

一种高性能金标条阅读仪的研制

陈贝特^{1,2} 黄立华¹ 郭凯¹ 黄惠杰¹

(¹ 中国科学院上海光学精密机械研究所信息光学与光电技术实验室, 上海 201800)
² 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 为使金标免疫层析技术能对目标被检物进行高灵敏度快速定量检测, 研制了一种基于 CMOS 图像传感器的金标条阅读仪。根据纳米金颗粒对绿光的强烈吸收特性, 使用绿光 LED 为照明光源; 依据空白金标试纸条图像的灰度分布调节 LED 光强和位置, 使成像区域的照明均匀性达到最佳; 依据自定义评价参数调节 CMOS 图像传感器的成像控制参数, 使图像质量达到最佳; 使用空白金标试纸条图像数据做背景校正, 再通过特定算法计算出样品中目标被检物的浓度。使用该金标条阅读仪对滴加有心肌肌钙蛋白 I(cTnI) 标准样品的金标试纸条进行检测, 在质量浓度为 0.25~64 ng/mL 范围内具有良好的 4-PL 响应特性, 相关系数 $R^2 > 0.99$; 使用该金标条阅读仪对上述浓度范围的金标试纸条各进行 20 次重复测量, 其中, 对高浓度金标试纸条 (64 ng/mL) 测量结果的变异系数为 0.134%, 对低浓度金标试纸条 (0.25 ng/mL) 测量结果的变异系数为 2.790%; 功能灵敏度优于 0.25 ng/mL。该金标条阅读仪具有重复性好、灵敏、快速、低功耗、小型化等特点。

关键词 医用光学; 光电检测; 光学生物传感器; 免疫层析检测; 纳米金颗粒; 图像传感器; 心肌肌钙蛋白 I
中图分类号 TP216.3; TP212.3 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201340.0704001

Development of a High Performance Reader for Colloidal Gold Lateral Flow Strip

Chen Beite^{1,2} Huang Lihua¹ Guo Kai¹ Huang Huijie¹

(¹ *Laboratory of Information Optics and Opto-Electronic Technology, Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China*
² *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract A colloidal gold lateral flow (LF) strip reader based on CMOS image sensor, characterized by ultrasensitive and high repeatable, is developed. As gold nano-particles absorb green light strongly, green LEDs are used as the light source in the reader. In order to get the best illumination uniformity, gray value distribution of blank strip image is used to adjust the location and intensity of LEDs. CMOS control parameters are specified to get the most suitable image quality for image analyzing by self-defining parameters. Blank strip is used to calibrate the background signal. The quantitative result is derived from the ratio of integral reflection optical density of T line signal to C line signal. LF strips of cardiac troponin I (cTnI) with standard mass concentration gradients from 0.25 ng/ml to 64 ng/mL are detected. The 4-PL quantitative model is used to fitting standard working curve, whose correlation of coefficient (R^2) is more than 0.99. The coefficient of variation (CV) of 20 times repetitive experiments of 0.25 ng/mL is 2.790%, and 64 ng/mL is 0.134%. The functional sensitivity (FS) is better than 0.25 ng/mL. The reader is sensitive, stable, simple, and suitable for field detection.

Key words medical optics; photoelectrical detection; optical biosensor; immunochromatography; gold nano-particles; image sensor; cardiac troponin I

OCIS codes 170.0110; 170.1610; 170.2945; 330.1730

收稿日期: 2013-01-24; 收到修改稿日期: 2013-03-07

作者简介: 陈贝特(1988—), 男, 硕士研究生, 主要从事光电检测技术方面的研究。E-mail: zjgydcxibt@sina.com

导师简介: 黄立华(1977—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事光学生物传感器、光刻机照明控制技术等方面的研究。

E-mail: hllh@siom.ac.cn(通信联系人)

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 www.opticsjournal.net

1 引言

金标免疫层析技术(GICA)是一种以胶体金为标记物的固相标记免疫层析检测技术。因其特异性强、灵敏度高、简便快速,已广泛应用于人类医学、农牧业、食品安全及环境监测等领域^[1-3]。近年来,国内外相继开展了定量金标免疫层析技术的研究,且研制出相关的金标定量检测仪器,其检测方式主要有两种:扫描测量和成像测量。扫描测量采用机械传动装置带动金标试纸条进行测量,采用接收光路收集金标试纸条反射光,使用光电二极管探测金标试纸条反射光信号。成像测量主要利用 CMOS、CCD 图像传感器采集金标试纸条图像并进行图像分析。国内外基于扫描测量的研究包括:德国 ESE GmbH 公司研制的 ESE-Quant Lateral Flow Reader^[4];Kim 等^[5]报道的采用光电二极管作为光电探测器研制出胶体金试纸条读数仪;Li 等^[6]也采用光电二极管研制金标条检测仪器;姜海燕等^[7]研制的金标检测仪器采用反射型光纤传感器进行试纸反应信号捕捉,黄立华等^[8]利用光电二极管成功研制金标条光度计。基于成像测量的研究包括:汪曛等^[8]研发的基于 CCD 图像传感器的检测仪器、日本 Otsuka Electronics 公司的 DiaScan 30-D^[9]以及德国 Roche Diagnostics 公司的 Cardiac Reader^[10]等。

对于采用扫描测量方式的金标试纸条检测仪器,由于其在扫描运动过程中对金标试纸条进行测量,测量时间相对较长,而且运动过程中存在的振动等干扰因素会影响测量结果的重复性。此外,仪器中的扫描机构也会增加仪器结构的复杂度和出故障的几率。成像测量采用图像传感器对待测金标试纸条进行成像,采用图像处理方法对金标试纸条进行定量分析。利用图像处理技术提取待测金标试纸条被检物信息,能够提高测量结果的稳定性,并且具有速度快、无复杂机械结构等优点;但金标试纸条的图

像质量会直接影响到仪器的检测性能,如金标试纸条上的照明均匀性和图像传感器的成像控制参数都会对图像质量产生很大的影响,进而对金标试纸条的测量结果有较大的影响,但已报道的成像测量仪器鲜有对金标试纸条上光照均匀性和图像传感器成像控制参数进行调整、分析及评价的报道。

本文分别以提高金标试纸条上照明均匀性、优化图像传感器成像质量等方面为切入点,采用低功率 LED、小型图像传感器及微处理器,从光、机、电三方面进行设计,最终自主研发出了一种基于成像测量方式的高灵敏度、快速、便携和低成本的金标条阅读仪。

2 金标条阅读仪的设计

2.1 金标条阅读仪原理与结构

2.1.1 检测原理

图 1 为金标试纸条的结构图。金标试纸条定量检测的原理如下:将含有待测物 A 的样品滴入样品垫,待测物 A 通过渗透与虹吸作用进入结合垫,使其中纳米金颗粒-生物活性分子 B 结合物溶解游离并与固定其中的纳米金颗粒-B 结合物相结合形成纳米金颗粒-A-B 复合物。在吸水垫的虹吸作用下,纳米金颗粒-A-B 复合物和游离的纳米金颗粒-B 结合物离开结合垫进入硝酸纤维素膜。当流过检测带(T 带)时,纳米金颗粒-A-B 复合物与 T 带上的病原体抗原(特异性抗体)D 发生免疫结合反应,游离的纳米金颗粒-B 结合物继续流动,并与质控带(C 带)上的特异性抗体 E 相结合。待免疫层析反应结束后,T 带和 C 带上由于都富集了纳米金颗粒从而均能产生指示性信号,且 T 带上的指示性信号与富集在其上的待测物的浓度有关。纳米金颗粒浓度越低,颜色就越浅。因此,基于上述原理,只要测得 T 带颜色深浅即可以判断目标被检物的浓度^[11-15]。

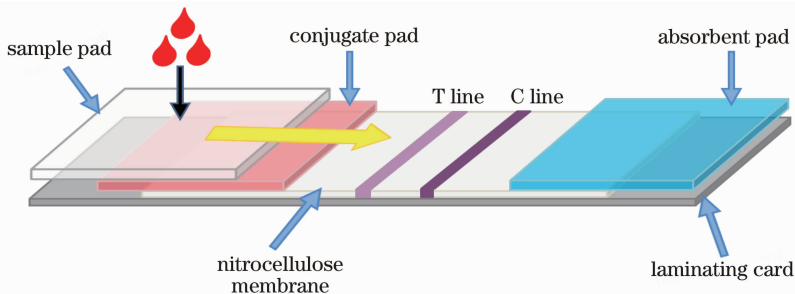


图 1 金标试纸条结构

Fig. 1 Schematic illustration of colloidal gold lateral flow strip

2.1.2 金标条阅读仪结构

金标条阅读仪包括三个部分：光学模块、控制模块和算法模块，如图 2 所示。图 2(a)为实物图，尺寸为长 250 mm，宽 190 mm，高 110 mm。光学模块由 LED 组、匀光板和成像镜头、图像传感器组成。LED 组分布在图像传感器的两边，其出射光经过匀光板均匀化后可在金标试纸条上产生强度均匀的照明场；图像传感器通过其前面的成像镜头获取金标

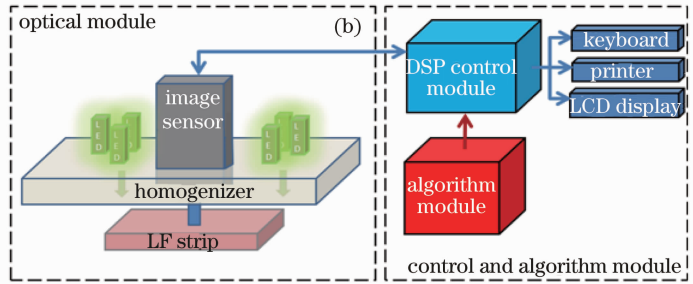


图 2 (a) 金标试纸条阅读仪实物图；(b) 金标试纸条阅读仪结构图

Fig. 2 (a) Photograph of the colloidal gold LF strip reader; (b) schematic diagram of the colloidal gold LF strip reader

2.2 光学模块设计

2.2.1 光源的选择

纳米金颗粒的共振吸收峰随着纳米金颗粒的粒径的增大而红移，并且纳米金颗粒质量浓度超过临界浓度时，其共振吸收峰不会产生猝灭。在纳米金颗粒粒径为 50 nm 时，其共振吸收峰为 525 nm^[16-18]。实际使用的纳米金颗粒粒径为 50 nm，并且实际使用的胶体金溶液的透射率最小值也在 525 nm 处^[3]。

所以，选择中心波长为 525 nm 的绿光 LED 作为金标条阅读仪的光源以提高检测灵敏度。

2.2.2 照明均匀性的设计

金标试纸条上的照明均匀性直接影响到金标条阅读仪对其定量结果的判读。良好的照明均匀性能够提升金标条阅读仪的测量准确性。

本设计主要从四个方面来提高金标条阅读仪的照明均匀性：1) 选择大发散角(150°)的多个 LED 作为金标条阅读仪的光源，以使得多个 LED 发出的光相互重叠来弥补单个 LED 照明的不均匀性；2) 结合图 1~3 可知，由于金标试纸条是长条形，所以 LED 阵列在排布上采用 6 个 LED 对称式分布。将 6 个 LED 平均分成两组，使两组 LED 关于图像传感器对称，并排布在金标试纸条短边位置。靠近图像传感器的两组 LED(1 组和 2 组)与金标试纸条短边平行，主要用于对目标区整体进行照明，3 号 LED 和 4 号 LED 主要用于提高待测金标试纸条两端的

试纸条的图像，而且，可通过调节图像传感器的关键成像参数来获得最佳的金标试纸条图像并得到高检测灵敏度；控制模块从图像传感器获取金标试纸条目标区域的图像；算法模块首先对图像进行照明均匀性校正，然后通过自动定带算法获取检测图像的 T 带和 C 带区域，并利用两个图像评价参数对所获图像进行评价，最终得到检测结果。

亮度。考虑到光照的叠加效应，故分别将 3 号 LED 和 4 号 LED 沿着 1 组和 2 组 LED 中心线排布于外侧(远离图像传感器的方向)；3) 协同调节 6 个 LED 的光照强度，避免光强过大造成图像传感器的饱和；4) 在 LED 前增加匀光板，弥补 LED 组照明的不均匀性，进一步提升金标试纸条上测量区域的光照均匀性。

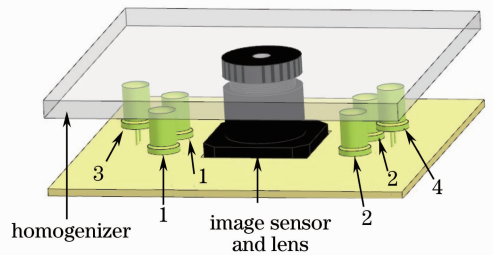


图 3 光学模块示意图

Fig. 3 Schematic of optical module

在实际调节照明均匀性时，使用金标条阅读仪对空白金标试纸条进行检测以获得其灰度分布(如图 4 所示，其中 X 方向为长边方向，Y 方向为短边方向)。并使用空白金标试纸条图像的灰度分布图，对照明均匀性进行评判，并以此为依据来调节 LED 的光强和位置，使空白金标试纸条尽可能地获得均匀的照明场。图像照明场的均匀性量化判定可表示为

$$Q_1 = \frac{1}{\bar{x}} \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (k_i - 1)^2}{N}}, \quad (1)$$

式中 \bar{x} 表示图像灰度的平均值, x_i 表示图像单像素的灰度值, N 表示图像的总像素数, $k_i = x_i/\bar{x}$ 。

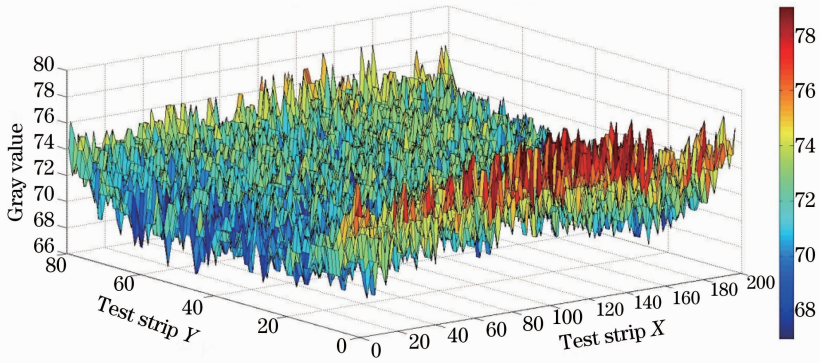


图 4 空白试纸条三维数据图($Q_1=6.468 \times 10^{-4}$)

Fig. 4 Gray value distribution of blank colloidal gold LF strip ($Q_1=6.468 \times 10^{-4}$)

2.2.3 成像镜头和图像传感器的选择

如前所述,为了提高检测灵敏度,金标条阅读仪中采用绿光 LED 照明作为光源。同时,选择对绿光最为敏感的图像传感器作为成像器件。

本设计采用 OV6630 CMOS 图像传感器(简称 OV6630)作为金标条阅读仪的图像采集器件,其内置一个 $352 \text{ pixel} \times 288 \text{ pixel}$ 的图像阵列,单像素大小为 $9 \mu\text{m} \times 8.2 \mu\text{m}$ 。而且,此图像传感器能够对影响成像质量的重要参数进行设置,如能够对曝光时间、伽马、增益、白平衡、窗口大小等参数进行设置,通过对这些参数的设计,可进一步提高检测灵敏度。所选成像镜头的焦距为 3.7 mm ,视场为 $43.7^\circ \times 25.8^\circ$,得到传感器单像素分辨率对应金标试纸条上近似 $60 \mu\text{m} \times 55 \mu\text{m}$ 面积的区域。图 5 为 OV6630 的光谱响应^[19],从光谱响应曲线看到,OV6630 对于绿光波段 525 nm 附近的光有最高的响应率。所以主波长为 525 nm 的绿光 LED 与 OV6630 配合使用,有助于使金标条阅读仪获得高的检测灵敏度。

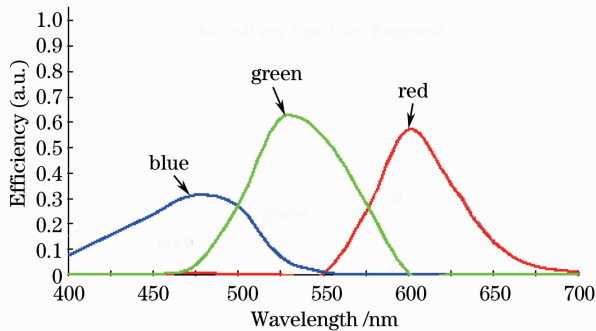


图 5 OV6630 CMOS 图像传感器的光谱响应曲线

Fig. 5 Monochrome response of OV6630 CMOS image sensor

2.2.4 图像传感器控制参数的设置

当待测物浓度较低时,T 带的颜色很淡,甚至于

难以用肉眼辨识。在确定均匀的照明环境之后,对 OV6630 各个成像控制参数进行调节,以使图像质量最佳,提升图像传感器对检测带的敏感性。OV6630 可用于调节的参数主要包括:手动增益、对比度、锐度、亮度、曝光时间、蓝增益、红增益、白平衡和伽马校正。

2.3 控制模块设计

CMOS 图像传感器的图像数据传输速率要求高,数据量大,对处理器的处理速度和处理能力有较高要求。此处,采用数字信号处理器(DSP)完成金标条阅读仪的控制模块和数据处理模块,具有读取速度快、稳定性好、外围电路简单、成本低和易实现嵌入式应用等优点。以型号为 TMS320C6747 的 DSP 芯片作为金标条阅读仪的控制核心,将 TMS320C6747 的增强型直接存储器访问(EDMA)数据传输模块和 ping-pong 双缓冲技术联合运用,使得 DSP 在进行高速图像采集的同时还能进行图像处理,极大地提高了金标条阅读仪的检测速度。同时,TMS320C6747 具有丰富的功能模块和极低的功耗,非常适合便携式医疗设备的开发^[20]。

2.4 算法设计

2.4.1 数据均匀性校正

尽管在光学模块设计时已经考虑了金标试纸条上的照明均匀性,但实际上照射到金标试纸条上的光强不会完全均匀,如图 4 所示。可以看出,由于金标试纸条上的照明均匀性仍有微小差别,所以空白金标试纸条图像的灰度值在小范围内仍有变化,且图像边缘灰度值较高,影响定量测量。为了彻底消除金标试纸条照明不均匀性对测量结果的影响,可使实测金标试纸条图像数据与空白金标试纸条图像数据做商,得到相对图像灰度值。图 6(a)为质量浓度为 8 ng/mL

金标试纸条的三维原始数据曲线, $Q_1=6.153 \times 10^{-4}$ 。图 6(b)为经过均匀性校正的质量浓度为 8 ng/mL 金标试纸条的三维数据曲线, $Q_1=2.250 \times 10^{-9}$ 。可看出, 相对灰度图像的均匀性得到 10^5 数量级的提升,

并且在两个凹形区之外的图像显著平缓, 图像边缘偏高的灰度值也得以校正。所以, 本处理方法可以进一步消除金标试纸条上照明不均匀性对测量结果带来的误差, 提高测量的准确性和灵敏度。

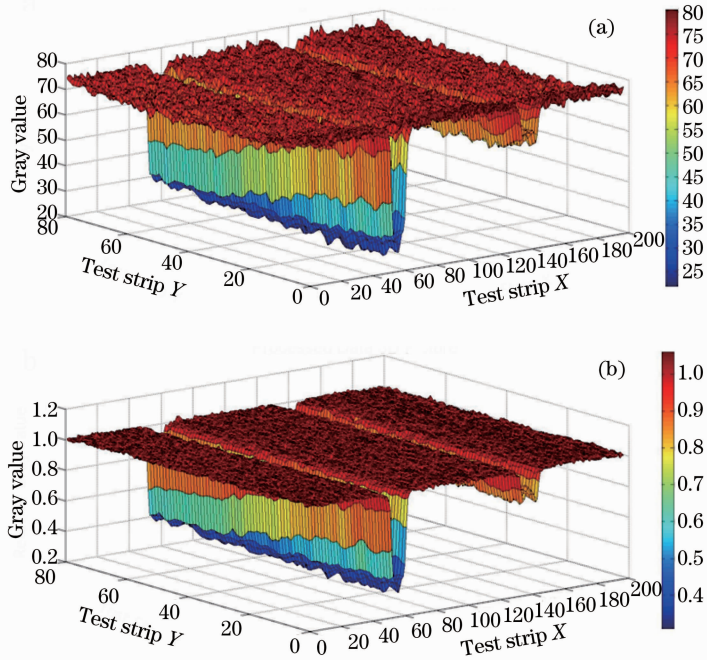


图 6 8 ng/mL 金标试纸条灰度三维数据图。(a) 原始三维数据图; (b) 处理后三维数据图

Fig. 6 Gray value distributions of 8 ng/mL colloidal gold lateral flow strip. (a) Original data; (b) data after illumination uniformity calibration

2.4.2 图像分析预处理

在图像采集中, 由于光电、生化反应等多种因素的作用^[21-23], 采集的图像不可避免地带有椒盐、高斯和随机等多种噪声, 这些噪声极易淹没金标试纸条图像中很弱的 T 带信号。图 7 为 800 万像素相机拍摄实物图, 可看出, 在被测物浓度非常低的时候, T 带的条纹很难与背景相区分。所以在进行数据处理之前采用多幅图像平均法与中值滤波相结合的方式改善图像的质量, 并进一步提高图像的信噪比。



图 7 低浓度金标试纸条的实物图(0.5 ng/mL)
Fig. 7 Photo of colloidal gold LF strip with low concentration (0.5 ng/mL)

由图 6(b)可知, 图像在沿金标试纸条短边 Y 方向上灰度变化很小, 并且 C 带、T 带为低灰度值区域, 使得图像灰度数据在沿金标试纸条长边 X 方向上呈双凹形变化, 所以可以把二维图像映射到一维空间内分析处理, 这种在一维空间内的图像灰度分布曲线既含有图像的灰度信息又含有图像的部分位置信息^[24]。通过短边 Y 方向上各数据点累加求和取平均, 就可以求出金标试纸条上长边 X 方向灰度均值分布曲线。

2.4.3 图像评价参数

为了确定在何种成像控制参数下, OV6630 所采集的图像最适于低浓度金标试纸条的检测, 需要对图像进行评价。在评价金标试纸条图像时, 使用两个图像评价参数来评定图像。

1) T 带信号积分与 C 带信号积分比 (S_t/S_c)。如图 8 为相对灰度均值分布曲线示意图。将 C 带左边界以外的点和 C 带右边界到 T 带左边界的点用于拟合直线作为 C 带的背景信号 I_0 , 将 T 带右边界以外的点和 C 带右边界到 T 带左边界的点用于拟合直线作为 T 带的背景信号 I_1 。在 C 带面积的求解中,

以 I_0 直线作为背景信号。在 C 带范围内对每个点对应的值求和。T 带面积的求解中,以 I_1 直线作为背景信号。在 T 带范围内对每个点对应的值求和。

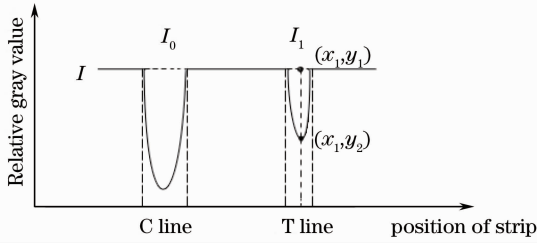


图 8 相对灰度均值分布曲线示意图

Fig. 8 Schematic diagram of mean relative gray value distribution

2) 微弱信号与背景信号比 δ 。取 T 带信号的极小值与相同位置背景信号的差作为分子,以极小值位置处背景信号值作为分母。两者的比值即为所求,即

$$\delta = \frac{y_1 - y_2}{y_1} \quad (2)$$

在评价参数的计算过程中,对 C 带和 T 带边界的确 定是至关重要的。采用一种新的自动定带方法,首先忽略不同金标试纸条 T 带和 C 带带宽的差异性,以一个预定的功能带宽度来初步确定 C 带和 T 带边界。接着,分别对 C 带和 T 带边界先后进行外部和内部拓展,搜寻各自边界的精确位置。判定依据为相邻 3 个数据点与搜寻基点的差值均小于搜寻基点的 1%。最终,将通过上述方法获得的点作

为 T 带和 C 带的边界。

可以看出,参数 S_t/S_c 消除了免疫层析过程所带来的差异影响;不同金标试纸条生产制造的差异影响;照明光强度变化的差异影响。参数 δ 评判图像的细节描述能力,专注于微弱信号的检测,数值越大细节描述越好。由于只关注信号极值点,排除了因不能精确测定 T 带边界位置所导致的 T 带面积计算不准确的弊端。依据这两个图像质量评价指标最终确定具体的图像传感器成像控制参数设定。

通过多次实验发现,对比度、亮度和手动增益对图像质量的调节起到决定性的作用。图 9 为在不同成像控制参数下得到的金标试纸条灰度均值分布曲线,检测对象为 0.5 ng/mL 的标准金标试纸条。OV6630 的参数设置寄存器的设定范围为 0x00h~0xFFh。图 9(a)为最佳参数设定数据图。其中亮度设定为 0x70h,对比度设定为 0x68h。图 9(b)为亮度设定为 0xD0h,对比度设定为 0x68h。图 9(c)为亮度设定为 0x70h,对比度设定为 0xD0h。图 9(a)与图 9(b)为亮度调节对比,可看出,在最佳亮度条件下 δ 和 S_t/S_c 的值均比非最佳亮度条件下的评价参数高。图 9(a)与图 9(c)为对比度调节对比,可看出,在最佳对比度条件下 δ 和 S_t/S_c 的值均比非最佳对比度条件下的评价参数高。因此良好的图像传感器成像控制参数的设定会显著提高图像的成像质量,并能显著提高金标条阅读仪的动态范围和灵敏度。

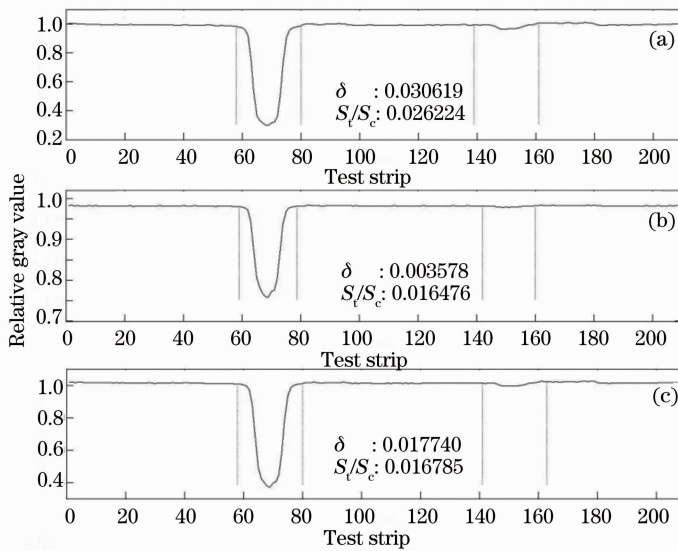


图 9 参数(亮度和对比度)调节对比图。(a) 对比度为 0x68h,亮度为 0x70h; (b) 对比度为 0x68h,亮度为 0xD0h; (c) 对比度为 0xD0h,亮度为 0x70h

Fig. 9 Contrast of mean relative gray value distribution after parameters (contrast and brightness) adjustment. (a) Contrast level is 0x68h, brightness level is 0x70h; (b) contrast level is 0x68h, brightness level is 0xD0h; (c) contrast level is 0xD0h, brightness level is 0x70h

2.4.4 定量检测指标

根据朗伯-比尔定律,光密度与样品中目标被检物的浓度呈线性关系^[25],通过采集到的金标试纸条上 T 带和 C 带上散射光信号值,分别计算出 C 带的积分反射光密度 C_{OD} 和 T 带的积分反射光密度 T_{OD} ,并采用 T_{OD}/C_{OD} (简称 T/C) 作为试纸条的最终检测结果^[3]以消除金标试纸条本身及免疫层析反应所带来的测量误差^[24]。其中,反射光密度的计算公式是 $\lg(I/I_0)$ 。由于采用实测金标试纸条图像数据与空白金标试纸条图像数据做商的处理方法,所以所述的积分反射光密度均为相对积分反射光密度。通过对已知系列浓度标准样品进行检测,得到被检物浓度与测量值 T/C 间的关系,建立标准工作曲线。在实际对滴加有未知浓度样品的金标试纸条定量检测中,根据测量值 T/C 和标准工作曲线,即可得出被检物的浓度。

3 实验及结果

这里主要对心肌肌钙蛋白 I(cTnI)胶体金试纸条进行检测。cTnI 是心肌损伤的高特异性、高敏感性指标,国内外已广泛应用于急性心肌梗死(AMI)的诊断、溶栓再通的判断、不稳定型心绞痛(UAP)危险度分层及预后判断、急性心肌炎持续心肌损伤的临床监测等^[26]。对心梗等心肌损伤疾病的早期诊断和及时救治,可有效地将梗死的心肌面积限制在最小的范围内,从而有效地降低死亡率。AMI 病患在其发病时间的 0~2 h 内,其体内的 cTnI 质量浓度仅为 0.32 ng/mL^[27]。这就意味着首先需要对其首选的标志物—cTnI 进行高灵敏度的检测。

实验采用江苏省人民医院提供的具有系列浓度梯度的标准 cTnI 金标试纸条进行测试,如图 10 所示。



图 10 系列浓度梯度的标准 cTnI 金标试纸条

Fig. 10 Colloidal gold lateral flow strips for cTnI with standard concentration gradients

3.1 重复性及灵敏度测试

为了准确评价装置性能,在金标条阅读仪开机 10 min 后分别对每个标准 cTnI 金标试纸条进行 20 次重复测量,计算得到 T/C 。由于 0.125 ng/mL 的浓度已超出金标条阅读仪的检测极限,所以此处未得到检测结果。金标条阅读仪重复性测试结果如表 1 所示,可看出,金标条阅读仪对高浓度金标试纸

条(64 ng/mL)测量结果的变异系数(CV)为 0.134%,对低浓度金标试纸条(0.25 ng/mL)测量结果的 CV 为 2.790%。这说明金标条阅读仪无论对高浓度金标试纸条还是对低浓度金标试纸条都有着很好的测量重复性,而且重复性指标要优于其他已报道的金标试纸条检测仪器^[28-29]。

表 1 标准品实验数据结果及分析

Table 1 Experimental results and analysis

Mass concentration / (ng/mL)	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64
Mean $T/C \times 10^{-2}$	1.361	2.457	4.931	6.356	13.955	36.465	45.459	68.930	94.856
Standard deviation / 10^{-4}	3.80	5.08	4.15	12.56	17.06	7.20	15.14	8.80	12.69
CV / %	2.790	2.068	0.841	1.976	0.876	0.197	0.333	0.128	0.134

实验表明,金标条阅读仪对 cTnI 的功能灵敏度优于 0.25 ng/mL,测量动态范围是 0.25~64 ng/mL,达到了 256 倍。其灵敏度高于 Huang 等^[28]研发的 cTnI 金标条光度计,其灵敏度仅为 1 ng/mL。

3.2 响应特性

4-PL 模型是一种适用于免疫分析法的数据拟合分析模型^[30],表示为

$$y = d + \frac{a-d}{1 + (x/c)^b}, \quad (3)$$

式中 x 是分析物浓度, a 和 d 分别是最大和最小预期值, b 是倾斜因子, c 是响应曲线的转折点, 表示在 c 点曲线的曲率方向发生改变。

使用 4-PL 模型对金标条阅读仪测得的 cTnI 金标试纸条的数据进行曲线拟合, 图 11 是本阅读仪对 9 种标准浓度的 cTnI 样品测量结果的数据拟合图。以滴加在金标试纸条上的 cTnI 样品浓度的取对数尺度作为横坐标 X , 以检测结果 T/C 值作为纵坐标 Y , 散点是金标条阅读仪的测量数据。通过对散点进行 4-PL 模型拟合得到标准工作曲线, 拟合曲线的参数分别为: $a = -0.01639$, $b = 0.86222$, $c = 42.27293$, $d = 1.61261$, 相关系数 R^2 为 0.992, 残差平方和为 0.00732, 相关性比较好。

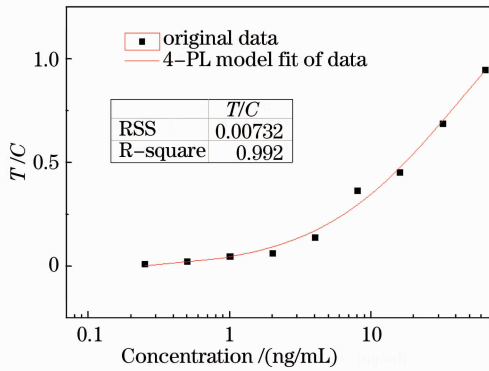


图 11 cTnI 标准系列浓度的 4-PL 模型拟合曲线

Fig. 11 Dose response curve between the concentration of cTnI and the ratio T/C

4 结 论

采用 CMOS 图像传感器作为光电转换器件, 采用低功耗、高性能的 DSP 作为处理器, 结合照明均匀性、图像传感器最佳成像控制参数设置等方面进行优化设计, 研制了一种金标条阅读仪。使用该金标条阅读仪对 cTnI 系列浓度标准品进行了测量, 测量结果的 4-PL 模型拟合相关系数 $R^2 > 0.99$, 动态范围达到 0.25 ~ 64 ng/mL, 功能灵敏度优于 0.25 ng/mL, 且对高浓度金标试纸条 (64 ng/mL) 测量结果的 CV 为 0.134%, 对低浓度金标试纸条 (0.25 ng/mL) 测量结果的 CV 为 2.79%, 优于其他见诸报道的金标试纸条检测仪器。上述结果表明, 本金标条阅读仪灵敏性强、动态范围大、响应特性好、重复性好, 为金标免疫层析术的快速定量检测提供了有力的工具, 该金标条阅读仪可应用于环境监测、食品安全、临床诊断、海关检验检疫等多个领域的快速检验中。

参 考 文 献

- Lü Shen, Wang Shan, Chang Wenbao. Application of colloidal gold on immunoassay[J]. J Wuhan University (Natural Science Edition), 2000, 46(4): 393-399.
- 吕 伸, 王 杉, 常文保. 胶体金免疫分析方法的进展[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 2000, 46(4): 393-399.
- Chen Fengmei, Li Juan, Qu Yuanjun, et al.. Application and research progress of the immune colloidal gold technique[J]. Chinese J Veterinary Drug, 2004, 38(8): 33-35.
- 陈凤梅, 李 娟, 曲原君, 等. 免疫胶体金技术的应用及研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2004, 38(8): 33-35.
- Huang Lihua, Zeng Aijun, Zhang Youbao, et al.. Development of reflectance photometer for gold-labeled test strip[J]. Chinese J Scientific Instrument, 2009, 30(3): 663-667.
- 黄立华, 曾爱军, 张友宝, 等. 金标免疫试纸条反射式光度计的研制[J]. 仪器仪表学报, 2009, 30(3): 663-667.
- Wong R C, Tse H Y. Lateral Flow Immunoassay[M]. New York: Humana Press, 2009. 175-180.
- Kim S, Park J K. Development of a test strip reader for a lateral flow membrane-based immunochromatographic assay [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2004, 9(2): 127-131.
- Li C, Vandenberg K, Prabhulkar S, et al.. Paper based point-of-care testing disc for multiplex whole cell bacteria analysis[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26(11): 4342-4348.
- Jiang Haiyan, Du Min. Study on method for quantitative determination of alpha-fetoprotein concentration with gold immunochromatographic strip[J]. J Fuzhou University (Natural Science Edition), 2012, 40(5): 619-623.
- 姜海燕, 杜 民. 金免疫层析法快速测定甲胎蛋白的定量系统研究[J]. 福州大学学报(自然科学版), 2012, 40(5): 619-623.
- Wang Yan, Bai Yujie, Zhang Yanchao, et al.. Design and research of a photoelectrical apparatus for lateral flow based on CCD[J]. Chinese J Sensors and Actuators, 2008, 21(8): 1370-1373.
- 汪 曦, 白玉洁, 张艳超, 等. 基于 CCD 的胶体金试纸条光电检测仪器设计及实验研究[J]. 传感技术学报, 2008, 21(8): 1370-1373.
- Sasaki K, Naoya O, Tawarada K. Cadmium rapid test kit using cadmium purification column and cadmium immunochromatography[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2009, 40(1-6): 345-351.
- Alehagen U, Janzon M. A clinician's experience of using the cardiac reader NT-proBNP point-of-care assay in a clinical setting [J]. European Journal of Heart Failure, 2008, 10(3): 260-266.
- Jiang Chengyan, Zhu Tonglin. Image analysis base colloid gold strip quantitative detection [J]. Science Paper Online, 2011, 6(10): 770-774.
- 江成彦, 朱同林. 基于图像特征的胶体金层析定量分析法[J]. 中国科技论文在线, 2011, 6(10): 770-774.
- Laderman E I, Whitworth E, Dumaul E, et al.. Rapid, sensitive, and specific lateral-flow immunochromatographic point-of-care device for detection of herpes simplex virus type 2-specific immunoglobulin G antibodies in serum and whole blood [J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2008, 15(1): 159-163.
- Kolosova A Y, De Saeger S, Sibanda L, et al.. Development of a colloidal gold-based lateral-flow immunoassay for the rapid simultaneous detection of zearalenone and deoxynivalenol [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 389(7-8): 2103-2107.
- Wilson R. The use of gold nanoparticles in diagnostics and detection[J]. Chem Soc Rev, 2008, 37(9): 2028-2045.
- Posthuma-Trumpie G A, Korf J, Amerongen A. Lateral flow (immuno) assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. a literature survey[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 393

- (2); 569-582.
- 16 Jiang Zhiliang, Feng Zhongwei, Li Tingsheng, et al.. Resonance scattering spectra of gold nanoparticles[J]. Science in China (Series B), 2001, 31(2): 183-188.
蒋治良, 冯忠伟, 李廷盛, 等. 纳米金粒子的共振散射光谱[J]. 中国科学(B辑), 2001, 31(2): 183-188.
 - 17 Jiang Zhiliang, Feng Zhongwei, Liu Qingye, et al.. A study of the nonlinear scattering for Au nanoparticles in liquid and its light intensity function[J]. Chinese Journal of Inorganic Chemistry, 2001, 17(3): 355-358.
蒋治良, 冯忠伟, 刘庆业, 等. 金纳米粒子的非线性共振散射及光强度函数研究[J]. 无机化学学报, 2001, 17(3): 355-358.
 - 18 Pan Hongcheng, Jiang Zhiliang, Yuan Weien, et al.. Relationship between resonance scattering and resonance absorbance of gold nanoparticles [J]. Chinese J Applied Chemistry, 2005, 22(3): 282-285.
潘宏程, 蒋治良, 袁伟恩, 等. 金纳米粒子共振散射与共振吸收的关系[J]. 应用化学, 2005, 22(3): 282-285.
 - 19 Omnivision Technologies Incorporated. OV6630 Single-Chip CMOS CIF Color Digital Camera Technical Documentation [EB/OL]. <http://www.ovt.com>, [2013-6-3].
 - 20 Texas Instrumetns. TMS320C6747[OL]. <http://www.ti.com.cn/product/cn/tms320c6747>, [2013-04-17].
 - 21 Du Min. Study of Nano-Gold Immunochromatographic Quantitative Assay Based on Photoelectric Detection and Signal Processing[D]. Fuzhou: Fuzhou University, 2005. 18-24.
杜民. 基于光电检测与信息处理技术的纳米金免疫层析试纸条定量测试的研究[D]. 福州: 福州大学, 2005. 18-24.
 - 22 Deng Ruohan, Yan Yi, Yu Jinjin, et al.. Analysis and reduction of pixel noise in CMOS active pixel sensor [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2011, 48(5): 050401.
邓若汉, 严奕, 余金金, 等. CMOS有源像素传感器像素级噪声的分析与抑制[J]. 激光与光电子学进展, 2011, 48(5): 050401.
 - 23 Zhu Jigui, Zou Jian, Lin Jiarui, et al.. Error-compensation algorithm with high-accuracy for photographic image processing [J]. Acta Optica Sinica, 2012, 32(9): 0912004.
郑继贵, 邹剑, 林嘉睿, 等. 摄影测量图像处理的高精度误差补偿法[J]. 光学学报, 2012, 32(9): 0912004.
 - 24 Zhang Feng. The Development of the Portable Colloidal Gold Strips Reader Based on Image Measurement [D]. Jilin: Jilin University, 2005. 17-19.
张峰. 基于图像测量的便携式金标试纸分析仪的研制[D]. 吉林: 吉林大学, 2005. 17-19.
 - 25 Yao Qijun. Optics Tutorial [M]. Beijing: Higher Education Press, 1996. 408-410.
姚启钧. 光学教程 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1996. 408-410.
 - 26 Guo Huishi. Description and Application of Several Methods for Detection of Human Cardiac Troponin I[D]. Nanjing: Southeast University, 2005. 5-8.
郭会时. 人心肌肌钙蛋白I的几种检测方法及其应用研究[D]. 南京: 东南大学, 2005. 5-8.
 - 27 Yang Changshun, Zhou Xiuping, Shi Shufan, et al.. The diagnostic value of cardiac troponin I and myoglobin quantitative detection of acute myocardial infarction[J]. Int J Lab Med, 2011, 32(7): 791-792.
杨长顺, 周秀萍, 石书凡, 等. 心肌肌钙蛋白I和肌红蛋白定量检测对急性心肌梗死的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 791-792.
 - 28 L. Huang, Y. Zhang, C. Xie, et al.. Research of reflectance photometer based on optical absorption [J]. Optik, 2010, 121(19): 1725-1728.
 - 29 Zhao Youquan, Yang Chengwen, Chen Feng, et al.. Development of a novel portable color analytical reader for colloidal metalaxyl gold test strips [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2009, 30(10): 2175-2179.
赵友全, 杨成文, 陈峰, 等. 一种新型便携式甲霜灵胶体金试纸条显色分析仪的研制[J]. 仪器仪表学报, 2009, 30(10): 2175-2179.
 - 30 R. A. Dudley, P. Edwards, R. P. Ekins, et al.. Guidelines for immunoassay data processing[J]. Clinical Chemistry, 1985, 31(8): 1264-1271.

栏目编辑:何卓铭