



华夏英才基金学术文库

杜 民 姜海燕 著

金免疫层析试条 定量测试原理及应用



科学出版社

www.sciencep.com



华夏英才基金学术文库

金免疫层析试条 定量测试原理及应用

杜 民 姜海燕 著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

免疫测试是基础研究和临床检测中应用广泛、分析敏感的一种技术,遍及医学检验各个领域。随着免疫测定技术的日新月异,许多新技术取代传统的实验方法,金免疫层析试条就是其中一种。本书针对目前金免疫层析试条主要用于定性或半定量的快速免疫检测方法中,使试条的临床应用范围受到了限制的现状,从理论上对金免疫层析试条定量测试机理进行研究,以试条光谱峰特性曲线为研究重点,将金免疫层析法与以光纤传感为核心的光电检测技术以及现代信息处理技术相结合,提出了金免疫层析试条智能定量测试的新概念、新思路,从而实现了金免疫层析试条准确的定量测试,为临床免疫测定提供了一种新的、有效的检测手段。

本书可供高等院校生物医学工程、临床检验、医疗仪器等专业使用,也可供相关领域的科研人员使用。

图书在版编目(CIP)数据

金免疫层析试条定量测试原理及应用/杜民,姜海燕著. —北京:科学出版社,2007

(华夏英才基金学术文库)

ISBN 978-7-03-019392-6

I. 金… II. ①杜…②姜… III. 免疫测定-医学检验-研究
IV. R446.62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 107218 号

责任编辑:张 敏/责任校对:陈玉凤

责任印制:刘士平/封面设计:陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双 青 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007 年 7 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2007 年 7 月第一次印刷 印张:12

印数:1—2 500 字数:218 000

定价:30.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

序

免疫测定是基础研究和临床检测中应用广泛、分析敏感的一种技术，遍及医学检验的各个领域。随着免疫学的迅速发展，临床免疫检测技术日新月异，许多新的技术取代原有的检测方法，金免疫层析技术就是其中一种。

目前采用金免疫层析技术的试条已多达近百种，测定项目包括肿瘤标志物系列，如甲胎蛋白（AFP）、前列腺特异抗原（PSA）、癌胚抗原（CEA）等；心梗系列，如心肌钙蛋白 I（Tn-I）、心肌钙蛋白 T（Tn-T）、肌酸磷酸激酶心脏同工酶（CK-MB）等；传染病系列，如艾滋病病毒（HIV）、丙肝表面抗原（HCV）、乙肝两对半、幽门螺旋杆菌（HP）等；毒品系列，如安非他明（AMP）、可卡因（COC）、吗啡（OPI）等；激素系列，如人绒毛膜促性腺素（HCG）、促黄体激素（LH）等；优生优育系列，如巨细胞病毒（CMV）、风疹病毒（RV）、弓形虫（TOX）等。由于金免疫层析试条具有检测效率高、方法简便、一步完成、无污染、适用于单人份测定等特点，数分钟即可得出结果，操作人员不需进行特殊训练，该方法已显示出强大的生命力，成为“病人身边检验”（point of care testing, POCT）中广为应用的方法，日趋受到临床检验界的极大关注。

但是，目前金免疫层析试条主要用于定性或半定量的快速免疫检测方法中，试条的临床应用范围受到了限制。因此，金免疫层析试条定量测试的研究不仅具有理论研究意义，而且有重要的应用价值。

福州大学杜民教授自 20 世纪 90 年代中期就开始从事这一方面的研究，是国内这一领域较早的开拓者，在金免疫层析试条定量测试机理、金免疫层析试条定量测试仪器以及临床医学应用研究等方面做了许多卓有成效的研究工作，取得了一定的成果。《金免疫层析试条定量测试原理及应用》一书从理论上对金免疫层析试条定量测试机理进行研究，以试条光谱峰特性曲线为研究重点，将金免疫层析法与以光纤传感为核心的光电检测技术以及现代信息处理技术相结合，提出了金免疫层析试条智能定量测试的新思路，从而实现了金免疫层析试条准确的定量测试。

目前国内尚未见到这一方面比较全面系统的专著，相信本书的出版，必将对推动金免疫层析试条定量测试技术在我国的应用和发展做出有益的贡献。

中国工程院院士

2007 年 4 月 10 日

目 录

序

第 1 章 绪论	1
1.1 金免疫层析试条免疫测定的研究现状	4
1.2 光纤传感技术在临床医学检测中的应用	6
1.3 人工智能与信息处理技术在临床医学检测中的应用	7
1.3.1 小波分析	7
1.3.2 模糊聚类识别	9
1.3.3 基于小波神经网络的曲线拟合	10
参考文献	11
第 2 章 金免疫层析试条定量测试机理	17
2.1 金免疫层析试条	17
2.1.1 免疫胶体金技术的原理	17
2.1.2 免疫渗滤试验	18
2.1.3 免疫层析试验	19
2.2 金免疫层析试条定量测试基本原理	20
2.3 金免疫层析试条光谱信号的形成与描述	20
2.4 影响金免疫层析试条光谱信号的因素	22
2.4.1 生化噪声	22
2.4.2 光电噪声	24
2.5 小结	30
参考文献	30
第 3 章 小波变换去除试条光电噪声的研究	32
3.1 小波变换的发展	32
3.2 小波变换基本理论	38
3.2.1 连续小波变换	38
3.2.2 离散小波变换和二进小波变换	39
3.2.3 多分辨率分析和 Mallat 算法	40
3.2.4 小波包分析	42
3.3 基于小波变换的去噪方法	44
3.3.1 去噪原理	44

3.3.2	小波分解与重构法去噪分析	46
3.3.3	小波变换阈值萎缩法去噪分析	48
3.3.4	平移不变量小波去噪分析	52
3.3.5	小波变换模极大值法去噪分析	53
3.3.6	几种小波去噪法的比较	55
	参考文献	56
第4章	金免疫层析试条的奇异点检测	58
4.1	信号的奇异性检测	58
4.1.1	Lipschitz 指数	58
4.1.2	Fourier 变换与信号的规则性	59
4.1.3	小波变换在信号检测中的应用	61
4.2	基于小波变换的信号奇异性检测	66
4.2.1	小波变换与信号的 Lipschitz 指数	66
4.2.2	小波变换的模极大值线	67
4.3	奇异性检测的实现	69
4.3.1	小波函数的选择原则	69
4.3.2	特征尺度的选择	72
4.3.3	几种奇异性检测方法的实现	72
4.4	小结	77
	参考文献	77
第5章	模糊聚类识别试条生化噪声的研究	78
5.1	模糊聚类分析	78
5.1.1	模糊 C-均值算法	78
5.1.2	判别系数	80
5.2	模糊聚类识别试条生化噪声的研究	80
5.2.1	识别原理	80
5.2.2	识别实例	81
5.3	小结	84
	参考文献	85
第6章	基于小波神经网络的标准工作曲线的拟合	86
6.1	定量分析法	86
6.2	最小二乘法	88
6.2.1	原理	88
6.2.2	应用	89
6.3	人工神经网络	89

6.3.1 BP 网络原理	90
6.3.2 网络训练和测试	92
6.4 小波神经网络	93
6.4.1 小波神经网络的结构	94
6.4.2 小波母函数的构造	95
6.4.3 小波神经网络训练算法	96
6.4.4 实验结果与分析	97
6.5 三种曲线拟合方法的比较	98
6.6 小结	99
参考文献	100
第 7 章 光电检测系统的设计	101
7.1 理论基础	101
7.1.1 光的基本知识	101
7.1.2 光色互补原理	102
7.1.3 朗伯-比尔定律	103
7.2 光源的设计	105
7.2.1 光的产生	105
7.2.2 几种常用光源	106
7.2.3 用于金免疫层析试条的光源	110
7.3 光纤传感器	112
7.3.1 光纤传感器的分类	112
7.3.2 光纤传感器的应用原理	114
7.3.3 用于金免疫层析试条的光纤传感器设计	115
7.4 光电探测器	117
7.4.1 光电探测器基本原理	117
7.4.2 用于金免疫层析试条的光电探测器设计	119
7.5 小结	120
参考文献	120
第 8 章 粒子群算法对光电检测系统的优化设计	122
8.1 概述	122
8.2 粒子群优化算法	123
8.2.1 基本 PSO 的参数设置	124
8.2.2 基本 PSO 流程	125
8.2.3 与其他进化算法的比较	126
8.2.4 粒子群算法的应用	127

8.2.5 粒子群算法的发展	128
8.3 自适应粒子群算法对光电检测系统的优化设计	131
8.3.1 光电检测系统稳定性实验	131
8.3.2 闭环光电检测系统的设计	132
8.3.3 基于自适应粒子群算法的光电探测器参数优化设计	133
8.4 小结	137
参考文献	137
第9章 纳米金免疫层析试条智能定量测试仪的研制	139
9.1 嵌入式实时操作系统 $\mu\text{C}/\text{OS}-\text{II}$ 在 DSP 上的移植	139
9.1.1 $\mu\text{C}/\text{OS}-\text{II}$ 概述	139
9.1.2 $\mu\text{C}/\text{OS}-\text{II}$ 在 DSP 上的移植	144
9.2 纳米金免疫层析试条智能定量测试仪硬件设计方案	146
9.2.1 TMS320LF2407 DSP 芯片功能特性	148
9.2.2 光电检测系统及步进电机控制电路	150
9.2.3 DSP 与智能 IC 卡接口电路	152
9.3 仪器软件设计	154
9.4 测试报告	157
9.5 小结	159
参考文献	159
第10章 金免疫层析试条智能定量测试仪的临床试验	160
10.1 临床试验原则及试验设计	160
10.1.1 临床试验基本原则	160
10.1.2 诊断性临床试验的设计	162
10.1.3 诊断性试验评价的指标	163
10.2 测定人绒毛膜促性腺素 (HCG)	164
10.2.1 主要材料	165
10.2.2 测试方法	166
10.2.3 试验数据及结果	166
10.3 测定甲胎蛋白 (AFP)	166
10.3.1 主要材料	167
10.3.2 测试样本	167
10.3.3 试验方法	167
10.3.4 实验数据及结果	168
10.4 HCG、AFP 二联产前筛查	169
10.4.1 主要材料	170

10.4.2 实验目的	170
10.4.3 实验数据	170
10.5 测定前列腺特异性抗原 (PSA)	174
10.5.1 材料和方法	175
10.5.2 临床检测结果	176
10.6 小结	178
参考文献	178
后记	179

第 1 章 绪 论

免疫测定 (immunoassay, IA) 是利用抗原抗体反应检测标本中微量物质的方法。基于抗原抗体反应的特异性和敏感性, 免疫测定的应用范围遍及医学检验的多个领域。任何物质只要能获得相应的特异性抗体, 即可用免疫测定进行检测。由于在医学检验中的地位日益重要, 近年来免疫测定新方法、新技术不断推出。从总体上说, 其进展主要是在自动化测试^[1~3]和简便化测试^[4~5]这两方面。

目前全自动化免疫测定的方法主要有: 酶联免疫测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、时间分辨荧光免疫测定 (time resolved fluorescence immunoassay, TRFIA)、化学发光免疫测定 (chemiluminescence immunoassay, CLIA) 等。

酶联免疫测定法 (ELISA 分析仪) 是常规检验中较常用的一种方法, 是 20 世纪 70 年代在放射免疫基础上发展起来的一种免疫分析技术。酶联免疫检测技术的基本原理是通过化学或免疫的方法将酶与抗体或抗原结合起来, 形成酶标记物, 当酶标记物遇到相应底物时, 水解、氧化还原反应生成有色产物, 然后通过不同的分析方法进行定性或定量测试。该方法利用酶催化底物的生物放大与抗原抗体亲和反应的高专一性、特异性, 具有灵敏度较高、特异性强, 检测成本低等优点, 是取代放射免疫技术的主要方法之一。但酶的纯度和反应过程易受环境因素的影响, 导致稳定性不好, 易漏检或假阳性^[6]。

TRFIA 法是以抗原、抗体反应与荧光物质发光和时间分辨技术相结合的近代荧光光谱技术。它用镧系元素的三价稀土离子及其螯合物作为示踪物, 标记蛋白质、多肽、激素、抗体、核酸探针和生物活性细胞, 利用三价稀土离子及其螯合物被激活后产生的特异荧光寿命比一般的荧光长的特点, 待短寿命的非特异性本底荧光衰退后, 再测长寿命荧光信号, 根据荧光强度和相对荧光强度的比值, 判断反应体系中分析物的浓度, 达到定量目的。该方法具有很高的灵敏度。但镧系元素往往受血清成分、试管、仪器组件等本底荧光以及激发光源的杂散光的干扰, 使灵敏度受到影响。最具代表性的是由芬兰 Wallac 公司开发生产的自动分析仪-解离增强镧系荧光免疫分析系统 DELFIA (dissociation-enhanced lanthanide fluorescence immunoassay)。TRFIA 测定仪与 ELISA 分析仪相比, 其主要不同点为采用特殊的时间分辨荧光计进行测量, 灵敏度比 ELISA 分析仪高, 可达 10^{-17} mol, 但干扰因素较多。

化学发光法 (CLIA)^[7~9]是将具有高灵敏度的化学发光测定技术与高特异性

的免疫反应相结合,用于检测抗原或抗体的分析技术。其基本原理是处于基态的反应物分子吸收物质在进行化学反应时释放出的能量,而后跃迁至第一激发态,当返回基态时,激发态分子所吸收的能量以光的形式辐射出来。用仪器测量光的强度,即可测出反应体系中分析物的浓度。CLIA法发展至今已经成为一种成熟的超微量活性物质检测的先进技术,其主要的优点是^[10]:①高灵敏度,由于不需要外来光源,具有比荧光法更高的信噪比,最低可以检测到100个分子(10^{-21} mol),灵敏度比ELISA高1至2个数量级,与TRFIA相当甚至超过;②发光标记物稳定,有效期可达数月甚至数年;③检测范围宽,可达6个数量级;④自动化程度高,避免了手工操作带来的误差,提高了分析方法的精密度。近十年来CLIA发展迅猛,是目前发展和推广应用最快的免疫分析方法之一,其技术在全自动化固相标记免疫测定中居领先地位。现有多种商业化的CLIA系统,如由Boehringer Mannheim公司开发的ELECSYS免疫测定系统。

免疫测定另一方面的进展为简便化。简便化测定的特点是:检测方法简单而快速,数分钟即可得出结果;操作人员不需特殊训练;试剂稳定,适用于单人份测定。近年来发展迅速的金免疫层析技术即是这样一种简便化的免疫测定方法。

金免疫层析技术(gold immunochromatographic assay, GICA)是国际上20世纪90年代初发展起来的快速免疫标记分析技术。它主要由胶体金标记技术和层析法两部分组成。

胶体金(colloidal gold)也称金溶胶(goldsol),是由氯金酸(HAuCl_4)被还原成金颗粒后形成带负电的疏水胶体。在溶液中金颗粒呈圆形,边缘平滑、完整,界线十分清楚,使其具有确定性。金颗粒表面带有负电荷,由于静电的排斥力使其在水中保持稳定状态,形成稳定的胶体,所以称其为胶体金。胶体金标记^[11]实质上是蛋白质等高分子被吸附到胶体金颗粒表面的包被过程。由于胶体金的颗粒表面带有较多的电荷,能够对蛋白质等高分子物质进行吸附结合。利用这种表面吸附作用,使蛋白质吸附在金溶胶颗粒表面就得到胶体金标记蛋白质。吸附机理是胶体金颗粒表面负电荷与蛋白质的正电荷基团因静电吸附而形成牢固结合。

层析法是利用待分离物质中不同组分的某些理化性质的差异而建立起来的一种分离技术。所有的层析系统均是由固定相和流动相组成,固定相是固体物质或是固定于固体物质上的成分;流动相是可以流动的物质,如水和各种溶媒。当待分离的混合物随流动相通过固定相时,由于混合物的各组分的理化性质存在差异,它们在固定相和流动相之间进行分配,不同组分的分配比不同,随溶媒向前移动,各组分不断地在两相中进行再分配。与固定相相互作用力弱的组分,随流动相移动时受到的阻滞作用小,向前移动的速度快;反之,与固定相相互

作用强的组分,则向前移动速度慢。按层析分离机制分吸附层析法、分配层析法、离子交换层析法、凝胶层析法、亲和层析法。胶体金免疫层析法按层析分离机制分类属于亲和层析,即:它是利用各组分生物学特性不同而建立的一种层析方法,固定相只能和一种待分离组分专一结合,以此与无亲和力的其他组分相分离。

金免疫层析试条是以硝酸纤维素膜为固相载体,其原理是将已知的特异性抗原固定于膜上作为检测带,胶体金标记物干燥在玻璃纤维的结合释放垫上,其一端与膜相连,另一端与样品垫相连,膜的另一端连有吸水垫。当某一特定被分析物的液体样品(全血、血清、尿或其他体液)浓度加入后,样品通过毛细管的扩散作用向前移动,并通过含标记物的纤维,使标记物重新水化,并与胶体金标记物相互反应,然后一起向前泳动,至检测线(固定有特异性抗原),这样标记物与待测物的复合物会被检测线截获,通过胶体金标记物呈现紫红色,达到检测的目的。

金免疫层析试条极适合临床实验室、野外现场诊断及家庭自我检测使用,是21世纪“病人床边检验”(point of care testing, POCT)广为应用的方法^[12~15]。目前生产金免疫层析试剂的单位如雨后春笋,其品种已多达近百种,测定项目包括肿瘤标志物系列如甲胎蛋白(AFP)、前列腺特异抗原(PSA)、癌胚抗原(CEA)等;心梗系列如心肌钙蛋白I(Tn-I)、心肌钙蛋白T(Tn-T)、肌酸磷酸激酶心脏同工酶(CK-MB)等;传染病系列如艾滋病病毒(HIV)、丙肝表面抗原(HCV)、乙肝两对半、戊肝抗体、庚肝抗体、甲肝抗体、幽门螺旋杆菌(HP)、麻疹病毒抗体(IgM)等;毒品系列如安非他明(AMP)、可卡因(COC)、甲基苯丙胺(冰毒)(MET)、吗啡(OPI)等;激素系列如人绒毛膜促性腺素(HCG)、促卵泡激素(FSH)、促黄体激素(LH)等;优生优育系列如巨细胞病毒(CMV)、风疹病毒(RV)、弓形虫(TOX)、疱疹病毒(HSV)等。目前金标记已受到临床检验界的极大关注,并发展成为现代免疫学四大标记技术之一,显示出强大的生命力。

金标记技术与同位素、荧光素、化学发光等标记技术相比,具有独特的优势。放射免疫分析法(RIA)是以放射性元素为标记物,检测敏感性高达纳克甚至皮克,测定准确性良好,回收率接近100%,但对生物分子本身的影响比较大,并且有放射性污染问题。荧光免疫测定往往受血清成分、试管、仪器组件等本底荧光干扰,以及激发光源的杂散光影响,灵敏度受到很大限制。化学发光法虽然精度高、试剂稳定,但设备昂贵,检测试剂、标准品全部依赖进口,检测成本高,不适合急症、基层医院以及需要大面积推广的筛查项目。而金免疫层析试条具有效率高、简便、一步完成、可单人份测定等优点,因此,特别适用于大型医院的急诊,中、小医院和家庭以及需要大面积推广的筛查项目使用。

1.1 金免疫层析试条免疫测定的研究现状

金免疫层析试条（简称胶体金层析试条或金标试条）主要利用了直径在 1~150nm 之间的胶体金颗粒具有高电子密度的特性，当胶体金标记物在相应的配体处大量聚集时，肉眼可见红色或粉红色线条，因而常用于定性的快速免疫测定方法中^[16~17]。1971 年胶体金被引入免疫化学，作为一种免疫标记技术被使用而得以迅速发展^[18~19]，特别是近 20 年来，胶体金标记已经成为一项重要的免疫标记技术，越来越受到相关研究领域的重视。目前电镜水平的免疫金染色（IGS）、光镜水平的免疫金银染色（IGSS），以及肉眼水平的免疫金染色技术日益成为科学研究和临床诊断的有力工具^[20]。

1971 年，Faulk 等^[21]首次报道将胶体金与抗沙门氏菌抗血清结合，开创了金标记技术。1978 年，Geophegan 等^[22]利用金标记物在免疫反应时颜色减退的原理，实现光镜水平观察到金标记物。1981 年，Danscher^[23]建立了用银显影液增强光镜下金颗粒可见性的免疫金银染色法。1989 年，Spielberg 等^[24]发展了以金为标记物用于检测艾滋病病毒抗体的渗滤试验，确立了斑点金免疫渗滤试验的基本技术。GICA 技术是 20 世纪 90 年代初建立的一种简易快速稳定的免疫学检测技术。Begge^[25]于 1990 年首次报道了一种 GICA，用于孕妇尿液和血清中人绒毛膜促性腺激素（HCG）的定性测定，继而有采用该方法检测乙型肝炎病毒表面抗原 HBsAg^[26~27]及抗 HCV IgG^[28]的报道。1993 年，Kalvatchev 等^[29]利用金标记的抗立克次体的多克隆抗体、单克隆抗体及 IgY 来检测标本中的热群立克次体。1995 年，Muller 等^[30]研制的心肌钙蛋白（cTnT）试条，检测下限可达 0.4ng/mL。近年来该方面的研究文献不断出现，应用领域不断扩大^[31~33]。同国外相比，国内这一领域的研究虽然起步较晚，但在应用方面仍取得不少可喜成果。文献 [34] 用金免疫层析测定法和放射免疫分析法对 534 份育龄妇女随机尿 HCG 进行测定，说明金免疫层析试条与放射免疫法相比，具有操作简单、快速等优点，但存在灵敏度低的问题。文献 [35] 用大便隐血金免疫层析试条对 250 例患者进行隐血测定，检测结果表明试条灵敏度高，特异性强。文献 [36] 评价了胶体金诊断试条在梅毒血清学检查中的效果。文献 [37] ~ [43] 讨论了金免疫层析试条在检测抗幽门螺杆菌细胞毒素、甲、戊型肝炎病毒的 IgG 抗体、疟疾、肌钙蛋白 I、甲胎蛋白、肠道腺病毒和轮状病毒、乙肝病毒表面抗原 HBsAg 等的应用。

总之，由于金免疫层析试条符合 21 世纪 POCT 的发展潮流，已经受到临床检验界的广泛重视。但是，目前金免疫层析试条采用肉眼判读，当试条显色比较模糊时，可能引起误判或漏判，影响了临床诊断和延误治疗；即使试条显色清

晰,又由于无法定量使试条的临床应用范围及疗效评价受到了限制。例如甲胎蛋白(AFP)是人胎发育早期的一种主要血清蛋白,孕妇羊水中AFP高于正常值时提示胎儿畸形、死胎、无脑儿、开放性神经管缺损等;普通患者血清中AFP高于正常值时提示机体发生肝癌。又如心梗系列、毒品系列、激素系列等也都需要定量测试,因此,研究金免疫层析试条定量测试这一新型的临床检验方法具有重要的应用价值。

由于金免疫层析试条显色仅为一条细线,光能量的变化极其微弱;当被检测液(尿、血、血清等)加到试条上时,会产生很多干扰信号;而且试条之间存在较大的批间差异,这给定量检测造成很大的难度。所以到目前为止,金免疫层析试条的检测基本上处于定性阶段^[44],能付诸于实际应用的定量研究成果极少。

目前国外许多大公司如美国的BBI公司、德国的Boehringer Mannheim公司、欧洲的Nycomed公司等投入了大量人力、物力进行金免疫层析试条半定量、定量检测的研究。Fredrickson等^[45]1999年公布的美国专利中采用试条上的条形码对被测样品进行半定量测试。John Chandler等^[46]提出:①将被检测信号分为阴性、低、中、高四种,通过目测获得半定量的检测结果;②在试条上显示阶梯式的浓度定量线,通过便携式仪器把试条上的变色信号转换为数字信号^[47]。加拿大温哥华不列颠哥伦比亚大学研制、加拿大Response Biochemical公司制造的快速分析物测试平台(RAMP™)可以实行多种分析物免疫诊断的定量分析,仪器由容纳免疫层析试条的装置和双波长荧光扫描阅读器组成。该仪器早在1996年申请美国专利,于1998年5月19日公告。2000年Boehringer Mannheim公司推出的用于急性心肌梗死诊断的肌钙蛋白和肌红蛋白的金免疫层析试条和匹配的简便阅读器已通过临床测试,其精密度和准确性均符合定量测定要求。2003年7月在美国召开的AACC会议和11月在德国召开的MADIKA会议已出现不少金免疫层析定量测试的新型样机。我国研究金免疫层析试条定量测试起步较晚,除本书作者提出外^[48~51],多数为定性测试研究。国内应用金免疫层析试条进行半定量测试的专利文献只查到一篇^[52]。该方法是利用胶体金试纸一步法半定量检测吗啡的含量。如果待检液中的吗啡和标记在胶体金表面的吗啡,以及与精确定量呈横条状的吗啡单克隆抗体发生竞争性结合,试纸上就呈现条纹。条纹的数量与待检液中吗啡的含量成正比,即条纹数量越多,则待检液中吗啡的含量就越高。

总之,从国内外资料检索情况看,金免疫层析试条定量测试研究从20世纪90年代后才有一些文献和专利报道^[53],且基本停留在半定量测定水平。究其原因,金免疫层析试条定量测试过程实际上是生化、光、电综合调制过程,而大多数研究只考虑试条的生化性能的改进,因此定量测试的研究进展缓慢。

随着计算机技术、传感技术、人工智能技术以及金免疫层析技术的发展,金

免疫层析定量测试已成为可能。本书从理论上对金免疫层析试条定量测试机理进行研究,以试条光谱峰特性曲线为研究重点,将金免疫层析法、以光纤传感为核心的光电检测技术以及现代信息处理技术相结合,提出了金免疫层析试条智能定量测试的新概念、新思路,从而实现了金免疫层析试条准确的定量测试,为临床免疫测定提供了一种新的、有效的检测手段。因此,本书无论从理论分析,还是从应用前景考虑,都将对金免疫层析试条定量测试研究的发展起到重要的作用。

1.2 光纤传感技术在临床医学检测中的应用

自从 20 世纪 70 年代美国第一次成功研制传输损耗为 20dB/km 的石英光导纤维以来,光纤传感器取得了飞速发展,成为传感技术发展的一个主导方向。光纤传感器具有抗电磁干扰能力强、非接触式测量、灵敏度高、体积小、重量轻、柔性好、耦合损耗小及测量对象广泛等独一无二的优势,因此,已被国内外公认为最具有发展前途的新一代传感器。

光纤传感技术在生物医学检测中的主要应用有以下几种。

1) 光纤层析成像技术

光纤层析成像分析技术^[54~55]从兴起到应用不过只有二三十年的时间。根据不同的原理和应用场合,可将光纤层析技术分为光相干层析成像分析(OCT)和光投影层析成像分析技术(OPT)。

OPT 源于 X 射线层析成像分析(CT)。当 X 射线或光线传输经过被测样品时,不同的样品材料对射线的吸收特性是不同的,因此对经过样品的射线或光线进行测量、分析,并根据预定的拓扑结构和设计进行解算就可以得到所需要的样品参数。

OCT 源于光的相干检测原理。OCT 成像系统设计是将光纤作为光的传输、耦合、聚焦媒质,其样品光是从介质散射回来的光,所以 OCT 适用于高散射介质非介入成像,特别适用于生物组织内部微结构的观察与分析。该技术主要应用于生物、医学、化学分析等领域,如视网膜扫描、胃肠内视和用于实现彩色多普勒(CDOCT)血流成像等。

2) 监测肠胃返流

文献[56]介绍了一种改进的可连续检测肠胃返流的便携式光纤传感器。该传感器的原理主要是基于被分析物质(胆红素)在分析波长下的特征吸收。整个测量系统由作为光源的两个发光二极管、一个分叉的光纤束和检测电路组成。离体实验表明,该传感器可在胆汁条件下使用,更适合在酸性条件下使用,可达到 10mg/dl 的线性范围,具有良好的准确性和灵敏度。文献[57]设计了可检测十

十二指肠返流的光纤传感器。该传感器由 470nm 的信号光、595nm 的参考光和光纤束构成,主要检测十二指肠返流物中的胆红素在 470nm 与 595nm 的吸光度。传感器可以达到 10mg/dL 优良的动态响应范围。实验结果表明,该传感器可以作为临床动态检测手段。

3) 人体信息诊断

Tony Ducker 等^[58]报道了可安置于手足端部的光纤传感器,用于测定位于核磁共振中的病人的血氧水平和脉搏速率,适合所有年龄段的人使用。

血液中氧分压的测量在临床诊断中是十分重要的。氧分压的测定大多是利用荧光物质的淬灭效应,或测量荧光强度的衰减或衰变时间。Mardin 等^[59]将稠环芳烃十环烯溶于硅橡胶作为敏感膜构造的氧光纤传感器,在可见光区(450nm)激发,响应时间和检测范围都比较理想。

美国得克萨斯大学和 Anderson 癌症中心的研究人员^[60]研究出一种利用光纤探头可无痛检测宫颈癌的新方法。该方法采用氙灯和光纤将宫颈反射回来的荧光通过不同的滤光镜传送给 CCD 摄像头,以检测各种波长的光强度。根据癌细胞的发光方式与健康细胞的发光方式不同,通过计算机将这些光谱进行处理,以确定患者是否患有癌症。

总之,由于光纤传感器的独特优势,光纤传感技术在生物医学领域已经得到广泛应用。基于光纤式的医疗器械装置日渐丰富,可以预见,随着光电子技术近年来突飞猛进的发展,光纤传感器将在生物医学领域占据越来越重要的地位。

本书首次利用光纤传感器将金免疫层析试条的色谱信号转换为光谱信号,通过对光谱信号的分析处理,使得金免疫层析试条定量测试成为可能。

1.3 人工智能与信息处理技术在临床医学检测中的应用

人工智能与信息处理技术是计算机科学的两大重要领域,越来越多的研究成果表明,这两种技术的互相渗透将会给计算机应用带来更加广阔的前景。本书主要介绍将以人工智能为基础的现代信息处理技术用于金免疫层析试条定量测试中,该研究目前未见报道。

1.3.1 小波分析

小波分析是近几年国际上掀起研究热潮的一个前沿领域,被认为是傅里叶分析方法的突破性进展,是目前国际上公认的最新时频分析工具。由于其“自适应性”和“数学显微镜性质”而成为许多学科关注的焦点,是众多科技工作者爱不释手的分析工具,对于信息处理起着至关重要的作用。

小波分析的基本思想是将原始信号分解成一系列具有良好时频局域化的基元

信号,从而利用基元信号的各种特征来表征原始信号的局部特征,达到对信号时频局域化分析的目的。为此,小波分析成为信号/图像处理的一种新手段。目前,小波分析已被成功地应用于生物医学信号的图像增强、特征提取、噪声滤除、图像压缩和数据压缩等研究中。

甲襞微循环图像各参数的测量是心血管疾病无损检测的一种重要手段,其图像边缘的准确提取是自动检测微循环各参数的基础。但甲襞微循环图像为反光式图像,信号噪声大,明暗对比度较差,灰阶分布范围小,一般在 90~150 之间。由于图像中边缘和噪声在空域上均表现有较大的灰阶差,在频域上则均为高频分量,给检测带来困难。文献 [61] 根据甲襞微循环图像的特点,利用三次样条二进小波,采用 Mallat 快速算法进行小波分解,成功地提取了甲襞微循环图像的边缘。

X 射线图像是当前临床应用最广泛的一种医学图像,如何从 X 射线图像获得更多的信息是提高诊断水平的一个重要方向。文献 [62] 根据小波分析的特点,对小波分解后的不同子带进行不同的线性运算,从而使 X 射线照片中较模糊、对比度差的细节得到增强,以利于医生对疾病作出正确的判断。

传统的医学扫描图像多用投影变换,这种处理方式很难满足人们对图像局部区域信号的关注。为解决这个问题,Olson^[63]利用小波的时频局部性及投影变换的一些性质,以确定抽取哪些局部信息来获得可靠的图像重构,并给出为达到一定逼近精度的误差界限。

小波变换也特别适用于微弱、背景噪声较强的随机信号提取。目前小波分析在生物医学信号包括脑电、心电、心音、多普勒超声信号、母腹信号等分析中得到了广泛的应用。在心电信号 (ECG) 分析中,P、QRS、T 波是分析 ECG 信号的重要特征依据。李光林等^[64]研究了基于小波变换的心电信号的特征提取与心电信号的消噪处理。研究表明:心电信号中 QRS 波的平均检出率可达 99% 以上,经消噪处理后的重建心电信号的信噪比可由原来的 5.1dB 提高到 12.8dB。AkayM 等^[65]讨论了 ECG 心电变异信号的时频分析方法,认为将时频分析用于心动过速及心室颤动信号的区分是一个值得注意的问题。叶继伦等^[66]在运动心电信号特征参数识别的研究中应用小波变换方法,表明小波变换对于消除运动信号中基线漂移和噪声的效果是十分明显的。心音在心血管疾病的诊断中具有重要价值,是心血管疾病无创性检测的重要方法,具有心电图、超声心动图不可取代的优势。进行心音分析,可以得到心血管疾病的重要信息,这对于多种心血管疾病的诊断具有很重要的意义。文献 [67] 对比研究了离散二进小波变换和短时傅里叶变换在分析动脉狭窄所产生湍流音的能力。研究表明:小波分析对湍流音变化更为敏感。

随着图像归档与通信系统 PACS (picture archiving and communication sys-