

荧光免疫层析试条成像检测系统的设计

徐笑晗, 夏果, 金施群, 吴骥, 王国栋

合肥工业大学光电技术研究院特种显示技术教育部重点实验室, 特种显示技术国家工程实验室,
省部共建现代显示技术国家重点实验室, 安徽 合肥 230009

摘要 为了实现对荧光免疫层析试条浓度的定量测量,设计了一种荧光免疫层析试条成像检测系统。采用 365 nm 紫外线发光二极管(LED)作为激发光源,通过手持式变倍显微镜相机采集免疫层析试条的荧光图像。根据试条图像荧光检测线和质控线区域位置相对固定的特性,使用最大类间方差遗传算法对图像进行分割,并通过对荧光区域进行定位来去除背景噪声;然后对分割出的荧光图像进行背景滤除,计算出检测线和质控线的灰度值;最后计算荧光区域的特征值,实现对荧光试条浓度的定量检测。实验证明,荧光免疫层析试条成像检测系统的重复性好,5 种不同浓度的荧光试条各进行 10 次重复性检测,检测结果的变异系数均小于 0.5%,拟合出的标准曲线的拟合程度可达 0.99944,实现了快速定量化检测。

关键词 成像系统; 荧光免疫层析检测试条; 图像传感器; 最大类间方差法; 遗传算法; 定量检测

中图分类号 TP216.3; TP212.3

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0407005

Design of Imaging Detection System for Fluorescent Immune-Chromatographic Test Strip

Xu Xiaohan, Xia Guo, Jing Shiqun, Wu Su, Wang Guodong

Key Laboratory of Special Display Technology of the Ministry of Education, National Engineering Laboratory of Special Display Technology, National Key Laboratory of Advanced Display Technology, Academy of Photoelectric Technology, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009, China

Abstract An imaging detection system is designed to achieve quantitative measurement of the concentration of fluorescent immune-chromatographic test strip. Using 365 nm ultraviolet light emitting diode (LED) as the excitation light, we capture the clear image of fluorescent immune-chromatographic test strip by the hand-held zoom microscope camera. Genetic algorithm on the base of Otsu is used to segment the image according to the characteristic of relatively fixed position of the detection line and the quality control line. Then, the background noise is removed by the fluorescence region localization method. The segmented fluorescence image background is filtered out and the gray values of the detection line and the quality control line are calculated. Finally, the eigenvalues of the fluorescence region are calculated to realize the quantitative analysis for the concentration of the fluorescence test strip. The experimental results show that the fluorescence detection system has good repeatability. Five different concentrations of fluorescent test strips are tested for ten times. The variable coefficients of the results are less than 0.5%. The fitting degree of the standard curve reaches 0.99944, and the rapid quantitative detection is realized.

Key words imaging systems; fluorescent immune-chromatographic test strip; image sensor; Ostu method; genetic algorithm; quantitative detection

OCIS codes 170.0110; 100.2960; 170.2520; 100.2000

收稿日期: 2017-06-27; **收到修改稿日期:** 2017-07-27

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项(2013YQ220749)、中央高校基本科研业务费专项基金(JZ2016HGBZ0754)

作者简介: 徐笑晗(1991—),男,硕士研究生,主要从事光电检测方面的研究。E-mail: a316729521@qq.com

导师简介: 夏果(1983—),男,博士,助理研究员,主要从事光电检测方面的研究。E-mail: xiaguo@hfut.edu.cn(通信联系人)

1 引言

免疫层析检测技术^[1-2]是一种抗体抗原特异性反应与色谱层析技术相结合的检测技术,其原理是利用亲和层析法来实现相同生物学特性的组分相结合、不同生物学特性的组分相分离,并结合特异性免疫反应原理实现待测物浓度的定性或定量分析^[3]。荧光免疫层析技术是在免疫层析技术的基础上,利用荧光标记物通过检测荧光信号强度来定量检测待测物浓度的检测技术。荧光免疫层析技术具有灵敏度高、稳定性强、可以定量反映待测物浓度等特点,已广泛运用于临床诊断、环境检测、食品安全检测等多个领域,所以研究并完善荧光免疫层析定量检测系统具有十分重要的实际意义。

目前,实现对免疫层析试条浓度定量检测的系统大多数是以光电二极管为核心的光电扫描检测系统,光电扫描检测利用光电二极管将荧光信号转换为电信号进行分析,进而求得与测试线亮度相关的待测物浓度。Huang 等^[4]提出了一种针对上转换磷光粒子层析试纸条的光学检测仪,任冰强等^[5]提出了一种基于免疫层析技术的时间分辨荧光免疫分析仪,刘翔等^[6]提出了一种荧光免疫层析定量检测系统,但利用这类系统在扫描过程中进行测量时,测量时间比较长,而且仪器中的传动装置会增加仪器的复杂度和不稳定性。荧光试条成像检测系统主要利用互补金属氧化物半导体(CMOS)、CCD 图像传感器采集荧光试条图像,能够提高检测结果的稳定性,并具有速度快、无复杂机械结构等优点^[7]。Zhang 等^[8]提出了一种基于 CCD 的针对量子点标记试条的成像检测系统,Gui 等^[9]提出了一种基于 CCD 的针对 CdS 量子点标记试条的成像检测系统。这两种系统都是通过 CCD 传感器采集试条图像来实现待测物定量检测的。

根据荧光试条图像的特点,本文搭建了一种能快速准确地实现荧光免疫层析试条浓度定量检测的成像系统。该系统通过手持式变倍显微镜获得清晰的荧光试条图像。采用分区域最大类间方差(Otsu)遗传算法分割出荧光试条图像的质控线和检测线区域。当背景中的噪声信号比荧光区域的信号强时,阈值的分割效果较差。为了弥补阈值分割的缺陷,采用形态学开闭运算和基于试条荧光区域窄带特性进行荧光区域定位,以去除背景噪声的影响。荧光区域确定后,使用周围元素法对荧光区域进行背景滤除,最后计算荧光区域的特征值,并对其进行定量分析。

2 成像检测仪系统

2.1 检测仪的采集系统结构

荧光免疫层析检测仪的图像采集系统如图 1 所示。它由荧光试条放置平台、手持式变倍显微镜、紫外发光二极管(UV LED)(365 nm 半峰全宽 30 nm)、窄带滤光片(615 nm 半峰全宽 30 nm)组成。荧光试条放置区用来放置荧光试条,设置了一个适应荧光试条尺寸的卡槽来固定荧光试条的位置。光源用来提供稳定持续的激发光,使荧光标记物受激发产生荧光。窄带滤光片置于显微镜采集设备的镜头前,主要是为了避免激发光和各种杂散光进入系统,而只让受激发的荧光信号通过。采集设备采用的是 Dino-Lite AM4113T 手持式光学变倍显微镜(放大倍率为 20~50 倍),主要由光学显微镜和 CMOS 图像传感器组成,在放大倍率为 40 倍、工作距离为 9 mm 时的视场直径为 9.8 mm,可得到免疫层析试条的高清晰荧光图像。采用光学显微镜获得荧光图像可以得到更多的统计数据,从而减小误差,提高信噪比,得到更加精确的结果。数据线将显微镜采集设备采集到的荧光图像传输到计算机中进行图像处理,最终得到试条浓度的特征值。

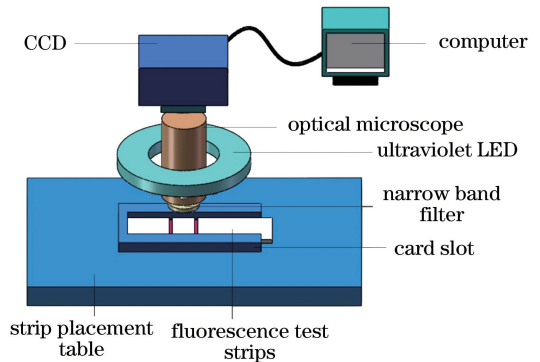


图 1 荧光免疫层析检测仪的采集系统

Fig. 1 Acquisition system of fluorescent immune-chromatographic detector

2.2 检测仪的工作原理

荧光免疫层析试条的结构图如图 2 所示,主要包括样品窗口、样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫等^[10]。结合垫上喷有荧光微球标记的抗体,在硝酸纤维素膜上固定有检测线和质控线,检测线与质控线上分别固定有包被抗原和二抗。将一定浓度的待测溶液经由样品窗口滴在样品垫上,待测液会因吸水垫的虹吸而发生层析作用,向吸水垫方向移动,待测液中的抗原在结合垫上与荧光微球标记的抗体通过免疫反应形成抗原-抗体结合物。该结合物层

析至 T 线时与包被抗原发生反应,产物在 T 线上富集,其余物质会继续层析至 C 线与二抗结合,采用 T 线和 C 线区域灰度总值之比作为特征值来判断待测物的浓度。

本课题组采用标准浓度质控检测卡检验系统的有效性。检测卡的制备过程如下:取质量浓度为 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BANGS 微球原液 $10 \mu\text{L}$,用磷酸盐缓冲液(PBS)稀释成 $100, 50, 25, 12.5, 3.125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。使用喷膜划线仪在硝酸纤维素膜上划线,分别使得 C 线为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的微球溶液, T 线依次为 $100, 50, 25, 12.5, 3.125, 0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的微球溶液(其中 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对应 PBS 缓冲液)。

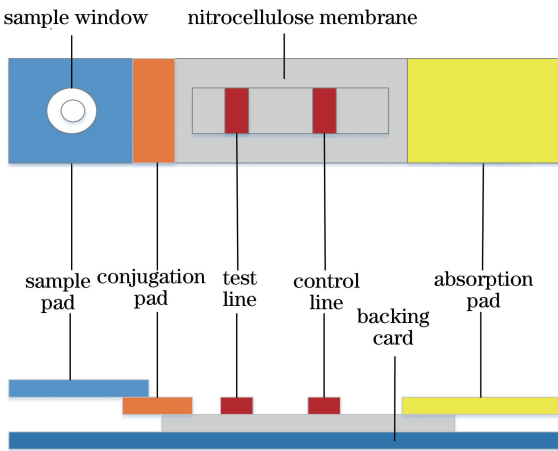


图 2 荧光免疫层析试条结构图

Fig. 2 Structural diagram of fluorescent immune-chromatographic test strip

荧光免疫层析检测仪的基本工作原理如图 3 所示。对由荧光免疫层析仪采集系统采集到的荧光图像进行分割,再经荧光区域定位、背景滤除等处理后,计算反映待测物浓度的特征值。

为了计算荧光浓度的特征值,首先要分割出荧光免疫层析试条图像的 T 线和 C 线区域。由于荧光免疫层析试条图像中的 T 线区域和 C 线区域的灰度值大于背景区域的灰度值,所以可以考虑基于图像灰度的阈值分割。Otsu 算法是经典的基于图像灰度自动阈值确定算法,用该算法分割荧光试条图像具有良好的效果。若将遗传算法与 Otsu 算法结合则可以大大提高阈值选取的速度和精度。另外,由于特定浓度的荧光试条图像的检测线和质控线区域的灰度值有较大差异,对整幅图像使用一个灰度阈值不能将检测线和质控线区域同时分割出来。因此,利用荧光图像检测线和质控线位置相对固定的特性,可使图像的检测线区域和质控线区域分别位于图像纵向中线的两侧,从而可对图像的检

测线区域和质控线区域分别进行阈值分割,这样的分区域阈值可得到较好的分割结果。荧光区域定位主要是为了弥补阈值分割的不足,消除荧光图像背景中灰度值大于荧光区域的噪声。荧光区域定位主要是采用形态学的开闭运算和基于窄带特性的目标定位方法。形态学的开闭运算有助于消除图像中的孤立噪点,基于窄带特性的目标定位方法基于荧光区域为一个矩形窄带的特性,可以消除荧光区域的毛刺和背景中较大噪声的干扰。荧光区域的边缘部分不仅包含目标信号,还包含背景信号,因此在进行特征值计算前需要先将背景信号滤除。由于荧光区域周围的背景信号对荧光区域的影响较大,所以采用周围元素法选择背景的局部区域。根据荧光区域是一个矩形的特性,可以先得到分割后荧光区域的最小外接矩形,对最小外接矩形进行扩展,使得该矩形的 4 条边分别向四周扩展若干个像素,即可得到包围荧光区域的背景。背景滤除就是将荧光区域的每个像素值减去背景的平均灰度值。最后,通过计算背景滤除后的荧光特征值求出待测物的浓度。

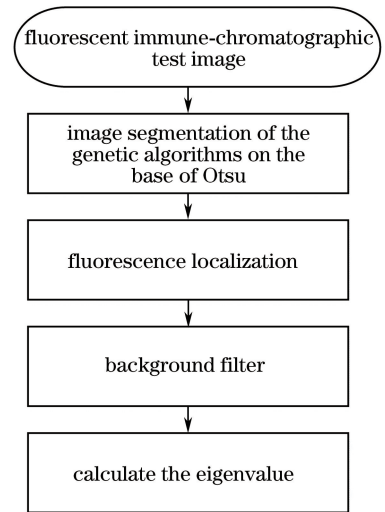


图 3 荧光免疫层析检测仪的工作原理
Fig. 3 Working principle of fluorescent immune-chromatographic detector

3 关键算法

3.1 分区域 Otsu 遗传算法

Otsu 算法^[11]是由 Otsu 提出的,它是在最小二乘法原理的基础上推导出来的一种算法,具有分割效果好、适用范围广、简单有效的优点。该算法的基本思想是将图像直方图的某一灰度值作为阈值,将图像分为两类,并计算类间方差。当被分的两类之间的方差最大时,就将此灰度值作为分割图像的灰度阈值。

此算法因为需要遍历所有灰度级进行方差计算,再经过比较得到最大方差,所以该算法的缺点是计算量过大。遗传算法是一种结合遗传学原理和自然选择法则的迭代寻优算法^[12],具有全局搜索能力好、收敛性好、随机性良好等优点^[13]。针对 Otsu 算法计算量大的问题,将 Otsu 算法与遗传算法结合,通过遗传算法搜索和优化阈值。Otsu 遗传算法^[14-15]将传统的图像分割技术与现代智能理论结合,不但提高了算法的分割性能,还大大提高了算法的运算速度。

分区域 Otsu 遗传算法的步骤如下:

1) 编码。对荧光灰度图像的 0~255 个灰度值进行编码,正好对应一个 8 位二进制,每个灰度值的编码对应一个染色体。

2) 初始化种群。假设初始化种群的规模为 s ,则随机产生的 s 行 8 列矩阵即为初始种群。

3) 评价函数。评价函数又称适应度函数,通过评价函数计算每个染色体的一个值,该值即代表该染色体对实际问题的适应度,计算得到的适应度越大,表示该染色体的适应度越强。在求 Otsu 算法阈值的问题中,评价函数为类间方差。

4) 选择。根据每个染色体适应度定义一个选择概率,适应度越高,选择概率越大,确保了优秀的染色体可以进入下一代。

5) 杂交和变异。杂交运算是根据杂交概率对染色体的一些位进行交换,从而产生新的染色体;变异就是按照变异率对染色体的一位进行变异。这样可以得到新的染色体种群,增加解的收敛速度。

6) 终止条件。根据设定的最大迭代次数或当前群体平均适应度与上一代的平均适应度之比是否小于某一阈值来确定是否终止。

遗传算法初始化种群大小设为 10,杂交和变异概率分别设置为 0.7 和 0.4。最大迭代次数设置为 50,当连续 5 代计算最佳适应度数值相同或达到最大迭代次数时停止迭代。Otsu 算法求灰度阈值必须对所有 256 个灰度值进行方差计算,通过比较得到最大方差。而遗传算法可以快速求得最优阈值,减少了计算方差的次数,提高了程序的运行速度,使用遗传算法的程序运行时间比不使用遗传算法的程序运行时间缩短了 1 s 左右。

当荧光试条浓度过高或过低时,荧光图像质控线和检测线区域的亮度会有较大差异,使用单一阈值分割得不到很好的分割效果。而由于荧光试条检测线和质控线具有位置相对固定的特性,所以分别采用 Otsu 遗传算法对 C 线和 T 线区域进行分割。图 4 所示的实验结果表明,该方法对荧光试条图像具有很好的分割效果。

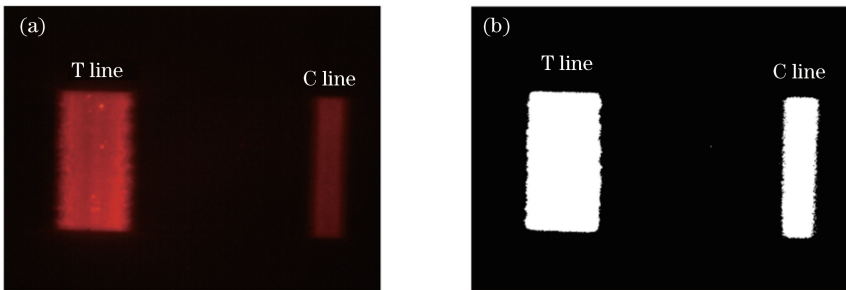


图 4 荧光免疫层析试条分割效果。(a)荧光试条原图像;(b)经过分割后的二值图像

Fig. 4 Segmentation result of fluorescent immune-chromatographic test strip. (a) Original image of fluorescent test strip; (b) binary image after segmentation

3.2 荧光区域定位

在进行图像分割以后难免会出现孤立的噪点,这些孤立的噪点会对最后的测量结果有很大影响。为了去除这些噪点和减少荧光区域周围的干扰,采用形态学开闭运算和基于窄带特征的目标定位方法。

首先对图像进行形态学的开运算,然后再进行形态学闭运算,这样可以消除孤立的噪声点。开运算和闭运算的结构元素均选取大小为 5 的盘型结构元素。

为了消除背景中较大的噪声点以及减少荧光区

域周围的干扰,选择基于窄带特征的目标定位方法。该方法的思想是利用荧光区域是一个水平窄条的先验知识来统计分割后的二值图像中每列白色像素的个数,将白色像素大于某一阈值的列作为荧光区域,在荧光区域以外的列的所有像素归零。该方法对荧光免疫复合物分布区域存在形态的随机性、不一致性,以及因背景区域反光而带来的干扰具有较好的适应性。一幅含有大块噪点的荧光图像如图 5 所示,荧光区域定位算法的效果如图 6 所示。由图 6(a)可以看出,一些荧光试条图像背景中可能有

亮度高、面积大的噪声图像。这样的噪声图像会干扰阈值分割的效果。由图 6(b)可以看出,荧光定位算法可以很好地去掉这样的噪点,并且可以消除荧光区域周围的毛刺。

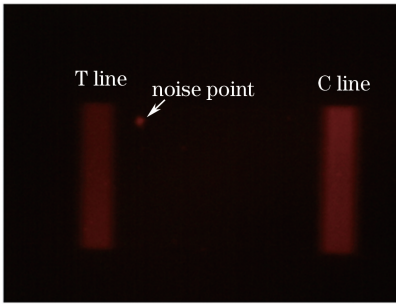


图 5 含有噪声的荧光试条图像

Fig. 5 Image of fluorescent immune-chromatographic test strip with noise

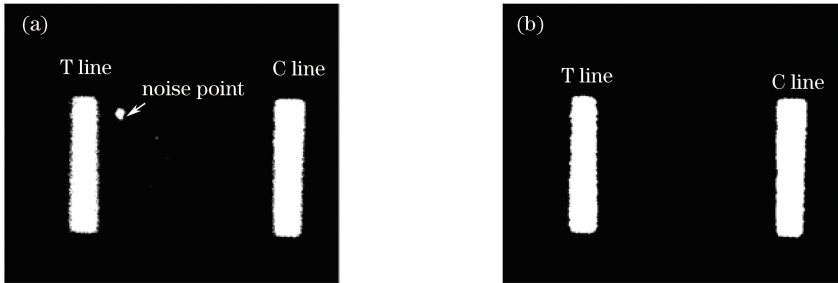


图 6 荧光区域定位效果图。(a)算法定位前;(b)算法定位后

Fig. 6 Effect images of fluorescent area positioning. (a) Before positioning by algorithm; (b) after positioning by algorithm

4 实验结果与分析

将 ESEQuant Lateral Flow Reader 荧光分析仪

3.3 背景滤除

荧光免疫图像的荧光区域不仅含有荧光信号,还含有背景信号,所以在计算特征值前必须将背景信号滤除。荧光图像背景具有以下特点:1)背景在每个像素点分布不均匀,故而只能在局部区域考察背景;2)背景表现为缓慢的变化,如果背景的变化比较剧烈,表示靠近这些背景的点不可靠;3)背景的分类似于高斯分布^[16]。针对荧光图像背景的这些特点,本课题组使用周围元素法选取荧光区域周围的背景作为参考对象。根据荧光区域为矩形的先验知识,可以得到荧光区域的最小扩展矩形,将此矩形分别向 4 个边的方向向外扩展若干个像素,得到的扩展矩形就包含了荧光区域周围的背景。将荧光区域中的每个像素值减去这些背景的平均灰度值即可完成背景滤除。

的分析结果作为检测所提算法定量检测结果的依据。ESEQuant 荧光分析仪实物图和检测结果如图 7 所示。

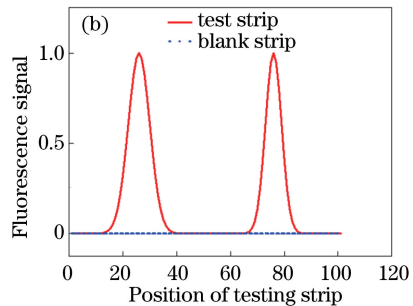
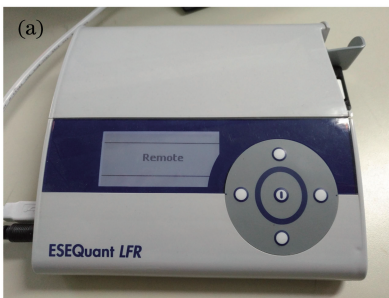


图 7 ESEQuant 荧光分析仪实物图及检测结果。(a)实物图;(b)检测结果

Fig. 7 Picture and testing result of ESEQuant fluorescence analyzer. (a) Picture; (b) testing result

4.1 参数确定实验

通过实验方法确定基于窄带特性定位荧光区域的阈值 N 和扩展的最小外接矩阵的扩展参数 X 。

经过分割算法得到的二值图像中每列目标点的数量如图 8 所示,图中两个矩形峰分别代表荧光图

像 T 线区域和 C 线区域,小峰代表荧光试条制备过程中产生的噪声点,峰值在 50 左右。实验结果表明,荧光免疫层析试条图像背景中的噪点长度不会超过 100 个像素点,所以取定位荧光区域的阈值 N 为 100,这样就可以将荧光图像背景中的噪声去除。

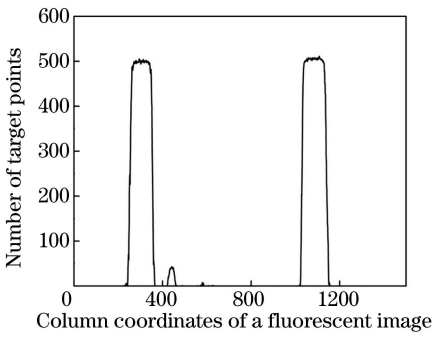


图 8 分割后二值图像中每列目标点的个数

Fig. 8 Number of per column target points in binary image after segmentation

为了确定扩展的最小外接矩阵的扩展参数 X ，选取不同的 X 值对质量浓度分别为 3.125, 12.5, 25, 50, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 5 种荧光试条进行特征值计算。采用不同扩展参数 X 时, 5 种浓度试条的计算特征值与 ESEQuant 荧光分析仪的计算结果之差的绝对值如图 9 所示。实验结果表明, 当扩展参数 $X=30$ 时, 3 种浓度试条的荧光免疫层析仪计算特征值与 ESEQuant 荧光分析仪的计算结果相差最小。因此, 选取 30 作为扩展参数 X 的取值。

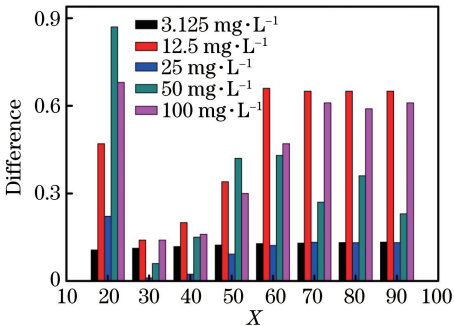


图 9 采用不同扩展参数的计算结果与 ESEQuant 结果的差异

Fig. 9 Differences between calculated results using different extended parameters and ESEQuant results

4.2 分割性能实验

为了对 Otsu 遗传分割算法的分割效果进行客观评价, 采用区域一致性测度 U_M 和区域对比度 C_R 作为客观评价准则^[17]。其中 U_M 和 C_R 的表达式分别为

$$U_M = 1 - \frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{A}, \quad (1)$$

$$C_R = \frac{|f_o - f_b|}{|f_o + f_b|}, \quad (2)$$

式中 A 为归一化参数, 表示整幅图像的像素数; σ_i^2 为第 i 个分割区域的方差, $\sigma_i^2 = \sum_{(x,y) \in R_i} [f(x,y) - \mu_i]^2$, 其中 $f(x,y)$ 为像素 $(x,$

$y)$ 的灰度值, R_i 为第 i 个分割区域, μ_i 为第 i 个分割区域像素点的灰度平均值; f_o 和 f_b 分别为目标区域的灰度平均值和背景区域的灰度平均值。 U_M 越大, 表示各区域的内部越均匀, 分割算法的效果越好。 C_R 越大, 表示目标区域和背景区域的对比度越大, 分割效果越好。

表 1 分割性能评价结果

Table 1 Evaluation results of segmentation performance

Fluorescence concentration / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	U_M	C_R
3.125	0.9925	0.4244
12.5	0.9972	0.5342
25	0.9975	0.6153
50	0.9970	0.6498
100	0.9956	0.6575

从表 1 中可以看出: U_M 大于 0.99, 表明分割后区域的一致性测度比较高, 分割效果比较好; 随着荧光试条浓度升高, C_R 值增大, 表明目标区域和背景区域的对比度增大。

4.3 测量结果的数据分析

采用一组浓度分别为 0, 3.125, 12.5, 25, 50, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准浓度质控检测卡作为被测样本来检验系统的有效性。使用 ESEQuant 荧光分析仪和本课题组仪器测得了不同浓度试条的特征值, 结果如表 2 所示。

表 2 ESEQuant 与本课题组仪器测得的不同浓度试条的特征值

Table 2 Eigenvalues of test strip with different concentrations tested by ESEQuant and our instrument

Fluorescence concentration / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Our instrument	ESEQuant
0	0.2266	0.1338
3.125	0.3614	0.2516
12.5	0.6461	0.5287
25	1.0122	1.0018
50	1.7450	1.6942
100	3.2792	3.4854

由于四参数 Logistic 拟合法在绘制化学荧光免疫分析标准曲线时的效果较好, 所以根据表 2 的数据采用四参数拟合法绘制浓度标准曲线^[18], 其数学模型为

$$Y = (A_1 - A_2) / [1 + (x/x_0)^p] + A_2, \quad (3)$$

式中 x 为荧光试条的浓度, A_1 和 A_2 分别为数据集

起始和终止数据, x_0 为数据集中间位置数据, p 为四参数拟合曲线的陡峭程度。根据表 2 中的数据采用四参数 Logistic 绘制的标准曲线如图 10 所示, 拟合结果如表 3 所示。从表 3 拟合结果可以看出, 本课题组提出的荧光免疫分析仪浓度标准曲线的拟合度 $R^2=0.99944$, ESEQuant 荧光分析仪的浓度标准曲线拟合度 $R^2=0.99689$ 。

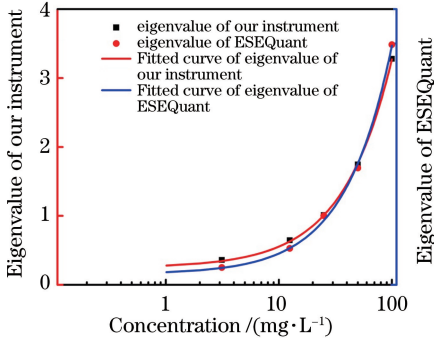


图 10 浓度标准拟合曲线

Fig. 10 Standard fitting curves of concentrations

表 3 浓度标准曲线拟合结果

Table 3 Fitting results of concentration standard curves

Parameter	Fitting result	
	ESEQuant	Our instrument
A_1	0.1562	0.2487
A_2	430359	7929060
x_0	7707080	280011000
p	1.0464	0.9956
R^2	0.99689	0.99944

以浓度分别为 3.125, 12.5, 25, 50, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的荧光免疫层析试条作为样本, 对每种浓度试条进行 10 次重复性检测, 仪器计算特征值结果如表 4 所示。使用标准差和变异系数 C_v 来检测仪器的重复性。标准差和 C_v 值越小, 表示数据的波动越小。其中, 变异系数 C_v 的表达式为

$$C_v = \frac{S_D}{M} \times 100\%, \quad (4)$$

式中 S_D 为数据的标准差, M 为数据的平均值。由表 4 的结果可知, 5 组测试数据的标准差均小于 0.04, C_v 值均小于 5%。

表 4 不同浓度试条特征值的重复性测试结果

Table 4 Repetitive test results of eigenvalues of test strip with different concentrations

Testing number	Fluorescence concentration / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
	3.125	12.5	25	50	100
1	0.3050	0.6058	1.1549	1.6568	4.6381
2	0.3063	0.6363	1.1955	1.6074	4.5679
3	0.3104	0.5888	1.1078	1.6000	4.5489
4	0.3204	0.6386	1.0873	1.6174	4.5489
5	0.3201	0.6000	1.1103	1.6219	4.5706
6	0.3235	0.5948	1.1030	1.6100	4.5706
7	0.3205	0.5794	1.1372	1.6184	4.5945
8	0.3205	0.5871	1.0828	1.6284	4.5165
9	0.3209	0.6376	1.1568	1.6007	4.5717
10	0.3196	0.6247	1.1421	1.6478	4.6115
Mean value	0.3180	0.6093	1.1278	1.6209	4.5739
S_D	0.0057	0.023	0.0356	0.0190	0.0343
$C_v/\%$	1.79	3.77	3.16	1.17	0.75

5 结 论

本课题组设计了一款荧光免疫层析成像检测仪, 利用手持式变倍显微镜采集到清晰的层析试条图像, 通过计算荧光试条图像 T 线与 C 线灰度值的比值, 可以快速准确地实现荧光试条浓度的测量。首先介绍了检测系统的基本结构和工作原理, 分析了分区域 Otsu 遗传算法、荧光区域定位算法和背景滤除方法, 并设计实验获得了算法所需参数。由实验结果可知, 本课题组提出的荧光免疫层析检测

仪可以对荧光免疫试条浓度进行快速准确的测量, 对质量浓度为 3.125~100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准曲线的拟合程度可达 0.99944, 在 10 组重复性测量实验中, 变异系数均小于 5%, 表明系统的重复性很好。

参 考 文 献

[1] Shyu R H, Shyu H F, Liu H W, *et al.* Colloidal gold-based immunochromatographic assay for detection of ricin[J]. *Toxicon*, 2002, 40(3): 255-258.

[2] 李阳, 王云龙. 免疫层析技术的研究进展[J]. 中国

- 卫生检验杂志, 2015, 25(22): 3978-3980.
- [3] Gao Y M, Li T Q, Lin C Y, *et al.* Fluorescent immune-chromatographic strip signal processing and feature selection [J]. Journal of Electronic Measurement and Instrumentation, 2015, 29(5): 662-668.
高跃明, 李天麒, 林传阳, 等. 荧光免疫层析试条光电信号处理及特征量选取[J]. 电子测量与仪器学报, 2015, 29(5): 662-668.
- [4] Huang L H, Zhou L, Zhang Y B, *et al.* A simple optical reader for upconverting phosphor particles captured on lateral flow strip [J]. IEEE Sensors Journal, 2009, 9(10): 1185-1191.
- [5] Reng B Q, Huang L H, Huang H J. Time-resolved fluorometer based on immunochromatography [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2009, 30(6): 1330-1335.
任冰强, 黄立华, 黄惠杰. 基于免疫层析技术的时间分辨荧光免疫分析仪研究[J]. 仪器仪表学报, 2009, 30(6): 1330-1335.
- [6] Liu X, Du M, Li Y R, *et al.* Design of fluorescence immune-chromatographic quantitative detection system [J]. Journal of Electronic Measurement and Instrument, 2013, 27(9): 859-866.
刘翔, 杜民, 李玉榕, 等. 荧光免疫层析定量检测系统的设计与实现[J]. 电子测量与仪器学报, 2013, 27(9): 859-866.
- [7] Chen B T, Huang L H, Guo K, *et al.* Development of a high performance reader for colloidal gold lateral flow strip [J]. Chinese Journal of Lasers, 2013, 40(7): 0704001.
陈贝特, 黄立华, 郭凯, 等. 一种高性能金标条阅读仪的研制[J]. 中国激光, 2013, 40(7): 0704001.
- [8] Zhang X Q, Li D, Wang C, *et al.* A CCD-based reader combined quantum dots-labeled lateral flow strips for ultrasensitive quantitative detection of anti-HBs antibody [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2012, 8(3): 372-379.
- [9] Gui C, Wang K, Li C, *et al.* A CCD-based reader combined with CdS quantum dot-labeled lateral flow strips for ultrasensitive quantitative detection of CagA [J]. Nanoscale Research Letters, 2014, 9(1): 57-64.
- [10] Paek S H, Jang M R, Mok R S, *et al.* Immunochromatographic membrane strip assay system for a single-class plasma lipoprotein cholesterol, exemplified by high-density lipoprotein cholesterol measurement [J]. Biotechnology & Bioengineering, 1999, 62(2): 145-154.
- [11] Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms [J]. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, 1979, 9(1): 62-66.
- [12] Zhang Y J, Xu J R, Fu X H. Method of Brillouin scattering spectrum character extraction based on genetic algorithm and quantum-behaved particle swarm optimization hybrid algorithm [J]. Chinese Journal of Lasers, 2016, 43(2): 0205002.
张燕君, 徐金睿, 付兴虎. 基于 GA-QPSO 混合算法的 Brillouin 散射谱特征提取方法 [J]. 中国激光, 2016, 43(2): 0205002.
- [13] Wang K, Li Q, Lin H Z, *et al.* Ghost imaging with spatial light modulator based on genetic algorithm [J]. Acta Optica Sinica, 2016, 36(2): 0227002.
王凯, 黎全, 林惠祖, 等. 基于遗传算法的空间光调制器鬼成像研究 [J]. 光学学报, 2016, 36(2): 0227002.
- [14] Yang B. Image segmentation of the genetic algorithms on the base of Otsu [J]. Journal of Nature Science of Hunan Normal University, 2003, 26(1): 32-36.
阳波. 基于最大类间方差遗传算法的图像分割方法 [J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2003, 26(1): 32-36.
- [15] Hong H, Huo C H, Wang J, *et al.* Research on front target vehicle identification based on improved Otsu algorithm [J]. Computer Technology and Development, 2016, 26(6): 78-81.
洪浩, 霍春宝, 王京, 等. 基于改进 Otsu 算法在前方目标车辆识别中的研究 [J]. 计算机技术与发展, 2016, 26(6): 78-81.
- [16] Hu B B. Information extraction and quantitative analysis of positive signals in tomographic chip [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2010.
胡贝贝. 层析芯片阳性信号的信息提取和定量分析研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2010.
- [17] Zhen X, Peng Z M. Image segmentation based on activity degree with pulse coupled neural networks [J]. Optics and Precision Engineering, 2013, 21(3): 821-827.
郑欣, 彭真明. 基于活跃度的脉冲耦合神经网络图像分割 [J]. 光学精密工程, 2013, 21(3): 821-827.
- [18] Dong G Y, Zhao X, Zhang Y, *et al.* Development of portable up-conversion photoluminescence strip detector [J]. Optics and Precision Engineering, 2017, 25(3): 584-590.
董国亚, 赵翔, 张燕, 等. 便携式上转换荧光试纸条检测仪的研制 [J]. 光学精密工程, 2017, 25(3): 584-590.