



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107367610 A

(43)申请公布日 2017. 11. 21

(21)申请号 201611187363.6

(22)申请日 2016.12.20

(71)申请人 上海艾瑞德生物科技有限公司

地址 201114 上海市闵行区新骏环路188号  
5号楼301室

(72)发明人 王佩瑞 李欢 倪晓涛 陆亮  
肖琨 周亦迪 郭昊岩 曹秋岑

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限  
公司 31266

代理人 徐嘉慧 马思敏

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书2页 说明书9页 附图4页

(54)发明名称

荧光免疫层析测试基线数据的处理方法

(57)摘要

本发明提供了一种处理荧光免疫层析测试基线数据的方法,包括提供一免疫层析试纸条、一激发光源和一受激光读取装置,使所述激发光源产生激发光,照射在所述层析试纸条的近端上,从而形成光斑,并通过所述受激光读取装置读取光斑区域发出的受激光;通过所述控制装置控制光斑在试纸条上沿层析试纸条的近端至远端方向,从当前位置移动到下一位置,并读取下一位置处光斑区域发出的受激光;基于读取的受激光信号强度,采用拟合基线法确定基线所在曲线。

1. 一种处理荧光免疫层析测试基线数据的方法,包括步骤:

(1) 提供一免疫层析试纸条、一激发光源和一受激光读取装置,其中,

所述激发光源用于产生激发光,所述激发光被照射在所述层析试纸条上,从而形成光斑;

并且所述的激发光源配有控制装置,用于控制所述的免疫层析试纸条和所述激发光源的相对位置,从而使得所述光斑沿所述层析试纸条的长度方向进行移动;

其中,所述的免疫层析试纸条设有测试线,所述试纸条长度为 $L_0$ ,宽度为 $W_0$ ,所述测试线长度为 $L_t$ ;

(2) 使所述激发光源产生激发光,照射在所述层析试纸条的近端上,从而形成光斑,并通过所述受激光读取装置读取光斑区域发出的受激光;

(3) 通过所述控制装置控制光斑在试纸条上沿层析试纸条的近端至远端方向,从当前位置移动到下一位置,并读取下一位置处光斑区域发出的受激光;

(4) 重复步骤(3)  $Z-1$ 次, $Z$ 为 $\geq 10$ 的正整数,直至所述光斑扫过测试线;

(5) 基于读取的受激光信号强度,设信号峰前 $n$ 个点的信号强度值的算术平均值为 $\bar{n}$ ,设信号峰后 $m$ 个点的信号强度值的算术平均值为 $\bar{m}$ ,当 $|\bar{n} - \bar{m}| \geq 5\% (\bar{n} + \bar{m})$ 时,采用拟合基线法确定基线所在曲线,其中, $n \geq 2$ ,且 $m \geq 2$ 。

2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,当 $\Delta = |\bar{n} - \bar{m}| \geq 15\% \cdot (I_{\text{peak}} - \min[\bar{n}, \bar{m}])$ 时,采用拟合基线法确定基线所在曲线,其中, $I_{\text{peak}}$ 为信号峰顶点对应的信号值。

3. 如权利要求1所述的方法,其特征在于, $3 \leq n \leq 12$ 和/或 $3 \leq m \leq 12$ 。

4. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述信号峰前 $n$ 个信号强度值中最大值与最小值的差值为 $\Delta_n$ ,并且 $\Delta_n \geq 15\% \cdot (I_{\text{peak}} - n_{\text{min}})$ ;和/或

所述信号峰后 $m$ 个信号强度值中最大值与最小值的差值 $\Delta_m$ ,并且 $\Delta_m \geq 15\% \cdot (I_{\text{peak}} - m_{\text{min}})$ 。

5. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(5)中,所述拟合基线法按照如下公式(i)计算:

$$I_{\text{baseline}} = y_0 + A_1(1 - e^{-\frac{x}{t_1}}) + A_2(1 - e^{-\frac{x}{t_2}}) \quad (i),$$

式中, $y_0, A_1, A_2, t_1, t_2$ 为函数参数, $y_0$ 表示偏移量, $A_1$ 和 $A_2$ 是指前因子, $t_1$ 和 $t_2$ 表示弛豫时间。

6. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的各次移动的移动步长是相等的或不等的。

7. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的信号峰前 $n$ 个点或后 $m$ 个点是连续或不连续的。

8. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述 $Z$ 为 $\geq 36$ 的正整数。

9. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(1)中,所述光斑按相等的移动步长 $S_{t_0}$ 扫过免疫层析试纸条的整个长度,读取 $N$ 个数据点的荧光值,并且按公式(ii)确定移动步长:

$$S_{t0} = \frac{L_0}{N} \quad (ii)。$$

10. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述测试线长度 $L_t$ 的范围为0.45-1.55mm;  
和/或;

所述测试线宽度 $W_0$ 范围为1.5-5.0mm;和/或

所述试纸条的长度 $L_0$ 的范围为12.5-14.5mm;和/或

所述数据点 $N$ 的范围为100-500;和/或

所述步长 $S_t$ 的范围为0.025-0.145mm。

## 荧光免疫层析测试基线数据的处理方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于检测领域,具体地说,本发明涉及一种荧光免疫层析测试数据优化处理方法,更具体地,本发明涉及一种荧光测试仪的基线数据处理方法。

### 背景技术

[0002] 荧光检测仪器输出的谱图中,通常会使用信号值与基线值的差值作为该组样本的有效信号强度,这样可以消除由于测试片批号不同、免疫反应批间差异等系统误差造成的干扰因素。荧光微球在试纸条上利用毛细管作用移动初期,由于颗粒数量较多,往往此时基线数值偏高(如图1(b)红色虚线基线);随着荧光微球经过测试线时,与测试线上抗体结合后,荧光微球数量减少,此时基线数值偏低(图1(b)蓝色虚线基线)。当信号峰值较高时,选取信号峰左右两侧不平基线之一或是两者平均值,对有效信号强度影响不大;但当信号峰值偏低时,基线数值不同的读取方式,对有效信号强度结果干扰极为明显。

[0003] 输出的谱图中,不同强度的信号峰值通常分为高值信号峰和低值信号峰,如图2(a)和图2(b)所示。

[0004] 基于荧光微球在试纸条上迁移的方式,信号峰前的基线数值通常会比信号峰后的基线数值高,这个现象在低值信号峰上尤为明显,常常使得低值信号峰呈现非高斯分布态。

[0005] 因此,本领域迫切需要研究出一种荧光检测中新的基线处理方式,尤其是改善低信号峰值区的信号结果,提高数值的准确度和灵敏度,从而优化检测结果的准确度和灵敏度。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种新的确定荧光检测结果基线的方法。

[0007] 本发明的第一方面,提供一种处理荧光免疫层析测试基线数据的方法,包括步骤:

[0008] (1) 提供一免疫层析试纸条、一激发光源和一受激光读取装置,其中,

[0009] 所述激发光源用于产生激发光,所述激发光被照射在所述层析试纸条上,从而形成光斑;

[0010] 并且所述的激发光源配有控制装置,用于控制所述的免疫层析试纸条和所述激发光源的相对位置,从而使得所述光斑沿所述层析试纸条的长度方向进行移动;

[0011] 其中,所述的免疫层析试纸条设有测试线,所述试纸条长度为 $L_0$ ,宽度为 $W_0$ ,所述测试线长度为 $L_t$ ;

[0012] (2) 使所述激发光源产生激发光,照射在所述层析试纸条的近端上,从而形成光斑,并通过所述受激光读取装置读取光斑区域发出的受激光;

[0013] (3) 通过所述控制装置控制光斑在试纸条上沿层析试纸条的近端至远端方向,从当前位置移动到下一位置,并读取下一位置处光斑区域发出的受激光;

[0014] (4) 重复步骤(3)  $Z-1$ 次, $Z$ 为 $\geq 10$ 的正整数,直至所述光斑扫过测试线;

[0015] (5) 基于读取的受激光信号强度,设信号峰前 $n$ 个点的信号强度值的算术平均值为

$\bar{n}$ , 设信号峰后  $m$  个点的信号强度值的算术平均值为  $\bar{m}$ , 当  $|\bar{n} - \bar{m}| \geq 5\% (\bar{n} + \bar{m})$  时, 采用拟合基线法确定基线所在曲线, 其中,  $n \geq 2$ , 且  $m \geq 2$ 。

[0016] 在另一优选例中, 当  $\Delta = |\bar{n} - \bar{m}| \geq 15\% \cdot (I_{\text{peak}} - \min[\bar{n}, \bar{m}])$  时, 采用拟合基线法确定基线所在曲线, 其中,  $I_{\text{peak}}$  为信号峰顶点对应的信号值。

[0017] 在另一优选例中,  $3 \leq n \leq 12$ 。

[0018] 在另一优选例中,  $3 \leq m \leq 12$ 。

[0019] 在另一优选例中, 所述信号峰前  $n$  个信号强度值中最大值与最小值的差值为  $\Delta_n$ , 并且  $\Delta_n \geq 15\% \cdot (I_{\text{peak}} - n_{\text{min}})$ 。

[0020] 在另一优选例中, 所述信号峰后  $m$  个信号强度值中最大值与最小值的差值  $\Delta_m$ , 并且  $\Delta_m \geq 15\% \cdot (I_{\text{peak}} - m_{\text{min}})$ 。

[0021] 在另一优选例中, 所述步骤 (5) 中, 所述拟合基线法按照如下公式 (i) 计算:

$$I_{\text{baseline}} = y_0 + A_1(1 - e^{-\frac{x}{t_1}}) + A_2(1 - e^{-\frac{x}{t_2}}) \quad (\text{i}),$$

[0023] 式中,  $y_0, A_1, A_2, t_1, t_2$  为函数参数,  $y_0$  表示偏移量,  $A_1$  和  $A_2$  是指前因子,  $t_1$  和  $t_2$  表示弛豫时间。在另一优选例中, 拟合基线法所用软件是 OriginLab 公司推出的 Origin 8.0 中的函数拟合功能。

[0024] 在另一优选例中, 所述的各次移动移动步长是相等的或不等的, 较佳地为相等的。

[0025] 在另一优选例中, 所述的信号峰前  $n$  个点或后  $m$  个点是连续或不连续的, 较佳地为连续的。

[0026] 在另一优选例中, 所述受激光为荧光。

[0027] 在另一优选例中, 所述  $Z$  为  $\geq 36$  的正整数。

[0028] 在另一优选例中, 所述步骤 (1) 中, 所述光斑按相等的移动步长  $S_{t_0}$  扫过免疫层析试纸条的整个长度, 读取  $N$  个数据点的荧光值, 并且按公式 (ii) 确定移动步长:

$$S_{t_0} = \frac{L_0}{N} \quad (\text{ii}).$$

[0030] 在另一优选例中, 所述测试线长度  $L_t$  的范围为 0.45-1.55mm, 较佳地为 0.50-1.50mm, 更佳地为 0.80-1.30mm, 最佳地为 0.95-1.05mm。

[0031] 在另一优选例中, 所述测试线宽度  $W_0$  范围为 1.5-5.0mm, 较佳地为 2.0-4.5mm, 更佳地为 2.5-4.0mm, 最佳地为 3.0-3.5mm。

[0032] 在另一优选例中, 所述试纸条的长度  $L_0$  的范围为 12.5-14.5mm, 较佳地为 13.0-14.0mm, 更佳地为 13.2-13.7mm。

[0033] 在另一优选例中, 所述数据点  $N$  的范围为 100-500, 较佳地为 120-450, 更佳地为 150-400, 最佳地为 170-300。

[0034] 在另一优选例中, 所述步长  $S_t$  的范围为 0.025-0.145mm, 较佳地为 0.030-0.113, 更佳地为 0.034-0.09mm, 最佳地为 0.045-0.079mm。

[0035] 应理解, 在本发明范围内, 本发明的上述各技术特征和在下文 (如实施例) 中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合, 从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅, 在此不再一一累述。

## 附图说明

[0036] 图1显示了荧光测试仪相关测试原理示意图, (a) 为荧光侧向流层析免疫反应原理示意图, (b) 为荧光测试仪检测原理示意图。

[0037] 图2显示了信号峰谱图, (a) 为高值信号峰, (b) 为低值信号峰。

[0038] 图3显示了平均值法处理基线示意图, (a)、(b) 为始末平均值法, (c)、(d) 为前十后十平均值法。

[0039] 图4显示了信号峰的峰面积计算方式。

[0040] 图5显示了拟合基线法处理信号峰基线, (a) 为样本1, (b) 为样本2。

[0041] 图6显示了拟合基线法计算信号峰的有效峰面积, (a) 为样本1, (b) 为样本2。

[0042] 图7显示了校准品实验结果, (a) 为平均值法, (b) 为拟合基线法。

## 具体实施方式

[0043] 本发明人通过广泛而深入的研究, 首次意外地发现一种新的荧光免疫层析测试基线数据的处理方法, 使得所有数据都在基线之上, 能正确反映有效信号值, 即信号值与基线值的差值。在此基础上完成了本发明。

[0044] 术语说明

[0045] 除非另外定义, 否则本文中所有的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0046] 如本文所用, 在提到具体列举的数值中使用术语“约”意指该值可以从列举的值变动不多于1%。例如, 如本文所用, 表述“约100”包括99和101和之间的全部值(例如, 99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0047] 如本文所用, 术语“含有”或“包括(包含)”可以是开放式、半封闭式和封闭式的。换言之, 所述术语也包括“基本上由…构成”、或“由…构成”。

[0048] 荧光检测

[0049] 图1显示了在双抗夹心荧光检测方法中, 荧光免疫层析测试仪产生荧光信号峰的原理示意图。

[0050] 图1(a) 描述了荧光侧向流层析上荧光标记微球与抗体结合的双抗夹心原理, 标记在微球上的抗体通过识别目标物后被测试膜上的另一抗体捕获, 形成双抗夹心复合物; 经过激光光源激发, 反馈一定的信号强度, 信号强度与荧光微球数量成正比, 同比例反映了目标物的含量。

[0051] 图1(b) 描述了当激光光斑扫过测试线后, 检测器以电压的形式反馈阴影部分的荧光信号, 横坐标表示仪器读取的数据点(即光斑移动的距离), 纵坐标表示电压反馈的荧光信号。同时, 图1(b) 中显示了最高信号峰峰高值。

[0052] 基线处理方法

[0053] 如本发明所用, “拟合基线法”、“拟合曲线法”具有相同的含义, 可互换使用。

[0054] 如图2(a) 和(b) 所示, 在输出谱图中, 不同强度的信号峰值可分为高值信号峰和低值信号峰。由于荧光微球在试纸条上迁移的方式, 信号峰前的基线数值往往会比信号峰后的基线数值高, 这个现象在低值信号峰上尤为明显, 常常使得低值信号峰呈现非高斯分布

态。

[0055] 目前,现有技术中有两种基线处理方法:

[0056] 方法一:始末平均值法,选用信号峰起始点与终止点的平均值作为基线数值(图3(a)、(b));

[0057] 方法二:前十后十平均值法,取信号峰前部连续的3-10个数据点的平均值与信号峰后部连续的3-10个数据点的平均值,再计算该两者的平均值作为基线数值(图3(c)、(d))。

[0058] 上述两种方法是将仪器读取的信号值扣除基线数值(即图3中的虚线数值),来计算信号峰的有效信号强度,得到的信号峰有效峰面积为如图4所示的阴影区域,即在基线以上的蓝色阴影部分为正有效峰面积值,在基线以下的红色阴影部分为负有效峰面积值,最终有效峰面积值为基线以上和以下阴影面积的数值差。如表1所示,这两种处理方法对于高值信号峰的影响不大,偏差约1%,但对于低值信号峰的影响非常明显,偏差约1900%,甚至出现了不合理的负值。

[0059] 表1始末平均值法和前十后十平均值法处理信号峰面积结果

[0060]

基线处理方法	高值信号峰 有效峰面积	低值信号峰 有效峰面积
始末平均值法	2193.542	68.295
前十后十平均值法	2224.666	-3.731

[0061] 可以看出,使用平均值法处理基线,部分数据会在基线之下,尤其在计算低值信号峰时的偏差较大,本发明的拟合基线法,使得所有数据都在基线之上,并能正确反映有效信号值(信号值与基线值的差值)。

[0062] 本发明的主要优点在于:

[0063] 1. 本发明的拟合基线法,使得所有数据都在基线之上,并能正确反映有效信号值(信号值与基线值的差值)。

[0064] 2. 采用拟合基线法处理数据信号,尤其可以提高低值区的灵敏度和准确度,对于荧光试剂体外检测具有重要意义。

[0065] 3. 拟合基线法不局限于免疫检测平台,同样适用于处理其它由颗粒产生的信号峰定量计算问题。

[0066] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数是质量百分比和质量份数。

[0067] 以下实施例中所用的实验材料和试剂如无特别说明均可从市售渠道获得。

[0068] 1. 拟合基线:

[0069] 选取信号峰前3~10个数据点和信号峰后3~10个数据点,做曲线拟合;

[0070] 按照表2所示,选取2组数据(样本1和样本2),每组数据各180个数据点,截取信号峰所在区域(第33~71数据点),得到图2所示曲线。

[0071] 选取信号峰前3~10个数据点和信号峰后3~10个数据点,进行曲线拟合。此处高值信号峰选取信号峰前后各10个数据点,低值信号峰选取信号峰前9个数据点,信号峰后3个数据点,拟合数据点得到图5所示曲线,其中图5(a)为样本1数据点曲线拟合结果,图5(b)为样本2数据点曲线拟合结果。

[0072] 表2样本1和样本2的原始数据

[0073]

数据点	样本 1 原始信号强度	样本 2 原始信号强度	数据点	样本 1 原始信号强度	样本 2 原始信号强度
33	92.621	89.493	53	224.686	89.340
34	93.002	89.188	54	219.040	89.264
35	93.689	88.959	55	210.419	88.959
36	95.139	88.654	56	199.280	88.730
37	97.275	88.348	57	186.310	88.272
38	100.632	88.120	58	172.272	87.585
39	105.362	87.891	59	157.700	87.051
40	111.542	87.738	60	143.509	86.441
41	119.476	87.509	61	130.539	85.831
42	129.242	87.433	62	118.790	85.297
43	140.533	87.509	63	108.566	84.839
44	153.122	87.585	64	100.174	84.381
45	166.397	87.738	65	93.460	84.076
46	179.901	87.891	66	88.272	83.847
47	192.947	88.196	67	84.305	83.618
48	204.620	88.501	68	81.482	83.542
49	214.539	88.882	69	79.498	83.618
50	221.863	89.111	70	78.049	83.694
51	226.135	89.264	71	77.209	83.618
52	226.975	89.340			

[0074] 采用的拟合曲线模型为ExpAssoc函数,公式如下:

[0075] 基线所在曲线方程  $I_{\text{baseline}} = y_0 + A_1(1 - e^{-\frac{x}{t_1}}) + A_2(1 - e^{-\frac{x}{t_2}})$  (i),

[0076] 式中,x为各处数据点; $y_0, A_1, A_2, t_1, t_2$ 为函数的相关参数,该函数是双指数衰减拟合函数, $y_0$ 表示偏移量, $A_1$ 和 $A_2$ 是指前因子,表示振幅, $t_1$ 和 $t_2$ 表示弛豫时间。

[0077] ExpAssoc指数型函数,在软件中按照最小二乘法原理进行残差平方和分析,对参数设置初始值后,通过至少50次的迭代计算得到匹配基线所在曲线的参数信息。

[0078] 根据模型函数可以处理高斯分布(样本1)和非高斯分布(样本2)的样本数据,拟合

数据点得到的方程参数信息如表3所示。

[0079] 表3 ExpAssoc函数模型拟合基线的参数结果

参数	样本 1 (图 5a)	样本 2 (图 5b)
	数值	数值
$y_0$	105.382	104.749
$A_1$	-45.681	-12.165
$t_1$	193.692	33.279
$A_2$	-45.681	-12.165
$t_2$	193.643	33.278
$R^2$	0.9962	0.9988

[0081] 表中 $y_0$ 、 $A_1$ 、 $t_1$ 、 $A_2$ 和 $t_2$ 分别为ExpAssoc函数中的参数， $R^2$ 表示该指数函数对基线数据点的拟合效果，从上述结果看，不论样本是高斯分布或是非高斯分布，拟合基线法得到的拟合效果均可达到0.99以上，即残差平方和很小。

[0082] 2. 计算各数据点处基线值

[0083] 通过ExpAssoc函数模型拟合基线曲线后，计算各数据点处的基线值，具体数值如表4所示：

[0084] 表4 ExpAssoc模型拟合基线数据值

[0085]

数据点	样本 1 基线数据值	样本 2 基线数据值	数据点	样本 1 基线数据值	样本 2 基线数据值
33	91.069	89.445	53	83.509	85.368
34	90.672	89.178	54	83.151	85.221
35	90.277	88.919	55	82.795	85.079

[0086]

36	89.884	88.667	56	82.441	84.941
37	89.494	88.423	57	82.089	84.808
38	89.105	88.186	58	81.738	84.678
39	88.718	87.956	59	81.389	84.552
40	88.334	87.733	60	81.042	84.429
41	87.951	87.516	61	80.697	84.311
42	87.570	87.306	62	80.354	84.195
43	87.191	87.103	63	80.012	84.084
44	86.814	86.905	64	79.672	83.975
45	86.440	86.713	65	79.334	83.870
46	86.067	86.526	66	78.998	83.768
47	85.696	86.346	67	78.663	83.669
48	85.326	86.170	68	78.330	83.572
49	84.959	86.000	69	77.999	83.479
50	84.594	85.835	70	77.669	83.389
51	84.230	85.674	71	77.342	83.301
52	83.869	85.519			

[0087] 3. 计算各数据点处扣除基线后的有效信号值

[0088] 将各数据点处的信号强度扣除通过ExpAssoc函数模型拟合后的基线值,得到该数据点处的有效信号值 $T_e$ (公式(iii)),结果表示在表5中。[0089] 有效信号值 $T_e = \text{信号值} I_t - \text{基线值} I_{\text{baseline}}$  公式(iii)[0090] 式中:信号值 $I_t$ 为受激光信号强度;[0091] 基线值 $I_{\text{baseline}}$ 为ExpAssoc函数模型计算每处数据点的基线值。

[0092] 表5各数据点处扣除基线后的有效信号值

[0093]

数据点	样本 1 有效信号值	样本 2 有效信号值	数据点	样本 1 有效信号值	样本 2 有效信号值
33	1.552	0.048	53	141.177	3.972
34	2.330	0.010	54	135.889	4.042
35	3.412	0.040	55	127.624	3.879
36	5.254	-0.013	56	116.839	3.788
37	7.781	-0.074	57	104.221	3.465

[0094]

38	11.527	-0.066	58	90.534	2.908
39	16.644	-0.065	59	76.310	2.500
40	23.208	0.005	60	62.467	2.012
41	31.526	-0.007	61	49.842	1.520
42	41.672	0.126	62	38.436	1.101
43	53.342	0.407	63	28.554	0.755
44	66.308	0.681	64	20.502	0.406
45	79.958	1.025	65	14.126	0.206
46	93.835	1.364	66	9.274	0.079
47	107.252	1.850	67	5.642	-0.050
48	119.294	2.331	68	3.152	-0.031
49	129.579	2.882	69	1.499	0.139
50	137.269	3.277	70	0.379	0.306
51	141.905	3.589	71	-0.132	0.318
52	143.106	3.821			

[0095] 4. 计算两组数据扣除基线后的有效峰面积

[0096] 有效信号峰面积  $T_{\text{total}} = \int_{\text{起始点}}^{\text{终止点}} T_e dx = \int_{\text{起始点}}^{\text{终止点}} (I_t - I_{\text{baseline}}) dx$  公式(iv)

[0097] 以样本1和样本2为例,

[0098] 有效信号峰面积  $T_{\text{total}} = \int_{33}^{71} T_e dx = \int_{33}^{71} (I_t - I_{\text{baseline}}) dx$ 

[0099] 计算扣除基线后的有效峰面积(图6),并将该有效峰面积与前文所述两种平均值法做比较,结果如表6所示。

[0100] 可以看出,采用本发明的拟合基线法计算有效峰面积能够准确找出基线所在曲线方程,与平均值法相比,在处理高值信号峰(样本1)时,三种方法差异不大,偏差小于5%;而在处理低值信号峰(样本2)时,采用平均值法处理,容易出现不合理的负值结果,而采用拟合基线法则有极好的改善效果。

[0101] 表6三种方法处理信号峰的有效峰面积结果

[0102]

基线处理方法	样本1 (图6(a))	与拟合基线法的 偏差	样本2 (图6(b))	与拟合基线法的 偏差
始末平均值法	2193.542	2%	68.295	30%

[0103]

前十后十平均值法	2224.666	1%	-3.731	107%
拟合基线法	2243.087	0%	52.546	0%

[0104] 5. 拟合基线法处理校准品数据实例

[0105] 5.1 校准品实验

[0106] (1) 将校准品母液稀释成以下浓度待用:0、0.05、0.1、0.5、1ng/mL;

[0107] (2) 在0.5mL离心管中加入0.4 $\mu$ L荧光微球(5mg/mL)后,加入90 $\mu$ L配好浓度的校准品;[0108] (3) 用移液枪反复吹打30s,取60 $\mu$ L混合液加入到试纸条上,反应900s后,将试纸条放置在荧光测试仪上读取结果;

[0109] (4) 每个浓度平行测定5次,最终选用5次结果的平均值评估性能。

[0110] 5.2 实验数据

[0111] 表7为校准品实验数据结果,从数据中可以看出,采用拟合基线法处理的数据结果会统计进所有有效信号值,故其结果会略大于平均值法的结果,但这样的计算方式得到的变异系数(CV)会比平均值法小,而且采用拟合基线法计算数据的灵敏度将更高(即图7(b)中的斜率相对更大),拟合程度( $R^2=0.9761$ )也相对较好。

[0112] 表7校准品实验数据处理结果

[0113]

校准品浓度 ng/mL	平均值法		拟合基线法	
	5次测试 有效峰面积平均值	CV(%)	5次测试 有效峰面积平均值	CV(%)
0	27.87	50.70	34.37	38.90
0.05	97.43	32.28	122.94	22.86
0.1	155.79	15.26	180.10	13.27
0.5	708.24	21.31	723.23	14.23
1	942.54	4.26	1072.92	4.61

[0114] 此处平均值法结果采用前文表述的前十后十平均值法计算。

[0115] 6. 方法小结

[0116] 从上述结果可以看出,采用拟合基线法处理信号强度可以有效地避免大量信号值在基线以下,尤其对于低值信号峰,能够准确地得到有效峰面积的大小,提高了低值区的灵敏度和准确度,对于荧光试剂体外检测具有重要意义。

[0117] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

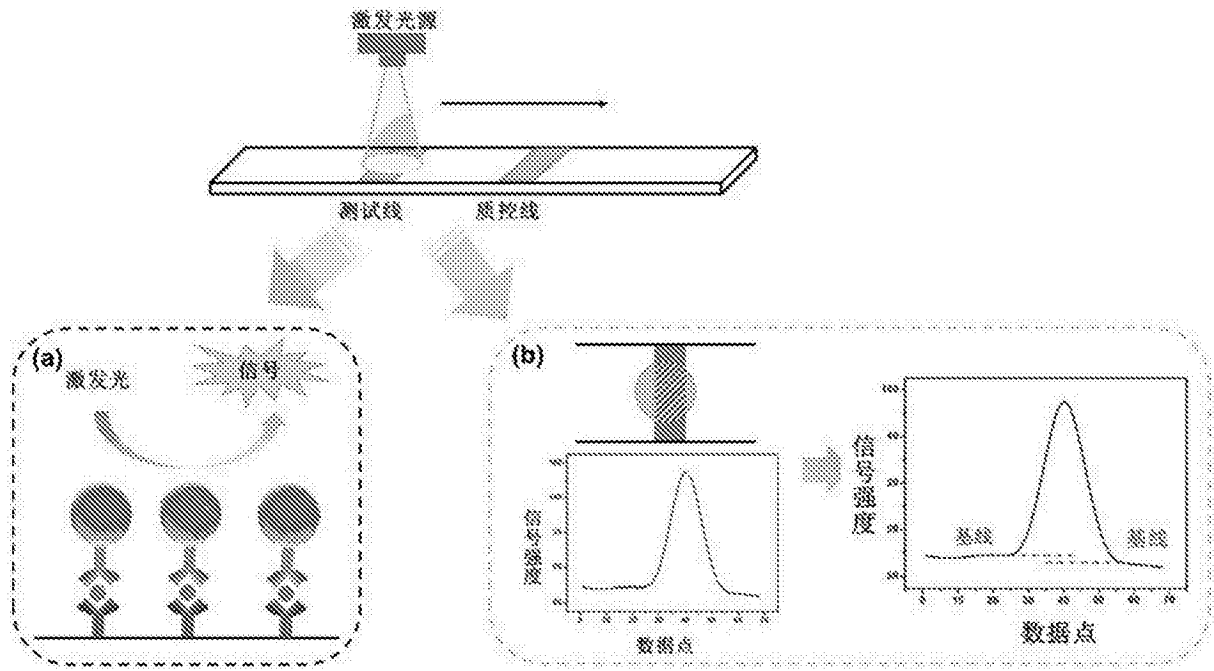


图1

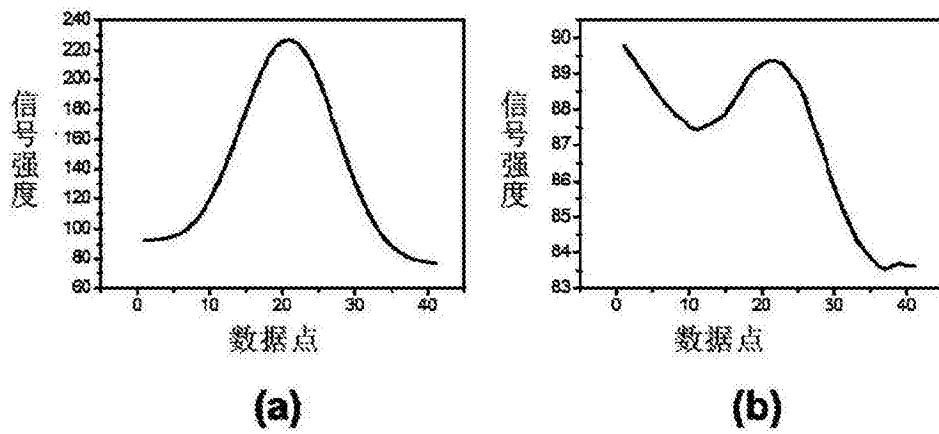


图2

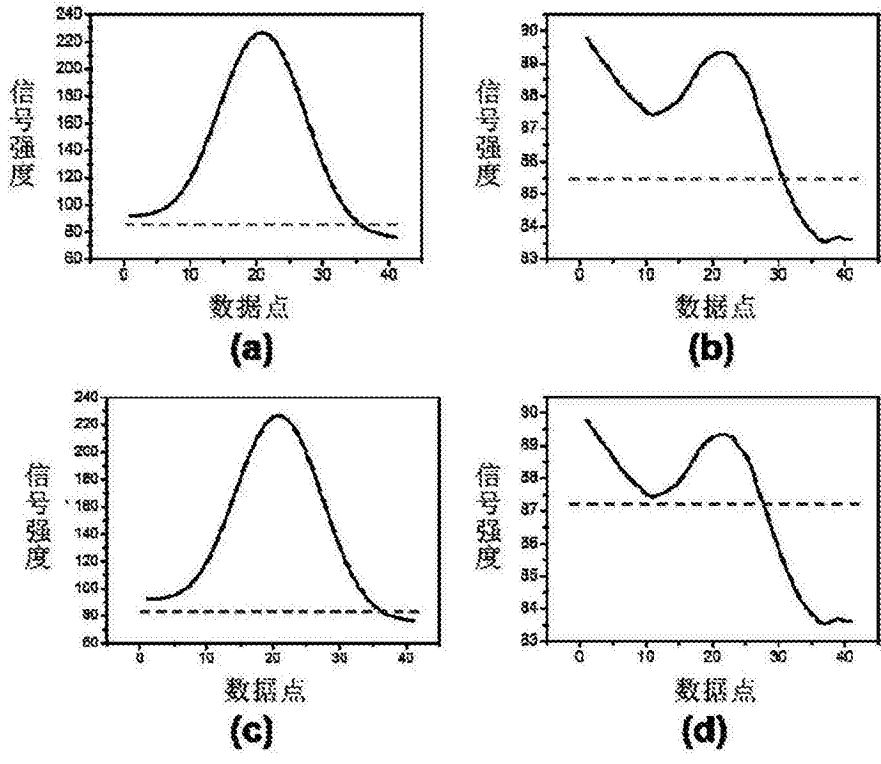


图3

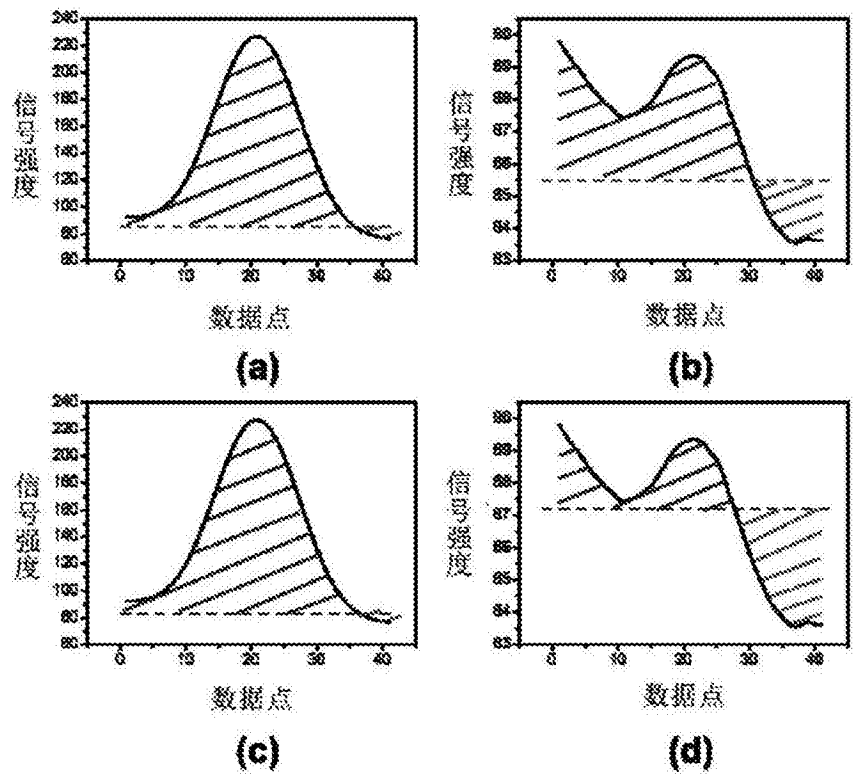


图4

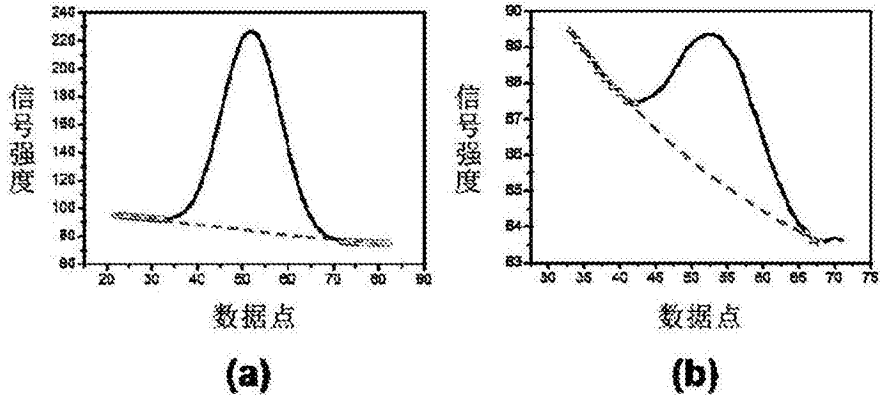


图5

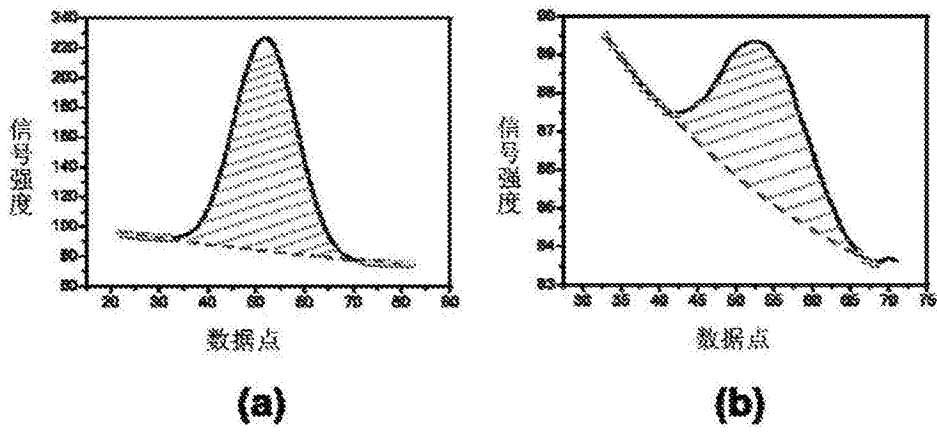
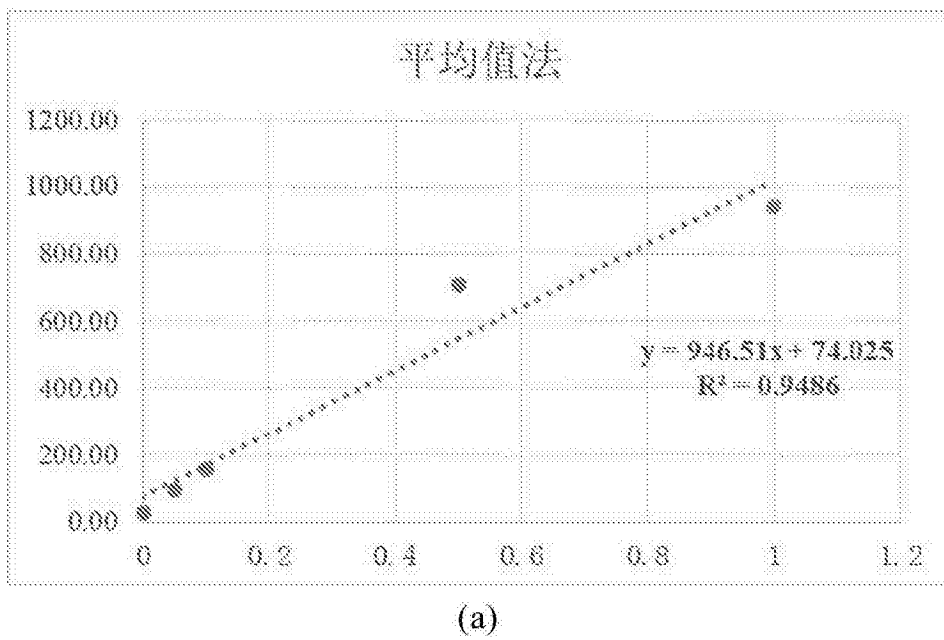
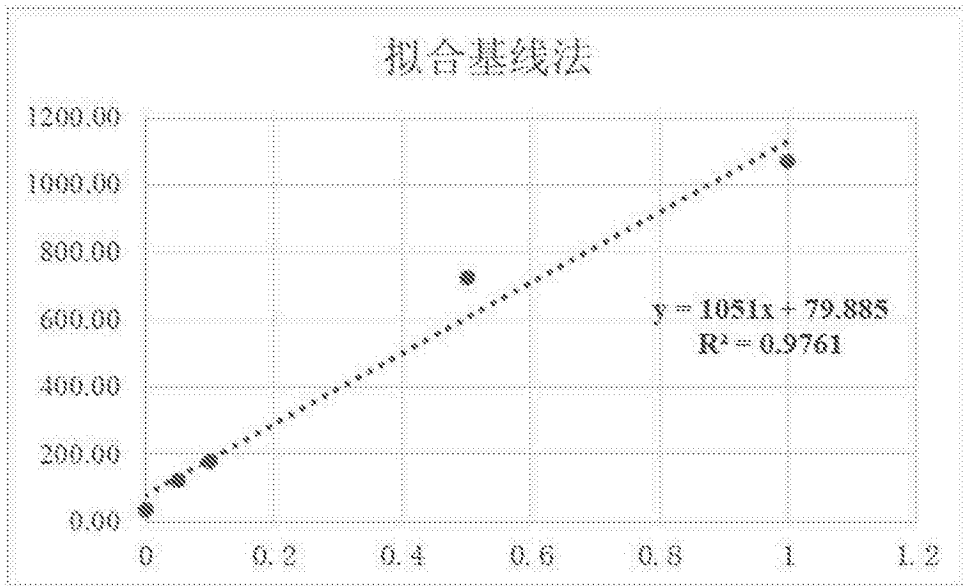


图6





(b)

图7

专利名称(译)	荧光免疫层析测试基线数据的处理方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107367610A</a>	公开(公告)日	2017-11-21
申请号	CN201611187363.6	申请日	2016-12-20
[标]申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
[标]发明人	王佩瑞 李欢 倪晓涛 陆亮 肖琨 周亦迪 郭昊岩 曹秋岑		
发明人	王佩瑞 李欢 倪晓涛 陆亮 肖琨 周亦迪 郭昊岩 曹秋岑		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/543 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54313 G01N33/558		
代理人(译)	徐嘉慧		
其他公开文献	CN107367610B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种处理荧光免疫层析测试基线数据的方法，包括提供一种免疫层析试纸条、一激发光源和一受激光读取装置，使所述激发光源产生激发光，照射在所述层析试纸条的近端上，从而形成光斑，并通过所述受激光读取装置读取光斑区域发出的受激光；通过所述控制装置控制光斑在试纸条上沿层析试纸条的近端至远端方向，从当前位置移动到下一位置，并读取下一位置处光斑区域发出的受激光；基于读取的受激光信号强度，采用拟合基线法确定基线所在曲线。

