定量胶体金试剂条浓度检测方法

王 帅 郑德智 樊尚春

(北京航空航天大学 仪器科学与光电工程学院, 北京 100191)

摘 要: 胶体金免疫层析浓度检测方法主要利用比色原理, 当被检测液体中抗原与试剂条上抗体反应后, 试剂条上检测区域颜色发生变化, 与标准比色卡进行比较, 即可定性分析浓度. 目前胶体金试剂条大多为半定量测量, 使其应用范围受到限制. 采用一种基于 DSP (Digital Signal Processor)的嵌入式图像处理系统, 利用 CMOS(Complementary Metal Oxide Semiconductor)图像传感器获取定量胶体金试剂条图像信息, 根据图像特点进行 Bayer变换、白平衡处理, 提取出图像特征量条纹强度, 建立图像特征条纹强度与样本浓度值的函数关系, 实现被检测液体浓度的精确测量. 与其它方法相比, 具有精度高、检测速度快等优点. 实验结果表明: 基于 DSP 硬件平台的定量胶体金试剂条浓度检测精度可达到 ?5%, 重复性误差达到 ?1%, 具有一定的应用价值.

关 键 词: 胶体颗粒; 图像传感器; 图像处理; 浓度

中图分类号: TN 911.73

文献标识码: A 文 章 编 号: 1001-5965(2009)08-0942-04

Detecting method of quantitative colloidal gold test strip concentration

Wang Shuai Zheng Dezhi Fan Shangchun

(School of Instrument Science and Opto-electronics Engineering, Beijing University of Aeronautics and Astronautics, Beijing 100191, China)

Abstract: Colloidal gold immunochromatography assay concentration detecting method uses the colorimetric principle, which compares with the color standard card by using color varietal detection area, after a reaction between antigen of the measured liquid and antibody of the reagent strip. It's a qualitative concentration analysis. At present, colloidal gold test strip is mostly semi-quantitative, which tends to limit its use. It adopted an embedded image processing system which based on the digital signal processor (DSP). The image information of the quantitative colloidal gold test strip was sampled by the image sensor complementary metal oxide semiconductor (CMOS), dealt by Bayer transformation, white balance processing, image feature information of fringe intensity extraction, and then established the functional relation between image feature information of fringe intensity and sample concentration, so it can realize accurate measurement. Compared with other methods, it has advantages of high precision, fast inspection speed and so on. The results show that the method of quantitative colloidal gold test strip concentration detection has upper applied value, which based on the DSP hardware platform, it's precision can be up to ?5%, repeatability error reaches ?1%.

Key words: colloids; micelles; image sensors; image processing; concentration

胶体金试剂条法测定样品, 主要是通过与标准比色卡比较, 进行目视定性分析[1]. 这种测定最适合于检测正常人体液中未含有的或含量极低而疾病时明显升高的物质. 在测定一般正常体液中存在而在疾病时升高的物质时, 以超过正常参考值上限为阳性界限, 往往不能满足临床要求[2], 因此需要精确定量检测胶体金试剂条的浓度.

收稿日期: 2008-07-03

基金项目: 航空科学基金资助项目 (2007ZD51050)

作者简介: 王 帅 (1984-), 女, 吉林磐石人, 博士生, shuai841007@yahoo.com.cn

定量胶体金试剂条检测需要专用检测仪器实现浓度的定量测量[3]. 定量胶体金试剂条浓度检测仪的研制将为定量胶体金试剂条法检测提供更广阔的发展前景. 提高试剂条检测的精度和灵敏度, 扩大检测范围, 具有广泛的应用价值.

1　硬件平台

定量胶体金试剂条检测仪的系统框图如图 1所示. 系统硬件由光源、CMOS(Complementary MetalOxide Semiconductor)图像传感器、放大镜头、数字信号处理单元、液晶显示、键盘输入和微型打印机等部分组成.

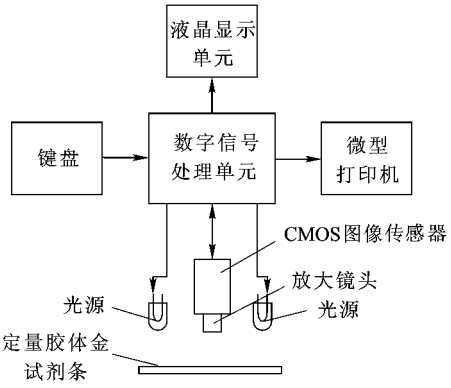


图 1　定量胶体金试剂条检测仪原理框图

系统以 TI公司的 TMS320VC33150处理器为核心, 外扩 512k @32bit SRAM(System Random AccessMemory)作为为图像存储单元, 辅助 FPGA(Field Programmable Gate Array)(Altera公司的 EP1K50QC208)实现系统控制与管理.

检测仪通过 CMOS图像传感器采集定量胶体金试剂条敏感区域的图像信息, 通过系统软件的综合计算, 测定定量胶体金试剂条条纹强度, 并与胶体金试剂条厂家提供的标准数据曲线进行对比, 即可定量测定被检测液体相应的抗原浓度.

2　检测方法

2 1　胶体金试剂条图像特点分析

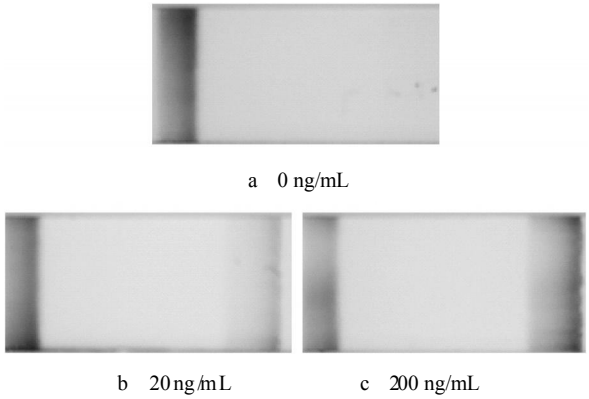
定量胶体金在不同浓度的 C反应蛋白(CRP, C Reactive Protein)标准溶液中的反映效果不同[4], 如图 2所示.

研究发现, 试剂条上的图像具有以下特点:

1) 试剂条图像上条纹的位置及条纹形状比较规则, 只有微小偏差.

2) 通过前期数据分析, 535 nm 波长的定量胶体金试剂条, 仅利用图像绿分量信息就可以分辨试剂条浓度且满足系统精度要求.

3) 随检测溶液浓度的增加, 样品中相应抗原与抗体发生的特异性反应接近饱和, 试剂条图像的水平方向灰度变化逐渐平缓.



a　0 ng/mL

b　20 ng/mL　　c　200 ng/mL

图 2　定量胶体金在不同浓度 CRP标准溶液时的效果

由于生化反应的影响, 试剂条图像目标区域中的像素点光密度值分布不太均匀; 各个试剂条图像绝对光密度值是不一样的.

2 2　图像处理方法

基于待测溶液在胶体金试剂条上反应后所呈现图像的特点, 将图像分析处理的过程按图 3划分为 4个主要阶段. 第 1阶段为开窗操作阶段: 截取图像中条纹区域, 提高图像分析处理速度. 第 2阶段为去马赛克阶段: 在该阶段完成图像从 Bayer格式到真彩色图的重建[5]. 第 3阶段为自动白平衡阶段: 通过调整红、绿、蓝 3分量的通道增益, 保证图像的色彩逼真度. 第 4阶段为特征值提取阶段: 在该阶段中选取并计算图像的特征量.

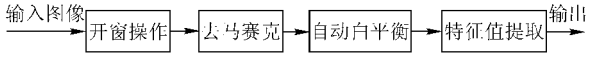
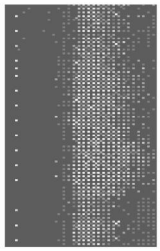


图 3　试剂条图像分析处理的 4个阶段

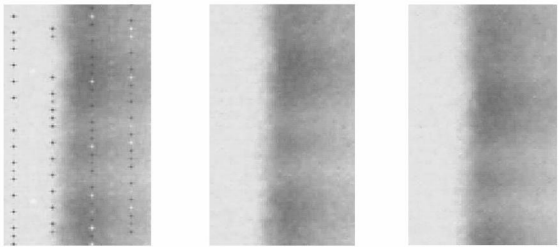
1) Bayer图像处理方法

本文采用 CMOS摄像头采集胶体金试剂条的反应结果图像, 输出的原始数据满足 Bayer模式. 对图像开窗操作后, 用 Matlab软件对常用插值算法[6] (双线性插值算法、适应性颜色层插值算法、Ron Kimmel插值算法)分别进行仿真, 仿真结果如图 4所示. 本文截取图像中条纹与背景的一块边缘区域作比较.

通过图像质量和算法复杂度两个方面进行评估. 结合图 4显示结果, 双线性插值算法和 Ron Kimmel插值算法均不很适宜. 由于适应性颜色层法的试剂条图像的边缘方向较为规则, 恢复的图像效果已经能满足系统要求, 色彩失真度小, 纹理清晰度高, 因此, 适应性颜色层法适用于胶体金试剂条图像的去马赛克处理.



a 传感器获取的原始图像



双线性 适应性颜色层 Ron Kimmel

b 3种插值算法的去马赛克图像

图 4 插值算法的效果比较

2) 改进的自动白平衡

白平衡一般具有 3个基本操作[7], 如图 5.

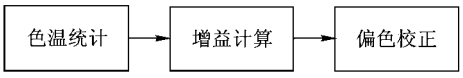


图 5 自动白平衡基本操作

本文提出了一种改进的白平衡算法, 其结合了全局白平衡与自适应白平衡[8]这两种算法的优点. 在估算图像色温时, 考虑自适应白平衡算法; 在计算通道增益时, 考虑全局白平衡算法.

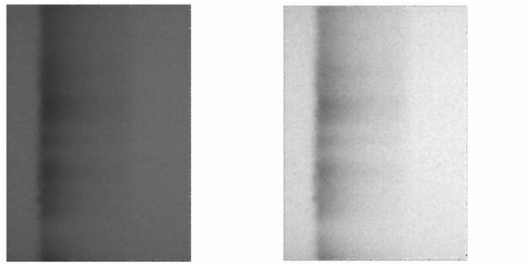
首先进行色度空间的转换, 红、绿、蓝转换成 YCbCr, 约束条件选用文献[8]提出的色温统计算法的约束条件. 在 Y足够大、Cb和 Cr足够小的空间里定义了一个区域, 认为落在此区域内的像素是白色的, 可以参与色差的计算. 为最大程度减少变换中的舍入误差, Cb和 Cr的范围为 0~ 255.

设满足条件的像素点有 n个, 将 n个像素的 Y值从大到小排列, 认为排列前 10% 的像素是白色像素. 然后将图像的红、绿、蓝 3通道乘以各自增益, 从而调节图像中红、绿、蓝分量的比例, 完成图像的自动白平衡调整.

图 6显示了胶体金试剂条条纹图像的自动白平衡效果, 其中图 6a为去马赛克处理后得到的偏色图像, 图 6b为改进白平衡算法输出图像.

3) 试剂条图像特征提取

由于特征值条纹强度表征了胶体金试剂条图像的颜色相关吸光度, 本文选其作为图像的特征量[6]. 根据数学模型将反应的试剂条图像特征转化为被测样本的浓度值.



a 偏色图像 b 白平衡校正图像

图 6 改进白平衡算法图像效果

由试剂条条纹图像可以看出, 在垂直方向上图像灰度变化很小, 而在水平方向上灰度呈拱形变化. 利用这一特征, 可以把二维图像映射到一维空间内分析处理. 即把某一色彩分量的垂直方向上各点灰度累加求和, 并求出平均值作为水平方向上坐标点对应的灰度值, 得到水平灰度分布曲线. 这种在一维空间内的图像水平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. 图 7所示为图 6b的红、绿、蓝分量水平灰度分布曲线. 条纹强度可直接利用图像的水平灰度分布曲线得出.

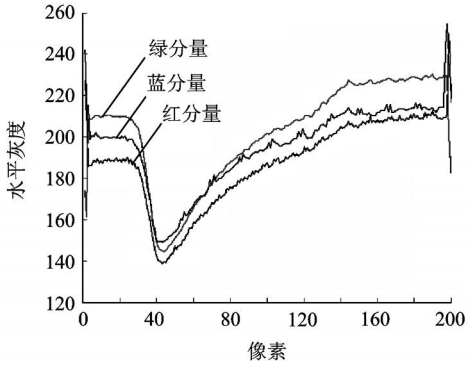


图 7 红、绿、蓝分量水平灰度分布曲线

由于本文采用 535 nm波长定量胶体金试剂条, 只需利用绿分量信息就可以分辨试剂条浓度. 随着样本溶液浓度的增加, 图像颜色也随之增加缓慢, 因此需要平滑曲线拟合. 显然此模型难以用单一数学表达式表示, 因此本文采用三次样条曲线拟合的方法, 它具有分段曲线平滑拟合的特点.

3 结果分析

使用 CRP标准品配制表 1所示的浓度, 采用本文以上提出的检测方法, 得到拟合曲线如图 8所示.

为了抑制操作过程中的随机误差, 每个浓度点用 10条试剂条进行 2次测试, 每条试剂条的每次测试连续测量 5次, 得出 100个特征值后取其均值作为此浓度点的条纹强度值.

表 1　CRP标准浓度检测结果

CRP浓度 / (ng# mL^{-1})	条纹强度	CRP浓度 / (ng# mL^{-1})	条纹强度
0	189. 40	75	257. 14
5	214. 22	100	261. 64
10	228. 30	125	262. 14
20	237. 74	150	262. 34
35	240. 74	200	263. 14
50	249. 24		

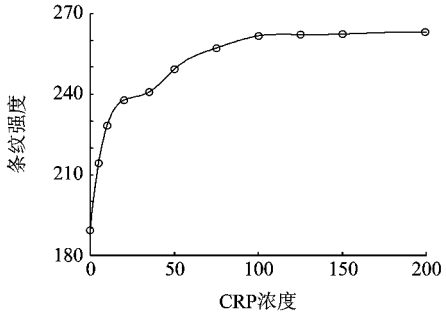


图 8　三次样条拟合曲线

以浓度 75 ng/ml为例, 图 9为 10条试剂条的 2次测试结果, 每条试剂条连续 5次测量得到的平均值. 结果表明, 2次测试的平均值相对误差最大为 - 1. 51%, 次之为 - 1. 01%, 其余误差均在 ? 1%之内, 达到精度要求, 效果较为理想.

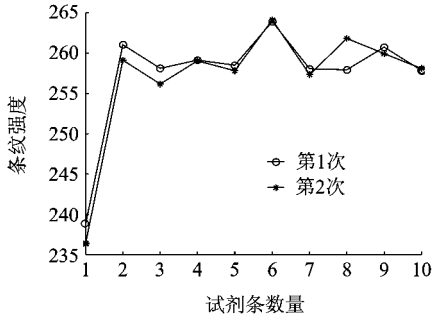


图 9　2次测试的条纹强度

参考第 5号试剂条的第 2次测试过程, 检测仪对其进行的 5次等精度测量. 其结果离散度较小, 误差均在 ? 1%之内. 利用贝塞尔公式则条纹强度均方根误差为 0. 082 0. 其误差完全按照正态分布, 此时置信概率为 95%. 可得重复性误差不超过 ? 0. 063%.

不同试剂条之间存在一定误差, 可能原因是: 制备标准试剂条时, 存在较多人为因素干扰造成样本误差; 试剂条放置在检测仪中的位置没有固定, 存在一定的位置误差; CMOS图像传感器中存在的各种噪声对检测结果有较大影响.

4　结　论

基于定量胶体金在不同浓度的 CRP标准溶液中反应后的图像特点, 本文设计实现了基于 DSP图像处理系统的定量胶体金试剂条浓度的检测方法, 利用 CMOS图像传感器采集原始图像, 进行 Bayer变换、白平衡处理, 提取出图像特征量条纹强度, 最后建立图像特征条纹强度与样本浓度值的函数关系. 对试剂条图像进行了定量分析, 精度达到 ? 5%, 重复性误差达到 ? 1%. 综合实验结果的详细分析, 检测结果符合实际情况, 此设计具有一定的应用价值.

参考文献 (References)

[1] Abe C, Hirano K, Tomiyama T. Simple and rapid identification of the mycobacterium tuberculosis complex by immunochromatographic assay using anti2MPB64 monoclonal antibodies[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37(11): 3693- 3697

[2] Jelinek T, Wastlhuber J, Proll S, et al. Influence of rheumatoid factor on the specificity of a rapid immunochromatographic test for diagnosing dengue infection[J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2000, 19(7): 555- 556

[3] Mayhew M, Griffiths H, Lucocq M. Applications of an efficient method for comparing immunogold labeling patterns in the same sets of compartments in different groups of cells[J]. Histochem Cell Biol, 2004, 122: 171- 177

[4] 王磊. 嵌入式金标试纸读取仪的研究与实现[D]. 长春: 吉林大学通信工程学院, 2006
Wang Lei. The research and implementation of colloidal gold test strip reader on embedded system[D]. Changchun: School of Communication Engineering, Jilin University, 2006 (in Chinese)

[5] 张卫宁, 赵子婴. 基于 DSP的彩色图像三基色重建算法及实现[J]. 计算机工程, 2002, 28(8): 111- 113
Zhang Weining, Zhao Ziying. Three2color data reproduction algorithm and implementation for the color image based on CCD and DSPs[J]. Computer Engineering, 2002, 28(8): 111- 113 (in Chinese)

[6] 贺钦, 刘文予. 数字图像传感器颜色插值算法研究[J]. 小型微型计算机系统, 2007, 28(8): 1482- 1485
He Qin, Liu Wenyu. Research on color interpolation algorithms for digital image sensors[J]. Journal of Chinese Computer Systems, 2007, 28(8): 1482- 1485 (in Chinese)

[7] 周荣政, 何捷, 洪志良. 自适应的数码相机自动白平衡算法[J]. 计算机辅助设计与图形学学报, 2005, 17(3): 529- 533
Zhou Rongzheng, He Jie, Hong Zhiliang. Adaptive algorithm of auto white balance for digital camera[J]. Journal of Computer2Aided Design & Computer Graphics, 2005, 17(3): 529- 533 (in Chinese)

[8] Cheng Yongqing, Liu Ke, Yang Jingyu. A novel feature extraction method for image recognition based on similar discriminant function (SDF)[J]. Pattern Recognition, 1993, 26(1): 115- 125

(责任编辑: 刘登敏)