



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107421934 A

(43)申请公布日 2017.12.01

(21)申请号 201710653527.8

(22)申请日 2017.08.02

(71)申请人 重庆大学

地址 400030 重庆市沙坪坝区沙正街174号

(72)发明人 徐溢 王人杰 陈李 毛明健

刘海涛

(74)专利代理机构 重庆华科专利事务所 50123

代理人 康海燕

(51)Int.Cl.

G01N 21/64(2006.01)

G01N 1/40(2006.01)

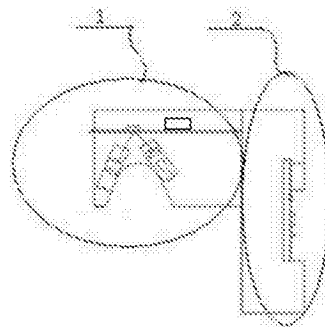
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

## (54)发明名称

一种新型便携式细菌实时检测芯片系统及检测方法

## (57)摘要

本发明属于细菌检测技术领域,具体涉及一种新型便携式细菌实时检测芯片系统及检测方法,所述检测系统集成荧光检测功能和介电泳富集功能于一体,既能够实现目标菌在微型芯片内的高度富集,提高检测灵敏度、降低目标细菌检出限,又能够实现细菌的原位高精度检测。此外,还能够在检测系统内部直接完成检测分析和数据输出,实现细菌的便携式实时检测。所述检测方法灵敏度高、准确度高,且操作简单方便,适用多种不同环境下细菌浓度检测。



1. 一种新型便携式细菌实时检测芯片系统,包括组装成整体或一体式的检测模块(1)和处理模块(2),所述检测模块(1)包括由上至下依次设置的不透光盖(11)、芯片放置台(12)、光路单元(13)以及设置于芯片放置台(12)上的DEP激发单元(14),所述处理模块(2)的上部集成有电路单元(21),所述处理模块(2)的中部集成有显示录入单元(22),所述处理模块(2)的下部集成有独立电源单元(23),其特征在于:

所述不透光盖(11)覆盖住整个芯片放置台(12);

所述芯片放置台(12)的中部设有镂空的芯片放置架(121),用于放置待测芯片;

所述光路单元(13)由激发光路(131)和检测光路(132)组成,所述检测光路(132)与激发光路(131)位于同侧、且呈 $90^\circ$ 夹角,所述激发光路(131)包括激发光源、第一滤波片和聚光透镜,激发光源发出的激发光经第一滤波片滤过后,由聚光透镜聚焦于芯片的待检测区,所述检测光路(132)包括第二滤波片和光电探测器,激发产生的荧光经第二滤波片滤过后,由光电探测器接收,并将光信号转换成电信号;

所述DEP激发单元(14)包括激励信号发生单元、AD转换单元和数据处理单元,所述DEP激发单元(14)的外部设有外罩金属屏蔽盒,所述外罩金属屏蔽盒采用接地的法拉第屏蔽模式,所述激励信号发生单元为DEP芯片提供 $0-10V_{pp}$ 的激发电压和 $1KHz-5MHz$ 的激发频率,所述AD转换单元实现对电信号的AD转换,所述数据处理单元实现对AD转换的数字信号的计算、处理,并输送至显示录入单元(22)显示;

所述电路单元(21)包括电信号放大单元、滤波单元,以及与DEP激发单元(14)共用的AD转换单元和数据处理单元,所述电信号放大单元实现对电信号的放大,所述滤波单元滤除高频干扰信号,所述电路单元(21)和DEP激发单元通过多路电子开关实现信号切换,实现DEP激发功能和荧光检测功能的集成,所述电路单元(21)与光路单元(13)的光电探测器连接;

所述显示录入单元(22)包括显示屏、按键、主控板PCB,与电路单元(21)连接,实现数据的结果显示和指令输入;

所述独立电源单元(23)通过开关与激发光源、光电探测器、主控板PCB和DEP激发单元连接。

2. 如权利要求1所述的便携式细菌实时检测器,其特征在于:所述便携式细菌实时检测器为手持式结构,所述的检测模块(1)水平设置,所述的处理模块(2)竖直设置,检测模块(1)的右侧面与处理模块(2)的左侧面密切贴合或为一体式。

3. 如权利要求1所述的便携式细菌实时检测器,其特征在于:配套用于所述便携式细菌实时检测器的微流控芯片由盖片和底片构成,所述盖片上设有至少一对DEP富集检测区(90),所述DEP富集检测区(90)为长方形,每个DEP富集检测区(90)通过进样管道连接一个进样口(91),每对DEP富集检测区(90)通过流出管道汇集至同一个出样口(92),且所述出样口(92)位于其对应的一对DEP富集检测区的中心线上,所述DEP富集检测区(90)对应的底片上集成有 $20-30$ 对微叉指电极(93),所述微叉指电极的长为 $1500\mu m-2000\mu m$ ,宽为 $18\mu m-23\mu m$ ,每对微叉指电极的间隔为 $18\mu m-23\mu m$ 。

4. 权利要求1-3任一项所述的便携式细菌实时检测器检测细菌的方法,包括以下步骤:

步骤1一次富集:选择能特异识别目标细菌的适配体,制备纳米磁珠-适配体复合物(MNPs-Apt),将所得纳米磁珠-适配体复合物与目标菌样本孵育,并用荧光试剂进行标记,

制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物 (MNPs-Apt-目标菌), 在外磁场的作用下完成目标菌的一次富集;

步骤2二次富集: 将集成有阵列叉指微电极 (DEP) 的微流控芯片置于权利要求1所述集成介电电泳的便携式细菌实时检测器的芯片放置台 (12) 上, 通过在芯片放置架 (121) 上左右移动微调位置, 使DEP检测区域与激发光路 (131) 的光斑对应, 将芯片阵列叉指微电极与DEP激发单元连接, 将步骤1一次富集所得物注入微流控芯片进样口, 控制开关使独立电源单元 (23) 为DEP激发单元和主控板PCB供电, 并通过显示录入单元 (22) 按键为芯片提供合适的DEP激发频率与电压, 完成目标菌的二次富集;

步骤3检测: 控制开关使独立电源单元 (23) 为激发光源、光电探测器和主控板PCB供电, 获得目标菌样本荧光值检测结果。

5. 如权利要求4所述的检测方法, 其特征在于: 步骤1中荧光试剂标记的方法为将有机荧光试剂与纳米磁珠-适配体复合物、含有目标菌的样本同时孵育制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物, 或者将荧光试剂先与合适的适配体制备成荧光试剂-适配体复合物后, 将荧光试剂-适配体复合物、纳米磁珠-适配体复合物和目标菌同时孵育制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物; 优选地, 步骤1中荧光试剂标记的方法为将荧光试剂先与合适的适配体制备成荧光试剂-适配体复合物后, 再将荧光试剂-适配体复合物、纳米磁珠-适配体复合物和目标菌同时孵育制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物。

6. 如权利要求4或5所述的检测方法, 其特征在于: 还进一步包括以下步骤: 将目标菌的标准溶液按照步骤3的方法测得荧光差值, 以浓度为横坐标, 以测得的荧光值为纵坐标, 建立标准曲线图, 将步骤2二次富集的待测样本按步骤3的方法测得荧光差值, 代入标准曲线图中获得待测样本中目标细菌浓度值。

## 一种新型便携式细菌实时检测芯片系统及检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于细菌检测技术领域,具体涉及一种新型便携式细菌实时检测芯片系统及检测方法。

### 背景技术

[0002] 细菌的识别检测在疾病防控、临床诊断以及食品卫生安全 and 环境监测等领域具有重要研究价值和实用意义。目前细菌的识别检测方法有平板计数法、免疫学法、流式细胞仪计数法、分子生物学法、荧光分析检测法等多种方法,其中平板计数法作为常规的细菌培养检测技术,存在耗时长、检测结果不准确等缺点,应用受限;而免疫学法、流式细胞仪计数法、分子生物学法等方法存在操作繁琐、或价格昂贵等缺陷,在针对食源性致病菌的快速识别和高效检测方面仍然存在局限和瓶颈;而细菌荧光分析检测方法因其效果可靠、操作简单,越来越受到人们的关注。

[0003] 细菌荧光分析检测方法的荧光检测系统,由于在光源与检测器之间需要加入聚光透镜等分离光学元件,且需要外接电源、显示系统等,使得到的电信号经放大滤波后输出至工作站或记录仪,集成化、小型化困难,既无法实现便携检测,也限制了使用环境,如本课题组在专利文献CN 101441177 A中公开的一种LED诱导光纤型集成PIN光电探测器的微型荧光检测器,不仅需要外接电源实现对激发光源、光电探测器等元件供电,而且需将检测所得到的信号经放大滤波后输出至工作站或记录仪,无法独立便携地完成检测工作,检测器体积大,极大地限制了其便携性、实时性和工作环境等,且仅停留在试验阶段,尚无法规模化使用。

[0004] 现阶段,细菌简化、集成化高效检测技术尚处于起步和实验研究阶段,相关实时现场检测仪器及方法尚不成熟。

### 发明内容

[0005] 本发明的一个目的是提供一种新型便携式细菌实时检测芯片系统,所述检测系统集成荧光检测功能和介电电泳富集功能于一体,既能够实现目标菌在微型芯片内的有效富集,提高检测灵敏度、降低目标细菌检出限,又能够实现细菌的原位高精度检测,此外,还能够检测系统内部直接完成检测分析和数据输出,实现细菌的实时快速检测。

[0006] 本发明的另一个目的是提供应用上述新型便携式细菌实时检测芯片系统检测细菌的方法,所述方法结合磁效应和介电电泳效应双模式分离富集,检测灵敏度高、目标菌检出限大大降低,且准确度好,稳定性好,操作简单方便,适用多种环境的细菌浓度检测。

[0007] 为实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

一种新型便携式细菌实时检测芯片系统,包括组装成整体或一体式的检测模块和处理模块,所述检测模块包括由上至下依次设置的不透光盖、芯片放置台、光路单元以及设置于芯片放置台上的DEP激发单元,所述处理模块的上部集成有电路单元,所述处理模块的中部集成有显示录入单元,所述处理模块的下部集成有独立电源单元,其特征在于:

所述不透光盖覆盖住整个芯片放置台,能够避免杂散光的干扰,提高检测精度和数据的准确可靠性;

所述芯片放置台的中部设有镂空的芯片放置架,用于放置待测芯片,芯片在所述芯片放置架上能够左右移动微调位置,确保芯片待检测区对准激发光路的光斑,同时镂空的设计能够减少多光束光纤使用的同时,避免激发光损失,提高检测灵敏度;

所述光路单元由激发光路和检测光路组成,所述检测光路与激发光路位于同侧、且呈 $90^{\circ}$ 夹角,不仅在有利于小型化的同时,能够兼顾满足激发光路聚光透镜的焦距调节距离需要,而且能够显著提高安装结构的稳定性,确保信号输出的平稳性及整个仪器的结构精度分配,所述激发光路包括激发光源、第一滤波片和聚光透镜,激发光源发出的激发光经第一滤波片滤过后,由聚光透镜聚焦于芯片的待检测区,所述检测光路包括第二滤波片和光电探测器,激发光源发出的激发光经第一滤波片滤过后,由聚光透镜聚焦于芯片待检测区,信号强度高,无杂散光干扰,激发产生的荧光经第二滤波片滤过后,由光电探测器接收,并将光信号转换成电信号,灵敏度高,重复检测稳定性好;

所述DEP激发单元包括激励信号发生单元、AD转换单元和数据处理单元,所述DEP激发单元的外部设有外罩金属屏蔽盒,所述外罩金属屏蔽盒采用接地的法拉第屏蔽模式,所述激励信号发生单元为DEP芯片提供0-10 V<sub>pp</sub> 的激发电压和 1KHz -5MHz的激发频率,所述AD转换单元实现对电信号的AD转换,所述数据处理单元实现对AD转换的数字信号的计算和处理,并输送至显示录入单元显示,所述DEP激发单元设置于芯片放置台上,同时在其外部设置外罩金属屏蔽盒,一方面能够有效避免DEP激发单元产生的高频交流信号对其他电气元件产生电磁干扰,另一方面可以确保DEP激发单元产生的高频交流信号具有稳定的幅值和频率以保障DEP富集效果,通过DEP激发单元提供合适且稳定的激发电压和激发频率,使目标菌在微叉指电极的正介电泳力作用下,富集于待检测区域的同时,除去多余试剂,避免背景的干扰;

所述电路单元包括电信号放大单元、滤波单元,以及与DEP激发单元共用的AD转换单元和数据处理单元,所述电信号放大单元实现对电信号的放大,所述滤波单元滤除高频干扰信号,所述电路单元和DEP激发单元通过多路电子开关实现信号切换,实现DEP激发功能和荧光检测功能的集成,为新型便携式细菌实时检测芯片系统进一步小型便携化提供基础,所述电路单元与光路单元的光电探测器连接,光电探测器检测的信号经电路单元放大、转换后输出至显示录入单元;

所述显示录入单元包括显示屏、按键、主控板PCB,所述显示录入单元与电路单元连接,实现数据的获取、处理、结果显示和指令输入;

所述独立电源单元通过开关与激发光源、光电探测器、主控板PCB和DEP激发单元连接,能够通过开关控制分别和/或同时为激发光源、光电探测器、主控板PCB和DEP激发单元供电。

[0008] 进一步,所述便携式细菌实时检测器为手持式结构,所述的检测模块水平设置,所述的处理模块竖直设置,检测模块的右侧面与处理模块的左侧面密切贴合或为一体式。

[0009] 进一步,配套用于所述便携式细菌实时检测器的微流控芯片由盖片和底片构成,所述盖片上设有至少一对DEP富集检测区,所述DEP富集检测区为长方形,每个DEP富集检测区通过进样管道连接一个进样口,每对DEP富集检测区通过流出管道汇集至同一个出样口,

且所述出样口位于其对应的一对DEP富集检测区的中心线上,能够保证每对DEP富集检测区内检测样本的流速一致,所述DEP富集检测区对应的底片上集成有20-30对微叉指电极,所述微叉指电极的长为1500 $\mu\text{m}$ -2000 $\mu\text{m}$ ,宽为18 $\mu\text{m}$ -23 $\mu\text{m}$ ,每对微叉指电极的间隔为18 $\mu\text{m}$ -23 $\mu\text{m}$ ,DEP富集检测区成对的设计,能够同时对待测样本和对照品按相同的条件进行检测,从而对检测结果进行校正,提高方法准确度,或者同时检测两个样品,提高检测效率。

[0010] 本发明人发现,在集成DEP富集功能和荧光检测功能于一体时发现,DEP激发单元的激励信号发生单元产生的微流控芯片需要的DEP高频交流信号,对其他电气元件有很强的电磁干扰,影响检测结果的可靠性;同时,该DEP高频交流信号需要稳定的幅值和频率,以保证细菌的DEP富集效果。本发明人经过大量的研究发现,对DEP激发单元的外部设置外罩金属屏蔽盒,且采用同时接地的法拉第屏蔽模式,能够极好地实现DEP激发单元和电路单元等其他部分的相互电气隔离,不仅能够有效避免DEP激发单元产生的高频交流信号对其他电气元件产生电磁干扰,且能够确保DEP激发单元产生的高频交流信号具有稳定的幅值和频率,确保DEP富集效果。

[0011] 本发明发现DEP富集检测区的形状和尺寸对细菌二次富集效果影响很大,将DEP富集检测区设计为长方形,同时集成20-30对长为1500 $\mu\text{m}$ -2000 $\mu\text{m}$ ,宽为18 $\mu\text{m}$ -23 $\mu\text{m}$ ,每对微叉指电极的间隔为18 $\mu\text{m}$ -23 $\mu\text{m}$ 的微叉指电极,能够显著增加富集检测区的径向长度及有效富集检测区面积,提高捕获效率和检测灵敏度。

[0012] 本发明提供的新型便携式细菌实时检测芯片系统,通过合理的空间分配和结构优化、屏蔽设计等,在保证系统精度的同时,能够增加空间的利用率,长、宽、高尺寸均不超过30厘米,重量不超过1kg,满足微型化和便携化的要求。

[0013] 第二方面,本发明提供应用上述新型便携式细菌实时检测芯片系统检测细菌的方法,包括以下步骤:

步骤1 一次富集:选择能特异识别目标细菌的适配体,制备纳米磁珠-适配体复合物(MNPs-Apt),将所得纳米磁珠-适配体复合物与目标菌样本孵育,并用荧光试剂进行标记,制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物(MNPs-Apt-目标菌),在外磁场的作用下完成目标菌的一次富集,使用适配体对目标菌进行特异性结合得到的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物稳定性高,特异性强,富集效果好,能够显著提高待测样本中的目标菌浓度;

步骤2 二次富集:将集成有阵列叉指微电极(DEP)的微流控芯片置于上述集成介电电泳的便携式细菌实时检测器的芯片放置台上,通过在芯片放置架上左右移动微调位置,使DEP检测区域与激发光路的光斑对应,将芯片阵列叉指微电极与DEP激发单元连接,将步骤1一次富集所得物注入微流控芯片进样口,控制开关使独立电源单元为DEP激发单元和主控板PCB供电,并通过显示录入单元按键为芯片提供合适的DEP激发频率与电压,完成目标菌的二次富集,目标菌样本在微叉指电极正介电电泳力作用下,富集于DEP检测区域,同时多余的纳米磁珠和荧光标记试剂由于不能被DEP捕获而随流体流出检测区,能够有效避免背景荧光干扰,经过二次富集,能够提高细菌检测的灵敏度并降低检出限;

步骤3 检测:控制开关使独立电源单元为激发光源、光电探测器和主控板PCB供电,获得目标菌样本荧光值检测结果,激发光源发出的激发光经聚焦透镜聚焦于芯片DEP检测区域,诱导标记在被捕获细菌表面的荧光试剂产生荧光,经检测光路的滤光片过滤,光电探测

器接收,输送至电路单元,并最终经过显示录入单元进行数据获取,处理,输出得到荧光值检测结果。

[0014] 根据本发明检测细菌的方法,步骤1中荧光试剂标记的方法为将有机荧光试剂与纳米磁珠-适配体复合物、含有目标菌的样本同时孵育制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物,或者将荧光试剂先与合适的适配体制备成荧光试剂-适配体复合物后,将荧光试剂-适配体复合物、纳米磁珠-适配体复合物和目标菌同时孵育制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物;优选地,步骤1中荧光试剂标记的方法为将荧光试剂先与合适的适配体制备成荧光试剂-适配体复合物后,再将荧光试剂-适配体复合物、纳米磁珠-适配体复合物和目标菌同时孵育制备得到荧光标记的纳米磁珠-适配体-目标菌复合物,能够去除其它杂菌的荧光干扰,提高检测方法的灵敏度和准确度。

[0015] 根据本发明检测细菌的方法,进一步包括以下步骤:将目标菌的标准溶液按照步骤3的方法测得荧光差值,以浓度为横坐标,以测得的荧光值为纵坐标,建立标准曲线图,将步骤2二次富集的待测样本按步骤3的方法测得荧光差值,代入标准曲线图中获得待测样本中目标菌浓度值。

[0016] 本发明提供的方法结合纳米磁珠的高磁性、适配体的特异性以及细菌的介电特性,集成磁效应和介电泳效应进行两次高效分离富集,能够大大提升目标细菌的分离富集效率,提高细菌检测灵敏度,实现目标菌的原位、快速和高效检测;此外,本发明提供的方法还结合本发明提供的集成介电泳的便携式细菌实时检测器,能够实现复杂样本中目标菌的实时检测,可促进细菌快速检测技术实用化发展。

## 附图说明

[0017] 图1是本发明新型便携式细菌实时检测芯片系统的结构示意图;

图2是本发明新型便携式细菌实时检测芯片系统的检测模块结构示意图;

图3是本发明新型便携式细菌实时检测芯片系统的处理模块结构示意图;

图4是配套用于本发明新型便携式细菌实时检测芯片系统的微流控芯片结构示意图;

图5是本发明新型便携式细菌实时检测芯片系统的原理图;

图6是实施例2荧光信号强度差值与沙门氏菌浓度ATCC14028 Log值线性关系图;

图中,

1—检测模块,11—不透光盖,12—芯片放置台,121—芯片放置架,13—光路单元,131—激发光路,132—检测光路,14—DEP激发单元;

2—处理模块,21—电路单元,22—显示录入单元,23—独立电源单元;

90—DEP富集检测区,91—进样口,92—出样口,93—微叉指电极。

## 具体实施例

[0018] 实施例1集成介电泳的便携式细菌实时检测器

如图1-图3所示的新型便携式细菌实时检测芯片系统,包括组装成整体或一体式的检测模块1和处理模块2,所述检测模块1包括由上至下依次设置的不透光盖11、芯片放置台12、光路单元13以及设置于芯片放置台12上的DEP激发单元14,所述处理模块2的上部集成有电路单元21,所述处理模块2的中部集成有显示录入单元22,所述处理模块2的下部集成

有独立电源单元23,所述不透光盖11覆盖住整个芯片放置台12,能够避免杂散光的干扰,提高检测精度和数据的准确可靠性;

所述芯片放置台12的中部设有镂空的芯片放置架121,芯片在所述芯片放置架121上能够左右移动微调位置,确保芯片待检测区对准激发光路的光斑,同时镂空的设计能够减少多光束光纤使用的同时,避免激发光损失,提高检测灵敏度;

所述光路单元13由激发光路131和检测光路132组成,所述检测光路132与激发光路131位于同侧、且呈90°夹角,不仅在有利于小型化的同时,能够兼顾满足激发光路聚光透镜的焦距调节距离需要,而且能够显著提高安装结构的稳定性,确保信号输出的平稳性及整个仪器的结构精度分配,所述激发光路131包括激发光源、第一滤波片和聚光透镜,所述检测光路132包括第二滤波片和光电探测器,激发光源发出的激发光经第一滤波片滤过后,由聚光透镜聚焦于芯片待检测区,信号强度高,无杂散光干扰,激发产生的荧光经第二滤波片滤过后,由光电探测器接收,并将光信号转换成电信号,灵敏度高,重复检测稳定性好;

所述DEP激发单元14包括激励信号发生单元、AD转换单元和数据处理单元,所述DEP激发单元14的外部设有外罩金属屏蔽盒,所述外罩金属屏蔽盒采用接地的法拉第屏蔽模式,所述激励信号发生单元为DEP芯片提供0-10 V<sub>pp</sub> 的激发电压和 1KHz -5MHz的激发频率,所述AD转换单元实现对电信号的AD转换,所述数据处理单元实现对AD转换的数字信号的计算和处理,并输送至录入显示单元22显示,所述DEP激发单元14设置于芯片放置台12上,同时在其外部设置外罩金属屏蔽盒,一方面能够有效避免DEP激发单元14产生的高频交流信号对其他电气元件产生电磁干扰,另一方面可以确保DEP激发单元14产生的高频交流信号具有稳定的幅值和频率以保障DEP富集效果,通过DEP激发单元14提供合适且稳定的激发电压和激发频率,使目标菌在微叉指电极的正介电电泳力作用下,富集于待检测区域的同时,除去多余试剂,避免背景的干扰;

所述电路单元21包括电信号放大单元、滤波单元,以及与DEP激发单元14共用的AD转换单元和数据处理单元,所述电信号放大单元实现对电信号的放大,所述滤波单元滤除高频干扰信号,所述电路单元21和DEP激发单元通过多路电子开关实现信号切换,实现DEP激发功能和荧光检测功能的集成,为新型便携式细菌实时检测芯片系统进一步小型便携化提供基础,所述电路单元21与光路单元13的光电探测器连接,光电探测器检测的信号经电路单元21放大、转换后输出至显示录入单元22;所述显示录入单元22包括显示屏、按键、主控板PCB,与电路单元21连接,实现结果显示和指令输入;

所述独立电源单元23通过开关与激发光源、光电探测器、主控板PCB和DEP激发单元连接,能够通过开关控制分别和/或同时为激发光源、光电探测器、主控板PCB和DEP激发单元供电。

[0019] 所述便携式细菌实时检测器为手持式结构,所述的检测模块1水平设置,所述的处理模块2竖直设置,检测模块1的右侧面与处理模块2的左侧面密切贴合或为一体式。

[0020] 如图4所示,配套用于所述便携式细菌实时检测器的微流控芯片由盖片和底片构成,长3cm宽2.5cm,材料以PDMS为宜,采用热塑法制作,盖片上设有两个DEP富集检测区90,两个DEP富集检测区90为长方形,长均为3000 $\mu$ m,宽均为2000 $\mu$ m,两个DEP富集检测区90的中心间距为10mm,每个DEP富集检测区90通过进样通道连接一个进样口91,进样通道宽为500 $\mu$ m,高为50 $\mu$ m,进样口91与其对应的DEP富集检测区的距离为5000 $\mu$ m,两个DEP富集检测区



(90) 汇集到同一个出样口92, 出样口92在两个检测区的中心线上, 距检测区直线距离为7mm, 所述DEP富集检测区90对应的底片上集成有25对微叉指电极93, 每个微叉指电极长为1900 $\mu\text{m}$ , 宽为20 $\mu\text{m}$ , 每对微叉指电极的间隔为20 $\mu\text{m}$ 。

[0021] 使用前在微流控芯片进出口位置安装直立乳胶管与进样储液池和出样负压泵连接, 并置于集成介电电泳的便携式细菌实时检测器的芯片放置架, 并与DEP激发模块连接。

[0022] 实施例2 鼠伤寒沙门氏菌ATCC14028检测

### 2.1 标准曲线的建立

以鼠伤寒沙门氏菌ATCC14028为目标细菌, 选用荧光性质优良的量子点(QDs)作为荧光标记试剂。向200 $\mu\text{L}$ 纳米磁珠溶液和100  $\mu\text{L}$  QDs中分别加入耦合试剂(EDC (60mM) 和NHS (30mM) 溶液), 避光震荡反应30min。随后加入10D氨基修饰的目标菌特异性识别适配体, 反应1h后, 磁分离并清洗3次, 分别得到纳米磁珠-适配体复合物(MNPs-Apt)和量子点-适配体复合物(QDs-Apt);

将100 $\mu\text{L}$ 鼠伤寒沙门氏菌ATCC14028接种于300-600mL LB培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜培养后平板计数得出细菌浓度, 用PBS将所得目标菌按梯度浓度稀释成50、 $10^2$ 、 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$  cfu/mL 6个浓度的标准品液, 用相同量的PBS作为实验对照组;

分别向上述目标菌标准品液和对照液中加入纳米磁珠-适配体复合物(MNPs-Apt)和量子点-适配体复合物(QDs-Apt), 孵育30min后, 利用外磁场对样本进行分离富集并重悬于100 $\mu\text{L}$ 去离子水中;

将经过磁分离并重悬于去离子水中的目标菌标准品液和对照液分别置于微流控DEP芯片的一对DEP富集检测区对应的两个进样口储液池中, 利用实施例1的集成介电电泳的便携式细菌实时检测器对两个检测区的阵列叉指微电极施加DEP激发信号, DEP捕获富集目标菌10min, 开启激发光源并进行荧光检测, 记录检测结果, 以目标菌样本和对照样本荧光强度差值为纵坐标, 以目标菌标准品液的浓度为横坐标, 建立标准曲线, 见图6, 检测范围为 $10^2$ - $10^5$  cfu/mL, 检出限为50 cfu/mL。

[0023] 待测样本鼠伤寒沙门氏菌ATCC14028的浓度检测

参照步骤2.1的方法制备纳米磁珠-适配体复合物(MNPs-Apt)和量子点-适配体复合物(QDs-Apt), 将纳米磁珠-适配体复合物(MNPs-pt)和量子点-适配体复合物(QDs-Apt)加入待测样本和对照样本中, 使其终浓度分别为150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 置于摇床中37 $^{\circ}\text{C}$  150 rpm振摇孵育30 min, 反应结束后磁分离架分离, 移除上清液, PBS清洗2次, 重悬于100 $\mu\text{L}$  PBS中, 完成一次富集;

将待测样本和对照样本置于微流控DEP芯片的一对DEP富集检测区对应的两个进样口储液池中, 利用实施例1的集成介电电泳的便携式细菌实时检测器对两个检测区的阵列叉指微电极施加DEP激发信号, DEP捕获富集目标菌10min, 开启激发光源并进行荧光检测, 记录检测结果, 测得浓度样本和对照样本荧光强度之差为0.352, 带入步骤2.1建立的标准曲线中, 求得待测样本中鼠伤寒沙门氏菌ATCC14028的含量为 $3.291 \times 10^3$  cfu/mL。

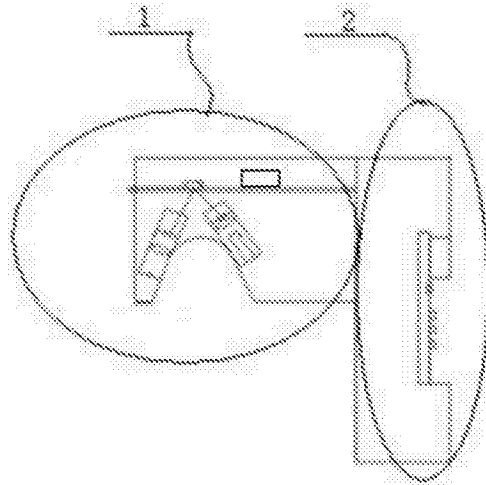


图1

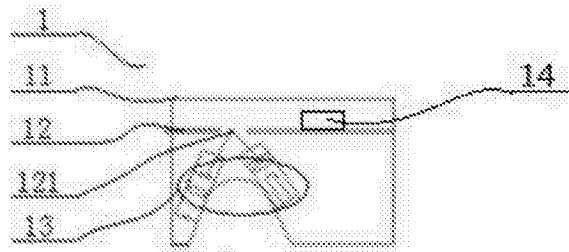


图2

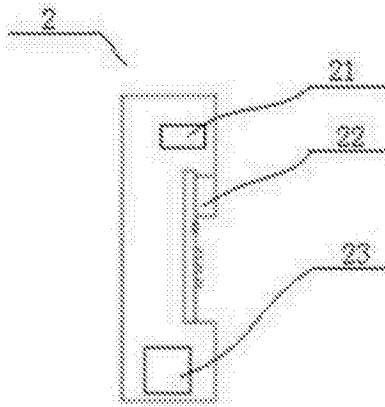


图3

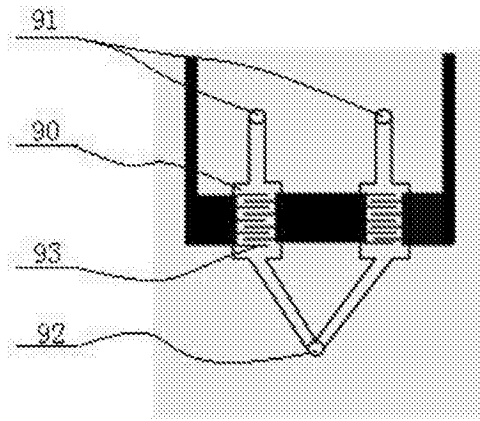


图4

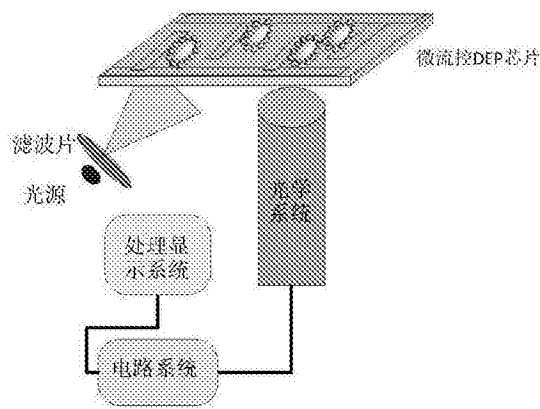


图5

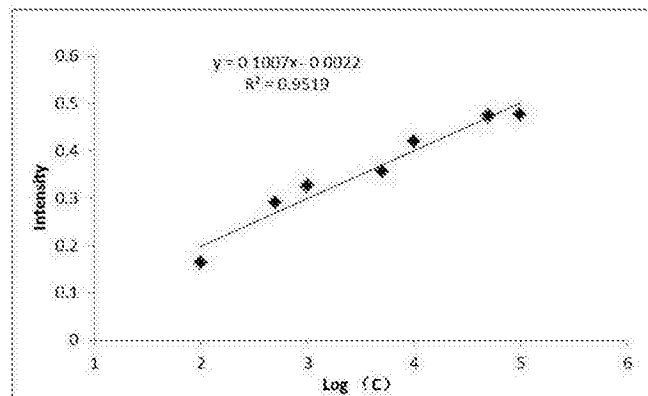


图6