

ICS 37.020

CCS N 32



团 体 标 准

T/CEATEC XXX—2025

超分辨率显微图像质量评价方法

Evaluation method of super-resolution microscopic image quality

(征求意见稿)

2025-X-XX 发布

2025-X-XX 实施

中国欧洲经济技术合作协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 评价原则与要求	2
4.1 评价原则	2
4.2 前置要求	2
4.3 人员要求	3
5 评价指标	3
5.1 空间分辨率指标	3
5.2 信噪比指标	3
5.3 对比度指标	4
5.4 图像均匀性指标	4
5.5 漂移量指标	4
5.6 灰度线性度指标	5
6 试验方法	5
6.1 空间分辨率试验	5
6.2 信噪比试验	5
6.3 对比度试验	6
6.4 图像均匀性试验	6
6.5 漂移量试验	7
6.6 灰度线性度试验	7
7 取值规则	8
7.1 单项指标评分	8
7.2 指标加权	8
7.3 综合得分计算公式	8
8 评价结果	8
8.1 综合评分等级	8
8.2 评价报告	8

前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国欧洲经济技术合作协会提出并归口。

本文件主要起草单位：。

本文件主要起草人：。

本文件为首次编制。

超分辨显微图像质量评价方法

1 范围

本文件规定了超分辨显微图像质量评价的评价原则与要求、评价指标、试验方法、取值规则、评价结果。

本文件适用于基于荧光成像原理的超分辨显微技术所获取图像的质量评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6113.102 无线电骚扰和抗扰度测量设备和测量方法规范 第1-2部分：无线电骚扰和抗扰度测量设备 辅助设备 传导骚扰

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB/T 18989 光学和光学仪器 显微镜 物镜 齐焦距离和定位

GB/T 27668 显微镜 光学显微术术语

3 术语和定义

GB/T 27668规定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

超分辨显微图像 super-resolution microscopic image

采用超分辨成像技术突破衍射极限获取的显微图像，其空间分辨率优于传统光学显微镜图像。

3.2

信噪比 signal-to-noise ratio (SNR)

图像中有效信号强度与噪声强度的比值，反映图像中有效信息与干扰信息的分离程度，单位为分贝（dB）。

3.3

对比度 contrast

图像中前景目标区域与背景区域的灰度差异程度，采用归一化数值表示，取值范围为0~1，数值越大表示前景与背景区分越明显。

3.4

图像均匀性 image uniformity

在相同成像条件下，图像中均匀区域（如标准样品的均匀荧光区域）内灰度值的一致性程度，采用灰度值变异系数的百分比表示。

3.5

漂移量 drift amount

在连续成像过程中,图像中同一目标点在空间坐标系中的位置偏移量,单位为纳米每分钟(nm/min),反映成像系统的稳定性。

3.6**灰度值 gray value**

图像中单个像素的亮度量化值,取值范围通常为0~255(8位图像)或0~65535(16位图像),表征像素的光强度信息。

4 评价原则与要求**4.1 评价原则****4.1.1 科学性原则**

评价指标的设定、试验方法的选择均应基于光学成像原理和超分辨显微技术的特性,确保评价过程和结果符合客观物理规律;量化分析采用可验证的数学模型和计算方法,避免主观经验判断。

4.1.2 客观性原则

采用标准化的试验流程、统一的标准样品和计量校准后的设备开展评价,减少人为因素对评价结果的影响;同一评价指标应采用固定的测试方法和计算参数,确保不同实验室、不同人员测试结果的可比性。

4.1.3 适用性原则

评价指标和试验方法应适配不同类型的超分辨成像技术(STED、STORM、SIM等),针对不同技术的成像特点调整具体测试参数(如曝光时间、图像重建算法参数),确保评价方法的普适性和针对性。

4.1.4 重复性原则

明确统一的测试环境条件、设备参数设置和样品处理流程,确保同一批次、不同批次的测试结果具有可重复性;对于每个评价指标,应规定至少3次平行测试的要求,以降低随机误差对结果的影响。

4.2 前置要求**4.2.1 设备校准要求**

设备校准要求如下:

a) 超分辨显微镜在开展图像质量评价前,应按照GB/T 18989的要求完成物镜放大倍数、成像系统分辨率、光源稳定性等关键参数的校准;

b) 图像采集与分析软件应经功能验证,确保灰度值读取、距离测量、数据计算功能准确可靠。

4.2.2 测试环境要求

测试环境要求如下:

a) 温度:控制在 $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,采用恒温装置维持环境温度稳定,温度波动速率不超过 $0.5^{\circ}\text{C}/\text{h}$;

b) 湿度:控制在45%~65%RH,采用除湿/加湿设备调节湿度,避免湿度变化导致光学元件起雾或样品变质;

c) 振动:采用振动隔离台隔离环境振动,水平方向振动加速度 $\leq 0.005\text{g}$,垂直方向振动加速度 $\leq 0.003\text{g}$;

d) 光照:测试环境应避免强光直射,采用弱光或避光环境,环境光强度 $\leq 50\text{lX}$,防止环境光干扰图像采集;

e) 电磁干扰:测试区域应远离强电磁辐射源(如大型电机、高频设备),电磁环境符合GB/T 6113.102中A级电磁兼容要求。

4.2.3 标准样品要求

标准样品要求如下:

a) 荧光微球标准样品的直径标称值误差 $\leq \pm 5\%$,粒径分布系数 $\leq 10\%$;

b) 周期性结构标准样品的周期尺寸标称值误差 $\leq \pm 2\%$,周期均匀性 $\leq 3\%$;

c) 标准样品在使用前应按要求进行预处理,并在有效期内使用。

4.3 人员要求

人员要求如下：

a) 开展评价测试的人员应具备超分辨显微镜操作相关资质，需通过由具备相应资质的机构组织的专业技能培训并考核合格后持证上岗；

b) 培训内容应涵盖超分辨显微成像原理、本标准规定的试验流程、设备操作规范、标准样品处理要求、数据采集与分析方法、质量控制要点及安全操作规程等核心模块；

c) 人员应具备严谨的科学态度和责任意识，严格按照标准要求开展测试工作，准确记录试验数据，妥善保存测试原始记录和报告，确保评价过程的可追溯性。

5 评价指标

5.1 空间分辨率指标

空间分辨率指标及等级划分应符合表1的要求。

表1 空间分辨率等级划分

等级	最小分辨距离 (nm)	适用范围
A级 (优秀)	≤ 50	超高精度细节观测场景，如生物大分子（蛋白质、核酸）的空间定位与相互作用分析、微电子芯片纳米级电路精细结构检测、量子点阵列形貌表征等
B级 (良好)	$50 < d \leq 80$	高精度细节观测场景，如细胞内细胞器（线粒体、内质网）精细结构分析、纳米材料（碳纳米管、石墨烯）微观形貌表征、荧光标记单分子追踪等
C级 (合格)	$80 < d \leq 100$	常规超分辨观测场景，如细胞骨架（微管、微丝）成像、纳米颗粒（金属纳米粒子、量子点）分布观测、生物组织薄切片超微结构观察等
D级 (不合格)	> 100	未达到超分辨图像的基本分辨要求，无法满足超分辨相关的观测与分析需求，不可作为超分辨图像使用

注：表中d为空间分辨率测试值。

5.2 信噪比指标

信噪比指标及等级划分应符合表2的要求。

表2 信噪比等级划分

等级	信噪比 (dB)	适用范围
A级 (优秀)	≥ 40	信号清晰稳定，噪声极低，目标细节完整可辨，无任何干扰伪影，可直接用于高精度定量分析
B级 (良好)	$30 \leq \text{SNR} < 40$	信号较清晰，噪声轻微且不影响目标识别，目标细节基本完整，仅存在极微弱的干扰伪影，可用于常规定量分析
C级 (合格)	$20 \leq \text{SNR} < 30$	信号可有效识别，噪声中等，目标主要细节可辨，存在轻微干扰伪影但不影响核心信息提取，可用于定性分析或低精度定量分析
D级 (不合格)	< 20	信号模糊不清，噪声严重掩盖有效信息，目标细节无法分辨，存在大量干扰伪影，无法开展任何有效分析

注：表中SNR为信噪比。

5.3 对比度指标

对比度指标及等级划分应符合表3的要求。

表3 对比度等级划分

等级	对比度	适用范围
A级（优秀）	≥ 0.8	适用于高要求目标识别与分割场景，如微弱荧光标记目标检测、多目标（密度高、尺寸小）精细区分、目标边界精准提取等
B级（良好）	$0.6 \leq C < 0.8$	适用于常规目标识别与分割场景，如典型荧光标记目标分析、目标区域面积与形态测量、常规目标边界提取等
C级（合格）	$0.4 \leq C < 0.6$	适用于简单目标识别场景，如高亮度目标定位、目标存在性判断、目标大致分布范围分析等
D级（不合格）	< 0.4	无法实现前景与背景的有效区分，目标识别困难，无法开展任何基于目标与背景差异的分析工作

注：表中C为对比度，对于16位图像（灰度值范围0~65535），需先将灰度值归一化至0~1范围后再进行计算。

5.4 图像均匀性指标

图像均匀性指标及等级划分应符合表4的要求。

表4 图像均匀性等级划分

等级	灰度值变异系数（%）	适用范围
A级（优秀）	≤ 5	图像灰度均匀性极佳，无明显亮度差异，可用于高精度光强度定量分析，如荧光强度绝对定量检测、蛋白质表达量精准评估等
B级（良好）	$5 < CV \leq 10$	图像灰度均匀性较好，亮度差异轻微，可用于常规定量分析，如荧光强度相对定量分析、目标区域光强度分布趋势评估等
C级（合格）	$10 < CV \leq 15$	图像灰度均匀性一般，亮度差异中等，仅可用于定性分析，不建议开展光强度相关的定量分析工作
D级（不合格）	> 15	图像灰度均匀性差，存在明显亮度不均现象，无法用于光强度相关分析，定性分析结果的可靠性也较低

注：表中CV为图像均匀性，采用灰度值变异系数表示。

5.5 漂移量指标

漂移量指标及等级划分应符合表5的要求。

表5 漂移量等级划分

等级	漂移量（nm/min）	适用范围
A级（优秀）	≤ 2	适用于长时间连续成像场景（成像时长 $> 60\text{min}$ ），如活细胞动态生理过程追踪、纳米颗粒长时间运动轨迹分析等

B级（良好）	$2 < D \leq 5$	适用于中长时间连续成像场景（成像时长 30~60min），如细胞内物质转运过程观测、微生物动态生长监测等
C级（合格）	$5 < D \leq 10$	适用于短时间连续成像场景（成像时长 < 30min）或静态成像场景，如固定样品超分辨成像、一次性纳米结构观测等
D级（不合格）	> 10	无法开展连续成像工作，即使静态成像，目标点位置的可靠性也极低，成像结果无实用价值

注：表中D为漂移量。

5.6 灰度线性度指标

灰度线性度指标及等级划分应符合表6的要求。

表6 灰度线性度等级划分

等级	线性相关系数	适用范围
A级（优秀）	≥ 0.99	可用于高精度光强度定量分析，如荧光标记物浓度精准测定、生物分子相互作用强度定量评估、光强度分布绝对量化分析等
B级（良好）	$0.97 \leq R^2 < 0.99$	可用于常规定量分析，如荧光强度相对比较、目标区域光强度梯度分析、一般生物分子表达量评估等
C级（合格）	$0.95 \leq R^2 < 0.97$	仅可用于定性分析，如光强度分布趋势判断、目标区域光强度强弱对比等，不可用于定量分析
D级（不合格）	< 0.95	图像灰度值无法真实反映样品实际光强度，存在严重失真，无法用于任何与光强度相关的分析工作

注：表中 R^2 为对比度。

6 试验方法

6.1 空间分辨率试验

空间分辨率试验步骤如下：

- 将荧光微球标准样品均匀铺展在载玻片上，按样品说明书进行预处理，放置于显微镜载物台中心位置并固定；
- 启动超分辨显微镜，按设备操作规范完成调试；
- 在x、y、z三个空间维度分别采集样品图像，每个维度采集3张平行图像，图像尺寸不小于 1024×1024 像素；
- 通过图像采集与分析软件识别相邻荧光微球的图像轮廓，计算相邻微球中心间的最小距离；
- 每个维度取3张图像的测试平均值作为该维度的空间分辨率测试值。

6.2 信噪比试验

6.2.1 试验步骤

信噪比试验步骤如下：

- 将标准荧光样品放置于显微镜载物台，固定后完成对焦；
- 启动超分辨显微镜，按设备操作规范完成调试，启动灰度值校准模块，确保灰度值读取误差 $\leq 1\%$ ；

- c) 采集3张样品图像，每张图像需包含清晰的目标荧光区域和无荧光背景区域；
 d) 通过分析软件在每张图像中选取3个不重叠的目标区域（每个区域面积 ≥ 100 像素）和3个对应的背景区域（与目标区域相邻，面积相同）；
 e) 计算每个目标区域的平均灰度值 S ，每个背景区域的灰度值标准差 N ，按公式计算每个目标-背景区域对的信噪比；
 f) 取3张图像所有计算结果的平均值作为最终信噪比试验结果。

6.2.2 计算公式

信噪比计算公式见式（1）。

$$SNR = 20\lg\left(\frac{S}{N}\right) \quad (1)$$

其中：

SNR ——信噪比；

S ——目标区域平均灰度值（8位图像取值范围0~255，16位图像取值范围0~65535）；

N ——背景区域灰度值标准差（遵循 GB/T 8170数值统计规则）。

6.3 对比度试验

6.3.1 试验步骤

对比度试验步骤如下：

- a) 准备已知灰度差异的前景-背景结构的标准对比样品，将标准对比样品安装在载物台，调整位置使前景-背景结构处于视场中心；
 b) 启动超分辨显微镜，按设备操作规范完成调试；
 c) 采集3张平行图像，图像需完整包含前景目标和背景区域，无边缘裁剪；
 d) 在每张图像中选取5个前景目标区域和对应的5个背景区域（每个区域面积 ≥ 50 像素，前景区域与背景区域相邻且无交叉）；
 e) 计算每个前景区域平均归一化灰度值和对应背景区域平均归一化灰度值（16位图像先将灰度值归一化至0~1范围，8位图像直接使用原始灰度值），计算对比度；
 f) 取3张图像所有对比度计算结果的平均值作为最终对比度试验结果。

6.3.2 计算公式

对比度计算公式见式（2）。

$$C = \frac{|S_1 - S_0|}{S_1 + S_0} \quad (2)$$

其中：

C ——对比度；

S_1 ——前景目标区域平均归一化灰度值；

S_0 ——背景区域平均归一化灰度值。

6.4 图像均匀性试验

6.4.1 试验步骤

图像均匀性试验步骤如下：

- a) 将均匀荧光标准样品固定在载物台，确保样品表面无污渍、无划痕；
 b) 启动超分辨显微镜，按设备操作规范完成调试，启动光源稳定性监测功能；
 c) 采集3张平行图像，每张图像尺寸不小于 2048×2048 像素，覆盖样品均匀区域；
 d) 在每张图像中均匀划分9个测试子区域（ 3×3 网格），每个子区域面积 ≥ 200 像素，子区域间无重叠；
 e) 计算每个子区域的灰度值平均值和标准差；
 f) 计算每个子区域的灰度值变异系数；
 g) 取每张图像9个子区域变异系数的最大值作为该图像的均匀性测试值，3张图像测试值的平均值作为最终图像均匀性试验结果。

6.4.2 计算公式

图像均匀性计算公式见式（3）：

$$CV = \frac{\sigma}{S_{avg}} \quad (3)$$

其中：

CV——灰度值变异系数；

σ ——测试子区域灰度值标准差；

S_{avg} ——测试子区域灰度值平均值。

6.5 漂移量试验

6.5.1 试验步骤

漂移量试验步骤如下：

a) 将高精度定位标准样品安装在载物台（含固定标记点，位置精度 $\leq 1\text{nm}$ ），通过显微镜找到清晰的标记点，调整标记点至视场中心；

b) 启动超分辨显微镜，按设备操作规范完成调试，启动连续成像控制模块，设置连续采集间隔为5min，总采集时长为30min；

c) 启动连续采集程序，自动记录每次采集时标记点在x、y、z三个维度的坐标；

d) 以第一次采集的标记点坐标为基准，计算后续每次采集标记点相对于基准坐标的偏移量 Δ_x 、 Δ_y 、 Δ_z ；分别计算x、y、z三个维度的总偏移量；

e) 按公式折算为单位时间漂移量；

f) 取x、y、z三个维度的漂移量最大值作为最终漂移量试验结果。

6.5.2 计算公式

漂移量计算公式见式（4）：

$$D = \frac{\Delta L}{t} \quad (4)$$

其中：

D——单位时间漂移量；

ΔL ——某空间维度（x/y/z）总偏移量；

t——连续成像时长。

6.6 灰度线性度试验

6.6.1 试验步骤

灰度线性度试验步骤如下：

a) 准备梯度光强度标准样品（光强度梯度范围0~2000cd/m²，梯度间隔5个等级）；

b) 使用光强度校准仪分别测量梯度光强度标准样品5个等级梯度的实际光强度值，记录为 $I_1 \sim I_5$ ；

c) 将校准后的梯度光强度标准样品放置于载物台，调整至视场中心；

d) 设置固定成像参数（曝光时间、增益固定），启动超分辨显微镜采集样品图像，确保5个梯度区域均完整包含在图像内；

e) 通过分析软件分别读取5个梯度区域的平均灰度值，记为 $G_1 \sim G_5$ ；对于16位图像，将灰度值归一化至0~1范围；

f) 以实际光强度值I为横坐标，归一化灰度值 G' 为纵坐标，进行线性回归分析，计算线性相关系数 R^2 ；

g) 重复测试3次，取3次测试 R^2 的平均值作为最终灰度线性度试验结果。

6.6.2 计算公式

漂移量计算公式见式（5）：

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (G'_i - \hat{G}'_i)^2}{\sum_{i=1}^n (G'_i - \bar{G}'_i)^2} \quad (5)$$

其中：

R^2 ——线性相关系数；

n——梯度光强度等级数量；

G'_i ——第i个梯度的实测归一化灰度值；

\hat{G}_i' ——第*i*个梯度的拟合归一化灰度值；

\bar{G}_i' ——所有梯度实测归一化灰度值的平均值。

7 取值规则

7.1 单项指标评分

各项指标根据第5章分级进行评分如下：

- a) A级（优秀）：10分；
- b) B级（良好）：8分；
- c) C级（合格）：6分；
- d) D级（不合格）：4分。

7.2 指标加权

不同类别指标权重如下：

- a) 空间分辨率指标：35%；
- b) 信噪比指标：20%；
- c) 对比度指标：15%；
- d) 漂移量指标：12%；
- e) 图像均匀性指标：10%；
- f) 灰度线性度指标：8%。

7.3 综合得分计算公式

综合得分计算公式见式（6）：

$$S = S_R \times 0.35 + S_N \times 0.20 + S_C \times 0.15 + S_D \times 0.12 + S_U \times 0.10 + S_G \times 0.08 \quad (6)$$

其中：

- S_R ——空间分辨率指标得分；
- S_N ——信噪比指标得分；
- S_C ——对比度指标得分；
- S_D ——漂移量指标得分；
- S_U ——图像均匀性指标得分；
- S_G ——灰度线性度指标得分。

8 评价结果

8.1 综合评分等级

综合评分等级划分应按照表4进行。

表7 综合评分等级划分

综合得分 (S)	等级	性能描述
9.2~10	A	优秀，图像细节分辨精准、信号清晰、稳定性极佳
7.4~9.2	B	良好，图像细节完整、信号稳定、干扰轻微
5.6~7.4	C	合格，图像核心信息可有效提取、稳定性满足基本要求
<5.6	D	不合格，图像细节模糊、信号干扰严重或稳定性差，需要优化设计

8.2 评价报告

评价报告应包括：

- a) 测试条件与工况说明（温度、湿度、光照、电磁干扰等）；
- b) 样品信息与设备参数；
- c) 各测点原始数据及平均值；

- d) 单项指标评分及类别加权表；
- e) 综合评分及等级判定；
- f) 问题分析及改进建议。

8.3 复核与异常处理

对检测结果存在疑义或接近等级分界值的样品，可申请复测，复测应由独立第三方机构进行，复核结果为最终评价结果。