

Автоматизация оптического микроскопа с использованием штатного предметного стола

05, май 2016

**Самородов А. В.^{1,*}, Косоруков А. Е.¹,
Самородова О. А.¹, Добролюбова Д. А.¹,
Войнова Н. А.¹**

УДК: 57.087

¹Россия, МГТУ им. Н.Э. Баумана

* avs@bmstu.ru

Введение

Развитие систем цифровой микроскопии (СЦМ) биомедицинских препаратов имеет более чем 50-летнюю историю. К настоящему времени сформировались два основных класса СЦМ: автоматизированные комплексы микроскопии (АКМ) и сканеры биомедицинских препаратов (СБП) [1].

АКМ включают в свой состав традиционный микроскоп с присоединенной к нему цифровой камерой, все или часть функций управления, которым (перемещение предметного стола, фокусировка, смена микрообъективов) автоматизированы и выполняются по команде с персонального компьютера или другого устройства, в том числе удаленно в автоматическом или автоматизированном режимах.

Развитие современных АКМ идет в двух направлениях. Первое – развитие традиционного подхода, заключающегося в установке внешнего комплекта автоматизации (ВКА) и прочих компонент АКМ на серийно выпускаемые микроскопы. Второе – создание так называемых интегрированных автоматизированных микроскопов (ИАМ), в которых оптический микроскоп, комплект автоматизации, блок подачи препаратов интегрированы в одном корпусе, имеют полностью программное управление и максимально упрощенную загрузку до 100 препаратов.

В отличие от АКМ СБП содержат часть компонентов, присущих микроскопам, например, микрообъективы, но не предназначены для визуального просмотра препарата и ручного управления его перемещением и фокусировкой. СБП обычно предназначены только для формирования виртуальных слайдов, позволяют одновременно загружать от 100 до 400 препаратов и представляют собой устройства, оптическая, механическая и электронная части которых выполнены в одном корпусе.

Основными применениями СЦМ являются: первичная диагностика, получение второго мнения эксперта, телепатология, контроль качества исследований, образование, цифровой анализ изображений, оптимизация ресурсов медицинского учреждения [2, 3]. К настоящему времени наибольший эффект от применения СЦМ продемонстрирован в образовании, при проведении телеконференций патологов и для получения «второго мнения» [3-7].

Сравнительный анализ и основные характеристики имеющихся на рынке СЦМ представлены в ряде публикаций в научно-практических журналах [1, 4, 8, 9]. АКМ с ВКА и ИАМ уступают СБП по производительности, но выигрывают по цене, составляющей в среднем 20-30 тыс. \$, в отличие от СБП, средняя цена которых составляет 100-150 тыс. \$ [9]. В целом, технические характеристики СЦМ всех типов обеспечивают возможность их практического использования в лабораториях любого уровня, хотя в ряде работ отмечаются некоторые технические проблемы СЦМ, проявляющиеся при их рутинном использовании [2, 10].

Несмотря на очевидные достоинства технологии использования цифровых изображений биомедицинских препаратов, она находится сейчас на самой ранней стадии принятия ее медицинским сообществом, а СЦМ до сих пор так и не стали неотъемлемым элементом современных гистологических и цитологических лабораторий [5]. Как следует из ряда обзорных публикаций в данной области, основным препятствием, сдерживающим их проникновение в лаборатории и не позволяющим большинству патологов получить доступ к уже разработанным к настоящему времени сервисам (см., например, [11, 12]), является высокая цена СЦМ [2, 10]. Сложившаяся ситуация продолжает стимулировать поиски новых технических решений в данной области, направленных на упрощение конструкции СЦМ при сохранении их эксплуатационных характеристик.

Среди рассмотренных типов СЦМ возможностью упрощения технических решений и снижения цены обладают АКМ. В настоящей статье рассмотрена структура АКМ с ВКА и предложен новый способ и устройство автоматизации сканирования биомедицинских препаратов.

1. Автоматизированные комплексы микроскопии с внешним комплектом автоматизации

Автоматизированные комплексы микроскопии, как АКМ с ВКА, так и ИАМ, включают оптический микроскоп, комплект автоматизации в составе моторизованного предметного стола, блока автофокусировки и электронного блока управления, цифровую камеру, присоединяемую к микроскопу через оптический адаптер, вычислительный блок, представляющий собой персональный или бортовой компьютер со специальным программным обеспечением, а также опционально блок подачи препаратов, блок подачи иммерсионного масла и блок автоматизации смены микрообъективов. Типовая структурно-функциональная схема АКМ приведена на рисунке 1.

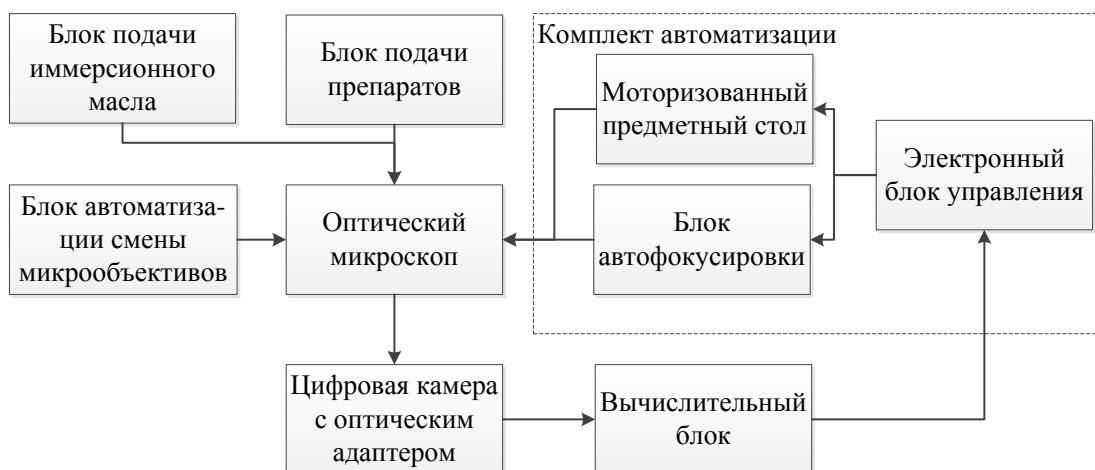


Рис. 1. Структурно-функциональная схема АКМ

Комплект автоматизации является ключевым компонентом АКМ с ВКА. Входящий в него блок автофокусировки представляет собой устройство в жестком корпусе, присоединяемое к коаксиальным рукояткам грубой и тонкой фокусировки. Вращательный момент от двигателя передается на вал тонкой фокусировки относительно вала грубой фокусировки. Для повышения точности фокусировки при установке привода часто требуется снять рукоятки тонкой (а иногда и грубой) фокусировки и установить привод непосредственно на коаксиальный вал.

Электронный блок управления перемещением обеспечивает подачу необходимых электрических сигналов на шаговые двигатели по команде с персонального компьютера, а также считывание и передачу в персональный компьютер показаний энкодеров и/или концевых датчиков при их наличии. Электронные блоки разных производителей отличаются поддерживаемыми ими функциями (перемещение в пошаговом режиме, автоматический разгон и торможение в начале и конце перемещения и пр.).

Входящий в ВКА моторизованный предметный стол устанавливается вместо штатного предметного стола микроскопа. Его основными точностными характеристиками являются шаг и повторяемость горизонтального перемещения. Современные моторизованные предметные столы обеспечивают минимальный шаг горизонтального перемещения в диапазоне от 0,01 до 0,3 мкм при повторяемости в диапазоне от 0,15 до 2 мкм (таблица 1) [13-17].

Таблица 1. Современные производители ВКА микроскопов и точностные характеристики моделей моторизованных предметных столов

Производитель	Модель моторизованных предметных столов	Шаг, мкм	Повторяемость, мкм
Märzhäuser	Scan series	0,01-0,05	Менее 1
Prior	HLD117NN	0,05	0,15
Thorlabs	MLS203 Stage	0,1	0,25
Zaber	ASR series	0,156	Менее 2
ЗАО Мекос	МЕКОС-Ц2мпс	0,3	Нет данных

В МГТУ им. Н.Э. Баумана разработка АКМ имеет почти 20-летнюю историю (см., например, [18-20]). За это время была создана линейка подобных комплексов для проведения исследований различных биомедицинских препаратов. В 2007 году на 17-й Международной выставке «Здравоохранение» МГТУ им. Н.Э. Баумана представил АКМ «Гранат», в котором моторизованный предметный стол был выполнен на основе штатного предметного стола микроскопа «Микмед-2» (ОАО «ЛОМО»), что существенно снизило стоимость комплекса по сравнению с аналогами (рис.2). Представленная разработка имела шаг перемещения 2 мкм при повторяемости – не более 20 мкм, что обеспечивало возможность регистрации изображений с контролируемым перекрытием для последующей их сшивки и возможность повторного перемещения в выбранный пользователем участок препарата даже при максимальном увеличении микрообъектива.



Рис. 2. АКМ «Гранат»: моторизованный предметный стол, выполненный на основе штатного предметного стола микроскопа «Микмед-2» (2007-й год)

Развитием данного подхода является создание универсального съемного устройства автоматизации, присоединяемого к штатным предметным столам микроскопов разных производителей, без их демонтажа.

2. Способ и устройство автоматизации перемещения предметного стола микроскопа

Предлагаемый способ автоматизации перемещения предметного стола микроскопа заключается в передаче вращательного момента от двигателей на рукоятки предметного стола микроскопа и отличается тем, что все необходимые для этого элементы размещены в отдельном жестком корпусе и присоединяются к рукояткам штатного предметного стола микроскопа без его демонтажа.

Собранные в жестком корпусе необходимые элементы представляют собой устройство автоматизации перемещения предметного стола микроскопа (УАП); его структурно-функциональная схема представлена на рисунке 3.

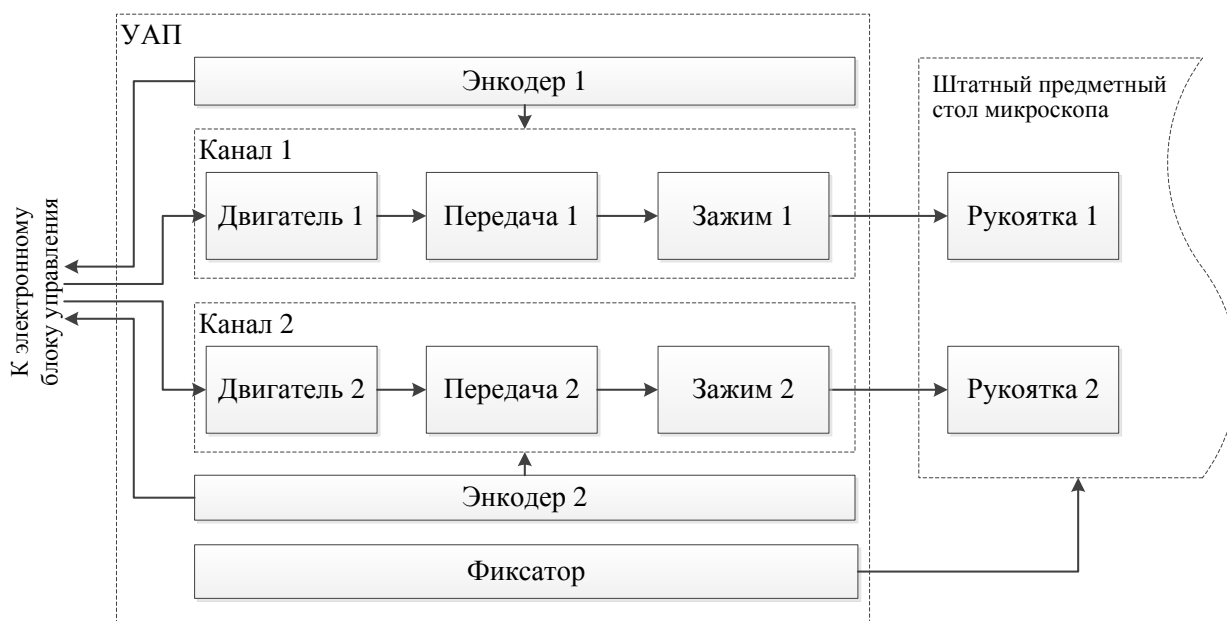


Рис. 3. Структурно-функциональная схема УАП

Закрепление устройства на рукоятках горизонтального двух-координатного ручного перемещения штатного предметного стола микроскопа осуществляется с помощью специальных коаксиальных зажимов. Универсальность устройства, т.е. возможность его использования для разных микроскопов с рукоятками разного диаметра, расположенными на разном расстоянии от нижней поверхности предметного стола, обеспечивается сменными вкладышами зажимов. Для исключения возможности поворота устройства вокруг рукояток предметного стола его корпус фиксируется за край предметного стола микроскопа с помощью специальных настраиваемых фиксаторов-упоров. Устройство является съемным и может многократно переноситься с одного микроскопа на другой.

Существует несколько вариантов передачи вращательного момента от шаговых двигателей на рукоятки предметного стола микроскопа: с помощью зубчатых передач, гибких зубчатых ремней, червячных (зубчато-винтовых) передач. В первом случае зубчатые колеса крепятся на валы двигателей и коаксиальных зажимов, закрепляемых на рукоятки стола микроскопа. Во втором – вместо прямого зубчатого зацепления момент передается с помощью гибкого зубчатого ремня. В третьем случае каждый из двух червяков жестко закреплен на валу «своего» двигателя, а соответствующие червячные колеса – на валах коаксиальных зажимов.

При практической реализации представленного способа и устройства автоматизации возникает несколько задач. Главные из них: обеспечение точности перемещения предметного стола и контроля его текущего положения.

Значения шага и повторяемости горизонтального перемещения предметного стола должны обеспечивать возможность сшивки регистрируемых изображений для создания виртуального слайда, а также возможность повторного перемещения в выбранный пользователем участок препарата. Требования к данным значениям определяются решаемой прикладной задачей и размером поля зрения, регистрируемого цифровой камерой.

Конструкция штатного предметного стола микроскопа рассчитана на его ручное управление и обеспечивает погрешность перемещения не более 0,1 мм, что соответствует цене деления, установленной на нем шкалы-нониуса. Характерный линейный размер поля зрения СЦМ при использовании микрообъектива 20× составляет 0,6 мм; указанное значение погрешности обеспечивает возможность повторного перемещения в выбранный пользователем участок препарата с перекрытием порядка 70 % по площади поля зрения, что является достаточным для решения задач повторного выборочного просмотра анализируемых клеток и участков тканей.

Расчеты шага линейного перемещения предметного стола микроскопа, оснащенного УАП, показывают, что при использовании серийно выпускаемых шаговых двигателей с 200 шагами на один оборот вала в микрошаговом режиме, шаг линейного перемещения для большинства моделей микроскопов составит от 0,02 до 5 мкм в зависимости от примененного варианта автоматизации перемещения. Ожидаемая повторяемость перемещения, определяемая конструкцией УАП, при этом будет иметь значение, существенно меньшее 0,1 мм; конкретное значение повторяемости перемещения штатного предметного стола с УАП, таким образом, будет определяться качеством конструкции автоматизируемого микроскопа, но, в любом случае, не будет превышать значение 0,1 мм.

Контроль текущего положения предметного стола необходим, в первую очередь, для недопущения попадания края предметного стекла в прорезь для освещения, что может привести к поломке предметного стекла при обратном движении предметного стола. Кроме того, даже в случае замены штатного прижимного устройства предметного стола специальным держателем препаратов, исключающим возможность поломки стекла, существует возможность пропуска переданной команды на перемещение. Поэтому в процессе работы целесообразно осуществлять контроль движения с помощью специальных датчиков углового перемещения – энкодеров, которые встраиваются в УАП (см. рис.3).

В целом, предложенные способ и устройство (в трех вариантах) автоматизации перемещения предметного стола микроскопа пригодны для практического использования, позволяют существенно снизить стоимость ВКА микроскопа и, таким образом, сделать его доступным большинству гистологических и цитологических лабораторий.

Заключение

Системы цифровой микроскопии имеют к настоящему времени более чем 50-ти летнюю историю развития, которое с появлением первых коммерческих образцов сканеров и автоматизированных микроскопов в 1990-х годах приобрело характер улучшения потребительских характеристик и расширения сфер применения. Несмотря на это, технология использования цифровых изображений биомедицинских препаратов находится сейчас все еще на самой ранней стадии принятия ее медицинским сообществом. Основной причиной этого является высокая цена СЦМ, которая сдерживает их проникновение в большинство гистологических и цитологических лабораторий.

В настоящей статье предложены способ и варианты устройства автоматизации перемещения предметного стола микроскопа, предполагающие, в отличие от существующих комплектов автоматизации, использование штатного предметного стола микроскопа без его демонтажа. Данное решение позволяет существенно снизить стоимость комплекта автоматизации микроскопа, делает его доступным для гистологических и цитологических лабораторий, будет способствовать созданию единого информационного пространства цифровой микроскопии и массовому вовлечению в него патологов и, в конечном счете, повышению достоверности гистологической и цитологической диагностики.

Список литературы

- [1]. Rojo, M.G., García, G.B., Mateos, C.P., García, J.G., Vincente, M.C. Critical comparison of 31 commercially available digital slide systems in pathology. // *International Journal of Surgical Pathology*. 2006. Vol.14. No.4. P.285-305.
- [2]. Ghaznavi F., Evans A., Madabhushi A., Feldman M. Digital imaging in pathology: whole-slide imaging and beyond. // *Annual Review of Pathology-mechanisms of Disease*. 2013. Vol.8. P.331-359.
- [3]. Pantanowitz L., Valenstein P.N., Evans A.J., Kaplan K.J., Pfeifer J.D., Wilbur D.C., Collins L.C., Colgan T.J. Review of the current state of whole slide imaging in pathology. // *J Pathol Inform*. 2011. No.2. Art.36. DOI: 10.4103/2153-3539.83746
- [4]. Farahani N., Parwani A.V., Pantanowitz L. Whole slide imaging in pathology: advantages, limitations, and emerging perspectives // *Pathology and Laboratory Medicine International*. 2015. Vol.7. P.23-33. DOI: <https://dx.doi.org/10.2147/PLMIS59826>
- [5]. Mateevitsi V., Patel T., Leigh J., Levy B. Reimagining the microscope in the 21st century using the scalable adaptive graphics environment. // *J Pathol Inform*. 2015. No.6. Art.25. DOI: 10.4103/2153-3539.158042
- [6]. Jones N.C.; Nazarian R.M., Duncan L.M., Kamionek M., Lauwers G.Y., Tambouret R.H., Wu C.-L., Nielsen G.P., Brachtel E.F., Mark E.J., Sadow P.M., Grabbe J.P., Wilbur D.C. Interinstitutional whole slide imaging teleconsultation service development: assessment using internal training and clinical consultation cases. // *Arch Pathol Lab Med*. 2015. Vol.139. No.5. P.627-635.
- [7]. Никитаев В.Г., Проничев А.Н., Чистов К.С., Блиндарь В.Н. Применение автоматизированной системы диагностики гематологических заболеваний Атлант при обучении студентов и повышении квалификации специалистов // *Успехи современного естествознания*. 2008. № 4. С.50-51. Режим доступа: <http://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=9684> (дата обращения: 2.02.2016).
- [8]. Cornish T.C., Swapp R.E., Kaplan K.J. Whole-slide imaging: routine pathologic diagnosis // *Advances in Anatomic Pathology*. 2012. Vol.19, Is. 3. P.152-159. doi: 10.1097/PAP.0b013e318253459e.

- [9]. Медовый В.С., Пятницкий А.М., Соколинский Б.З. Инновационный проект «Разработка комплекса автоматизированной микроскопии, его облачного функционала, Интернет ресурса лабораторной телемедицины для медицинских анализов биоматериалов (МЕКОС-Ц3)» // Инноватика и экспертиза: научные труды. 2012. Выпуск 2 (9). С.50-64.
- [10]. Feldman M.D. Whole slide imaging in pathology: what is holding us back? // Pathology and Laboratory Medicine International. 2015. Vol.7. P.35-38. DOI <https://dx.doi.org/10.2147/PLMI.S81743>
- [11]. UPMC Life changing medicine. / Digital Pathology Consultation Services. Режим доступа: <https://pathconsult.upmc.com/> (дата обращения: 8.12.2015).
- [12]. Histoscan. / Первый российский портал для патологоанатомов. Режим доступа: <https://histoscan.com/> (дата обращения: 8.12.2015).
- [13]. Märzhäuser Wetzlar. Scanning stages upright microscopes. / DirectIndustry. Режим доступа: <http://pdf.directindustry.com/pdf/tab/scanning-stages-upright-microscopes.html> (дата обращения: 8.12.2015).
- [14]. Prior Scientific. HLD117 Linear Motor Stage Series. Режим доступа: http://prior-us.com/files/HLD117_Series_Datasheet.pdf? (дата обращения: 8.12.2015).
- [15]. ThorLabs. High-Speed Motorized XY Scanning Stages. Режим доступа: https://www.thorlabs.de/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=5360&pn=MLS203-1. (дата обращения: 8.12.2015).
- [16]. Zaber. ASR Series: Motorized XY Microscope Stages. Режим доступа: http://www.zaber.com/products/product_group.php?group=ASR&tab=Series%20Specs#tab. (дата обращения: 8.12.2015).
- [17]. Оборудование автоматизации микроскопа МЕКОС-MS2. Режим доступа: <http://www.mecos.ru/products/oborudovanie-avtomatizatsii-mikroskopa-mecos-ms2> (дата обращения: 8.12.2015).
- [18]. Самородов А.В., Спиридонов И.Н. Морфометрия медико-биологических препаратов // Лазер-Информ. 2004. №15-16. С.13-18.
- [19]. Самородов А.В., Волков А.К., Спиридонов И.Н. Автоматизация морфологического анализа цитологических препаратов // Методы микроскопического анализа: Сб. статей, выпуск 1. М.: ЗАО «Медицинские компьютерные системы (МЕКОС)», 2009. С.125-130.
- [20]. Samorodov A.V. Building intelligent systems for the analysis of microscopic images in medicine and biology // Pattern Recognition and Image Analysis. 2013. Vol.23, No.4. P.508-511. DOI: 10.1134/S1054661813040159