



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110161228 A  
(43)申请公布日 2019.08.23

(21)申请号 201910529313.9

(22)申请日 2019.06.19

(71)申请人 上海菲伽生物科技有限公司  
地址 200120 上海市浦东新区中国(上海)  
自由贸易试验区罗山路1502弄14号

(72)发明人 焦迪 李建国 应继伟 汪邦运

(74)专利代理机构 北京劲创知识产权代理事务  
所(普通合伙) 11589

代理人 王闯

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006.01)

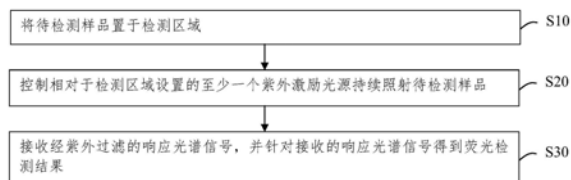
权利要求书2页 说明书11页 附图2页

(54)发明名称

连续紫外激励荧光光谱滤色法免疫检测方法

(57)摘要

本发明公开了连续激励多功能免疫检测方法及系统,其中,多功能免疫检测方法中包括:将待检测样品置于检测区域;控制相对于所述检测区域设置的至少一个紫外激励光源持续照射所述待检测样品;接收经紫外过滤的响应光谱信号,并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果。其摒弃了光强不稳定的脉冲紫外激励方式,以发光强度恒定的连续光源作为激励光源,有效解决了系统中激励光源的发光强度随使用次数发生变化而影响响应光谱信号强度的缺陷,同时避免了激励光源因受到频繁的电浪涌冲击影响使用寿命的技术问题,大大延长了系统中激励光源的寿命;再有,避免了荧光检测过程中通过测试处于动态衰减期时的荧光光谱实现目的,提高了检测精度。



1. 一种连续激励多功能免疫检测方法,其特征在于,包括:  
将待检测样品置于检测区域;  
控制相对于所述检测区域设置的至少一个紫外激励光源持续照射所述待检测样品;  
接收经紫外过滤的响应光谱信号,并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果。
2. 如权利要求1所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,在对响应光谱信号进行紫外过滤中,通过置于反射光接收区域的滤色片对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤。
3. 如权利要求1所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,  
所述待检测样品为荧光试纸;  
在接收经紫外过滤的响应光谱信号,并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果中,包括:  
通过置于反射光接收区域的光谱信号接收装置接收紫外过滤后的响应光谱信号;  
根据所述响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到荧光检测结果。
4. 如权利要求3所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,所述光谱信号接收装置为CCD传感器或光电倍增管。
5. 如权利要求1或2或3或4所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,在紫外激励光源启动后,还包括控制紫外激励光源稳定输出的步骤:  
接收设置于紫外激励光源周围的光接收器件接收的光信号;  
将接收的光信号强度与预设阈值进行比较;  
当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,根据该光信号生成光强控制信号,进而通过该光强控制信号控制紫外激励光源持续稳定输出。
6. 如权利要求2或3或4所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,在将待检测样品置于检测区域之后,还包括:接收控制指令并根据控制指令中选定的测试模式切换激励光源的步骤:  
当选定的测试模式为荧光测试模式时,控制紫外激励光源持续照射待检测样品,同时控制滤色片移动至反射光接收区域。
7. 如权利要求6所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,当接收到的控制指令中选定的测试模式为胶体金测试模式时,包括以下步骤:  
控制相对于检测区域设置的至少一个广谱激励光源持续照射待检测样品,所述待检测样品为胶体金试纸;  
在反射光接收区域,通过光谱信号接收装置接收响应光谱信号,并针对响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到胶体金检测结果。
8. 如权利要求6所述的多功能免疫检测方法,其特征在于,当接收到的控制指令中选定的测试模式为初始化校正模式时,还包括使用预先选定的标准荧光试纸逐个对紫外激励光源的出光光强进行校正和/或使用预先选定的标准胶体金试纸逐个对广谱激励光源的出光光强进行校正的步骤。
9. 一种连续激励多功能免疫检测系统,其特征在于,包括:  
处理模块;  
至少一个紫外激励光源,相对于检测区域设置,且与所述处理模块连接,用于在所述处理模块的控制下持续照射置于检测区域的待检测样品;

紫外过滤装置,置于反射光接收区域,用于对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤;

光谱信号接收装置,置于反射光接收区域,且与所述处理模块连接,用于接收经所述紫外过滤装置紫外过滤后的响应光谱信号,并发送至处理模块中处理得到荧光检测结果。

10.如权利要求9所述的多功能免疫检测系统,其特征在于,所述紫外过滤装置为滤色片,在反射光接收区域对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤。

11.如权利要求9所述的多功能免疫检测系统,其特征在于,所述待检测样品为荧光试纸,所述光谱信号接收装置为CCD传感器或光电倍增管;

光谱信号接收装置接收到紫外过滤后的响应光谱信号并发送至处理模块,处理模块根据响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到荧光检测结果。

12.如权利要求9或10或11所述的多功能免疫检测系统,其特征在于,所述多功能免疫检测系统中还包括与所述处理模块连接、置于紫外激励光源周围的光接收器件,用于接收紫外激励光源出射的光信号并发送至处理模块;

处理模块接收到光信号之后,将接收的光信号强度与预设阈值进行比较;当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,根据该光信号生成光强控制信号,进而通过该光强控制信号控制紫外激励光源持续稳定输出。

13.如权利要求10或11所述的多功能免疫检测系统,其特征在于,所述多功能免疫检测系统中还包括至少一个广谱激励光源,所述处理模块还用于接收控制指令并根据控制指令中选定的测试模式切换激励光源;所述紫外过滤装置通过一传动装置与处理模块连接;

当选定的测试模式为荧光测试模式时,处理模块控制紫外激励光源持续照射待检测样品,同时控制传动装置将紫外过滤装置移动至反射光接收区域。

14.如权利要求13所述的多功能免疫检测系统,其特征在于,当控制指令中选定的测试模式为胶体金测试模式时,处理模块控制广谱激励光源持续照射待检测样品,所述待检测样品为胶体金试纸;

在反射光接收区域,光谱信号接收装置接收响应光谱信号后发送至处理模块,处理模块针对响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到胶体金检测结果。

15.如权利要求13所述的荧光检测系统,其特征在于,当接收到的控制指令中选定的测试模式为初始化校正模式时:

处理模块逐个控制紫外激励光源照射预先选定的标准荧光试纸,并根据紫外过滤后的响应光谱信号的强度对紫外激励光源的出光光强进行校正;

和/或,处理模块逐个控制广谱激励光源照射预先选定的标准胶体金试纸,并根据响应光谱信号的强度对广谱激励光源的出光光强进行校正。

## 连续紫外激励荧光光谱滤色法免疫检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫层析技术领域,特别涉及一种多功能免疫检测方法及系统。

### 背景技术

[0002] 近年来,利用在试纸上沉积胶体金或荧光色素作为标记物实现快速免疫层析的方法得到了广泛的关注,代表未来即时检测技术发展方向的时间分辨荧光免疫分析法格外引人注目。时间分辨荧光免疫分析法是一种使用稀土离子的配合物作为标记物配合延迟测量时间法消除背景以达到提高检测灵敏度目的荧光免疫分析方法,其机理可以用分子物理学很好的诠释:根据稀土离子配合物的发光机理,特征Eu<sup>3+</sup>、Tb<sup>3+</sup>、Sm<sup>3+</sup>及Dy<sup>3+</sup>离子与某些配位体(如, $\beta$ -二酮类、芳香胺类等配体)形成的配合物后吸收紫外光,并发出很强的金属离子特征荧光。在这一过程中,首先配体分子吸收激发光后由基态跃迁至激发单线态,之后通过系间窜跃至配体的激发三线态,由三线态的激发能高于稀土离子所处能级,进而将能量传递给稀土离子。稀土离子接受传递来的能量后被激发至共振能级,并在由共振能级跃迁回基态过程中发出荧光,表现为稀土离子的特征荧光。这种发光是由配合物内能量从配体转移至中心离子产生的,基于该发光机理,使稀土配合物的荧光发光相比于普通有机荧光标记物具有以下特点:

[0003] (1) 荧光发射的特征峰只与中心离子有关,而与配体无关;

[0004] (2) 由于稀土配合物的发光是经过配体三重态的能量转移所致,使得荧光寿命非常长,通常在100 $\mu$ s(微秒)以上;

[0005] (3) 荧光发光的Stokes位移(相同电子跃迁在吸收光谱和发射光谱中最强波长间的差值)非常大,大部分在250nm(纳米)以上;

[0006] (4) 稀土离子的荧光发光具有极窄的频带宽度,通常为20~30nm。

[0007] 传统的荧光免疫分析方法始终存在无法有效解决高背景荧光噪声的技术问题。背景荧光噪声主要来源于散射光及被测样品中各种共存物质产生的非特异荧光,寿命通常在1~10ns(纳秒)之间。由于稀土标记物的荧光寿命通常在100 $\mu$ s以上,为时间分辨荧光测定技术的实现奠定了物理基础:待背景噪声荧光淬灭后测定长寿命荧光物质发出的荧光,以此避开背景荧光噪声,提高测定灵敏度。

[0008] 基于上述物理机理的时间分辨荧光检测方法具有灵敏度高、特异性强、无放射污染等优点,作为一种有前途的标记免疫分析超微量生化定量分析方法广泛应用于各种现场即时检测的场合,列举以下应用:

[0009] 1. 在肿瘤标志物检测方面的应用

[0010] 肿瘤标志物是指由肿瘤组织产生的存在于肿瘤组织或分泌至血液或其它体液或因肿瘤组织刺激,由宿主细胞产生而含量明显高于正常参考值的一类物质。通过测定其体内是否存在或含量可辅助诊断肿瘤、分析病程、指导治疗、监测复发或转移、判断预后。检测肿瘤标志物的部位有肝脏、肺脏、胃肠道、胰腺、前列腺、膀胱、卵巢、乳腺等。常见的检测指标有:甲胎蛋白、癌胚抗原、前列腺特异抗原、转铁蛋白、钙卫蛋白、胃幽门螺旋杆菌抗原抗

体等。

[0011] 2. 在心血管及炎症标志物检测方面的应用

[0012] 近年来,一些心肌损伤蛋白标志物的出现提高了急性冠脉综合征(ACS)诊断的特异性和灵敏度,并能反映微小的心肌病变和不稳定心绞痛,以及评价治疗效果、判断疾病预后、对ACS危险进行分层。常见的检测指标有:心肌肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶、心型脂肪酸结合蛋白、N末端脑钠肽前体、C反应蛋白、降钙素原等。

[0013] 3. 在传染病检测方面的应用

[0014] 传染病是由病原微生物引起并能传播给他人的疾病。该分析仪可用于各种传染性疾病的检测。常见的检测指标有:甲、乙、丙、丁、戊肝病毒、脑炎病毒、呼吸道合胞病毒、轮状病毒、腺病毒、出血热病毒、梅毒、巨细胞病毒、风疹病毒、HIV等。

[0015] 4. 在糖尿病、肾病检测方面的应用

[0016] 糖尿病是遗传因素和环境因素长期共同作用所导致的一种慢性、全身性代谢性疾病。如果糖尿病长期得不到良好的控制,还可造成多系统的损害,导致眼睛、肾脏、神经、血管和心脏等组织和器官的慢性并发症。常见的检测指标有:微量白蛋白、糖化血红蛋白、胰岛素、C肽、胰抑素C、 $\beta_2$ 微球蛋白、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、 $\alpha_1$ 微球蛋白等。

[0017] 5. 在生育领域的应用

[0018] 常用于优生优育、不孕不育、卵巢健康监测、备孕、妇科、性病、青春期前儿童性早熟、青春期延迟及性幼稚病、女性闭经、男性性功能减退、更年期综合征、产前筛查、新生儿筛查检测等。常见的检测指标有:人绒毛膜促性腺激素、促黄体生成素、促卵泡生成素、胎儿纤维连接蛋白、胰岛素样生长因子结合蛋白、精子顶体蛋白10、淋病奈瑟球菌、阴道毛滴虫、沙眼衣原体、白色念珠菌等。

[0019] 6. 在甲状腺功能检测方面的应用

[0020] 甲状腺是人类正常生存不可缺少的重要器官。甲状腺发生病变会引起各种代谢的障碍。

[0021] 常见的检测指标有:促甲状腺素、游离甲状腺素、总三碘甲状腺原氨酸、总甲状腺素、游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素等。

[0022] 7. 在药物残留检测方面的应用

[0023] 近年来农兽药在食品中的残留已经拉响了我国食品安全的警报,其中特别是抗生素等药物的残留,已经成为食品安全的主要问题之一。常见的检测指标有:盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、庆大霉素、呕吐毒素、黄曲霉素、氯霉素、红霉素等。

[0024] 8. 在药物滥用检测方面的应用

[0025] 根据《中华人民共和国刑法》第357条规定,毒品是指鸦片、海洛因、甲基苯丙胺(冰毒)、吗啡、大麻、可卡因以及国家规定管制的其他能够使人形成瘾癖的麻醉药品和精神药品。随着中国社会问题的进一步加深,药物滥用的控制已成为政府安全机构的一项重要任务。

[0026] 常见的检测指标有:鸦片、海洛因、苯丙胺、甲基苯丙胺(冰毒)、吗啡、大麻、可卡因,3,4-亚甲基二氧基-N-甲基苯丙胺(摇头丸)、苯环己哌啶、美沙酮、氯胺酮、安眠酮、丙氧芬、三环类抗抑郁药、苯二氮卓类、巴比妥类的药物等。

[0027] 9. 在宠物及动物疫病检测方面的应用

[0028] 宠物及动物疫病检测常见的指标有：犬流感病毒、犬腺病毒、犬冠状病毒、犬细小病毒、狂犬病毒、猫白血病抗原、猫杯状抗原、猫瘟病毒、猪瘟抗原抗体等。

[0029] 10. 在自身抗体检测方面的应用

[0030] 自身抗体检测常见的指标有：抗核抗体、抗ENA抗体、抗心磷脂抗体、抗ds-DNA抗体、抗Sm抗体、抗SS-DNA抗体等。

[0031] 虽然时间分辨荧光免疫分析法具有一定的精度，但是仍然存在影响测量精度的因素：1). 检测过程中使用脉冲紫外光源作为激励信号，脉冲形式的激励光源强度很难实现实时控制，势必会影响作为输出响应的荧光光谱强度；2). 在脉冲工作模式下，脉冲紫外光源的器件由于一直承受电脉冲的冲击响应，会导致其使用寿命大为缩短，发光强度亦会急剧衰减，3). 利用时差法分检处于动态衰减过程中的响应荧光光谱，即处于动态衰减期的荧光光谱，动态光强衰减率与激励信号的强度、标记物掺和的浓度等因素关联，均会影响检测精度。

### 发明内容

[0032] 本发明的目的是提供一种有效解决现有时间分辨荧光免疫分析法检测精度不足，兼容荧光量子点、胶体金试纸检测的多功能免疫检测方法及系统。

[0033] 本发明提供的技术方案如下：

[0034] 一种连续激励多功能免疫检测方法，包括：

[0035] 将待检测样品置于检测区域；

[0036] 控制相对于所述检测区域设置的至少一个紫外激励光源持续照射所述待检测样品；

[0037] 接收经紫外过滤的响应光谱信号，并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果。

[0038] 进一步优选地，在对响应光谱信号进行紫外过滤中，通过置于反射光接收区域的滤色片对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤。

[0039] 进一步优选地，所述待检测样品为荧光试纸；

[0040] 在接收经紫外过滤的响应光谱信号，并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果中，包括：

[0041] 通过置于反射光接收区域的光谱信号接收装置接收紫外过滤后的响应光谱信号；

[0042] 根据所述响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到荧光检测结果。

[0043] 进一步优选地，所述光谱信号接收装置为CCD传感器或光电倍增管。

[0044] 进一步优选地，在紫外激励光源启动后，还包括控制紫外激励光源稳定输出的步骤：

[0045] 接收设置于紫外激励光源周围的光接收器件接收的光信号；

[0046] 将接收的光信号强度与预设阈值进行比较；

[0047] 当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差，根据该光信号生成光强控制信号，进而通过该光强控制信号控制紫外激励光源持续稳定输出。

[0048] 进一步优选地，在将待检测样品置于检测区域之后，还包括：接收控制指令并根据控制指令中选定的测试模式切换激励光源的步骤：

[0049] 当选定的测试模式为荧光测试模式时,控制紫外激励光源持续照射待检测样品,同时控制滤色片移动至反射光接收区域。

[0050] 进一步优选地,当接收到的控制指令中选定的测试模式为胶体金测试模式时,包括以下步骤:

[0051] 移开滤色片,同时控制相对于检测区域设置的至少一个广谱激励光源持续照射待检测样品,所述待检测样品为胶体金试纸;

[0052] 在反射光接收区域,通过光谱信号接收装置接收响应光谱信号,并针对响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到胶体金检测结果。

[0053] 进一步优选地,当接收到的控制指令中选定的测试模式为初始化校正模式时,还包括使用预先选定的标准荧光试纸逐个对紫外激励光源的出光光强进行校正和/或使用预先选定的标准胶体金试纸逐个对广谱激励光源的出光光强进行校正的步骤。

[0054] 本发明还提供了一种连续激励多功能免疫检测系统,包括:

[0055] 处理模块;

[0056] 至少一个紫外激励光源,相对于检测区域设置,且与所述处理模块连接,用于在所述处理模块的控制下持续照射置于检测区域的待检测样品;

[0057] 紫外过滤装置,置于反射光接收区域,用于对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤;

[0058] 光谱信号接收装置,置于反射光接收区域,且与所述处理模块连接,用于接收经所述紫外过滤装置紫外过滤后的响应光谱信号,并发送至处理模块中处理得到荧光检测结果。

[0059] 进一步优选地,所述紫外过滤装置为滤色片,在反射光接收区域对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤。

[0060] 进一步优选地,所述待检测样品为荧光试纸,所述光谱信号接收装置为CCD传感器或光电倍增管;

[0061] 光谱信号接收装置接收到紫外过滤后的响应光谱信号并发送至处理模块,处理模块根据响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到荧光检测结果。

[0062] 进一步优选地,所述多功能免疫检测系统中还包括与所述处理模块连接、置于紫外激励光源周围的光接收器件,用于接收紫外激励光源出射的光信号并发送至处理模块;

[0063] 处理模块接收到光信号之后,将接收的光信号强度与预设阈值进行比较;当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,根据该光信号生成光强控制信号,进而通过该光强控制信号控制紫外激励光源持续稳定输出。

[0064] 进一步优选地,所述多功能免疫检测系统中还包括至少一个广谱激励光源,所述处理模块还用于接收控制指令并根据控制指令中选定的测试模式切换激励光源;所述紫外过滤装置通过一传动装置与处理模块连接;

[0065] 当选定的测试模式为荧光测试模式时,处理模块控制紫外激励光源持续照射待检测样品,同时控制传动装置将紫外过滤装置移动至反射光接收区域。

[0066] 进一步优选地,当控制指令中选定的测试模式为胶体金测试模式时,处理模块控制广谱激励光源持续照射待检测样品,并移开紫外过滤装置,所述待检测样品为胶体金试纸;

[0067] 在反射光接收区域,光谱信号接收装置接收响应光谱信号后发送至处理模块,处理模块针对响应光谱信号中的质控C线和检测T线得到胶体金检测结果。

[0068] 进一步优选地,当接收到的控制指令中选定的测试模式为初始化校正模式时:

[0069] 处理模块逐个控制紫外激励光源照射预先选定的标准荧光试纸,并根据紫外过滤后的响应光谱信号的强度对紫外激励光源的出光光强进行校正;

[0070] 和/或,处理模块逐个控制广谱激励光源照射预先选定的标准胶体金试纸,并根据响应光谱信号的强度对广谱激励光源的出光光强进行校正。

[0071] 由于连续激励、紫外频谱分离荧光检测方法同样适用于量子点荧光检测,在此不再作累述。

[0072] 在本发明提供的连续激励多功能免疫检测方法及系统中,至少能够带来以下有益效果:

[0073] 1.本发明摒弃了光强不稳定的脉冲紫外或广谱光源激励方式,采用脉宽调制加低通滤波技术控制光源的发光强度,以发光强度恒定的连续光源作为激励光源(包括紫外激励光源和广谱激励光源),有效解决了系统中激励光源的发光强度随使用次数发生变化而影响响应光谱信号强度的缺陷,同时避免了激励光源因受到频繁的电浪涌冲击影响使用寿命的技术问题,大大延长了系统中激励光源的寿命。

[0074] 2.在荧光检测的整个过程中,紫外激励光源持续照射待检测样品(荧光试纸),响应光谱信号中的荧光光谱一直处于稳定的状态,不会发生动态衰减。此外,在进行荧光检测中,采用光学滤色片滤除背景噪声,筛选出处于稳定状态的荧光光谱,进而进行荧光检测,有效避免了出现时间分辨荧光免疫分析法利用时差法分检处于动态衰减过程中的荧光光谱的情况,极大地提高了检测精度。

[0075] 3.本发明通过采用CCD传感器或光电倍增管检测荧光试纸荧光光谱中的质控C线及检测T线的方法实现荧光检测,高灵敏度CCD传感器或光电倍增管的使用有效克服了现有技术中采用光敏接收管进行检测时感光灵敏度不够的技术问题,进一步提高了检测的精度。

[0076] 4.本发明提供的装置能够同时实现荧光(含荧光量子点)、胶体金模式的高精度测量,且可随时实现系统检测精度的自矫正,大大扩展了应用范围。

## 附图说明

[0077] 下面将以明确易懂的方式,结合附图说明优选实施方式,对上述特性、技术特征、优点及其实现方式予以进一步说明。

[0078] 图1为本发明中连续激励多功能免疫检测方法一种实施方式流程示意图;

[0079] 图2为本发明中经滤色片紫外过滤后的响应光谱图;

[0080] 图3为本发明中连续激励多功能免疫检测系统一种实施方式结构示意图;

[0081] 图4为本发明多功能免疫检测系统一实例结构示意图。

[0082] 附图标记说明:

[0083] 10-待检测样品,20-紫外激励光源,30-紫外过滤装置,40-光谱信号接收装置,1-试纸卡盒,2-第一微型步进电机,3-激励光源,4-光敏接收管,5-滤色片,6-第二微型步进电机,7-CCD传感器,8-处理模块,9-封闭黑体空腔组成。



## 具体实施方式

[0084] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对照附图说明本发明的具体实施方式。显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图,并获得其他的实施方式。

[0085] 基于现有时间分辨荧光检测方法中存在的问题,本发明利用稀土材料受激产生荧光具有Stokes位移大的特点,采用电子处理技术产生连续、发光强度稳定的紫外光源激励及利用窄带光谱滤波分离有效荧光光谱提供了一种全新的关于标记免疫分析超微量生化定量检测方法。如图1所示,在一种实施方式中,该连续激励多功能免疫检测方法中包括:

[0086] S10将待检测样品置于检测区域;

[0087] S20控制相对于检测区域设置的至少一个紫外激励光源持续照射待检测样品;

[0088] S30接收经紫外过滤的响应光谱信号,并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果。

[0089] 在本实施方式中,进行荧光检测之前,准备好待检测样品并将其放置在预先选定的检测区域,便于紫外激励光源照射。之后,控制紫外激励光源(在荧光检测整个过程中,紫外激励光源始终处于工作状态)照射待检测样品,待检测样品产生的荧光光谱混合反射的紫外光谱形成响应光谱信号进入反射光接收区域,以此,在反射光接收区域中将响应光谱信号中的紫外光谱过滤后即可得到荧光光谱,完成对待检测样品的荧光检测。为了进一步提高荧光检测的精度,整个检测过程在一封闭的黑体空腔中进行,以屏蔽外部的杂散光干扰。

[0090] 其中,紫外激励光源为连续紫外光源,且在外界发送的光强控制信号(具体为脉冲宽度调制信号,简称PWM信号)的控制下处于恒定光强的状态,以对紫外激励光源的出光光强进行有效控制。相比于现有的脉冲紫外激励方式,避免了激励光源强度随机性的同时,避免了通过测试处于动态衰减期时的荧光光谱进行荧光检测,大大提高了荧光检测的精度。对于紫外激励光源的数量,可根据实际应用需求进行设定,如,配置1个紫外激励光源,配置2个紫外激励光源、3个紫外激励光源甚至更多,只要能够实现发明目的持续激励待检测样品激发出荧光光谱即可。当配置多个紫外激励光源时,排列方式同样可以根据实际应用进行调整,如,配置2个紫外激励光源时,2个紫外激励光源相对于待检测样品对称放置;当配置6个紫外激励光源时,将其围绕待检测样品一圈进行设置,以照射均匀。

[0091] 对于响应光谱信号中紫外光谱的过滤,具体通过置于反射光接收区域的滤色片实现,如,一实例中,如图2所示(横坐标为波长,单位为nm;纵坐标为滤色片光谱透过率,单位为%),滤色片将响应光谱信号中波长在500nm(纳米)以下的光谱信号滤除,保留波长在510nm以上的光谱信号(荧光光谱的波长在580~620nm之间),实现响应光谱信号中的紫外过滤。待检测样品为荧光试纸(包括量子点荧光检测),且使用光谱信号接收装置对紫外过滤后的响应光谱信号进行接收,光谱信号接收装置为CCD传感器或光电倍增管。

[0092] 以光谱信号接收装置为CCD传感器为例对荧光检测过程进行描述:

[0093] 将荧光试纸放入位于检测区域的试纸卡盒内之后,随即控制紫外激励光源照射荧光试纸。在反射光接收区域,响应光谱信号经滤色片紫外过滤后达到CCD传感器的感光镜头(滤色片置于CCD传感器感光镜头之前),以此根据CCD传感器得到的光谱信号得到荧光检测

结果。具体,根据荧光试纸的质控C线和检测T线完成对荧光试纸的荧光检测,其中,质控C线用于检验荧光试纸在存放、运输、或其它因素作用下的有效性,检测T线用于表征荧光检测的结果。在质控C线有效的前提下,若未出现关于荧光检测内容的检测T线,则结果表征为“阴性”;反之,结果表征为“阳性”,且检测T线被激励出现的荧光强度表征了被检测内容的“阳性”程度。

[0094] 对上述实施方式改进得到新的实施方式,在本实施方式中,在紫外激励光源工作的过程中,通过一反馈机制对紫外激励光源的光强进行实时监控,具体,通过一置于紫外激励光源周边的光接收器件(如光敏接收管)接收紫外激励光源出射的光信号并转换为电信号,进而根据该电信号得到紫外激励光源的出光强度,并将其与预设阈值进行比较以判断紫外激励光源是否处于稳定输出的状态。当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,则根据该光信号生成光强控制信号(调整信号中的占空比),并通过该光强控制信号控制紫外激励光源输出,以保证紫外激励光源以预先设定的光强稳定输出。对于光接收器件的放置位置,这里不做具体限定,只需预先建立光接收器件接收的光信号强度与紫外激励光源出光强度之间的关联关系即可。当系统中设置有多个紫外激励光源时,将光接收器件设置在其中一个紫外激励光源周边进行监控,并根据该监控结果对各紫外激励光源的发光强度进行调整。在其他实施方式中,也可以设置多个光接收器件,甚至为每个紫外激励光源配置一个光接收器件,实现对每个紫外激励光源的精确监控。

[0095] 对上述实施方式改进得到本实施方式,在本实施方式中,系统中除了配置了至少一个紫外激励光源之外,同时配置了至少一个广谱激励光源(普通光源)。具体,接收到检测人员发送的控制指令之后,根据控制指令中选定的测试模式切换相应激励光源。该控制指令可以由现有的任意方式进行接收。

[0096] 当接收到的控制指令中选定的测试模式为初始化校正模式时,则使用预先选定的标准荧光试纸逐个对紫外激励光源的出光光强进行校正和/或使用预先选定的标准胶体金试纸逐个对广谱激励光源的出光光强进行校正,其中,标准荧光试纸和标准胶体金试纸均为预先选定作为校正标准的试纸。

[0097] 在对紫外激励光源出光光强校正中:控制相对于检测区域设置的一个待校正的紫外激励光源持续照射标准荧光试纸;接收经紫外过滤的响应光谱信号后,判断该响应光谱信号的强度是否达到预设光强,如没有,则生成光强控制信号控制紫外激励光源以预设光强输出。以此循环,直到系统中所有的紫外激励光源校正完成。

[0098] 在对广谱激励光源出光光强校正中:控制相对于检测区域设置的一个待校正的广谱激励光源持续照射标准胶体金试纸;接收响应光谱信号后,判断该响应光谱信号的强度是否达到预设光强,如没有,生成光强控制信号控制广谱激励光源以预设光强输出。以此循环,直到系统中所有的光谱激励光源校正完成。

[0099] 当控制指令中选定的测试模式为荧光测试模式时,则控制紫外激励光源持续照射待检测样品,同时通过控制步进电机将滤色片传动至反射光接收区域(当系统待机时,滤色片处于收起状态)。光谱信号接收装置接收经由紫外过滤的响应光谱信号之后,根据其中的质控C线和检测T线得到荧光检测结果。

[0100] 当控制指令中选定的测试模式为胶体金测试模式时,则控制广谱激励光源持续照射待检测样品,此时待检测样品为胶体金试纸;胶体金试纸的响应光谱信号进入反射光接

收区域并进入光谱信号接收装置,进而根据检测到的光谱信号中的质控C线和检测T线得到胶体金检测结果。

[0101] 与紫外激励光源相同,广谱激励光源在工作过程中光强同样在外界发送的光控制信号(PWM信号)的控制下处于恒定光强状态,同时通过一反馈机制对广谱激励光源的光强进行监控,具体,通过一置于广谱激励光源周边的光接收器件(如光敏接收管)接收广谱激励光源出射的光信号并转换为电信号,进而根据该电信号得到广谱激励光源的出光强度,并将其与预设阈值进行比较以判断广谱激励光源是否处于稳定输出的状态。当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,则根据该光信号生成光强控制信号,并通过该光强控制信号控制广谱激励光源输出,以保证广谱激励光源以预先设定的光强稳定输出。在本实施方式中,系统同时配置了紫外激励光源和广谱激励光源,并根据检测人员选定的测试模式进行切换,以此系统能够同时实现荧光、胶体金模式的高精度测量。当系统中同时配置有多个紫外激励光源和多个光谱激励光源时,可以通过间隔的方式进行排列,也可以通过其他方式进行排列,不影响对待检测样品的照射即可。另外,这里对光接收器件设置的位置同样不做具体限定,只要将其固定于紫外激励光源和广谱激励光源的周围,预先测定光接收器件接收的光信号的强度与激励光源出射光强之间的关联关系即可。

[0102] 为了得到更精确的检测结果,在一实例中,系统中同时配置多个紫外激励光源和光谱激励光源,且相互间隔绕检测区域设置一圈,待检测样品置于中心位置,光敏接收管设置在其中一组激励光源(一个紫外激励光源和一个光谱激励光源为一组)周围,实现对激励光源光强的实时监测;CCD传感器设置于激励光源的中心位置,以此能够最大程度的接收响应光谱信号。当检测人员选定荧光测试模式,控制紫外激励光源同时照射待检测样品;当检测人员选定胶体金测试模式,控制广谱激励光源同时照射待检测样品。

[0103] 本发明还提供了一种连续激励多功能免疫检测系统,如图3所示,在一种实施方式中,该荧光检测系统中包括:处理模块(图中未示出)、至少一个紫外激励光源20、紫外过滤装置30及光谱信号接收装置40,其中,紫外激励光源20和光谱信号接收装置40分别与处理模块连接,紫外激励光源20在处理模块的控制下持续照射置于检测区域的待检测样品10;紫外过滤装置20在反射光接收区域对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤;光谱信号接收装置40获取经紫外过滤装置紫外过滤后的响应光谱信号,并发送至处理模块中处理得到荧光检测结果。

[0104] 在本实施方式中,进行荧光检测之前,准备好待检测样品并将其放置在预先选定的检测区域,便于紫外激励光源照射。之后,处理模块控制紫外激励光源(在荧光检测整个过程中,紫外激励光源始终处于工作状态)照射待检测样品,待检测样品产生的荧光光谱混合反射的紫外光谱形成响应光谱信号进入反射光接收区域,以此,紫外过滤装置在反射光接收区域中将响应光谱信号中的紫外光谱过滤后得到荧光光谱,光谱信号接收装置接收该荧光光谱实现对对待检测样品的荧光检测。为了进一步提高荧光检测的精度,整个检测过程在一封闭的黑体空腔中进行,以屏蔽外部的杂散光干扰。

[0105] 其中,紫外激励光源为连续紫外光源,且在处理模块发送的光强控制信号(PWM信号)的控制下处于恒定光强的状态,以对紫外激励光源的出光光强进行有效控制。相比于现有的脉冲紫外激励方式,避免了脉冲激励方式时激励光源强度随机性的同时,避免了通过测试处于动态衰减期时的荧光光谱进行荧光检测,大大提高了荧光检测的精度。对于紫外

激励光源的数量,这里不做具体限定,根据实际应用的需求进行设定,如,可以配置1个紫外激励光源,也可以配置2个紫外激励光源、3个紫外激励光源甚至更多,只要能够实现发明目的持续激励待检测样品激发出荧光光谱即可。当配置多个紫外激励光源时,排列方式同样可以根据实际应用进行调整,如,配置2个紫外激励光源时,2个紫外激励光源相对于待检测样品对称放置;当配置6个紫外激励光源时,将其围绕待检测样品一圈进行设置,以照射均匀等。

[0106] 紫外过滤装置具体为滤色片,在对响应光谱信号进行紫外过滤时,通过置于反射光接收区域的滤色片对响应光谱信号中的紫外光谱进行过滤。对于滤色片的过滤波长,可以根据实际应用进行选定,如,滤色片将响应光谱信号中波长在500nm以下的光谱信号滤除,保留波长在510nm以上的光谱信号。待检测样品为荧光试纸,且使用光谱信号接收装置对紫外过滤后的响应光谱信号进行接收,光谱信号接收装置为CCD传感器或光电倍增管。

[0107] 以下以光谱信号接收装置为CCD传感器为例对荧光检测过程进行描述:将荧光试纸放入位于检测区域的试纸卡盒内之后,随即处理模块控制紫外激励光源照射荧光试纸。在反射光接收区域,响应光谱信号经滤色片进行紫外过滤后达到CCD传感器的感光镜头(滤色片置于CCD传感器感光镜头之前),以此根据CCD传感器得到的光谱信号得到荧光检测结果。具体,根据荧光试纸的质控C线和检测T线完成对荧光试纸的荧光检测,其中,质控C线用于检验荧光试纸在存放、运输、或其它因素作用下的有效性,检测T线用于表征荧光检测的结果。在质控C线有效的前提下,若未出现关于荧光检测内容的检测T线,则结果表征为“阴性”;反之,结果表征为“阳性”,且检测T线被激励出现的荧光强度表征了被检测内容的“阳性”程度。

[0108] 对上述实施方式改进得到新的实施方式,在本实施方式中,荧光检测系统中包括处理模块、紫外激励光源、紫外过滤装置及光谱信号接收装置之外,还包括设置在紫外激励光源周围的光接收器件(如光敏接收管)。在紫外激励光源工作的过程中,通过该光接收器件对紫外激励光源的光强进行实时监控,具体,光接收器件接收紫外激励光源出射的光信号转换为电信号后发送至处理模块,处理模块根据该电信号得到紫外激励光源的出光强度,并将其与预设阈值进行比较以判断紫外激励光源是否处于稳定输出的状态。当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,则根据该光信号生成光强控制信号,并通过该光强控制信号(PWM信号)控制紫外激励光源输出,以保证紫外激励光源以预先设定的光强稳定输出。对于光接收器件的放置位置,这里不做具体限定,只需预先建立光接收器件接收的光信号强度与紫外激励光源出光强度之间的关联关系即可。当装置中设置有多个紫外激励光源时,将光接收器件设置在其中一个紫外激励光源周边进行监控,并根据该监控结果对各紫外激励光源的发光强度进行调整。当然,在其他实施方式中,也可以设置多个光接收器件,甚至为每个紫外激励光源配置一个光接收器件,实现对每个紫外激励光源的精确监控。

[0109] 对上述实施方式改进得到本实施方式,在本实施方式中,荧光检测系统中包括处理模块、紫外激励光源、紫外过滤装置、光谱信号接收装置及光接收器件之外,还包括至少一个广谱激励光源和一传动装置,处理模块根据接收到的控制指令中选定的测试模式切换激励光源;紫外过滤装置通过一传动装置与处理模块连接,处理模块通过传动装置带动紫外过滤装置移动至预先设定的位置。

[0110] 具体,当处理模块接收到的控制指令中选定的测试模式为初始化校正模式时,则

使用预先选定的标准荧光试纸逐个对紫外激励光源的出光光强进行校正和/或使用预先选定的标准胶体金试纸逐个对广谱激励光源的出光光强进行校正,其中,标准荧光试纸和标准胶体金试纸均为预先选定作为校正标准的试纸。

[0111] 在对紫外激励光源出光光强校正中:处理模块控制一个待校正的紫外激励光源持续照射标准荧光试纸;接收经紫外过滤的响应光谱信号后,判断该响应光谱信号的强度是否达到预设光强,如没有,则生成光强控制信号控制紫外激励光源以预设光强输出。以此循环,直到系统中所有的紫外激励光源校正完成。

[0112] 在对广谱激励光源出光光强校正中:处理模块控制一个待校正的广谱激励光源持续照射标准胶体金试纸;接收响应光谱信号后,判断该响应光谱信号的强度是否达到预设光强,如没有,生成光强控制信号控制广谱激励光源以预设光强输出。以此循环,直到系统中所有的光谱激励光源校正完成。

[0113] 当控制指令中选定的测试模式为荧光测试模式时,则处理模块控制紫外激励光源持续照射荧光试纸,同时控制传动装置将紫外过滤装置移动至反射光接收区域。待检测样品产生的荧光光谱混合反射的紫外光谱形成响应光谱信号进入反射光接收区域,紫外过滤装置在反射光接收区域中将响应光谱信号中的紫外光谱过滤后得到荧光光谱,光谱信号接收装置接收该荧光光谱实现对检测样品的荧光检测。

[0114] 当选定的测试模式为胶体金测试模式时,则处理模块控制广谱激励光源持续照射胶体金试纸,光谱信号接收装置获取响应光谱信号后发送至处理模块中处理得到荧光检测结果。

[0115] 与紫外激励光源相同,广谱激励光源在工作过程中光强同样在处理模块发送的光控制信号(PWM信号)的控制下处于恒定光强状态。同时通过一反馈机制对广谱激励光源的光强进行监控,具体,通过一置于广谱激励光源周边的光接收器件(如光敏接收管)接收广谱激励光源出射的光信号并转换为电信号,进而根据该电信号得到广谱激励光源的出光强度,并将其与预设阈值进行比较以判断广谱激励光源是否处于稳定输出的状态。当接收到的光信号强度与预设阈值出现偏差,则根据该光信号生成光强控制信号,并通过该光强控制信号控制广谱激励光源输出,以保证广谱激励光源以预先设定的光强稳定输出。在本实施方式中,系统同时配置了紫外激励光源和广谱激励光源,并根据检测人员选定的测试模式进行切换,以此系统能够同时实现荧光、胶体金模式的高精度测量。当系统中同时配置有多个紫外激励光源和多个光谱激励光源时,可以通过间隔的方式进行排列,也可以通过其他方式进行排列,不影响对待检测样品的照射即可。另外,这里对光接收器件设置的位置同样不做具体限定,只要将其固定于紫外激励光源和广谱激励光源的周围,预先测定光接收器件接收的光信号的强度与激励光源出射光强之间的关联关系即可。

[0116] 在其他实施方式中,该多功能免疫检测系统中还配置液晶触摸屏,检测人员通过该液晶触摸屏发送包括测试模式信息的控制指令;且处理模块接收到响应光谱信号之后,将处理结果显示在该液晶触摸屏中,以此,检测人员根据液晶触摸屏中显示的C线和T线峰值得到检测结果(包括相应峰值是否存在,峰值的强度等信息)。此外,在该多功能免疫检测系统中还配置通信模块,以此多功能免疫检测系统将处理模块的处理结果发送出去,通信方式可以根据需求进行选定,如通过网口方式、WiFi(无线保真)方式、蓝牙方式等。

[0117] 在一实例中,如图4所示,荧光检测系统由试纸卡盒1、第一微型步进电机2、激励光

源3、光敏接收管4、滤色片5、第二微型步进电机6、CCD传感器7、处理模块8及封闭黑体空腔9组成,其中,试纸卡盒1、第一微型步进电机2、激励光源3、光敏接收管4、滤色片5、第二微型步进电机6、CCD传感器7、处理模块8置于封闭黑体空腔9中,以屏蔽外部杂散光干扰;第一微型步进电机2、激励光源3、光敏接收管4、第二微型步进电机6及CCD传感器7分别与处理模块8连接。

[0118] 激励光源3中包括紫外激励光源和广谱激励光源,分别作为荧光测试模式和胶体金测试模式的激励光源,在处理模块8的控制下切换,图示中示例性的包括2组激励光源。黑体空腔9上开设有与第一微型步进电机2传动连接的抽屉式试纸卡托构件,在第一微型步进电机2的传动下开启/闭合试纸卡托,载入试纸卡盒1至准确的检测区域。滤色片5与第二微型步进电机6传动连接,在荧光测试模式时,将滤色片5传动至CCD传感器7感光镜头前,滤除波长在500nm以下的光谱信号,实现荧光测试模式和胶体金测试模式的切换。

[0119] 在测试过程中,检测人员通过一液晶触摸屏输入控制指令。上电后,根据检测人员通过液晶触摸屏输入的指令,在第一微型步进电机2的传动下开启试纸卡托;检测人员在试纸卡托中插入试纸卡盒1后,进一步通过液晶触摸屏输入指令,控制第一微型步进电机2传动关闭试纸卡托,将测试试纸(荧光试纸或胶体金试纸)引导到准确的检测区域。之后,检测人员在液晶触摸屏中根据载入的测试试纸类型选定测试模式(荧光测试模式或胶体金测试模式)并发送控制指令至处理模块8,系统开始以选中的测试模式进行测试。

[0120] 当载入检测区域的是荧光试纸,选定的为荧光测试模式时,处理模块8选定紫外激励光源作为激励照射荧光试纸,同时控制第二微型步进电机6将滤色片6传动至与之紧密配合的CCD传感器7感光镜头之前,将响应光谱信号中波长在500nm以下的光谱信号滤除,以此,波长在510nm以上的光谱信号到达CCD传感器7感光镜头。在整个测试过程中,紫外激励光源始终处于工作状态,且光强在处理模块PWM信号的控制下处于恒定状态;同时,通过光敏接收管4对紫外激励光源持续监视,根据光敏接收管4接收的光信号通过处理模块8对其进行反馈控制,实现紫外激励光源光强的稳定性。

[0121] 当载入检测区域的是胶体金试纸,选定的为胶体金测试模式时,处理模块8选定广谱激励光源作为激励照射胶体金试纸,在反射光接收区域中通过CCD传感器7感光镜头接收响应光谱信号。在整个测试过程中,广谱激励光源始终处于工作状态,且光强在处理模块PWM信号的控制下处于恒定状态;同时,通过光敏接收管4对广谱激励光源持续监视,根据光敏接收管4接收的光信号通过处理模块8对其进行反馈控制,实现广谱激励光源光强的稳定性。

[0122] 应当说明的是,上述实施例均可根据需要自由组合。以上仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

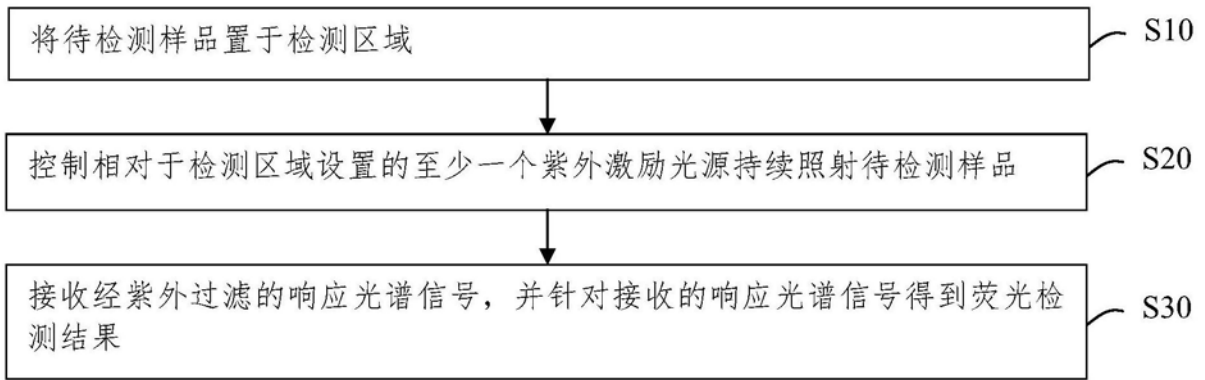


图1

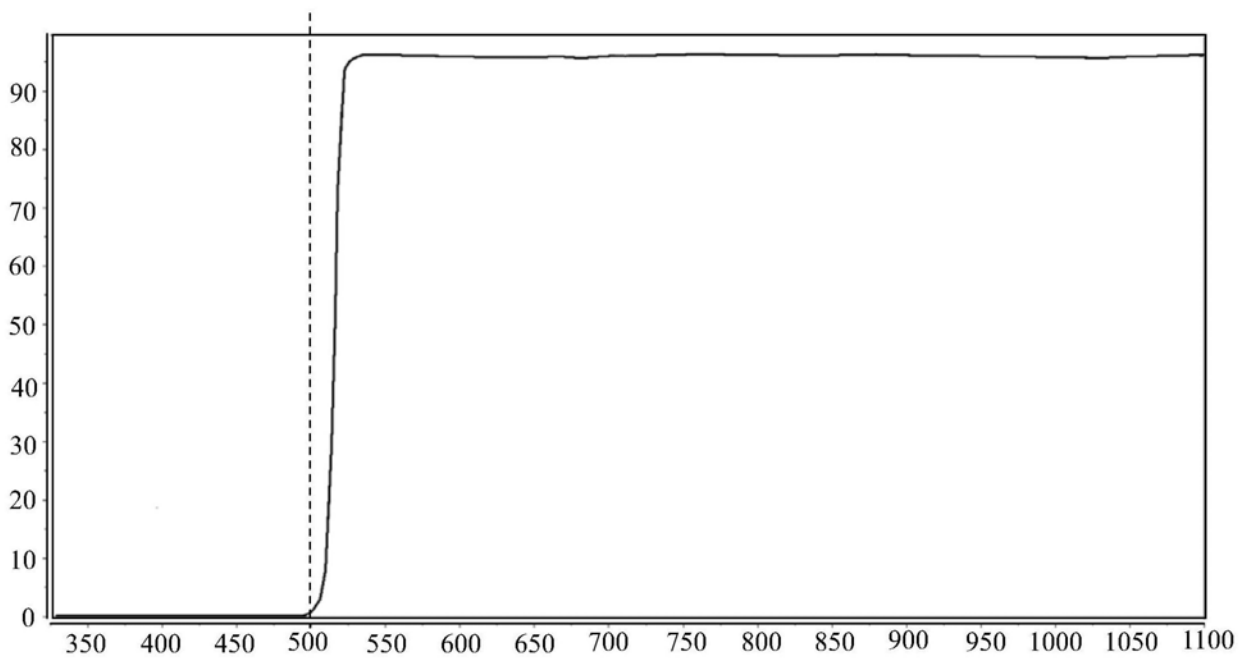


图2

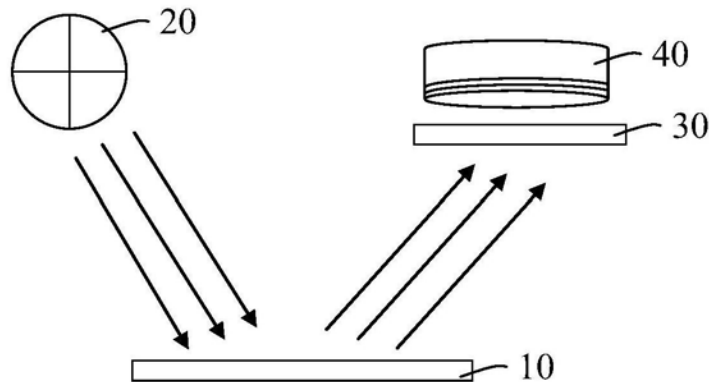


图3

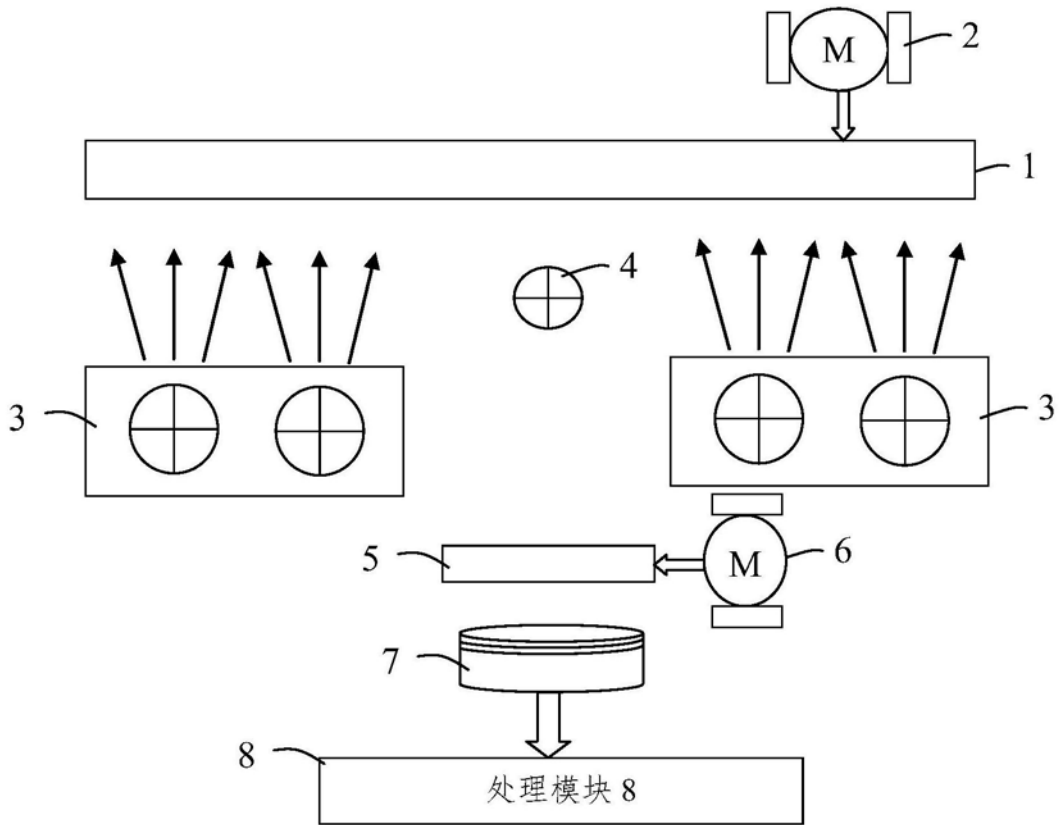


图4



专利名称(译)	连续紫外激励荧光光谱滤色法免疫检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN110161228A</a>	公开(公告)日	2019-08-23
申请号	CN201910529313.9	申请日	2019-06-19
[标]发明人	焦迪 李建国 应继伟		
发明人	焦迪 李建国 应继伟 汪邦运		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533		
代理人(译)	王闯		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了连续激励多功能免疫检测方法及系统，其中，多功能免疫检测方法中包括：将待检测样品置于检测区域；控制相对于所述检测区域设置的至少一个紫外激励光源持续照射所述待检测样品；接收经紫外过滤的响应光谱信号，并针对接收的响应光谱信号得到荧光检测结果。其摒弃了光强不稳定的脉冲紫外激励方式，以发光强度恒定的连续光源作为激励光源，有效解决了系统中激励光源的发光强度随使用次数发生变化而影响响应光谱信号强度的缺陷，同时避免了激励光源因受到频繁的电浪涌冲击影响使用寿命的技术问题，大大延长了系统中激励光源的寿命；再有，避免了荧光检测过程中通过测试处于动态衰减期时的荧光光谱实现目的，提高了检测精度。

