

文章编号: 1671-7104(2019)02-0112-03

一种基于CMOS传感器免疫胶体金判读仪的研制

【作者】王雷, 段志超

天津派普大业仪器科技有限公司, 天津市, 300400

【摘要】该文分别从机械、硬件、软件等方面介绍了一种通过CMOS传感器采集图像, 然后在Linux系统平台上运用图像处理算法分析免疫胶体金试纸显色反应的判读仪器。判读仪首先为每种测试项目单独设置并保存参数, 然后测试项目样品时调用已保存的该项目参数进行测试, 因此判读仪可以应用于多种领域多种项目。该文通过对临床中的CRP(C型反应性蛋白)标准样品进行定量实验测试, 结果表明仪器拟合优度($R^2=0.99$), 重复性大于93%。

【关键词】胶体金; CMOS图像传感器; 定量测试

【中图分类号】R446.6

【文献标志码】A

doi: 10.3969/j.issn.1671-7104.2019.02.010

Development of Colloidal Gold Detector Instrument Based on CMOS Image Processing

【Writers】WANG Lei, DUAN Zhichao

Tianjin Paipudaye Instrument Technology Co Ltd, Tianjin, 300400

【Abstract】This paper introduces a kind of immune colloidal gold detector instrument from the aspects of machinery, hardware and software. The instrument first collects one image through a CMOS sensor and then analyzes the image with image processing algorithm on Linux platform. Firstly, the instrument sets and stores the parameters separately for each test item, and then calls the saved item parameters when testing the item sample. So, the instrument can be used in a variety of fields and items. In this paper, a quantitative experimental test on C-reactive protein sample was performed, and the results indicate the coefficient of determination what denoted R^2 equal to 0.99, and the repeatability is greater than 93%.

【Key words】colloidal gold, CMOS image sensor, quantitative test

0 引言

免疫胶体金技术是以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种免疫标记技术。基于免疫胶体金检测技术有操作简单、检验时间短、灵敏度高、价格便宜等特点, 目前已广泛应用临床检验、毒品检测、动植物检疫、食品安全监督等领域^[1-2]。

传统的免疫胶体金判读仪大部分只能应用于特定领域、特定项目的检测, 增加了判读仪器的复杂性和多样性。本文基于对传统的免疫胶体金判读仪判读方法的总结和归纳, 设计研制了一种多功能、普遍适用的免疫胶体金定性、定量判读仪。

1 原理

1.1 免疫胶体金层析试纸原理

如图1, 在免疫胶体金试纸条上, 抗原被包被在金标试纸条的检测T线区域, 而抗金标抗体被包被在了控制C线区域, 进行检测时, 如果样本中有待检物质, 依据抗原和抗体的反应原理, 在检测T线区域就会生成一种抗原和金标抗体的复合物, 在控制C线区

域生成一种抗原、金标抗体以及抗金标抗体的复合物, 呈现显色反应^[3-4]。

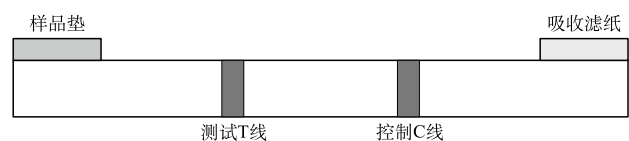


图1 免疫胶体金试纸条
Fig.1 Immune colloidal gold test strip

1.2 判读仪设计原理

免疫胶体金层析试纸由于在不同领域不同项目有着不一样的形状和大小, 因此判读仪能够自动识别试纸条C线和T线的位置成为判读仪研制的关键技术之一。当添加新的测试项目的时候, 判读仪通过对免疫胶体金层析标准试纸进行图像采集、图像处理、图像分析等过程自动确定该项目免疫胶体金层析标准试纸的测试参数, 并将该参数保存下来。然后当测试该项目免疫胶体金层析普通试纸的时候, 判读仪调用已保存该项目的测试参数, 进行图像采集、图像处理、图像分析等计算普通试纸的判读结果^[5]。

收稿日期: 2018-08-24

作者简介: 王雷, E-mail: njauwl@163.com

2 系统设计

2.1 机械设计

如图2, CMOS传感器垂直于胶体金试纸条, 当胶体金试纸条就位后, 在LED照明灯照射下, CMOS传感器获得胶体金试纸条图像。

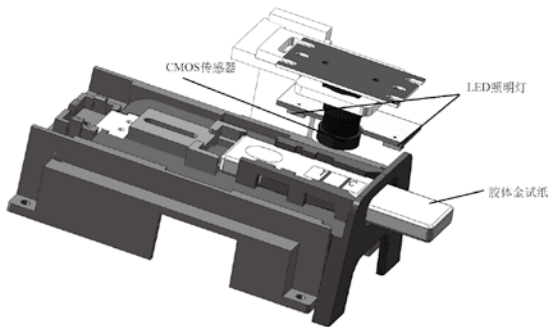


图2 CMOS传感器结构
Fig.2 CMOS sensor structure

2.2 硬件设计

主控模块采用ATMEL公司的AT91SAM9X5系列的处理器芯片。基于该芯片安装Linux操作系统。CMOS传感器采用USB接口的高清CMOS摄像头。IC卡读卡器用于存储和读取测试项目参数。另外触摸屏采用电容屏, 具有良好的交互体验。

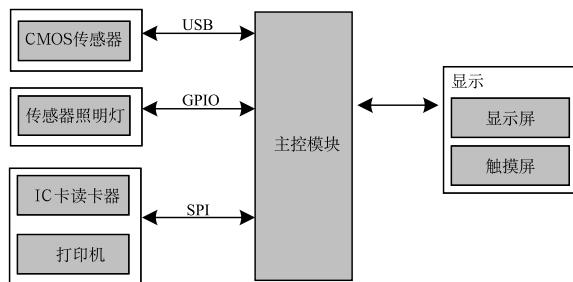


图3 硬件结构
Fig.3 Hardware structure

2.3 软件与算法设计

2.3.1 图像滤波算法

由于操作环境中的污染和图像采集中的噪声的原因, 需要对图像进行滤波处理。设原始图像为 $f(x, y)$, 采集图像为 $g(x, y)$, 图像滤波处理的目的是从采集图像 $g(x, y)$ 退化为原始图像 $f(x, y)$ 的过程。采集图像与原始图像的关系为 $g(x, y) = f(x, y) * h(x, y) + \varepsilon(x, y)$, 其中 $h(x, y)$ 为退化函数, $\varepsilon(x, y)$ 为噪声。本文中通过中值和均值滤波器对图像进行滤波, 使得噪声得到较好的抑制^[6]。

2.3.2 边缘检测算法

边缘检测是基于灰度突变来分割图像的最常用方

法。本文采集图像的C线和T线的位置的分割属于边缘模型中的斜坡模型, 根据C线和T线的形状特点, 我们只关心垂直和水平方向的边缘, 因此只需要一维梯度算子分别应用于垂直和水平方向。图4为垂直方向应用一阶导数梯度算子后灰度值累加和特征, 图5为水平方向分别应用一阶导数梯度算子和二阶导数梯度算子后的边缘特征^[6]。

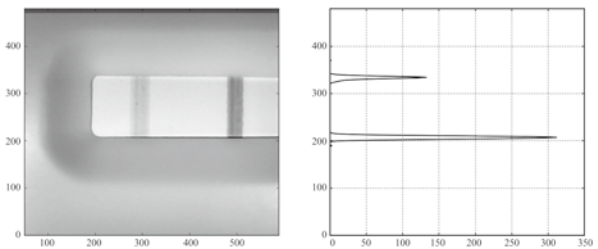


图4 垂直方向边缘检测
Fig.4 Vertical edge detection

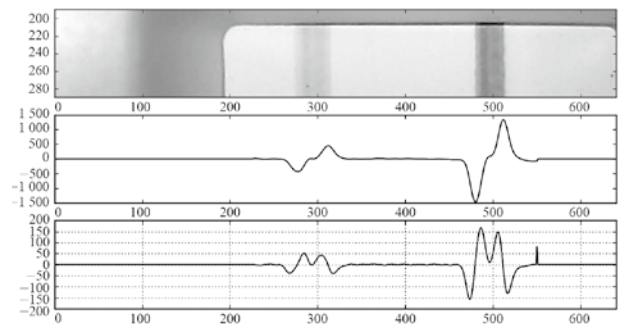


图5 水平方向边缘检测
Fig.5 Horizontal edge detection

2.3.3 GOD值提取算法

确定C线和T线边缘位置后, 计算C线和T线区域中的灰度值积分和面积的比值, 然后减去C线和T线附近背景的灰度值积分和面积的比值, 就可以得到C线和T线的显色反应的度量值, 定义为GOD (Gold Optical Density) 值。

2.3.4 程序流程

项目样本检测前如果没有保存项目参数, 需要首先进行项目参数的设定, 然后测试, 如图6所示。

3 实验

3.1 准确性

实验采用天津中新科炬生物制药股份有限公司的免疫胶体金CRP项目试纸, 实验环境在室温下, 操作步骤如下:

(1) 获得CRP标准品并配置为不同浓度的CRP标准液共13种, 如表1所示。

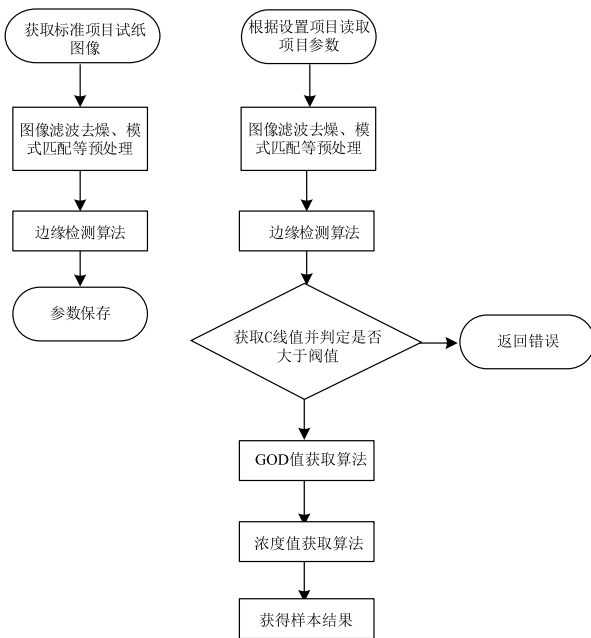


图6 程序流程图
Fig.6 Program flow chart

表1 准确性实验数据记录
Tab.1 Recording of accuracy experimental data

标准样品浓度(μg/mL)	GOD值	类型	计算浓度值(μg/mL)
1	0.44	拟合点	/
5	1.65	拟合点	/
10	3.01	拟合点	/
20	4.21	验证点	19.14
30	5.41	拟合点	/
40	6.61	拟合点	/
50	7.82	验证点	57.01
70	8.93	拟合点	/
80	9.45	验证点	80.52
100	10.67	拟合点	/
125	11.63	拟合点	/
150	13.09	拟合点	/
167	14.24	拟合点	/

(2) 往免疫胶体金CRP项目试纸检测孔处滴放标准液，待反应15 min后，使用判读仪进行判读GOD值，并记录结果，直至全部13种CRP标准液测试完毕。

(3) 按照表1类型描述的拟合点，用最小二乘法拟合(GOD, 浓度)曲线为 $y=1.459 \times x+0.751 \times x^2$ 。

(4) 用拟合曲线结果计算表1类型中验证点的浓度值，结果如表1所示。

(5) 根据计算浓度值和标准样品浓度值，计算均方根误差为4.09，拟合优度0.974。

3.2 重复性

制作75 μg/mL、175 μg/mL浓度标准液各50份，使用判读仪进行测试，结果如表2所示，表明判读仪重复性大于93%，且在测低浓度样本时重复性较好。

表2 重复性实验数据记录
Tab.2 Recording of repetitive experimental data

样本	重复性(%)
75 μg/mL (50份)	96
175 μg/mL (50份)	93

4 讨论

免疫胶体金层析技术已应用于临床检验、毒品检测、动植物检疫、食品安全等众多领域。本文设计的免疫胶体金判读仪基于CMOS图像传感器并通过对图像处理技术的研究和改进，可以自动识别免疫胶体金层析试纸的反应区域，并提取GOD值，然后通过数据处理得到样本的浓度结果。对判读仪进行的实验结果表明仪器具有良好的重复性和一致性特点，可以广泛应用于众多不同领域的不同项目检测。目前仪器已经应用于临床检验、毒品检测的领域，并取得了良好的反馈结果。

参考文献

- [1] 陈俊彦, 肖琼. 免疫胶体金技术的应用与展望[J]. 化学分析计量, 2014, 31(1): 101-104.
- [2] 刘星星, 郑永军, 李伶俐, 等. 多功能食品安全综合快速现场检测仪设计[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 868-877.
- [3] 毕建伟, 张明洲, 樊伟东. 基于CCD图像处理的胶体金试纸分析仪的设计[D]. 杭州: 中国计量学院, 2016.
- [4] SPOELDER H J W. Virtual instrumentation and virtual environments[J]. IEEE Instrum Measur Mag, 1999, 2(3): 14-19.
- [5] 刘蕾, 周蕾, 黄立华, 等. 基于一维CCD的免疫层析试纸条检测系统[J]. 仪器仪表学报, 2007, 28(2): 246-251.
- [6] GONZALEZ R C, WOODS R E. 数字图像处理[M]. 阮秋琦, 等译. 北京: 电子工业出版社, 2011.