

## Регистрация гиперспектральных голограмм глазного клеща Demodex в ближнем инфракрасном диапазоне

### Аннотация

Рассмотрена возможность анализа строения и этапов развития паразитических микроорганизмов на примере глазного клеща демодекса на основе метода гиперспектральной голографии в ближней инфракрасной области. Показано, что оптическая плотность структуры клеща может быть зарегистрирована в диапазоне длин волн более 0,7 мкм. Получено амплитудно-фазовое распределение структуры в коротковолновом участке спектра. Регистрация амплитудно-фазовой информации в более коротковолновом диапазоне осложняется диффузной структурой покрова тела, что приводит к спеклованию изображений.

### Введение

Одним из широко встречаемых заболеваний глаз у человека, нередко приводящим к значительному снижению качества жизни пациента и соответствующим очевидным негативным последствиям, является демодекоз. Демодекоз вызывается глазным клещом Demodex. Размер паразитических клещей – 0,3...0,4 мм, они имеют полупрозрачное тело вытянутой формы. Покровы клеща чешуйчатые, у тела – 4 пары конечностей. На каждой лапке имеется пара коготков, которые помогают клещам закрепляться внутри волосяного фолликула. Среда обитания глазного клеща-возбудителя – веки, брови, ресницы. Следует отметить, что Demodex относится к условно-патогенной микрофлоре и в норме присутствует у всех здоровых людей, не вызывая неприятных симптомов. Причиной прогрессирования данной патологии обычно является резкое снижение иммунитета в результате перенесенного заболевания или хирургического вмешательства, а также дисфункция органов пищеварения, резкая смена климата, беременность, стресс. При демодекозе у человека отмечается покраснение и шелушение век, истощение ресниц и их выпадение, неприятный зуд глаз. Для диагностики данного заболевания обычно производят забор нескольких ресниц с каждого глаза и исследуют их под микроскопом. При обнаружении личинок или взрослых особей Demodex назначается соответствующее адекватное комплексное лечение, которое может занять от 1 до 3 месяцев и более с периодическим контрольным взятием ресниц на Demodex.

Таким образом, визуальные наблюдения за эволюцией и концентрацией особей Demodex на оптическом медицинском микроскопе являются общепринятой практикой медицинской диагностики данного заболевания. Вместе с тем следует отметить, что некоторые важные детали особей Demodex под медицинским микроскопом ускользают от внимания и поэтому картина не обладает достаточной полнотой и детализацией. Это в первую очередь связано с тем, что обычный микроскоп строит изображения объектов и не позволяет выявить тонкие детали, связанные с их внутренней структурой. В этом отношении хорошо зарекомендовавшие себя методы голографической регистрации могут найти применение для более детальной диагностики. Также не исключается перспективная возможность использования новых, более эффективных методов лечения демодекоза.

Наиболее эффективным анализом структуры и физических свойств глазного клеща демодекса, по нашему мнению, является метод гиперспектральной голографии.

В работах С.Г. Каленкова, Г.С. Каленкова, А.Е. Штанько [1], [2] впервые предложено и экспериментально подтверждено новое направление в оптике, а именно запись гиперспектральных голограмм микрообъектов в некогерентном свете, основанная на принципах и технике Фурье-спектроскопии. По этой причине предложенный и развитый нами метод естественным образом наследует сильные стороны этих принципов: бесprecedентно высокое отношение сигнал/шум и, как следствие, высокое пространственно-спектральное разрешение гиперспектрального голографического изображения по сравнению, на-

пример, с голограммами, получаемыми с помощью перестраиваемого по частоте лазера. Важно отметить, что гиперспектральные голограммы записываются в некогерентном излучении, что, несомненно, открывает возможность актуальных и практически важных применений данного метода. В частности, гиперспектральная голография позволяет количественно вычислить амплитудно-фазовый профиль волнового фронта, прошедшего через микрообъект [3], [4]. Таким образом, на каждой спектральной компоненте излучения регистрируется фазовое изображение прозрачного, слабопоглощающего объекта [5]. Точность такой регистрации существенно выше классического фазово-контрастного метода, что открывает новые возможности исследования прозрачных микрообъектов.

Очевидно, что при открывающейся возможности обнаружить глазного клеща на стадии развития «личинка» сроки лечения и достижение ремиссии заболевания могут быть сокращены, что имеет немаловажное значение для качества жизни пациентов.

### Материал и методы

Регистрация гиперспектральных голограмм осуществлялась при помощи двухлучевого интерферометра Маха-Цандера, в котором предусмотрена возможность контролируемого изменения разности хода двух плеч. Оптическая схема интерферометра показана на рис. 1. Объект (О) демодекс помещали в микроскоп, входящий в состав рабочего плеча интерферометра. В качестве источника освещения использовали генератор суперконтинуума мощностью 200 мВт, излучающий в диапазоне длин волн 0,45...2 мкм. Для регистрации гиперспектральных голограмм был использован инфракрасный (ИК) диапазон спектра излучения (0,7...1 мкм). Переход в ИК-диапазон обусловлен тем, что излучение генератора суперконтинуума обладает высокой степенью пространственной когерентности, и при прохождении его через сравнительно плотный и оптически неоднородный покров демодекса возникает случайная модуляция фазы луча, приводящая к появлению спекл-эффекта, мешающего наблюдению за деталями структуры объекта. Для ИК-излучения покров оказывается прозрачным и спекл-эффект в значительной мере устраняется.

Излучение генератора (WLS) поступало на светоделитель (BS). В опорной ветви оно направлялось зеркалом (М) через объект в объектив микроскопа (МО – microobjective) 60x, NA 0.8, который проецировал увеличенное изображение объекта на КМОП-сенсор регистрирующей камеры. В другом (опорном) плече интерферометра устанавливали второй такой же объектив (МО), необходимый для формирования опорной волны, идентичной предметной волне по кривизне. В состав опорного плеча был включен углоковый отражатель (corner reflector, CR), установленный на подвижный пьезокерамический стол PZT (piezo transducer). Он позволял менять разность хода плеч интерферометра с шагом 10 нм. Регистрация интерферограмм на видеокамеру была синхронизована с перемещением стола. Изменение длины оптического пути между двумя последовательными кадрами составляло 50 нм. Общая длина хода стола составляла 50 мкм, скорость регистрации – 110 кадр/с, общее количество интерферограмм – 1000 за одно

сканирование, формат кадра CMOS-сенсора – 1024 × 1024 пикселей, 10 бит на пиксель.

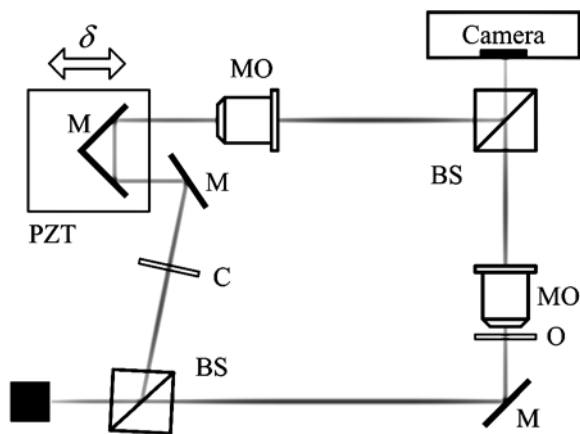


Рис. 1. Оптическая схема регистрации интерферограмм в низкокогерентном излучении в ближнем ИК-диапазоне

Алгоритм цифровой обработки полученного массива интерферограмм и формирования изображения микрообъекта описан С.Г. Каленковым с соавт. [1], [3]. В итоге обработки получали комплексную амплитуду поля  $a(x, y)$  объекта для 50 спектральных компонент излучения. Пространственное распределение интенсивности квадрата модуля комплексной амплитуды поля объекта  $|a(x, y)|^2$  представляло собой амплитудное изображение объекта, а  $\arctg[\text{Im } a(x, y) / \text{Re } a(x, y)]$  – его фазовое изображение для выбранной спектральной компоненты. Для более полного устранения спекл-эффекта применяли суммирование изображений по всем спектральным компонентам (рис. 2).

### Результаты и их обсуждение

Таким образом, получаем возможность визуализировать прозрачные объекты без предварительного их окрашивания во всем гиперспектральном диапазоне. Разумеется, описанная здесь технология записи гиперспектральных голографических изображений стала возможной благодаря высоким вычислительным возможностям современных компьютеров и высокой плотности записи современных средств регистрации оптических изображений.

Наконец следует отметить, что был предложен и экспериментально подтвержден метод записи и восстановления гиперспектральных голограмм в некогерентном свете. Это обстоятельство особенно существенно для записи гиперспектральных голограмм не только в видимом диапазоне, но, например, в терагерцовом или рентгеновском диапазонах длин волн.

*Работа поддержана РФФИ (№ 18-07-01403 А).*

### Список литературы:

1. Каленков С.Г., Каленков Г.С., Штанько А.Е. Фурье-спектрометр как система голографического изображения микрообъектов в низкокогерентном свете // Измерительная техника. 2012. № 11. С. 21-25.
2. Kalenkov S.G., Kalenkov G.S., Shtanko A.E. Spectrally-spatial Fourier-holography // Optics Express. 2013. Vol. 21. № 21. PP. 24985-24990.
3. Каленков С.Г., Каленков Г.С., Штанько А.Е. Пространственно-спектральная цифровая голография микрообъектов в низкокогерентном свете // Радиотехника и электроника. 2013. Т. 58. № 12. С. 1-6.
4. Kalenkov S.G., Kalenkov G.S., Shtanko A.E. Hyperspectral holography: An alternative application of the Fourier transform spectrometer // J. Opt. Soc. Am. B. 2017. Vol. 34. № 5. PP. B49-B55.
5. Popescu G., Park Y. Quantitative phase imaging in biomedicine // J. Biomed. 2015. Opt. 20. 111201.

Сергей Геннадьевич Каленков,  
д-р физ.-мат. наук, профессор,  
директор,  
НТЦ «Оптоэлектроника»,  
Московский политехнический университет,  
Георгий Сергеевич Каленков,  
научный сотрудник,  
ООО «Микрохоло»,  
Мария Александровна Карпилова,  
канд. мед. наук, научный сотрудник,  
ФГБНУ «НИИГБ»,  
Александр Евгеньевич Штанько,  
канд. физ.-мат. наук, доцент,  
МГТУ «СТАНКИН»,  
г. Москва,  
e-mail: kalenkov@mail.ru

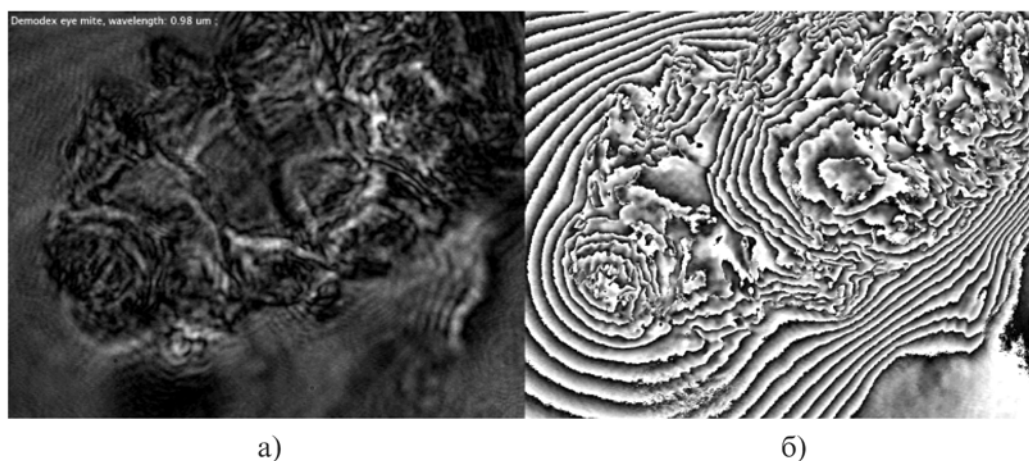


Рис. 2. Амплитудное (а) и фазовое (б) изображения головки клеща демодекс на длине волны 0,98 мкм