

# Digitalización de preparaciones: el primer paso hacia la microscopía virtual

## II Curso de Patología Digital

Ciudad Real, 29-30 de noviembre de 2012



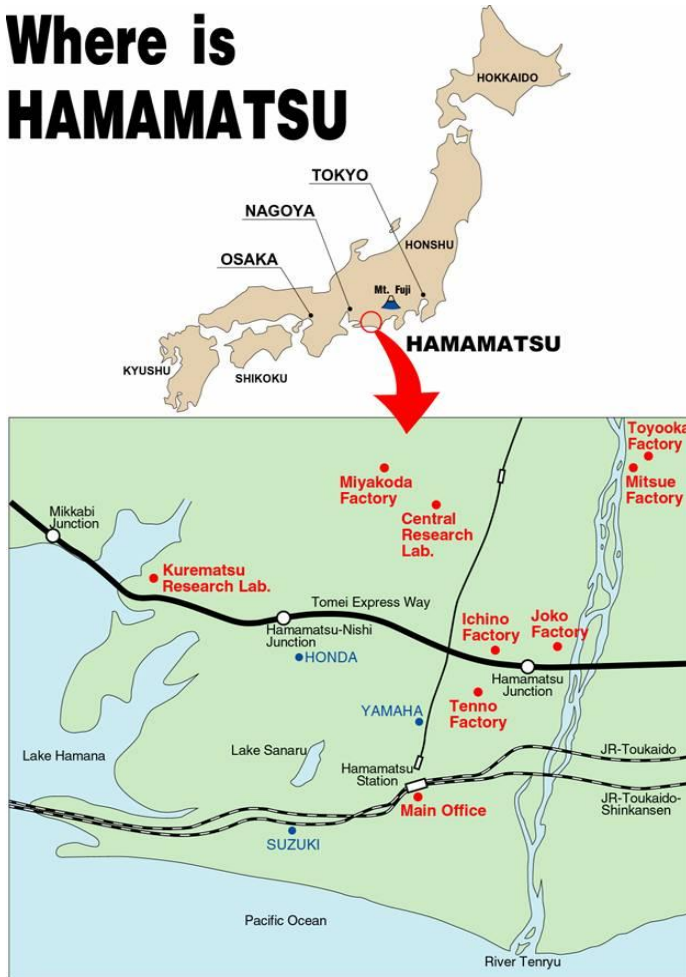
Jaime García Balién

[jgarcia@hamamatsu.es](mailto:jgarcia@hamamatsu.es)

**HAMAMATSU**  
PHOTON IS OUR BUSINESS

# Quién es Hamamatsu?

## Where is HAMAMATSU



- Compañía japonesa
- Fundada: 29 de Septiembre de 1953
- Diseña, fabrica y vende una gran variedad de sistemas opto-electrónicos (emisión/adquisición de luz)
- Tokyo Stock Exchange (1<sup>st</sup> Section, ID number: 6965)
- Capital : 35 Billion YEN
- Número de empleados: > 4000
- 4 principales divisiones de productos
- 1 CRL (central research lab.)
- >10% beneficios en I + D

# Organización

## Sales Office



①HAMAMATSU PHOTONICS DEUTSCHLAND GmbH.  
Main Office / Netherlands Office / Poland Office / Denmark Office  
②HAMAMATSU PHOTONICS FRANCE S.A.R.L.  
Main Office / Swiss Office / Belgium Office / Spanish Office  
③HAMAMATSU PHOTONICS NORDEN AB  
Main Office / Russian Office

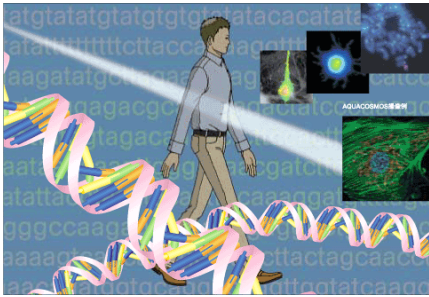
④HAMAMATSU PHOTONICS ITALIA S.R.L.  
Main Office / Rome Office  
⑤HAMAMATSU PHOTONICS UK LIMITED  
Main Office / South Africa Office  
⑥PHOTONICS MANAGEMENT CORP.

⑦UNIVERSAL SPECTRUM CORPORATION  
⑦HAMAMATSU CORPORATION  
Main Office / Western Office  
③BEIJING HAMAMATSU PHOTON TECHNIQUES INC.  
Head Office / Langfang Factory  
⑧HAMAMATSU PHOTONICS K.K.  
Beijing Office / Shanghai Office

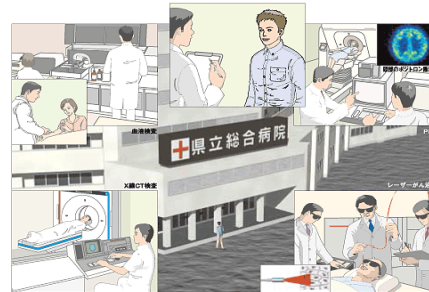
**HAMAMATSU**

PHOTON IS OUR BUSINESS

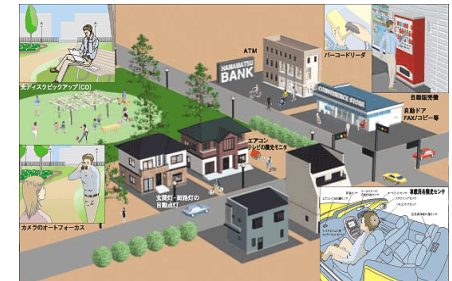
# Mercados & Aplicaciones



Biotecnología

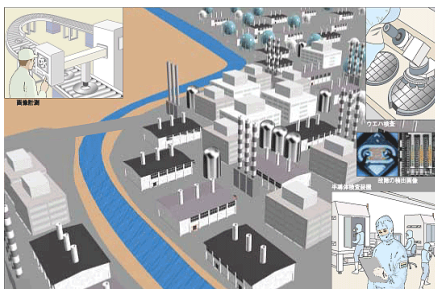


Médica &  
Life-Science

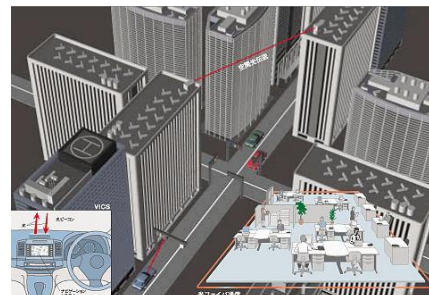


Vida diaria

Industria



IT & Comunicaciones  
Ópticas



Analítica &  
Ambiental



# Tecnologías & Productos



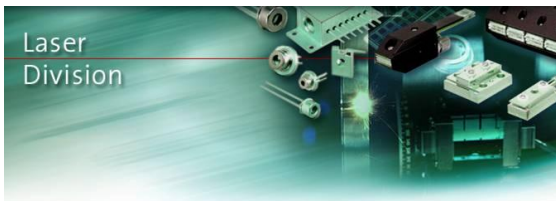
Photomultiplier Tubes, Light Sources, Fiber Optics Plates, Image Sensors, X-ray products, etc.



Photodiodes, Photo ICs, Image Sensors, Infrared Sensors, X-ray Sensors, Solid State Emitters, etc.



Imaging & Measurement Instruments in the diverse fields such as biological/medical/pharmaceutical fields, semiconductor, spectroscopy and industry

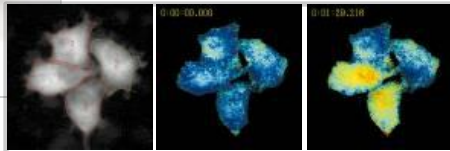


High Power LD, CW LD, etc.

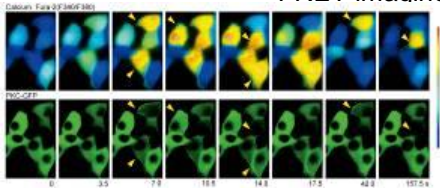
# Tecnologías y productos para *life sciences*



Sistemas de imagen microscópica y macroscópica



FRET imaging of protein interaction



ORCA-Flash2.8



Sistemas de « screening » en placa



Escáner para la digitalización de preparaciones



Cámaras y sensores CCD, EM-CCD, CMOS...

# Antecedentes. La tecnología TDI del Nanozoomer

- **1984** Hamamatsu entra en el campo de la Video-microscopía con el sistema C1966 AVEC
- **1986** Hamamatsu establece y utiliza la **tecnología TDI** para diseñar y fabricar una cámara espacial para observar el cometa Halley
- **1987** Lanzamiento de la primera cámara CCD refrigerada como una “streak camera”
- **1996** Lanzamiento de la primera cámara ORCA, cámara pionera en ser de bajo ruido para aplicaciones de “low light imaging”
- **1997** Hamamatsu entra en el campo de la telepatología con Fairfield Imaging en UK
- **2003** Se completa el prototipo del “High Speed Slide Scanner”
- **2005** Lanzamiento del “NanoZoomer Digital Pathology”
- **2007 NDP: una solución completa**

# Microscopía Virtual

*Proposed by Hamamatsu...*

NanoZoomer  
2.0HT



NanoZoomer  
2.0RS



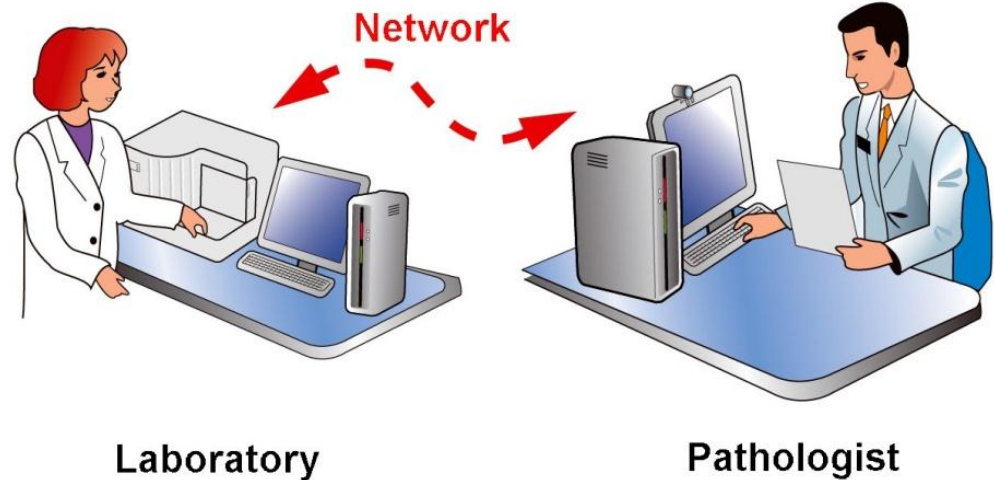


# Microscopía Virtual: Concepto

## ■ Traditional Method



## ■ Digital Pathology



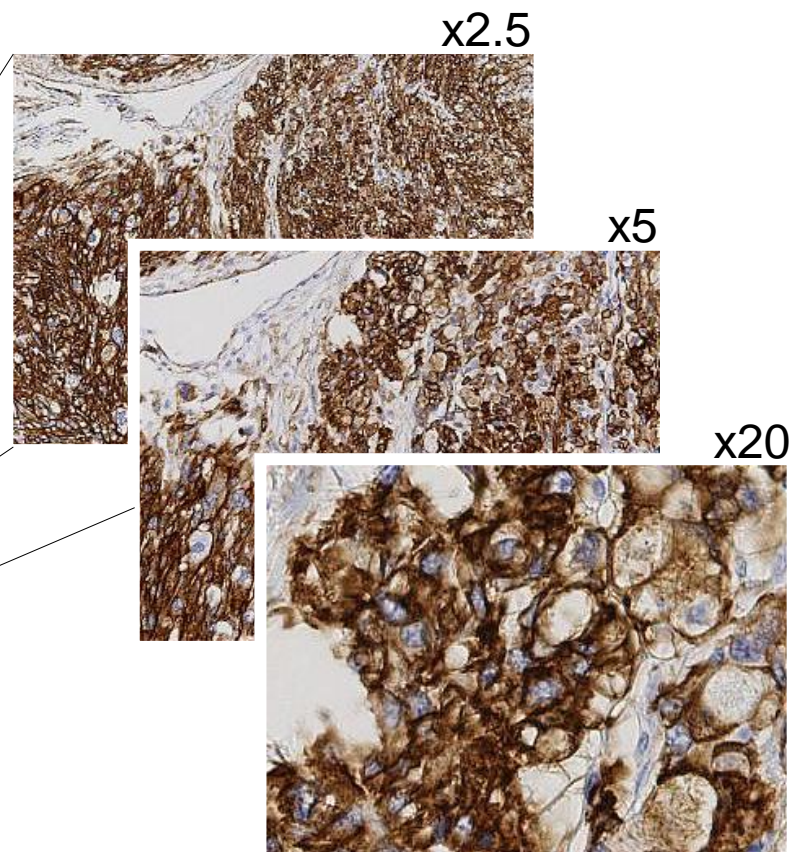
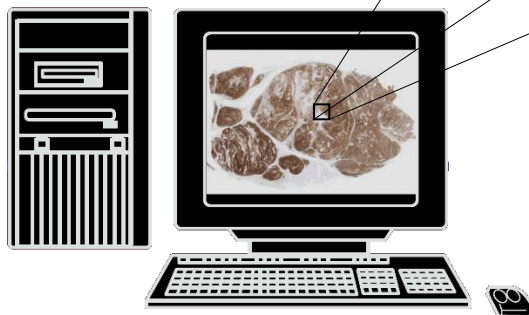
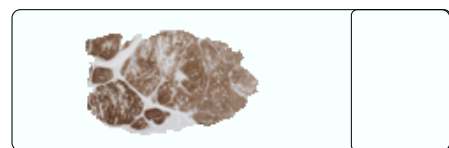
- Alto “throughput” para convertir las laminillas en una imagen digital de súper-alta resolución
- Acceso a las imágenes a través de la red
- Diversas aplicaciones de software e integración

# Interés y ventajas de la Microscopía Virtual

- Obtener una imagen de super-alta resolución en toda la preparación, no solo en una región determinada (WSI)
- Necesidad de manejar la preparación de cristal una sola vez, para su escaneado
- Mayor comodidad a la hora de trabajar (monitor, a distancia, teleconsulta...)
- Evitar el “photobleaching” en preparaciones fluorescentes
- Posibilidad de visualizar varias preparaciones al mismo tiempo
- Anotaciones y herramientas de análisis automatizado por software
- Posibilidad de archivar y organizar las imágenes fácilmente (discos duros, servidores...)

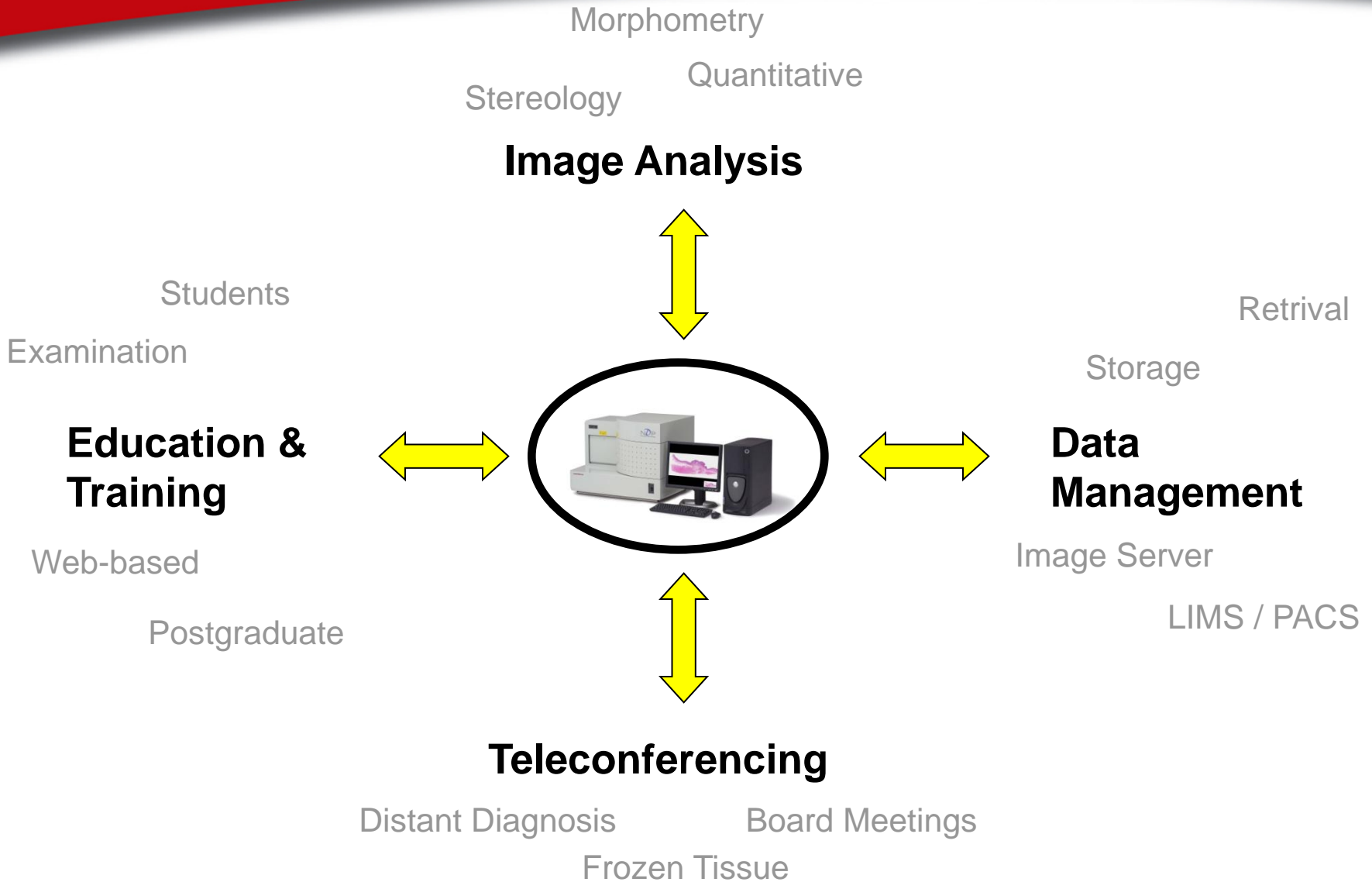
# El objetivo: Whole Slide Imaging

Imagen digital de super-alta resolución almacenada en el PC



Observación de la preparación a cualquier magnificación en cualquier localización

# Aplicaciones



**HAMAMATSU**

PHOTON IS OUR BUSINESS

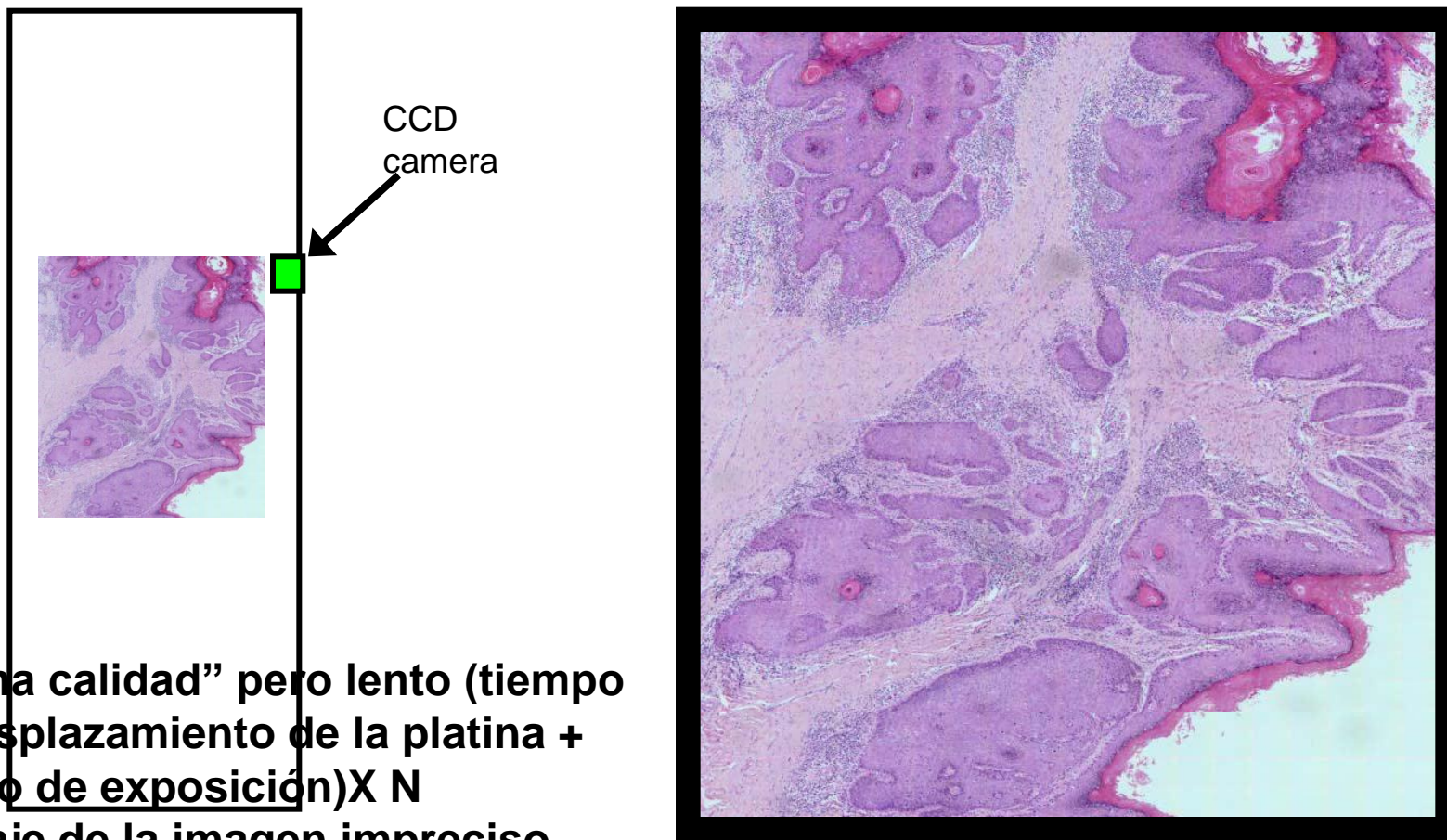
# El proceso de escaneado: Hardware

Consideramos dos maneras diferentes básicas para escanear una preparación:

- **2D scanning** (mediante una cámara digital convencional 2D)
- **Line scanning** (mediante un sensor lineal)

# Método tradicional: cámara CCD 2D

Detector : 2Dimensional CCD cámara  
microscopio + CCD cámara + platina robotizada



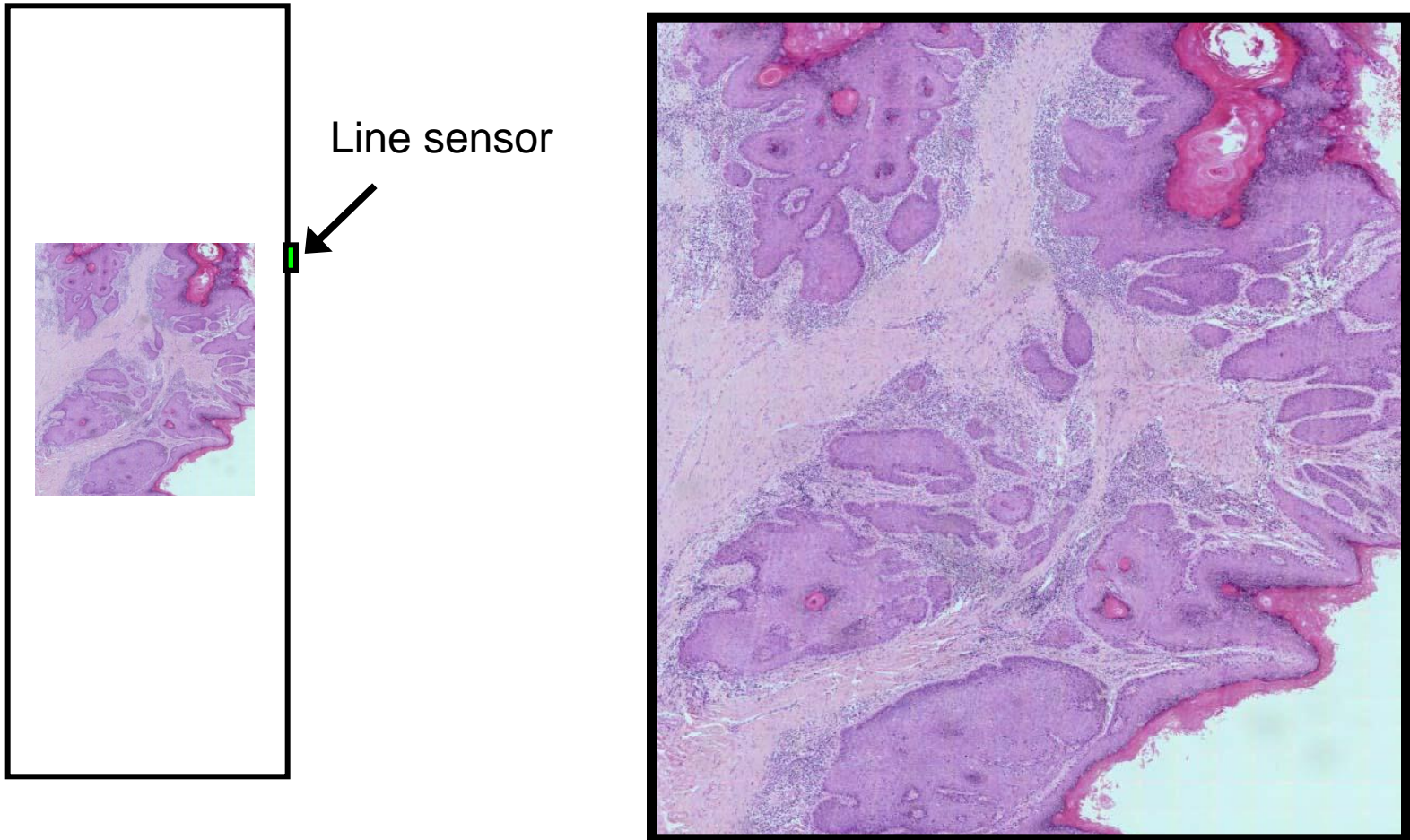
“Buena calidad” pero lento (tiempo de desplazamiento de la platina + tiempo de exposición)X N

Montaje de la imagen impreciso

# Método lineal simple: *Scanner*

Detector: Sensor Lineal

Ópticas especiales + Sensor lineal + platina robotizada



# Ventajas del Método lineal

- **Movimiento lineal de velocidad alta y constante**, no “stop-and-go”.
- Se reduce el “**stitching**” ( montaje de la imagen más preciso)

**PERO:** el rápido movimiento de la platina provoca una reducción en la calidad de imagen.

⇒ Usar un **Sensor TDI** (Time Delay Integration)

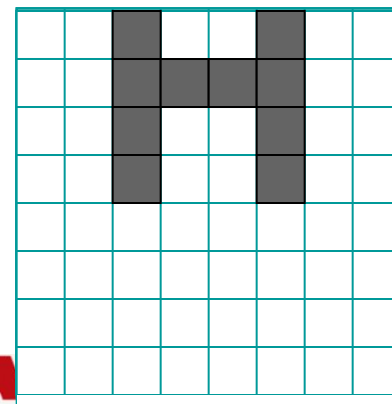
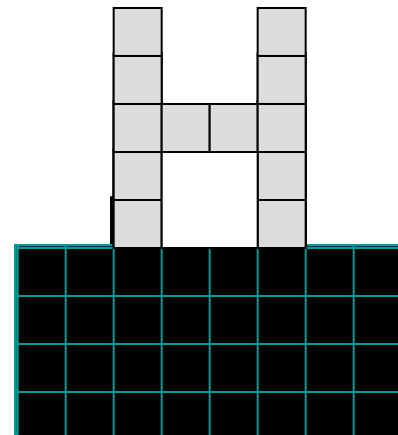
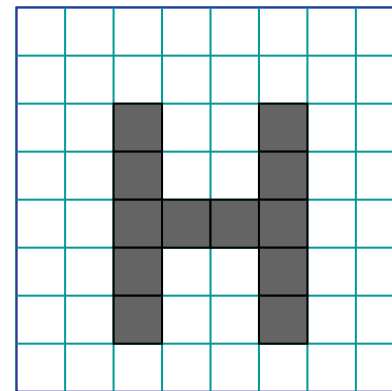
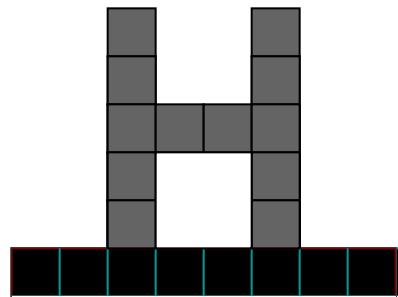


# Sensor Lineal VS Sensor TDI

Sensor & readout signal

Motion of slide

Line sensor



**TDI sensor**  
NanoZoomer: 4096x64

# Diferentes tipos de sensores

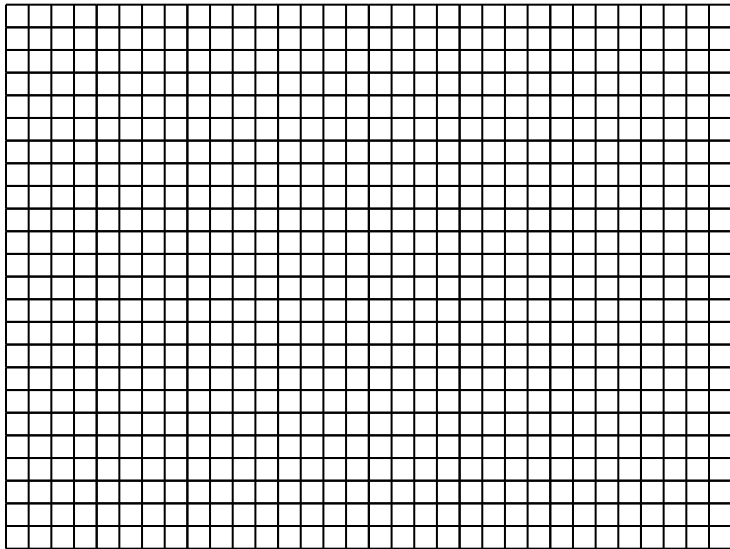
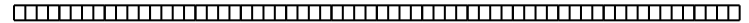
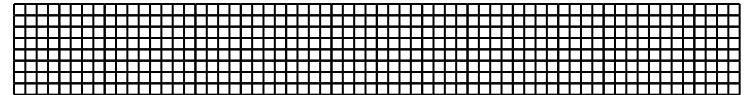


Image sensor (CCD)



Line sensor (CCD)

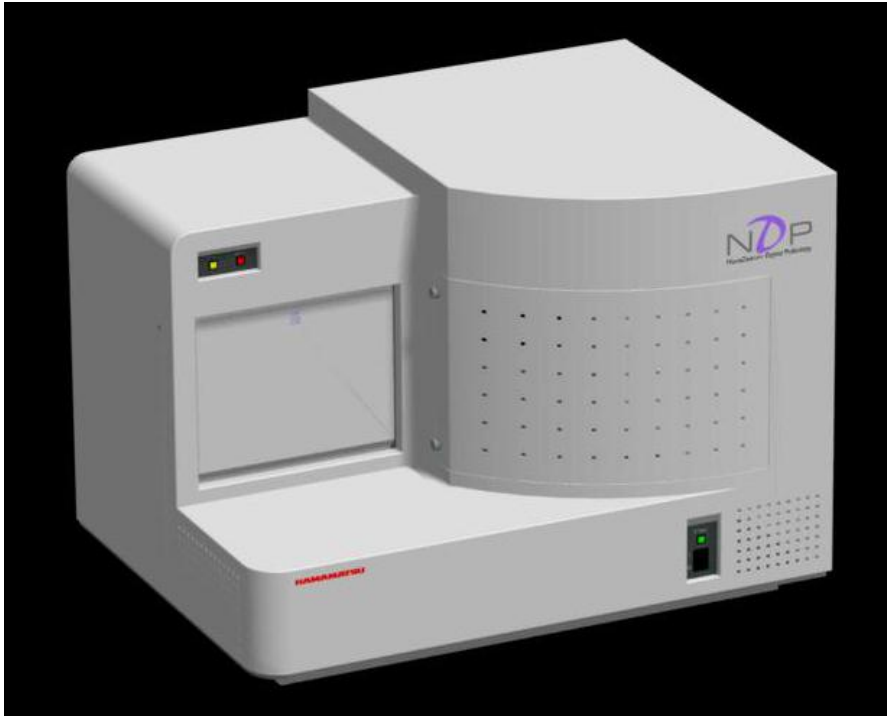


TDI sensor (CCD)

# Ventajas generales del sensor TDI

- Alta Velocidad
- Alta resolución
- Alta calidad de imagen (debido a un amplio rango dinámico y no 2D “stitching”)
- Posibilidad de utilizar el mismo scanner para fluorescencia a alta velocidad
- Mecánica robusta y fiable (no se realizan movimientos tipo “stop & go” ni se utiliza una lámpara flash)

# Estructura general del NanoZoomer HT



**Slide Loader**  
210 slides maximum

**Scanner**  
TDI sensor  
Optical system  
Robotic Stage

**Resolution**  
0.46  $\mu\text{m}/\text{pixel}$  at 20x mode  
0.23  $\mu\text{m}/\text{pixel}$  at 40x mode

**Scan Time**  
Approx. **1** min (60 sec).  
for 15 x 15 mm at 20x mode  
Approx. **2.5** min (150 sec).  
for 15 x 15 mm at 40x mode

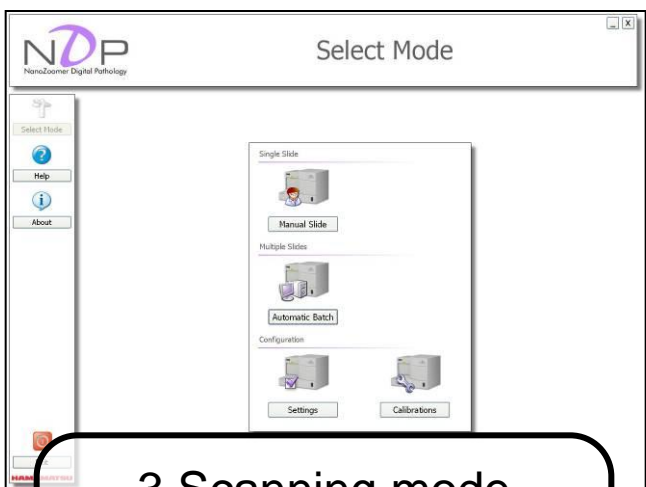
# NanoZoomer HT 2.0



30 slides per cartridge

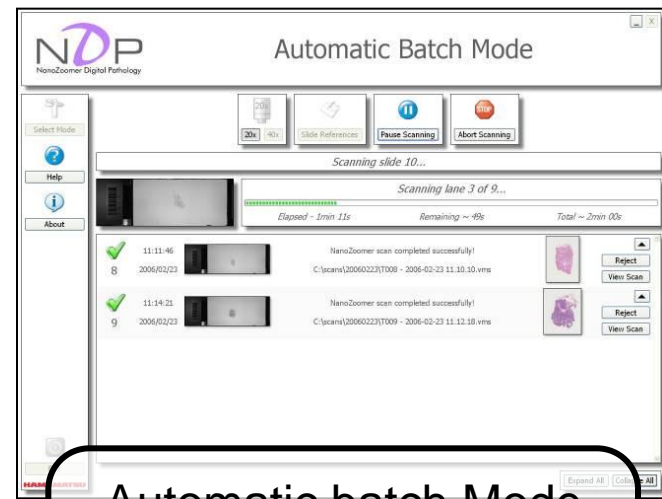


Load Up to 7 cartridges



3 Scanning mode

  
NanoZoomer  
2.0HT

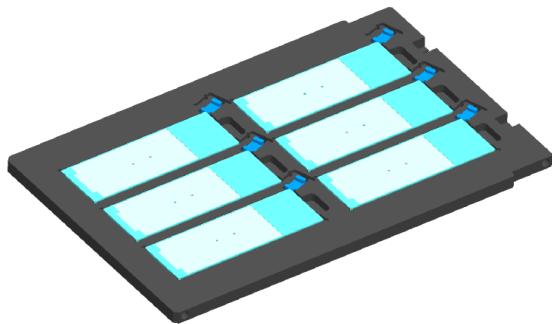


Automatic batch Mode

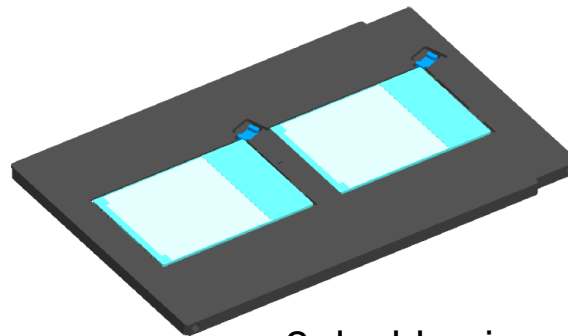
# NanoZoomer RS 2.0



  
NanoZoomer  
2.0RS



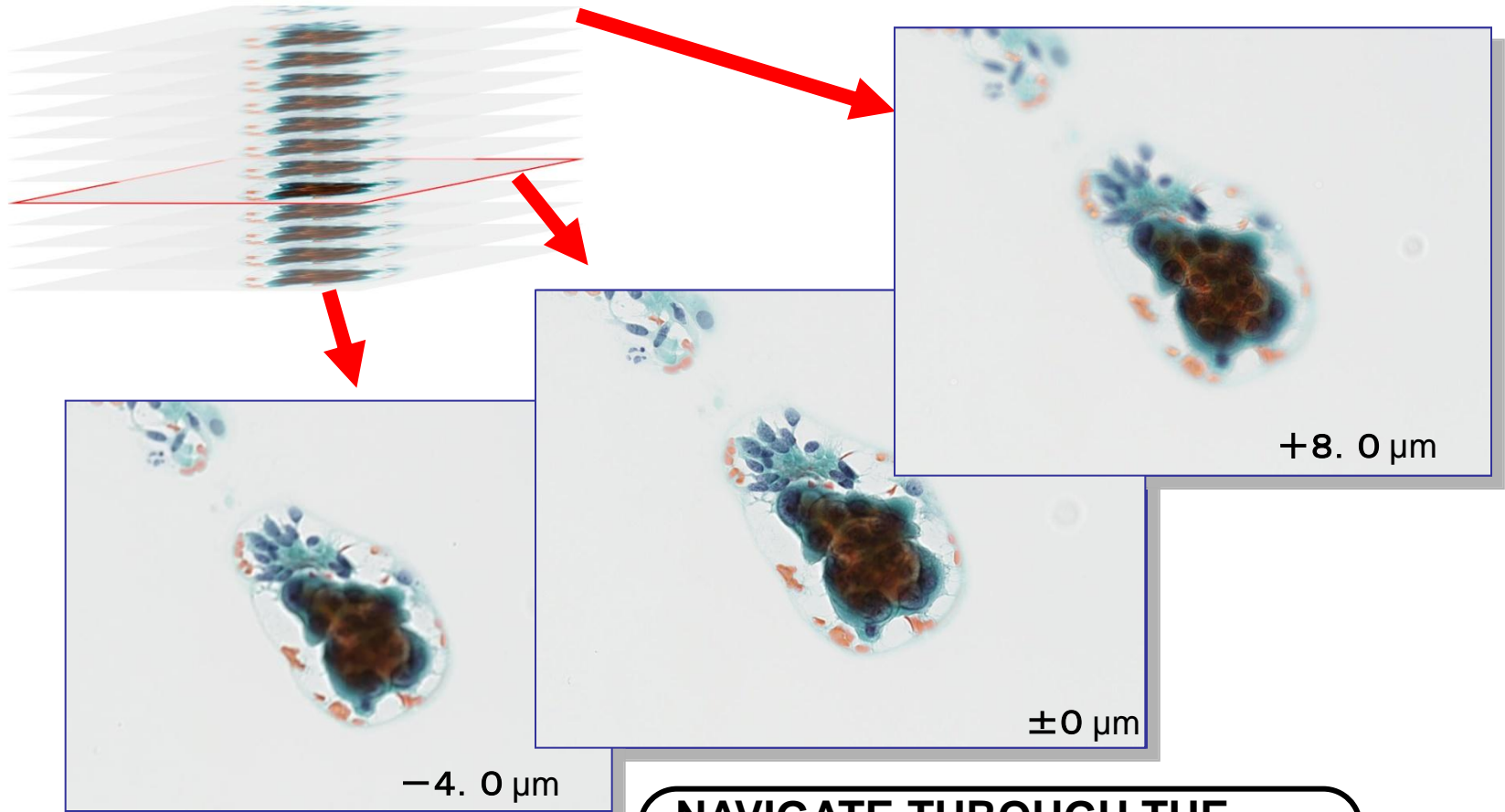
6 standard slides



2 double-size slides

# Z stack scanning

SELECT NUMBER OF PLANES  
AND SPACING FOR SCANNING



NAVIGATE THROUGH THE  
Z STACK WITH NDP VIEWER

# Opción de Fluorescencia



- Puede ser añadida en todos los sistemas NanoZoomer 2.0

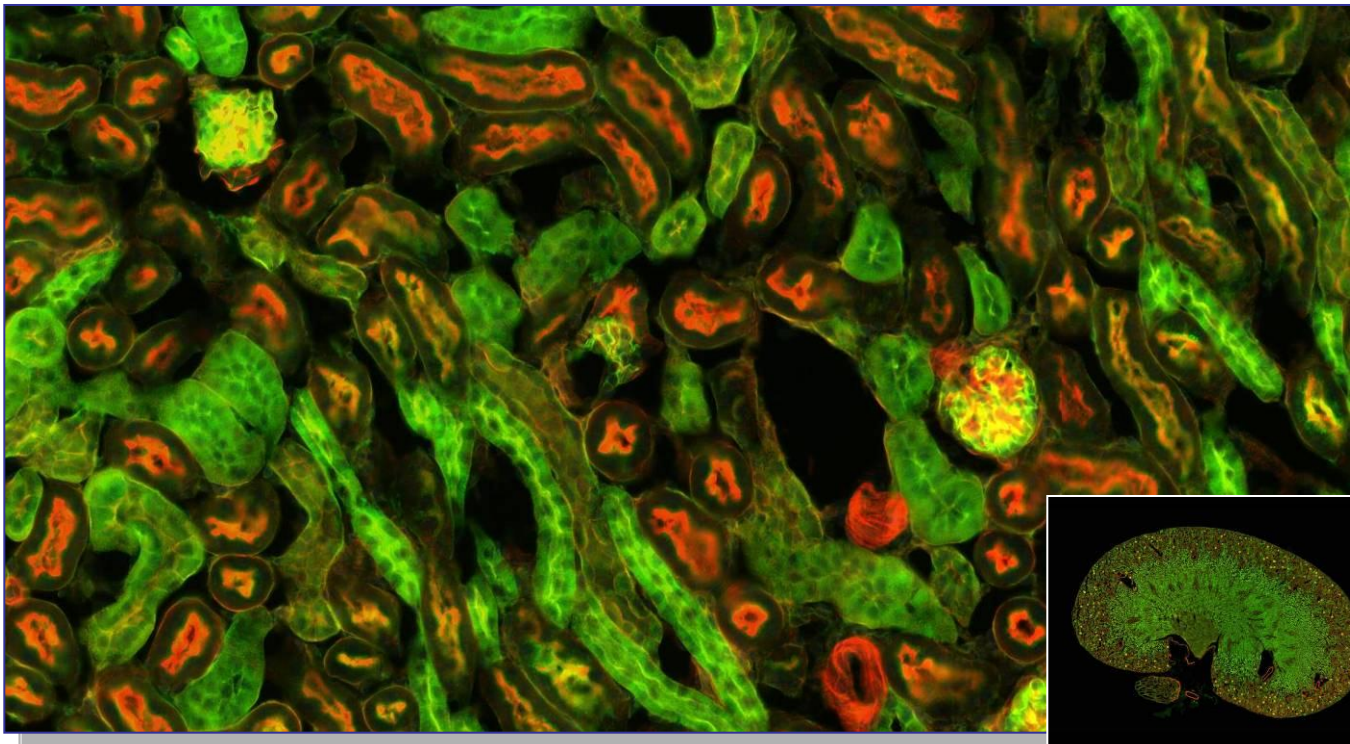
- En cualquier momento...
- Sin necesidad de cambiar el sensor





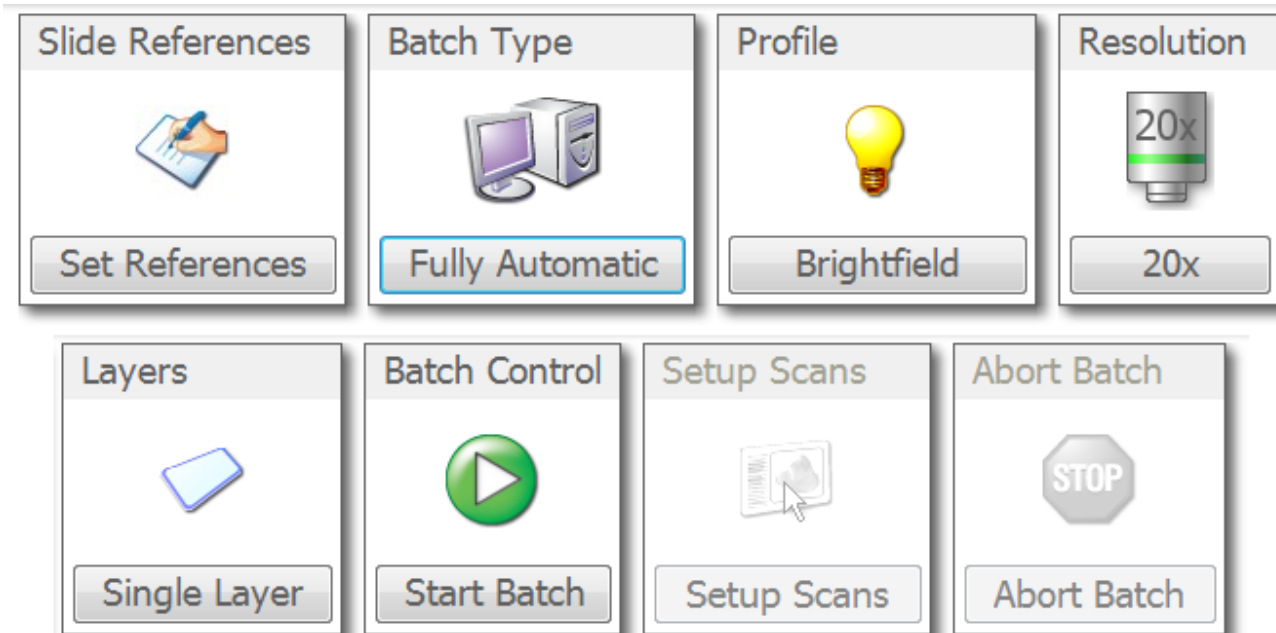
# Opción de Fluorescencia

- Diseño óptico especial → Limita el “photobleaching”
- Cubos dicróicos y ruedas de filtros de exc/em.
- Posible escanear:
  - Hasta 3 colores simultáneamente
  - Hasta 6 colores secuencialmente



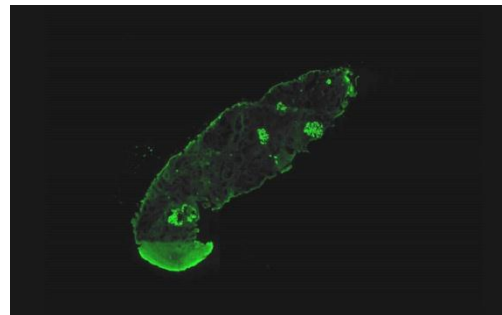
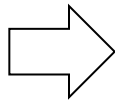
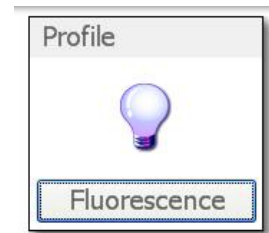
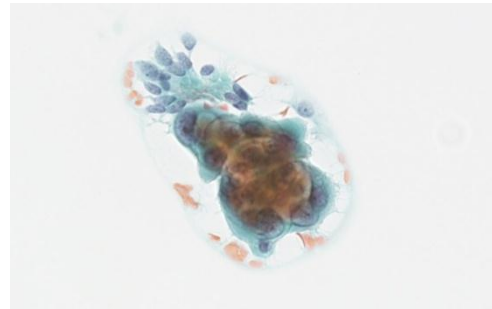
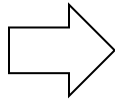
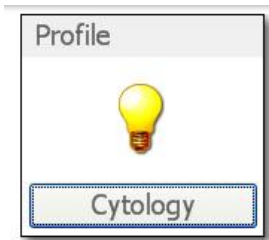
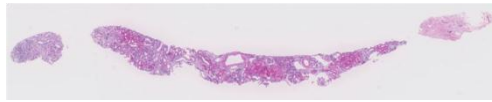
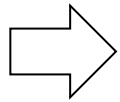
# Fácil de usar

*Software NDP.Scan de control del scanner*



- Iconos sencillos e intuitivos
- 3 Modos de trabajo: Single, Batch y Semi-automático

# Diferentes perfiles para diferentes tipos de muestra o de usuarios



- Diferentes tipos de muestras y preparaciones: HE, Citología, fluorescentes...
- Diferentes parámetros: area, resolución, nombre, destino de la WSI en servidor...

✓ La digitalización perfecta con un solo clic



# Nuevo escáner digital: NanoZoomer XR !!!



Septiembre 2012



– Redefining the art of Whole-slide Imaging –

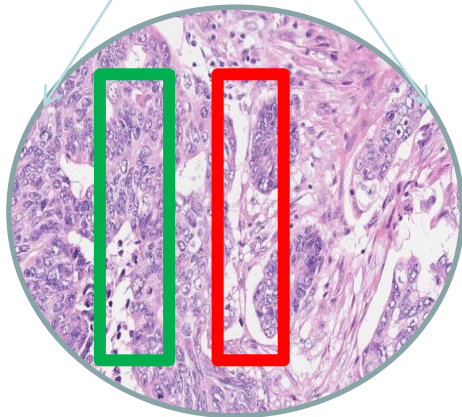
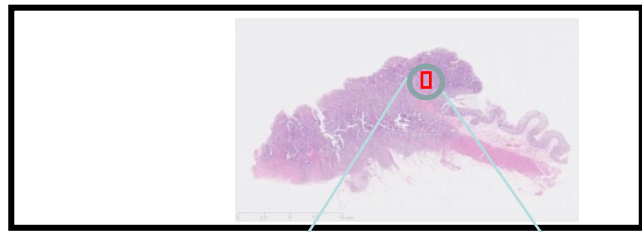
# Nuevo escáner digital: NanoZoomer XR !!!




- Mayor automatización
- Más rápido
- Mayor capacidad de carga

# 1) Automatización

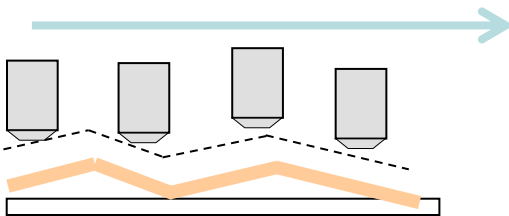
- Un solo clic permite obtener una imagen digital de alta calidad en toda la preparación



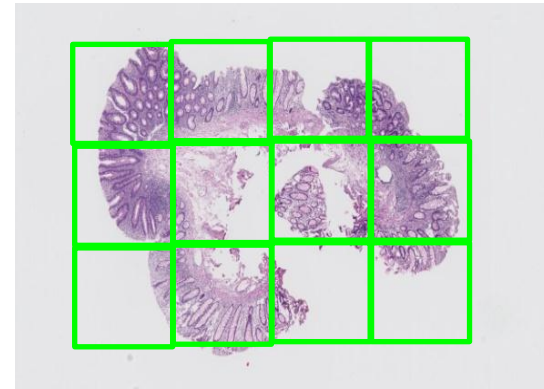
 Pre-Focused area

 Imaging area (TDI Sensor)

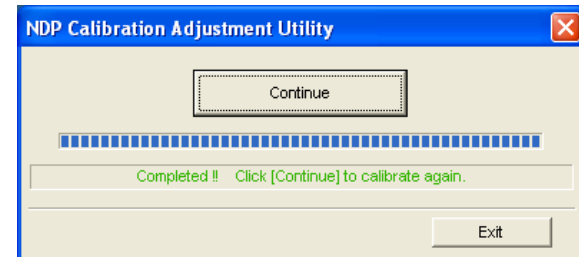
Scan direction



- Evaluación automática de la preparación escaneada

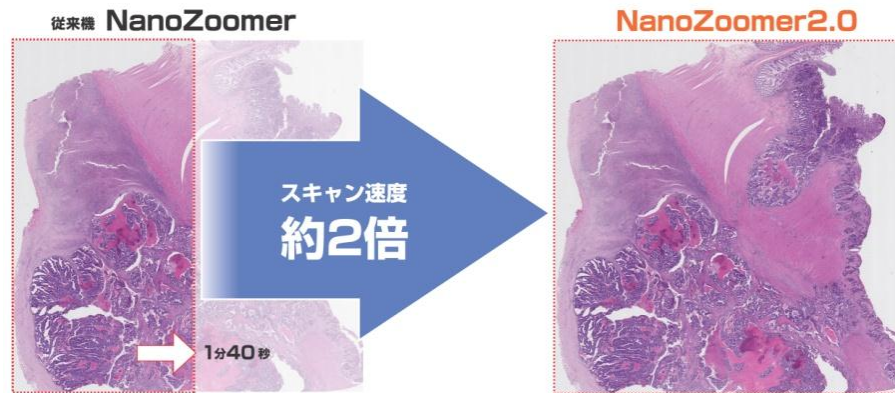


- Autocalibración



## 2) Velocidad

- El Nanozoomer XR dobla la velocidad de escaneado de sus predecesores HT y RS



30 segundos en 20X mode (1.1Bpixel)  
35 segundos en 40X mode (4.3 Bpixel)

\*Aprox. 15mm X15mm de area escaneada

### 3) Capacidad de carga

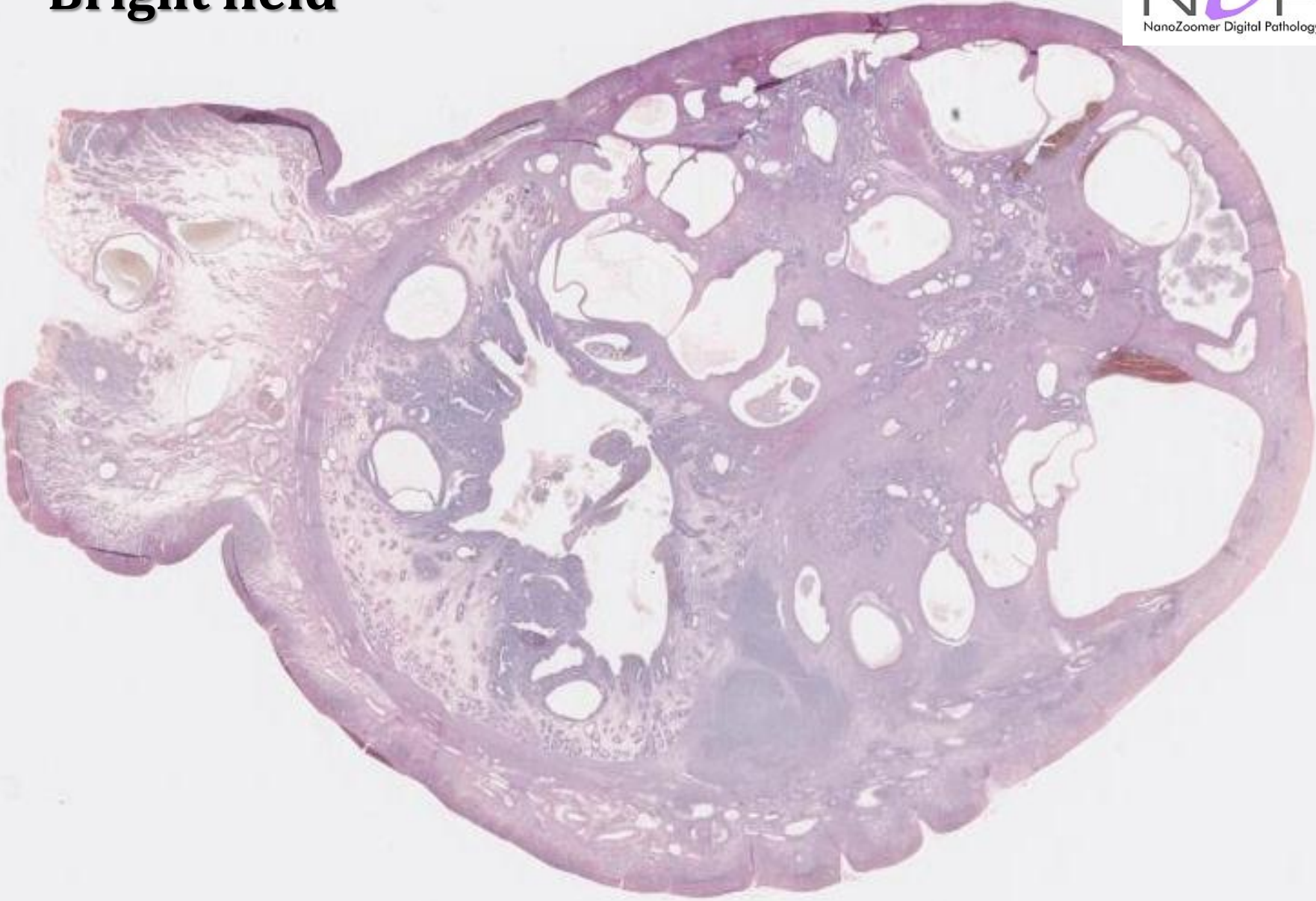
- El Nanozoomer XR puede escanear hasta **320** preparaciones de manera totalmente automática
- Muy alto “throughput”



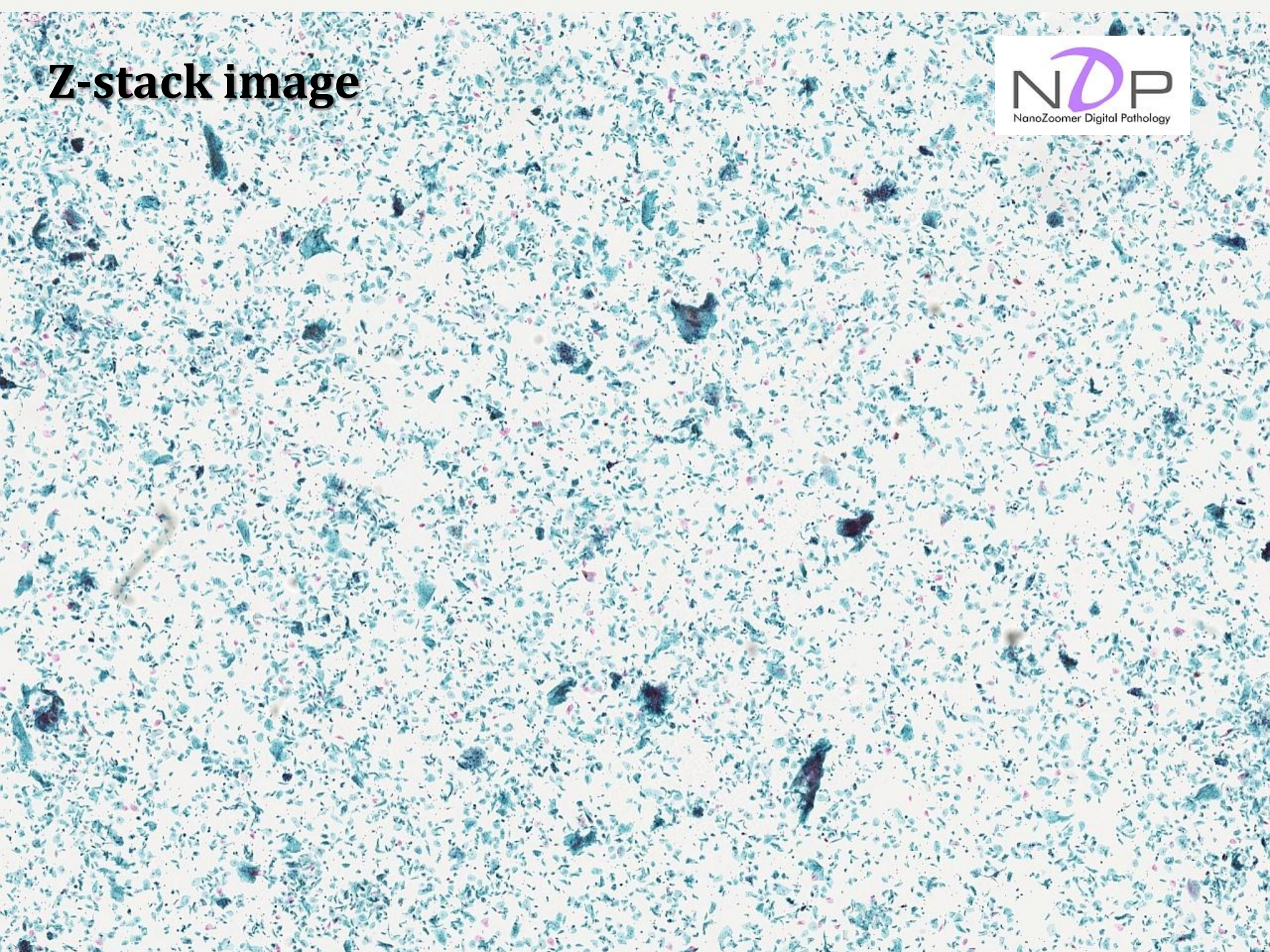
40 slides por cassette  
8 cassettes



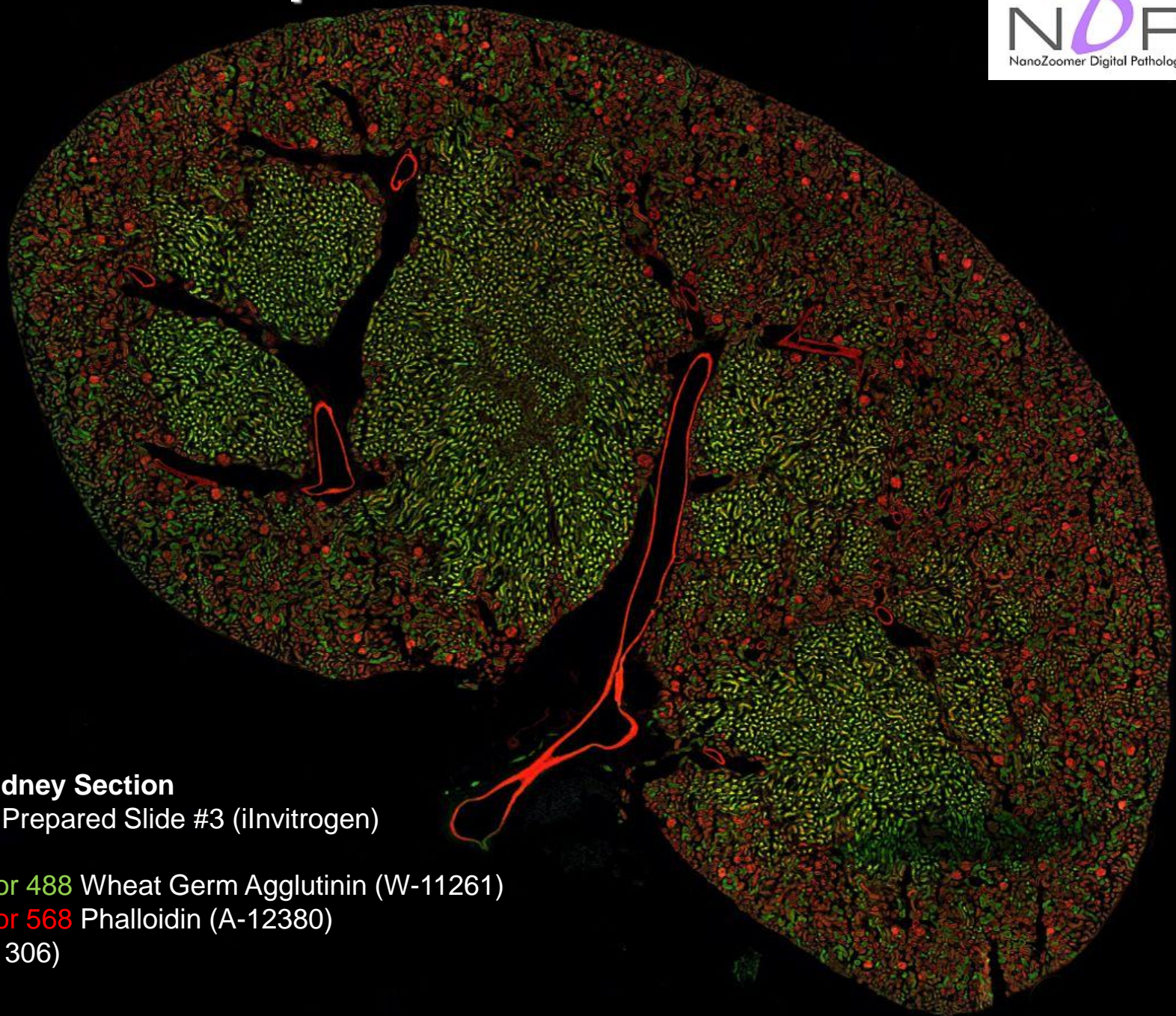
**Bright field**



**Z-stack image**



# Fluorescence option



## Mouse Kidney Section

FluoCells Prepared Slide #3 (Invitrogen)

Alexa Fluor 488 Wheat Germ Agglutinin (W-11261)

Alexa Fluor 568 Phalloidin (A-12380)

DAPI (D-1306)

# Ventajas generales del Nanozoomer

- Alta velocidad y excelente calidad de imagen (tecnología TDI)
- Excelente funcionalidad mecánica. Requiere poco mantenimiento
- Permite el escaneado de manera totalmente automática en los tres modelos de 6 (RS), 210 (HT) y 320 (XR) preparaciones
- Fácil de usar
- Integración con diferentes entornos de trabajo (LIMS y otros softwares)
- Soporte técnico local
- Lector de código de barras standard en 1D y 2D
- Multi-Z-layers scanning (permite un “enfoque virtual”)
- Opción de fluorescencia disponible

# Gracias por su atención!

Hamamatsu Photonics Web Site

[www.hamamatsu.com](http://www.hamamatsu.com)

NanoZoomer Information

[www.nanozoomer.com](http://www.nanozoomer.com)

NanoZoomer Demo Site

[www.nanozoomer.jp](http://www.nanozoomer.jp)