электронный журнал
МОЛОДЕЖНЫЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК
Издатель ФГБОУ ВПО "МГТУ им. Н.Э. Баумана". Эл No. ФС77-51038.

УДК 616-073.56

Цифровая регистрация результатов иммуноферментных реакций

Дарашкевич Я.О., *студент*
Россия, 105005, г. Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана,
кафедра «Медико-технический менеджмент»

Научный руководитель: Аполлонова И.А,. к.т.н,
Россия, 105005, г. Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана
кафедра «Медико-технический менеджмент»
apollonova-i@bmstu.ru

Иммуноферментный анализ - лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных соединений, макромолекул или вирусов в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело [1]. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки для регистрации сигнала. Дот-вариант иммуноферментного анализа (ДОТ-ИФА) проводят на бумажной или целлюлозной основе. ДОТ-ИФА является альтернативой жидкофазным тестам, требующим дорогостоящее и сложное оборудование, что имеет значение для скрининговых мероприятий в труднодоступных и удаленных районах [2].

Места проведения реакций расположены в матричном порядке и могут быть разграничены гидрофобным покрытием, чтобы не допустить растекания реагентов по поверхности основы [3]. На рисунке 1 представлен дот - вариант иммуноферментного анализа.

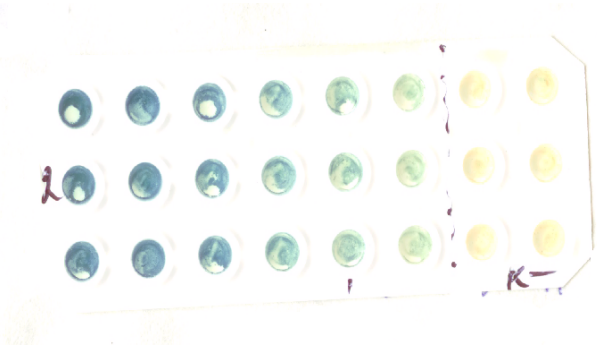


Рис. 1. Изображение ДОТ-ИФА теста

Лаборант определяет наличие и примерную концентрацию целевого вещества по окрашиванию областей реакции, сравнивая их с контрольными ячейками, в которых заведомо отсутствует целевое вещество.

Для того чтобы избежать различия в оценке результатов анализа из-за субъективного цветового восприятия разными лаборантами необходимо создать автоматизированную систему обработки ДОТ-ИФА. Данное исследование посвящено автоматизации ДОТ-ИФА в его качественном варианте.

Для получения изображения теста использовался сканер, обычно используемый для сканирования распечатанных документов. А для того, чтобы избежать возможные искажения цветовых характеристик на изображении теста, был применен алгоритм цветокоррекции - алгоритм автоматической балансировки белого цвета GrayWorld [4].

Как видно из рисунка 1, на изображении теста подавляющей частью присутствуют 3 цвета:

- белый - целлюлозная основа теста;
- желто-коричневый - цвет смеси реагентов в реакционной ячейке;
- синий - цвет красителя, проявляющийся при наличии искомого вещества.

Выделение синего цвета по всей области изображения было осуществлено с помощью метода ColorDetector [5]. Метод заключается нахождении расстояния между вектором с координатами цвета на изображении и вектором с координатами искомого цвета, в данном случае вектором с координатами синего цвета (255, 0, 0).

Результат работы алгоритма ColorDetector представляется в виде маски, где координаты белых пикселей соответствуют координатам пикселей исходного изображения с цветом, приближенным к синему. Полученная маска представлена на рисунке 2.

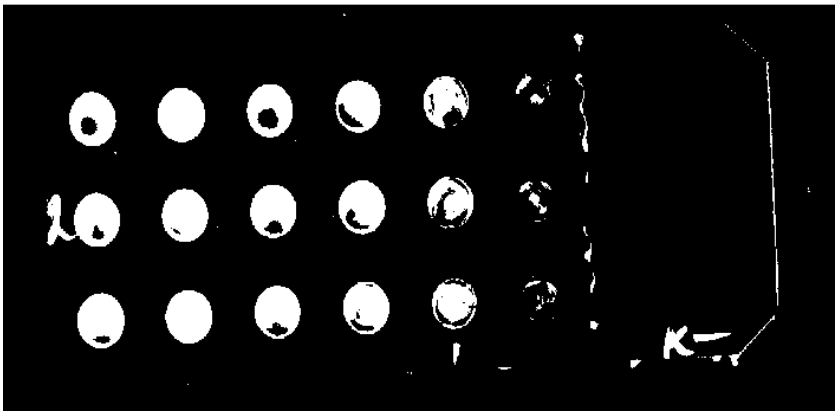


Рис. 2. Маска алгоритма ColorDetector

Области реакции представляют собой круглые пятна на бумажной основе теста. Определение областей реакции позволяет определять наличие красителя в каждой отдельной ячейке.

Для определения областей реакций был использован метод нахождения окружностей HoughCircles из библиотеки OpenCV.

Результаты работы алгоритма HoughCircles представлены на рисунке 3.

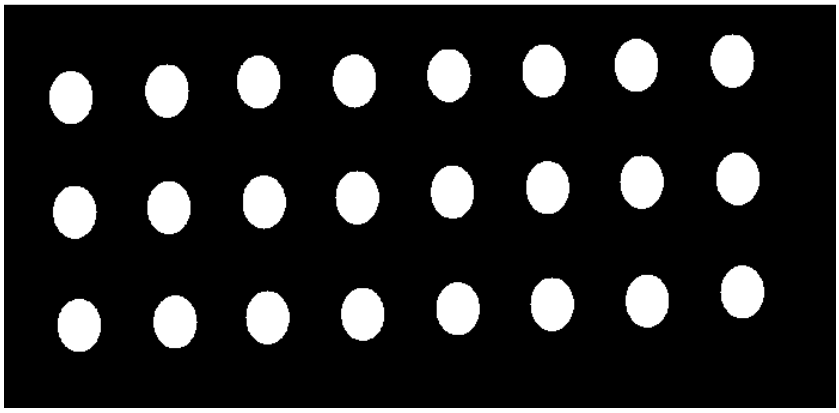


Рис. 3. Маска с областями реакций

Результат работы алгоритма позволяет выделить области реакций на изображении.

Применение масок необходимо для выделения областей реакций и областей с содержанием красителя. Дальнейшая обработка проводится для изображения в градациях серого, поэтому маски применяются для серых изображений.

Результат применения маски HoughCircles представлен на рисунке 4.

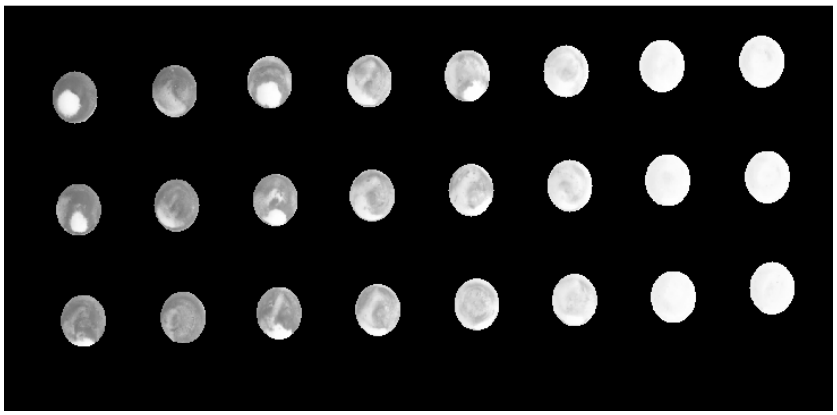


Рис. 4.Области реакций теста

Результат применения маски ColorDetector представлен на рисунке 5.

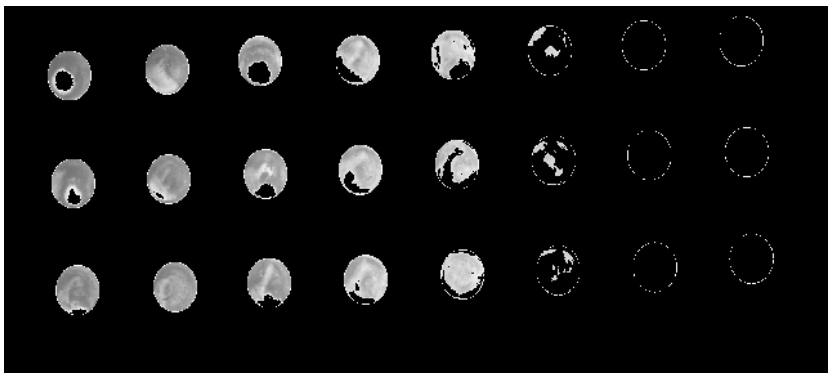


Рис. 5. Области реакций теста и включений красителя

В результате применения масок мы получаем только области реакций в которых проявился краситель.

На основе вышеописанных алгоритмов была создана программа, представляющая лаборанту результаты иммуноферментной реакции. Программа позволяет провести качественную оценку теста.

Результаты качественной оценки теста представляются окрашенными текстовыми ячейками, где расположение текстовых ячеек соответствует расположению реакционных ячеек на планшете. Фрагмент программы с окрашенными ячейками показан на рисунке 6.

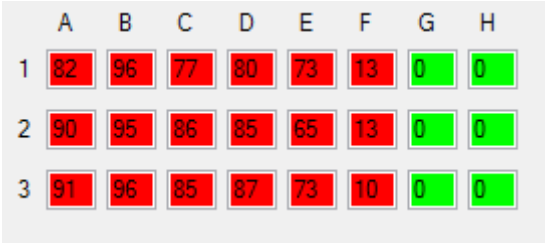


Рис. 6. Представление результатов качественного анализа

Если в реакционной ячейке планшета проявился краситель, то соответствующая текстовая ячейка программа окрашивается в красный цвет и в ней отображается отношение окрашенной площади к площади реакционной ячейки. Соответственно, если краситель не проявился, то текстовая ячейка окрашивается в салатовый цвет.

При этом лаборант может оценить на сколько корректно программа смогла обработать изображение теста. Для этого выводится окно с изображением теста, где выделены реакционные ячейки и проявившийся краситель, как показано на рисунке 7.

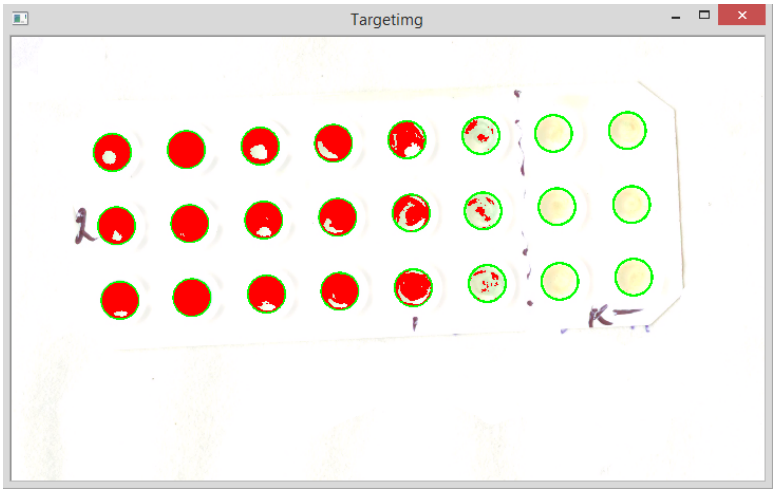


Рис. 7. Окно программы с выделенными ячейками и красителем

Для проверки повторяемости результатов изображений вышеописанными алгоритмами были исследованы 3 теста ДОТ-ИФА с одинаковым распределением искомого вещества. Изображения с результатами обработки тестов представлены на рисунках 8а, 8б и 8в.

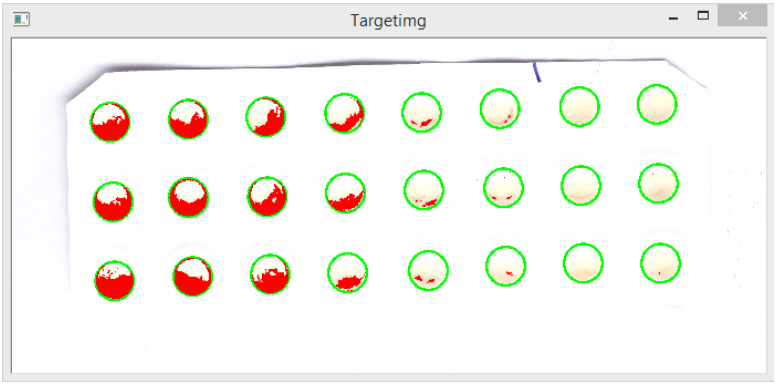


Рис. 8а. Окно программы с выделенными ячейками и красителем 1-го теста

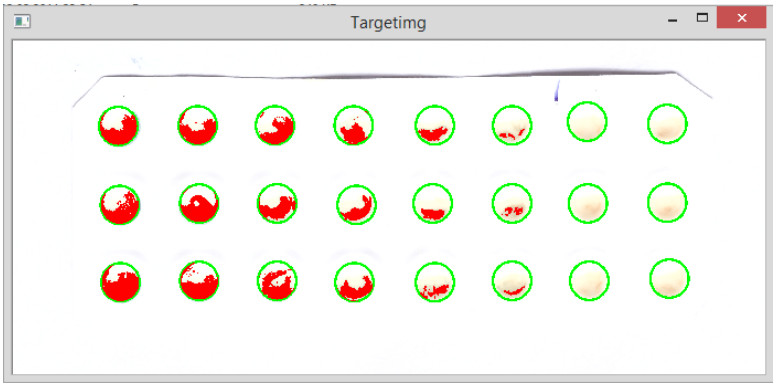


Рис. 8б. Окно программы с выделенными ячейками и красителем 2-го теста



Рис. 8в. Окно программы с выделенными ячейками и красителем 3-го теста

Фрагменты программы с соответствующими тестам результатами представлены на рисунках 9а, 9б и 9в.

Фрагмент программы с результатами показан на рисунке 8.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	58	53	44	27	4	1	0	0
2	56	53	52	30	4	1	0	0
3	63	57	49	18	3	1	0	0

Рис. 9а. Представление результатов 1-го теста

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	56	50	45	30	16	5	0	0
2	54	56	41	34	20	7	0	0
3	69	55	50	28	14	5	0	0

Рис. 9б. Представление результатов 2-го теста

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	61	74	53	24	6	1	0	0
2	59	62	35	28	5	1	0	0
3	70	66	34	10	7	1	0	0

Рис. 9в. Представление результатов 3-го теста

Результаты тестов соответствуют действительности, что говорит о работоспособности разработанных алгоритмов.

Заключение

Таким образом по результатам исследования были разработаны стабильные алгоритмы выделения реакционных ячеек и участков окрашивания, а также показана возможность использования методов цифровой обработки данных для получения оценки результатов дот-варианта иммуноферментного теста. Разработанное программное обеспечение пригодно для проведения качественного анализа.

Список литературы

1. Edwards R. Immunodiagnostics. Oxford, Oxford University Press: 1999. 281 p.
2. Darashkevich Y., Apollonova I. Economic multiple assay based on specific antibodies quantitative analysis // X Russian-German conference on biomedical engineering (June 25–27, 2014). Saint Petersburg: Saint Petersburg State Electrotechnical University, 2014. P. 228.
3. Дарашкевич Я.О. Разработка бумажного планшета для экспресс-иммунодиагностики // Молодежный научно-технический вестник. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Электрон. журн. 2014. № 6. Режим доступа: http://sntbul.bmstu.ru/doc/724243.html (дата обращения 10.10.2014).
4. Huo J., ChangY., Wang J., Wei X. Robust Automatic White Balance Algorithm using Gray Color Points in Images // IEEE Transactions on Consumer Electronics. 2006. № 52. P 541–546.
5. Laganière R. OpenCV 2 Computer Vision Application Programming Cookbook // Packt Publishing. 2011. P. 71-75.