

文章编号: 1005-5630(2023)06-0076-11

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5630.202210250178

基于智能手机的显微成像系统在寄生虫 诊断中的研究进展

余振芳^{1,2}, 李云飞^{1,2}, 罗 兵^{1,2}, 罗心怡², 耿东暉^{1,2}

(1. 四川省分析测试服务中心, 四川 成都 610015;

2. 四川省科学器材公司, 四川 成都 610015)

摘要: 快速、准确地诊断寄生虫感染对防治导致全球数百万人死亡的寄生虫病至关重要。然而, 中低收入国家缺乏常规显微镜是其有效管理寄生虫病的障碍之一, 这就导致对低成本诊断设备的需求在不断增加。由于智能手机具有捕获和处理图像等功能, 基于智能手机的显微镜为昂贵的传统显微镜提供了经济高效的替代品。总结了近15年来基于智能手机的显微诊断设备的发展, 特别是其在寄生虫病诊断方面的应用, 并根据光学设计方法对已有研究工作进行了分类, 讨论了它们的优点和缺点, 并提出了其未来的发展需求。

关键词: 寄生虫疾病; 智能手机; 显微镜; 诊断

中图分类号: O 439; TN 29 **文献标志码:** A

A brief review of smartphone based microscope imaging system for parasites diagnostic

YU Zhenfang^{1,2}, LI Yunfei^{1,2}, LUO Bing^{1,2}, LUO Xinyi², GENG Dongxian^{1,2}

(1. Analytical and Metrical Center of Sichuan Province, Chengdu 610015, China;

2. Scientific Equipments Company of Sichuan Province, Chengdu 610015, China)

Abstract: Accurate and rapid diagnosis of parasitic infection is of significant importance in preventing the spread of parasitic diseases that cause millions of deaths worldwide. However, the lack of conventional microscope in low- and middle-income countries is one of the obstacles in effective control of parasitic diseases, which results in the rising demand for low-cost diagnostic devices. Smartphone-based microscope is a low-cost alternative to expensive conventional microscope because smartphone can capture and process images and so on. In this review, we summarize recent 15 years development of smartphone-based microscopy, applied in specific for the diagnosis of parasitic diseases, and classify researchers' work based on optical design. We also discuss strengths and challenges and offers considerations for a way forward in implementation of

收稿日期: 2022-10-25

基金项目: 四川省科技计划项目(2021JDRC0022, 2022YFSY0023, 2020YFH0054, 2023JDXG0011)

第一作者: 余振芳(1984—), 女, 副研究员, 研究方向为偏振检测、成像等。E-mail: yuzhenfang111@163.com

通信作者: 耿东暉(1988—), 男, 副研究员, 研究方向为光学传感、成像、精密仪器等。

E-mail: geng0909@126.com

smartphone-based microscope in future.

Keywords: parasitic diseases; smartphone; microscopy; diagnosis.

引言

寄生虫病每年会导致数百万人患病或死亡,对人类健康和社会经济造成了严重影响,这类疾病主要发生在发展中国家^[1]。根据世界卫生组织(world health organization, WHO)的数据,2021年仅疟疾就造成约61.9万人死亡^[2],被忽视的热带疾病(neglected tropical diseases, NTD)包括血吸虫病、土壤传播蠕虫病、非洲锥虫病、囊虫病、淋巴丝虫病等也影响着全球数百万人^[3]。准确、快速地诊断寄生虫感染对有效防治寄生虫病至关重要。然而,由于中低收入国家缺乏操作熟练的专业技术人员和专门的显微镜诊断设备,寄生虫病的诊断因此受到严重影响^[4-6],导致寄生虫病难以得到有效管理。

智能手机给现代社会带来了巨大的便利和影响。它是一种先进的移动电话,具有一些突出的特点,如互补金属氧化物半导体(complementary metal-oxide semiconductor, CMOS)紧凑型数码相机,快速处理器、长效电池,可全球定位系统导航,互联网接入等^[5-7]。因为智能手机具有多个内置传感器,如成像相机等,所以研究人员对开发不同类型的智能手机诊断设备表现出极大的兴趣,并取得了一定的研究成果。基于智能手机的诊断设备在资源有限的地区尤其受到关注,有望成为用于各种诊断目的的昂贵实验室仪器的替代品^[5,7-8]。但基于智能手机的诊断设备在寄生虫病诊断中的应用仍存在一定问题。本文综述了智能手机显微镜的硬件开发及其在诊断寄生虫病应用方面的研究进展,讨论了它们在诊断寄生虫病中所具有的优势及面临的挑战。

1 基于智能手机的显微镜设备进行寄生虫病诊断

近年来,有大量研究集中在用于寄生虫病诊断的各种基于智能手机的诊断方法和设备的设计

及应用。借助全球手机网络覆盖范围的扩大,手机成像能力和计算能力的进步,可用于诊断寄生虫病的简单、高分辨率的诊断仪器正在快速出现。基于光学设置,用于实现手机显微镜的技术可分为外部光学附件技术、透镜设计分析技术和片上光学设计技术3种,图1所示为不同技术的光学设置。

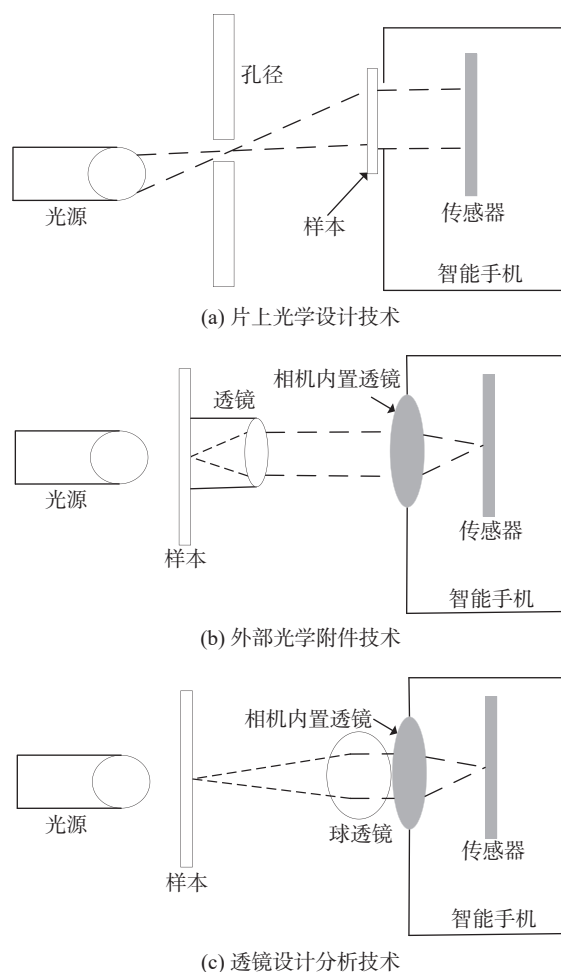


图1 不同类型移动手机显微镜的光学设置

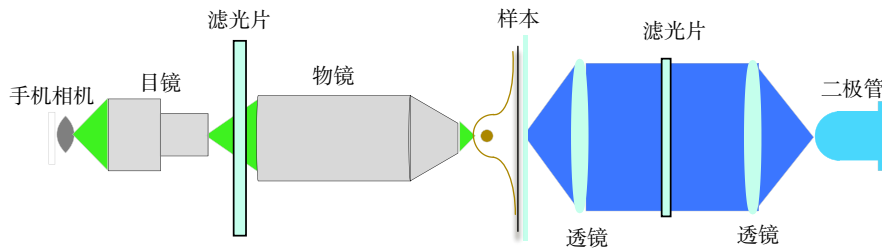
Fig. 1 Optical set-up for different cell-phone microscopes

1.1 基于外部光学附件技术的手机显微镜

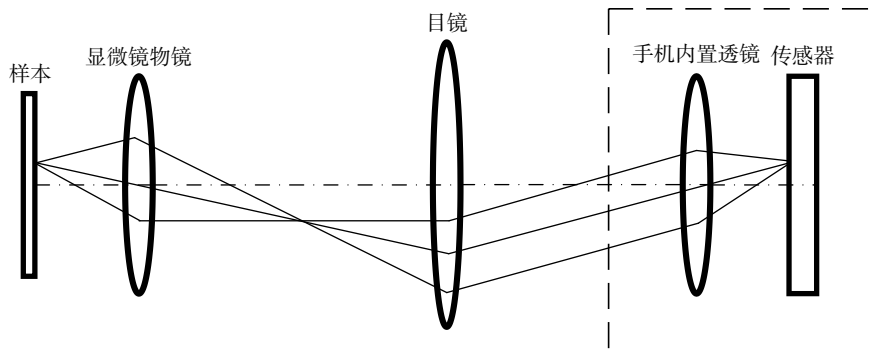
目前,大多数已报道的手机显微镜设计是基于外部光学附件技术,通常需要使用额外的硬件。硬件附件通常包括一个夹子式附件,用于将

商用物镜或低成本透镜等硬件安装到手机上。2009年,美国加州大学伯克利分校研究人员^[9]最早采用外部光学附件技术将便携式显微镜安装在手机上,制成亮视野手机显微镜。光学附件包含1个数值孔径(numerical aperture, NA)为0.85、60×消色差物镜,1个廉价的20×目镜和白色LED光源。该手持式显微镜系统使用标准物镜和目镜来实现标准放大,使用手机摄像头来代替传统显微镜系统中的人眼,其在无任何数字图像处理技术下实现了1.2 μm的空间分辨率,可用于(疟疾和镰状细胞样本的成像(见图2(a)~(d))。尽管此设备展示了在疟疾感染的血涂片

的成像和分析中的应用,但受系统分辨率的限制,它无法识别薄涂片中寄生虫的形态和物种,并且目镜的NA限制了非相干500 nm波长光(绿色)的分辨率,因此它必须与标准物镜结合使用。虽然可通过使用NA更高的物镜来提高图像质量,以实现薄涂片中疟原虫形态和种类的辨别,但是由于此装置需要将一个标准显微镜连接在手机上,导致该装置很笨重^[10-12]。并且由于手机内置镜头的直径小于人眼瞳孔的平均直径,从而减小了系统的数值孔径和可实现的分辨率。2011年,Zhu等^[13]开发了一种基于智能手机的大视场荧光成像系统,用于分析蓝氏贾第鞭毛虫



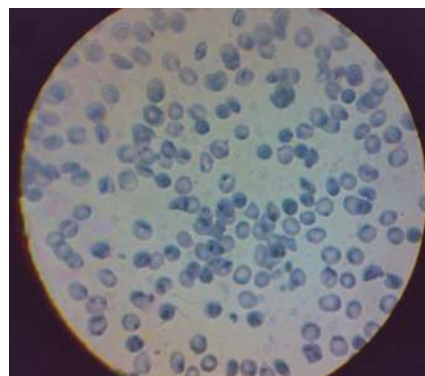
(a) 手机显微镜的光学结构图



(b) 手机显微镜的示意图



(c) 镰状细胞性贫血的薄血涂片手机显微镜图像^[9]



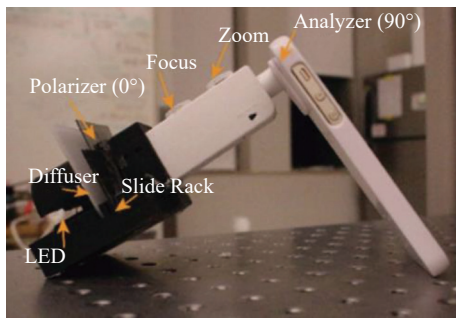
(d) 疟疾感染的薄血涂片手机显微镜图像^[9]

图 2 手机显微镜的光学结构图、示意图和样本图

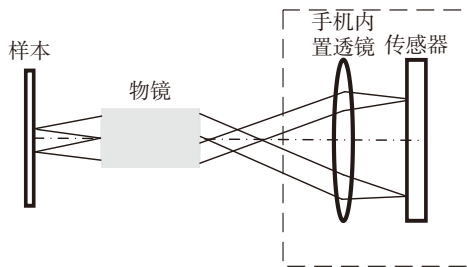
Fig. 2 Mobile phone microscope optical structure and sample images

囊肿。该系统采用电池驱动的发光二极管作为光源,用于激发位于外置透镜焦点处的样本,外置透镜充当准直镜。相机聚焦在无限远处,将样本重新成像在传感器上。基于压缩采样理论对捕获的图像进行数字信号处理来提高分辨率。该装置可对体积超过 0.1 mL 的样本进行成像,适用于检测和定量血液或其他样本中的低浓度病原体或稀有细胞。利用含有标记的蓝氏贾第虫囊肿作为病原体的样本来探索其在水质监测中的潜在应用。该显微镜能够以高特异性和灵敏度来对大样本量快速成像,从而有望成为用于水质监测的一种很有前途的工具。2015年,D'Ambrosio等^[14]设计了一种智能手机的视频显微镜,使智能手机显微镜并不局限于静态成像。该显微镜使用单个微丝蚴运动而不是通过分子标记或染色形态学来计数全血样本中的 *Loa loa* 微丝蚴。统计分析表明,该方法的假阴性率为千万分之一,可以忽略不计^[5]。该设备被称为 *Cellscope Loa*,它使用一个反转的 iPhone 5s 相机镜头与一个 iPhone 5s 手机相机用于成像。在该系统中,反转的相机镜头充当物镜,而相机镜头充当筒镜。样品放置在物镜前焦点处,成像于位于筒镜后焦距处的传感器上。该设备使用智能手机对未经处理的血液样本进行视频成像,并使用微丝蚴自动定量算法对样本进行分析,最终结果在 2 min 内通过应用程序显示出来。与手工计数相比,该设备在 33 名潜在 *Loa loa* 感染患者的厚血涂片中显示出高灵敏度和特异性,表明其具有现场筛查寄生虫感染的潜在应用价值。虽然该系统具有成本低,视场大,像质高的优点,但也存在分辨率低等问题。这种智能手机视频显微镜有可能用于寄生虫的快速现场诊断,同时因为它够表征寄生虫的运动模式,也可用于寄生虫和寄生虫幼虫阶段的辨别。2017年,Bogoch等^[15]介绍了一种基于手机的血吸虫感染显微镜,并在加纳一所农村学校进行了测试。该设计采用了一个 3D 打印的光机附件,并与智能手机结合。该附件包括用于样本均匀照明的 2 个扩散片、1 个定制设计的显微镜载玻片托盘、1 个外置透镜、2 个作为照射光源的白光发光二极管以及 2 节用于驱动光源的电池。在该系统中,外置透镜安装在距样本 1 倍焦距处,用作准直镜。相机聚焦在无限远处,将样本重新成

像到传感器上。他们还将该设备与奥林巴斯 CX21FS1-5 显微镜(10×和 20×物镜)进行了性能比较。研究结果显示,手机显微镜灵敏度适中。尽管该装置的灵敏度仅为 72.1%,但其特异性和阳性预测值为 100%,研究中没有出现假阳性^[5,16]。2015年,Pirnstill等^[17]将手机制成了高质量、低成本的移动光学偏振成像设备(见图 3(a))。该设计是基于暗场显微镜和交叉偏振显微镜的传统疟疾的诊断方法,利用具有双折射效应的疟色素对比度增强实现疟疾诊断。疟色素作为疟疾生物标志物,是疟原虫消耗血红蛋白的结晶产物,可在受感染的血液样本中检测到不同的数量。在检测疟疾时,偏振显微镜的检测灵敏度大约是传统光学显微镜的 2 倍。该系统由 2 个偏振片(用于偏振成像)、LED 光源和廉价的塑料透镜构成的附件组成,通过将塑料透镜放置在 iPhone 背面相机的焦点处,可实现 40×到 100×的放大率。这种配置类似于经典的无限共轭显微镜设计。在该系统中,廉价的塑料透镜组件充当物镜,而相机镜头充当筒镜。样品放置在物镜前焦点处,则在筒镜后焦距处重新成像到传感器上(图 3(b))。然而,由于廉价塑料透镜的使用,该设备的分辨率低于参考台式显微镜,存在场曲和其他附加像差。该团队利用这个系统进行了疟疾的亮场和偏振成像(图 3(c)~(d)),研究结果表明,使用非偏振图像,在红细胞重叠区几乎不可能区分感染的红细胞和单个红细胞。而交叉偏振光方法却能突破这一限制,其图像可清楚地显示样品中疟色素的存在,其分辨率与参考偏振显微镜的图像相似。但是该系统无法对早期环状滋养体进行成像,这是由于疟色素是在疟原虫环状体的后期形成^[5,12,18]。2019年,Snow等^[19]采用外部光学附件技术研制了一种便携式、经济高效的荧光显微镜,用于现场样品检测。其光学附件包括 1 个焦距为 5 mm 外透镜、长通滤波片、LED 光源和用于驱动光源的电池。在该系统中,外透镜充当物镜用于放大,手机后置摄像头充当筒镜将放大的样本图像重新成像到传感器上。他们还开发了一个 Android 应用程序,其将捕获的图像发送到分析服务器上,以便使用定制图像处理算法自动检测和计数图像上的孢子数。该程序可在 2 min 内完成图像处理,并将孢子计数结果发送回手机屏



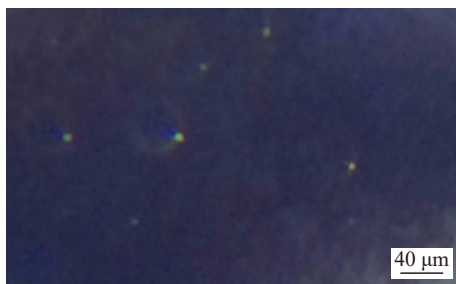
(a) 移动手机偏光显微成像设备的原型^[17]



(b) 移动手机偏光显微成像设备的示意图



(c) 无偏振片时显微系统获取疟疾感染的血涂片图像^[17]



(d) 偏光显微系统获取疟疾感染的血涂片图像^[17]

图 3 移动手机偏光显微镜的原型、示意图及样本图

Fig. 3 Mobile-optical-polarization imaging device prototype and sample images

幕上。研究表明，该设备的检测极限计算为每只蜜蜂 0.5×10^6 个孢子，而阳性感染的孢子浓度极限趋于 1×10^6 个。这种简单的寄生虫计数方法可使蜂群免受抗生素过度使用及其相关负面影响。但是，它也存在一些局限性，如不能区分检测 *Nosema* 孢子的种类，或无法在其生命周期的

任意阶段看到寄生虫的所有形态以便进行更深入的研究。2019年，Priya等^[20]提出一种新方法，通过一种低成本的离心机，以 125 000 r/min 的速度在 1.5 min 内分离血液成分，然后用智能手机显微镜对血样进行显微成像，从而实现低成本的疟疾诊断。基于外部光学附件技术，将 1 个 1 mm 的球透镜安装到智能手机上。在该系统中，球透镜作为物镜用于放大，相机作为筒镜将样本重新成像到传感器上。由于球透镜的使用，系统捕获的图像存在失真、散焦，具有高噪声比和强度变化。为了提高图像的质量，他们采用 OpenCV 库来获得均匀的背景并采用背景减法运算来降低噪声。但是当颜色在特定范围内时，该软件会过滤掉致病细胞，并在进行细胞计数时不考虑细胞的大小和形状。2020年，Hasselbeck等^[21]采用倒置的智能手机相机镜头和聚焦机械结构构建了一种基于智能手机的低成本显微镜，用于诊断如疟疾等疾病。在该系统中，倒置的智能手机相机镜头安装在距样本 1 倍焦距处，充当准直镜，而相机聚焦在无限远处，将样本重新成像到传感器上(图 3(b))。基于该原理设计的手机显微镜的放大倍数由物镜的焦距与相机透镜焦距之比决定。相比于传统显微镜，由于该系统中使用的 2 个透镜的焦距在相同的数量级，使得其分辨率受到限制，从而可能导致其在特异性和敏感性方面的诊断不太可靠。基于光学附件技术设计的智能手机显微镜需要在手机上安装额外的硬件附件来实现显微镜成像。这种方法的局限性在于此类设备体形庞大，并且不同手机型号需要不同附件^[5,10,16]。2021年，四川省分析测试服务中心 Yu 等^[22]采用外部光学附件技术，将手机制作成一个大视野明场显微镜，用于疟疾和缺铁性贫血细胞样本的成像(图 4(a)~(c))。该光学附件包含 1 个微型平场消色差透镜和 1 个 iPhone 手机白屏作为光源。在该成像系统中，外置透镜作为物镜用于放大，相机内置透镜聚作为筒镜将样本的像重新成像到传感器上(图 4(d))。尽管该系统具有对缺铁性贫血样本和疟疾感染的血涂片样本进行成像和分析的能力，但采用 iPhone 白屏作为照明光源增加了仪器的成本和重量，并且系统可实现分辨率无法识别疟原虫的形态和种类。因此，需要进一步降低成本，提高系统的

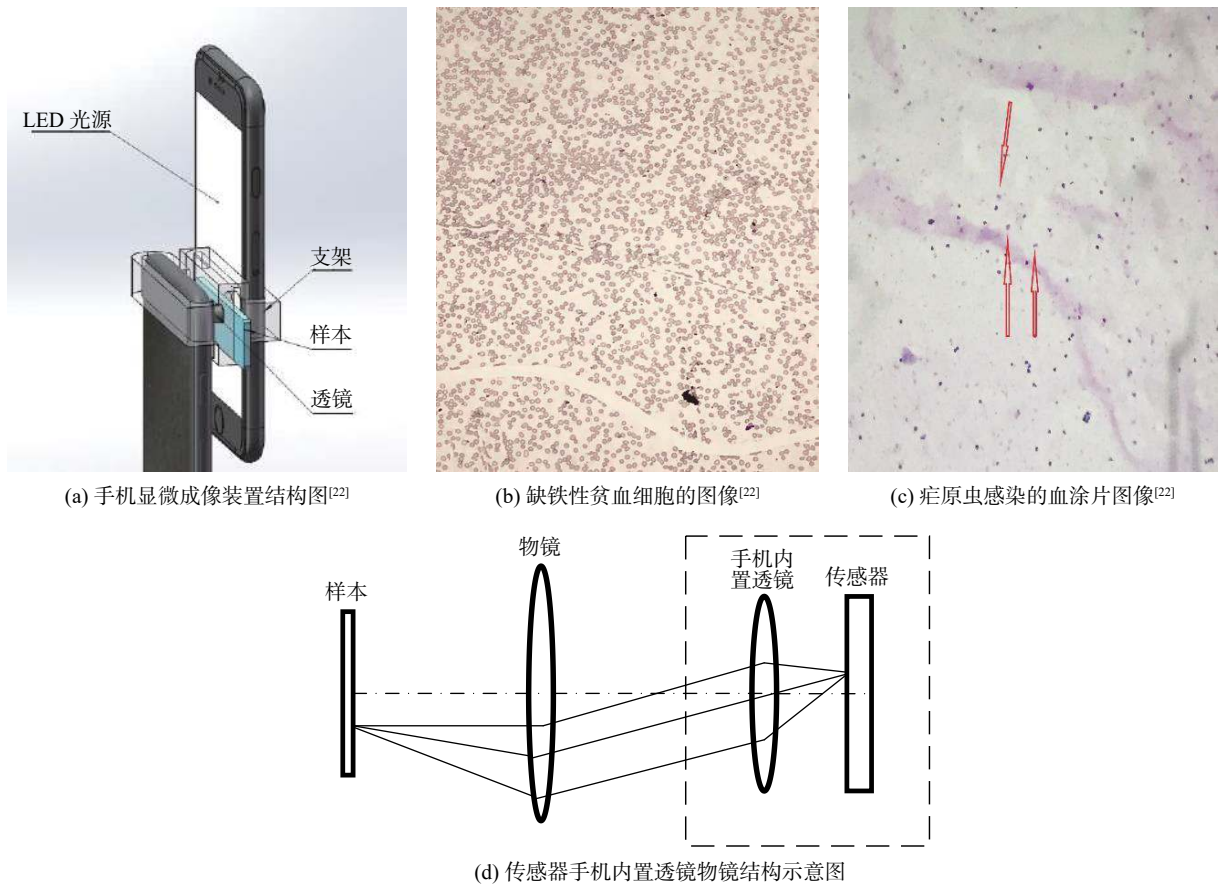


图 4 手机显微成像装置结构图、示意图和样本图像

Fig. 4 The designed cell-phone based microscope structural diagram and sample images

分辨率以满足在发展中国家现场诊断寄生虫疾病的需求。

1.2 基于透镜设计技术的手机显微镜

基于外部光学附件技术设计的智能手机显微镜需要一个定制设计的附件, 用于将包括标准显微镜或低成本单透镜等硬件连接到手机上。当需要成像功能和其他高级功能时, 通常需要将智能手机连接到具有多个光学元件的指定系统, 甚至连接到标准显微镜^[9]。虽然这种类型的设计基本具备了传统台式显微镜的全部功能, 但往往会导致成本高, 设计复杂。为了避免以上缺点, 透镜光学设计技术提供了一种相对简单且低成本的替代方案, 可产生与其他报道的基于智能手机显微镜系统相当的分辨率, 即采用将折射元件如球透镜直接安装在智能手机摄像头上, 可获得一个强大的手持式显微镜, 用以识别寄生虫(图 1(c))。该光学系统的空间分辨率和视场(field-of-view,

FOV)依赖于透镜尺寸, 较小的透镜具有较大的空间分辨率, 但提供的 FOV 较小, 反之亦然^[6]。2013 年, Bogoch 等^[23]通过在智能手机摄像头上安装 1 个 3 mm 的球透镜, 构建了 1 个手持式显微镜, 并用它来识别学龄儿童尿液和粪便样本中的土壤传播蠕虫和血吸虫卵(图 5)。他们采用双面胶将球透镜临时安装在手机摄像头上, 并用双面胶将显微样本粘在胶带上, 胶带上有一个孔来放置球透镜。样本与球透镜之间的距离大约为 1 mm。与传统显微镜相比, 该系统取得了中低等的结果, 且产生的图像质量较差, 这是由于使用的球透镜导致了图像畸形失真。尽管该设备显示出中低等的灵敏度和特异性, 且 FOV 较小, 但它确实是一种廉价的便携式显微镜。随着灵敏度的提高, 此设备可满足发展中国家现场诊断土壤传播蠕虫疾病的需求^[24]。为了进一步提高基于透镜设计技术的智能手机显微镜的分辨率, Switz 等^[25]通过在智能手机的摄像头上安装一个

倒置的手机相机镜头模块, 在大约 10 mm^2 的大视场范围内实现了分辨率 $\leq 5\ \mu\text{m}$, 从而获得了粪便样本中土壤传播蠕虫卵的高质量图像。寄生虫卵成图像的一个主要问题是它们在三维平面中的不同焦深处的散射。Sowerby 等^[26] 通过在智能手机摄像头上安装一个 12 mm 的双凸透镜对蛔虫卵进行成像, 并利用 ImageJ 软件将不同焦深的图像组合成了扩展的复合景深图像来解决这个问题。通过颜色、形状和大小将蛔虫卵与其他漂浮物体区分开来。尽管该系统比传统显微镜揭示的内部细节更少, 但该系统为线虫卵的单视场复合景深图像和早期诊断提供了足够的分辨率。2018 年, Agbana 等^[12] 开发了一种低成本、高分辨率的基于智能手机的光学成像设备, 并用它来检测 Giemsa 染色的细胞。他们在 2 片箔片中安装一个球透镜, 并用透明胶带将其固定在手机摄像头上, 使用 LED 灯作为照明光源。研究表明, 采用直径为 0.5 mm 的球透镜可实现 $8.5\times$ 放大倍数, 有利于疟疾寄生虫的形态鉴别。虽然该系统具有成本低、分辨率高等优点, 但存在视场小, 图像质量差等问题。Shrestha 等^[27] 开发了

一种基于智能手机的显微镜, 该显微镜由一个直径为 1 mm 蓝宝石球透镜、球透镜和手机摄像头之间的铝制安装板以及白色发光二极管作为光源组成。该智能手机显微镜可同时对蔬菜和水样本中的贾第鞭毛虫和隐孢子虫囊肿进行成像和量化。但是该系统存在 FOV 和放大率依赖于球透镜的尺寸, 图像中心区域比外围区域更清晰等问题, 这是由于使用蓝宝石球透镜作为主要成像元件造成的。但基于智能手机的显微镜可作为预筛查水和蔬菜中的隐孢子虫和贾第鞭毛虫的一种廉价的替代工具来替代价格昂贵, 体积庞大的传统显微镜, 但其对蓝氏贾第鞭毛虫检测的特异性需进一步提高。综上, 基于外置透镜技术的智能手机显微镜具有设计方法简单、便携、成本低而且无需持续供电等特点, 这有助于其成为世界上资源受限地区寄生虫现场诊断的诊断工具。然而, 设备的成像性能(如分辨率、放大倍数等)受到透镜质量(如像差)的限制, 并且在光路中也很难加入实现如荧光显微镜等功能所需的其他组件^[4,10]。

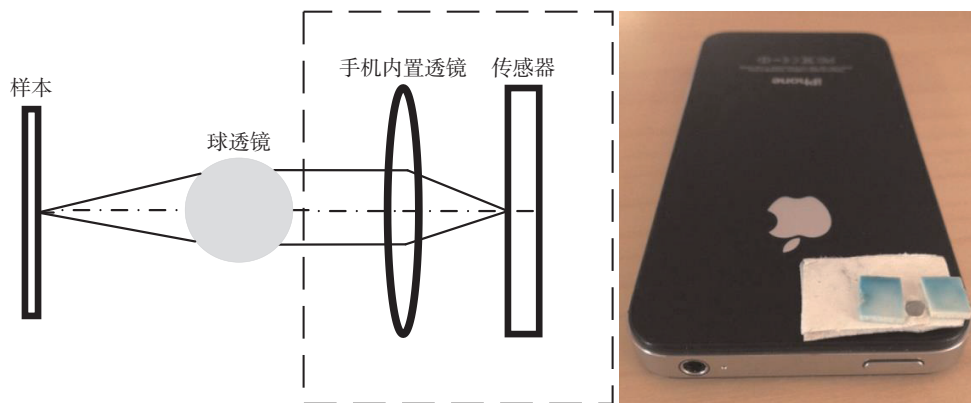


图 5 3 mm 球形透镜的智能手机显微镜的原理图与实物图^[24]

Fig. 5 Schematic diagram and prototype of mobile phone microscope using a 3 mm ball lens^[24]

1.3 基于片上光学设计技术的智能手机显微镜

使用传统物镜和目镜的手机显微镜体积庞大且笨重。为了研制一种基于手机的手持式微型显微镜, 提出了一种省去诸如传统透镜之类的庞大而笨重的光学元件的全息方法, 为手机显微镜提供了一种紧凑而轻便的附件。2010 年, Tseng 等^[28] 采用片上光学设计技术研制了一种全息显微镜用于识别蓝氏贾第鞭毛虫(图 6 所示)。他

们使用电池供电的 LED 灯垂直照射样品, 对样品进行部分非相干照明, 其中样品是从侧面机械加载的。样品散射和折射的光与未散射的光干涉产生了样本中每个细胞的在线全息图, 然后由嵌入手机中的传感器进行记录。再通过迭代全息重建算法获得样本的振幅和相位图像。照相手机上的传感器芯片在每个像素都有滤色器, 这种滤色器被称为拜耳模式, 能够捕捉全息图的颜色信

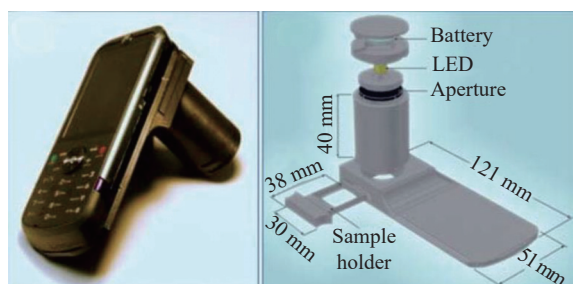
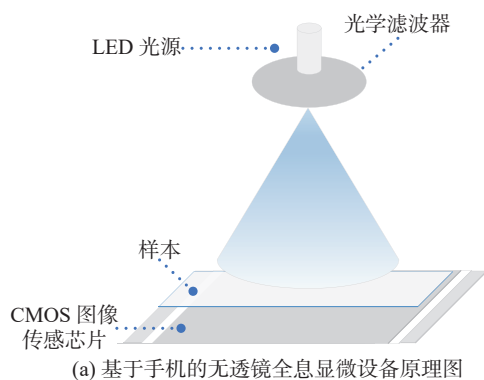


图 6 基于手机的无透镜全息显微设备原理图及原型^[28]

Fig. 6 Lens-free on-chip holographic microscope optical setup and prototype^[28]

息。全息显微镜出现的问题之一是,并非所有像素在准单色照明下都能接收到足够的光,因此会导致全息图像的失真。在对细胞进行全息重建之前,他们通过将拜耳图像转换为单色等效图像来克服这一问题,实现了 $1.5\sim 2.0\ \mu\text{m}$ 的空间分辨率。为了将智能手机转换成全息显微镜,需要对硬件进行重大修改,如定制一个全息成像平台来代替嵌入手机中的透镜^[6,12,16]。基于片上光学设计技术可以实现更紧凑的设计,并消除光学校准的需求^[16,29]。此外,与传统显微镜技术相比,这种技术允许 FOV 和分辨率之间的关系解耦,这是由于没有镜头来限制数值孔径,从而可在不牺牲系统分辨率的情况下显著改善成像的视场^[6,11,16]。他们使用该系统对红细胞和白细胞进行成像并检测血涂片上是否存在寄生虫^[30]。但所获图像无法实时查看,通常需要功能强大的台式电脑或云端对获得的全息图进行计算,从而将原始全息图进行重建合成转换为显微图像^[11-12,16,26,31],并且图像的空间分辨率受到 CMOS 传感器像素大小的限制^[32]。更重要的是,此全息显微镜需要将样本直接放置在传感器上,这需

要拆除相机模块以移除内置镜头^[6,11-12,16],使得其在标准载玻片上制备的样品和生物组织在成像中的应用存在困难,且使用后需要对传感器进行清洁。这些弊端阻碍了基于片上光学设计技术的智能手机显微镜在寄生虫诊断应用中的发展。

2 讨论和展望

调查了基于智能手机的显微镜在寄生虫诊断领域的最新发展和应用,探讨了它们的优势、局限性及未来发展的需求。基于智能手机的显微镜有可能取代传统昂贵的实验室显微镜,尤其是在资源有限的地区或需要快速现场检测各种样本的地方。基于智能手机的显微镜设备的主要优势是成本低,广泛可用和现场诊断潜力,这非常适用于资源有限地区的寄生虫病的有效管理。由于具有足够的灵敏度且成本低,基于智能手机的显微镜设备在寄生虫的初步检测中显示出巨大的潜力。智能手机显微镜设备成功应用的案例包括检测疟疾、血吸虫和土壤传播蠕虫等寄生虫病,这些疾病对生活在传统诊断手段有限的环境中的人们造成了极大的危害。尽管智能手机在光学显微镜领域取得了巨大进展,但在成为实验室设备的商业替代品之前,它仍然存在一些困难需要去克服,如验证这些设备的诊断操作特性、耐用性等。尽管存在这些挑战,智能手机显微镜设备仍有潜力来满足寄生虫病高发的发展中国家的巨大诊断需求。未来的研究有必要探索这些设备的可用性,尤其是在野外环境中,它不仅适用于寄生虫病,也适用于其他微生物疾病的诊断。预计在不久的将来,基于智能手机的显微镜诊断设备将被广泛采用,用于寄生虫病的快速诊断。在智能手机上实现光学显微镜功能的根本难题之一是在大视场上实现高分辨率。使用透镜的智能手机显微镜可以配备常规显微镜中使用的物镜/目镜、球透镜以及倒置手机相机透镜。配备传统物镜/目镜组合的手机显微镜可获得高分辨率的图像,但设备体积庞大,FOV 有限,相比配备球透镜、倒置手机相机透镜的成本更高。相比之下,配备球透镜的手机显微镜更便宜、更紧凑,但它们产生的图像具有显著的像差,导致图像质量降

低。球透镜和传统显微镜物镜无法有效地将光线耦合到手机摄像头设计可接受的广角视场中。并且采用低成本球透镜的显微镜系统的 FOV 有限,这是由于球透镜产生严重的场曲和球面像差所导致的。另一方面,当传统显微镜的目镜被设计用于广角视场^[25],这种目镜的 NA 限制了非相干绿光的分辨率,因此不能单独应用,而必须与标准物镜结合使用,这导致该组件比球透镜显微镜更为笨重。此外,这些目镜比球透镜更贵,最便宜的目镜可提供的全角视场远低于手机摄像头可接受的视场。因此,使用物镜结合目镜设计的智能手机显微镜获取的图像不能覆盖整个图像传感器,从而降低了 FOV。相比之下,倒置的手机相机镜头与相机镜头本身更匹配,能够覆盖整个图像传感器,并能有效地增加 FOV。与传统显微镜目镜相比,手机相机镜头模块生产成本更低,像差校正效果更好^[11,25]。基于透镜设计和实现的智能手机显微镜面临着分辨率和 FOV 之间的权衡,而无透镜全息方法可以在较大视场上实现高分辨率图像,尽管这需要对手机成像硬件进行侵入性修改并对原始全息图进行全息重建获得样本图像,但和只能对样本的强度进行成像的非相干显微镜系统相比,全息成像方法可显示样本的振幅和相位信息。但全息方法需要受检样本相对接近图像传感器,导致全息方法无法对标准载玻片上制备的样本进行成像。虽然研究人员已经开发了一些技术来增加 FOV 和提高分辨率,但进一步增加 FOV 需要减少限制分辨率的人为因素,如像差等。

智能手机显微镜已成功应用于检测疟疾、血吸虫病和土壤传播蠕虫等寄生虫病。然而,在使用和扩大智能手机显微镜技术之前,仍有几个问题需要解决:(1)在实际应用条件下,缺乏对这些设备的准确性及其性能的有限临床验证,这是智能手机显微镜的主要问题^[8]。在过去十几年里,有许多智能手机显微镜的相关报道,但大多数报道侧重于显微镜的光学性能和制造方法,而不是评估这些设备在现场条件下对真实的临床样本进行测试的性能。这是由于大多数的研究都是在控制良好的实验条件下进行的,而不是由在日常公共卫生实践中使用这些设备的人在实际应用条件下对这些设备进行验证评估。如果这些设备

应用于少资源地区,研究人员应该充分评估它们由非技术人员操作时检测结果的准确性。如果不在真实环境中测试其应用,则无法确定可能存在的缺陷。因此,如果研究目标是实现一个标准和实用的系统,未来的研究则需要进一步的实际应用来检查和验证所开发系统的功能。(2)与传统的光学显微镜非常相似的智能手机显微镜应该能够进行广泛的诊断,而不是仅适用于单一疾病诊断,如疟疾诊断^[12,16]。(3)尽管智能手机显微镜可以成为台式显微镜的经济高效且便于使用的替代品,但在资源有限的地区和现场分析时,样本的手动处理和显微镜载波片的制备等问题仍有待解决。(4)智能手机电池容量有限是其在医疗设施中现场布署的一个主要瓶颈,但这可以通过汽车电池或太阳能的移动充电设备来解决^[11]。(5)在大多数情况下,每种手机显微镜设计具有独特性,仅针对特定品牌和型号的智能手机,这会导致定制的附件或平台与其他品牌不兼容。这个问题可能会限制智能手机显微技术在资源有限地区的使用及商业化。因此,需要开发一种适用于各类智能手机的附件,附件里放置智能手机相机前面的透镜的位置可以改变。(6)尽管智能手机显微镜可以成为取代台式显微镜的经济高效且友好的替代品,但其图像质量使检测更加困难。在某些情况下,需要专家来分析诠释显微镜图像以帮助提高和保证手机显微镜技术的可用性和质量。人们利用手机互联网向寄生虫学家和实验室发送图像,然后将这些原始图像与成像质量更好、更清楚的参考图像进行比较,以便能够快速评估和反馈。或者使用专门的算法和软件来自动分析图像,从而提高图像质量和检测速度。在某些情况下可使用更简单的软件,如 ImageJ 和 Photoshop,但在可能的情况下可使用更先进的技术,如 MATLAB 或 Python 等汇编语言,甚至使用人工智能(artificial intelligence, AI)^[33-35]。开发自动检测算法应用于诊断寄生虫,不仅能布署更多经验不足的实验室技术人员来缓解资源有限地区熟练劳动力的短缺,也可以提高寄生虫检测的准确性以及提高检测速度。近年来,图像处理技术和机器学习技术已开始被用于寄生虫诊断,如疟疾等。总而言之,在资源有限地区,尽管基本医疗设施不足,但利用人工智能开发寄生虫自动检测

的专门算法,为智能手机显微镜技术广泛应用于准确快速地诊断寄生虫病提供了可能。

3 结 论

本文主要介绍了基于外部光学附件、透镜设计和片上光学设计这3种方法设计的智能手机显微镜的光学结构以及其在寄生虫诊断领域中的应用研究进展,讨论了它们的优点、局限性及未来发展的需求。尽管智能手机显微镜已被成功应用于检测疟疾、血吸虫和土壤传播蠕虫等寄生虫病,但在使用和扩大智能手机显微镜技术之前,仍存在一些困难需要克服。基于智能手机的显微镜诊断设备的主要优势是低成本、广泛可用性和现场诊断潜力,在资源有限的地区,该设备非常适用于寄生虫病的有效管理。作为一项新兴技术,基于智能手机的显微镜设备面临着缺乏实际应用条件下的验证、持久性等挑战。尽管存在这些挑战,这些设备仍有满足寄生虫病高发的发展中国家的巨大诊断需求的潜力。未来的研究有必要探索这些装置的有用性,尤其是在野外条件和临床环境中验证其检测准确性,使其不仅适用于寄生虫病,也适用于其他微生物疾病的诊断。预计在不久的将来,基于智能手机的显微镜设备将被广泛应用于寄生虫病的快速诊断。

参考文献:

- [1] HOTEZ P J, AKSOY S, BRINDLEY P J, et al. What constitutes a neglected tropical disease?[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2020, 14(1): e0008001.
- [2] WHO. World malaria report 2022[R]. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [3] NGWESE M M, MANOUANA G P, MOURE P A N, et al. Diagnostic techniques of soil-transmitted helminths: impact on control measures[J]. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 2020, 5(2): 93.
- [4] HUANG X W, LI Y B, XU X F, et al. High-precision lensless microscope on a chip based on in-line holographic imaging[J]. *Sensors*, 2021, 21(3): 720.
- [5] AYARDULABI R, KHAMESPANAH E, ABBASINIA S, et al. Point-of-care applications of smartphone-based microscopy[J]. *Sensors and Actuators A:Physical*, 2021, 331: 113048.
- [6] SAEED M A, JABBAR A. “Smart Diagnosis” of parasitic diseases by use of smartphones[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017, 56(1): e01469 – 17.
- [7] KWON L, LONG K D, WAN Y, et al. Medical diagnostics with mobile devices: comparison of intrinsic and extrinsic sensing[J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(3): 291 – 304.
- [8] BOGOCH I I, LUNDIN J, LO N C, et al. Mobile phone and handheld microscopes for public health applications[J]. *The Lancet Public Health*, 2017, 2(8): e355.
- [9] BRESLAUER D N, MAAMARI R N, SWITZ N A, et al. Mobile phone based clinical microscopy for global health applications[J]. *PLoS One*, 2009, 4(7): e6320.
- [10] LIU Y H, ROLLINS A M, LEVENSON R M, et al. Pocket MUSE: an affordable, versatile and high-performance fluorescence microscope using a smartphone[J]. *Communications Biology*, 2021, 4(1): 334.
- [11] DENDERE R, MYBURG N, DOUGLAS T S. A review of cellphone microscopy for disease detection [J]. *Journal of Microscopy*, 2015, 260(3): 248 – 259.
- [12] AGBANA T E, DIEHL J C, VAN PUL F, et al. Imaging & identification of malaria parasites using cellphone microscope with a ball lens[J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0205020.
- [13] ZHU H Y, YAGLIDERE O, SU T W, et al. Cost-effective and compact wide-field fluorescent imaging on a cell-phone[J]. *Lab on A Chip*, 2011, 11(2): 315 – 322.
- [14] D’AMBROSIO M V, BAKALAR M, BENNURU S, et al. Point-of-care quantification of blood-borne filarial parasites with a mobile phone microscope[J]. *Science Translational Medicine*, 2015, 7(286): 286re4.
- [15] BOGOCH I I, KOYDEMIR H C, TSENG D, et al. Evaluation of a mobile phone-based microscope for screening of *Schistosoma haematobium* infection in rural Ghana[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2017, 96(6): 1468 – 1471.
- [16] VASIMAN A, STOTHARD J R, BOGOCH I I. Mobile phone devices and handheld microscopes as diagnostic platforms for malaria and neglected tropical diseases (NTDs) in low-resource settings: a systematic review, historical perspective and future outlook[J]. *Advances in Parasitology*, 2019, 103: 151 – 173.
- [17] PIRNSTILL C W, COTÉ G L. Malaria diagnosis using

- a mobile phone polarized microscope[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 13368.
- [18] BANIK S, MAHATO K K, ANTONINI A, et al. Development and characterization of portable smartphone-based imaging device[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2020, 83(11): 1336 – 1344.
- [19] SNOW J W, KOYDEMIR H C, KARINCA D K, et al. Rapid imaging, detection, and quantification of *Nosema ceranae* spores in honey bees using mobile phone-based fluorescence microscopy[J]. *Lab on A Chip*, 2019, 19(5): 789 – 797.
- [20] PRIYA C, LINGESHWARAN K, SURYAMEGANA P S. Mobile microscope supported by whirling centrifuge for the effective detection of pathogenic cells[J]. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 2019, 6(2): 155 – 159.
- [21] HASSELBECK D, SCHÄFER M B, STEWART K W, et al. Diagnostic capabilities of a smartphone-based low-cost microscope[J]. *Current Directions in Biomedical Engineering*, 2020, 6(3): 522 – 525.
- [22] YU Z F, LI Y F, GENG D X, et al. A wide-field microscope utilizing two cellphones for health-care applications[J]. *Journal of Biophotonics*, 2022, 15(2): e202100200.
- [23] BOGOCH I I, ANDREWS J R, SPEICH B, et al. Mobile phone microscopy for the diagnosis of soil-transmitted helminth infections: a proof-of-concept study[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2013, 88(4): 626 – 629.
- [24] RAJCHGOT J, COULIBALY J T, KEISER J, et al. Mobile-phone and handheld microscopy for neglected tropical diseases[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2017, 11(7): e0005550.
- [25] SWITZ N A, D'AMBROSIO M V, FLETCHER D A. Low-cost mobile phone microscopy with a reversed mobile phone camera lens[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e95330.
- [26] SOWERBY S J, CRUMP J A, JOHNSTONE M C, et al. Smartphone microscopy of parasite eggs accumulated into a single field of view[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2016, 94(1): 227 – 230.
- [27] SHRESTHA R, DULAL R, WAGLE S, et al. A smartphone microscopic method for simultaneous detection of (oo)cysts of *Cryptosporidium* and *Giardia*[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2020, 14(9): e0008560.
- [28] TSENG D K, MUNDAYALI O, OZTOPRAK C, et al. Lensfree microscopy on a cellphone[J]. *Lab on A Chip*, 2010, 10(14): 1787 – 1792.
- [29] BANIK S, MELANTHOTA S K, ARBAAZ, et al. Recent trends in smartphone-based detection for biomedical applications: a review[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2021, 413(9): 2389 – 2406.
- [30] MUDANYALI O, OZTOPRAK C, TSENG D, et al. Detection of waterborne parasites using field-portable and cost-effective lensfree microscopy[J]. *Lab on A Chip*, 2010, 10(18): 2419 – 2423.
- [31] ORTH A, WILSON E R, THOMPSON J G, et al. A dual-mode mobile phone microscope using the onboard camera flash and ambient light[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 3298.
- [32] BISHARA W, SIKORA U, MUDANYALI O, et al. Holographic pixel super-resolution in portable lensless on-chip microscopy using a fiber-optic array[J]. *Lab on A Chip*, 2011, 11(7): 1276 – 1279.
- [33] BORNHORST J, NUSTEDE E J, FUDICKAR S. Mass surveillance of *C. elegans*-smartphone-based DIY microscope and machine-learning-based approach for worm detection[J]. *Sensors*, 2019, 19(6): 1468.
- [34] UDREA A, MITRA G D, COSTEA D, et al. Accuracy of a smartphone application for triage of skin lesions based on machine learning algorithms[J]. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2020, 34(3): 648 – 655.
- [35] LI C, ADHIKARI R, YAO Y, et al. Measuring plant growth characteristics using smartphone based image analysis technique in controlled environment agriculture[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2020, 168: 105123.

(编辑: 李晓莉)