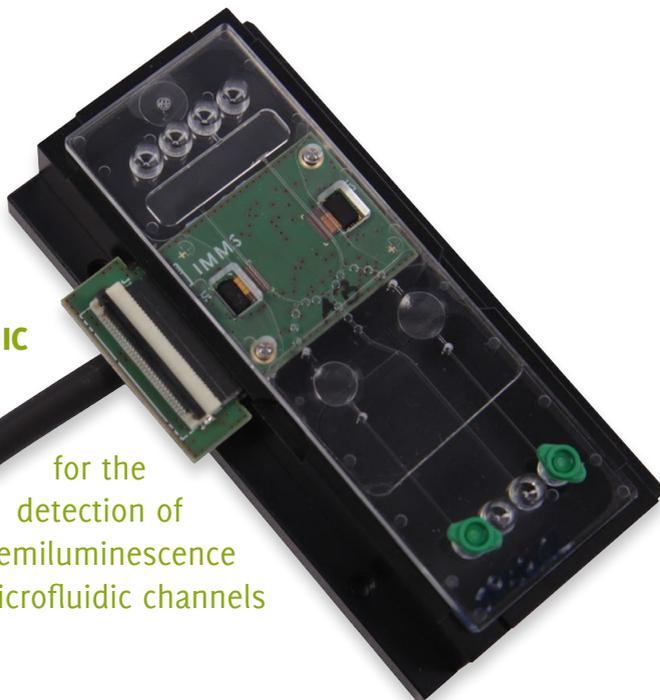


SPAD-based CMOS line sensor IC

for the detection of chemiluminescence in microfluidic channels



The picture shows the application-specific mount for aligning the microfluidic chip directly above the sensor IC. Photograph: IMMS.

Motivation and overview

Light can be produced by chemical reactions. This chemiluminescence or chemoluminescence appears for a few seconds as a flash of light or as a glow over many minutes to hours. Chemiluminescence not only makes fireflies and glow sticks glow, it also enables the reliable detection of enzymes in very low concentrations down to individual molecules in biochemistry and medical diagnostics, for example. Chemiluminescence immunoassays (CLIA) can be used to determine the smallest concentrations of antibodies or antigens, which is why the method is often used for highly sensitive laboratory analysers.

To detect the chemiluminescent light, highly sensitive light sensors are needed. Photomultiplier tubes (PMTs) are typically used for this purpose, which can detect the smallest amounts of light down to individual photons due to their very high sensitivity. PMTs have a very low dark count rate (DCR), i.e. they count very few events that are not caused by incoming photons, but by thermal charge carrier generation. PMTs are state-of-the-art for low-light sensing, especially for laboratory analysers and the

equipment infrastructure in central laboratories. However, compared to integrated CMOS sensors, they are large and expensive. They are difficult to miniaturise and integrate with complex electronics or microfluidics. For this reason, chemiluminescence-based point-of-care tests are rather the exception in cost-sensitive applications, although they can be used to achieve high sensitivity and test quality.

IMMS is therefore researching alternative sensor concepts for low-light sensing based on CMOS SPADs. A single-photon avalanche diode (SPAD) is operated above the breakdown voltage and can therefore also resolve single photons. The advantages of CMOS SPADs are that they are easier to miniaturise and integrate, for example in the form of image sensors, and can be produced very cheaply in mass. With PMTs, on the other hand, only scanning methods for spatial resolution can be achieved, which in turn entails complex mechanical components.

In the KODIAK project, IMMS and its five partners from Thüringen – X-FAB Global Services GmbH, Lucas Instruments GmbH, the Fraunhofer Centre for Microelectronic and Optical Systems for Biomedicine (MEOS) and the CiS Research Institute for Micro-sensor Technology GmbH – conducted research on a point-of-care test system (see Figure 1) for the rapid diagnosis of cytokine release syndrome (CRS) and developed a SPAD-based CMOS line sensor IC for the detection of chemiluminescence in microfluidic channels.

- 33

- > *Integrated sensor systems*
- > *Distributed measurement + test systems*
- > *Mag6D nm direct drives*
- > *Contents*
- * *Funding*

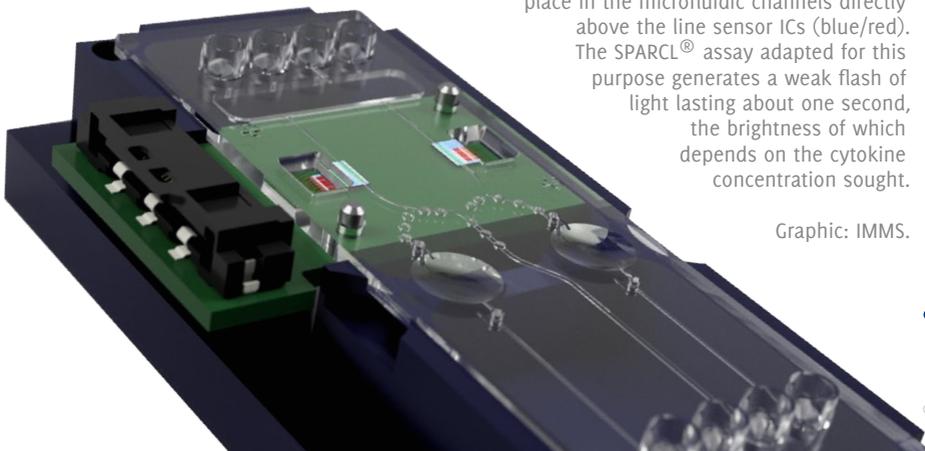
www.imms.de/biosensors

www.imms.de/kodiak

Figure 1:

Concept for the detection system: Carrier (black) with sensor PCB (green) and microfluidic cartridge (transparent). The chemiluminescence reaction takes place in the microfluidic channels directly above the line sensor ICs (blue/red). The SPARCL[®] assay adapted for this purpose generates a weak flash of light lasting about one second, the brightness of which depends on the cytokine concentration sought.

Graphic: IMMS.



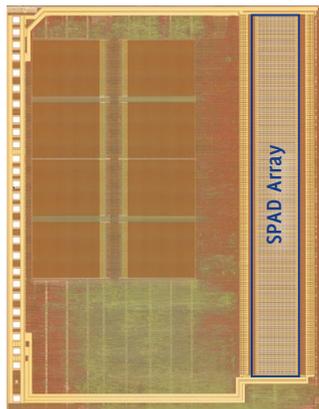
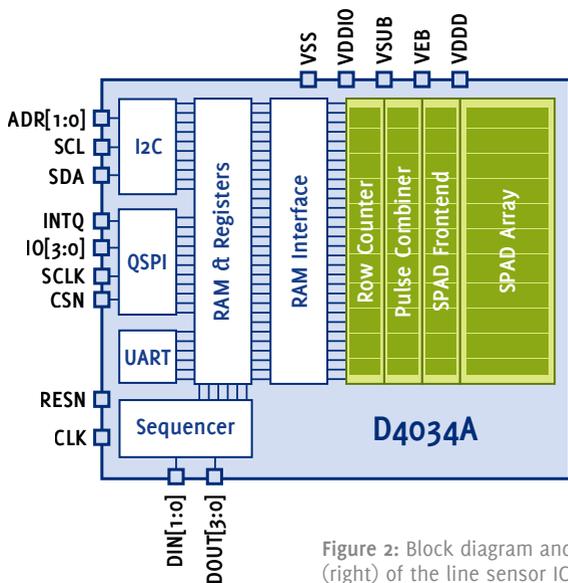


Figure 2: Block diagram and pin designations (left) and chip photo (right) of the line sensor IC. Graphic/Photograph: IMMS.

Structure of the line sensor IC

The challenge in developing the line sensor IC was to carefully design both X-FAB's SPADs and their readout circuits to be developed at IMMS to achieve a high fill factor and a low dark count rate (DCR).

The line sensor IC consists of a SPAD array with a length of 3.4 mm in the direction of the channel and a width of 0.35 mm, see Figure 2. Along the microfluidic channel, the array is divided into 192 sensor rows. Each row consists of 20 SPADs that are packed to the maximum with minimal spacing. Each row is also equipped with individual switches to enable/disable each individual SPAD, a common active quenching circuit to stop the avalanche breakthrough and reset the SPADs, with two programmable analogue timers for extinguishing and charging time, as well as an after-pulsing filter and a 16-bit counter. Furthermore, each row contains a pull-up power source to prevent high DCRs due to leakage currents in the quenching circuit. In addition to the SPAD series, the line register and line multiplexers for their selection, the line sensor IC contains a programmable sequencer for controlling image acquisition (uC Control Engine) and a computing unit (ALU) that can apply memory-saving bfloat16 encoding to the acquired sensor data, see Figure 3. A 64-kB SRAM is used to buffer the counter values of complete measurements. The IC is configured and read out via the I²C and QSPI interfaces.

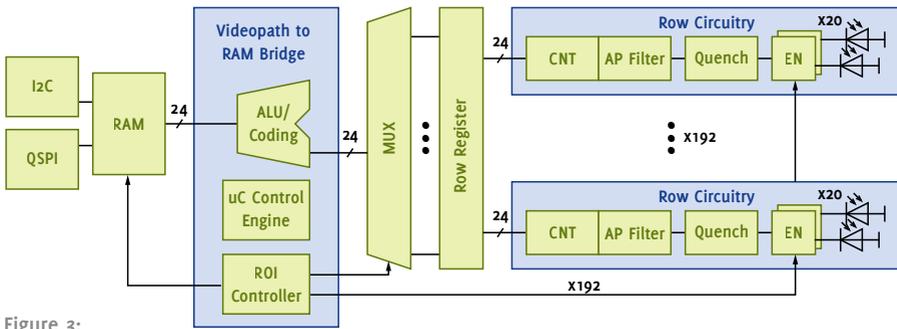


Figure 3:

Signal path of the line sensor IC with optical inputs (SPADs) on the right and digital outputs (I²C and QSPI) on the left. Graphic: IMMS.

Sensitivity optimisation

A total of 12 variants of the line sensor IC were manufactured, which differ only in the SPADs used. X-FAB has designed six optimised SPAD layouts of two SPAD components for this purpose. The DCRs of each 3,840 SPADs in each SPAD array vary greatly due to manufacturing tolerances, which is why some SPADs have a low DCR and others have a high DCR. The DCR fluctuations between the best and worst SPAD in the array can be up to four orders of magnitude. Since the 20 SPADs in each row share a quenching circuit, the SPAD with the highest DCR will also determine the DCR of the entire range. To maximise the effective sensitivity of the line sensor, algorithms for the targeted deactivation of SPADs with poor performance, so-called screamers with high DCR, were therefore also implemented. These work as follows, for example: First, the DCR of all SPADs is measured individually in the sensor array and a histogram is created. Then, a certain percentage of the worst-performing SPADs, the screamers, are disabled. For example, disabling the 20% worst SPADs can reduce the DCR mean of the sensor array by more than half.

Measurements

Figure 4 shows which SPADs within the array have been classified as screamers and disabled. At higher cut-off thresholds (the upper diagrams in Figure 4), the effective DCR is further reduced, see Figure 5, whereby the spatial resolution of the array is maintained due to the homogeneous distribution of the screamers across the array.

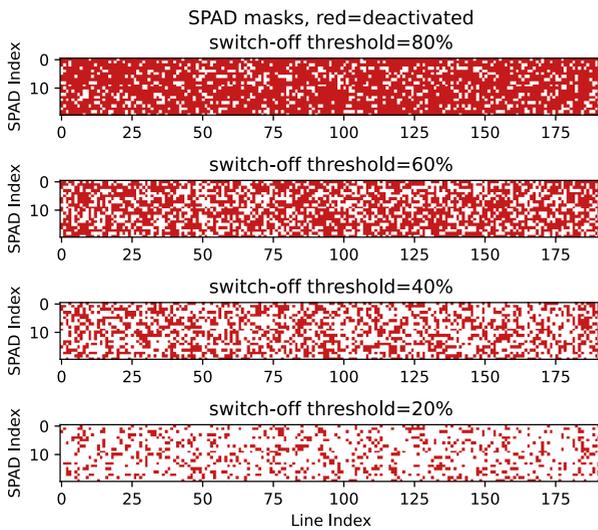


Figure 4:

Distribution of the disabled SPADs (screamers) over the SPAD array as a function of the shutdown threshold. The Line Index stands for the row number and the SPAD Index denotes the SPAD within the row. The higher the shutdown threshold, the more SPADs will be disabled. At a shutdown threshold of 80%, only the 20% DCR-best SPADs are activated. Disabled SPADs are shown in red.

Source: IMMS.

By additional measurements with the line sensor IC in very low light illumination from an LED, it could be shown that it is advantageous for the detection of very low light outputs to use even only the 20% - 30% of SPADs with the best DCR, see Figure 5.

Outlook

The line sensor IC achieves a DCR of about 0.01 counts per second per square micrometre in the best case, which is a very good value. This means that the sensor

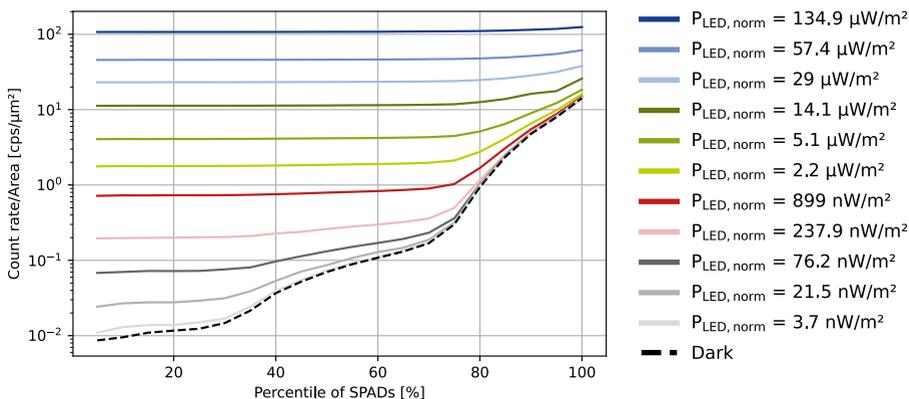


Figure 5: Area-normalised count rate of the best chip variant as a function of the percentile of the activated SPADs (percentile = 100% - cut-off threshold) under different illuminances. At high percentiles (low cut-off threshold), the counting rate is dominated by the DCR. Low illumination levels can still be detected if only the 20% - 30% of SPADs with the lowest DCR are used. Source: IMMS.

does not reach the DCR of commercial PMT, which is about two orders of magnitude lower. However, it has a sufficiently high sensitivity for many applications and is much cheaper than PMTs.

The project partners from KODIAK have used the presented line sensor IC to perform first chemiluminescence measurements for the detection of the cytokine interleukin-1 β within the microfluidic channel and have demonstrated the basic feasibility of the detection concept (Figure 1). Currently, more in-depth investigations are underway on the achievable sensitivity of the overall system of chemiluminescence assay, microfluidics and SPAD-based line sensor ASIC.

On 01 August 2024, the project “ScoreChip – Modular Platform for PoC Diagnostics Using the Example of Sepsis Diagnostics” will also start, in which IMMS will build on previous developments and develop a chemiluminescence scanner for microfluidic cartridges.

Contact person: Benjamin Saft, M.Sc., benjamin.saft@imms.de

REACT-EU – Als Teil der Reaktion der Union auf die COVID-19-Pandemie finanziert.



The KODIAK project was funded as part of the European Union’s response to the COVID-19 pandemic through the European Regional Development Fund (ERDF-OP 2014 – 2022) under the reference 2021 FE 9127.

37

- > *Integrated sensor systems*
- > *Distributed measurement + test systems*
- > *Mag6D nm direct drives*
- > *Contents*
- * *Funding*

www.imms.de/
kodiak

SPAD-basierter CMOS-Zeilensensor-IC

für den Nachweis von Chemilumineszenz in mikrofluidischen Kanälen



Das Bild zeigt die anwendungsspezifische Halterung zur Ausrichtung des Mikrofluidik-Chips direkt über dem Sensor-IC. Foto: IMMS.

Motivation und Überblick

Durch chemische Reaktionen kann Licht entstehen. Diese Chemilumineszenz oder auch Chemolumineszenz zeigt sich wenige Sekunden als Lichtblitz oder als Glühen über viele Minuten bis zu Stunden. Chemilumineszenz bringt nicht nur Glühwürmchen und Knicklichter zum Leuchten, sie ermöglicht auch in der Biochemie und der medizinischen Diagnostik beispielsweise den sicheren Nachweis von Enzymen in sehr geringen Konzentrationen bis hin zu einzelnen Molekülen. Mit sogenannten Chemilumineszenz-Immunoassays (CLIA) können kleinste Konzentrationen von Antikörpern oder Antigenen bestimmt werden, weshalb das Verfahren häufig für hochsensitive Laboranalytoren eingesetzt wird.

Um das Chemilumineszenzlicht nachzuweisen, werden hochempfindliche Lichtsensoren benötigt. Hierfür kommen typischerweise Photomultiplier Tubes (PMTs) zum Einsatz, die durch ihre sehr hohe Empfindlichkeit kleinste Lichtmengen bis hin zu einzelnen Photonen nachweisen können. PMTs haben eine sehr geringe Dunkelzählrate (DCR), d.h. sie zählen nur sehr wenige Ereignisse, die nicht durch eintreffende Photonen, sondern durch die thermische Ladungsträgergeneration ver-

ursacht werden. PMTs sind Stand der Technik für Low-Light-Sensing, insbesondere für Laboranalytoren und die Geräteinfrastruktur in Zentrallaboren. Verglichen mit integrierten CMOS-Sensoren sind sie jedoch groß und teuer. Sie lassen sich schlecht miniaturisieren und mit komplexer Elektronik oder Mikrofluidik integrieren. Aus diesem Grund sind Chemilumineszenz-basierte Point-of-Care-Tests in kostensensitiven Anwendungen eher die Ausnahme, obwohl sich mit ihnen eine hohe Sensitivität und Testgüte erreichen lässt.

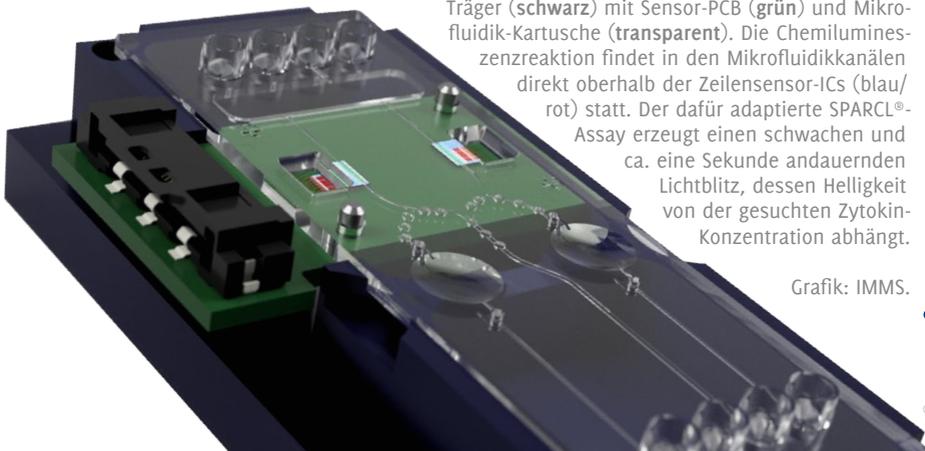
Das IMMS forscht daher an alternativen Sensorkonzepten für Low-Light-Sensing auf Basis von CMOS-SPADs. Eine Single-Photon Avalanche Diode (SPAD) wird oberhalb der Durchbruchspannung betrieben und kann damit ebenfalls einzelne Photonen auflösen. Die Vorteile von CMOS-SPADs sind, dass diese sich leichter miniaturisieren und integrieren lassen, beispielweise in Form von Bildsensoren, und in Masse sehr günstig herstellbar sind. Mit PMTs sind dagegen nur Scanning-Verfahren zur räumlichen Auflösung realisierbar, was wiederum komplexe mechanische Komponenten nach sich zieht.

Im Projekt KODIAK hat das IMMS mit seinen fünf Thüringer Partnern – der X-FAB Global Services GmbH, der Lucas Instruments GmbH, dem Fraunhofer-Zentrum für Mikroelektronische und Optische Systeme für die Biomedizin (MEOS) und der Cis Forschungsinstitut für Mikrosensorik GmbH – an einem Point-of-Care-Testsystem (siehe Abbildung 1) für die schnelle Diagnostik des Zytokin-Freisetzungssyndrom (CRS) geforscht und dafür einen SPAD-basierten CMOS-Zeilensensor-IC für den Nachweis von Chemilumineszenz in mikrofluidischen Kanälen entwickelt.

Abbildung 1:

Aufbaukonzept für das Nachweissystem: Träger (schwarz) mit Sensor-PCB (grün) und Mikrofluidik-Kartusche (transparent). Die Chemilumineszenzreaktion findet in den Mikrofluidikkanälen direkt oberhalb der Zeilensensor-ICs (blau/rot) statt. Der dafür adaptierte SPARCL[®]-Assay erzeugt einen schwachen und ca. eine Sekunde andauernden Lichtblitz, dessen Helligkeit von der gesuchten Zytokin-Konzentration abhängt.

Grafik: IMMS.



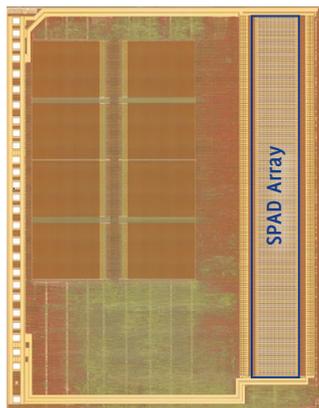
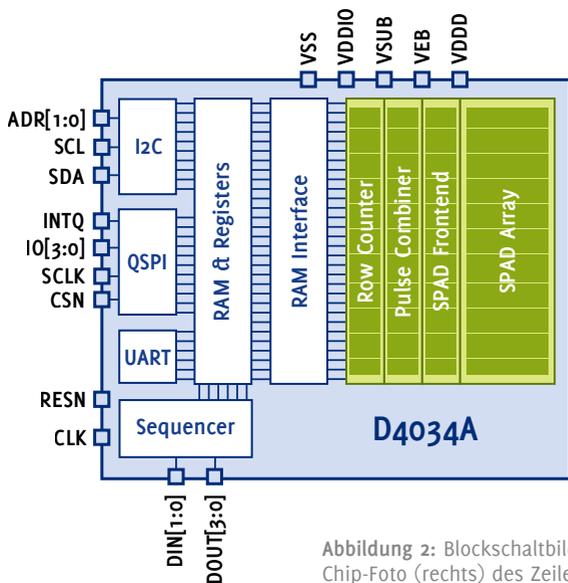


Abbildung 2: Blockschaltbild und Pin-Bezeichnungen (links) sowie Chip-Foto (rechts) des Zeilensensor-ICs. Grafik/Foto: IMMS.

Aufbau des Zeilensensor-ICs

Die Herausforderung bei der Entwicklung des Zeilensensor-ICs bestand darin, sowohl die SPADs von X-FAB als auch deren am IMMS zu entwickelnden Ausleseschaltungen sorgfältig zu entwerfen, um einen hohen Füllfaktor und eine niedrige Dunkelzählrate (DCR) zu erreichen.

Der Zeilensensor-IC besteht aus einem SPAD-Array mit einer Länge von 3,4 mm in Richtung des Kanals und einer Breite von 0,35 mm, siehe Abbildung 2. Entlang des Mikrofluidikkanals ist das Array in 192 Sensorreihen unterteilt. Jede Reihe besteht aus 20 SPADs, die maximal dicht gepackt sind und nur minimale Abstände aufweisen. Jede Reihe ist außerdem mit einzelnen Schaltern zum Aktivieren/Deaktivieren jeder einzelnen SPAD, einer gemeinsamen aktiven Quenching-Schaltung zum Löschen des Lawinendurchbruchs und Rücksetzen der SPADs mit zwei programmierbaren analogen Timern für die Lösch- und Ladezeit sowie einem After-Pulsing-Filter und einem 16-bit-Zähler ausgestattet. Weiterhin enthält jede Reihe eine Pull-up-Stromquelle, um hohe DCRs aufgrund von Leckströmen in der Quenching-Schaltung zu verhindern. Neben den SPAD-Reihen, dem Zeilenregister und Zeilenmultiplexer zu deren Auswahl enthält der Zeilensensor-IC einen programmierbaren Sequenzer zur Steuerung der Bildaufnahme (uC Control Engine) und eine Recheneinheit (ALU), die eine speicherschonende bfloat16-Kodierung auf die erfassten Sensordaten anwen-

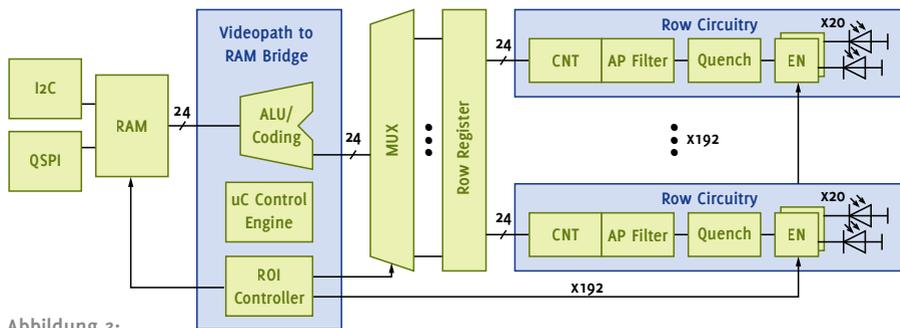


Abbildung 3:

Signalpfad des Zeilensensor-ICs mit optischen Eingängen (SPADs) auf der rechten Seite und digitalen Ausgängen (I²C und QSPI) auf der linken Seite. Grafik: IMMS.

den kann, siehe Abbildung 3. Ein 64-kB-SRAM dient zur Pufferung der Zählerwerte von vollständigen Messungen. Konfiguriert und ausgelesen wird der IC über die I²C- und QSPI-Schnittstellen.

Optimierung der Empfindlichkeit

Insgesamt wurden 12 Varianten des Zeilensensor-ICs gefertigt, die sich lediglich in den verwendeten SPADs unterscheiden. X-FAB hat dafür jeweils sechs optimierte SPAD-Layouts von zwei SPAD-Bauelementen entworfen. Die DCRs der einzelnen 3.840 SPADs jedes SPAD-Arrays unterscheiden sich aufgrund von Fertigungstoleranzen stark zueinander, weshalb einige SPADs eine geringe DCR und andere eine hohe DCR aufweisen. Die DCR-Schwankungen zwischen der besten und der schlechtesten SPAD im Array können bis zu vier Größenordnungen betragen. Da sich die 20 SPADs jeder Reihe eine Quenching-Schaltung teilen, wird die SPAD mit der höchsten DCR auch die DCR der gesamten Reihe bestimmen. Um die effektive Empfindlichkeit des Zeilensensors zu maximieren, wurden daher auch Algorithmen zur gezielten Deaktivierung von SPADs mit schlechter Leistung, sogenannte Screamer mit hoher DCR, implementiert. Diese funktionieren beispielsweise wie folgt: Zunächst wird die DCR aller SPADs im Sensorarray einzeln gemessen und ein Histogramm erstellt. Anschließend wird ein bestimmter Prozentsatz der am schlechtesten abschneidenden SPADs, die Screamer, deaktiviert. So kann beispielsweise die Deaktivierung der 20% schlechtesten SPADs den DCR-Mittelwert des Sensorarrays um mehr als die Hälfte reduzieren.

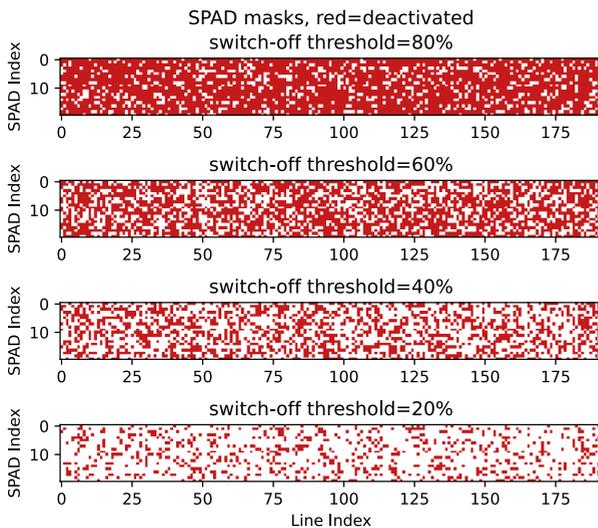


Abbildung 4:

Verteilung der abgeschalteten SPADs (Screamer) über dem SPAD-Array in Abhängigkeit von der Abschaltswelle. Der Line Index steht für die Reihenummer und der SPAD Index bezeichnet die SPAD innerhalb der Reihe. Je höher die Abschaltswelle, umso mehr SPADs werden deaktiviert. Bei einer Abschaltswelle von 80% sind nur noch die 20% DCR-besten SPADs aktiviert. Abgeschaltete SPADs sind in rot dargestellt.

Quelle: IMMS.

Messergebnisse

Abbildung 4 zeigt, welche SPADs innerhalb des Arrays als Screamer klassifiziert und deaktiviert wurden. Bei höheren Abschaltswellen (die oberen Diagramme in Abbildung 4) reduziert sich die effektive DCR weiter, siehe Abbildung 5, wobei aufgrund der homogenen Verteilung der Screamer über den Array die räumliche Auflösung des Arrays erhalten bleibt.

Durch zusätzliche Messungen mit dem Zeilensensor-IC bei Beleuchtung mit sehr schwachem Licht aus einer LED konnte gezeigt werden, dass es für die Detektion von sehr geringen Lichtleistungen vorteilhaft ist, sogar nur die 20% – 30% der SPADs mit der besten DCR zu verwenden, siehe Abbildung 5.

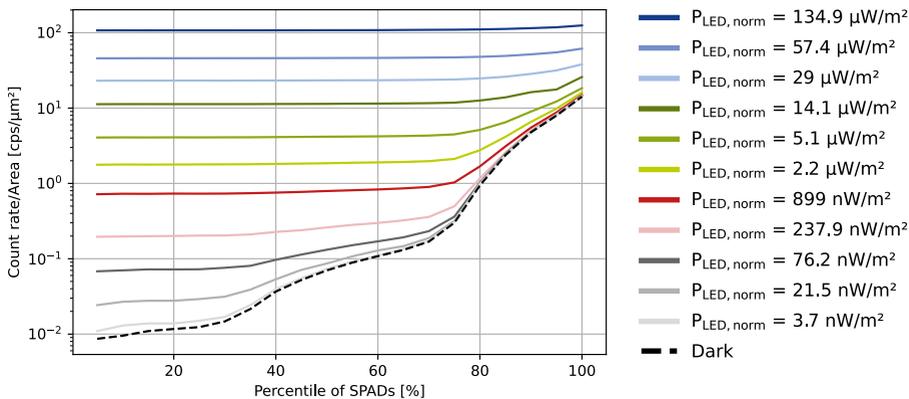


Abbildung 5: Flächennormierte Zählrate der besten Chipvariante in Abhängigkeit des Perzentils der aktivierten SPADs (Perzentil = 100% - Abschaltswelle) unter verschiedenen Beleuchtungsstärken. Bei hohen Perzentilen (geringer Abschaltswelle) wird die Zählrate von der DCR dominiert. Geringe Beleuchtungsstärken können dann noch detektiert werden, wenn nur die 20% – 30% der SPADs mit dem geringsten DCR verwendet werden. Quelle: IMMS.

Der Zeilensensor-IC erreicht im besten Fall eine DCR von ca. 0,01 Zählungen pro Sekunde pro Quadratmikrometer, was ein sehr guter Wert ist. Damit erreicht der Sensor zwar nicht die DCR von kommerziellen PMTs, die ca. zwei Größenordnungen geringer ausfällt. Er hat jedoch für viele Anwendungen eine ausreichend hohe Sensitivität und ist dabei wesentlich günstiger als PMTs.

Die Projektpartner aus KODIAK haben mit dem vorgestellten Zeilensensor-IC erste Chemilumineszenz-Messungen zum Nachweis des Zytokins Interleukin-1 β innerhalb des mikrofluidischen Kanals durchgeführt und die grundsätzliche Machbarkeit des Nachweiskonzeptes (Abbildung 1) erbracht. Derzeit laufen tiefergehende Untersuchungen zur erreichbaren Empfindlichkeit des Gesamtsystems aus Chemilumineszenz-Assay, Mikrofluidik und SPAD-basiertem Zeilensensor-ASIC.

Zum 01.08.2024 startet außerdem das Projekt „ScoreChip – Modulare Plattform zur PoC-Diagnostik am Beispiel der Sepsis-Diagnostik“, in dem das IMMS an die bisherigen Entwicklungen anknüpft und einen Chemilumineszenz-Scanner für mikrofluidische Kartuschen entwickeln wird.

Kontakt: Benjamin Saft, M.Sc., benjamin.saft@imms.de

REACT-EU – Als Teil der Reaktion der Union auf die COVID-19-Pandemie finanziert.



Das Projekt KODIAK („Komponenten und Module für die verbesserte optische Diagnostik“) wurde als Teil der Reaktion der Europäischen Union auf die COVID-19-Pandemie über den Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE-OP 2014 – 2022) unter dem Kennzeichen 2021 FE 9127 gefördert.

www.imms.de/

kodiak