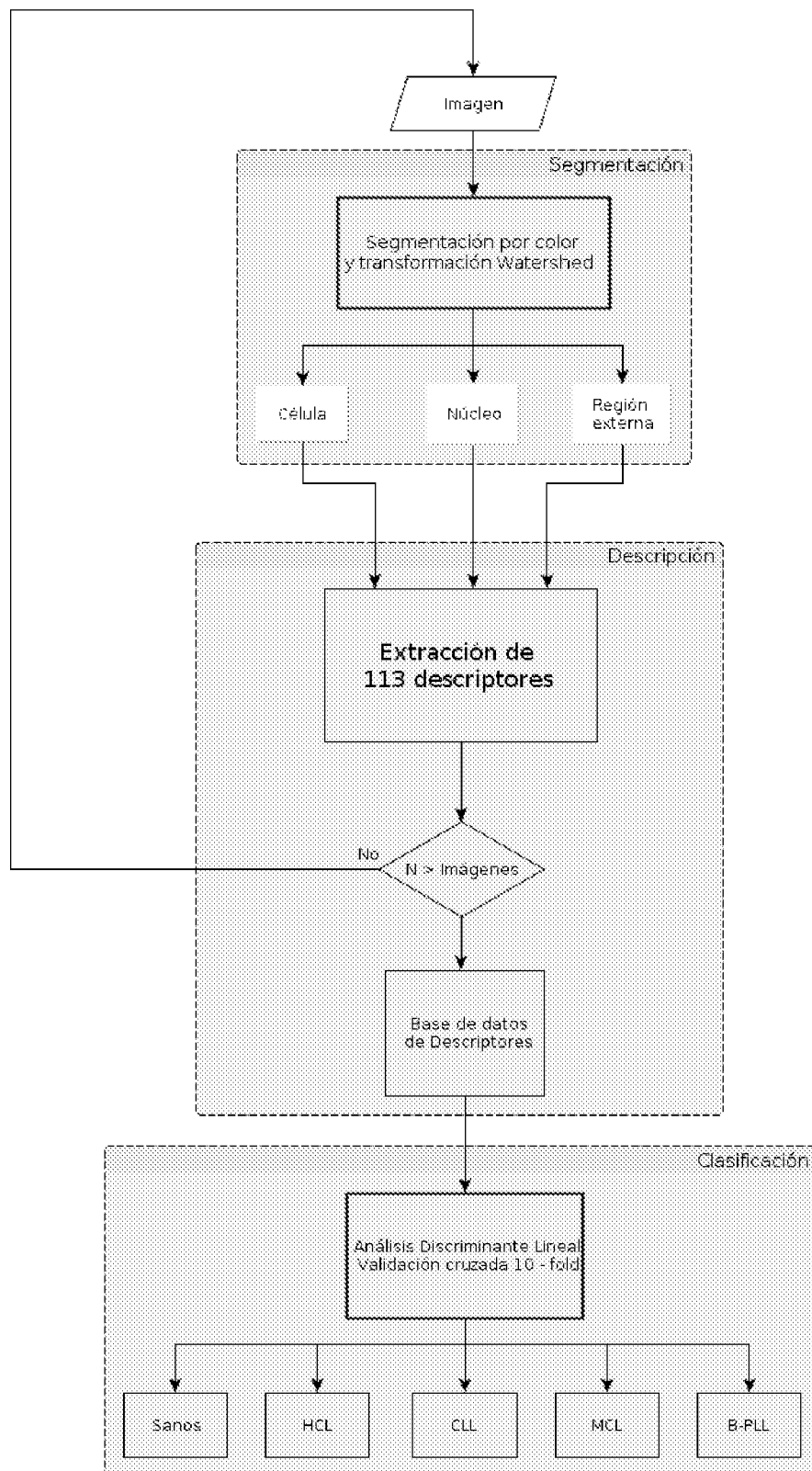
15. Programa informático de ordenador que comprende medios de código de programa informático que ejecutados en un ordenador implementan el método según las etapas a), b) y c) de la reivindicación 1.

5 16. Programa informático de ordenador que comprende medios de código de programa informático que ejecutados en un ordenador implementan el método según la etapa d) de la reivindicación 1.

1/10

**Fig. 1**

2/10

**Fig. 2**

3/10

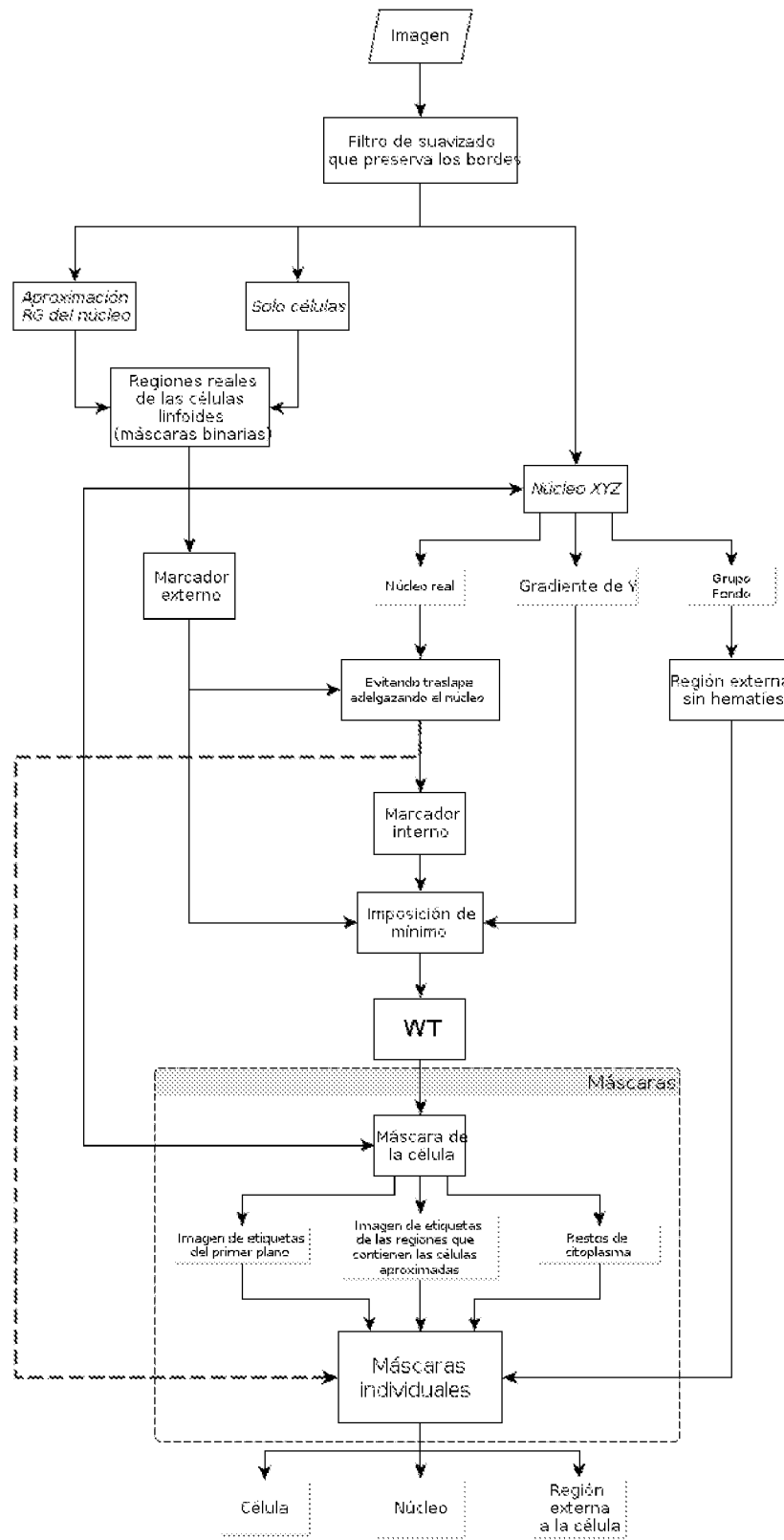
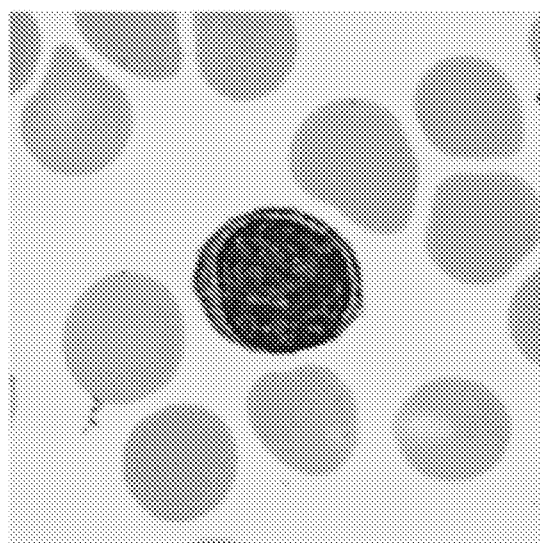
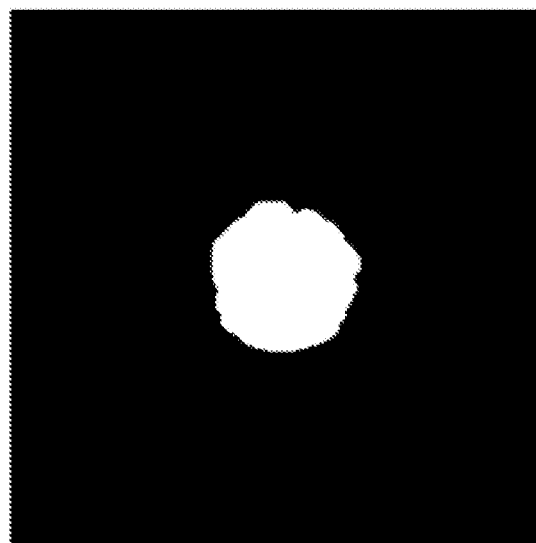


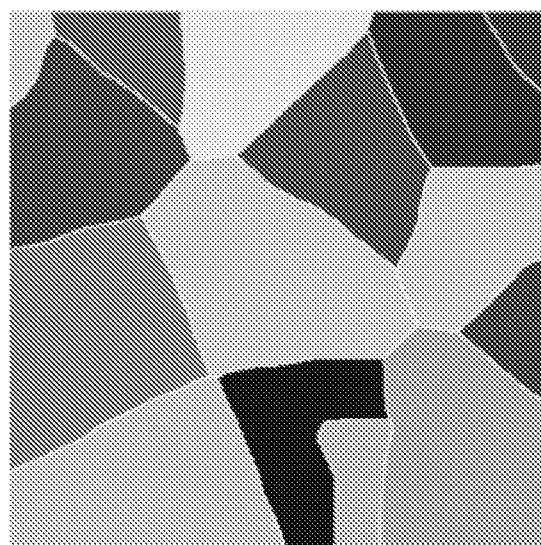
Fig. 3



(a) Linfocito normal



(b) Aproximación del núcleo



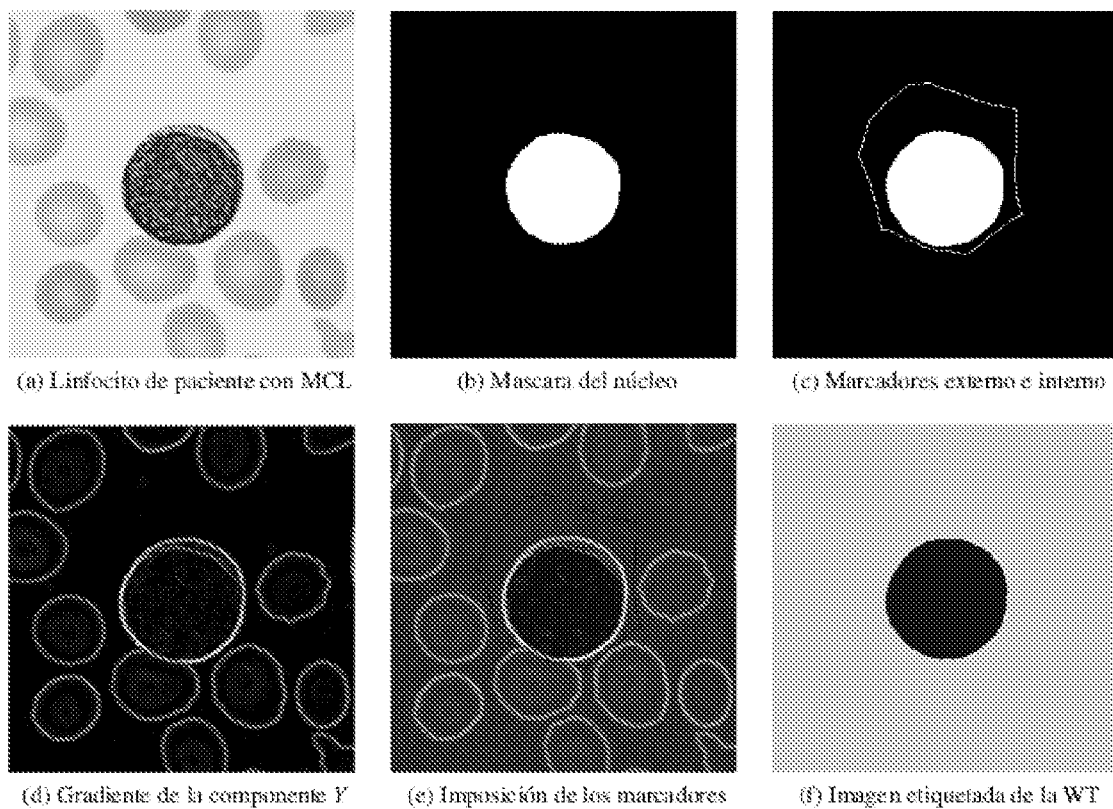
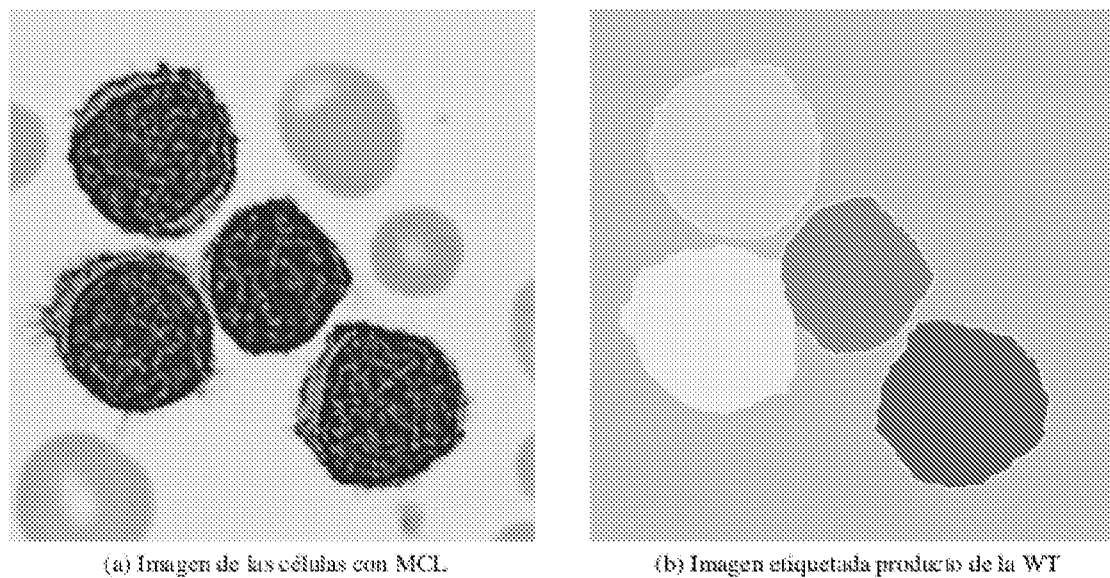
(c) Imagen de etiquetas para cada región con células

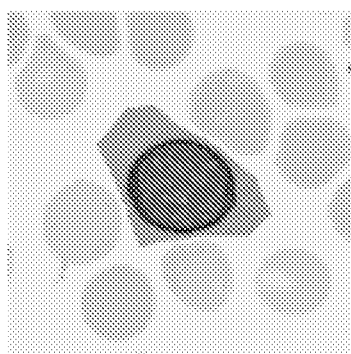


(d) Máscara binaria de la región que contiene a la célula linfocitoide (cv0)

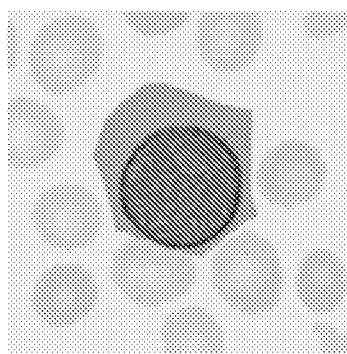
Fig. 4

5/10

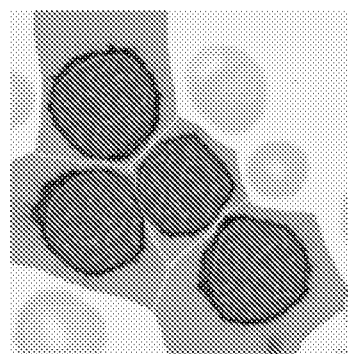
**Fig. 5****Fig. 6**



(a) Linfocito normal



(b) Célula linfoide con MCL



(c) Varias células linfoides con MCL

Fig. 7

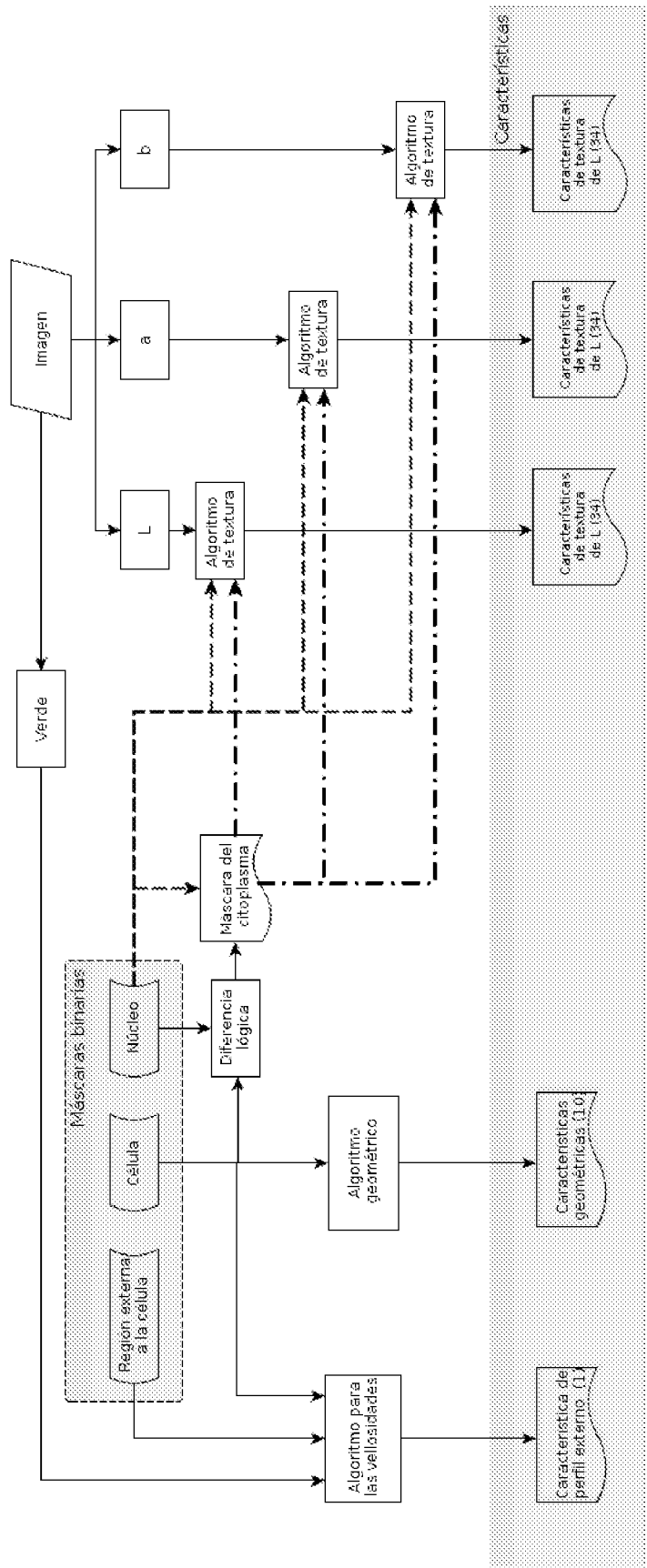
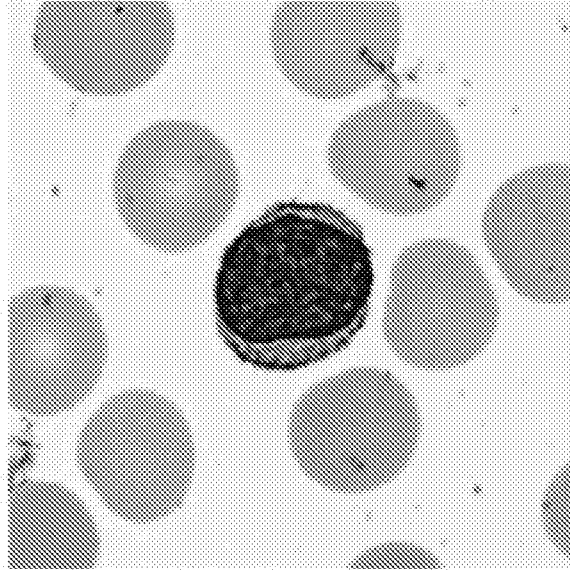
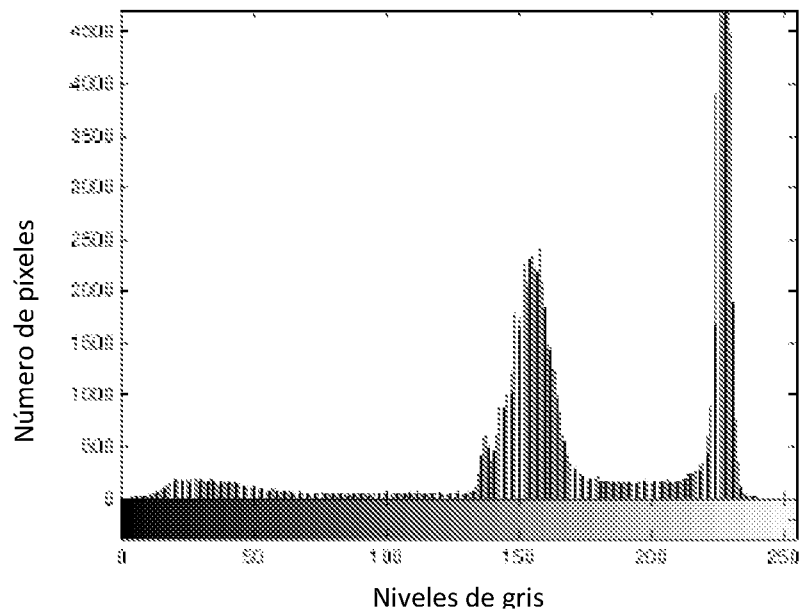


Fig. 8

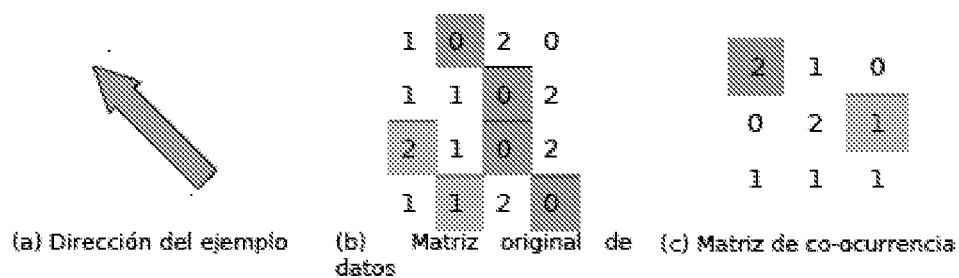
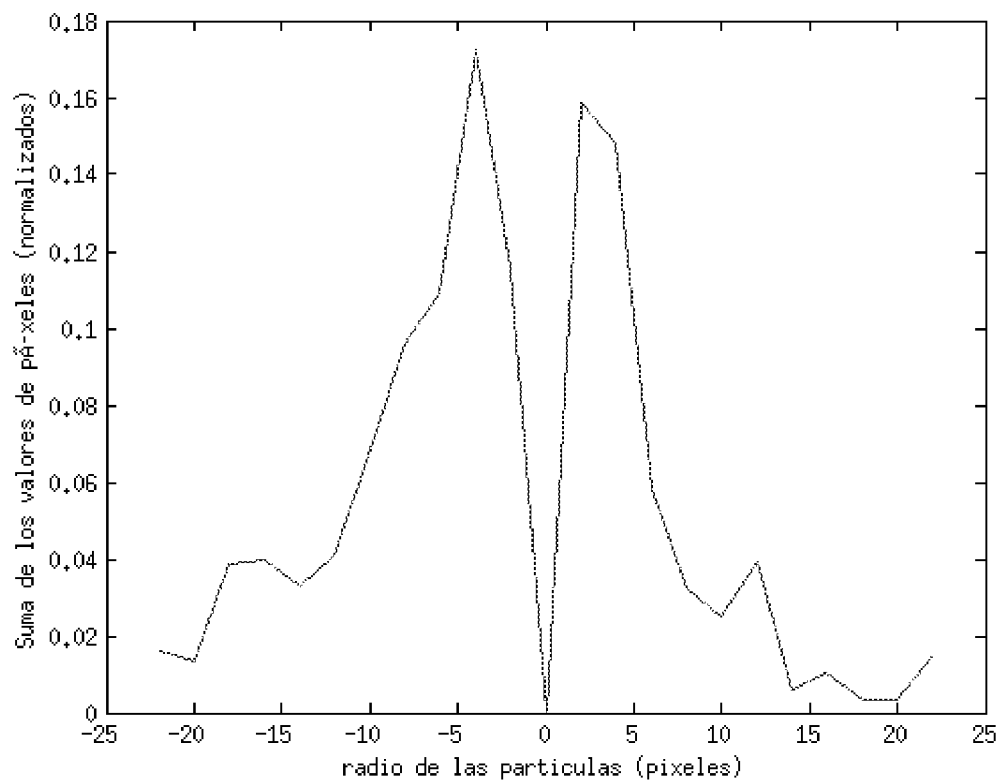
Componente verde de la célula



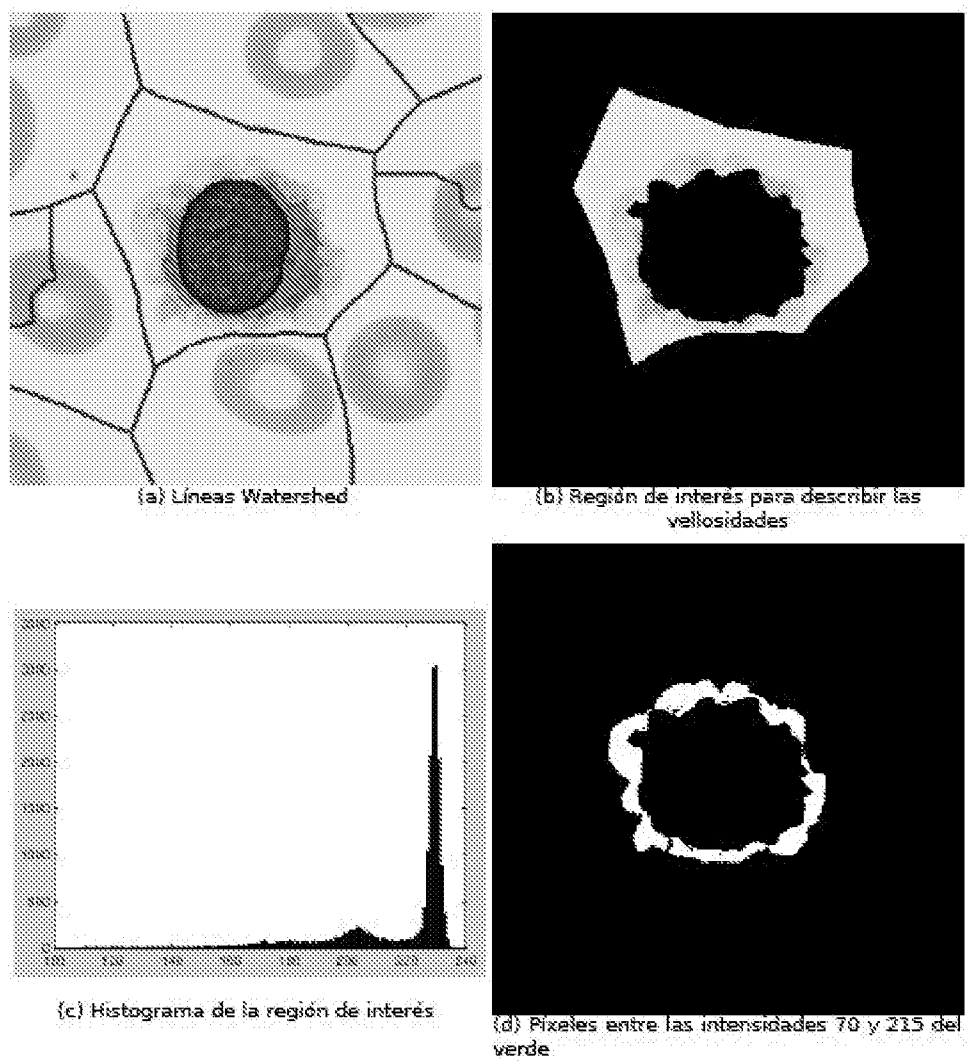
Histograma componente verde de la célula

**Fig. 9**

9/10

**Fig. 10****Fig. 11**

10/10

**Fig. 12**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2014/070393

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G06K9/00 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G06K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, Inspec

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	24/02/2011, SUBRAJEET MOHAPATRA et al. Fuzzy Based Blood Image Segmentation for Automated Leukemia Detection.Devices and Communications (ICDeCom), 2011 International Conference on, 20110224 IEEE 24/02/2011 VOL: Pags: 1 - 5 ISBN 978-1-4244-9189-6 ; ISBN 1-4244-9189-4 Doi: doi:10.1109/ICDECOM.2011.5738491 the whole document.	1-16
A	03/12/2010, SUBRAJEET MOHAPATRA et al. Automated leukemia detection using hausdorff dimensi3n in blood microscopic images.Emerging Trends in Robotics and Communication Technologies (INTERACT), 2010 International Conference on, 20101203 IEEE 03/12/2010 VOL: Pags: 64 - 68 ISBN 978-1-4244-9004-2 ; ISBN 1-4244-9004-9 Doi: doi:10.1109/INTERACT.2010.5706196 the whole the document.	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
30/09/2014

Date of mailing of the international search report
(01/10/2014)

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsímile No.: 91 349 53 04

Authorized officer
M. Alvarez Moreno

Telephone No. 91 3495495

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2014/070393

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	27/12/2010, MOHAPATRA S et al. Image analysis of blood microscopic images for acute leukemia detection. Industrial Electronics, Control & Robotics (IECR), 2010 International Conference on, 20101227 IEEE 27/12/2010 VOL: Pags: 215 - 219 ISBN 978-1-4244-8544-4 ; ISBN 1-4244-8544-4 Doi: doi:10.1109/IECR.2010.5720171 the whole document.	1-16
A	26/11/2012, HAYAN T MADHLOOM et al. A Robust Feature Extraction and Selection Method for the Recognition of Lymphocytes versus Acute Lymphoblastic Leukemia. Advanced Computer Science Applications and Technologies (ACSAT), 2012 International Conference on, 20121126 IEEE 26/11/2012 VOL: Pags: 330 - 335 ISBN 978-1-4673-5832-3 ; ISBN 1-4673-5832-0 Doi: doi:10.1109/ACSAT.2012.62 the whole document.	1-16
A	30/11/2005, ANGULO J et al. Ontology-based lymphocyte population description using mathematical morphology on colour blood images. Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand) 2006 00/00/2006 VOL: 52 No: 6 Pags: 2-15 ISSN 0145-5680 Doi: doi:10.1170/T732 the whole document.	1-16
A	20/07/2005, SCOTTI F Automatic morphological analysis for acute leukemia identification in peripheral blood microscope images. Computational Intelligence for Measurement Systems and Applications, 2005. CIMSA. 2005 IEEE International Conference on, 20-22 July 2005, 20050720; 20050720 - 20050722 Piscataway, NJ, USA IEEE 20/07/2005 VOL: Pags: 96 - 101 ISBN 978-0-7803-9026-3 ; ISBN 0-7803-9026-1 Doi: doi: 10.1109/CIMSA.2005.1522835 the whole document.	1-16

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2014/070393

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

G06K9/00 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G06K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, Inspec

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	24/02/2011, SUBRAJEET MOHAPATRA et al. Fuzzy Based Blood Image Segmentation for Automated Leukemia Detection.Devices and Communications (ICDeCom), 2011 International Conference on, 20110224 IEEE 24/02/2011 VOL: Pags: 1 - 5 ISBN 978-1-4244-9189-6 ; ISBN 1-4244-9189-4 Doi: doi:10.1109/ICDECOM.2011.5738491 todo el documento.	1-16
A	03/12/2010, SUBRAJEET MOHAPATRA et al. Automated leukemia detection using hausdorff dimensión in blood microscopic images.Emerging Trends in Robotics and Communication Technologies (INTERACT), 2010 International Conference on, 20101203 IEEE 03/12/2010 VOL: Pags: 64 - 68 ISBN 978-1-4244-9004-2 ; ISBN 1-4244-9004-9 Doi: doi:10.1109/INTERACT.2010.5706196 todo el documento.	1-16

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☐ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
30/09/2014

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
01 de Octubre de 2014 (01/10/2014)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
M. Alvarez Moreno
Nº de teléfono 91 3495495

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2014/070393

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	27/12/2010, MOHAPATRA S et al. Image analysis of blood microscopio images for acute leukemia detection.Industrial Electronics, Control&Robotics (IECR), 2010 International Conference on, 20101227 IEEE 27/12/2010 VOL: Pags: 215 - 219 ISBN 978-1-4244-8544-4 ; ISBN 1-4244-8544-4 Doi: doi:10.1109/IECR.2010.5720171 todo el documento.	1-16
A	26/11/2012, HAYAN T MADHLOOM et al. A Robust Feature Extraction and Selection Method for the Recognition of Lymphocytes versus Acute Lymphoblastic Leukemia.Advanced Computer Science Applications and Technologies (ACSAT), 2012 International Conference on, 20121126 IEEE 26/11/2012 VOL: Pags: 330 - 335 ISBN 978-1-4673-5832-3 ; ISBN 1-4673-5832-0 Doi: doi:10.1109/ACSAT.2012.62 todo el documento.	1-16
A	30/11/2005, ANGULO J et al. Ontology-based lymphocyte population description using mathematical morphology on colour blood images.Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand) 2006 00/00/2006 VOL: 52 No: 6 Pags: 2-15 ISSN 0145-5680 Doi: doi:10.1170/T732 todo el documento.	1-16
A	20/07/2005, SCOTTI F Automatic morphological analysis for acute leukemia identification in peripheral blood microscope images.Computational Intelligence for Measurement Systems and Applications, 2 005. CIMS.A. 2005 IEEE International Conference on Messian, Italy 20-22 July 2005, 20050720; 20050720 - 20050722 Piscataway, NJ, USAIEEE 20/07/2005 VOL: Pags: 96 - 101 ISBN 978-0-7803-9026-3 ; ISBN 0-7803-9026-1 Doi: doi:10.1109/CIMS.A.2005.1522835 todo el documento.	1-16