

А.Н. НАРКЕВИЧ,

к.м.н., Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия, e-mail: narkevichart@gmail.com

К.А. ВИНОГРАДОВ,

д.м.н., профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия, e-mail: vinogradov16@yandex.ru

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ СИСТЕМА БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

УДК 616-002.5-073.75:004.43

Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Автоматизированная система бактериоскопической диагностики туберкулеза (Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, Россия)

Аннотация. В статье рассмотрены схема работы и требования к программно-аппаратному комплексу для автоматизированной бактериоскопической диагностики туберкулеза. Перечислен основной функционал аппаратной части такой автоматизированной системы и требуемые возможности, обеспечиваемые ее программной частью. Приведены этапы автоматизированного анализа цифровых микроскопических изображений мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена. Представлены собственные алгоритмы и математические модели, которые могут быть включены в такой программно-аппаратный комплекс.

Ключевые слова: автоматизированная система, бактериоскопия, анализ изображений, сегментация изображений, нейронные сети, туберкулез легких.

UDC 616-002.5-073.75:004.43

Narkevich A.N., Vinogradov K.A. Automated system of bacterioscopic diagnosis of tuberculosis (Krasnoyarsk state medical University. after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia)

Abstract. The article describes the scheme of work and requirements for software and hardware complex for automated bacterioscopic diagnosis of tuberculosis. The basic functionality of the hardware of such an automated system and the required capabilities provided by its software are listed. The stages of automated analysis of digital microscopic images of sputum stained by the method of Ziehl-Nielsen are presented. Own algorithms and mathematical models which can be included in such hardware-software complex are presented.

Keywords: automated system, bacterioscopy, image analysis, image segmentation, neural networks, pulmonary tuberculosis.

Процесс диагностики значительного числа заболеваний включает использование микроскопической техники. С помощью микроскопа диагностируются онкологические, эндокринные или инфекционные заболевания [4, 10, 14]. Одним из заболеваний, при диагностике которого применяется микроскопия, является туберкулез легких. Качество микробиологической диагностики туберкулеза в клинико-диагностических лабораториях общей лечебной сети остается не на должном уровне. Это связано в первую очередь с довольно рутинной методикой просмотра микроскопических препаратов, согласно которой необходимо на одном препарате просмотреть большое число полей зрения. Во-вторых, с тем, что общая укомплектованность кадрами клинико-диагностических лабораторий в учреждениях общей лечебной сети составляет 63%, а врачами-бактериологами – чуть более 50% [11]. Это приводит к тому, что при проведении бактериоскопической



диагностики туберкулеза возникает большое число ошибок [3], и учреждения общей лечебной сети постепенно перестают осуществлять бактериоскопическую диагностику. В 2014 году доля больных туберкулезом, выявленных данным методом от впервые выявленных бактериовыделителей, составила лишь 0,23% [1].

Использование автоматизированного анализа цифровых микроскопических изображений препаратов мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена, позволит свести к минимуму перечисленные выше недостатки. Как правило, процесс автоматизированного анализа изображений представляет собой несколько этапов: предобработка или преобразование изображения, его сегментация и идентификация или распознавание объектов, находящихся на изображении [2, 7]. Основной целью предобработки или преобразования изображения является приведение изображения к единому стандартному первоначальному виду. В последующем изображение сегментируется для исключения тех участков изображения, которые не имеют ценности для дальнейшего анализа. В заключении производится идентификация оставшихся после сегментации частей изображения [9, 14]. Помимо алгоритмов непосредственного анализа изображений для автоматизации бактериоскопической диагностики требуются аппаратные решения, которые обеспечат получение данных изображений в автоматическом режиме. Наличие значительного числа этапов и необходимость создания или модернизации как программного, так и аппаратного обеспечения для решения задачи автоматизированной бактериоскопической

диагностики туберкулеза требует разработки схемы работы, направленных на это систем, а также требований к данным системам, что и явилось целью данной работы.

Цель: разработка схемы работы и требований к программно-аппаратному комплексу, обеспечивающему автоматизированную бактериоскопическую диагностику туберкулеза.

Рассматриваемая автоматизированная система бактериоскопической диагностики туберкулеза должна включать в себя две составляющие: аппаратную и программную. Задачей аппаратной части является автоматизация получения цифровых изображений, а программной – непосредственный анализ изображений.

Прежде всего необходимо определить функционал и требования к аппаратной части данной системы. Аппаратная часть представляет собой модернизированный микроскоп, позволяющий в автоматическом режиме производить цифровую фотосъемку препаратов мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена, и осуществлять передачу полученных изображений на компьютер для дальнейшего анализа с помощью программной части рассматриваемой системы. Для реализации представленного описания необходима реализация функционала, представленного в *таблице 1*.

Таким образом, аппаратная часть должна обеспечивать три основополагающих функции. Во-первых, снизить роль человека в процессе получения цифрового материала для анализа путем автоматизации данного процесса. В таком случае роль человека заключается только в подготовке мазков мокроты, их окраске по методу Циля-Нильсена

Таблица 1

Необходимые функции аппаратной части программно-аппаратного комплекса бактериоскопической диагностики туберкулеза

№ п/п	Функция	Назначение
	Автоматическая смена предметных стекол (опционально)	Максимальное исключение роли человека в процессе просмотра мазков мокроты и уменьшение времени на их просмотр
	Автоматическая фокусировка (передвижение предметного стекла микроскопа по вертикальной оси)	Максимальное исключение роли человека в процессе просмотра одного мазка мокроты и уменьшение времени на его просмотр
	Перемещение предметного стекла в горизонтальной плоскости	Получение цифровых изображений различных полей зрения
	Цифровая съемка	Получение цифрового материала для дальнейшего анализа в программной части автоматизированной системы
	Передача изображения на компьютер	Передача цифрового изображения в программную часть автоматизированной системы
	Анализ сигналов от программной части	Остановка или продолжение цифровой съемки различных полей зрения



и загрузке полученных предметных стекол в аппаратную часть автоматизированной системы.

Во-вторых, съемка необходимого числа полей зрения. Необходимое число полей зрения определяется на основании инструкции по унифицированным методам микроскопических исследований для выявления кислотоустойчивых микобактерий в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений, утвержденной приказом Минздрава России от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» (таблица 2) [8]. Согласно данной инструкции решение о необходимом для просмотра числе полей зрения должно приниматься оперативно в процессе непосредственного просмотра мазка мокроты.

Руководствуясь представленной в таблице 2 технологией, минимально необходимое для анализа число полей зрения равно 20. Такого числа полей зрения достаточно только в том случае, когда в каждом из 20 полей зрения определяется более 10 кислотоустойчивых микобактерий. В таком случае в дополнительной съемке других полей зрения нет необходимости, а полученной информации достаточно для констатации положительного результата бактериоскопического исследования. В том случае, когда это условие не выполняется, необходима дополнительная съемка 30 полей зрения и так далее. Таким образом, для констатации отрицательного результата бактериоскопического исследования необходима цифровая съемка 300 полей зрения, осуществляемая на одном мазке мокроты. Такая технология требует оперативного анализа, получаемых программной частью цифровых изображений и оперативного сигнала в аппаратную часть о продолжении или приостановлении съемки дополнительного числа полей зрения.

В-третьих, одной из основных функций программной части является передача цифровых изображений в программную часть. В связи с тем, что в процессе бактериоскопической диагностики туберкулеза существенное значение уделяется скорости просмотра предметных стекол, в том числе для принятия оперативного решения об остановке или продолжении съемки полей зрения препарата, то передачу цифровых изображений предпочтительно осуществлять с помощью USB или беспроводного канала Wi-Fi.

Примером таких аппаратных систем могут служить сканирующие микроскопы 4-09 и 8-09 с загрузкой до 4/8 стекол, робот 200-09 с загрузкой до 200 стекол фирмы «Мекос» или цифровые сканеры микропрепаратов SCN400, Aperio AT2 фирмы «Leica Biosystems», которые также имеют возможность одновременной загрузки до 400 предметных стекол. Несмотря на то, что цифровые сканеры микропрепаратов позволяют получать цифровые изображения всего микропрепарата, а не отдельных полей зрения, а также качество получаемых с помощью данного оборудования изображений, как правило, выше, стоимость цифровых сканеров микропрепаратов существенно ограничивает их применение, особенно в учреждениях здравоохранения общей лечебной сети.

В наших исследованиях, направленных на разработку технологий автоматизированного анализа цифровых микроскопических изображений мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена, применялись тринокулярный микроскоп Микромед 1 вар. 3–20 с увеличением 10x60 и установленной цифровой камерой TourCam UCMOS09000KPB в режиме съемки с разрешением 0,3 МР (для ручного получения цифровых изображений) и модернизированный нами микроскоп Микромед P-1 LED с оборудованными

Таблица 2

Правила определения необходимого числа полей зрения для бактериоскопической диагностики туберкулеза

Получаемый в оперативном режиме результат	Минимальное число полей зрения	Результат бактериоскопического исследования
Кислотоустойчивые микобактерии не обнаружены в 300 полях зрения	300	Отрицательный
1–2 кислотоустойчивых микобактерии в 300 полях зрения	300	Не оценивается
1–9 кислотоустойчивых микобактерий в 100 полях зрения	100	Положительный
10–99 кислотоустойчивых микобактерий в 100 полях зрения	100	Положительный
1–10 кислотоустойчивых микобактерий в 1 поле зрения	50	Положительный
Более 10 кислотоустойчивых микобактерий в 1 поле зрения	20	Положительный

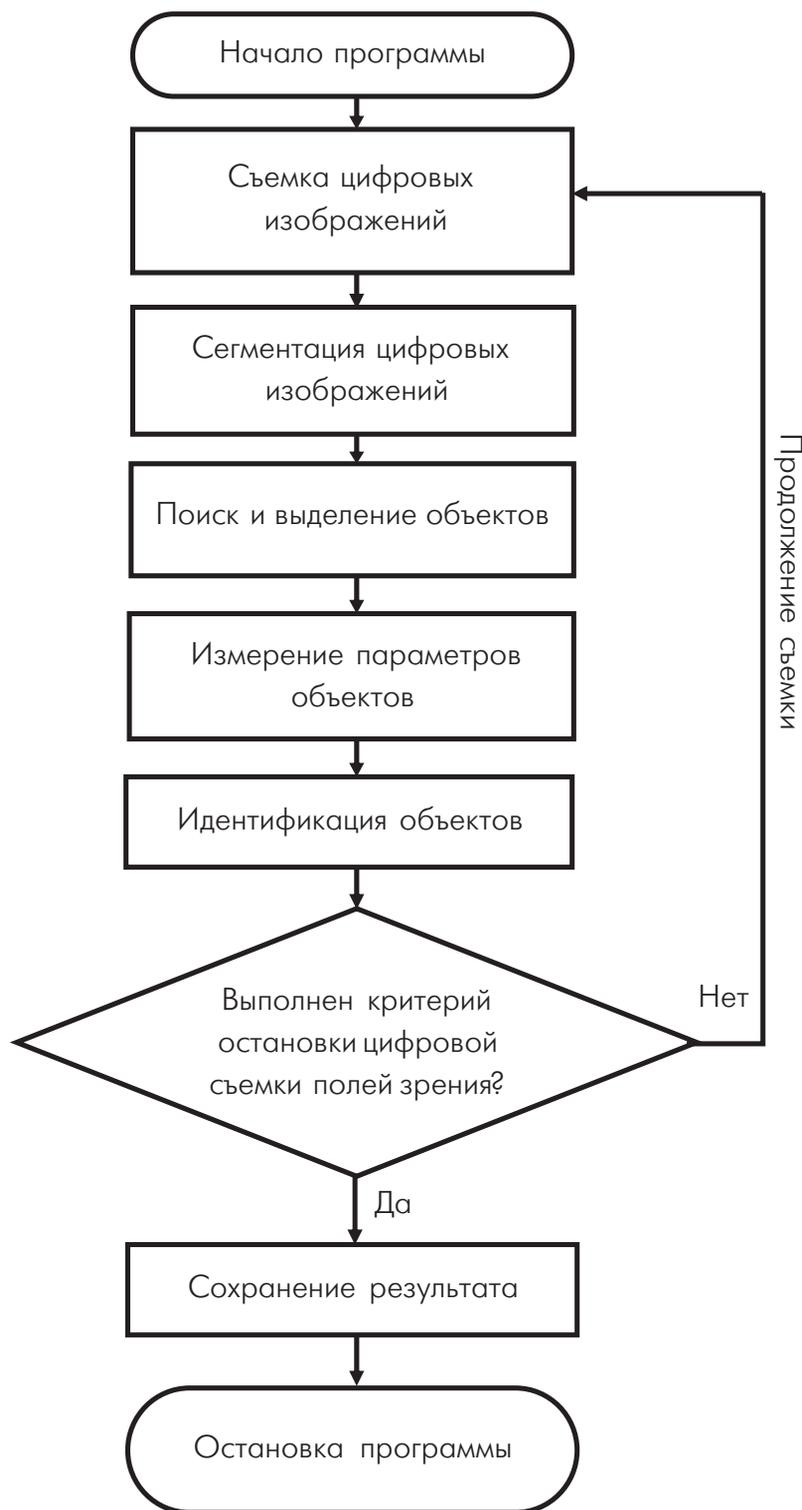


Рис. 1. Схема программной части автоматизированной системы бактериоскопической диагностики туберкулеза

приводами, позволяющими позиционировать предметное стекло, предметным столиком и установленной цифровой камерой TourCam UCMOS01300KPA в режиме съемки с разрешением 0,3 МР (для автоматического получения цифровых изображений). Минимальный шаг перемещения по осям X и Y горизонтальной плоскости – 2,5 мкм, диапазон перемещения по X – 60 мм, по Y – 25 мм, максимальная скорость перемещения по X – 3000 мм/мин, по Y – 1500 мм/мин, минимальный шаг перемещения по вертикальной оси – 0,3 мкм, диапазон перемещения по вертикальной оси не ограничен, максимальная скорость перемещения по вертикальной оси – 200 мм/мин. Приводы по осям X и Y горизонтальной плоскости выполнены на основе шаговых двигателей PL20H28-D4 с шагом поворота 1,8 градуса, а привод на вертикальную ось от шагового двигателя выполнен через редуктор 7:1 для увеличения усилия. Управление двигателями производится через микросхемы драйверов A3982 (оси X и Y горизонтальной плоскости) в режиме полушага и A3984 (вертикальная ось) в режиме микрошага 1:16. Общее управление системой и сопряжение с компьютером выполнено на базе микроконтроллера AT90USB162, а связь с компьютером обеспечивается через USB интерфейс.

Таким образом, основными обязательными требованиями к аппаратной части автоматизированной системы бактериоскопической диагностики туберкулеза являются: реализация описанного выше функционала, минимальная кратность увеличения – 600, минимальное разрешение цифровой камеры – 0,3 МР. При этом весь процесс автофокусировки, съемки необходимого числа полей зрения

и передача цифровых изображений на компьютер не должна превышать 5 минут.

Программная часть автоматизированной системы бактериоскопической диагностики туберкулеза должна содержать 7 основных блоков, которые представлены на *рис. 1*.

После передачи 20 цифровых изображений одного микроскопического препарата в программную часть необходимо осуществление сегментации данных изображений. Пример первоначального изображения мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена, полученного из аппаратной части, представлено на *рис. 2*.

Этап сегментации изображений необходим для удаления с изображений областей, которые не будут использоваться для дальнейшего анализа, то есть которые не содержат искомые объекты – кислотоустойчивые микобактерии. По результатам наших исследований наиболее подходящим по качеству и скорости, которая играет немаловажную роль в анализе изображений, является вейвлет-преобразование изображения вейвлетом Mexican Hat (Мексиканская шляпа) [6]. Пример сегментированного вейвлетом Mexican Hat изображения, приведенного на *рис. 2*, представлен на *рис. 3*.

После сегментации изображений необходимо осуществление поиска и выделения объектов. Поиск и выделение объектов может осуществляться с помощью рекурсивного алгоритма. Данный алгоритм предусматривает нахождение первого попавшегося не белого пикселя на изображении и обследование вокруг него на наличие другого не белого пикселя. Если в округе находится еще один такой пиксель, то осуществляется поиск вокруг него. Этапы работы рекурсивного алгоритма для непосредственного выделения объектов на сегментированном изображении проиллюстрированы на примере выделения объекта, состоящего из 3 черных пикселей, на *рис. 4*.

Для выделения объекта на изображении производится пошаговый поиск первого попавшегося черного пикселя (*рис. 4а*) и осматриваются лежащие вокруг пиксели (*рис. 4б*) до тех пор, пока рядом не будет находиться другой черный пиксель. Если рядом находящийся пиксель является черным, то исследование окружности текущего пикселя заканчивается и осуществляется переход к рядом лежащему пикселю (*рис. 4в*). Далее обследуется его окружение до того, пока рядом опять не окажется черный пиксель (*рис. 4г*). Тогда осуществляется переход к вновь найденному пикселю (*рис. 4г*). После того,

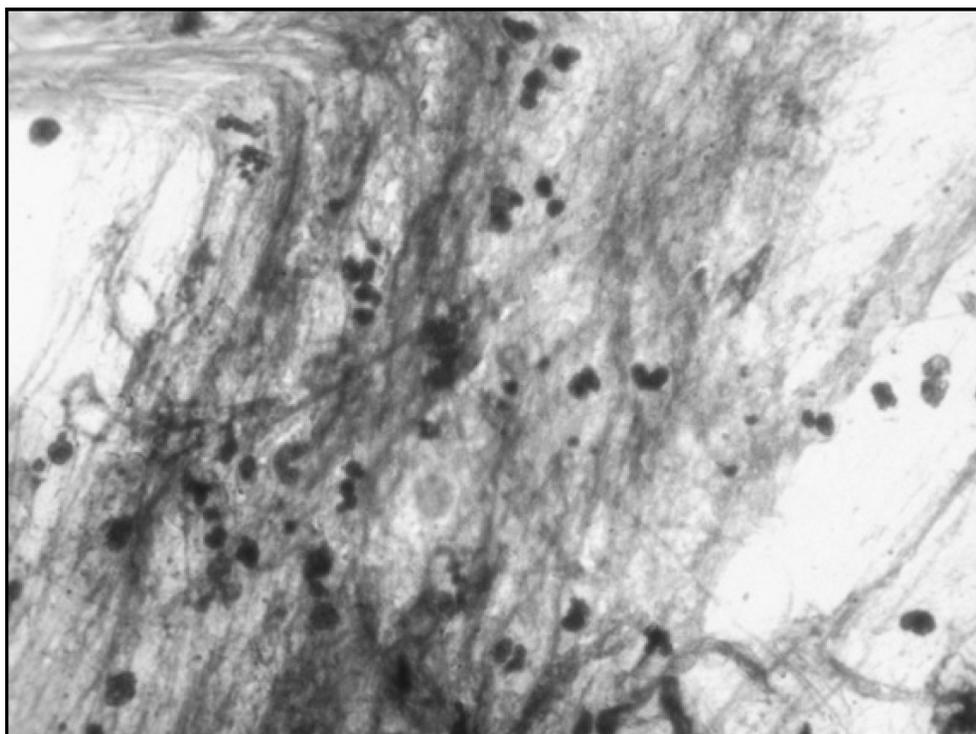


Рис. 2. Пример первоначального микроскопического изображения мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена

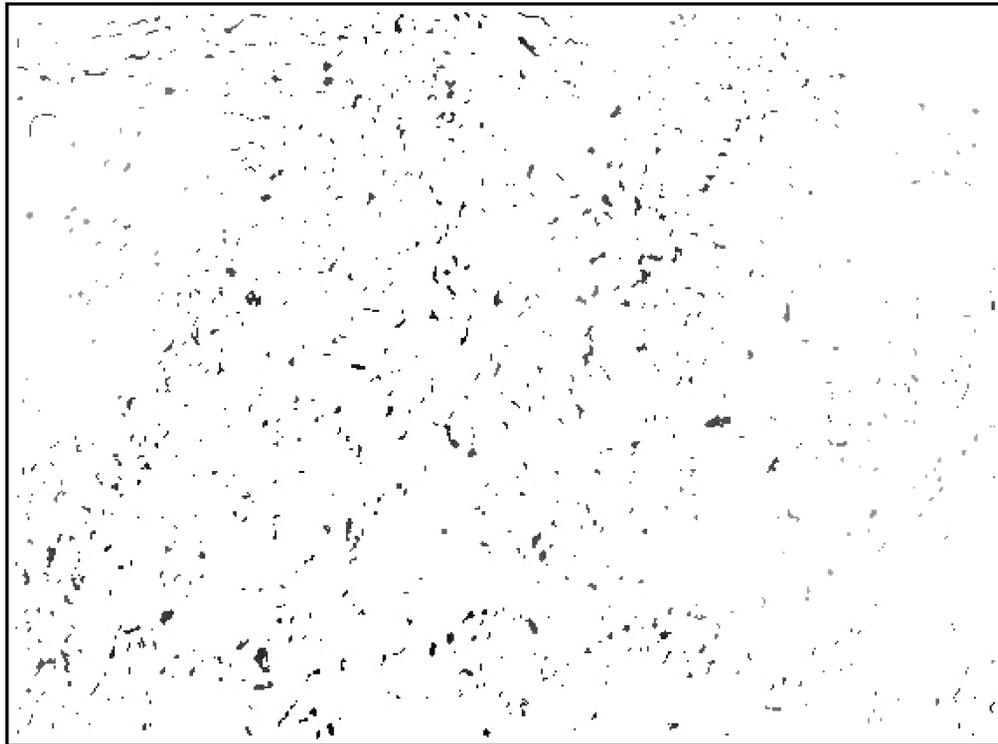


Рис. 3. Пример сегментированного вейвлетом Mexican Hat изображения мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена

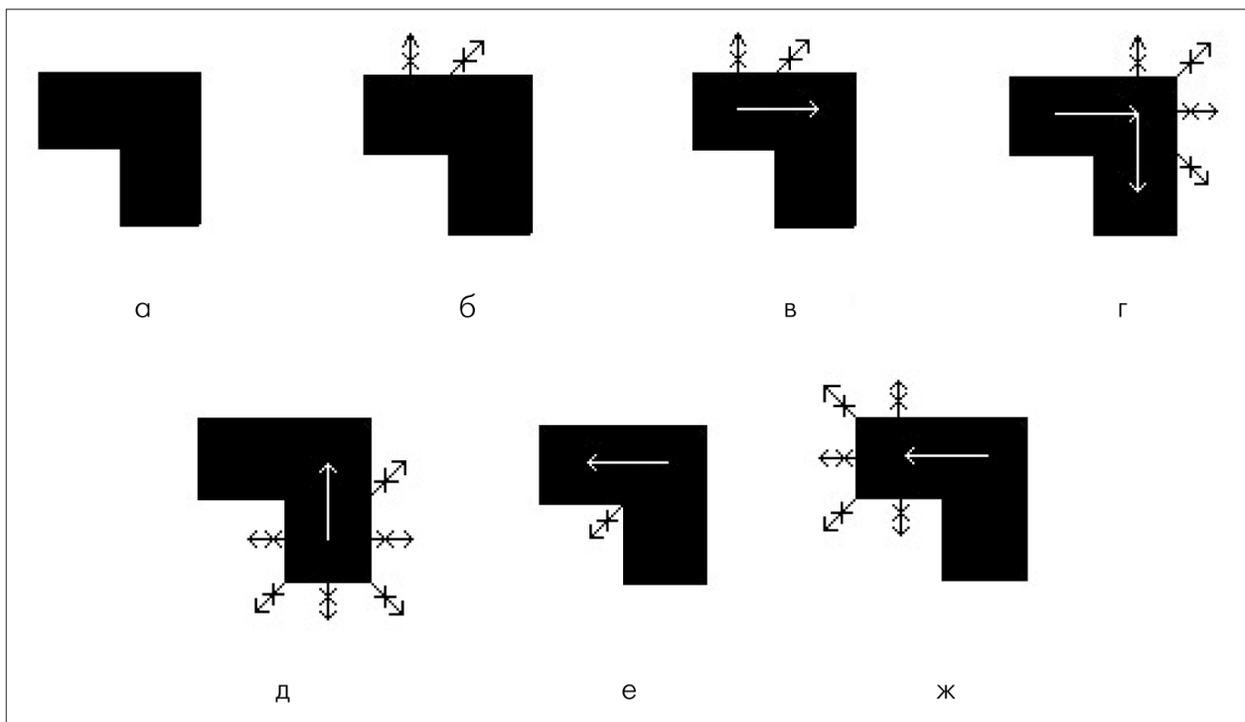


Рис. 4. Этапы работы рекурсивного алгоритма непосредственного выделения объектов на сегментированном изображении



как окружение следующего пикселя обследовано, и не найден ни один рядом лежащий черный пиксель, происходит переход к предыдущему пикселю (рис. 4д) и производится продолжение обследования его окружности (рис. 4е). Если вокруг него не найдены черные пиксели, то происходит переход к первоначальному пикселю (рис. 4е). В том случае, когда все черные пиксели, находящиеся вокруг первоначального, просмотрены (рис. 4ж), выделение объекта заканчивается.

После нахождения всех объектов на изображении необходимо осуществление измерения их параметров, на основе которых будет осуществляться распознавание или идентификация данных объектов в качестве кислотоустойчивых микобактерий или иных объектов. В результате собственных исследований нами предлагается измерение 240 цветовых и морфометрических параметров объектов [5]. Данные параметры разделены на 3 группы, которые подразделяется на подгруппы. Для более удобного анализа сформирована следующая классификация параметров объектов:

1. Основные морфометрические параметры объектов:

- а) попиксельная площадь объектов (в пикселях);
- б) размер объектов по оси X (в пикселях);
- в) размер объектов по оси Y (в пикселях).

2. Радиальные размеры объектов и их соотношения:

- а) размеры от центра объекта до его края с шагом 5° (всего 72 параметра);
- б) соотношения противоположных размеров от центра объекта до его края (всего 36 параметров);
- в) соотношения перпендикулярных размеров от центра объекта до его края (всего 72 параметра);
- г) соотношения перпендикулярных размеров от одного края объекта до его противоположного края (всего 36 параметров).

3. Цветовые параметры объектов:

- а) средние, минимальные и максимальные характеристики цвета объектов в цветовой схеме RGB (всего 9 параметров);
- б) средние, минимальные и максимальные характеристики цвета объектов в цветовой схеме HSV (всего 9 параметров);
- в) средние, минимальные и максимальные характеристики цвета объектов в оттенках серого (всего 3 параметра).

Основные морфометрические параметры объектов, радиальные размеры объектов и их соотношения измеряются в пикселях. Измерение цветовых

параметров осуществляется в безразмерных единицах, однако интервал возможных значений отличается в зависимости от цветовой схемы. Так, характеристики цвета объектов в цветовой схеме RGB и в оттенках серого измеряются в интервале от 0 до 255, параметры, характеризующие составляющее H, в цветовой схеме HSV измеряются в интервале от 0 до 359, а параметры, характеризующие составляющие S и V, в интервале от 0 до 100.

После определения параметров объектов необходимо осуществление идентификации полученных объектов. Для идентификации могут быть использованы различные математические интеллектуальные модели и алгоритмы. Нами для данных целей применяется трехслойная нейронная сеть прямого распространения, которая учитывает 144 из представленных выше параметров. При этом чувствительность распознавания объектов составляет 94,7%, специфичность – 90,8%, ошибка классификации на тестовой выборке – 7,2%. Блок идентификации объектов должен подразумевать возможность замены интеллектуальной составляющей данной системы. Это необходимо в связи с тем, что накопление данных позволит дообучать или строить новые математические модели распознавания объектов, обладающие меньшей ошибкой распознавания объектов.

После распознавания объектов должен осуществляться подсчет числа кислотоустойчивых микобактерий и определение критерия остановки цифровой съемки полей зрения (таблица 2). Если изображений, на которых представлены различные поля зрения достаточно, то процесс съемки бактериоскопического препарата заканчивается, и в случае наличия функции автоматической смены предметных стекол осуществляется переход к съемке другого препарата, а информация об анализе сохраняется в базу данных и может быть распечатана для вложения в медицинскую документацию пациента. Если изображений недостаточно, то осуществляется дополнительная съемка препарата до выполнения критерия остановки.

Основными требованиями к программной части программно-аппаратного комплекса автоматизированной бактериоскопической диагностики являются скорость и качество распознавания объектов на изображениях. В связи с тем, что для принятия решения об остановке или продолжении съемки дополнительных полей зрения необходим оперативный анализ количества кислотоустойчивых микобактерий, то процесс с момента получения цифрового изображения программной частью до определения числа



кислотоустойчивых микобактерий на изображении должен быть соизмерим с временем получения цифровых изображений аппаратной частью. То есть полный цикл анализа 300 цифровых изображений мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена, программной частью не должен превышать 5 минут. Под качеством распознавания объектов на изображениях понимается число ошибочных классификаций объектов. Данная ошибка должна составлять не более 7,2%.

Применение подобной программно-аппаратной системы автоматизированной бактериоскопической диагностики туберкулеза возможно в практике клинико-диагностических лабораторий общей лечебной сети, а также в отдаленных территориях, где

отсутствуют специалисты с необходимой квалификацией для проведения ручного бактериоскопического анализа, а также в учреждениях противотуберкулезной службы для ускорения и повышения качества бактериоскопической диагностики туберкулеза.

Таким образом, представленная схема работы программно-аппаратного комплекса автоматизированной бактериоскопической диагностики туберкулеза и требования к нему позволят осуществить разработку подобной системы, что обеспечит повышение скорости и качества бактериоскопической диагностики туберкулеза, повышение доступности такой помощи среди населения, проживающего в отдаленных территориях, а также пребывающего в учреждениях пенитенциарной системы.

ЛИТЕРАТУРА



1. Еремеева Н.И., Вахрушева Д.В. Эффективность выявления больных туберкулезом с бактериовыделением в клинико-диагностических лабораториях учреждений первичной медико-санитарной помощи Урала в 2010–2012 гг. // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 7. – С. 40–42.
2. Косых Н.Э., Смагин С.И., Гостюшкин В.В., Савин С.З., Литвинов К.А. Система автоматизированного компьютерного анализа медицинских изображений // Информационные технологии и вычислительные системы. – 2011. – № 3. – С. 51–56.
3. Мезенцева Н.И., Евгущенко Г.В., Пузанов В.А., Попов С.А., Фрейман Г.Е. Оценка качества диагностики туберкулеза методами микроскопии в РФ за 2011–2014 гг. по результатам ФСВОК // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 6. – С. 96–97.
4. Мордык А.В., Пузырева Л.В., Аксютин Л.П. Современные международные и национальные концепции борьбы с туберкулезом // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2013. – № 22. – С. 92–97.
5. Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Корецкая Н.М. Параметризация объектов на цифровых микроскопических изображениях мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена // Сибирское медицинское обозрение. – 2017. – № 5. – С. 53–59.
6. Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Корецкая Н.М., Соболева В.О. Сегментация микроскопических изображений мокроты, окрашенной по методу Циля-Нильсена, с использованием вейвлет-преобразования Mexican Hat // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – № 5. – С. 141–146.
7. Лорев В.Н. Компьютерная графика. – СПб.: БХВ-Петербург, 2002. – 432 с.
8. Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» // URL: <http://www.consultant.ru>.
9. Соيفер В.А. Компьютерная обработка изображений. Часть 2. Методы и алгоритмы // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 3. – С. 110–121.
10. Филимонова Е.С., Тарасенко С.Л., Дыхно Ю.А., Хлебникова Ф.Б. Оценка эффективности цитологической диагностики злокачественных новообразований легких // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – № 3. – С. 65–69.
11. Чердниченко А.Г., Ревякина О.В., Петренко Т.И. Состояние лабораторной службы по диагностике туберкулеза в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 5. – С. 16–20.
12. Agoston M.K. Computer graphics and geometric modeling: implementation and algorithms. – London: Springer, 2005. – 907 p.
13. Liu D., Wang S., Huang D., Deng G., Zeng F., Chen H. Medical image classification using spatial adjacent histogram based on adaptive local binary patterns // Computers in Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 72. – P. 185–200.
14. Xu Z., Bagci U., Mansoor A., Kramer-Marek G., Luna B., Kubler A., Dey B., Foster B., Papadakis G.Z., Camp J.V., Jonsson C.B., Bishai W.R., Jain S., Udupa J.K., Mollura D.J. Computer-aided pulmonary image analysis in small animal models // Medical Physics. – 2015. – Vol. 42, № 7. – P. 3896–3910.