

检测胃蛋白酶原 I 的便携式荧光测试系统

徐明明, 沈威, 夏滑*, 武艺, 薛辉, 陈素娟, 罗晓乐, 顾家鹏

中国科学院安徽光学精密机械研究所光学工程中心, 安徽 合肥 230031

摘要 人体血清中的胃蛋白酶原 I 是临床医学中诊断胃食管反流的常用生物学指标, 而传统的检测方法存在测试时间长、成本高、灵敏度低等缺点。设计了一种能够快速定量检测胃蛋白酶原 I 的荧光测试系统。首先使用便携式显微镜采集样品的荧光图像, 再利用 RGB 颜色通道中 R 通道图像处理算法对荧光图像进行检测和分析。最后根据实验数据, 拟合出标准曲线, 拟合度为 99.556%, 且检测结果的变异系数小于 4.9%。结果表明, 所设计的检测系统能够准确、快速地定量检测胃蛋白酶原 I 的浓度。

关键词 物理光学; 荧光; 显微镜成像; R 通道图像处理; 图像分割; 定量检测

中图分类号 TP212.3; TP216.3

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202158.0526001

Portable Fluorescence Detection System for Measuring Pepsinogen I

Xu Mingming, Shen Wei, Xia Hua*, Wu Yi, Xue Hui, Chen Sujuan, Luo Xiaole, Gu Jiapeng

Optical Engineering Center, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China

Abstract Pepsinogen I in human serum is a common biomarker for diagnosing gastroesophageal reflux in clinical medicine. Traditional detection methods for pepsinogen I have the disadvantages of being time-consuming and having high cost and low sensitivity. In this study, a fluorescence detection system for the rapid and quantitative measurement of pepsinogen I is designed. First, a portable microscope is used to take a fluorescence image of the samples, and then the R channel image-processing algorithm of the RGB color mode is used to detect and analyze the images. Finally, according to experimental data, a standard curve is fitted with a fitting degree of 99.556%, and the variation coefficient of the test results is <4.9%. The experimental results show that the designed detection system can accurately and rapidly quantify pepsinogen I concentration.

Key words physical optics; fluorescence; microscopic imaging; R channel image processing; image segmentation; quantitative detection

OCIS codes 260.2510; 170.2520; 110.2960

1 引言

胃食管反流病(GERD)是指一种胃内容物反流入食管、口腔(包括喉部)或肺所致的症状^[1]。研究发现, GERD是诱发呼吸系统和耳鼻喉系统疾病的一种潜在因素,如哮喘、肺炎、咽喉炎、慢性咳嗽、头颈部恶性

肿瘤等^[2]。食管外组织或器官胃蛋白酶的检测为反流性疾病与肺部、耳鼻咽喉等疾病的相关性提供了直接证据,为深入探究反流性疾病的病理生理学机制提供了新的研究方向^[3-4]。同时大量研究表明,体液胃蛋白酶原 I(PGI)的检测在诊断反流性疾病领域具有良好的应用前景,有望取代具有创伤性的诊断手段^[5]。

收稿日期: 2020-06-03; 修回日期: 2020-07-22; 录用日期: 2020-08-03

基金项目: 国家自然科学基金(41877311)、安徽省重点研究与开发计划(201904c03020005)

*E-mail: huaxia@aiofm.ac.cn

血清 PGI 能够反映胃黏膜腺体和细胞的数量,也间接反映了胃黏膜不同部位的分泌功能。胃黏膜发生病理变化时,血清 PGI 含量也随之改变,PGI 浓度是一个提示反流症状的敏感指标。因此检测血清中 PGI 浓度可以作为诊断胃黏膜状态和 GERD 的方法。酶联免疫吸附试验(ELISA)可以定量检测唾液、中耳分泌物等胃液外体液中的 PGI 浓度^[6],此方法准确度高,但费用较高;毛华等^[7]采用乳胶增强免疫比浊法检测慢性胃炎患者及健康对照者晨起空腹时唾液 PGI 的浓度,此方法的检测步骤比较复杂;24 小时食管 MII-PH 监测法^[8]需要侵入性检查,容易引起患者不适且检测时间较长。因此一种快速准确且无侵入性的检查手段具有重要的研究价值。

针对以上检测方法的弊端,本文设计了一种便携式荧光测试系统。该系统结合荧光微球标记的侧流条和光学显微镜,通过采集样品免疫反应后的荧光图像,利用算法处理 R 通道图像,对不同浓度的 PGI 进行定量检测。该检测方法快速准确、耗时短,可实时检测 PGI 的浓度。

2 荧光免疫层析检测原理

2.1 荧光免疫层析技术

荧光免疫层析技术^[9-10]是一种基于抗原抗体特异性免疫反应的新兴检测技术。免疫层析试纸条由样品垫、结合垫、硝化纤维素(NC)膜及吸收垫组成。该技术将固定有检测线(包被抗体或包被抗原)和质控线(抗抗体)的条状纤维层析材料作为固定相,测试液作为流动相,荧光标记抗体或抗原固定于连接垫,依据毛细管作用,使待分析物在层析条上移动。在本实验中,将荧光微球标记的一种 PGI 单克隆抗体固定在结合垫上,另一种 PGI 单克隆抗体(简称第一抗体)固定在 T 线(检测线)上,抗 PGI 单克隆抗体(简称第二抗体)固定于 C 线(质控线)上。免疫层析试纸条结构如图 1 所示。

实验中,将样品(人血清)添加到样品垫上,在层析过程中,固定在 T 线上的 PGI 单克隆抗体(简称第一抗体)会捕获样品中 PGI 抗原与结合垫中荧光微球标记的抗体结合形成的荧光微球标记的抗体复合物(简称抗体复合物),固定在 C 线上的抗 PGI 单克隆抗体(简称第二抗体)会捕获层析溶液中的荧光复合物。简单来说,检测线 T 线中的第一抗体可以检测抗体复合物,质控线 C 线上的第二抗体可以检测荧光复合物。T 线的荧光强度能反映待测

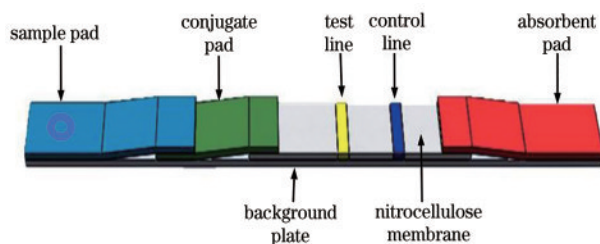


图 1 荧光免疫层析试纸条的结构

Fig. 1 Structural of fluorescent immune-chromatographic test strip

物浓度,C 线的荧光强度能反映含有荧光化合物的层析液是否流过。由于层析过程中,溶液先流经 T 线,其余溶液继续向前移动流经 C 线,所以 C 线的荧光强度可以反映层析是否成功。

2.2 荧光强度与待测物浓度关系

在荧光免疫测试条中,T 线与 C 线中均含有荧光标记的免疫复合物。目标物质的浓度高低与 T、C 线的荧光强度具有密切关系:在荧光成像过程中,光子并不会被完全吸收,同时吸收的光子也并没有完全转换为荧光。研究显示^[11]:当荧光强度(光源照度)稳定、光源与待测物距离不变且待测物浓度较低时,荧光强度和待测物的浓度呈线性关系;若待测物浓度较高,则荧光强度和待测物的浓度不再满足线性关系。目标物质浓度越高则荧光强度越强,反之荧光强度则越弱,因此可以根据 T、C 线的荧光强度来分析待测物浓度,采用 T/C 比值法进行检测。便携式显微镜采集荧光图像后,结合图像算法,将光电信号转换为图像信号,利用灰度值来反映样品中目标物质浓度,从而实现样品中 PGI 浓度的定量检测。

3 便携式显微镜荧光测试系统

目前荧光免疫分析技术的检测灵敏度已经达到了一般检测水平的要求,但随着分析技术的发展,仍有希望建立一个更优的检测体系。在保证检测准确性的前提下,便携式检测系统可以更好地简化检测流程,降低检测系统的应用门槛。

3.1 检测系统

便携式显微镜荧光测试系统的结构总体方案是依据 CMOS 图像传感器扫描特定光源下试纸条的检测方式来进行设计的,由荧光测试条放置平台、手持式变焦显微镜、紫外线 LED 阵列、CMOS 图像传感器、窄带滤波片、计算机等组成。便携式显微镜荧光测试系统的结构如图 2(a)所示。

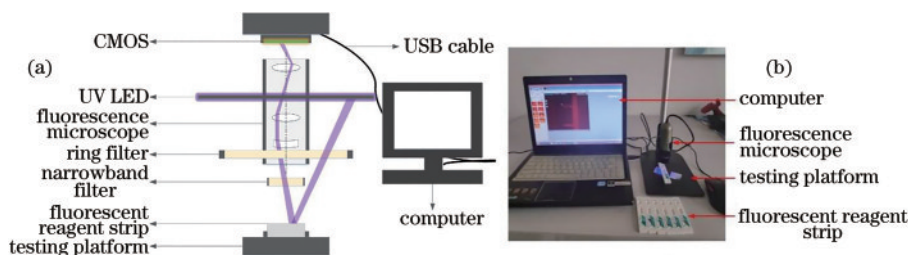


图 2 测试系统。(a)系统原理图;(b)实物现场检测图

Fig. 2 Testing system. (a) Schematic of system; (b) field test picture

各组成部分作用如下。

荧光测试条放置平台:用于放置荧光测试条,使荧光试剂条对准显微镜。

紫色 LED 阵列:由于最终的检测结果与荧光强度具有一定的关系,而激发光源能量的高低与荧光强度密切相关,因此必须选择一个高能量、稳定均匀的光源。LED 灯具有单色性好、方向性好、辐射能量强、寿命长等优点,因而在荧光免疫层析试条检测系统中得到广泛应用^[12]。本系统将作为激发光源的紫色 LED 灯环形阵列布置在显微镜周围,其可提供均匀的激发光,激发光激发荧光标记物,使标记物产生荧光。因为选用的荧光微球需要包含波长为 365 nm 的激发光,因此选用紫色 LED 阵列。

窄带滤光片:为避免杂散光干扰激发光,因此在光源前放置环形滤光片。本系统选用中心波长为 365 nm,半峰全宽为 20 nm 的窄带环形滤光片作为光源滤波片。为了使 CMOS 传感器只接收荧光信号波段的光,同样需在 CMOS 传感器前放置窄带滤光片,选用中心波长为 620 nm,半峰全宽为 20 nm 的窄带滤光片作为信号滤波片。

荧光显微镜:显微镜通过调焦可对图像进行放大或者缩小,调整图像清晰度,提高信噪比,减小误差^[13-14]。清晰度调整后对试剂条荧光图像进行采集,并将图像送至计算机进行图像处理。

CMOS 图像传感器:CMOS 图像传感器具有成像速度快、成本低、功耗小的特点。考虑到成像系统便携性与成本等因素,采用分辨率为 1280×1024 的 CMOS 相机作为系统的图像传感器。

计算机:接收采集的图像,并对图像进行处理分析,并进行数据整理与存储。

为了提高信噪比,减小环境干扰,检测实验必须在暗室环境中进行,暗室环境下获取的荧光图像如图 3 所示。由图 3 可以看出,荧光显微镜在暗室环境下采集的荧光图像主要包含两种信息,即检测线与质控线的荧光信号信息与试剂条背景信息,窄

带滤波片有效地消除了无用信号的干扰。此外,质控线和检测线的显色区域呈红色条带状,分别分布在荧光图像的左右两端,且与背景颜色差异较大,对比度明显。基于此特征,本文设计了一种图像处理算法用于识别检测线与质控线。

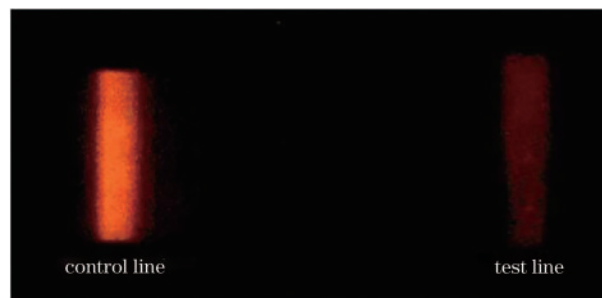


图 3 暗室环境下采集的荧光图像

Fig. 3 Fluorescence image collected in darkroom

3.2 荧光图像处理方法

首先将适量的待测溶液滴加至样品垫,待抗体特异性反应完成后,将荧光试剂条放置在检测平台上,然后利用便携式荧光显微镜采集荧光图像。由于检测线与质控线的荧光信号呈红色条带状,因此提出了一种基于 RGB 颜色通道中 R 通道的荧光图像处理算法。该算法对荧光图像进行滤波、图像通道分离及图像分割,最后利用检测线与质控线的特征值进行标准曲线拟合。此外,当样品浓度较低时,检测线显色不明显,直接对图像进行整体分割时,容易将检测线与背景信息混淆,因此采用局部阈值分割。整体检测流程如图 4 所示。

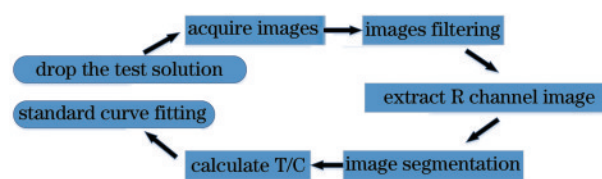


图 4 图像处理流程示意图

Fig. 4 Schematic of image processing process

3.2.1 图像滤波

荧光图像采集完毕后,理想情况下只有检测线、质控线等目标信号及黑色背景信息,但是在实际情况下,荧光会受到诸如图像传感器与激发光等各种噪声的干扰。为了降低噪声影响,提高信噪比,首先需要对图像进行滤波降噪等处理。在实际检测过程中,受成像设备和电路非理想化等干扰,噪声还是不可避免地存在于图像中,主要包括光子随机性带来的泊松光子散射粒噪声、数据读取过程中产生的噪声、有机或无机分子自发荧光可能带来的噪声,此外试剂条本身也容易受到污染,出现污点等现象。均值滤波与中值滤波是常见的平滑滤波方法。均值滤波用掩模中的像素平均灰度值代替原目标像素值,是一种典型的线性空域低通滤波,但是往往会出现图像边缘模糊、细节信息丢失的现象。而中值滤波方法对目标像素点周围邻域的像素灰度值进行排序,然后选取中间值替换原目标像素值,因此中值滤波在抑制噪声的同时可以保留边界信息,对存在椒盐噪声或污染点图像的实际应用效果较好。因此选用中值滤波进行去噪。

3.2.2 图像通道分离

荧光免疫试条成像系统采集的图像是一幅 RGB 图像。一幅 RGB 图像在计算机中是按照三维数组的方式储存的,该数组的尺寸为 $M \times N \times 3$,表示由 3 个 $M \times N$ 大小的二维数组“堆叠”而成。这 3 个二维数组分别代表红、绿、蓝通道。在本实验中,荧光微球的发射波长为 620 nm 左右,而 620 nm 的波长为红光,荧光微球的颜色信号主要在红光波段。因此荧光图像的 R 通道分量包含的荧光信息量最多,所以提取荧光通道的 R 通道图像进行后续处理。

3.2.3 图像分割

在图像分割中,最大类间方差(OTSU)法^[15]是常见的图像分割方法,对于背景信息与目标信息差异较为明显的图像,分割效果较好。

最大类间方差法分割原理:假定图像包含两类像素,即前景像素和背景像素,前景(即目标)和背景的分割阈值记作 T ,属于前景的像素点数占整幅图像的像素点数的比例记为 A_0 ,平均灰度为 C_0 ;背景像素点数占整幅图像的比例为 A_1 ,平均灰度为 C_1 ;整幅图像的平均灰度记为 K ,类间方差记为 L 。假设图像大小为 $M \times N$,检索图像中每个像素点的灰度值,小于阈值 T 的像素点个数为 B_0 ,灰度大于阈值 T 的像素点个数为 B_1 。

$$\begin{cases} A_0 = B_0 / M \times N \\ A_1 = B_1 / M \times N \\ B_0 + B_1 = M \times N \\ A_1 + A_0 = 1 \\ K = A_0 \times C_0 + A_1 \times C_1 \\ L = A_0 (C_0 - K)^2 + A_1 (C_1 - K)^2 \\ L = A_0 A_1 (C_0 - C_1)^2 \end{cases} \quad (1)$$

采用遍历的方法使得类间方差 L 最大的阈值为 T ,即为所求。

但是本实验包含检测线与质控线两个目标信号,且两个荧光信号强度存在差异性,特别是当检测低浓度的待测溶液时,检测线显色不明显,荧光信号微弱,与背景对比度较低,此时质控线显色较为明显,与检测线灰度值具有明显的灰度值差。此时若直接对荧光图像进行整体阈值分割,容易将检测线与背景信息归为一类,无法识别出检测线。通过观察可以发现,检测线与质控线分别处于荧光图像的左右两侧,位置相对固定,因此根据检测线与质控线在荧光图像中的分布特性,采用局部 OTSU 阈值分割方法对检测线与质控线进行识别。

为了能够更加精确地找到 T 线与 C 线,使检测结果更加精确,首先对采集的图像进行预处理分割。试剂条结构 T 线与 C 线的位置相对固定,因此将图像分为左右两部分,分别进行局部 OTSU 阈值分割处理,再分别求取 T 线和 C 线的灰度均值,这样在减少计算量的同时能够增加局部对比度。分割对比结果如图 5 所示。通过图 5 可以看到,当检测线显色不明显,与背景难以进行区分时,若对图像进行整体分割,容易出现将检测线误认为背景的现象,而局部进行阈值分割,则在局部增加了检测线与背景信息的对比度,可以将检测线与质控线准确识别出来。

3.3 快速定量检测模式

目前用于定量检测的模式有 T 线值法、T/T0 比值法、T/(T+C)法、T/C 法。免疫层析快速检测中较常用的定量分析方法是 T/C 比值法,因为待测溶液在层析过程中抗原抗体特异性反应是一个动态过程,T 线与 C 线的颜色也在不断变化,最终会达到一个动态平衡,此时用 T/C 比值法可以消除部分外界环境变化与样品基质带来的影响,检测结果更可靠^[16]。Yang 等^[17]的研究表明,以 T/C 比值作为纵坐标进行标准曲线拟合,再对待测样品进行检

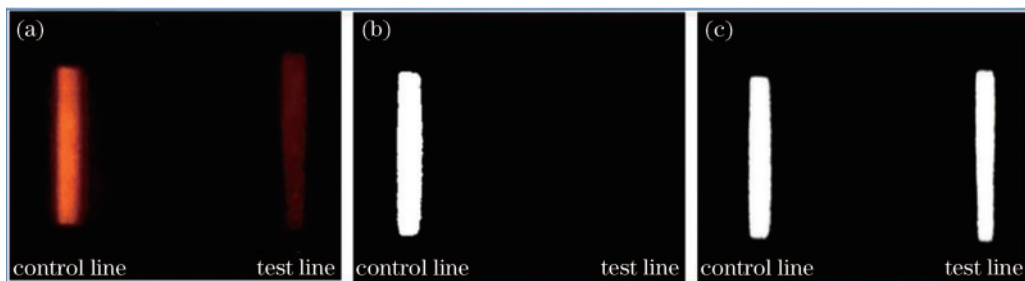


图 5 荧光图像。(a)原始图像;(b)整体 OTSU 的分割结果;(c)局部 OTSU 分割结果

Fig. 5 Fluorescence images. (a) Original image; (b) segmentation result of global OTSU; (c) segmentation result of local OTSU

测,检测结果显示,灵敏度有明显的提高。因此采用 T/C 比值法进行检测。

3.4 样品检测实验

滴入荧光免疫分析条中的液体样品为人血清,血清样品需离心处理,保存温度为 -20°C 。实验制备

了质量浓度分别为 0, 6.44, 54.65, 107.68, 130.03, 174.43, 213.55, 239.74, 276.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的血清 PGI, 并用制备的试纸条进行测试。每次实验时,用移液管吸取 70 μg 样品,并将样品滴加在样品垫上,20 min 后系统记录 T/C 值。所得数据如表 1 所示。

表 1 不同的 PGI 质量浓度下的 T/C 值

Table 1 T/C value under different PGI mass concentration

Mass concentration/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	0	6.44	54.65	107.68	130.03	174.43	213.55	239.74	276.4
T/C value	0.145	0.339	1.111	1.533	1.612	1.871	2.109	2.244	2.286

根据样品的质量浓度和 T/C 值,采用四参数拟合方法^[18]绘制标准曲线,如图 6 所示。四参数拟合是免疫分析领域中最常用的拟合方法,用来表征抗原的吸收率与质量浓度之间的关系。四参数拟合的数学模型为

$$Y = (a - d) / [1 + (x/c)^b] + d, \quad (2)$$

式中: x 为样品的质量浓度;参数 a 和 d 分别为数据集的起点和终点; c 为数据集中间位置数据; b 为四参数拟合曲线的斜率。对表 1 中的质量浓度和 T/C 值进行标准曲线拟合,得到各参数的值为 $a=0.13207$, $b=0.69548$, $c=696.23815$, $d=6.58378$, 标准曲线的拟合度 $R^2=0.99556$, 拟合效果良好。

为了检验设备的可靠性与准确性,将质量浓度

分别为 0, 6.44, 54.65, 107.68, 130.03, 174.43, 213.55, 239.74, 276.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的血清 PGI 作为实验样品。并对每个样品进行 10 次重复实验。实验结果如表 2 所示,SD 为标准差,CV 为变异系数。

根据表 2 可以看出,SD 均小于 0.1,CV 均小于 4.9%,而商业上普遍的流式荧光检测法 CV 为批内 4.26%~5.35%,批间 6.73%~7.75%^[19],时间分辨荧光免疫分析法批内和批间 CV 分别为 1.9% 和 4.7%^[20]。证明本系统具有便携性的同时,检测结果具有较高的稳定性和准确性。

4 结 论

设计了一种用于检测人体血清中 PGI 浓度的便携式荧光测试系统。通过便携式荧光显微镜采集待测样品免疫反应后的荧光图像,根据荧光图像的分布特性与显色特征,利用最大类间方差法对 R 通道图像进行局部分割,求取 T 线和 C 线的灰度值,求出 T/C 比值,并对多种质量浓度的标准样品进行实验。对实验数据进行四参数标准曲线拟合,结果显示拟合度为 99.556%。在稳定性实验中,10 次重复实验的 CV 值均小于 4.9%。本测试系统结构简单、便于携带,结果证明,本系统可以准确快速检测人体血清中的 PGI 浓度,对监测胃黏膜状态和诊断 GERD 具有重大参考价值。

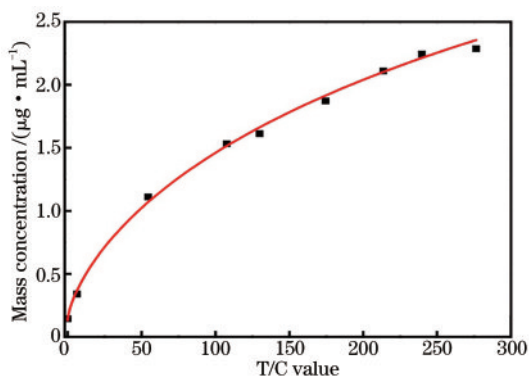


图 6 标准曲线拟合

Fig. 6 Standard curve fitting

表 2 不同 PGI 质量浓度下的 T/C 值实测结果
Table 2 Test results of T/C value under different PGI mass concentration

Testing No.	0 μg/mL	6.44 μg/mL	54.65 μg/mL	107.68 μg/mL	130.03 μg/mL	174.43 μg/mL	213.55 μg/mL	239.74 μg/mL	276.4 μg/mL
1	0.145	0.339	1.111	1.533	1.612	1.871	2.109	2.244	2.286
2	0.144	0.327	1.191	1.476	1.682	1.822	2.175	2.217	2.286
3	0.139	0.338	1.141	1.512	1.600	1.806	2.171	2.299	2.285
4	0.145	0.331	1.180	1.569	1.633	1.849	2.184	2.176	2.403
5	0.144	0.363	1.222	1.446	1.632	1.833	2.205	2.370	2.372
6	0.144	0.326	1.115	1.467	1.629	1.834	2.180	2.358	2.225
7	0.149	0.325	1.078	1.505	1.639	1.823	2.189	2.215	2.446
8	0.145	0.344	1.124	1.496	1.655	1.836	2.141	2.318	2.426
9	0.146	0.326	1.039	1.459	1.632	1.888	2.169	2.225	2.164
10	0.146	0.349	1.162	1.529	1.627	1.802	2.170	2.284	2.225
Mean value	0.1447	0.3368	1.1363	1.4992	1.6341	1.8364	2.1693	2.2706	2.3118
SD	0.00250	0.01245	0.05481	0.03819	0.02234	0.02694	0.02680	0.06536	0.09543
CV/%	1.73	3.69	4.82	2.55	1.37	1.47	1.24	2.88	4.13

参 考 文 献

[1] Schoeman M N, Tippet M D, Akkermans L M A, et al. Mechanisms of gastroesophageal reflux in ambulant healthy human subjects [J]. *Gastroenterology*, 1995, 108(1): 83-91.

[2] Kohn G P, Price R R, DeMeester S R, et al. Guidelines for the management of hiatal hernia [J]. *Surgical Endoscopy*, 2013, 27(12): 4409-4428.

[3] Trudgill N J, Riley S A. Transient lower esophageal sphincter relaxations are no more frequent in patients with gastroesophageal reflux disease than in asymptomatic volunteers [J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2001, 96(9): 2569-2574.

[4] Lin Y T, Xu J S, Xie S S, et al. Research progress on fluorescence imaging and spectral analysis for liver fibrosis [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(1): 010002.
林雅婷, 许建树, 谢树森, 等. 肝纤维化荧光成像及光谱分析研究进展 [J]. *激光与光电子学进展*, 2020, 57(1): 010002.

[5] Li J R. The significance of pepsin detection in the saliva for diagnosis of laryngopharyngeal reflux diseases [J]. *Chinese Medical Digest: Otorhinolaryngology*, 2018, 33(1): 2-4.
李进让. 唾液胃蛋白酶检测对诊断咽喉反流性疾病的意义 [J]. *中国医学文摘耳鼻喉科学*, 2018, 33(1): 2-4.

[6] Li X P, Chen S, Wang L, et al. Pepsin immunoassay

in the sputum for detection of laryngopharyngeal reflux [J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2009, 44(2): 99-104.

李湘平, 陈顺金, 王路, 等. 唾液中胃蛋白酶检测对咽喉反流的诊断价值 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 44(2): 99-104.

[7] Mao H, Qiu W D, Tang Y L, et al. Correlation between the level of saliva pepsinogen and gastroesophageal reflux disease [J]. *The Journal of Practical Medicine*, 2013, 29(6): 913-915.

毛华, 丘文丹, 唐银丽, 等. 唾液中胃蛋白酶原的浓度与胃食管反流病的相关性 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(6): 913-915.

[8] Liang X. Study on diagnostic value of esophageal MII-pH monitoring for NERD and FH [J]. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 2018, 23(8): 482-485.
梁雄. 食管 MII-pH 监测对 NERD 和 FH 诊断价值的研究 [J]. *胃肠病学*, 2018, 23(8): 482-485.

[9] Huang S B, Huang Y L, Wang M, et al. Fluorescent quantitative immunochromatography: a novel approach to ultrasensitive diagnosis [J]. *Journal of Tropical Medicine*, 2018, 18(10): 1390-1393.

黄穗滨, 黄亚兰, 王淼, 等. 荧光定量免疫层析技术在诊断上的应用 [J]. *热带医学杂志*, 2018, 18(10): 1390-1393.

[10] Zhang S W, Wang S F, Yao T Q, et al. Microsphere-based fluorescence immunochromatographic assay for quantitative detection of tetrodotoxin [J]. *Food Science*, 2017, 38(20): 312-317.

- 张世伟, 王士峰, 姚添琪, 等. 荧光微球免疫层析技术定量检测河鲀毒素[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 312-317.
- [11] Yao Y H. Research on fluorescence detection system for quantitative PCR instruments[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011: 22-34.
姚英豪. 定量 PCR 仪荧光检测系统研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011: 22-34.
- [12] Ren 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.
- [13] Xu X H, Xia G, Jin S Q, et al. Design of imaging detection system for fluorescent immune-chromatographic test strip[J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(4): 0407005.
徐笑哈, 夏果, 金施群, 等. 荧光免疫层析试条成像检测系统的设计[J]. 中国激光, 2018, 45(4): 0407005.
- [14] Yu X H, Liu C, Bai C, et al. Progress in light-sheet fluorescence microscopy and applications[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(10): 100001.
于湘华, 刘超, 柏晨, 等. 光片荧光显微成像技术及应用进展[J]. 激光与光电子学进展, 2020, 57(10): 100001.
- [15] Wang Z, Du J K, Kou H Y, et al. A fast edge image interpolation algorithm based on Otsu threshold segmentation [J]. Modern Electronics Technique, 2019, 42(2): 71-74, 79.
王震, 杜进楷, 寇宏玉, 等. 基于 Otsu 阈值分割的边缘快速图像插值算法[J]. 现代电子技术, 2019, 42(2): 71-74, 79.
- [16] Li C H, Luo W, Xu H Y, et al. Development of an immunochromatographic assay for rapid and quantitative detection of clenbuterol in swine urine [J]. Food Control, 2013, 34(2): 725-732.
- [17] Yang Q H, Gong X Q, Song T, et al. Quantum dot-based immunochromatography test strip for rapid, quantitative and sensitive detection of alpha fetoprotein [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 30(1): 145-150.
- [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.
- [19] Wang S L. Clinical application of flow fluorescence assay in detection of serum pepsinogen[D]. Shihezi: Shihezi University, 2015: 7-10.
王绍亮. 流式荧光法检测胃蛋白酶原在临床的应用[D]. 石河子: 石河子大学, 2015: 7-10.
- [20] Huang B, Xiao H L, Zhang X R, et al. Time-resolved fluoroimmunoassay of pepsinogen I [J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2004, 24(6): 492-495.
黄彪, 肖华龙, 张祥瑞, 等. 胃蛋白酶原 I 时间分辨荧光免疫分析法的建立[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(6): 492-495.