(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 453 415**

(21) Número de solicitud: 201331854

(51) Int. Cl.:

G06T 7/00 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

18.12.2013

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

07.04.2014

(71) Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE LEÓN (100.0%)
Avda. de la Facultad, 25
24071 León ES

(72) Inventor/es:

ALEGRE GUTIÉRREZ, Enrique;
GONZÁLEZ CASTRO, Víctor;
ALÁIZ RODRÍGUEZ, Rocío;
GARCÍA OLALLA, Óscar;
GARCÍA ORDÁS, Diego;
CASTEJÓN LIMAS, Manuel;
FERNÁNDEZ ROBLES, Laura y
GARCÍA ORDÁS, María Teresa

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

(54) Título: **Procedimiento y sistema para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada**

(57) Resumen:

Procedimiento y sistema para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada, conteniendo la muestra (1) dos clases diferentes de espermatozoides. El procedimiento comprende capturar imágenes digitales de la muestra y describir la textura de las cabezas de espermatozoides. Con dichos descriptores de textura se clasifican los espermatozoides utilizando una descripción y clasificación previa realizada con un conjunto de datos conocidos y etiquetados. A partir de esta clasificación, se utilizan medidas de distancia entre diversas distribuciones, utilizando la distancia de Jensen-Shannon, determinando, con estas medidas, la proporción de espermatozoides pertenecientes a cada una de las dos clases presentes en la muestra. Aplicable para determinar la proporción de espermatozoides con el acrosoma dañado frente a los espermatozoides con el acrosoma intacto, y para determinar la proporción de espermatozoides vivos y muertos de una muestra.

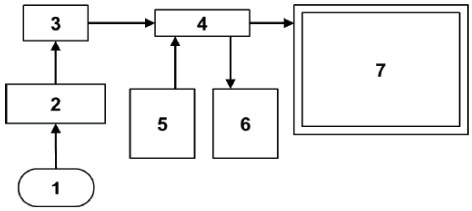


Fig. 1

ES 2 453 415 A1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento y sistema para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada

OBJETO DE LA INVENCIÓN

El objeto de la presente invención es un proceso automatizado para que, dada una muestra en la que hay espermatozoides de dos tipos, estime y presente la proporción de espermatozoides, de cada una de las dos clases, presentes en dicha muestra.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

En la actualidad, la valoración de la calidad del semen en función de la integridad del acrosoma y la vitalidad de los espermatozoides tiene mucha importancia en algunas especies animales, como es el caso del ganado porcino. Esta valoración se realiza habitualmente en los centros de producción seminal o en las granjas o centros en los que se llevan a cabo las inseminaciones artificiales, por parte de operarios especializados, normalmente veterinarios. Además, habitualmente dichos centros guardan un histórico de la valoración realizada para ir clasificando al donante en función de la calidad de su semen a lo largo del tiempo.

Fundamentalmente, esta valoración se realiza visualmente, utilizando tinciones que hacen que, bajo luz fluorescente, queden resaltados los espermatozoides dañados en las muestras, que son contados manualmente. Además de caro, debido al coste de los equipos necesarios para llevarlo a cabo, este procedimiento es lento y está sujeto a los típicos errores de la inspección visual humana, debidos al cansancio o falta de atención.

Por ello, sería interesante disponer de un sistema que estimase automáticamente la proporción de espermatozoides con el acrosoma dañado sin utilizar tinciones.

El análisis digital de imagen aplicado al estudio de imágenes médicas en general, y a la valoración de espermatozoides en particular, empezó a utilizarse hace más de diez años. Existen sistemas específicamente diseñados para la evaluación del semen, conocidos como CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*). Sin embargo, ninguno de los sistemas CASA actuales analiza de forma automática la integridad acrosómica, ni mucho menos estima la proporción de células dañadas en una muestra.

Por otro lado, la mayoría de los trabajos realizados en este campo se limitan a analizar los resultados obtenidos al evaluar el semen con los sistemas CASA existentes (C. Soler, J. J. de Montserrat, R. Gutiérrez, J. Núñez, M. Núñez, M. Sancho, F. Pérez-Sánchez, y T.G. Cooper, “Use of the Sperm-Class Analyser for objective assessment of human sperm morphology”, International Journal of Andrology, Vol. 26, No. 5, 2003, pp. 262-270), o bien comparan las medidas proporcionadas por distintos sistemas (J.-Z. Chan, W. Krause, y C. Bohring, “Computer assisted analysis of sperm morphology with the aid of lectin staining”, Andrología, Vol. 34, 2002, pp. 379-383). Existen trabajos en los que se analiza la textura de las cabezas de los espermatozoides en imágenes en contraste de fase para determinar si sus acrosomas están íntegros o dañados (E. Alegre, V. González-Castro, S. A. Suárez and M. Castejón, “Comparison of supervised and unsupervised methods to classify boar acrosomes using texture descriptors”, in Proceedings ELMAR-2009, 2009, pp. 65-70), aunque no tienen en cuenta que las distribuciones de acrosomas íntegros y dañados son cambiantes a lo largo del tiempo debido a múltiples factores, como las condiciones de conservación de las muestras de semen, o la variabilidad de animales entre las diferentes granjas. Esto hace que utilizar siempre un mismo clasificador y contar las predicciones que éste realiza no produzca resultados óptimos (R.O Duda, P.E. Hart y D.G. Stork, “Pattern Classification”. John Wiley and Sons, 2001). Por ello, se hace necesario un método robusto que pueda reajustar dichas predicciones y proporcionar resultados más fiables.

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiera a un procedimiento y un sistema para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada, a partir de imágenes digitales tomadas de una muestra en las que aparecen cabezas de espermatozoides, donde la muestra contiene dos clases diferentes de espermatozoides. Las imágenes digitales están preferentemente en escala de gris.

El procedimiento comprende las siguientes etapas:

- obtener, a partir de las imágenes digitales de la muestra, un conjunto de patrones de test, que describen las cabezas de espermatozoides incluidas en dichas imágenes;
- obtener, a partir de dicho conjunto de patrones de test y mediante un clasificador (preferentemente una red neuronal), las probabilidades a posteriori para cada espermatozoide;
- obtener la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test;
- obtener la distribución de las probabilidades a posteriori de cada una de las clases del conjunto de patrones de calibración;
- modelar la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de calibración con una probabilidad a priori deseada;

- obtener la distancia Jensen Shannon entre la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test y la distribución de la calibración modelada;
- obtener, por comparaciones sucesivas con distribuciones de calibración con diferentes probabilidades a priori, la distribución de la probabilidad a priori para la que dicha distancia queda minimizada.

La etapa de obtención de la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test se realiza preferentemente creando un histograma de frecuencias relativas de dichas probabilidades a posteriori, mediante agrupamiento de datos con distinto número de particiones.

La etapa de obtención de la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de calibración se realiza preferentemente creando un histograma de frecuencias relativas de dichas probabilidades a posteriori.

La etapa de modelación de la distribución del conjunto de patrones de calibración se puede realizar multiplicando las frecuencias relativas de cada clase del histograma del conjunto de patrones de calibración por dicha probabilidad a priori y sumando ambos productos.

El procedimiento puede comprender la etapa de adquisición de imágenes digitales de la muestra.

Otro aspecto de la invención se refiere a un sistema para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada. El sistema comprende medios de procesamiento de datos configurados para ejecutar las etapas del procedimiento.
El sistema puede comprender medios de almacenamiento de datos (5) donde se almacena el conjunto de patrones de calibración. El sistema puede también comprender un microscopio óptico (2) con una cámara digital (3) para la toma de imágenes digitales de la muestra (1).

El procedimiento de la invención permite realizar la estimación automática de las proporciones de espermatozoides presentes en una muestra, habiendo espermatozoides pertenecientes a dos clases diferentes (por ejemplo, acrosomas íntegros –clase 1- y acrosomas dañados –clase 2-; o vivos –clase 1- y muertos –clase 2-), que en lo sucesivo llamaremos “clase 1” y “clase 2”. Esta estimación se realiza utilizando los resultados que proporciona un clasificador que devuelve probabilidades a posteriori a partir de descriptores extraídos de las imágenes digitales en escala de gris de las cabezas de los espermatozoides. Al utilizar imágenes digitales en escala de gris no es necesario utilizar tinciones ni microscopios de fluorescencia para su captura. Además, este método es robusto ya que la estimación que realiza no varía aunque se produzcan cambios en las proporciones de individuos en las clases – clase 1 y clase 2- dentro de las muestras a evaluar con respecto a las proporciones en las clases del conjunto utilizado en la generación del clasificador. De esta manera, este método es más fiable.

Este procedimiento se puede utilizar principalmente en la industria de producción animal, donde es imprescindible realizar controles de calidad en los principales parámetros seminales para lograr un procesamiento preciso y eficiente de los eyaculados. El procedimiento de la invención tiene una especial incidencia en la industria porcina.

En el procedimiento para la estimación de las proporciones de espermatozoides de cada clase en muestras de semen se parte de:

- Un clasificador que devuelve probabilidades a posteriori. Estará almacenado para su utilización en la invención y en lo sucesivo se le llamará “clasificador”.
- El conjunto de salidas proporcionadas por el clasificador para un conjunto de patrones de clases conocidas. Este conjunto estará almacenado para su uso posterior en la invención y lo llamaremos “conjunto de calibración”.
- Las salidas que proporciona el clasificador para el conjunto de patrones cuyas proporciones se quieren estimar. En lo sucesivo lo llamaremos “conjunto de test”.

Los patrones, tanto del conjunto de calibración como del de test, han sido extraídos de imágenes en las que aparecen cabezas de espermatozoides, adquiridas típicamente mediante un microscopio acoplado a una cámara digital. Preferentemente, se colocarán en el microscopio lentes de 100 o de 40 aumentos (100x o 40x).

Contando con estos elementos se estima la probabilidad a priori, o proporción real, de espermatozoides de cada clase. Para ello, se compara la distribución del conjunto de test con las del conjunto de calibración.

Para obtener la probabilidad a priori, se obtienen distribuciones del conjunto de calibración en las que la probabilidad a priori de espermatozoides de clase 2 -en general la clase con menos individuos- varía entre 0.01 y 1. Se calcula la distancia Jensen-Shannon entre cada una de las distribuciones del conjunto de calibración y la del conjunto de test, considerando la proporción real buscada como aquella que haga mínima dicha distancia.

Puesto que los datos utilizados son discretos, las distribuciones se calculan obteniendo el histograma de frecuencias relativas de los datos. Para hacer variar las distribuciones del conjunto de calibración, el histograma de los elementos de cada clase se multiplica por la probabilidad a priori que se pretende obtener para dicha clase para, a continuación, unir ambos, sumándolos.

Con el objetivo de que la estimación sea más robusta se realiza la estimación con 11 histogramas, cada uno construido con un número de particiones que varía entre 10 y 110, contados de 10 en 10. Como estimación final se toma la mediana de estas 11 estimaciones.

Por último, se entiende de la presente descripción que la invención se extiende también a programas de ordenador, particularmente situados sobre o dentro de una portadora, adaptados para llevar a la práctica el procedimiento descrito. El programa puede tener la forma de código fuente, una fuente intermedia de código y código objeto, por ejemplo, como forma parcialmente compilada, o en cualquier otra forma adecuada para uso en la puesta en práctica de los procesos según la invención. La portadora puede ser cualquier entidad o dispositivo capaz de soportar el programa.

Por ejemplo, la portadora podría incluir un medio de almacenamiento, como una memoria ROM, una memoria CD ROM, una memoria flash, soporte de grabación magnética, como por ejemplo un disco duro, o cualquier otro soporte de memoria. Además, la portadora puede ser una portadora transmisible, por ejemplo, una señal eléctrica u óptica que podría transportarse a través de cable eléctrico y óptico, por radio o cualesquiera otros medios.

Cuando el programa va incorporado en una señal que puede ser transportada directamente por un cable u otro dispositivo o medio, la portadora puede estar constituida por dicho cable u otro dispositivo o medio.

Como variante, la portadora podría ser un circuito integrado en el que va incluido el programa, estando el circuito adaptado para ejecutar, o para ser utilizado en la ejecución de los procesos correspondientes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Fig. 1 muestra un esquema simplificado de un sistema capaz de llevar a cabo el procedimiento de la invención.

La Fig. 2 muestra un ejemplo de histogramas con las frecuencias relativas de los elementos del conjunto de calibración de ambas clases. En este caso se han utilizado 20 particiones.

La Fig. 3 muestra las distribuciones de la Fig. 2 con probabilidades a priori 0.8 y 0.2 respectivamente.

La Fig. 4 muestra la distribución completa de calibración con las probabilidades a priori deseadas.

La Fig. 5 muestra la distribución del conjunto de test, que se compara con las distribuciones de calibración generadas.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCIÓN

Se describe a continuación un ejemplo de procedimiento de acuerdo con la invención, haciendo referencia a las figuras adjuntas. La Fig. 1 muestra un sistema de captura que comprende un microscopio óptico (2), en este ejemplo un modelo Nikon E50i, donde se dispone la muestra (1). El microscopio óptico (2) está acoplado a una cámara digital (3), como la Basler Scout sc A780, la Basler A312fc u otra, que a su vez está conectada a un ordenador (4), bien mediante una tarjeta digitalizadora, mediante una conexión FireWire, o bien de cualquier otra manera que la cámara digital (3) requiera para que la imagen capturada llegue al ordenador (4) como una imagen digital, y se pueda mostrar a través de una pantalla de visualización (7) una vez adquirida. Un archivo de datos (5) almacena tanto el clasificador – que en este ejemplo se trata de una red neuronal entrenada con un algoritmo de retropropagación cuyas salidas proporcionan probabilidades a posteriori de los datos de entrada –, como el conjunto de calibración, con el que se modelarán las distribuciones de calibración. El uso de ambos – clasificador y conjunto de calibración – se describen en los pasos 5 y 6. Otro archivo de datos (6) permite almacenar los resultados obtenidos, que se pueden mostrar a través de la pantalla de visualización (7). A continuación se describe cada paso del procedimiento de la invención.

1. Adquisición y preprocesamiento de las imágenes de las muestras

En primer lugar se deposita la muestra (1) de semen que se quiere analizar en el microscopio (2) y se ilumina y enfoca apropiadamente para que la imagen aparezca nítida. El sistema se ha evaluado con imágenes tomadas a 100 aumentos en contraste de fases positivo.

Si la imagen adquirida es una imagen en RGB o en color indexado, se convierte a una imagen en escala de grises.

2. Selección de las cabezas de los espermatozoides a analizar

Una vez capturada la imagen, ésta se muestra en la pantalla de visualización (7) para que el usuario seleccione los espermatozoides que se van a incluir en el análisis. La selección se realiza arrastrando el ratón alrededor de la cabeza del espermatozoide que se selecciona.
Las dos etapas anteriores, la 1 y la 2, se repetirán hasta que el usuario estime que los espermatozoides capturados son suficientes para realizar el análisis.

Alternativamente, esta selección también podría hacerse de una forma automática de manera que, para cada muestra a tratar, se segmentaran los espermatozoides presentes, se detectara la zona de la cabeza y se recortara un área rectangular lo suficientemente pequeña para contener solamente dicha cabeza.

3. Segmentación de las cabezas de los espermatozoides

El área rectangular previamente recortada alrededor de la cabeza del espermatozoide contiene la cabeza en sí y una porción del fondo de la imagen. En esta etapa se elimina toda la información del fondo para que no afecte al proceso de clasificación. Para ello, se asigna valor 0, negro, a los píxeles del fondo y se mantiene el valor en escala de gris de los píxeles de la cabeza del espermatozoide. Esto se puede hacer tras segmentar la cabeza con su acrosoma, esté intacto o no, separándolo así del fondo de la imagen.

Con el objetivo de mejorar el contraste de las imágenes resultantes del paso 2 se realiza un estiramiento del histograma, de manera que el rango dinámico de la imagen se corresponda con el rango estático. Este estiramiento puede consistir en una simple ampliación del contraste, una ecualización, o cualquier otro método de ajuste del contraste que se elegirá dependiendo del contraste de las imágenes con las que se trabaje.

El objetivo de este estiramiento es facilitar la segmentación de las cabezas de los espermatozoides. La segmentación llevada a cabo tiene como objetivo obtener una imagen con los niveles de gris originales de la cabeza y el resto de la imagen –correspondiente al fondo- con nivel de gris 0 (en lo sucesivo, al hecho de igualar el nivel de gris de sus píxeles a 0 se le llamará “eliminar elementos").

En primer lugar se realiza una umbralización para eliminar los elementos con valores de nivel de gris mayores que los de la cabeza. En principio se puede emplear cualquier método clásico para determinar el umbral de segmentación, aunque en el procedimiento de este ejemplo se utiliza el método de Otsu. Como el fondo tiene un nivel de gris más alto que el espermatozoide, se realiza adicionalmente una inversión, de modo que se eliminan los elementos del fondo de la imagen, mientras el resto queda en blanco. Tras esta umbralización se eliminan todas las regiones excepto la de mayor área (número de píxeles blancos). De este modo la región que queda en blanco corresponderá al espermatozoide en la imagen.

A continuación se realiza una erosión de dicha región con el objetivo de eliminar la cola o, al menos, de separarla de la cabeza. Una vez erosionada, se eliminan todas las regiones que pudieran quedar en contacto con el borde de la imagen, y se realiza una dilatación con el mismo elemento estructurante de la erosión anterior.

Finalmente, se utiliza la imagen resultante como máscara para obtener una imagen donde los píxeles ubicados dentro de la cabeza tengan el nivel de gris de la imagen original, y el resto de píxeles estén en negro.

4. Obtención de los descriptores de textura

La textura de las cabezas segmentadas en la etapa anterior se procesa para obtener unos descriptores cuantitativos de textura, o características matemáticas cuantificadas de los píxeles de la imagen.

En primer lugar se recorta la imagen obtenida en el paso anterior de forma que el rectángulo circunscrito a la cabeza sea de tamaño mínimo. Esto minimiza la cantidad de píxeles que no corresponden a la textura, y por lo tanto son píxeles sin información útil.

Si los descriptores a utilizar no son invariantes a la rotación, las cabezas deberán estar previamente alineadas con la misma orientación de su eje mayor y la zona de la cola en la misma posición.
A continuación se aplica a la imagen una descomposición Wavelet bidimensional, obteniendo como resultado 4 matrices de coeficientes.

Después se calculan las siguientes características de la matriz de coocurrencia, tanto de la imagen original de la cabeza como de las matrices de coeficientes: Contraste, Correlación, Energía y Homogeneidad. Como resultado, cada cabeza queda descrita mediante un vector de 20 características.

Al final de esta etapa el resultado es un conjunto de patrones que describen las imágenes que se adquirieron en las etapas 1 y 2. Este conjunto constituye el conjunto de test. Estos patrones pueden proceder de los descriptores previamente indicados o de cualesquiera otros que recojan apropiadamente la textura de las cabezas de los espermatozoides.

5. Clasificación de los patrones de textura

Los descriptores de textura obtenidos en la etapa anterior se clasifican mediante una red neuronal tipo perceptrón multicapa previamente entrenada con un conjunto de patrones – obtenidos como se ha descrito en las etapas anteriores – con la misma proporción de espermatozoides de la clase 1 y 2. El entrenamiento se lleva a cabo

utilizando un algoritmo de retro-propagación que minimiza una función de coste. Tanto el número de neuronas en la capa oculta como los ciclos de entrenamiento pueden variar. En el ejemplo de este procedimiento, la función de coste utilizada es el error cuadrático medio, y la red neuronal tiene tres neuronas en la capa oculta y fue entrenada durante 400 ciclos.

Junto con la red neuronal se almacenan en el archivo de datos (5) los parámetros para la normalización de los datos de entrenamiento necesarios para normalizar los datos de test. En el ejemplo de este procedimiento la normalización se realizó de forma que los datos de entrenamiento tuvieran media y desviación típica 0 y 1 respectivamente.

Como resultado de esta etapa se obtiene una medida cuantitativa de probabilidad a posteriori por cada espermatozoide.

6. Estimación de la proporción real de la clase 2

En esta etapa se estima la proporción real de espermatozoides de la clase 2 (en lo sucesivo: probabilidad a priori) en el conjunto de imágenes seleccionadas. Para ello se utilizan las medidas de probabilidad a posteriori obtenidas en el paso anterior, y las de un conjunto de datos etiquetados y conocidos (conjunto de calibración), almacenados en el archivo de datos (5). Partiendo de la distribución de las probabilidades a posteriori de este segundo conjunto se modelan distribuciones (en lo sucesivo: distribuciones de calibración) con probabilidades a priori conocidas, variando entre 0.01 y 1. Las distribuciones de calibración se comparan con la distribución del conjunto de test mediante la distancia Jensen-Shannon. Se considera que las clases del conjunto de test presentan unas probabilidades a priori iguales a las de la distribución de calibración que minimice el valor de la distancia Jensen-Shannon.

Sea el conjuntoΩ(A) de distribuciones de probabilidad, donde A es un a σ-álgebra de conjuntos medibles. En particular se puede considerar A como un conjunto finito en el que todos los subconjuntos son medibles.

La divergencia Jensen-Shannon es una función $D_{JS}: \Omega(A) \times \Omega(A) \rightarrow [0, \infty)$ definida por:

$$D_{JS}(P,Q) = \frac{1}{2} D_{KL}(P,M) + \frac{1}{2} D_{KL}(Q,M)$$

donde P y Q son dos distribuciones de probabilidad (en la realización de la invención se trata de las distribuciones de calibración y de test), $M = \frac{1}{2}(P+Q)$ y D_{KL} es la divergencia *Kullback-Leibler*, definida para distribuciones de probabilidad de datos discretos como:

$$D_{KL}(P,Q) = \sum_{i=1}^{n} P_i \ln\left(\frac{P(i)}{Q(i)}\right)$$

Puesto que los datos son discretos, las distribuciones de ambos conjuntos se calculan obteniendo el histograma de frecuencias relativas de los mismos, agrupándolos en *n* particiones (ver Fig. 2). El modelado de las distribuciones de calibración se lleva a cabo multiplicando la distribución de cada clase por separado por la probabilidad a priori que se desea que presente dicha clase (ver Fig. 3). Finalmente, ambas se suman (ver Fig. 4) y se calcula la distancia Jensen-Shannon con respecto a la distribución del conjunto de test (Fig. 5).

Con el objetivo de que la estimación sea más robusta, se realiza la estimación con las distribuciones obtenidas agrupando los datos variando el número *n* entre 10 y 110 particiones, con un paso de 10. La estimación final considerada es la mediana de estas 11 estimaciones.

El procedimiento concluye cuando se realizan estas 11 estimaciones y se muestra la estimación final (7), junto con el número de cabezas que se seleccionaron para el análisis. Estos resultados se almacenan en el archivo de datos (6), junto con la fecha del análisis y las observaciones que el usuario introduzca a través del ordenador (4).

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada, a partir de imágenes digitales tomadas de una muestra (1) en las que aparecen cabezas de espermatozoides, donde la muestra (1) contiene dos clases diferentes de espermatozoides, **caracterizado por que** comprende las siguientes etapas:

- obtener, a partir de las imágenes digitales de la muestra (1), un conjunto de patrones de test, que describen las cabezas de espermatozoides incluidas en dichas imágenes;
- obtener, a partir de dicho conjunto de patrones de test y mediante un clasificador, las probabilidades a posteriori para cada espermatozoide;
- obtener la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test;
- obtener la distribución de las probabilidades a posteriori de cada una de las clases del conjunto de patrones de calibración;
- modelar la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de calibración con una probabilidad a priori deseada;
- obtener la distancia Jensen Shannon entre la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test y la distribución de la calibración modelada;
- obtener, por comparaciones sucesivas con distribuciones de calibración con diferentes probabilidades a priori, la distribución de la probabilidad a priori para la que dicha distancia queda minimizada.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la etapa de obtención de la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test se realiza creando un histograma de frecuencias relativas de dichas probabilidades a posteriori, mediante agrupamiento de datos con distinto número de particiones.

3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la etapa de obtención de la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de calibración se realiza creando un histograma de frecuencias relativas de dichas probabilidades a posteriori.

4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado por que la etapa de modelación de la distribución del conjunto de patrones de calibración se realiza multiplicando las frecuencias relativas de cada clase del histograma del conjunto de patrones de calibración por dicha probabilidad a priori y sumando ambos productos.

5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que las imágenes digitales están en escala de gris.

6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende una etapa de adquisición de imágenes digitales de la muestra (1).

7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el clasificador es una red neuronal.

8. Sistema para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra que pertenecen a una clase determinada, a partir de imágenes digitales tomadas de una muestra (1) en las que aparecen cabezas de espermatozoides, donde la muestra (1) contiene dos clases diferentes de espermatozoides, **caracterizado por que** comprende medios de procesamiento de datos (4) configurados para:

- obtener, a partir de las imágenes digitales de la muestra (1), un conjunto de patrones de test que describen las cabezas de espermatozoides incluidas en dichas imágenes;
- obtener, a partir de dicho conjunto de patrones de test y mediante un clasificador las probabilidades a posteriori para cada espermatozoide;
- obtener la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test;
- obtener la distribución de las probabilidades a posteriori de cada una de las clases del conjunto de patrones de calibración;
- modelar la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de calibración con una probabilidad a priori deseada;
- obtener la distancia Jensen Shannon entre la distribución de las probabilidades a posteriori del conjunto de patrones de test y la distribución de la calibración modelada;
- obtener, por comparaciones sucesivas con distribuciones de calibración con diferentes probabilidades a priori, la distribución de la probabilidad a priori para la que dicha distancia queda minimizada.

9. Sistema según la reivindicación 8, caracterizado por que comprende medios de almacenamiento de datos (5) donde se almacena el conjunto de patrones de calibración.

10. Sistema según la reivindicación 8 o 9, caracterizado por que comprende un microscopio óptico (2) con una cámara digital (3) para la toma de imágenes digitales de la muestra (1).

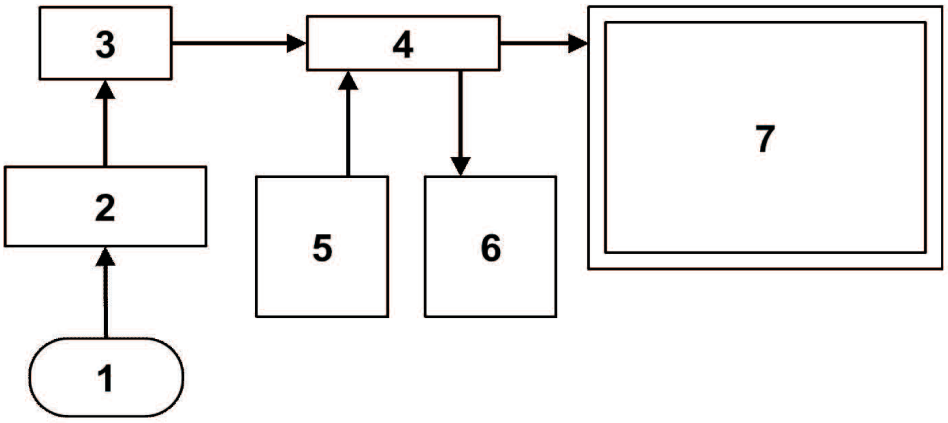
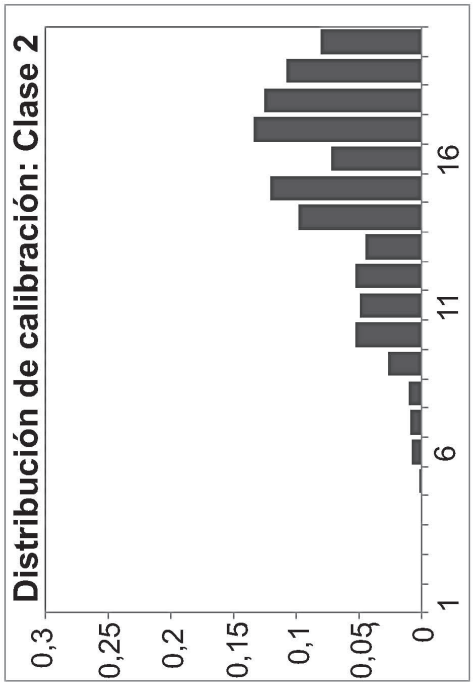


Fig. 1


Distribución de calibración: Clase 2
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
1
6
11
16

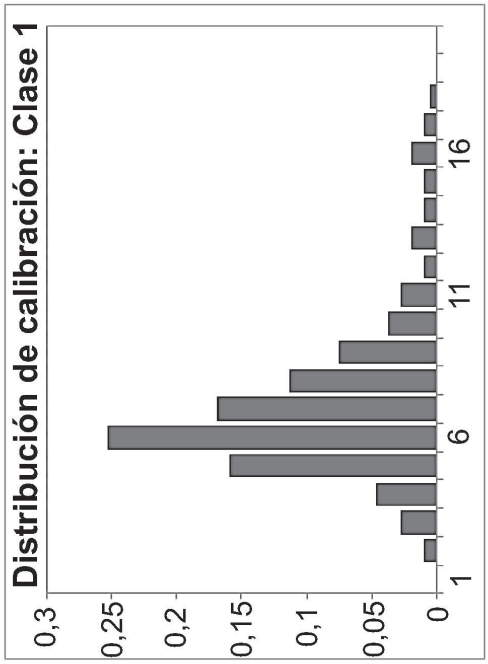
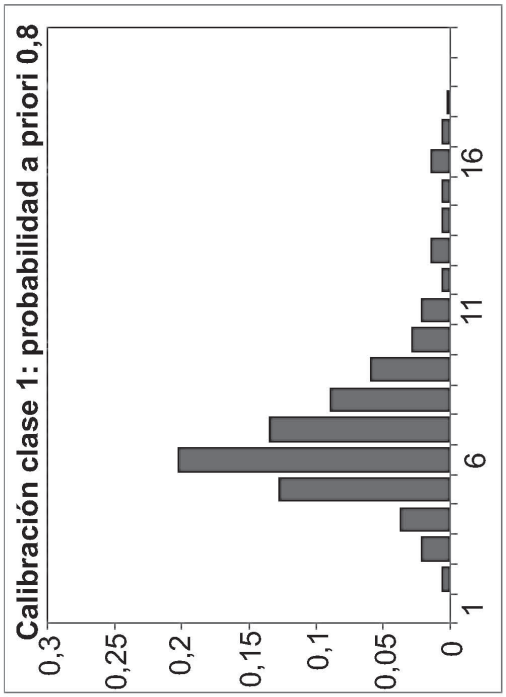

Distribución de calibración: Clase 1
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
1
6
11
16

Fig. 2


Calibración clase 1: probabilidad a priori 0,8
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
1
6
11
16

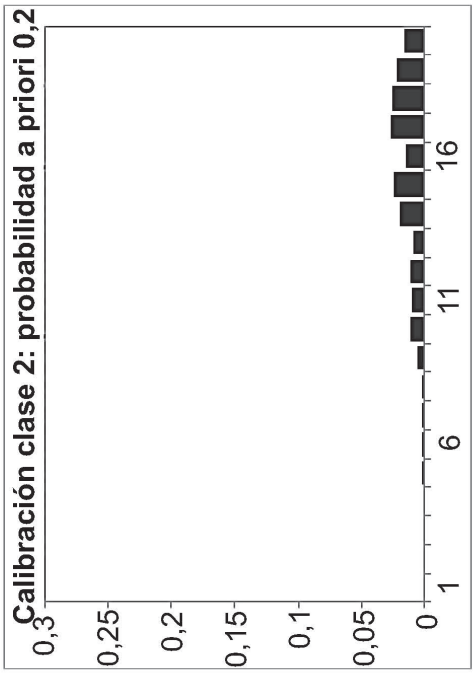

Calibración clase 2: probabilidad a priori 0,2
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
1
6
11
16

Fig. 3

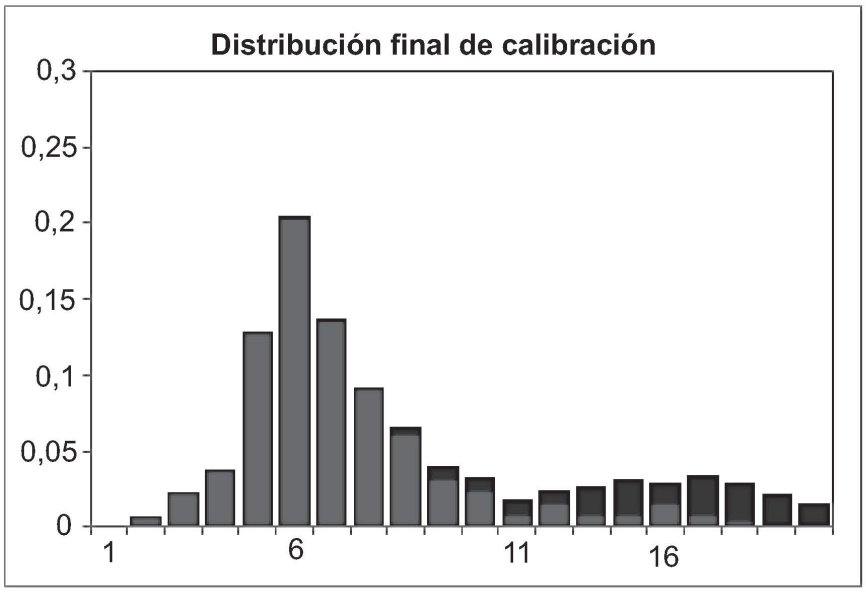

Distribución final de calibración
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
1
6
11
16

Fig. 4

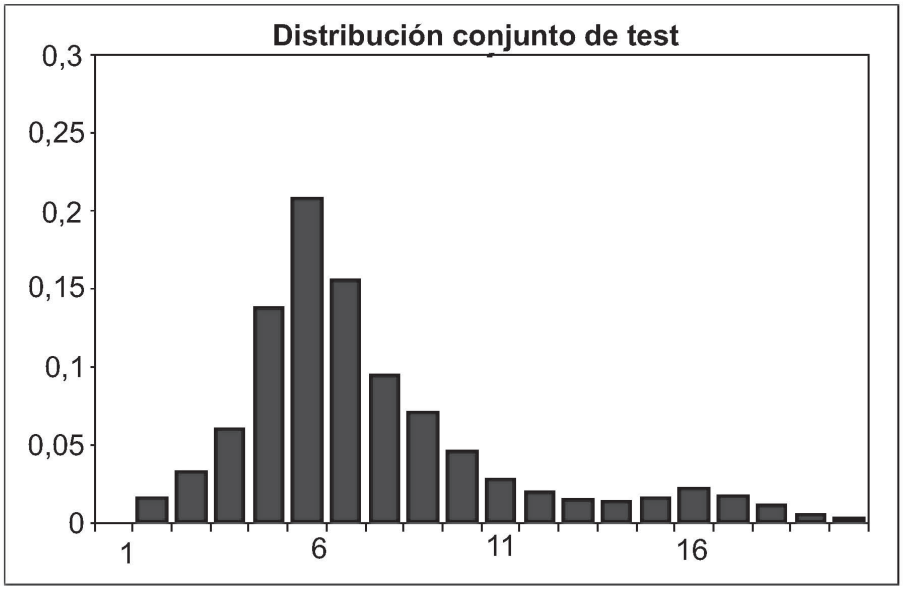

Distribución conjunto de test
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
1
6
11
16

Fig. 5

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201331854

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 18.12.2013

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** ***G06T7/00*** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	EP 1624411 A2 (GENDEX CORP) 08.02.2006, párrafos [0016-0046],[0064-0070],[0094-0109]; figura 2.	1-10
A	WO 2012097336 A1 (UNIV RUTGERS et al.) 19.07.2012, párrafos [0004-0435].	1-10
A	US 2008152231 A1 (GOKTURK SALIH BURAK et al.) 26.06.2008, párrafos [0044-0192].	1-10
A	US 2010189354 A1 (DE CAMPOS TEOFILO E et al.) 29.07.2010, párrafos [0025-0127].	1-10

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
27.03.2014	A. Casado Fernández	1/4

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

G06T

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

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 27.03.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-10	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	1-10	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	EP 1624411 A2 (GENDEX CORP)	08.02.2006
D02	WO 2012097336 A1 (UNIV RUTGERS et al.)	19.07.2012
D03	US 2008152231 A1 (GOKTURK SALIH BURAK et al.)	26.06.2008
D04	US 2010189354 A1 (DE CAMPOS TEOFILO E et al.)	29.07.2010

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El documento D01 se considera el más próximo del estado de la técnica a la invención solicitada.

D01 describe un método para analizar una imagen digital que permite distinguir las características de la imagen y diferenciarlas entre una primera y una segunda categoría. El método incluye las etapas de determinar un histograma de la imagen y analizarlo con el fin de determinar una distinción entre los elementos de la imagen.

La diferencia principal entre el documento D01 y la reivindicación 1 es que D01 no menciona que el método se emplee para la estimación de la proporción de espermatozoides presentes en una muestra.
El efecto técnico de esta diferencia es estimar la proporción de espermatozoides que pertenecen a una clase.
El problema técnico es cómo estimar la proporción de espermatozoides pertenecientes a una clase.
Este problema no está indicado, ni resuelto en D01.

A la vista de lo mencionado anteriormente se concluye que la reivindicación 1 es nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6 y 8 LP.).

Las reivindicaciones 2 a 7, dependientes de la reivindicación 1, son por tanto nuevas e implican actividad inventiva (Artículos 6 y 8 LP.).

La reivindicación 8 es una reivindicación de sistema caracterizada por comprender un dispositivo configurado para implementar el método de las reivindicaciones anteriores.
Por consiguiente, la reivindicación 8 es también nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6 y 8 LP.).

Las reivindicaciones 9 a 10, dependientes de la reivindicación 8, son por tanto nuevas e implican actividad inventiva (Artículos 6 y 8 LP.).