



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109187950 A

(43)申请公布日 2019.01.11

(21)申请号 201811152363.1

(22)申请日 2018.09.29

(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 郭根 王陈成 罗贞

(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 胡丹 徐迅

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

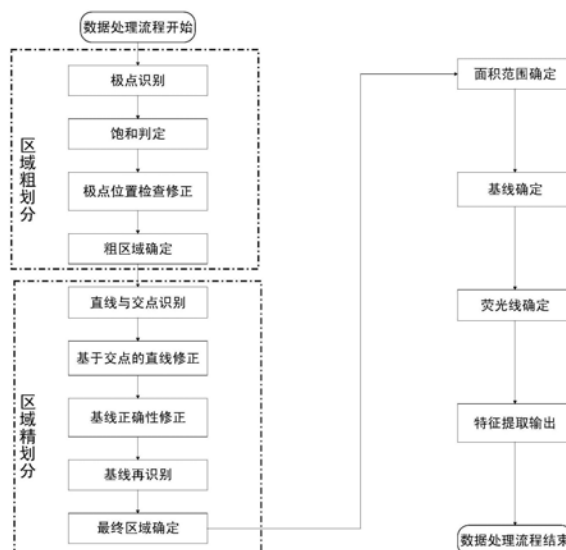
权利要求书2页 说明书13页 附图5页

(54)发明名称

一种自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取方法

(57)摘要

本发明公布一种自适应的荧光免疫定量检测特征提取方法,该方法属于生物学,医学工程,计算机信号处理技术领域。本发明在荧光免疫定量检测测量技术的基础上获取的荧光信号,在对荧光信号滤波等数据处理的基础上,对荧光信号进行数据的处理包括:信号峰值识别,边界确定,荧光拟合,基线拟合,特征值的确定。为了保证测量的自适应性和准确性,同时为了解决当前的荧光免疫定量检测中存在荧光信号测定值饱和而无法测算的现象,提出了自适应的荧光免疫定量检测特征提取方法,保证测量准确。



1. 一种荧光定量检测特征的提取方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

(1) 提供数据:

提供一荧光定量检测数据,所述检测数据为包括以下子区域的检测数据:(a) 近端区、(b) 远端区、(c) 检测区、(d) 质控区、(e) 间隔区,所述间隔区位于所述检测区和质控区之间;

(2) 区域粗划分:

基于检测区的检测信号的第一极大值MaxPoint1、质控区的检测信号的第二极大值MaxPoint2以及所述间隔区的中点Mid,进行区域粗划分,从而将检测数据区划分为n个粗分数数据区,所述n为 ≥ 2 的正整数;

(3) 区域精划分:

对于各子数据区,基于各分数数据区的拟合基线和拟合荧光线确定精划交点,并基于所述精划交点,进行区域精划分,将检测数据区划分为m个精分数数据区,所述m为 ≥ 2 的正整数;

(4) 特征提取

基于所述各精分数数据区,提取荧光定量检测特征。

2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(2)中,区域粗划分按照极点识别,饱和判定,极点位置检查修正和区域确定的步骤确定荧光曲线数据区域粗划分范围,作为区域精划分的基础。

3. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(3)中,区域精划分按照直线与交点识别,基于交点的直线修正,基线正确性修正,基线再识别,最终区域确定的步骤,确定荧光曲线的数据区域精划分范围,将数据区划分为荧光信号区和基线区即背景信号区。

4. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,在步骤(4)中所述的特征提取包括:

(4a) 确定参数信息,

所述参数包括面积范围,基线和荧光线;

(4b) 特征提取输出,

根据(4a)中确定的各参数信息,代入到特征提取函数中,提取与待测物理量相关的特征量。

5. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,所述步骤(4a)中,基线拟合(预测)方案为:以交点之间取两交点连线直线,交点之外取拟合基线组成的分段直线为基线预测函数,作为特征提取的基线数据。

6. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,所述步骤(4a)中,荧光线的确定为利用当前的荧光区数据,确定特征提取所需的荧光数据。

7. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述确定特征提取所需的荧光数据采用高斯拟合的方式进行,利用获得的高斯拟合函数曲线来充当荧光信号曲线的值,确定特征提取所需的荧光数据。

8. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,所述步骤(4b)中,所述特征量(所提取的特征值)包括:测量线的面积Ta,质控线的面积Ca,测量线的峰值Ty,质控线的峰值Cy。

9. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,所述步骤(4b)中,所述特征提取函数为:

$$Ta = \int f_T(x) - b_T(x) dx$$

$$Ca = \int f_C(x) - b_C(x) dx$$

$$Ty = f_T(x_{\max}) - b_T(x_{\max})$$

$$Cy = f_c(x_{\max}) - b_c(x_{\max})$$

式中 f 为荧光强度, b 为基线, $x_{\max}$ 为荧光强度最大值所对应的位置。

10. 一种荧光免疫层析定量检测装置,其特征在于,包括:

存储器,用于存储计算机可执行指令;以及,

处理器,用于在执行所述计算机可执行指令时实现如权利要求1至10中任一项所述的方法的步骤。

一种自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物学,医学工程,计算机信号处理技术领域。具体地涉及一种自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取方法,特别是一种利用当前测量的荧光信号自适应的划分数据区域进而进行精确的特征数据提取的方法。

背景技术

[0002] 荧光免疫分析技术(Fluorescence Immunoassay, FIA)是最早建立的一种免疫标记技术,由Coons等创于20世纪40年代初期间。其基本原理是将荧光的敏感可测性与抗原抗体高度的特异性反应相结合,以荧光物质作为标记物。荧光物质在特定波长的激发光作用下,能够吸收光能进入激发态,以电磁辐射形式释放之前吸收的光能,产生荧光。特异性荧光可以直接用荧光显微镜观察,也可以用光电探测器接收转化为电信号后再进一步处理,可准确、灵敏、快速地定位检测出某些微量或超微量物质,广泛应用于医学、生物学、环境保护等多个领域。

[0003] 免疫层析检测技术是一种结合了层析技术与抗原抗体特异性反应的免疫检测技术。荧光免疫层析定量检测技术是在免疫层析的基础上,利用荧光标记物在特定激发波长光照射下产生荧光,根据定量算法来测得待测物浓度。荧光免疫层析技术跟胶体金免疫层析技术都具有稳定性高,特异性强,操作便捷,成本较低,能够定量反应待测物浓度等特点,而且前者比后者拥有更高的灵敏度、更大动态检测范围。但是目前荧光免疫试条定量检测技术存在很多问题,例如数据提取处理中的问题就包括以下几个方面:

[0004] 首先,目前的荧光免疫试条定量检测技术的数据处理流程区域划分不准确,往往实际应用的方法都是利用经验范围数值,而现在存在的文献中有利用斜率,或者小波分析进行区域划分的,但是当干扰严重的时候,就存在划分失败和划分错误的情况,使得后续的信号提取过程失败从而无法给出结算结果,甚至直接导致错误结果,方法的适应性差。

[0005] 其次,目前的荧光免疫试条定量检测技术的数据处理流程中对基线的确定往往是使用原有数据,甚至有些特征处理中不处理基线,将基线也认为是测量值的一部分,这样测量的数据得到的结果与真实值差距很大,而且更容易受环境影响,使得测量结果的准确性受到很大影响,因而要求算法根据测量值对测量基线进行预测后做归一化处理,进而保证测量的稳定性和准确性。

[0006] 再次,目前的荧光免疫试条定量检测技术的数据处理流程中往往是直接使用原来的测量值为荧光线的值,因此当检测设备由于响应范围受限时,荧光信号呈现过饱和状态,与数码照片过曝光的情况类似。此时表现在荧光特征曲线上的形式为平顶状的峰形,而不是锐利的尖峰。此时如果不加以处理,往往会报告出远低于预期结果的测量值。在这种情况下,有的是直接取面积希望削减影响效果,有的是通过减小激发光进行多次激发的方式,这些方法都存在很多问题,首先直接取面积本身,测量结果还是受到了影响,当饱和现象严重的时候,面积完全不能够完成削弱作用;而通过减小激发光激发强度,一方面多次激发大大延长了测量时间,另一方面多次激发会增大测量过程的不确定性,更重要的是多次激发过

程中存在更多的荧光淬灭的风险。

[0007] 综上所述,为了提高目前的荧光免疫试条定量检测技术的自适应性和测量的准确性,同时为了解决荧光饱和现象中存在的平顶现象,规范测量流程,本领域亟待开一种具有更加广泛的适用性和更为精确地发荧光免疫(层析)定量检测特征处理及提取方法。

发明内容

[0008] 为克服现有技术的不足,本发明提供一种基于实际测量荧光数据的自适应数据区域划分,基线预测,荧光拟合的荧光免疫定量检测特征提取方法。

[0009] 本发明的目的是提供了一种自适应的荧光免疫定量检测特征提取方法。本发明方法通过基于当前数据的自适应数据处理流程进行数据的区域划分,值的拟合和预测修正等操作,最终能够得到准确的特征值,同时在面临荧光信号超出检测设备饱和和分析值时仍然能简便的报告出准确结果。

[0010] 本发明的第一方面,提供了一种荧光定量检测特征的提取方法,所述方法包括如下步骤:

[0011] (1) 提供数据:

[0012] 提供一荧光定量检测数据,所述检测数据为包括以下子区域的检测数据:(a) 近端区、(b) 远端区、(c) 检测区、(d) 质控区、(e) 间隔区,所述间隔区位于所述检测区和质控区之间;

[0013] (2) 区域粗划分:

[0014] 基于检测区的检测信号的第一极大值MaxPoint1、质控区的检测信号的第二极大值MaxPoint2以及所述间隔区的中点Mid,进行区域粗划分,从而将检测数据区划分为n个粗分数据区,所述n为 ≥ 2 的正整数;

[0015] (3) 区域精划分:

[0016] 对于各子数据区,基于各分数据区的拟合基线和拟合荧光拟合确定精划交点,并基于所述精划交点,进行区域精划分,将检测数据区划分为m个精分数据区,所述m为 ≥ 2 的正整数;

[0017] (4) 特征提取

[0018] 基于所述各精分数据区,提取荧光定量检测特征。

[0019] 在另一优选例中,所述的荧光定量检测包括荧光免疫层析定量分析及其它类似或基于免疫层析法定量分析的干式荧光信号检测。

[0020] 在另一优选例中,所述其它基于荧光信号的检测选自下组:示踪物基于发光染料或包含发光染料的微球的、示踪物基于上转换发光的、示踪物基于量子点微球的、或其组合。

[0021] 在另一优选例中,所述步骤(1)中荧光定量检测数据为荧光免疫层析定量检测数据。

[0022] 在另一优选例中,在步骤(3)中所述的m个精分数据区包括:

[0023] (i) T荧光区、T上游基线区、和T下游基线区(T表示检测);

[0024] (ii) C荧光区、C上游基线区、和C下游基线区(C表示质控)。

[0025] 在另一优选例中,T荧光区进一步划分为Ta荧光区和Tb荧光区。

[0026] 在另一优选例中,C荧光区进一步划分为Ca荧光区和Cb荧光区。

[0027] 在另一优选例中,所述步骤(2)中区域粗划分为利用数据本身的极值点和荧光斜率进行区域粗划分。

[0028] 在另一优选例中,所述步骤(2)中,区域粗划分按照极点识别,饱和判定,极点位置检查修正和区域确定的步骤确定荧光曲线数据区域粗划分范围,作为区域精划分的基础。

[0029] 在另一优选例中,所述极点识别是利用限定最大值查找范围最终通过查找经验范围内的最大值进行极点确定。

[0030] 在另一优选例中,所述饱和判定是通过比较一个稍小于荧光饱和最大值的数值进行的判断。

[0031] 在另一优选例中,所述极点位置检查修正是指利用经验位置或理论位置范围区间进行极点位置检查修正。

[0032] 在另一优选例中,所述极点位置检查修正将区域划分为4段用于精确识别的区域。

[0033] 在另一优选例中,所述步骤(3)中,区域精划分按照直线与交点识别,基于交点的直线修正,基线正确性修正,基线再识别,最终区域确定的步骤,确定荧光曲线的数据区域精划分范围,将数据区划分为荧光信号区和基线区即背景信号区。

[0034] 在另一优选例中,所述直线与交点识别是在每个粗区域内识别一条基线拟合直线和一条荧光拟合直线,并且利用这两条直线确定一个交点,识别过程是通过查找最合适的直线拟合决定系数确定的拟合直线的初始值的。

[0035] 在另一优选例中,所述基于交点的直线修正通过交点的经验范围和交点的对称性进行错误识别,提出自适应基线修正方法,利用过对称交点的一定角度分为内的直线扫描,利用判断有效点的多少进行拟合直线确定,通过自适应判断扫描角度和误差限度完成直线修正。

[0036] 在另一优选例中,在基线正确性修正的时候进行了自适应修正方法。

[0037] 在另一优选例中,在步骤(4)中所述的特征提取包括:

[0038] (4a) 确定参数信息,

[0039] 所述参数包括面积范围,基线和荧光;

[0040] (4b) 特征提取输出,

[0041] 根据(4a)中确定的各参数信息,代入到特征提取函数中,提取与待测物理量相关的特征量。

[0042] 在另一优选例中,所述的特征量选自下组:基线函数,荧光函数;由所确立的基线函数和荧光函数等参数所确定的基线值,特征信号计算下的最高值,特征信号曲线下面积值,面积值比值、之和或差值。

[0043] 在另一优选例中,所述步骤(4a)中,面积范围的确定为利用高斯拟合后得到的高斯方程的参数计算出面积计算范围: $[\mu-3\sigma, \mu+3\sigma]$,式中, μ 为高斯曲线的均值, σ 为高斯函数的标准差。

[0044] 在另一优选例中,所述步骤(4a)中,基线拟合(预测)方案包括:

[0045] (i) 每对交点的中点值或者最小值对应的直线;

[0046] (ii) 数据区界限边界点对应的数据值的中点值或者最小值对应的直线;

[0047] (iii) 两交点确定的直线;

[0048] (iv) 两基线到荧光中线位置的点的中点与两交点建立的分段直线;

[0049] (v) 拟合的基线直线。

[0050] 在另一优选例中,所述步骤(4a)中,基线拟合(预测)方案为拟合的基线直线。

[0051] 在另一优选例中,所述(v)拟合的基线直线方式选自下组:

[0052] ①以所有基线区数据拟合的一条直线;

[0053] ②以所有基线区数据拟合的两段的分段直线;

[0054] ③以所有基线区数据拟合的四段的分段直线;

[0055] ④以基线区域分成前后两部分对两部分分别进行高次多项式曲线拟合为基线;

[0056] ⑤以交点之间取两交点连线,交点之外取拟合基线组成的分段直线为基线。

[0057] 在另一优选例中,所述步骤(4a)中,基线拟合(预测)方案为:以交点之间取两交点连线直线,交点之外取拟合基线组成的分段直线为基线预测函数,作为特征提取的基线数据。

[0058] 在另一优选例中,所述步骤(4a)中,荧光线的确定为利用当前的荧光区数据,确定特征提取所需的荧光数据。

[0059] 在另一优选例中,所述确定特征提取所需的荧光数据采用高斯拟合的方式进行,利用获得的高斯拟合函数曲线来充当荧光信号曲线的值,确定特征提取所需的荧光数据。

[0060] 在另一优选例中,所述高斯拟合为利用原始的荧光数据点进行高斯拟合。

[0061] 在另一优选例中,所述高斯拟合函数为:

$$[0062] \quad y = A \exp \left(- \left(\frac{x - u}{\sqrt{2} \times \sigma} \right)^2 \right) + n$$

[0063] 式中,A为幅值,u为均值, σ 为标准差,n为偏移。

[0064] 在另一优选例中,所述高斯拟合为利用原始的荧光数据减去对应位置的预测基线数据充当拟合数据,进行数据拟合。

[0065] 在另一优选例中,n为0。

[0066] 在另一优选例中,所述步骤(4b)中,所述特征量(所提取的特征值)包括:测量线的面积 T_a ,质控线的面积 C_a ,测量线的峰值 T_y ,质控线的峰值 C_y 。

[0067] 在另一优选例中,所述步骤(4b)中,所述特征提取函数为:

$$[0068] \quad T_a = \int f_T(x) - b_T(x) dx$$

$$[0069] \quad C_a = \int f_C(x) - b_C(x) dx$$

$$[0070] \quad T_y = f_T(x_{\max}) - b_T(x_{\max})$$

$$[0071] \quad C_y = f_C(x_{\max}) - b_C(x_{\max})$$

[0072] 式中f为荧光数据,b为基线, $x_{\max}$ 为荧光数据最大值所对应的位置。

[0073] 本发明的第二方面,提供了一种荧光免疫层析定量检测装置,包括:

[0074] 存储器,用于存储计算机可执行指令;以及,

[0075] 处理器,用于在执行所述计算机可执行指令时实现如本发明的第一方面中任一项所述的方法的步骤。

[0076] 本发明的第三方面,提供了一种计算机可读存储介质,包括:

[0077] 所述计算机可读存储介质中存储有计算机可执行指令,所述计算机可执行指令被

处理器执行时实现如本发明的第一方面中任一项所述的方法的步骤。

[0078] 应理解,在本发明范围内中,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。

[0079] 通过阅读参照以下附图对非限制性实施例所作的详细描述,本发明的其它特征、目的和优点将会变得更明显。

附图说明

[0080] 图1为本发明一优选实施例的特征提取方法的流程框图。

[0081] 图2为本发明一优选实施例的粗划分示意图。

[0082] 图3为本发明一优选实施例的精划分详细流程图。

[0083] 图4为本发明一优选实施例的直线识别分段示意图。

[0084] 图5为本发明一优选实施例的直线决定系数增量计算示意图。

[0085] 图6为本发明一优选实施例的基线搜索示意图。

[0086] 图7为本发明一优选实施例的精划分结果示意图。

具体实施方式

[0087] 本发明人经过细致深入的研究,首次开发了一种基于实际测量荧光数据的自适应数据区域划分,基线预测,荧光拟合的荧光免疫定量检测特征提取方法。本发明方法通过对实验获取的荧光数据进行实际分析,利用数据变化趋势和荧光数据的理论特性确定区域划分方案,先利用极点值进行区域粗划分,而后利用基线和荧光直线拟合和交点确定完成数据精划分(优选地,在精划分过程中多次进行直线和交点修正),最终划分出荧光区和基线区;划分区域后通过确定特征提取参数(例如面积范围、荧光线、基线)后利用特征提取函数(例如高斯拟合函数)进行特征提取,最终完成了自适应的荧光免疫定量检测特征(例如测量线的面积 T_a ,质控线的面积 C_a ,测量线的峰值 T_y ,质控线的峰值 C_y)的提取。本发明方法根据荧光拟合的荧光免疫层析定量检测特征提取的自适应性,准确性需求,基于荧光免疫定量检测技术获取荧光数据信息。在此基础上,完成了本发明。

[0088] 通用方法

[0089] 本发明方法通过对实验获取的荧光数据进行实际分析,利用数据变化趋势和荧光数据的理论特性确定区域划分方案,先利用极点值进行区域粗划分,而后利用基线和荧光直线拟合和交点确定完成数据精划分,并且在精划分过程中多次进行直线和交点修正,最终划分出荧光区和基线区。划分区域后通过确定特征提取参数即面积范围,荧光线和基线后利用特征提取函数进行特征提取,最终完成了自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取。

[0090] 典型地,本发明方法包括以下步骤:

[0091] 1、提供数据

[0092] 提供一荧光定量检测数据。

[0093] 2、区域粗划分

[0094] 根据荧光线的曲线走势和数据特点,利用数据本身的极值点和荧光斜率等信息

按照极点识别,饱和判定,极点位置检查和粗区域确定的步骤最终确定了荧光曲线数据区域粗划分范围。

[0095] 3、区域精划分

[0096] 在数据区域粗划分的基础上,综合数据的走势和形态特征等特点,按照直线和交点,基于交点的直线修正,基线正确性修正,基线再识别,最终区域确定等步骤,最终确定了荧光曲线的数据区域精划分范围,将数据区划分为了荧光区和基线区。

[0097] 4、面积范围确定

[0098] 完成区域划分后需要确定特征提取所需要的特征计算函数需要的参数,通过理论和实验分析荧光光线分布特点,最终确定利用高斯拟合后得到的高斯方程的参数计算出面积计算范围。

[0099] 5、基线确定

[0100] 已知划分好的基线数据区数据,拟合的基线直线和交点值,需要综合这些信息进行荧光光线数据区的基线预测,通过多种方案的实验和理论分析基线预测结果,确定基线拟合方案,为最终的特征提取提供基线数据。

[0101] 6、荧光光线确定

[0102] 在荧光光线数据区内,由于直接用原荧光数据存在的弊端,需要利用当前的荧光区数据确定特征提取所需的荧光数据,为特征提取提供与待测物理量最相关的数据参数信息。

[0103] 7、特征提取输出

[0104] 根据3,4,5所确定的各个参数信息,整合提取出跟待测物理量相关的特征量,将各个特征参数带入到特征计算函数中,得到最终的特征量。

[0105] 优选地,所述步骤2中,所述极点识别是利用限定最大值查找范围最终通过查找经验范围内的最大值进行极点确定,饱和判定通过比较一个稍小于荧光饱和最大值的数值进行的判断,极点位置修正利用斜率变化信息进行极点位置修正最终将区域划分为4段用于精确识别的区域。

[0106] 优选地,所述步骤3中,直线与交点识别是在每个粗区域内识别一条基线拟合直线和一条荧光光线拟合直线,并且利用这两条直线确定一个交点,识别过程是通过查找最合适的直线拟合决定系数确定的拟合直线的初始交点。决定系数的计算如图4所示,先确定直线信号数值搜索范围和方向,按增量方向计算各决定系数,根据决定系数确定拟合范围,确定范围之后拟合出各自直线。

[0107] 更优选地,所述步骤3中,基于交点直线的修正,通过交点的经验范围和交点的对称性进行错误识别,提出自适应基线修正方法,利用过对称交点的一定角度分为内的直线扫描,利用判断有效点的多少进行拟合直线确定,通过自适应判断扫描角度和误差限度完成了直线修正。

[0108] 优选地,所述步骤4中,所述的利用高斯拟合函数的参数确定参数范围为:

[0109] $[\mu-3\sigma, \mu+3\sigma]$

[0110] 式中, μ 为高斯曲线的均值, σ 为高斯函数的标准差。这个区域的确定是根据高斯函数的能量主要集中于高斯曲线的 3σ 范围内的函数特性确定的。

[0111] 优选地,所述步骤5中,所述基线预测方案为:以交点之间取两交点连线直线,交点

之外取拟合基线组成的分段直线为基线预测函数的方式,这种方案保证了基线拟合的连续性,而且能够保证高斯拟合数据的数据趋势,同时利用分段直线鲁棒性也很高。

[0112] 优选地,所述步骤6中,所述荧光线条确定所采用的高斯拟合函数为:

$$[0113] \quad y = A \exp \left(- \left(\frac{x - u}{\sqrt{2} \times \sigma} \right)^2 \right)$$

[0114] 式中,A为幅值,u为均值, σ 为标准差,进行高斯拟合前需要利用荧光线条数据减去基线数据后得到的数据为函数拟合值,最终确定了3个参数。

[0115] 优选地,所述步骤7中,所述的提取的特征包括:测量线的面积 T_a ,质控线面积 C_a ,测量线的峰值 T_y ,质控线的峰值 C_y 。特征提取函数:

$$[0116] \quad T_a = \int f_T(x) - b_T(x) dx$$

$$[0117] \quad C_a = \int f_C(x) - b_C(x) dx$$

$$[0118] \quad T_y = f_T(x_{\max}) - b_T(x_{\max})$$

$$[0119] \quad C_y = f_C(x_{\max}) - b_C(x_{\max})$$

[0120] 上述各式中 f 为荧光线条, b 为基线, $x_{\max}$ 为荧光线条最大值所对应的位置,积分的面积由3所述确定。由于在高斯拟合之前已经进行了基线值的做差处理,所以最终上式中的 b 的函数均为0。最终实现了自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取。

[0121] 本发明的主要优点在于:

[0122] 1) 本发明利用荧光数据提出了一种自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取方法,细致规范了数据处理流程,提高了数据处理过程的稳定性;

[0123] 2) 利用自适应的数据区域划分方式,能够使得在数据在较强的干扰下依然能够准确的进行数据处理,特别在于能够得到可靠的基线参数用于后续积分拟合,大大提高了数据处理的抗干扰能力;

[0124] 3) 本发明进行了基线预测与荧光线条高斯拟合提高了测量的准确性同时高斯拟合也解决了荧光信号饱和所出现的平顶峰形被错误计算或无法计算的问题;

[0125] 4) 本发明能够更准确的确定荧光线条的面积和峰值,为了测量准确性提供保证,进而提高了测量精度。

[0126] 下面结合具体实施例对本发明进行详细说明。以下实施例将有助于本领域的技术人员进一步理解本发明,但不以任何形式限制本发明。应当指出的是,对本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进。这些都属于本发明的保护范围。

[0127] 实施例1

[0128] 如图1所示,一种自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取方法,所述方法包括下述步骤:

[0129] 1、区域粗划分

[0130] 根据荧光线条的曲线走势和数据特点,利用数据本身的极值点和荧光线条斜率等信息将整个数据段进行粗略的区域划分,最终得到4个识别区域,分别为区域1,区域2,区域3,区域4。如图2所示为粗划分区域示意图,图中分为两种情况,一种是存在荧光饱和的粗区域划分,一种是正常的区域划分。在此示例中,无论是哪种区域划分最终得到的识别区域均为

4个。为了保证区域从粗划分的稳定性和准确性,将整个划分流程分成了四个步骤,分别为:极点识别,饱和判定,极点位置检查修正,粗区域确定。

[0131] 1) 极点识别

[0132] 由于整个曲线的走势可以已知整个曲线含有两个极点,即T线极点和C线极点,而且两个极点值还是极大值点,所以只要能够限定出范围内查找最大值,则可以确定出极点值和极点位置。所以极点查找的限定范围是保证极点查找的重点。由于T线和C线的分离的距离能够保证整个点数的中点一定是一个划分位置,而荧光线的范围一般在30个像素点左右,所以为了保证荧光线的完整性最终确定的极点搜索范围为:[25,90],[90,180]。注荧光线数值量为180个,在曲线上表现为横坐标数值。

[0133] 2) 饱和判定

[0134] 由于存在荧光饱和现象,而且饱和现象对区域粗划分和后续数据处理有直接的影响,所以需要判定荧光线是否存在饱和现象,此处为了保证系统能够有一定的鲁棒性同时更具有稳定性,本发明将饱和判定的限定值判定为稍小于荧光线饱和极大值的。当判定存在饱和时划分的区域对应新的区域为饱和区,在后续的数据处理流程中,这一段区域也就是数据严重不精确区域,其荧光值被质疑和忽略。

[0135] 3) 极点位置检查修正

[0136] 在极点识别过程中,当T线的峰值很小的时候,由于待测物在试纸前端沉积,容易造成极点的错误识别,但是由于曲线走势,本发明利用极点两侧的斜率的符号进行判断,当且仅当极点左侧一定范围内的斜率值一致为正且右侧一定范围内的斜率值一致为负时,此时极点才被认为识别正确。当极点识别错误时利用斜率变化规律中存在的大于一定长度一段区域内前半部分斜率为正,后半部分为负来确定极点搜索范围,进而在这个范围内查找最大值进行极点修正。

[0137] 4) 粗区域确定

[0138] 最终经过确定后可以得到的位置如下:起点F,终点L,T线最大值点MaxPoint1,C线最大值点MaxPoint2,T线饱和界限前界点T1,T线饱和界限后界点T2,C线饱和界限前界点C1,C线饱和界限后界点C2,和计算的中点 $M = (\text{MaxPoint1} + \text{MaxPoint2}) / 2$ 。当T线不存在饱和的时候 $T1 = T2 = \text{MaxPoint1}$,C线不存在饱和时 $C1 = C2 = \text{MaxPoint2}$,最终的区域范围为:区域1:[F,T1],区域2:[T2,M],区域3:[M,C1],区域4:[C2,L]。

[0139] 2、区域精划分

[0140] 经过了区域的粗划分后,利用对区域内曲线规律的观察和分析通过利用直线拟合的方式利用直线的交点进行数据的区域的详细划分,最终使得整个区域划分为荧光线区,基线区。如图4所示,整个数据内分割拟合出8条直线,其中拟合的基线直线4条分别是line0,line3_1,line3_2,line6,此处将中间段的基线分成两条直线,主要为了保证基线拟合的准确性。荧光拟合直线4条分别是:line1,line2,line4,line5。其中由1中所划分的粗区域中区域1中识别line0和line1,区域2中识别line2和line3_1,区域3中识别line3_2和line4,区域4中识别line5和line6。经过直线和交点识别,直线修正和直线再识别后最终利用确定的直线确定的交点来进行区域精划分。精划分的详细流程如图3所示,所述的方法包括以下步骤:

[0141] 1) 直线与交点识别

[0142] 由于在每个区域内需要识别两条直线,为了减小计算量提高识别准确度首先需要再进一步确定每条直线的拟合点选择搜索范围和搜索方向,根据荧光线的最大宽度等信息最终确定的各条直线的拟合点搜索范围如表1所示,图中的bound即为荧光线的最大宽度值。

[0143] 表1本发明一优选实施例的直线搜索信息表

[0144]

直线名	搜索范围	搜索方向	区域位置
line0	[1,maxPoint1-bound]	从头开始	区域1
line1	[maxPoint1-bound,T1-1]	从尾开始	区域1
line2	[T2+1,maxPoint1+bound]	从头开始	区域2
line3_1	[maxPoint1+bound,mid]	从尾开始	区域2
line3_2	[mid,maxPoint2-bound]	从头开始	区域3
line4	[maxPoint2-bound,C1-1]	从尾开始	区域3
line5	[C2+1,maxPoint2+bound]	从头开始	区域4
line6	[maxPoint2+bound,last]	从尾开始	区域4

[0145] 如图5所示为直线拟合决定系数增量计算示意图,当搜索方向从头开始时,则最开始的拟合范围是第1个点到第5个点,以当前位置为自变量,荧光测量值为因变量,计算自变量和因变量的拟合直线的决定系数,而后逐个增长最后一个点的位置值,最终获取决定系数向量。同理,从尾开始的决定系数增量计算方法则是,拟合范围的终点值为last不变,而拟合范围的开始点值逐渐减小,最终获得决定系数向量。

[0146] 利用决定系数向量确定最终的拟合直线范围,计算决定系数向量最大值的位置和决定系数达到边界值的位置,为了能够获得更准确的拟合直线,要求拟合范围尽可能大,因而取这两个位置中相对于搜索起始点的范围中的较大值为最终的直线的拟合范围。在最终得到的拟合范围拟合出所有的直线,之后取line0和line1的交点为P0,line2和line3_1的交点为P1,line3_2和line4的交点为P2,line5和line6的交点为P3。

[0147] 2) 基于交点直线修正

[0148] 如1)所述最终获取的直线和交点,为了保证直线和交点的准确性,首先需要利用交点进行对直线的修正,由于荧光线是按高斯关系的分布的,所以曲线是轴对称的,即使是误差、离散和噪声的存在,但是最终的一对交点关于最大值位置轴对称,而且由于荧光线条宽范围的限制,每个交点的位置也是在一定位置范围内的。以交点对称性和线宽范围为交点判断条件,当交点无错误时转到3)基线正确性修正。当交点存在错误的时候,再进行判断,将四个交点分成两个对,如果在一对交点中两个值均发生错误则表示此处的荧光线形状不是对称的,此时我们认为发生异常,进行异常抛出,同时也认为此时的测量值为0,并发出提示。当一对交点中只有一个有错误的时候则进行自适应矫正。

[0149] 当一对交点中的一个交点错误的时候,设正常点为R,错误点为W,荧光中线为mid_line,首先取R横坐标关于mid_line的对称点Q的横坐标,由于实际实验发现,当交点发生确定错误的时候,荧光线的直线拟合往往没有问题,错误出现在了基线的直线拟合,因为基线受到的干扰因素更多,波动更大所以本发明人认为W点所对应的荧光线直线是正确的直线,将Q横坐标代入到W点所对应的荧光线直线方程中得到Q点纵坐标,从而确定Q点。如图6所示

的直线搜索方法,以Q点为不定点,对在一定角度范围内过不定点的直线进行搜索,当由点到搜索直线的误差值小于限度值时为有效,有效点的数量为评价标准。上述的矫正方案中有两个参数是需要自己确定的,也就是直线扫描角度范围和偏差限度值,为了能够保证直线拟合准确且具有足够的自适应性,在此提出了参数自适应方案。

[0150] 直线的扫描范围的获取方法是通过将基线范围内所有的点进行一次直线拟合后,以这条直线的倾角为中间值,在此基础上的一定范围为直线扫描范围。对于偏差限度值,采用增量式多次限度值尝试的自适应方案,首先设定一个限度值范围 $[\min, \max]$,并且设定一个限度值增量,通过设定最小的直线拟合点数为评价标准,进行多次修正,最终得到尽可能精细的限度值范围下的拟合直线,保证了拟合基线的准确性和自适应性。

[0151] 通过自适应基线矫正方案得到了拟合基线的有效点,利用有效点集合和不定点进行一次直线拟合得到的直线为修正后的直线,利用该直线与荧光线再次求交点得到的点为修正后的交点。

[0152] 3) 基线正确性修正

[0153] 在完成一次基于交点的正确性判定和修正后对基线进行一次基于基线的正确性判定。由于直线识别算法是有可能为了保证拟合直线的相关性造成拟合点数取得过少而存在直线局部拟合现象。为了防止局部拟合现象的发生对与基线自身的正确性进行一次基于基线自身的判断和修正,由于在基线范围内,虽然噪声和离散性质的影响会有一些错误点,但是基础的基线点也是存在的,并且是主流,所以只要对基线范围的所有数据进行一次直线拟合,虽然拟合直线不精确但是也有一定的价值。

[0154] 本发明通过实验确定了正确的拟合基线倾角一定在这条所有点拟合的基线倾角的一定范围内,并以此为判断依据,判断基线的正确性,如果基线正确则转入4),否则则认为该直线和由该直线决定的交点错误,利用2)提出的自适应修正方法进行基线和交点的修正。

[0155] 4) 基线再识别

[0156] 经过两次基线和交点的修正已经能够得到相对准确的线和交点了,但是经过实际的观察和实验发现实际基线的拟合点应该在靠近交点的一段数据区域内,而初始的搜索方向恰好与此相反,这也就大大降低了拟合精度,因此在得到初步的交点和区域划分后,利于这个相对准确的区域划分进行一次基线的再识别,识别方法与之前类似,只不过识别方向是从靠近交点的方向到远离交点的方向,识别的范围是利用交点进行的范围确定。

[0157] 5) 最终区域确定

[0158] 通过上述步骤最终得到准确的交点和直线识别,将整个数据区分成荧光线区和基线区,如图7所示最终的基线范围为:

[0159] $[F, Z0] \cup [Z1, Z2] \cup [Z3, L]$

[0160] 荧光区范围为:

[0161] $[P0, P1] \cup [P2, P3]$

[0162] 由于确定的交点和实际的基线之间有一段未确定区域,这一段区域内的数据无法确定属于哪一方,为了保证数据准确性,取交点一段长度外的点为区域的界限点 $Z0, Z1, Z2, Z3$,最终完成了区域精划分,得到荧光区和基线区。

[0163] 3、面积范围确定

[0164] 经过1和2后获得了准确的荧光区和基线区,需要为特征提取做准备,确定特征提取所需要的参数,T线和C线的面积计算范围是一个很重要的参数,具体的面积范围确定方案有两种:第一种是基于分界交点计算出的面积计算范围,也就是在交点范围的基础上进行一定的扩充范围后得到的范围为面积计算范围;第二种方案是由于经过高斯拟合后,已知高斯函数的能量主要集中在 3σ 范围内,所以面积计算范围是基于高斯拟合后得到的高斯方程参数得到的范围为: $[\mu-3\sigma, \mu+3\sigma]$ 。经过实验和理论分析验证本发明最终选择方案二为面积计算范围。

[0165] 4、基线确定

[0166] 基线作为影响最终特征提取的一个重要因素,需要根据已知的基线拟合直线,基线数据区和交点对荧光区内的基线值进行预测。基线的预测方案包括以下方案:每对交点的中点值或者最小值对应的直线;数据区界限边界点对应的数据值的中点值或者最小值对应的直线;两交点确定的直线;两基线到荧光中线位置的点的中点与两交点建立的分段直线;拟合的基线直线;以所有基线区数据拟合的一条直线;以所有基线区数据拟合的两段的分段直线;以所有基线区数据拟合的四段的分段直线;以基线区域分成前后两部分对两部分分别进行高次多项式曲线拟合为基线;以交点之间取两交点连线,交点之外取拟合基线组成的分段直线为基线。

[0167] 经过理论分析和实验验证,最终从上述方案中确定为:以交点之间取两交点连线,交点之外取拟合基线组成的分段直线为最终的基线预测方式。

[0168] 5、荧光线确定

[0169] 荧光线是整个测量中特征信息主要的集中位置,对于荧光数据的获取也成为重中之重,传统的特征提取方法往往是直接取原实验数据为最终的荧光线,这种方法使用原数据最终的特征提取误差大,而且面对存在类似于荧光饱和现象时等出现的荧光线原数据错误等问题,会使最终的特征值存在很大差异。因而采用高斯拟合的方式进行,利用获得的高斯函数来充当荧光线的值,而高斯拟合曲线又有两种形式,分别对应于两种高斯拟合方法(高斯拟合函数)。

[0170] 第一种高斯拟合函数为:

$$[0171] \quad y = A \exp \left(- \left(\frac{x - u}{\sqrt{2} \times \sigma} \right)^2 \right) + n$$

[0172] 式中,A为幅值,u为均值, σ 为标准差,n为偏移。它是利用原始的荧光线数据进行高斯拟合,需要确定4个拟合参数,这种方法进行的高斯拟合虽然在高值的时候拟合效果很好,但是在低值的时候就会有很大的误差。

[0173] 第二种高斯拟合函数为:

$$[0174] \quad y = A \exp \left(- \left(\frac{x - u}{\sqrt{2} \times \sigma} \right)^2 \right)$$

[0175] 式中,A为幅值,u为均值, σ 为标准差。它是利用原始的荧光线数据减去对应位置的预测基线数据充当拟合数据,最终进行的数据拟合,需要确定3个参数,这种方法拟合的数据误差小,更符合理论依据,最终荧光曲线选择这个函数的拟合结果。

[0176] 6、特征提取输出

[0177] 经过上述的区域划分和参数确定后,进行最终的特征提取,提取的特征包括:测量线的面积 T_a ,质控线面积 C_a ,测量线的峰值 T_y ,质控线的峰值 C_y 。各个特征的计算方法如下:

$$[0178] \quad T_a = \int f_T(x) - b_T(x) dx$$

$$[0179] \quad C_a = \int f_C(x) - b_C(x) dx$$

$$[0180] \quad T_y = f_T(x_{\max}) - b_T(x_{\max})$$

$$[0181] \quad C_y = f_C(x_{\max}) - b_C(x_{\max})$$

[0182] 上述各式中 f 为荧光函数, b 为基线函数, $x_{\max}$ 为荧光最大值所对应的位置,积分范围由步骤3确定。由于在高斯拟合之前已经进行了基线值的做差处理,所以最终上式中的 b 的函数均为0。经过上述运算后得到输出的特征结果。

[0183] 表2本发明一优选实施例的荧光饱和结果分析表

[0184]

高斯拟合前 测量值T1	高斯拟合后 提取值T2	激发光削弱 后测量值T3	拟合前相对误差 (T1-T3)/T3*100%	拟合后相对误差 (T2-T3)/T3*100%
3182.15877	3407.187678	3407.294444	-6.6074617%	-0.0031334%
2799.211933	2805.473187	2804.251756	-0.1797208%	0.0435564%
3251.187578	3523.154537	3524.099982	-7.7441731%	-0.0268280%
3150.588393	3294.646022	3274.341451	-3.7794793%	0.6201116%
3150.137827	3419.576479	3404.739836	-7.4778697%	0.4357644%

[0185]

3040.519347	3273.40335	3248.76698	-6.4100514%	0.7583299%
3122.483322	3398.005255	3398.895876	-8.1324219%	-0.0262032%
3213.385539	3546.781238	3519.335512	-8.6934017%	0.7798553%
3143.242088	3393.1988	3371.35631	-6.7662448%	0.6478844%
3255.666122	3583.195121	3586.496172	-9.2243246%	-0.0920411%
3096.606575	3260.530853	3251.248824	-4.7563954%	0.2854912%
3093.278144	3235.885554	3229.833696	-4.2279437%	0.1873737%
3341.790177	3759.668486	3761.783788	-11.1647461%	-0.0562314%
3308.548208	3700.751938	3716.100504	-10.9672033%	-0.4130288%

[0186] 如表2所示为实际存在荧光饱和现象时的结果对比分析表,选取削弱激发光后在非饱和下的测量值为目标值,对方法使用前和方法使用后分别进行对真值的相对误差计算发现,使用后的相对误差得到了很大的削弱,与激发光削弱的计算结果几乎相等,利用算法

能够很好的解决荧光饱和现象造成的平顶问题。

[0187] 本发明通过粗划分与精划分并且在划分过程中进行了多次判断和修正,同时利用自适应的算法保证划分结果,为后续的特征提取提供了稳定准确的数据来源支持。

[0188] 本发明在特征提取过程中实验了多种特征参数计算方案,最终选定了最优的特征计算方案,并且通过高斯拟合很好的保证了数据的稳定性和准确性,很好的解决了荧光饱和问题。

[0189] 以上对本发明的具体实施例进行了描述。需要理解的是,本发明并不局限于上述特定实施方式,本领域技术人员可以在权利要求的范围内做出各种变形或修改,这并不影响本发明的实质内容。

[0190] 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。

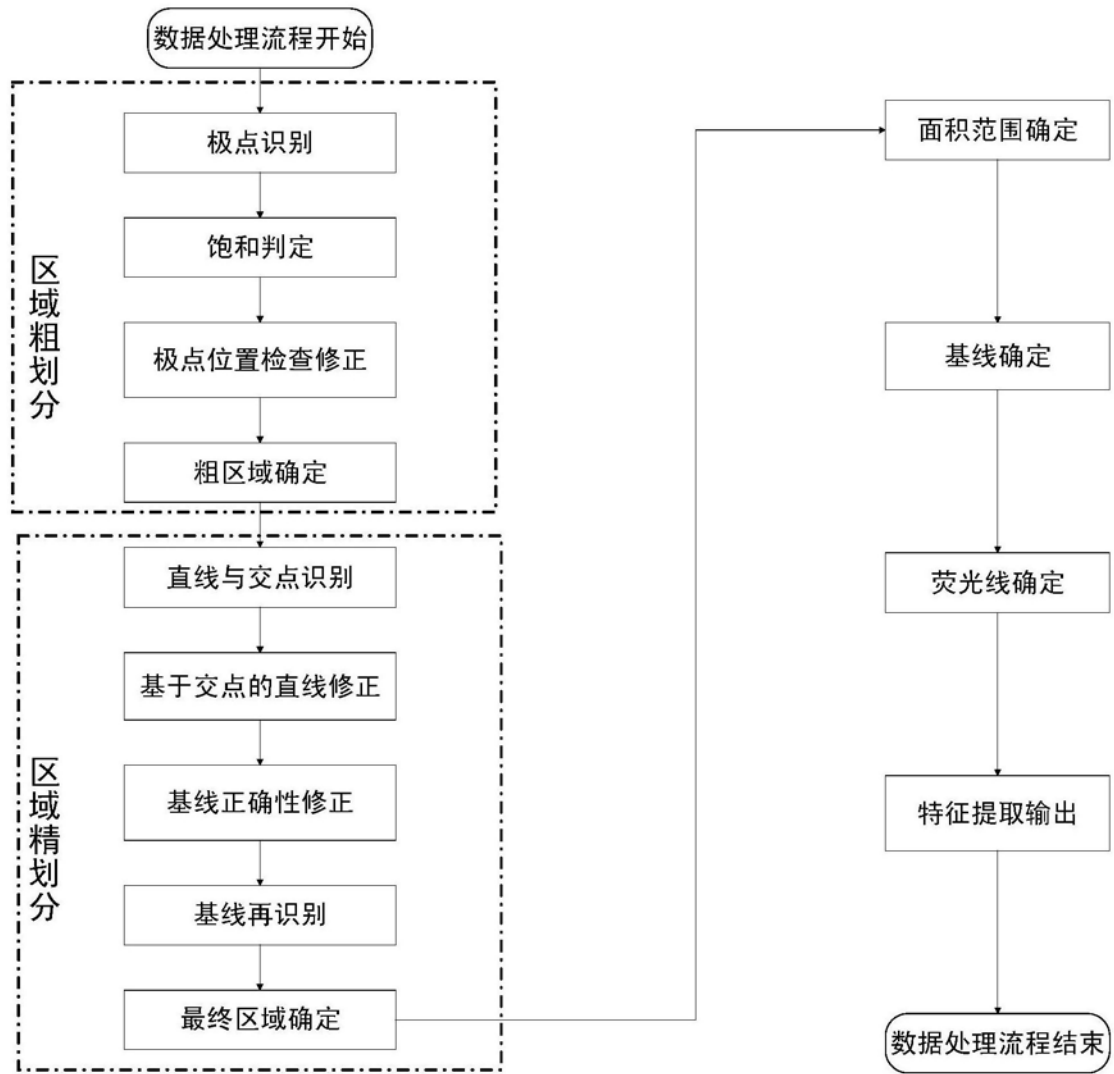


图1

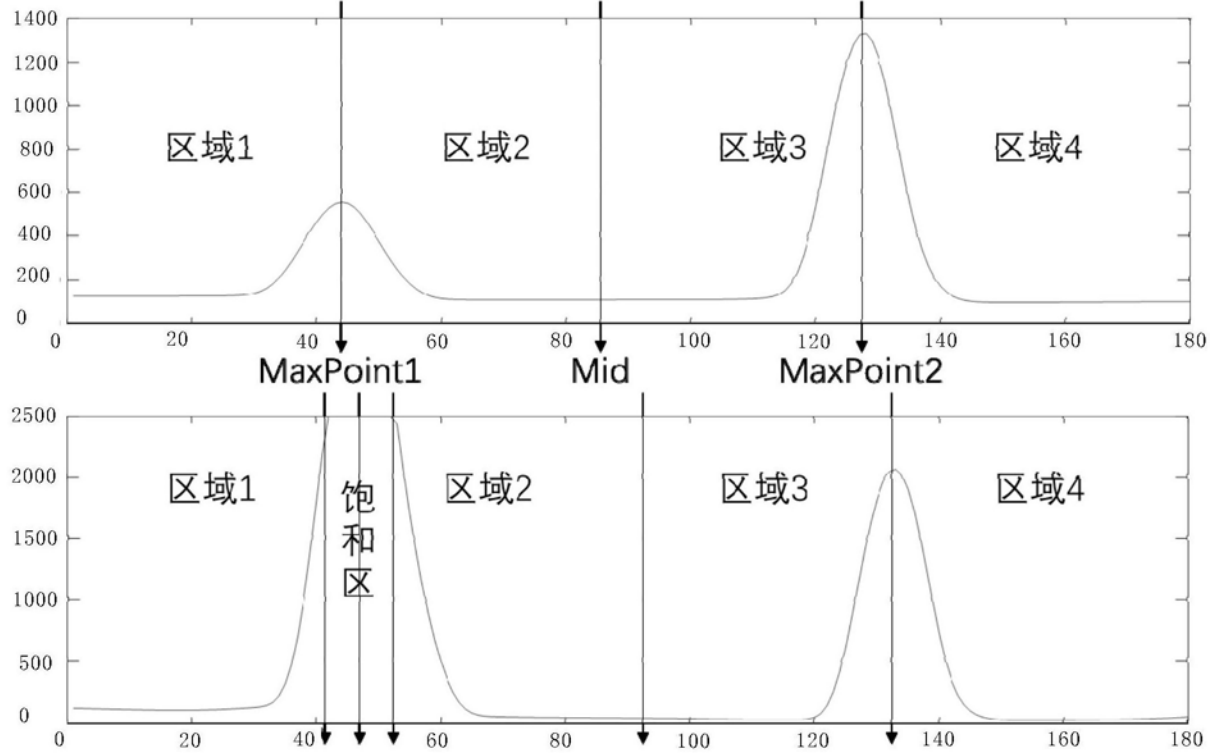


图2

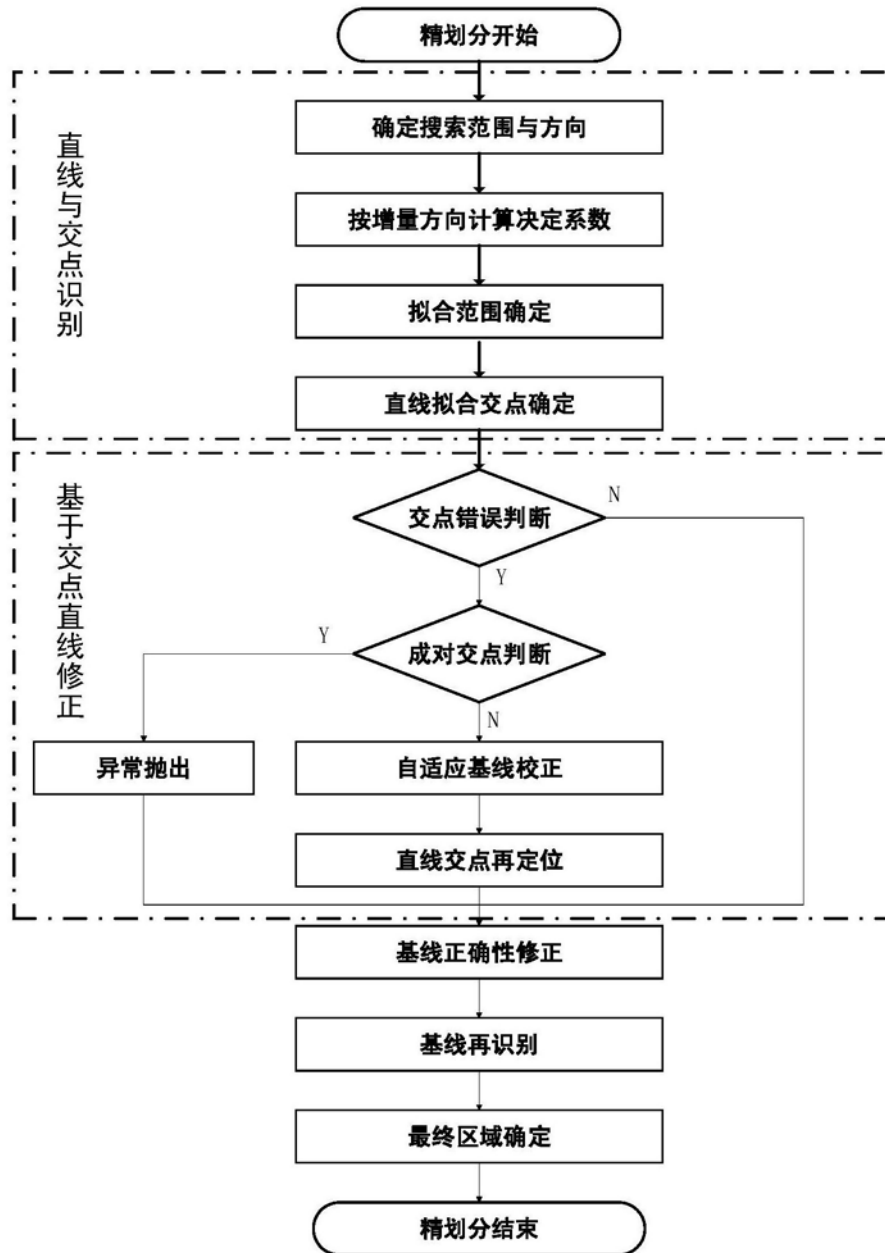


图3

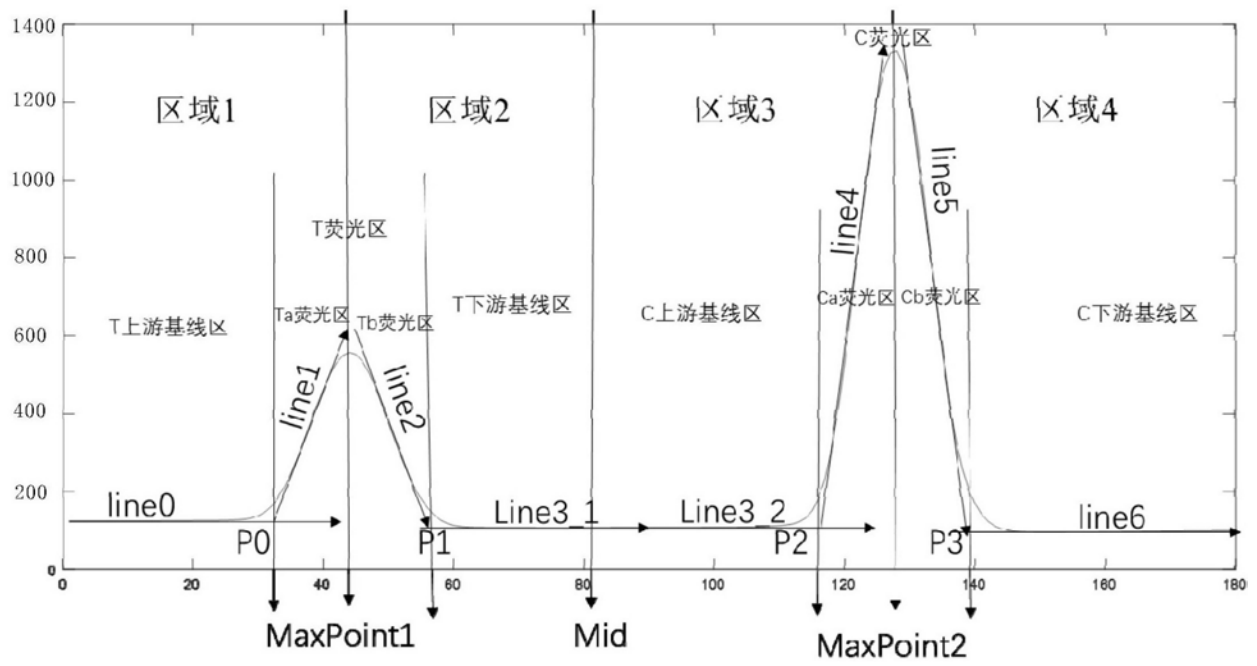


图4

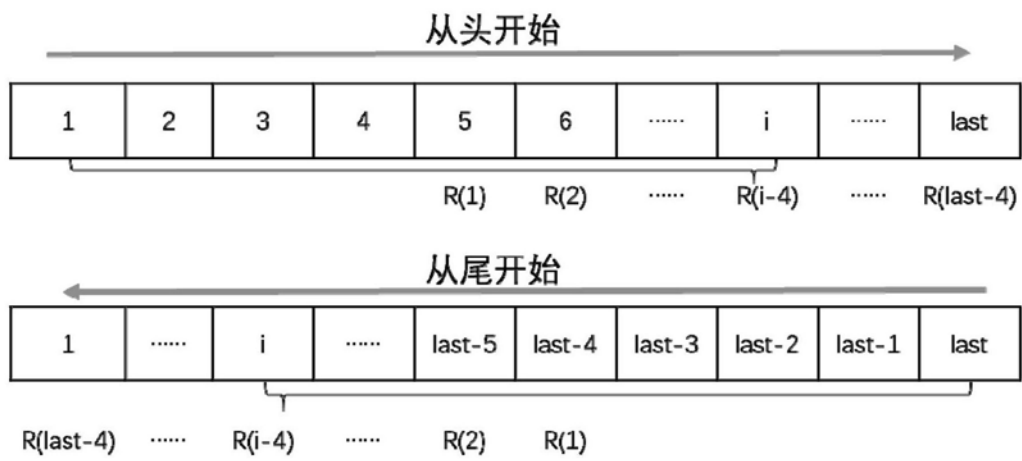


图5

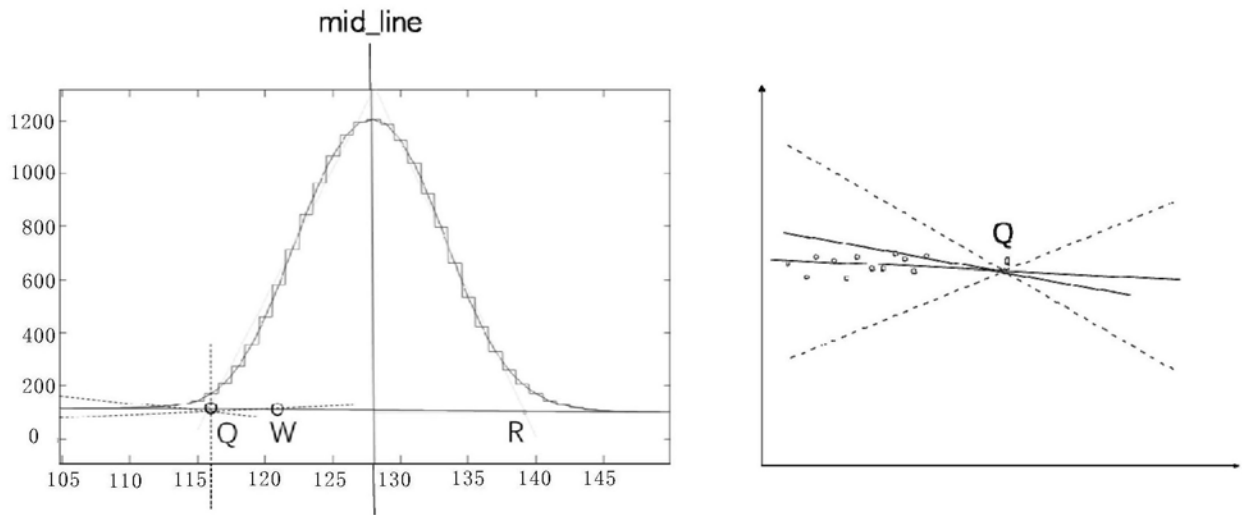


图6

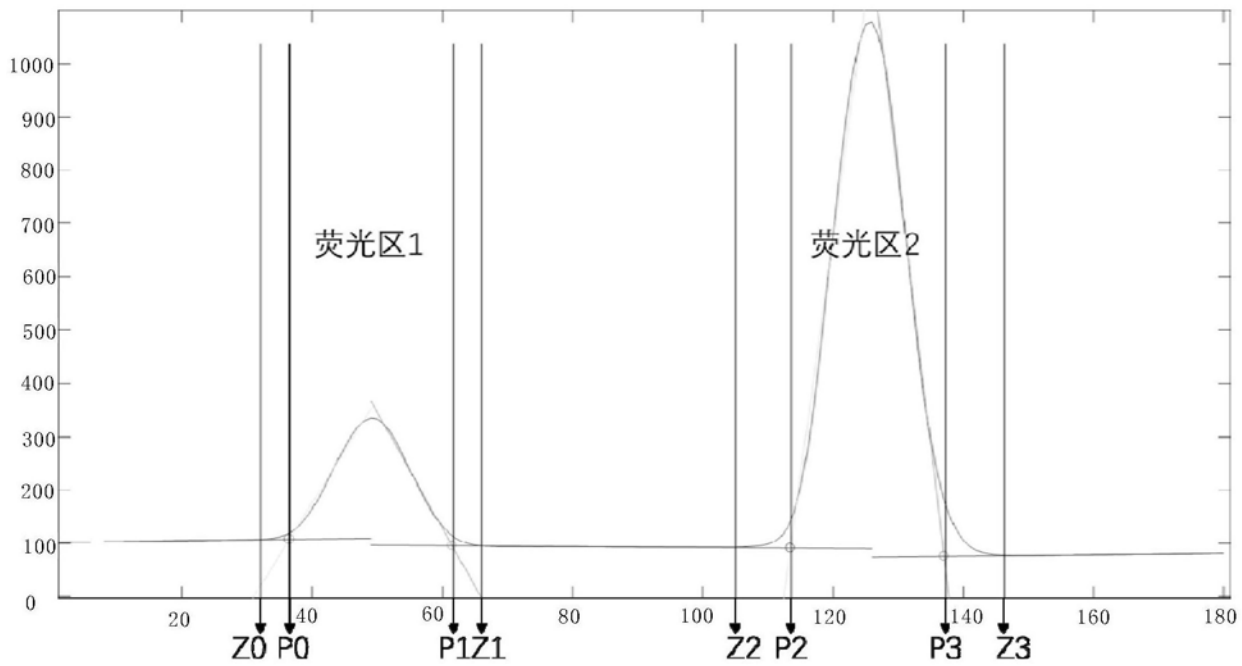


图7

专利名称(译)	一种自适应的荧光免疫层析定量检测特征提取方法		
公开(公告)号	CN109187950A	公开(公告)日	2019-01-11
申请号	CN201811152363.1	申请日	2018-09-29
[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	郭根 王陈成 罗贞		
发明人	郭根 王陈成 罗贞		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/558 G01N21/64		
CPC分类号	G01N33/533 G01N21/6428 G01N33/558 G01N2021/6439		
代理人(译)	胡丹 徐迅		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公布一种自适应的荧光免疫定量检测特征提取方法，该方法属于生物学，医学工程，计算机信号处理技术领域。本发明在荧光免疫定量检测测量技术的基础上获取的荧光信号，在对荧光信号滤波等数据处理的基础上，对荧光信号进行数据的处理包括：信号峰值识别，边界确定，荧光线拟合，基线拟合，特征值的确定。为了保证测量的自适应性和准确性，同时为了解决当前的荧光免疫定量检测中存在荧光信号测定值饱和而无法测算的现象，提出了自适应的荧光免疫定量检测特征提取方法，保证测量准确。

