



# (12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 206975048 U

(45)授权公告日 2018.02.06

(21)申请号 201620786142.X

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

(22)申请日 2016.05.27

代理人 赵蓉民

(30)优先权数据

62/167,577 2015.05.28 US

62/167,593 2015.05.28 US

62/269,545 2015.12.18 US

62/318,494 2016.04.05 US

(51)Int.Cl.

G01N 35/00(2006.01)

(ESM)同样的发明创造已同日申请发明专利

(73)专利权人 BD科斯特公司

地址 荷兰德拉赫滕

(72)发明人 T·R·汉森 R·霍尔茨

M·凯乐斯达 R·R·马尔塞波利

R·皮尔庞特 B·R·波尔

A·塞德洛斯基 S·石恩莱德克尔

E·思科维哥托尼 K·L·史密斯

T·威尔斯

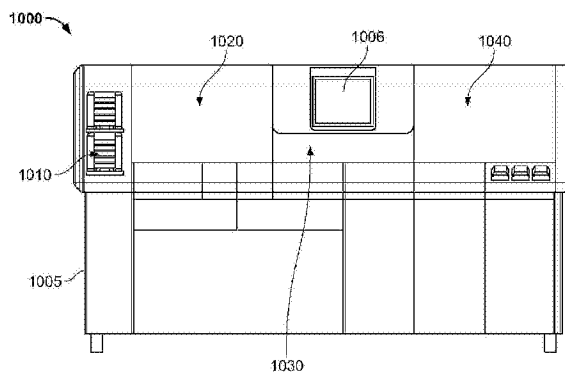
权利要求书5页 说明书43页 附图33页

## (54)实用新型名称

制备用于鉴定和抗生素敏感性试验的单样本悬浮液的自动化系统

## (57)摘要

本实用新型涉及制备用于鉴定和抗生素敏感性试验的单样本悬浮液的自动化系统。该系统包括：制备用于ID分析的样本的第一部分，该第一部分包括接收培养板的工具；用于自动化地操作拾取工具的第一机器人；向第一机器人通知菌落的位置的工具；通过第一机器人控制菌落拾取的工具；在第一样本悬浮液制备平台处将悬浮液液体提供进入悬浮液试管的工具；用于测量悬浮液的浊度的比浊计；第二机器人；将带有剩余部分悬浮液的悬浮液试管从第一样本悬浮液制备平台传送到第二样本悬浮液制备平台的工具；用于测量悬浮液的浊度的第二比浊计；用于接种用于AST分析的盒的第二部分；以及盒转移仪器，其将接种的盒装载到实施AST的设备中。



1. 一种用于制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和微生物的抗生素敏感性试验,即AST,其特征在于,所述系统包括:

用于制备用于ID分析的样本的第一部分,所述第一部分包括:

接收培养板的工具;

所述系统与获取所述培养板的图像的成像工具和识别所述培养板上的菌落的工具通讯连接并且从所述图像信息中指定用于自动化样本拾取的菌落;

第一机器人,用于自动化地操作拾取工具;

向所述第一机器人通知所述菌落的位置的工具;

通过所述第一机器人控制菌落拾取的工具,其中所述第一机器人被进一步配置为将拾取的样本传送到第一样本悬浮液制备平台;

在所述第一样本悬浮液制备平台处将悬浮液液体提供进入悬浮液试管的工具,其中所述拾取工具被配置为将拾取的样本沉积在所述悬浮液液体内;

在所述第一样本悬浮液制备平台处用于检测所述悬浮液的浊度的比浊计,其中响应于在预定浊度值之外的浊度检测值,所述自动化系统调整所述悬浮液试管中样本的量或悬浮液的量中的一个以提供具有预定范围内的样本浓度的悬浮液;

第二机器人,其中所述第二机器人为移液器,其在所述第一样本悬浮液制备平台获取第一等分悬浮液并且接种用于所述ID分析的容器;

将带有剩余部分悬浮液的悬浮液试管从所述第一样本悬浮液制备平台传送到第二样本悬浮液制备平台的工具;

在所述第二样本悬浮液制备平台处的第二比浊计,用于检测所述悬浮液的浊度;

其中所述第二机器人被进一步配置为将所述悬浮液试管内的样本浓度调整到用于第二分析的预定浓度,并且获取具有调整好的浓度的样本悬浮液的第二等分,并且用所述第二等分悬浮液接种用于AST分析的样本试管;和

用于接种用于所述AST分析的盒的第二部分;其中所述自动化系统具有将接种的样本试管从所述第一部分传送到所述第二部分的工具;所述第二部分具有第三机器人,所述第三机器人为移液器,所述移液器从所述接种的样本试管获取一等分,并且用获取的等分接种所述AST盒;和

盒转移仪器,其将接种的盒装载到实施AST的设备中。

2. 根据权利要求1的自动化系统,其特征在于,所述第一机器人自动拾取和释放所述拾取工具,并且其中所述拾取工具是一次性移液管尖端。

3. 根据权利要求2的自动化系统,其特征在于,用于AST的设备被配置为具有至少两个门,第一门从所述盒转移仪器接收所述盒用于转移接种的AST盒,其中所述盒转移仪器为多轴机器人和包括夹具板的盒夹具,所述夹具板耦连到所述多轴机器人的臂,使得所述夹具板适于围绕耦连件的轴从第一位置枢转到第二位置;并且其中所述夹具板包括夹持表面,其适于夹在目标上。

4. 根据权利要求2的自动化系统,其特征在于,进一步包括检测器,当所述第一机器人将承载有样本的所述拾取工具从培养皿传送时,所述检测器检测是否形成了样本的线状物。

5. 根据权利要求4的自动化系统,其特征在于,当所述拾取工具从所述培养皿升高离开时,通过光学或电子地监测所述拾取工具,检测所述线状物。

6. 根据权利要求5的自动化系统,其特征在于,进一步包括切断所述线状物的机构,所述机构选自自由切割工具、超声器、干燥装置和冷冻装置组成的组。

7. 根据权利要求6的自动化系统,其特征在于,所述切割工具选自自由激光器、杆、线和刀片组成的组。

8. 根据权利要求7的自动化系统,其特征在于,所述切割工具被加热。

9. 一种用于制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和微生物的抗生素敏感性试验,即AST,其特征在于,所述系统包括:

第一平台,在其中制备所述悬浮液,所述第一平台包括控制器,其控制样本悬浮液的制备,从所述样本悬浮液中获取用于ID和AST的等分;

第一机器人,其被配置为与控制器通讯自动获取、承载和抛弃拾取工具,其中所述拾取工具为移液管尖端,并且所述第一机器人被所述控制器控制以获取所述移液管尖端;使用所述移液管尖端以从被所述第一平台接收的培养皿中收集样本,所述控制器导引所述第一机器人承载所述拾取工具到达所述培养皿上的位置,指定待拾取的菌落位于该位置,所述第一机器人将所述移液管尖端接触所述指定菌落并且承载拾取的样本以拾取到悬浮液试管中,悬浮液试管中布置了悬浮稀释液,其中所述第一机器人使承载了所述样本的所述移液管尖端接触所述悬浮液,将所述样本释放进入所述悬浮液试管;

悬浮稀释液分配器,其与所述控制器通讯以将悬浮稀释液分配到悬浮液试管内;

比浊计,其与所述控制器通讯,其中所述比浊计检测悬浮液的浊度,并且所述控制器响应于比浊检测值,其中如果所述比浊检测值在预定数值或数值范围之外,所述控制器将调整悬浮液中的样本的浓度,通过使悬浮稀释液分配器加入更多稀释液以此降低样本浊度,使拾取工具拾取和沉积更多样本进入悬浮液以此增加样本浊度中的一种方式,或两者均可,以此调整所述悬浮液内所述样本的浓度;

所述第一平台进一步包括第一机器移液器,其中当所述控制器基于接收到的浊度检测值,确定悬浮液浊度是处于预定浊度值内时,所述控制器命令所述第一机器移液器获取样本悬浮液的第一等分用于ID分析,并且用所获取的等分接种用于所述ID分析的容器;

第一转移装置,其与所述控制器通讯,其中在所述第一等分已经从所述悬浮液试管中移走之后,所述控制器命令所述转移装置将所述悬浮液试管从所述第一平台内的第一位置转移到所述第一平台内的第二位置;

在所述第二位置中的比浊计,所述比浊计与所述控制器通讯,其中所述控制器响应于在第二平台处接收的测得的悬浮液浊度,控制所述第一机器移液器调整悬浮液内样本的浊度到用于AST试验的预定浊度,所述控制器进一步控制所述第一机器移液器获取具有调整过的浊度的一等分悬浮液并且接种用于所述AST试验的分析试管;

第二转移装置,其与所述控制器通讯,其中所述控制器命令所述转移装置将接种的AST分析试管转移到所述第二平台;所述控制器与在所述第二平台的第二移液器通讯,其中所述控制器命令所述第二移液器从接种的分析试管内获取一等分并且分配所述等分到用于AST试验的盒,所述第二平台进一步包括用于将接种的AST盒从所述第二平台转移的转移机

器人。

10. 根据权利要求9的自动化系统,其特征在于,用于转移接种的AST盒的转移机器人为多轴机器人和包括夹具板的盒夹具,所述夹具板耦连到所述多轴机器人的臂,使得所述夹具板适于围绕耦连件的轴从第一位置枢转到第二位置;并且其中所述夹具板包括适于夹到目标上的夹持表面。

11. 根据权利要求9的自动化系统,其特征在于,进一步包括检测器,当所述第一机器人将承载有样本的拾取工具从培养皿传送时,所述检测器检测是否形成了样本的线状物。

12. 根据权利要求11的自动化系统,其特征在于,当所述拾取工具从所述培养皿升高离开时,通过光学或电子地监测所述拾取工具,检测所述线状物。

13. 根据权利要求12的自动化系统,其特征在于,进一步包括切断所述线状物的机构,所述机构选自自由切割工具、超声器、干燥装置和冷冻装置组成的组。

14. 根据权利要求13的自动化系统,其特征在于,所述切割工具选自自由激光器、杆、线和刀片组成的组。

15. 根据权利要求14的自动化系统,其特征在于,所述切割工具被加热。

16. 根据权利要求9的自动化系统,其特征在于,所述控制器限定了针对所述培养皿上的位置的拾取公差区域,指定待拾取的菌落位于该位置。

17. 一种用于制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和微生物的抗生素敏感性试验,即AST,其特征在于,所述系统包括:

用于制备用于ID分析的样本的第一部分,所述第一部分包括:

样本拾取平台、样本悬浮液制备平台、用制备好的用于ID分析的悬浮液的第一等分接种样本板的第一接种平台,和用制备好的悬浮液的第二等分接种样本试管的第二接种平台,所述样本拾取平台包括机器拾取工具,用于接收培养板介质的载物台,和与获取培养板介质的图像的设备通讯的控制器,从所述图像中能够辨别培养板介质上的菌落的位置,所述机器拾取工具被配置为,响应于所述控制器的指令,获取移液管尖端,降低所述移液管尖端直至它接触所述菌落,升高承载所述菌落的所述移液管尖端并将承载所述菌落的移液管尖端移动到所述样本悬浮液制备平台;

所述样本悬浮液制备平台包括接收悬浮液比色皿的位置,被配置为将悬浮液分配到悬浮液比色皿内的稀释液分配器,和用于在所述机器拾取工具已经将拾取的样本释放到稀释液内之后检测所述悬浮液比色皿中的样本的浓度的比浊计;

第一机器移液器,其被配置为从制备好的悬浮液内获取第一等分并且将所述第一等分分配到用于ID分析的容器中,所述第一机器移液器被进一步配置为将制备好的悬浮液稀释到用于AST试验的预定范围的浊度值之一;

其中所述第一机器移液器被进一步配置为获取第二等分制备好和稀释的悬浮液并且用所述制备好和稀释的悬浮液等分接种用于AST试验的样本试管;和

转移机构,其用于将接种好的AST样本试管转移到第二部分,所述第二部分包括:

第二机器移液器,其从接种好的AST样本试管获取一等分并且将所述等分分配到AST盒中;和

机器人机构,其抓取所述盒并将所述盒放置在用于AST试验的设备中。

18. 根据权利要求17的自动化系统,其特征在于,所述第二部分内的用于将接种的AST盒放置在用于AST试验的设备内的所述机器人机构为多轴机器人和包括夹具板的盒夹具,所述夹具板耦连到所述多轴机器人的臂,使得所述夹具板适于围绕耦连件的轴从第一位置枢转到第二位置;并且其中所述夹具板包括夹持表面,其适于夹到目标上。

19. 根据权利要求17的自动化系统,其特征在于,进一步包括检测器,当所述机器拾取工具从培养板介质升高时,所述检测器检测是否形成了样本的线状物。

20. 根据权利要求19的自动化系统,其特征在于,当所述机器拾取工具升高时,通过光学或电子地监测所述机器拾取工具,检测所述线状物。

21. 根据权利要求19的自动化系统,其特征在于,进一步包括切断所述线状物的机构,所述机构选自由切割工具、超声器、干燥装置和冷冻装置组成的组。

22. 根据权利要求21的自动化系统,其特征在于,所述切割工具选自由激光器、杆、线和刀片组成的组。

23. 根据权利要求22的自动化系统,其特征在于,所述切割工具被加热。

24. 根据权利要求17的自动化系统,其特征在于,所述控制器限定了针对培养皿上的位置的拾取公差区域,指定待拾取的菌落位于该位置。

25. 一种制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和第二试验,其特征在于,所述系统包括:

用于制备用于ID分析的样本的至少第一部分,所述第一部分包括:

接收培养板的工具;

所述自动化系统与提供所述培养板的图像信息的成像工具通讯,所述图像信息用于识别培养板上的菌落并且指定用于自动化样本拾取的菌落;

机器拾取工具;

向所述机器拾取工具通知所述菌落的位置的工具;

通过所述机器拾取工具控制菌落拾取的工具,其中所述机器拾取工具被进一步配置为将拾取的样本传送到第一样本悬浮液制备平台;

在所述第一样本悬浮液制备平台处将悬浮液液体提供进入悬浮液试管的工具,其中所述机器拾取工具被配置为将拾取的样本沉积在所述悬浮液液体;

在所述第一样本悬浮液制备平台处用于检测所述悬浮液的浊度的比浊计,其中响应于在预定浊度值之外的浊度检测值,所述自动化系统调整悬浮液试管中样本的量或悬浮液的量中的一个以提供具有预定范围内的样本浓度的悬浮液;

第一机器移液器,其中所述第一机器移液器在所述第一样本悬浮液制备平台处获取第一等分悬浮液并且接种用于所述ID分析的容器;

将带有剩余部分悬浮液的悬浮液试管从所述第一样本悬浮液制备平台传送到第二样本悬浮液制备平台的工具;和

在所述第二样本悬浮液制备平台处的第二比浊计,其用于检测所述悬浮液的浊度;

其中所述第一机器移液器被进一步配置为将所述悬浮液试管内的样本浓度调整到用于第二分析的预定浓度。

26. 根据权利要求25的自动化系统,其特征在于,所述第一机器移液器进一步配置为获取具有调整好的浓度的样本悬浮液的第二等分,并且用所述第二等分悬浮液接种用于AST

分析的样本试管;并进一步包括:

用于接种用于所述AST分析的盒的第二部分;其中所述自动化系统具有将接种的样本试管从所述第一部分传送到所述第二部分的工具;所述第二部分具有第二机器移液器,用于从接种的样本试管获取一等分,并且用获取的等分接种AST盒。

27. 根据权利要求26的自动化系统,其特征在于,所述接种的AST盒被手动移除并且被装载在用于AST试验的设备内。

28. 根据权利要求26的自动化系统,其特征在于,进一步包括盒转移仪器,其将接种的盒装载在实施AST的设备内,用于AST的设备被配置为具有至少两个门,第一门从所述盒转移仪器接收所述盒。

29. 根据权利要求26的自动化系统,其特征在于,所述机器拾取工具自动地拾取和释放拾取工具,并且其中所述拾取工具为一次性移液管尖端。

30. 根据权利要求28的自动化系统,其特征在于,所述盒转移仪器为多轴机器人和包括夹具板的盒夹具,所述夹具板耦连到所述多轴机器人的臂,使得所述夹具板适于围绕耦连件的轴从第一位置枢转到第二位置;并且其中所述夹具板包括夹持表面,其适于夹到目标上。

31. 根据权利要求28的自动化系统,其特征在于,进一步包括检测器,当所述机器拾取工具将样本从培养皿传送时,所述检测器检测是否形成了样本的线状物。

32. 根据权利要求31的自动化系统,其特征在于,当所述拾取工具从所述培养皿升高离开时,通过光学或电子地监测所述拾取工具,检测所述线状物。

33. 根据权利要求32的自动化系统,其特征在于,进一步包括切断所述线状物的机构,所述机构选自自由切割工具、超声器、干燥装置和冷冻装置组成的组。

34. 根据权利要求33的自动化系统,其特征在于,所述切割工具选自激光器、杆、线和刀片组成的组。

35. 根据权利要求33的自动化系统,其特征在于,所述切割工具被加热。

36. 根据权利要求27的自动化系统,其特征在于,进一步包括:

外壳,其限定了用于接收包含用于试验的分析物的盒的内部空间;

在所述外壳的第一侧与所述外壳耦连的第一门,其被配置为将多个用于AST试验的盒接收到所述外壳的内部,其中所述盒被手动操作接收;

在所述外壳的第二侧与所述外壳耦连的第二门;和

耦连到所述第二门的门驱动器,其被配置为在所述门驱动器的自动化启动后对所述门进行操作以将多个用于试验的盒接收到所述外壳的内部,其中所述盒被来自所述第二部分的自动操作接收。

## 制备用于鉴定和抗生素敏感性试验的单样本悬浮液的自动化系统

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年5月28日提交的美国临时申请号62/167,577,2016年4月5日提交的美国临时申请号62/318,494,2015年5月28日提交的美国临时申请号62/167,593,和2015年12月18日提交的美国临时申请号62/269,545的权益,以上全部专利申请的公开内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0003] 本实用新型涉及用于制备在鉴定试验和抗生素敏感性试验中使用的单样本悬浮液的自动化系统。

### 背景技术

[0004] 定位和选择微生物菌落并用质谱学(特别是MALDI-TOF-MS(基质辅助激光解吸和电离飞行时间质谱))鉴定微生物的方法和系统,和执行的系统是已知的。这样的系统和方法被描述于Botma等的W02013/147610中,其公开内容通过引用并入本文。

[0005] MALDI分析是一种有用的工具,用于解决生物化学、免疫学、遗传学和生物学的结构性问题。样本在气相下电离,并使用飞行时间(TOF)分析仪来测量离子质量。TOF分析从离子形成时并且随着离子进入漂移区被加速至某一恒定动能时开始。离子在经过与其质量的平方根成正比的飞行时间后到达一个探测器。之所以能生成质量谱,是因为质量不同的离子到达探测器的时间不同。

[0006] 质谱分析法在药物发现与开发、基因分型和蛋白质组研究领域通常是一种强大的工具。MALDI,一种特殊质谱类型,已在细菌和微生物的表征与鉴定领域得到了应用。目前的研究趋势是用从微摩尔水平到阿托摩尔(atomic-mole)水平范围的大量个体本来分析越来越大数目的样本。结果是样本也变得更小,这就需要对合适数量的微生物进行高效和可靠的获取,并且能将所获取的一定数量的样本存放在MALDI仪器中使用的靶板上。

[0007] 在典型的MALDI TOF MS操作中,将待分析样本点样或沉积在MALDI靶板上,其可以为允许样本离子化的金属或其他材料。通常接受的用于制备MALDI靶板的方法是将怀疑含有微生物的样本从铺板培养基直接点样或涂抹在靶板上。在样本的添加后,基质试剂经常被加入以支持样本电离。在一些情况下也加入萃取剂。在其他情况下,需要在样本加入到靶板上之前可以要求进行离线萃取步骤。

[0008] 一旦靶板被制备好,它被放置在MALDI仪器中的一个固定位置。靶板上有多个沉积点(例如单个靶板上有24到384个沉积点),并且这些沉积点相对于靶板边缘的方向是固定的。靶板放置在一个X-Y载物台上,这样就能把从微生物菌落中获得的样本沉积在选定的沉积点上。在靶板和金属格栅之间保持高压电位。此电压既可以维持恒定,也可以是脉冲的,这取决于需要的结果和腔室内产生的真空度。激光被发射到样本/基质内,形成一团离子雾。电压差用来使离子加速进入飞行管内,以对这些离子进行分析。分析将飞行时间和离子

化组分的质量直接关联。

[0009] 有多个参数能够影响结果的质量,包括靶的平度、基质的量和类型、样本的浓度、样本靶的导电性、沉积点的设置精度、以及一些其他的可变因素。

[0010] 因为过程需要拾取菌落并且将其直接沉积在板上,拾取的样本不能被用于其他分析的样本源。因此,如果期望在样本上实施其他试验,样本的另一部分必须被获取以实施该试验。因为对多种试验来说需要多次菌落拾取,需要增长的处理时间和由于两次拾取样本之间的差异造成的不一致的结果的可能性。因此,仍然需要探索用于从菌落获得微生物的样本和将获得的样本提供用于多种试验的自动化的、有效的方法和系统。

### 实用新型内容

[0011] 为了解决至少一个以上提及的问题,本发明提供了一种可在培养皿上定位和选择微生物菌落,并用MALDI和至少一种其它试验在所述选择的菌落中鉴定微生物的自动化方法和系统。所述方法包括以下的自动化步骤:在培养皿上定位和选择微生物菌落;从所述选择的微生物菌落中获得样本;制备所述获得样本的悬浮液;将所获得的样本的一部分分配在靶板上并将所述靶板放置在执行MALDI的仪器内,以对所选择的微生物菌落的所述样本进行鉴定;并将所述悬浮液的另一部分使用或转移以进行另一种试验。在一个实施例中,第二种试验是抗生素敏感性试验(AST)。所述AST可以使用已有的自动化AST方法(BD Phoenix或Vitek)或可以为Kirby-Baur/纸片(disk)扩散、纸片稀释、肉汤(broth)和琼脂稀释或其他方法。

[0012] 在一个实施例中,所述悬浮液在比色皿中制备。所述比色皿中的所述悬浮液使用比浊计检查以确定是否样本的浊度的值落入确定为适合MALDI试验的预定数值范围内。如果不是,样本的量或悬浮液内的稀释液被调整以提供具有目标浊度值的悬浮液。一旦一等分的悬浮液被从比色皿移送以进行MALDI,悬浮液被比浊计再次检查并且悬浮液的浊度再次被确定。这一次悬浮液的浊度被评价以确定是否该浊度落入第二试验(例如AST试验)中适合使用该样本的浊度值范围内。如果不是,悬浮液内的稀释液被调整以提供具有合适浊度值的悬浮液。

[0013] 所有的步骤是自动进行的,其在很大程度上避免了上述提及的问题,因为自动化避免了不期望的变化和误差,这导致了从MALDI仪器的不正确的结果、额外的成本和时间的浪费。通过自动化每个步骤,这些问题至少在很大程度上得以克服。在本领域中已经形成一种成见,那就是这些步骤中至少有一部分只能以手动完成,然而与此相反,本发明首次提供了一种可能性,即在定位和选择微生物菌落,并用MALDI在所述选择的菌落中进行微生物鉴定时所有必要的步骤均可实现自动化。

[0014] 通过将悬浮液制备完全自动化,本发明提供了一种准确的和可重现的方法,其将悬浮液用于MALDI鉴定和AST或其他试验。所述方法进一步包括将一等分的MALDI基质溶液覆盖到靶板上的分配的样本悬浮液上的自动化步骤。在一些实施例中,在一等分的MALDI基质溶液覆盖之前,先使所述沉积在靶板上的分配的样本悬浮液干燥。另一个实施例可以包括萃取剂的点样,例如在基质试剂之前的蚁酸,以增强结果。

[0015] 该使用悬浮液的可替换的方法进一步地在以下情况下非常有用,即另一种试验或分析被实施在微生物菌落的样本上。在根据本发明的方法的一个实施例中上述其它分析能



以特别地可重现且高效的方式实现,其中所述方法进一步包括以下自动化步骤:获取第二等分的所述样本悬浮液;将所述第二等分的样本悬浮液沉积在AST试验的肉汤内;并且将接种的AST肉汤试管转移到实施敏感性试验或其他另外的分析的仪器。因此本发明的方法可用于自动获取或拾取样本并将其加入现有的ID/AST仪器中,包括但不限于BACTEC™、Phoenix、MGIT、VITEK和BacT/Alert。

[0016] 自动化方法的完全集成的实施例包括前述的步骤结合到单独的处理流程中。特别地,提供了用于承载微生物的培养皿的载物台。培养皿被放置在所述载物台上。提供了具有自动定位装置的自动拾取工具,其配备有拾取工具支架用于支撑拾取工具(例如移液管)。定位装置被安装以将所述拾取工具定位在所述培养皿上方的开始位置,并且分别地将拾取工具朝着所述培养皿自动降低或远离培养皿自动升高,和将拾取工具定位在转移位置。拾取工具被放置在定位装置的拾取工具支架上。拾取工具被定位在培养皿上方的开始位置,并且被自动地朝向所述培养皿降低进入接触所述微生物,以拾取微生物的样本。所述拾取工具被自动地升高,携带所述微生物的样本从所述培养皿中离开以到达所述转移位置。悬浮液介质自动分配器被提供用于自动地分配支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管内的悬浮液介质。自动分配器自动将初始量的悬浮液介质分配到悬浮液内。定位装置自动地将拾取工具从培养皿上方移动到悬浮液上方的位置。定位装置分别将拾取工具降低进入悬浮液试管内包含的悬浮液介质中或升高离开悬浮液试管内包含的悬浮液介质,并任选地将拾取工具定位在悬浮液试管上方的等待位置。在具有微生物样本的拾取工具已经浸入悬浮液介质中的情况下,定位装置使拾取工具以线性垂直移动振荡一段时间。在所述一段时间结束后将拾取工具远离悬浮液试管内包含的悬浮液介质升起至等待位置。提供浊度计(本文中也称为比浊计),以实施测量支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度。至少在拾取工具的振荡时间结束后,用该浊度计测量支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度,并提供指示所测量的浊度的最终测量值。

[0017] 提供控制器,其通讯连接定位装置、转移装置、悬浮液介质自动分配器和浊度计,以分别自动控制定位装置的移动、转移装置的移动、悬浮液介质自动分配器的运行和浊度计的运行。所述控制器控制和监视悬浮液并且操作以提供具有如前所述的规格(specification)内的浊度的悬浮液。

[0018] 本发明进一步涉及一种自动制备微生物样本的悬浮液的设备,用来执行前述的用于自动地在培养皿上选择微生物的菌落和制备微生物样本的悬浮液并且使用该悬浮液进行至少微生物鉴定和抗生素敏感性两种试验的方法。所述设备具有:

[0019] 用于承载微生物的培养皿的载物台;

[0020] 拾取工具和配备了支撑拾取工具的拾取工具支架的定位装置。所述定位装置的配置可将拾取工具定位在培养皿上方的开始位置,并可分别将拾取工具自动向培养皿下降和远离培养皿升高以及将拾取工具定位在转移位置上;

[0021] 悬浮液试管平台(station),用于支撑悬浮液试管;

[0022] 悬浮液介质自动分配器,用于自动地分配支撑在悬浮液试管平台中的悬浮液试管内的悬浮液介质;

[0023] 转移装置,用于自动地将拾取工具从定位装置的转移位置转移到高于支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管上方的位置,并使拾取工具下降至悬浮液试管内包含的悬浮液

介质中或者升高离开悬浮液试管内包含的悬浮液介质,以及将拾取工具定位在支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管上方的等待位置,所述转移装置进一步设置为可使拾取工具以线性垂直移动振荡一段时间;

[0024] 浊度计,以进行测量支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度并提供表示被测浊度的最终检测值;

[0025] 控制器,与定位装置、转移装置、悬浮液介质自动分配器和浊度计通讯连接,以分别自动控制定位装置的移动、转移装置的移动、悬浮液介质自动分配器的运行和浊度计的运行。

[0026] 所述控制器可:

[0027] a) 确定最终的浊度测量值是否高于预先保存在控制器内存中的第一阈值(最大值),如果是,所述控制器的配置可用于实施步骤b)(稀释);或最终的浊度测量值是否小于等于该第一阈值并大于等于预先保存在控制器内存中的第二阈值(最小值),所述第一阈值大于所述第二阈值,如果是,所述控制器的配置可用于实施步骤c)(可接受的浊度);或最终测量值是否小于该第二阈值,如果是,所述控制器的配置可用于实施步骤d)(浓缩);

[0028] b) 控制悬浮液介质分配器向悬浮液试管中供应额外量的悬浮液介质;

[0029] c) 提供信号,其为可将具有悬浮液的悬浮液试管从悬浮液试管支架中移出,以进行进一步的处理;或

[0030] d) 以所述的第一拾取工具的方式将所述另一拾取工具放置于定位装置的所述拾取工具支架中。

[0031] 在根据本发明的装置的另一个实施例中,所述控制器被配置为控制浊度计,以便在拾取工具浸入悬浮液试管内包含的悬浮液介质内之前开始通过浊度计测量支撑在悬浮液试管支架中的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度。

[0032] 在根据本发明的设备的有益的实施例中,在步骤d)所述第一拾取工具被提供为另一个拾取工具;并且所述控制器被配置为控制所述转移装置以定位在所述定位装置的所述拾取工具支架中的所述另一个拾取工具。

[0033] 优选地,所述控制器被配置为基于悬浮液介质的初始量、最终测量值和第一和/或第二阈值的数值来确定悬浮液介质的添加量。特别地所述控制器被配置为以前述方式控制悬浮液介质自动分配器。

[0034] 根据本发明的全自动装置在设备包括培养皿自动定位和移走装置以自动地分别将包括微生物的培养皿定位在载物台上和从载物台移走包括微生物的培养皿时,控制器被配置为与培养皿自动定位和移走装置通讯连接以控制培养皿自动定位和移走装置的操作,并且自动地将包括微生物的培养皿定位在载物台上,以及在设备包括悬浮液容器自动定位和移走装置以分别将悬浮液容器自动地定位到悬浮液容器平台或从悬浮液容器平台移走时,所述控制器被配置为与悬浮液试管自动定位和移走装置通讯连接,以控制悬浮液容器自动定位和移走装置的操作,并且自动地将悬浮液容器定位在悬浮液容器平台上。这种情况下,接着优选地所述控制器被配置为,仅在提供了具有悬浮液的悬浮液容器可以被从悬浮液试管容器支架上移走以进行进一步处理的信号后,允许培养皿由培养皿自动定位和移走装置从载物台上自动移走。另外,所述控制器接着优选地配置为,仅在其中具有制备好的悬浮液的悬浮液容器可以被从悬浮液容器平台上移走的信号之后,用悬浮液容器自动定位

和移动装置将悬浮液容器从悬浮液容器平台上自动移走。

[0035] 本发明也进一步涉及一种将包括微生物菌落的样本的悬浮液滴自动沉积到MALDI靶板的沉积点上的方法。在某些实施例中,所述系统和方法被配置为使用所述悬浮液作为另一试验(例如AST)的样本源。

[0036] 所述设备具有移液工具和具有用于支撑移液工具的移液工具支架的定位装置。定位装置被配置为将移液工具定位在盛有含微生物菌落样本的悬浮液的悬浮液试管上方的开始位置。移液工具分别地自动降低进入悬浮液和从悬浮液中升起并将移液工具定位在转移位置上。

[0037] 移液工具拾取一定量的悬浮液,将具有一定量悬浮液的移液工具升起至转移位置。移液工具具有可加压的腔室,由控制阀来关闭,以便容纳一定量的悬浮液介质。

[0038] 提供支撑靶板的靶板支架,所述靶板具有至少一个沉积点。

[0039] 所述设备将所述靶板定位在靶板支架内。

[0040] 所述设备包括转移装置,以将移液工具从定位装置的转移位置自动转移至在靶板上其中一个沉积点上方的位置,并使该移液工具(例如移液头)下降至靶板上方预定的距离,并使腔室加压(例如在大约0.5巴至1.1巴范围的压力,虽然这仅以示例的方式而非限定),然后使阀开启一段时间从而使一滴体积为大约0.5 $\mu$ l到3.0 $\mu$ l的悬浮液沉积在其中一个沉积点上。优选地所述移液工具的形状使得目标靶板上的悬浮液滴以不会飞溅的形式发生沉积。

[0041] 悬浮液试管接着被移动到第二位置。在第二位置,悬浮液的浊度被调节以用于第二试验(例如AST)。第二位置具有用于确定是否悬浮液的浊度适合第二试验的比浊计。移液工具接着被用于获取另外的悬浮液并使用该悬浮液给用于另一试验(例如AST)的容器接种。

[0042] 在一个实施例中,描述了用于制备单独的样本悬浮液的自动化系统,从悬浮液中移走的等分用于所述样本中微生物的鉴定(ID)和第二试验。在另一实施例中,所述自动化系统制备单独的样本悬浮液,从悬浮液中移走的等分用于所述样本中微生物的鉴定(ID)和微生物的抗生素敏感性试验(AST)。所述系统包括至少第一部分用于实施ID分析。第一部分具有这样的机械装置,其通过自动传送工具或手动接收培养板。所述系统包括成像设备或与成像设备连接,成像设备光学探测所述培养板并且,感兴趣的菌落从图像中被辨别。在替换实施例中,图像获取和菌落选择在培养板被系统接收之前进行。所述系统包括这样的机械装置,其识别感兴趣的菌落在板上的定位,并且标明感兴趣的菌落以拾取它进行试验。第一部分包括自动化的机器拾取工具。所述系统还包括控制器,其与机器拾取工具通讯连接,指示所述机器拾取工具获取移液管,并且接着将移液管运送到感兴趣菌落上方的位置。板的盖子已经被移走以便于菌落的拾取。机器拾取工具接着将移液管降低,使得尖端接触感兴趣的菌落。

[0043] 在菌落已经被拾取之后,控制器命令机器拾取工具将拾取的样品运送到第一样本悬浮液制备平台。可任选地,所述系统在菌落被拾取之后捕捉板的新图像以校验拾取来自正确的位置。第一样本悬浮液平台具有悬浮液分配器,其将样本悬浮液液体分配进入悬浮液试管或比色皿或其他适合的容器内。第一样本悬浮液平台具有比浊计或其他适合的设备用来测量悬浮液试管或比色皿内的液体的浊度。机器拾取工具将从培养板运载过来的样本

释放到悬浮液液体内。在一些实施例中，机器拾取工具振荡拾取工具以便于样本释放到悬浮液内。比浊计测量悬浮液的浊度，其中响应于在预定浊度值之外的浊度测量值，所述自动化系统调节所述悬浮液使得它对于ID分析来说具有可接受的比重（即浊度）。

[0044] 所述第一部分进一步包括第一机器移液器。第一机器移液器在第一平台获得第一等分的悬浮液并且接种用于ID分析的容器。所述容器（例如MALDI板）接着被从所述系统移走并传送到实施MALDI的设备。容器可以被机械传送或手动传送。悬浮液试管或比色皿接着被传送到第一部分的一个位置，在该位置剩余部分的悬浮液被制备用于第二分析（例如AST分析）。传送通过采用传送带的自动化方式进行。

[0045] 第一部分在第二样本悬浮液平台具有第二比浊计，用来检测悬浮液的浊度。第一机器移液器进一步配置为将悬浮液试管或比色皿内的样本浓度调节到用于第二分析的预定浓度，并且获得具有调节好的浓度的第二等分的样本悬浮液，并用第二等分悬浮液接种样本管用于AST分析。这样的样本管通常称为AST肉汤试管。

[0046] 所述系统任选地具有第二部分用于制备用于AST分析的板。自动化系统具有自动化机械装置，其用于将接种的样本试管从第一部分传送到第二部分。在一个实施例中，接种的样本试管被降低穿过第二样本悬浮液平台的面板，并且在面板下传送，从第二部分的面板下浮现出来。第二部分具有第二机器移液器，其从接种的样本内获取一等分，并且用获取的等分接种AST板。第二部分还具有工具，通过该工具储存、分配、操作和将帽99（见图26）按进接种板的帽孔内。第二部分还具有自动装置，该自动装置将接种的板放入实施AST的设备中，所述AST设备被配置为具有至少两个门，第一门从板放置自动装置接收板。第二门用于通过使用者手动地放置接种板。所述AST设备不需要被设置在所述系统的第二部分，并且可以与其邻接。第二部分还具有控制器，其与AST 仪器通讯连接以请求、安排访问和打开AST仪器的第一门。

[0047] 一个实施例描述了一种用于制备单样本悬浮液的自动化系统，从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定，即ID和微生物的抗生素敏感性试验，即AST，所述系统包括：

[0048] 用于制备用于ID分析的样本的第一部分，所述第一部分包括：

[0049] 接收培养板的工具；

[0050] 所述系统与获取所述培养板的图像的成像工具和识别培养板上的菌落的工具通讯连接并且从所述图像信息中指定用于自动化样本拾取的菌落；

[0051] 第一机器人，用于自动化地操作拾取工具；

[0052] 向所述第一机器人通知所述菌落的位置的工具；

[0053] 通过所述第一机器人控制菌落拾取的工具，其中所述第一机器人被进一步配置为将拾取的样本传送到第一样本悬浮液制备平台；

[0054] 在所述第一样本悬浮液制备平台处将悬浮液液体提供进入悬浮液试管的工具，其中所述拾取工具被配置为将拾取的样本沉积在所述悬浮液液体内；

[0055] 在所述第一样本悬浮液制备平台处用于检测所述悬浮液的浊度的比浊计，其中响应于在预定浊度值之外的浊度检测值，所述自动化系统调整所述悬浮液试管中样本的量或悬浮液的量中的一个以提供具有预定范围内的样本浓度的悬浮液；

[0056] 第二机器人，其中所述第二机器人为移液器，其在所述第一样本悬浮液制备平台

获取第一等分悬浮液并且在用于所述ID分析的容器内接种；

[0057] 将带有剩余部分悬浮液的悬浮液试管从所述第一样本悬浮液制备平台传送到第二样本悬浮液制备平台的工具；

[0058] 在所述第二样本悬浮液制备平台处的第二比浊计,用于检测所述悬浮液的浊度；

[0059] 其中所述第二机器人被进一步配置为将悬浮液试管内的样本浓度调整到用于第二分析的预定浓度,并且获取具有调整好的浓度的样本悬浮液的第二等分,并且用所述第二等分悬浮液接种用于AST分析的样本试管；和

[0060] 用于接种用于所述AST分析的盒的第二部分；其中所述自动化系统具有将接种的样本试管从所述第一部分传送到所述第二部分的工具；第二部分具有第三机器人,其为移液器,从接种的样本试管获取一等分,并且用获取的等分接种所述AST盒；和

[0061] 盒转移仪器,其将接种的盒装载到实施AST的设备中。

[0062] 另一个实施例描述了一种用于制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和微生物的抗生素敏感性试验,即AST,所述系统包括:

[0063] 第一平台,在其中制备所述悬浮液被,所述第一平台包括控制器,其控制样本悬浮液的制备,从所述样本悬浮液中获取用于ID和AST的等分；

[0064] 第一机器人,其被配置为与控制器通讯自动获取、承载和抛弃拾取工具,其中所述拾取工具为移液管尖端,并且所述第一机器人被所述控制器控制以获取所述移液管尖端；使用所述移液管尖端以从被第一平台接收的培养皿中收集样本,所述控制器导引所述第一机器人承载所述拾取工具到达所述培养皿上的位置,在那里指定待拾取的菌落被定位,所述第一机器人将移液管尖端接触所述指定菌落并且承载拾取的样本以拾取到悬浮液试管中,悬浮液试管中布置了悬浮稀释液,其中所述第一机器人将承载了所述样本的所述移液管尖端接触所述悬浮液,将所述样本释放进入所述悬浮液试管；

[0065] 悬浮稀释液分配器,其与所述控制器通讯以将悬浮稀释液分配到悬浮液试管内；

[0066] 比浊计,其与所述控制器通讯,其中所述比浊计检测悬浮液的浊度,并且所述控制器响应于比浊检测值,其中如果所述比浊检测值在预定数值或数值范围之外,所述控制器将调整悬浮液中的样本浓度,通过使悬浮稀释液分配器加入更多稀释液以此降低样本浊度,使拾取工具拾取和沉积更多样本进入悬浮液以此增加样本浊度中的一种方式,或两者均可,以此调整所述悬浮液内所述样本的浓度；

[0067] 第一平台进一步包括第一机器移液器,其中当所述控制器基于接收到的浊度检测值,确定悬浮液浊度是处于预定浊度值内时,所述控制器命令所述第一机器移液器获取样本悬浮液的第一等分用于ID分析,并且用所获取的等分接种用于ID分析的容器；

[0068] 第一转移装置,其与控制器通讯,其中在所述第一等分已经从所述悬浮液试管中移走之后,所述控制器命令所述转移装置将所述悬浮液试管从所述第一平台内的所述第一位置转移到所述第二位置；

[0069] 在第二位置中的比浊计,所述比浊计与所述控制器通讯,其中所述控制器响应于在第二平台处接收的测得的悬浮液浊度,控制第一机器移液器调整悬浮液内样本的浊度到用于AST试验的预定浊度,所述控制器进一步控制所述第一机器移液器获取具有调整过的浊度的一等分悬浮液并且接种用于AST试验的分析试管；

[0070] 第二转移装置,其与所述控制器通讯,其中所述控制器命令所述转移装置将接种的AST分析试管转移到所述第二平台;所述控制器与在所述第二平台的第二移液器通讯,其中所述控制器命令所述第二移液器从接种的分析试管内获取一等分并且分配所述等分到用于AST试验的盒,所述第二平台进一步包括转移机器人用于将接种的AST盒从所述第二平台转移。

[0071] 另一个实施例描述了一种用于制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和微生物的抗生素敏感性试验,即AST,所述系统包括:

[0072] 用于制备用于ID分析的样本的第一部分,所述第一部分包括:

[0073] 样本拾取平台、样本悬浮液制备平台、用制备好的用于ID分析的悬浮液的第一等分接种样本板的第一接种平台,和用制备好的悬浮液的第二等分接种样本试管的第二接种平台,所述样本拾取平台包括机器拾取工具,用于接收培养板介质的载物台,与获取培养板介质的图像的设备通讯的控制器,从所述图像中能够辨别培养板介质上的感兴趣的菌落的位置,所述机器拾取工具被配置为,响应于所述控制器的指令,获取移液管尖端,降低移液管尖端直至它接触感兴趣的菌落,升高承载所述感兴趣的菌落的移液管尖端并将所述承载菌落的移液管尖端移动到所述悬浮液制备平台;

[0074] 所述样本悬浮液制备平台包括接收悬浮液比色皿的位置,被配置为将悬浮稀释液分配到悬浮液比色皿内的稀释液分配器,和用于在所述机器拾取工具已经将拾取的样本释放到稀释液内之后检测悬浮液中样本的浓度的比浊计;

[0075] 第一机器移液器,其被配置为从制备好的悬浮液内获取第一等分并且将所述第一等分分配到用于ID分析的容器中,所述第一机器移液器被进一步配置为将制备好的悬浮液稀释到用于AST试验的预定范围的浊度值之一;

[0076] 其中所述第一机器移液器被进一步配置为获取第二等分制备好和稀释的悬浮液并且用所述制备好和稀释的悬浮液等分接种用于AST试验的样本试管;和

[0077] 转移机构,其用于将接种好的AST样本试管转移到第二部分,所述第二部分包括:

[0078] 第二机器移液器,其从接种好的AST样本试管获取一等分并且将所述等分分配到AST盒中;和

[0079] 机器人机构,其抓取所述盒并将所述盒放置在用于AST试验的设备中。

[0080] 另一个实施例描述了一种制备单样本悬浮液的自动化系统,从该单样本悬浮液中移取等分用于所述样本中微生物的鉴定,即ID和第二试验,所述系统包括:

[0081] 用于制备用于ID分析的样本的至少第一部分,所述第一部分包括:

[0082] 接收培养板的工具;

[0083] 所述自动化系统与提供所述培养板的图像信息的成像工具通讯,所述图像信息用于识别培养板上的菌落并且指定用于自动化样本拾取的菌落;

[0084] 机器拾取工具;

[0085] 向所述机器拾取工具通知所述菌落的位置的工具;

[0086] 通过所述机器拾取工具控制菌落拾取的工具,其中所述机器拾取工具被进一步配置为将拾取的样本传送到第一样本悬浮液制备平台;

[0087] 在所述第一样本悬浮液制备平台处将悬浮液液体提供进入悬浮液试管的工具,其

中所述机器拾取工具被配置为将拾取的样本沉积在所述悬浮液液体内；

[0088] 在所述第一样本悬浮液制备平台处用于检测所述悬浮液的浊度的比浊计，其中响应于在预定浊度值之外的浊度检测值，所述自动化系统调整悬浮液试管中样本的量或悬浮液的量中的一个以提供具有预定范围内的样本浓度的悬浮液；

[0089] 第一机器移液器，其中所述第一机器移液器在所述第一样本悬浮液制备平台处获取第一等分悬浮液并且在用于所述ID分析的容器内接种；

[0090] 将带有剩余部分悬浮液的悬浮液试管从第一样本悬浮液制备平台传送到第二样本悬浮液制备平台的工具；

[0091] 在所述第二样本悬浮液制备平台处的第二比浊计，用于检测所述悬浮液的浊度；

[0092] 其中所述第一机器移液器被进一步配置为将悬浮液试管内的样本浓度调整到用于第二分析的预定浓度。

## 附图说明

[0093] 本发明将参考以下附图进一步进行解释。

[0094] 图1是包括系统壳体的根据本公开的实施例的系统的俯视图。

[0095] 图2是根据本公开的实施例的图1的系统壳体内的部件布局的示意图。

[0096] 图3是根据本公开的实施例的图1的系统的结构框图，包括适合于执行本文所述的方法的示例性部件。

[0097] 图4A是低容量单比色皿比浊计的实施例的透视图。

[0098] 图4B是沿着穿过其延伸的水平面获取的图4的低容量单比色皿比浊计的截面顶视图。

[0099] 图5A是根据本公开的实施例的单比色皿的透视图，其用于与图4A的低容量单比色皿比浊计一起使用。

[0100] 图5B是根据本公开的另一实施例的单比色皿的透视图，其用于与图4A的单比色皿比浊计一起使用。

[0101] 图6显示了使用图4A的比浊计制备样本的一个过程实施例的处理流程图。

[0102] 图7A是根据本公开的实施例的连续比色皿比浊计的透视图。

[0103] 图7B是沿着穿过其延伸的水平面获取的图7A的连续比色皿比浊计的截面顶视图。

[0104] 图8是根据本公开的实施例的线性低容量多比色皿阵列/条的透视图，其用于与图7A所示的连续比色皿比浊计一起使用。

[0105] 图9是堆叠的比色皿的局部透明、透视图。

[0106] 图10是根据本公开的另一实施例的比浊计的透视图。

[0107] 图11是图10的比浊计的剖视图，显示了其透射光检测器路径。

[0108] 图12是图10的比浊计的进一步的剖视图，显示了图10的透射光检测器路径，同时也显示了光源和透射光检测器。

[0109] 图13是图10的比浊计的另一剖视图，显示了其散射光检测器路径。

[0110] 图14是样本制备决策图表，其中样本制备是基于测得的样本浊度。

[0111] 图15显示了移液管从靶板移走粘液状样本，其中开始形成一条线状物。

[0112] 图16显示了图15的靶板，其中移液管被从板的琼脂表面进一步拉走以进一步延伸

所述线状物。

[0113] 图17A是时间图,显示了当移液管拾取样本而未形成线状物时,随时间的电容变化。

[0114] 图17B是时间图,显示了当移液管拾取样本且形成了线状物时,随时间的电容变化。

[0115] 图18是显示了根据本发明的一个实施例的自动化过程的流程图。

[0116] 图19是将图18的自动化过程的时间轴和可供比较的手动实施过程的时间轴比较的流程图。

[0117] 图20是与盒转移仪器和多个检测仪器连用的图1的系统的示意性侧视图。

[0118] 图21是自动制备、转移和检测样本的示例性系统的图,包括所述图20的系统、盒转移仪器和检测仪器,并且还包包括示例性微生物试验盒和图3的控制器30。

[0119] 图22是根据本公开的实施例的盒转移仪器的盒夹具的后透视图,此时其接近盒支撑结构中的盒。

[0120] 图23是图21的盒夹具的侧面透视图,其详细描述了夹具板和自动化盒转移仪器的臂之间的可转动耦合。

[0121] 图24是图21的盒夹具的前透视图。

[0122] 图25显示了图21的示例性微生物试验盒。

[0123] 图26显示了用于临时存储盒的托盘。

[0124] 图27A是包括手动门的图20的试验仪器之一的前透视图。

[0125] 图27B-27D是图27A的试验仪器的多个后视图,其包括该仪器的自动门。

[0126] 图28A是可以被图3的控制器自动控制的示例性试验仪器部件的图。

[0127] 图28B是可以被图3的控制器自动控制的示例性转移仪器部件的图。

[0128] 图28C是进一步显示了图3的控制器的示例性结构的图。

[0129] 图29是根据本公开的另一实施例的拾取平台的示意图。

[0130] 图30是根据本公开的另一实施例的图1的系统壳体内部的部件布局的示意图。

## 具体实施方式

[0131] 如本文所用的,“比色皿”和/或“微比色皿”和/或“低容量比色皿”和/或“LVC”和/或“样本容器”或“容器”是适合于接收液体悬浮液的容器。该容器优选由光学透明的塑料或玻璃制成,其被设计为以用于试验或处理的特定空间和取向来盛放试验样本。

[0132] 如本文所用的,“算法”是一种或多种数学指令,其被用于处理数据的值,以基于数学值做出决策,并且接着产生代表期望输出的校正的或更准确的数据值。

[0133] 如本文所用的,“放大器”是用于取得较小的原始电子信号并提高其振幅以产生代表原始信号的成比例增大的新信号的电子线路。适合的放大器对于本领域技术人员来说是公知的,并且在本文中不再详细描述。

[0134] 如本文所用的,“模数转换器”或“A/D转换器”是能够取得变化的电信号并且将它转换为代表原始信号振幅的数值的电子装置。

[0135] 如本文所用的,“稀释”的意思是通过将稀释液加入浓缩溶液或悬浮液中产生的溶液或悬浮液,得到新的悬浮液或溶液,相比原始溶液或悬浮液,溶液或悬浮液中具有较低的



样本均匀浓度。

[0136] 如本文所用的，“激光器”或“激光二极管”是当施加电流时产生聚集的或聚焦的光束的电子装置。

[0137] 如本文所用的，“光衰减滤波器”是放在光路内的装置，当光穿过所述滤波器时吸收和减弱光的量，使得穿过滤波器的光相比原始光源具有成比例较低强度。

[0138] 如本文所用的，“发光二极管”或“LED”是当电流施加时发射特定类型和取向的光的电子装置。

[0139] 如本文所用的，“麦克法兰 (McFarland)”是在流体或液体悬浮液内分配的固体颗粒的量的度量单位。

[0140] 如本文所用的，“比浊计”是能够检测悬浮液内的固体颗粒的量的仪器。如本文所用的，“比浊测定法”指的是可以检测悬浮液内的悬浮固体的量的方法。

[0141] 如本文所用的，“光电二极管”和/或“检测器”是用于检测在给定环境中光强度的电子装置。

[0142] 如本文所用的，“饱和的”和/或“饱和状态”是检测器已经到达它能够产生的输出信号的最大量的点。例如，加入更多的光达到光电检测器的过饱和，这不能使检测器输出信号产生任何更多的变化，输出信号已经到达它的最大运行能力。

[0143] 如本文所用的，“悬浮液”是固体均匀地分布在液体中的溶液。

[0144] 如本文所用的，“浊度”是溶液中的悬浮固体的量的检测值（即液体样本的混浊度）。

[0145] 本文描述的是从微生物的菌落制备单独的悬浮液的方法和系统，微生物的菌落为确定选定的微生物菌落的ID和抗生素敏感性的样本源。因为用于表征和鉴定微生物的样本通常是从带有在培养物上生长的多种菌落的培养皿上获得的，样本从感兴趣的菌落获得是重要的。如果样本是从不感兴趣的菌落获得的，时间和MALDI仪器的有效应用会被折中。本发明考虑了一种自动化过程，其用于在培养皿上存在的多种菌落中鉴定和选择感兴趣的菌落。该辨别菌落的过程可以至少部分自动化地进行，通过提供包括多种微生物菌落的培养皿，获取包括所有的微生物菌落的培养皿的初始图像，在显示器上显示包括所有的微生物菌落的培养皿的初始图像，并且从初始图像中选择至少一个微生物菌落。

[0146] 以这种方式，研究者或化验员可以基于教育和知识选择感兴趣的菌落。在特定实施例中，培养皿被提供了单独的标识以识别所述培养皿，例如条形码，并且所述方法进一步包括将包括所有菌落的培养皿的初始图像存储的步骤，存储与所述至少一个选择的微生物菌落相关的信息，在中央控制计算机的存储器内存储培养皿的标识。在另一个实施例中，研究者或化验员可以手动地输入与处理相关的处理指令，其中培养皿的选择的微生物菌落被处理，所述处理指令被存储在中央控制计算机的存储器内以备后续使用。

[0147] 在一个实施例中，板上的菌落根据如2015年4月23日提交的临时专利申请号62/151,681，题目为“Colony Contrast Gathering”所述的方法，也如 PCT/US2016/028913和 PCT/EP2015/052017，题目为“A System and Method for Image Acquisition Using Supervised High Quality Imaging”所述的方法进行成像，以上申请通过引用并入本文。不同菌落相对于培养介质的对比提供了辨别菌落的能力，这便于自动化的菌落拾取。如别处指出的，培养板的图像可以在其被本文描述的系统接收之前从单独的设备上获得，或本

文的系统可以与模块集成,在模块中获取该图像。

[0148] 在培养皿的初始图像被获取之后,培养皿被孵育一段时间以允许板上的微生物(如果存在的话)生长。在本发明的另一实施例中所述方法包括如下自动化步骤,将培养皿定位在用于培养皿的载物台上,获取定位在载物台上的培养皿的图像,获取培养皿的标识,将通过拾取工具装置的成像装置获取的图像和存储的培养皿的初始图像进行比较,以获得与选择的微生物菌落的位置相关的信息,并且任选地获取与要在选择的微生物菌落上执行的处理相关的处理指令。通过比较培养皿的图像,当它被放置在配备有初始图像的拾取工具装置内时,选择的菌落的位置可以被自动地获取,例如通过计算机化的图像比较。

[0149] 在另一实施例中,琼脂表面或培养皿上的对准标记可以被用于重新定位菌落。这些对准标记可以在制造过程中嵌入板上,或通过使用者或有机生长施加或以任何合适的方式并入在培养皿或琼脂表面上。使用机器视觉设备,另一参考点例如培养皿的中心被检测,从该中心可以确定培养皿坐标。条形码是对准的一个示例。菌落在培养皿上的位置可以参考它们与中心的相对距离和与条形码零偏移的角偏移来确定。一旦菌落的相对位置被确定,培养皿可以被移动到另一系统,在那里执行接下来的两个步骤。培养皿被例如通过机械方式确定中心。条形码零偏移被检测,例如通过旋转培养皿同时具有固定的传感器以检测条形码标签的存在并且用条形码扫描仪扫描条形码。在这一点上,培养皿的中心是已知的,并且条形码零偏移是已知的,因此先前提及的菌落的位置能够被容易地计算得出,因为它们被存储作为与培养皿中心的距离和与条形码标签的角偏移。所述方法如在这里描述的,其在第二系统(在该示例中的菌落拾取系统)、或任何其他需要菌落位置信息的系统中不需要照相机或计算机视觉系统。该示例中使用的零偏移是对条形码标签的,但是它可以为培养皿的或对培养皿施加的任何唯一的对准特征,如上所指出的。

[0150] 一种从培养介质表面拾取微生物的自动化方法和设备被记载于美国专利公开号2014/0242570(美国序列号14/347,841),题目为“Method For Picking UP Cell Material And Assembly For Performing Said Method”,发明人为Botma等,其为共同拥有的且其内容通过引用并入本文。

[0151] 如Botma等所述的,在有益的实施例中所述方法进一步包括将拾取工具从接触位置向着检验位置移开预定距离,并且将所述拾取工具保持在所述检验位置,以及在所述检验位置下测量由所述拾取工具和所述支撑体组成的系统的电容的步骤。在一些情况下,待拾取的样本材料是非常粘或黏滑的。当接触这样的样本材料之后的拾取工具被从样本移开时,细线状物可在所述拾取工具和培养皿中的残留样本材料之间保持接触。这种细线状物可以破坏并且可能污染所述拾取工具装置。通过测量检验位置(例如可以在培养皿的上方数毫米)的拾取工具和拾取工具支撑体的电容,可检测这种线状物的存在,使得可以采取适当的措施。在那些拾取工具支架被设置用于可移除地保持拾取工具的方法的实施例中,当该拾取工具支架适合于夹持和释放拾取工具时,能够执行对检测到残留线状物的自动化响应。例如,在所述检验位置下所测得的电容不同于在初始位置下初始电容的情况下从所述拾取工具支架释放所述拾取工具,使得所述拾取工具落入到所述培养皿中,之后所述培养皿可以被丢弃。这些步骤可以容易地以自动方式执行,使得没有必要对丢弃拾取工具和培养皿进行耗时的人为干涉。

[0152] 在一个实施例中,使用了移液管尖端从其上布置有菌落的培养介质(例如琼脂)表

面拾取菌落。在一个实施例中所述移液管可以通过抽吸将菌落吸到尖端内。在其他实施例中，抽吸不被用于将菌落吸入移液管尖端内，并且仅菌落和移液管尖端之间的接触力迫使菌落进入移液管尖端内。

[0153] 在进一步的实施例中，根据本发明的方法包括自动制备微生物样本的悬浮液的步骤。在该方法中执行以下步骤。

[0154] 第一拾取工具被连同配备有用于支撑拾取工具（例如前述的移液管尖端拾取工具）的拾取工具支架的定位装置提供。定位装置被配置为可将拾取工具定位在培养皿上的选择的微生物菌落的获得位置上方的开始位置。所述定位装置自动地分别朝向所述培养皿降低所述拾取工具以及远离所述培养皿升高所述拾取工具，并将拾取工具定位在转移位置上。

[0155] 第一拾取工具被定位在定位装置的拾取工具支架内。拾取工具接着被定位在培养皿上的选择的微生物菌落的获得位置上方的开始位置。拾取工具接着自动地降低以接触微生物菌落来拾取微生物样本。拾取工具接着自动地带着收集到的微生物样本升高离开培养皿到达转移位置。

[0156] 提供了支撑至少一个悬浮液试管的悬浮液试管支架。所述悬浮液试管被放置在悬浮液试管支架内。虽然本文中称之为悬浮液试管，悬浮液的容器可以为试管、小瓶、比色皿或其它用于盛放悬浮液溶液的容器。

[0157] 悬浮液介质自动分配器被提供用于自动分配悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管内的悬浮液介质。所述自动分配器自动地将初始量的悬浮液介质供应到悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管内。转移装置，其可以和定位装置分开或者作为定位装置的一部分，也被提供以自动地将拾取工具（已经收集了样本）转移到被悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管上方的位置。所述转移装置降低或升高所述拾取工具（以及由拾取工具携带的样本）以将其进入悬浮液试管内包含的悬浮液介质或使其从悬浮液试管内包含的悬浮液介质中离开。所述转移装置也分别将所述拾取工具定位在悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管上方的等待位置。

[0158] 所述转移装置以线性垂直移动振荡第一拾取工具一段时间，同时带有微生物样本的所述第一拾取工具被浸入所述悬浮液介质内，使得将样本释放入悬浮液介质内并且混合悬浮液。在所述时间段之后，所述第一拾取工具被升高以离开悬浮液试管内包含的悬浮液介质，并到达等待位置。可替换地，代替振荡以释放微生物样本，当其部分浸入悬浮液介质内时采用移液头拾取工具的重复抽吸可以完成微生物的释放和悬浮液的混合。

[0159] 在自动化方法中，提供了浊度计，其检测悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度。在一个实施例中，浊度计是如2014年9月29日提交的美国临时申请号62/056,911和PCT/IB2015/00272（公开为W02016/051267）中所述的，它们被共同转让，且通过参考其全部内容并入本文。

[0160] 在拾取工具振荡的时间段之后，悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度被浊度计检测，并且提供了表示测得的浊度的最终检测值。

[0161] 在另外的实施例中，提供了与定位装置、转移装置、悬浮液介质自动分配器和浊度计通讯连接的控制器。该控制器分别地自动控制定位装置的移动、转移装置的移动、悬浮液介质自动分配器的运行和浊度计的运行。

[0162] 参考图6，在一个实施例中，控制器确定最终的浊度测量值是否高于预先保存在控

制器内存中的第一阈值(最大值)。如果是,实施步骤b)(以下描述的稀释)。如果最终的浊度测量值小于等于该第一阈值并大于等于预先保存在控制器内存中的第二阈值(最小值),其中所述第一阈值等于或大于所述第二阈值,实施步骤c)(以下描述的可接受的浊度)。如果最终测量值小于该第二阈值,实施步骤d)(以下描述的提高浊度)。

[0163] 在步骤b),悬浮液介质自动分配器被自动控制以在悬浮液试管中供应额外量的悬浮液介质。在步骤c),提供信号,其为可将具有悬浮液的悬浮液试管从悬浮液试管支架中移走,以进行进一步的处理。

[0164] 根据步骤d),获得另一个拾取工具,并将它如上所述地放置于定位装置的所述拾取工具支架中。定位装置将另一个拾取工具定位在培养皿上方的开始位置,朝向所述培养皿自动地降低所述另一个拾取工具来接触微生物,以拾取另外的微生物样本,自动地升高带有微生物样本的另一个拾取工具以离开培养皿并到达转移位置,所有这些均与第一拾取所述的相同。虽然本文所述的拾取工具是移液管,但是其他适合的拾取工具如2015年4月8日提交的题目为“Device And Apparatus For Collecting Microbial Growth From A Semi-Solid Surface”的美国临时申请号62/144,574,和2016年4月8日提交的PCT/US2016/026625中所述,其通过引用并入本文。

[0165] 所述转移装置自动地将带有另外的微生物样本的另一个拾取工具从定位装置的转移位置转移到悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管上方的位置,并且将带有另外的微生物样本的另一个拾取工具降低进入悬浮液试管中包含的悬浮液介质内,并且以线性垂直移动振荡所述另一个拾取工具一段时间,同时带有另外的微生物样本的另一个拾取工具被浸入悬浮液介质内。在所述时间段之后,所述拾取工具升高离开悬浮液试管内包含的悬浮液介质并到达等待位置。在另一个拾取工具振荡的时间段之后,悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度被浊度计检测,并且提供了表示测得的浊度的另外的最终检测值。

[0166] 在样本被获得后,在另一实施例中,移液系统能够执行移液管尖端在悬浮液内的一系列快速抽吸和分配。例如,移液系统能够在20秒内重复系列抽吸多达大约20次并分配300 $\mu$ L样本的大约250 $\mu$ L。重复的动作在移液管的尖端产生了高的剪切力。高剪切力使得包含微生物样本的凝块或粘液状物分散以产生更均匀的悬浮液。

[0167] 以这种方式能够以改进的自动化方式制备微生物样本的悬浮液,同时通过控制器和浊度计能够提供包含悬浮液介质的悬浮液试管,悬浮液介质包含一定量的微生物,其总是足够(并且可再现地)执行微生物的正确的分析。

[0168] 在根据本发明的自动化制备微生物样本的悬浮液的方法的另一个实施例中,所述控制器被配置为使得通过浊度计检测悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管中包含的悬浮液介质的浊度的步骤在拾取工具振荡的时间段内另外执行,其中所述浊度计被配置为向控制器提供在拾取工具振荡的时间段内表示测得的浊度的在线检测值。以这种方式,能够获得悬浮液内微生物量的极快自动检测。特别地,如果在震荡期间,浊度的在线检测值等于或小于第一阈值并且等于或大于第二阈值,控制器控制转移装置的移动,使得拾取工具升高到等待位置,并且控制器进一步提供带有悬浮液的悬浮液试管可以从悬浮液支架移走以备进一步处理的信号。以这种方式,当悬浮液介质包含足够量的微生物时,拾取工具的振荡被停止,使得所述方法可以在非常具有时间效率的方式下执行。

[0169] 所述拾取工具和浊度计的传感器相互之间这样排列,使得在拾取工具的振荡期间,拾取工具不会阻碍浊度计的路径。

[0170] 在根据本文一个实施例的自动制备微生物样本的悬浮液的方法的进一步的实施例中,所述控制器配置为这样控制浊度计,使得通过浊度计检测悬浮液试管支架支撑的悬浮液试管中包含的悬浮液介质的浊度的步骤在拾取工具浸入悬浮液试管内包含的悬浮液介质之前开始。以这样的方式,例如能够检查使用的初始悬浮液介质是否被污染。另外,这提供了浊度的初始值的指示,其对于确定最终检测值是有用的。

[0171] 在自动制备微生物样本的悬浮液的方法的另一实施例中,所述方法进一步包括提供用于支撑悬浮液试管的悬浮液试管支架的步骤。所述悬浮液试管支架可以被适用于旋转在可旋转的悬浮液试管支架内支撑的悬浮液试管。在其它实施例中所述控制器被配置为使得它与可旋转的悬浮液试管支架通讯连接以控制悬浮液试管支架的旋转。所述控制器进一步被配置为使得悬浮液试管在悬浮液试管内包含的悬浮液介质的浊度的测量期间旋转。该悬浮液试管的旋转允许彼此旋转隔开的旋转试管内的多个位置处的浊度测量值,这得到悬浮液浊度的更准确的最终检测值。对于样品从拾取工具释放来说这样的旋转不是必要的。如上所述的拾取工具的振荡对于释放样本来说是绰绰有余的。

[0172] 虽然可使用与第一拾取工具不同的另一个拾取工具,但是所述方法可以以经济的方式执行:当在步骤d) 第一拾取工具被提供用作另一个拾取工具;并且在定位装置的拾取工具支架上的另一个拾取工具的定位通过转移装置在控制器的控制下实施时。

[0173] 在根据本发明的自动化制备微生物样本的悬浮液的方法的另一个实施例中,悬浮液介质的另外的量被控制器基于悬浮液介质的初始量、最终检测值和第一和/或第二阈值而确定。这使得对使用的悬浮液介质的量的仔细的控制是可能的。照此,节约了悬浮液介质。

[0174] 因为,在一些实施例中,拾取工具以相对于悬浮液试管的垂直线性移动振荡,悬浮液试管的水平截面可以相对较小。这使得使用更少的悬浮液体积变得可能。在一个实施例中控制器使得大约0.1ml到5ml悬浮液液体的初始量被分配,并且优选地小于大约1ml(在一个示例中为大约300 $\mu$ L)。在其他实施例中悬浮液液体的体积为大约0.5ml到大约2ml。在一个实施例中,被分配的体积为 300 $\mu$ L。这样的相对小的悬浮液介质的量对于制备正确的微生物样本的悬浮液是足够的。

[0175] 在该自动制备微生物样本的悬浮液的方法中,能够使用具有大约2到 12mm最大截面直径(优选为大约3mm)的试管、小瓶或比色皿作为悬浮液容器,与传统的具有大约16mm直径的悬浮液试管相比其为相对小的。所述试管可以具有正方形、长方形或圆形截面,并且实际的比色皿形状很大程度上是设计选择的问题。在一个实施例中所述试管是圆形的,具有大约6到大约12mm 的直径。在一个有益的实施例中直径为大约10mm。由于这样的相对小的悬浮液试管,获取从拾取工具的样品的正确释放:当控制器被配置为控制转移装置的振荡,使得拾取工具振荡频率为介于大约5Hz到大约250Hz时。在该范围内的频率的选择很大程度上是设计选择的问题,并且将取决于待制备的悬浮液的成分。对于由容易相互分散的样本和溶液制成的悬浮液,5-12HZ的频率是足够的。对于不容易形成悬浮液的成分,需要大约100HZ或更高的频率。优选地,控制器被配置为控制转移装置的振荡,使得拾取工具以大约0.5mm到大约4mm 的振幅振荡,优选地为大约2mm到大约3mm,最优选为大约1mm,其得到从拾

取工具的最理想的样本释放。在其中控制器被配置为控制所述转移装置的振荡使得在拾取工具振荡的时间段为大约3秒到大约120秒(优选为大约30-60秒)的实施例中,实际上所有情况中全部样本可以从拾取工具释放。如果振荡仅需要大约3到10秒(6秒为大约平均最小振荡时间),这对于效率和产量来说是有益的。

[0176] 频率、振幅和持续时间的数值取决于特定微生物的特性和例如它在拾取工具上的附着力。在一个实施例中,成像检查可以用来推断是否样本的至少大部分已经通过首先使用上面提及的优选数值中被从拾取工具释放。如果仍然有一些材料残留在拾取工具上,将以不同数值在给定范围内重复垂直振荡过程。

[0177] 制备微生物样本的悬浮液的自动化方法另外包括了提供培养皿自动定位和移走装置以自动地从载物台定位和移动培养皿。控制器与培养皿自动定位和移走装置通讯连接,以控制培养皿自动定位和移走装置的操作。以这种方式将培养皿(承载了目标微生物)定位在载物台上可以在控制器的控制下自动执行。在其他实施例中,悬浮液试管自动定位和移走装置被提供用来自动地分别将悬浮液试管定位在悬浮液试管支架上并从悬浮液试管支架上移走。控制器与悬浮液试管自动定位和移动装置通讯连接以控制悬浮液试管自动定位和移动装置的操作,这样将悬浮液试管定位在悬浮液试管支架内可以在控制器的控制下自动执行。有利地,控制器接着被配置为,仅在带有悬浮液的悬浮液试管可以从悬浮液试管支架上移走以备进一步处理的信号提供之后,培养皿可以允许被自动地通过培养皿自动定位和移走装置从载物台移走。在另一实施例中,控制器被配置为,仅在带有悬浮液的悬浮液试管可以被从悬浮液试管支架上移走以备进一步处理的信号提供之后,悬浮液试管支架可以被自动地通过悬浮液试管自动定位和移动装置从悬浮液试管支架移走。

[0178] 在根据本发明的方法的另一实施例中,识别标记被提供在悬浮液试管上。根据所述方法,悬浮液试管的识别标记连同关联于选定的微生物菌落所来自的培养皿特征的悬浮液的性质保存在所述中央控制计算机的存储器中。这确保了所述方法不仅能以极有效的方式自动运行,并且能正确和加快处理获得的分析结果。

[0179] 在本文描述的方法的进一步的实施例中,移液工具被提供(单独地或者拾取工具适于接收和使用移液管)用来将悬浮液的一等分(或多等分)沉积到MALDI板上并且也沉积一等分的悬浮液用于其他下游分析(例如AST)。定位装置被提供有用于支撑移液工具的移液工具支架。定位装置被配置为将移液工具定位在悬浮液试管上方的开始位置。定位装置自动地分别降低移液工具以进入悬浮液或升高移液工具以离开悬浮液并且将移液工具定位在转移位置。移液工具被定位装置的移液工具支架接收。定位装置将移液工具定位在悬浮液试管上方的开始位置,降低移液工具以进入悬浮液试管中的悬浮液,操作移液工具以拾取一定量的悬浮液,并将带有一定量悬浮液的移液工具升起到转移位置。移液工具具有可加压的腔室,由控制阀来关闭,以便包含一定量的悬浮液介质。

[0180] 所述方法提供了支撑靶板的靶板支架,所述靶板具有至少一个沉积点。靶板被定位在靶板支架上。转移装置被提供用来自动地将移液工具从定位装置的转移位置转移到靶板的一个沉积点上方的位置,并且降低移液工具到靶板上方的预定距离。对腔室施加大约0.5巴至1.1巴范围的压力,然后使阀开启一段时间从而使体积为约0.5 $\mu$ l到3.0 $\mu$ l的一滴悬浮液沉积在沉积点上,特别是最多覆盖所述靶板上其中一个沉积点的大约一半。之后移液工具从靶板上升起。根据特定微生物的特性,例如粘性等,对压力和开启时间进行调整以获

得一小滴悬浮液,其可以被可重复地制备并且其利用自动过程,可被准确地沉积到靶板上。

[0181] 以前述的方式,移液工具被用于获得更多的悬浮液。移液工具接着用于将悬浮液分配到另一分析的容器中(例如适于实施抗生素敏感性试验(AST)的容器)。

[0182] 为了避免在根据本发明的方法的一个优选实施例中发生交叉污染,移液工具的形状,特别是其分配尖端的形状可使得悬浮液滴能以无飞溅的方式沉积到靶板或其他容器上。目前看来,除了选择上述范围中的合适的压力以及上述范围中的合适的阀的开启时间之外,根据所用的微生物的种类,特别是其粘性,移液工具的合适的形状也保证能以无飞溅的方式实现悬浮液滴的沉积。

[0183] 在所述方法的另一实施例中,在靶板和样本试验(例如AST)的其他容器上提供识别标记,选择性地在所述靶板的沉积点上提供识别标记。根据所述方法,靶板和沉积点的识别标记连同关联于选定的微生物菌落所来自的培养皿特征的悬浮液的性质保存在所述中央控制计算机的存储器中。所述方法不仅能够以极有效的方式自动运行,并且能实现获得的分析结果的准确并快速处理。

[0184] 在所述方法的另一实施例中,准备的容器,例如在另一个试验(如AST)的执行中辅助使用的容器,可以被从试管接种微生物悬浮液和其他适当试剂的位置移动到第二位置,在第二位置另外的移液管将混合物从容器中移出并且接种用于试验的盒。该盒可以在接种后进一步通过机器人被定位到支撑结构内,该支撑结构支撑所述盒直到它被盒转移仪器重新获得。如果条件满足,盒转移仪器从支撑结构上拾取或夹起盒,并将所述盒转移到位于试验仪器(例如AST 试验仪器)内的另一支撑结构上。

[0185] 质谱,具体为MALDI或MALDI-TOF-MS,被用于鉴定微生物。在 MALDI-TOF-MS运行中,微生物菌落的样本被点样或沉积到靶板上,靶板被固定到MALDI仪器内的一个固定位置。该靶板上通常有多个沉积点(例如单个靶板上有24到384个沉积点)。这些沉积点相对于靶板边缘具有固定的方向。靶板定位在X-Y平台上,这样就能把从微生物菌落获得的样本沉积在选定的沉积点上。特定样本沉积的位置可通过X-Y坐标/参数来显示并保存在中央控制计算机的存储器中。

[0186] 虽然在图2中没有展示细节,靶板42显示为定位在转移轨道18下方,其位置用B表示。样本可从培养皿3和/或悬浮液试管11,沿转移轨道18转移到靶板上方的位置B,样本在此位置下降以沉积到靶板上的沉积点上。与图1所示不同的其他转移机械也可以被考虑。例如,可以使用面板安装型转移机械。

[0187] 本发明将在下面参考制备包含样本的悬浮液和将悬浮液沉积到靶板上的沉积点进行详细描述。通常,微生物菌落被在培养皿上自动定位和检测。选择的微生物菌落的样本被以自动化方式获取,例如通过与菌落接触的拾取工具。

[0188] 当执行微生物表征和鉴定时,通常地培养皿上生长了多个菌落。另外多个不同的培养皿被通过设备处理。如此,本发明提供了分别鉴定每个培养皿的能力,例如通过条形码,并且另外单个的培养皿上的每个感兴趣的菌落被选择并赋予识别标记。到此在培养皿上的微生物菌落的定位和选择的自动化步骤之前,确定包含多个微生物菌落的培养皿被提供。获取培养皿的初始图像。所述图像包括微生物的所有菌落。所述设备或与所述设备通讯运作的装置,将包含微生物的所有菌落的培养皿的初始图像显示在显示器上,并且在初始图像中选择至少一个微生物菌落。这种方式下,研究者或化验员可以基于详尽的教育和知

识选择感兴趣的菌落。在一个实施例中,图像信息被处理并且基于规格来识别用于拾取的菌落。由于为每个培养皿提供了具体的标记来识别所述培养皿,例如条形码等,包括所菌落的所述培养皿的初始图像被保存,并且与所述至少一个选择的靶微生物菌落相关的信息被保存(优选有(电子)初始图像中给出的链接)。培养皿的所有所述信息和标记均保存在中央控制计算机的存储器中,以便允许高精度度和处理完整性。

[0189] 通过这种方式,本文所述方法和设备中的唯一可能的手动操作是选择感兴趣菌落的操作。所有样本相关数据的处理都以自动方式进行。任选地,研究者和化验员可以手动输入关于所述培养皿的选定微生物菌落的将要进行的处理的处理指令。所述处理指令也保存在所述中央控制计算机的存储器内以备以后使用。在进行这一步手动操作后,所有后续执行的步骤都以可靠而高效的方式自动进行。

[0190] 对于这种自动化的进一步处理,培养皿被自动定位在用于包含成像装置的拾取工具装置的培养皿的载物台上。获得定位于所述拾取工具装置内的所述培养皿的图像,与所述培养皿的识别一起,可将通过所述拾取工具装置的成像装置获得的此图像与保存的所述培养皿的初始图像进行比较,因而获得与选定微生物菌落的位置相关的信息,或选择性地获得有关所述选定微生物菌落将要进行的处理的处理指令的信息。通过将培养皿在放置于拾取工具装置上时的图像与初始图像进行比较,可以自动获得选定菌落的位置,例如可通过计算机化的图像比较来实现。另外,每个靶板均提供了一个识别标记,并且可选择地所述靶板的每个沉积点均具有单独的识别标记或位置标识。用于AST的容器也带有识别标记,以使结果与正确的样品相关联。在将所述靶板和沉积点的识别标记连同与从中获得选定微生物菌落的培养皿标识相关的悬浮液的特性保存在所述中央控制计算机的存储器中之后,能以准确而自动的方式将获得的MALDI/AST 结果与试验下的特定微生物菌落正确联系起来。

[0191] 已经发现当样本覆盖所述靶板上其中一个沉积点最多约一半时,用 MALDI 仪器对起初没有覆盖样本的那一部分沉积点进行分析时所获得的分析结果的准确性令人吃惊地大大高于用MALDI仪器对起初覆盖样本的那一部分沉积点进行分析时所获得的分析结果。可以认为,在将一滴基质材料覆盖在覆盖部分沉积点的样本后发生的结晶过程保证没有覆盖的那部分沉积点也含有一定量的样本材料,并且其含量非常适合提供极好的分析结果。关于导致这种效果的物理或化学过程目前还不清楚,但或许在了解了MALDI技术背后的基本过程后会更清楚一点。

[0192] 样本制备系统和方法

[0193] 现在将本发明的方法的悬浮液由从培养皿拾取的微生物菌落的样本制备的实施例和实施该方法的样本制备系统1000的实施例一起描述。

[0194] 图1显示了执行本文所述的方法的系统1000。系统1000包括外壳1005,其提供了实施所述方法和执行所述方法的部件的环境。在这点上,所述部件分布在外壳1005的多个平台之间。从左到右,外壳提供了接收平台1010,拾取平台1020,制备平台1030,和转移平台1040。接收平台1010接收一个或多个可能承载有感兴趣的微生物的培养皿并且自动地将该培养皿送至拾取平台1020。拾取平台1020自动地检测感兴趣的菌落并且从这里拾取样本。制备平台1030 自动地制备用于试验的样本,例如鉴定(ID)和抗生素敏感性试验(AST)。转移平台1040自动地将制备的AST样本转移到AST盒(本文也称为板),其被自动地转移到AST系统。



[0195] 在通常的方法中,自动拾取工具装置8被提供以获得拾取工具6,并将该工具转移到支撑培养皿3的载物台2处,培养皿3已经放置在该载物台上。在拾取之前,感兴趣的菌落4被在培养皿3上识别并且确定了它在其上的位置。拾取工具6已经通过控制器30获知了该位置,在感兴趣的菌落4上方移动所述拾取工具6并拾取所述菌落。一旦拾取,拾取的样本19被转移到一个或多个比色皿或悬浮液试管11内。另外地,一等分悬浮液液体14被分配到悬浮液试管11内,其优选地在拾取的菌落样本19进入试管11前执行。拾取工具6'接着被放置,使得承载拾取的样本19的拾取工具6'的部分浸入悬浮液14内。振荡拾取工具6'以释放微生物。浊度计20监测悬浮液的浊度,并且向控制器30提供这样的信息,其将测得的浊度和对悬浮液等分待实施的试验例如ID和AST的浓度规格进行交叉参照。ID和AST的目标浓度均在本文中描述。

[0196] 一旦悬浮液到达期望的浊度,从试管11中移取一等分悬浮液,并且将实施ID试验的板42用悬浮液接种。移液工具46接着获取另一等分悬浮液用于AST。在一些实施例中,在移取悬浮液用于AST之前,悬浮液可能需要用悬浮液液体进行进一步稀释。一旦获得,移液工具46接着将悬浮液分配进入用于AST试验或例如分子诊断分析的其他分析的容器82。该容器可以包括用于该进一步试验的试剂,并且可以在分配前通过试管夹具机器人50被条形码扫描。

[0197] 在那之后,容器82被移动装置80转移到第二位置。在该位置处另一个移液工具66将悬浮液从容器82移出并且接种试验盒90。该盒90可以在接种前被盒转移机器人70移动到盒填充单元78的支撑结构上。盒填充单元78可以启动盒90的旋转,到达接种的最佳角度。当经由移液器60的接种需要时,开盖机器人(未示出)可以从盒90移走盖。在盒90被接种后,它可以通过转移仪器2000转移到试验仪器2050(见图20)。一旦试验被执行,系统可以接着输出指示样本生长的量化值和ID和AST的结果的最终样本报告。

[0198] 所述方法现在更特定地参考系统1000和其部件进行描述。图2示意性地示出了布置在系统1000的外壳1005内的平台1020、1030、和1040。

[0199] 拾取平台1020包括用于培养皿3的载物台2,培养皿3包括在营养层5,例如琼脂凝胶层上的微生物4。培养皿3可以经由移动臂(未示出)定位到载物台2上,移动臂从接收平台1010转移培养皿3。接收平台1010可以从其他上游实验室设备自动地接收多个培养皿,并在将进料皿3送至平台1020之前将它们排列成堆叠的排列。

[0200] 一旦培养皿3在拾取平台1020被接收,执行菌落识别和菌落拾取。平台1020包括定位装置8,其包括拾取工具支架9用于可释放地支撑拾取工具,例如一次性移液管尖端。如图所示的,拾取工具支架9支撑第一拾取工具6。定位装置8被配置为将第一拾取工具6定位在培养皿3上方的开始位置(在图2中以实线表示),并被配置为自动地将第一拾取工具6朝向培养皿3降低或升高以离开培养皿3,这样所述第一拾取工具6能够被定位在一位置(以虚线表示),在该位置它接触微生物4并拾取微生物4的样本19。在第一拾取工具6已经拾取样本19(带有保留的样本19的第一拾取工具在图2中表示为6')之后,定位装置8升高并将第一拾取工具6'定位在悬浮液试管11上方的转移位置“A”。定位装置8在沿着转移轨道18水平移动到转移位置A之前,优选地垂直升高拾取工具6'到达开始位置。这可以帮助阻止可能在样品拾取过程中形成的粘液线状物造成的污染。然而,在其他实施例中,定位装置8可以同时垂直和水平向着转移位置A移动(如图2中的箭头所示)。

[0201] 在拾取菌落用于进一步的试验中,一些菌落的特性是如上提到的粘或黏滑特征。这被称为粘液稠度,其使得从琼脂表面移走菌落变得困难。如以上提到的,在菌落被拾取装置接触之后,在拾取工具和琼脂表面的菌落之间经常会形成粘液线状物(图15和16)。该线状物在受控方式下会很难拉断并且引起了以上提及的与仪器内的其他样本和表面的可能的污染相关的问题。

[0202] 当手动拾取菌落时,使用者将会看到线状物的形成并且可以作出各种手部动作以消除该线状物。这包括旋转拾取工具和/或在板的干净部分上摩擦所述装置。因为所述线状物可以被视觉地观察到,当所述线状物断掉的时候使用者将会看到,并且可以继续进行试验。所有这些检测可以在很少的交叉污染的风险下进行。

[0203] 在处理粘液线状物的存在的自动化过程的一个实施例中,所述线状物被光学地检测(例如照相机可以被用来监测并检测这样的线状物),或通过监测电场的变化检测。所述线状物相对于周围的空气来说是电传导性的。一旦所述线状物被检测到,本领域技术人员将明了任何数量的机械装置可以被用来切断所述线状物。参考图15,显示了在自动化系统700内设置的培养板710。所述培养板710具有设置在其上的琼脂720,在琼脂720上形成了很多不同的菌落730。移液管尖端740被降低接触一个菌落,并且当它被抽吸时,形成了线状物750。参考图16,当移液管尖端740继续从琼脂720表面上被抽走升高时,线状物750被拉长。在该点移动移液管尖端将引起所述线状物被移动到系统700内的另一个位置。这样能够引起由系统700内的其他位置处的线状物带来的交叉污染。

[0204] 在一个实施例中,当菌落被拾取并且移液管从板表面抽吸以将拾取的样本转移到悬浮液内时,线状物的存在通过监测移液管尖端的电容来检测。当拾取工具从样本上缩回时,线状物将引起电容充电的差异。

[0205] 电容水平传感器可以感测多种固体、水性和有机液体。电容检测依赖施加到电容电路上的无线电频率信号。通过监测电容( $\text{pF}$  = 皮法拉),能够检测到粘液线状物的形成。图17A是当拾取工具向下并接触琼脂表面时的电容图。当拾取工具升高并离开琼脂表面时电容快速降低。图17B显示了当拾取工具从表面移开时粘液线状物形成时的电容信号的变化。当线状物变得越来越细并且最终断掉时电容缓慢地衰减。

[0206] 电导水平传感器在两个传感器之间使用低电压水平。因为粘液线状物是电传导性的,只要琼脂表面与拾取工具之间通过粘液线状物连接,就将保持高的电传导性。

[0207] 该线状物也可以被光学地检测。经过板的光信号被形成在板和移液管之间的线状物衍射。该信号的中断可以通过软件检测,并且由此表示线状物的存在。

[0208] 任何数量的机械装置均可以用于移走所述线状物。优选的方案是成本经济的并且不会产生气溶胶或污染系统内的其他板。覆盖在一些细菌上的粘液涂层使得手动和自动化系统的拾取变得困难。粘液生物膜保护有机体,但是使得对它们的操作变得困难。对于该示例,在粘液样本的拾取之后提供另外的自动化步骤或特征以消除所述线状物和阻止系统的污染。

[0209] 在一个实施例中电阻加热的热金属丝或刀片被提供用来切断粘液线状物。所述金属丝或刀片被加热到足够给切割装置消毒的温度,这样它可以被连续地重复使用。本领域技术人员可以选择适合的温度,其将通过消灭微生物来净化金属丝或刀片,但是不会热到引起拾取的样品的快速蒸发,这将引起有机物的气溶胶释放。

[0210] 非常冷的温度也可以用于弄断所述线状物。一旦感应到线状物,液氮对移液管尖端进行小喷射将硬化所述线状物,使得它断裂。在可替换的实施例中,变冷到冷冻的切割探头可以用来切割粘液线状物并且获得干净的断裂。

[0211] 在另一个实施例中,旋转的一次性杆被用来弄断所述线状物。当感应到线状物时,切割杆被用来与之接触。在可替换的实施例中,切割杆可以旋转使得粘液线状物缠绕到杆上以确保线状物被弄断。

[0212] 在另一个实施例中,当移液管尖端从琼脂板离开形成了线状物的时候,提供了超声装置用来弄断所述线状物。例如,超声变幅杆连接到移液管尖端适配器。当拾取装置从琼脂表面拖离时,高频短脉冲使得粘液线状物被容易地剪切。

[0213] 在另一个实施例中,所述线状物被允许变干,从而变得易碎并且断裂。用位于板旁边的小喷嘴向着所述线状物喷出空气,减少干燥时间。控制干燥时间使得不会显著增加任一次拾取的时间。

[0214] 在另一个实施例中,强电流通过所述线状物。细的粘液线状物的自然抗性将导致线状物的最细(最小电传导性)部分的最大的电阻。该增加的电阻将引起所述线状物的断裂。选择电流使得它的强度足够弄断所述线状物,但是不会强到导致快速的气化,这将引起有机物的气溶胶释放。

[0215] 在所述线状物被检测到之后,所述尖端前进越过所述琼脂表面(表面上方 3-6mm)。当所述线状物落在琼脂上并且所述尖端继续移动时,所述线状物将拉长到断裂点。然而,因为所述线状物将在琼脂上方断裂,不存在交叉污染的风险。在可替换实施例中,当所述尖端在琼脂上方改变方向时,使用快速曲折(zig-zag)的移动路线使得所述线状物断裂。

[0216] 在可替换实施例中,所述尖端穿孔进入没有生长的板的琼脂。这会将所述尖端擦干净并且清除所述线状物。在另一个实施例中,移液管尖端被移动越过琼脂表面到达板的边缘。所述线状物可以被有效地在板的边缘擦去,并且所述线状物被清除。

[0217] 在另一个实施例中,当检测到粘液线状物时,所述尖端附近的小的真空装置被使用。真空将使用HEPA过滤系统在所述线状物内产生真空,并且消除环境污染。

[0218] 在可替换实施例中,移液管被粘液溶解试剂处理或覆盖,其能分解被发现于粘液线状物内的高分子量糖蛋白。这样的试剂的一个示例是n-乙酰-l-半胱氨酸。

[0219] 在另一个实施例中,低能量激光器被定位远离所述板侧。当移液器离开板区域时移液管尖端被正好移动到激光束上方。如果存在所述线状物时,粘液线状物将会接着移动穿过光束。粘液线状物将被加热到该线状物将会发生断裂的点。

[0220] 在另一个实施例中,当检测到线状物时,所述尖端可以旋转360度。所述旋转将切断粘液线状物。在另一实施例中,移液管尖端上下移动以在发生拾取的相同位置接触琼脂表面,从而弄断所述线状物。利用每个向下的接触,移液管尖端吸取一定体积。这切断了粘液线状物并且实际上抽取了多数或一些所述线状物进入移液管尖端。

[0221] 拾取平台1020进一步包括悬浮液试管支架10用于支撑可以盛放悬浮液介质14的悬浮液试管11。在本实施例中,所述悬浮液试管支架10是可旋转的悬浮液试管支架11以绕着垂直轴D旋转所述悬浮液试管。然而,在一些实施例中,试管支架10可以是固定的。悬浮液介质14,如所示的,被从悬浮液介质自动分配器12分配,其具有用于在悬浮液试管支架10支

撑的悬浮液试管11内自动分配悬浮液介质14的分配喷嘴13。然而,在一些实施例中,自动移液器,例如移液器40,可以单独地将悬浮液介质14分配到试管11内。

[0222] 定位装置8也包括合并到其中的转移装置15,用于协助将样本19自动转移到悬浮液介质14。所述转移装置15连接到拾取工具支架9,并且被配置以线性垂直移动振荡拾取工具6'一段时间,振荡时间足够使样本19从拾取工具6'释放。在所述方法中,一旦悬浮液试管11被悬浮液介质14接种并且拾取工具6'被定位在试管11上方的转移位置A的开始位置,定位装置8降低拾取工具6'进入悬浮液介质14。随着样本19浸入,如图2中所示的,转移装置15被启动以振荡拾取工具6'使得样本19释放进入悬浮液介质14。之后定位装置8将拾取工具6'定位在悬浮液试管11上方的等待位置,其可以与开始位置相同。在其他实施例中,等待位置和开始位置可以彼此不同。

[0223] 系统1000还包括浊度计20用于执行悬浮液试管支架10支撑的悬浮液试管11内包含的悬浮液介质14的浊度测量。如本领域通常已知的那样,浊度计所提供的测量值可用于度量材料的浓度,在本示例中指悬浮在悬浮液介质中的微生物的浓度。如图2所示,浊度计20包含激光器21,该激光器21发出的激光朝向并穿透悬浮液介质14,和传感器22,该传感器22检测透过悬浮液介质14的激光的量。优选地,还有一传感器(在图中未显示),该传感器设置成与激光的通路垂直,从而可以检测被悬浮液散射的激光的量。

[0224] 系统1000的运转由控制器30来控制。控制器30如图3中示意性所示的,包括处理器32和存储器34。控制器30与定位装置8、转移装置15、悬浮液介质自动分配器12和浊度计20通讯连接,以分别自动控制定位装置8的移动、转移装置15的移动、悬浮液介质自动分配器12的运行和浊度计20的运行。此外,控制器30还可以直接与该设备的其他部件通信连接,例如拾取工具支架9、激光器21和传感器22。

[0225] 在图2和3所示的实施例中,控制器30被配置为控制浊度计20,使得悬浮液介质14的浊度测量在拾取工具6'浸入悬浮液介质14之前开始。此外,控制器30还控制可旋转的悬浮液试管支架10,以在拾取工具6'浸入悬浮液介质14之前,使支撑于支架10内的悬浮液试管11开始旋转,并使悬浮液试管11在悬浮液介质14的浊度测量过程中保持旋转。控制器30进一步控制浊度计20,使得浊度测量在拾取工具6'振荡的整个时间段内进行。通过这种方法,浊度计20向控制器30提供在线的测量值,该测量值表示拾取工具6'振荡的时间段内测量的浊度及因此微生物的浓度。

[0226] 如以上提到的,控制器30包括存储器34,其中保存有第一和第二阈值。所述第一阈值大于等于第二阈值。如果浊度计提供的浊度测量值等于或处于第一阈值和第二阈值之间,则悬浮液介质中的微生物的浓度/量足以将盛有悬浮液14的悬浮液试管11进行进一步处理。在这种情况下,当浊度测量值在第一和第二阈值之间时,控制器30提供悬浮液试管11内的悬浮液可以进行进一步处理的信号。此外,在这种情况下丢弃拾取工具6,例如可将定位装置移动到废物箱上方,并启动拾取工具支架以将拾取工具6释放进废物箱。

[0227] 如果浊度计20的最终测量值高于之前存放在控制器30的存储器34内的第一阈值,则确定微生物浓度过高,无法对悬浮液试管11内的悬浮液进行进一步处理。在这种情况下,控制器30控制悬浮液介质制动分配器12或一些其他介质分配器,以向悬浮液试管11中供应额外量的悬浮液介质14。该额外量的悬浮液介质14基于悬浮液介质初始量、最终测量值和第一和/或第二阈值,从而在悬浮液试管11中已经盛有的悬浮液介质14中添加额外量的悬

浮液介质将使得试管11中的悬浮液介质14中的微生物浓度满足进一步处理的要求,此浓度可通过浊度计20对浊度的额外测量或进一步测量来确认。

[0228] 如果浊度计20的最终测量值低于第二阈值,即悬浮液介质14中的微生物4浓度太低,控制器30控制定位装置8,使得第一拾取工具6拾取微生物4的额外样本19,以进一步浓缩悬浮液介质14。可替换地,第一拾取工具6可以被丢弃,并且第二拾取工具可以被用于拾取该额外的样本。在此情况下,当确定最终测量值小于阈值时,控制器控制定位装置8的拾取工具支架9中的第一拾取工具6,以从培养皿3上方的开始位置向着培养皿降低,并接触微生物4以拾取微生物4的额外样本19。之后,第一拾取工具6' 被带着微生物4的额外样本19自动升高离开培养皿到达悬浮液试管11上方的转移位置A处的开始位置。接着,带有微生物的额外样本的拾取工具6' 被降低进入悬浮液介质14内并且通过转移装置15以线性垂直移动振荡一段时间,以将所述微生物4的额外样本19 释放到悬浮液介质14中。在振荡过程中再次进行浊度测量,并将测量的值与保存在控制器30的存储器34中的第一和第二阈值比较。在此情况下,控制器30 被设置来控制定位装置8的移动,从而一旦额外样本被至少部分地从拾取工具6 中移走,如果在振荡过程中,浊度计20所获取的浊度的在线测量值小于等于第一阈值并大于等于第二阈值时,拾取工具6被升高至等待位置。

[0229] 虽然如所描述的,在测得的浊度值小于阈值水平时,可通过多次随后的菌落拾取来提高悬浮液介质14内的微生物浓度,但也可以执行其它程序而不考虑测得的浓度被确定为太低。在这点上,如以下更详细描述,低浓度悬浮液的多次分配可以沉积在MALDI板上的相同点上。这具有浓缩MALDI板上而不是悬浮液介质14内的微生物4的效果。

[0230] 悬浮液试管11,或可替换地,特别地可以用于本发明的设备中的小瓶或比色皿,具有目标最大尺寸为大约2到12mm的横截面,优选大约3mm。在这些相对小的悬浮液试管中,控制器30可以控制悬浮液介质自动分配器12,或其他介质分配器,使得所供应的悬浮液介质的初始量为大约0.1-5ml,优选为小于大约1ml。

[0231] 转移装置15的震荡通过控制器30进行控制,使得拾取工具6' 在大约5Hz 到大约250Hz的频率之间振荡,优选为大约100Hz,其振幅为大约0.5mm到大约4mm,优选为约2mm到约3mm。控制器30可进一步设置为控制转移装置15的振荡,使拾取工具6' 的振荡时间为大约3秒到大约120秒,优选为大约30 秒到大约60秒。

[0232] 自动系统和方法的比浊计

[0233] 现在将描述多种比浊计的实施例。应该了解的是任何一个这种现在描述的比浊计可以构成先前所述的比浊计20。在一个实施例中,用于自动化系统1000 的比浊计可以为美国临时申请62/056,911中所述的比浊计,其被共同转让并通过参考并入本文。在该实施例中,当测量浊度时悬浮液不发生振荡。

[0234] 另一比浊计的实施例100在图4A和4B中显示。比浊计100是低容积比浊计,设计为容纳显示为放置在比浊计底座101内部的比色皿110的单独的悬浮液试管,其具有悬浮液120,如图4A所示。比浊计100也包括光源130、聚焦镜170、侧散射检测器140、透射光检测器150和光衰减滤波器160(最好参见图4B)。带有样本120的比色皿110被定位在比浊计100的中心和比浊计底座101的内部。光源130、散射检测器140和透射光检测器150被定位为围绕比色皿110相对于彼此成90度角。散射检测器140被定位靠近包括样本悬浮液120 的比色皿110处并与入射光源130平行。这将使得散射光的衍射、折射和反射效应最小化。透射光检测

器150位于与光源130成180度处或在光源130对面。透射光检测器150也可以定向为与入射光束垂直,或处于不同角度以减少从它的表面的反射效应。光衰减滤波器160位于比色皿110和透射光检测器150之间。在这种配置中,样本悬浮液120被个别地在容器110内部处理,并且比浊计100检测在某角度穿过试验样本120的散射和/或透射光。

[0235] 低容积容器/比色皿(或微比色皿)被考虑使用,其被设计为与低容积比浊计(例如比浊计100)结合使用处理相对少量的生物和流体悬浮液。图5A和5B描述了该低容积比色皿的可替换实施例。比色皿110,110'被用光学透明塑料模制,具有最小锥形侧面430,440,其具有光学光滑抛光,以方便在比浊计100内定向。比色皿110,110'可以被配置为单独用途应用的单独单元。然而,在一些实施例中,如以下进一步描述的,其中一系列比色皿被用于制备悬浮液,比色皿110,110'可被配置为与用于这种应用的线性阵列条带一起使用。可替换地,比色皿110,110'可以被配置为与被设计为同时处理多个样本的矩阵阵列一起使用。在所述矩阵实施例中,多个系列的悬浮液被并行地制备。

[0236] 如所示的,比色皿110,110'具有较低部分410,其与较高部分400相比具有相对小的容积。悬浮液初始在小容积部分410内制备。悬浮液因此首先布置在比色皿110,110'的较低部分410的内部。怀疑包括目标微生物的生物样本被添加并与流体悬浮液混合以提供试验样本悬浮液120。较低部分410内的悬浮液的浊度被检测。在这点上,当比色皿110或110'与比浊计100耦连时,由光源130产生的光穿过布置于较低部分410内部的样本悬浮液120。比浊计100经由检测器140和150检测被较低部分410散射的光,并且基于检测到的光检测比色皿的较低部分410内的样本的浊度。

[0237] 在各比色皿110,110'的较低部分410的下方是“大微粒”收集区域420,其被设计为接收从样本悬浮液沉降的大微粒,这会另外地对比浊计100做出的浊度检测的准确度产生不利影响。低体积样本另外具有不足够的体积使得微粒污染物从被比浊计探测的悬浮液的部分沉淀。例如,穿过包含微粒杂质的低体积悬浮液的光不能区分悬浮液内的样本和杂质,并且能够产生不精确的麦克法兰值(即表示浊度的值),那使得样本被不正确地处理。例如,不精确的麦克法兰值可通知错误的稀释。不精确的麦克法兰值还可以使得样本在下游处理(例如通过AST或MALDI),当真实的麦克法兰值已知时,样本不会被进一步处理。也就是,真实的麦克法兰值将通知操作者样本不适用于MALDI或AST。另外,样本中杂质的存在会干扰待试验样本的准确的浓度检测。照此,根据所示实施例的比色皿110,110'提供了这分离的、微粒收集区域420,其位于穿过较低部分410的直射光路的外侧。微粒污染物沉降在收集区域420内并且不会残留在样本悬浮液的试验区域,这发生在较低部分410中。较低部分的腔室长度在大约5.5mm的范围内,并且被设计为提供使得低体积样本足以获得适当的浊度检测的腔室长度。一旦试验样本悬浮液被制备,为了光穿过样本并被检测器140和150捕获,较低部分被设计为提供足够的腔室长度。优选地,较低部分410由高度抛光的光学材料或具有近光学透明的材料或其他本领域技术人员已知的光穿透性材料制成。这样的材料允许在没有干扰的情况下光穿过比色皿的较低部分的壁440。

[0238] 本领域技术人员将意识到存在配置比色皿110,110'的小容积部分410的设计自由度的三个尺寸。小容积部分410的尺寸在很大程度上是设计选择的问题。在一个实施例中,小容积部分410的尺寸被配置为接收一装置(例如拾取工具),其将样本引入比色皿的较低部分。例如且非限制性地,比色皿的较低部分的尺寸设置为提供足以将3mm直径拾取工具浸

入较低部分并在较低部分内旋转的空间,这样其不会触碰比色皿110,110'的侧壁,产生刮擦和表面像差,这会降低它的光学透明性。

[0239] 当然,较低部分410的尺寸必须适用于样本的光学检测。特别地,比色皿110,110'的较低部分410的尺寸设定为与比浊计100的光源130和检测器140,150一起工作。因此对比色皿设计的尺寸约束是比浊计100的结构的功能。

[0240] 在较低部分410上方是较高部分400,其被用于稀释放置在容器中的样本悬浮液以用于下游应用的进一步处理,例如AST。较高部分400比较低部分410具有更大的宽度和长度。优选地,容器的内部尺寸被设计为适用于生物样本和悬浮液的自动混合以进一步直接稀释容器内部的试验样本悬浮液(当需要的时候)。操作中,比色皿110,110'的层叠容器设计使得其中的样本悬浮液的浊度被检测,并且如果没有达到目标浊度,进一步稀释样本并且重复进行浊度测量。该配置使得实时地进行样本稀释(即当样本在被光学探测时)。另外,层叠的容器设计使得检测低体积样本悬浮液(例如大约200微升到大约500微升体积的悬浮液)的浊度成为可能,还具有适用于样本稀释的较大容积的优点。

[0241] 如所示的,各比色皿110,110'的顶层或较高部分400具有近似正方形或长方形的边界。基本上较高部分400的几何结构在很大程度上是设计选择的问题。底层或较低部分410也具有近似正方形的边界。在这点上比色皿110,110'从顶部到底部“叠缩”,由于较高部分400相对于较低部分410具有较大的截面尺寸。比色皿110,110'的替换形状也被考虑,只要底部部分410的壁440彼此之间处于一角度(例如比色皿不是圆筒形、椭圆形等)。已经发现将较低部分410(即被比浊计接收的部分)的壁440彼此之间定位为处于一角度(与圆形管相比),这使得对光信号的像差更小,并且试验样本更好地混合。这被展示于描述的实施例110,110',其中较低部分410具有四个侧面440,它们彼此之间互相垂直,由此限定了正方形。另外,较高部分400也具有四个侧面430,它们彼此之间互相垂直,除了侧面430的尺寸比侧面440更宽。较小的、较低的部分410被配置为由比浊计底座101和/或线性比色皿阵列(在下面描述)接收。各比色皿110,110'的顶部具有开口450用于接收样本和稀释液/悬浮液介质。较高和较低部分400,410的侧壁430和440分别地被平面表面限定。无需束缚于任何特定的理论,认为平面表面最小化穿过比色皿110,110'的光的衍射和折射。另外,比色皿/容器110,110'的正方形结构允许光路以与该容器110,110'的平面表面呈直角地穿过并进入样本悬浮液和容器。当进入和离开比色皿110,110'时,该配置还将光源130的衍射和折射的可能性最小化。

[0242] 考虑了比色皿110,110'的不同结构。在图5A所示的实施例中,比色皿110的顶部部分400向较低部分410上逐渐变细。侧壁430交叉的顶部部分400的角与较低部分410的角对齐(如通过直边401能够看到的)。锥形的边缘401区分了较宽的较高部分400和较窄的较低部分410之间的转变。

[0243] 在图5B所示的另一实施例110'中,侧壁430交叉的较高部分400的角偏离侧壁440交叉的较低部分410的角。该偏离发生在图5B所示的偏离边缘402。在一个特定实施例中,较低部分410的角与顶部部分400的角偏离45度。有利地,该结构允许光源130和检测器140,150被排列在比色皿110'的任一侧面上,当比色皿110'被放置在比浊计底座101的内部时。

[0244] 现在描述如图6的流程图显示的使用比浊计100和比色皿110检测浊度的方法。手动或自动地将比色皿110放置在比浊计底座100内部。初始悬浮液液体(不含微生物)被放置

在比色皿100内部。流体体积为大约200微升到大约 500微升。优选地,初始悬浮液流体体积为大约300微升。如果需要稀释得到特定麦克法兰值,额外的流体可以加入比色皿110。接着,怀疑含有微生物的生物样本被加入比色皿110并且与悬浮液流体混合以得到试验样本悬浮液120。比浊计100检测试验样本120的初始浊度并且麦克法兰值被记录到存储器34。如果初始浊度读数太高,样本悬浮液进一步通过加入额外的悬浮液流体稀释。在一个实施例中稀释是自动进行的。比色皿110的较高部分400允许悬浮液流体的体积超过较低部分410的容积。比浊计100检测稀释的悬浮液的浊度。一旦获得了预定的麦克法兰值,悬浮液被处理进行下游试验、存储或抛弃。悬浮液可以按需要稀释许多次,以获得期望的麦克法兰值。

[0245] 来自光源130的光探测布置在比色皿110内部的悬浮液120(例如试验样本)。撞击表面(例如比色皿/容器110的平面侧壁440)的光在本文称为入射光。从悬浮液120的颗粒散射的光在本文称为散射光。入射光的一部分被比色皿表面反射。折射或透射的光是入射光透射穿过表面(例如比色皿/容器110的平面侧壁440)的部分。

[0246] 操作中,透射光被透射光检测器150接收。在示例性实施例中,透射光检测器150被定位在入射光路上以将透射穿过悬浮液的光的检测最大化。在检测器150的表面具有高度反射性的情况下,检测器150可以被这样定位,即检测器表面放置成相对于光路轴处于小角度(非90度)。检测器150定位的角度优化了透射光的检测,而没有光反射回到悬浮液120内,或没有光引导到比浊计 100的其他部分。检测器150收集到的光强度与悬浮液的浊度成比例。

[0247] 光衰减滤波器160直接定位于透射光检测器150前方。滤波器减少了入射到检测器150上的光强度,减少的量与入射光束的强度成比例。在示例性实施例中,滤波器160使得检测器150在不会饱和的情况下操作,并且提供了足以检测透射光强度的轻微变化的检测器操作强度带宽。

[0248] 比浊计100还检测散射光的量。散射检测器140被设置为使它的检测表面平行于入射光路并且沿着比色皿110的一侧。穿过悬浮液样本120的部分光被悬浮液中的颗粒散射。侧散射检测器140收集一些散射的光。检测器140收集到的散射光的量提供了与试验悬浮液120中颗粒的量成比例的信号。一种检测悬浮液120浊度的方式是将散射检测器140收集的散射光的量通过多种本领域已知的算法进行处理。从散射检测器140收集的数据可以以多种方式结合从透射检测器150收集的数据。例如,信号可以物理地结合,或检测器数值进行数学处理以进一步提高初始信号的准确性和可靠性的方式将它们结合。信号或数据值可以相加地、相减地、差分地等结合,以提供表示结合信号的所得信号。该结合可以由处理器32执行。当检测器值的信号以这样的方式结合时,其能够提高用于检测浊度的收集的数据的分辨率和准确性。有利地,从两个单独的检测器收集的数据(散射和透射数据)可以为小体积样本提供更准确的结果。对于散射检测并不足够的那些实施例中,二重检测是有利的。透射和散射光产量的检测可以更为准确,因为穿过小体积样本120的光路长度有限。

[0249] 在示例性实施例中,散射检测器140和透射检测器150是标准高效光电二极管检测器。然而,具有类似特性的其他检测器也是可以使用的。适合的检测器包括那些从紫外(UV)跨越可见光谱到达红外(IR)运行的检测器。适合的检测器可以基于它们的线性响应曲线、尺寸、结果的重现性、和在弱光条件下操作/检测光路和以可测量分辨率检测光强的微小变化的能力。示例包括光电二极管、光电倍增管、雪崩检测器、太阳能电池、光敏电阻、光敏传



传感器等。这样的检测器是商业可获得的,被本领域技术人员所公知的,在此不进行详细描述。

[0250] 在示例性实施例中,光源是高强度发光二极管(LED)或二极管激光器。优选地,LED光的频率为大约650nm。优选地,检测器光的波长在红色色带(即大约620-750nm)内。然而本领域技术人员可以使用不同可见光频率的探测光。任选地,聚焦镜170(图4B)被用于将光聚焦成窄光束(即直径大约3mm的光束)。聚焦镜170定位在光源130前方。聚焦镜170的使用将来自光源130的光聚集到容器/比色皿的样本区域410内并且将可能从试验区域散射的光量最小化。本领域技术人员清楚的是试验区域(即比色皿110的较低部分410)外侧散射的光致使该散射不能用于检测样本浊度的目的,因为高的背景信号。聚焦的光接着从聚焦镜170(未示出)以垂直于比色皿110表面的角度进入比色皿110的较低部分410。垂直的角度减轻了不期望的衍射和折射,当光束从一种介质(例如空气)穿过到达另一种介质(例如比色皿的平面侧面)时会发生衍射和折射。当光朝向检测器140和150透射穿过悬浮液时,聚焦光束的光路被保持。在光源130为二极管激光器的实施例中,可以不需要聚焦光束的另外的透镜170。这部分因为激光的特性,其提供了用于探测悬浮液的准直的和聚焦的光。聚焦镜170被用于该实施例,其中光源130为LED且需要或期望准直的或聚焦的光。

[0251] 图7A和7B显示了另一个比浊计实施例200,其中比色皿连续地穿过比浊计前进。系统设计为使用一系列比色皿(如下所述),其以连续的方式穿过比浊计前进。各个比色皿110可以通过将比色皿的较低部分放入通道220的方式直接放置在比浊计底座201内部,如图7A所示。可替换地,各个比色皿110可以首先放置在线性容器阵列300内,并且容纳了多个容器的线性阵列300(图8)可通过经过通道220被放置在比浊计内部。在容器(单个地或在线性阵列内)被放置在比浊计底座内部后,悬浮液被制备在比色皿内并且如以上所述检测浊度。

[0252] 比浊计200也包括光源230、聚焦镜270、散射检测器240、透射光检测器250和光衰减滤波器260,其如上针对图4B的比浊计所述。带有样本120的比色皿110被定位在设备的中心并且在比浊计底座201内部。光源230、散射检测器240和透射检测器250被定位为如上所示围绕比色皿110相对于彼此成90度角。侧散射检测器表面240定位为与光源230的入射光束平行。散射检测器240定位于紧靠近试验样本120并与入射光源平行,这将使得散射光的衍射、折射和反射效应最小化。透射光检测器250定位在光源230对面并且从光源来的入射光向着透射光检测器传送。检测器250也可以定位为与入射光路垂直,或处于偏离垂直几度的角度以减少从它的表面的反射效应。光衰减滤波器260定位于比色皿110和透射光检测器250之间。

[0253] 图8显示了用于本发明的设备的一个实施例(如比浊计200)的系列比色皿阵列/容器。该实施例与上述的实施例不同,其中悬浮液试管被旋转地放置用于浊度检测。该系列比色皿阵列300是一系列比色皿条带,其沿着导引通道220移动。LED光源230被放置在导引条带300的导引通道220的一侧。条带300被可滑动地与通道220接合。条带300还可以包括用于方便堆叠、包装和运输的传输线固定器或其他结构530(图9)。条带300穿过比浊计前进并且比色皿井320定位于光源230和检测器240和250之间进行处理。当处理完成后线性条带300可以被编索引并前进到下一个比色皿并且使用相同的比浊计继续处理接下来的样本。基于个体使用者的需要,比色皿条带300可以被存储或抛弃。在该实施例中,单独的比浊计

被设计为有效地处理多个样本,而不需要移走各个比色皿并用新的比色皿替代它们。线性比色皿条带300可以被设计为多种比色皿形状、尺寸和结构。例如,条带300的井320可以被设计为更深或更浅、更宽、更窄、更长、更短等,这取决于比色皿的设计。另外,井可以跨过各个井连接彼此,或者单独地插入邻近彼此定位的井内。线性阵列300内的带有边缘402的多个比色皿110'的放置允许更有效地将比色皿110' 传送穿过比浊计 200,因为它们可以被比浊计连续地处理和接收,并且不需要对它们进行另外的操作即可检测。

[0254] 在图9中描述的另一个系列比色皿的实施例中,比色皿条带是可堆叠的并且可以分离成单独的比色皿或线性比色皿条带,这取决于比浊计的结构。在所述的实施例中,比色皿500被支架510承载。支架510具有平面表面,从该表面悬挂比色皿。平面表面有刻痕(未示出)以允许比色皿分离成单独的比色皿或比色皿条带。堆叠的比色皿也可以具有传输线固定器530(如上所述)。请注意,为了便于堆叠,比色皿500的较低部分540被较宽的较高部分550接收。

[0255] 图10是比浊计590的透视图,显示了用于光源570的孔575、用于散射光检测器的孔635和用于透射光检测器的孔605。

[0256] 图11是比浊计590的剖面图,显示穿过比色皿500的较低部分540的透射光路。光源(570,图12)被位于比浊计590的比色皿容器580的一侧上的孔 575接收。孔575接收光源。传感器600(图12)定位于直接面对孔575的孔 605内,比色皿540的较低部分定位于两者之间。比浊计具有盖子620。

[0257] 图12是比浊计590的剖面图,显示了穿过比色皿500的较低部分540的散射光路。光源(570,图12)位于比浊计590的比色皿容器580的一侧上。传感器630(图10)定位于垂直于光源570的孔635内,比色皿540的较低部分定位于两者之间。

[0258] 图13是比浊计590的剖面图,显示穿过比色皿500的较低部分540的透射光路。光源570被位于比浊计590的比色皿容器580的一侧上的孔575接收。在传感器600和比色皿500之间是光衰减滤波器640,其放置在透射光检测器前方以将光强度减少到可用水平,使传感器不会饱和。孔575接收光源570和用于聚焦光信号的透镜650。传感器600被定位在直接对着孔575的孔605内,比色皿540的较低部分定位于两者之间。

[0259] 在一个实施例中,样本被布置在比色皿内,并且当放入比浊计中时被单独地处理。在样本被处理和麦克法兰值被获得后,比色皿从比浊计移出并且被新的比色皿取代。在该实施例中,一个或多个比浊计可以独立地操作。在可替换实施例中,比浊计被配置为传送连续的一系列比色皿到比浊计进行检测。线性比色皿通道220接收各个比色皿井320的条带300(图4B)。条带被传送穿过比浊计,停下使得各比色皿被光学探测以进行检测,如本文其他地方详细描述。

[0260] 根据本发明的检测浊度的方法是自动化的。从检测收集的数据可以被进一步处理以产生有意义的结果。在这些实施例中,来自检测器的信号被送到信号放大器。放大器输出与模数转换器电路通讯连接,其输出输入信号的数字表达,接着被使用多种算法处理以确定是否所测的值处于目标值。如果测得的值大于目标值,然后如上所述样本被稀释,并且重新测定浊度。该重新测定可以由操作者手动进行或者以自动方式进行,其中比色皿被从比浊计转移出来以进行稀释,并且传送回到比浊计进行另外的检测。将信号处理成可用的输出的方法利用不同生物或非生物样本的不同稀释和使麦克法兰值与悬浮液浓度相关进行

开发。这些数据接着被用于产生数据集,其通过校正数据曲线的线性和偏移的算法进行进一步分析以产生浊度值的代表性输出值并与目标值进行比较。重复该过程直到获得目标浊度值,如本文其他地方所述的。

[0261] 系统1000还可包括传送带,其端部位置可以形成培养皿的载物台2;或者传送带和载物台2,其可以被相互定位使得培养板可以通过传送带的合适的操作被运送到载物台上并且从载物台移走。传送带被控制器30控制以自动地分别将包括微生物的培养皿定位在载物台上和从载物台移走包括微生物的培养皿。请注意在其他(未示出)实施例中,用于分别自动地将培养皿定位在载物台和从载物台移走培养皿的不同方式也可以使用。特别地,控制器30被配置为,仅当提供了带有悬浮液的悬浮液试管可以从悬浮液试管支架移走以进行进一步处理的信号之后,允许培养皿被培养皿自动定位和移走装置从载物台上自动地移走。这确保了如果需要的话,总是可能拾取另外的样本。

[0262] 如图2所示,本发明的设备1000还可以包括悬浮液试管自动定位和移走装置(未示出),用于分别自动地将悬浮液试管定位在悬浮液试管支架上或从悬浮液试管支架上移走悬浮液试管。该悬浮液试管自动定位和移走装置可以包括抓握工具以可释放地抓住悬浮液试管11。再次地,控制器30可以被配置为与悬浮液试管自动定位和移走装置通讯连接以控制悬浮液试管自动定位和移走装置的操作,并且自动地将悬浮液试管11定位在悬浮液试管支架10上。控制器30特别地被配置为,仅当提供了带有悬浮液的悬浮液试管可以从悬浮液试管支架移走以进行进一步处理的信号之后,通过悬浮液试管自动定位和移走装置从悬浮液试管支架上自动移走悬浮液试管。悬浮液试管自动定位和移走装置可以沿着轨道18移动,而不依赖于定位装置8的移动。悬浮液试管11可以被拿取,并且带有包括足够浓度的微生物的悬浮液介质的悬浮液试管可被移交给进行进一步处理的设备,比如恒温箱。请注意多轨道系统可以引导悬浮液试管自动定位和移走装置和定位装置8到达不同的位置,在这些位置处存在不同部件或可以实施不同的过程。

[0263] 由此制备的样本悬浮液被用于使用MALDI进行微生物的表征或鉴定,并且可任选地用于其他分析,例如AST。为了使用MALDI鉴定微生物,使用移液或拾取工具获得一等分样本悬浮液并且该等分被转移到靶板42上。可以通过使用该工具46获取一滴,该工具46被移液器40的抓握工具49握住,并且接着被自动地降低到位置A处的悬浮液内。当该工具46升高从悬浮液中出来时,一滴悬浮液将会附着在该工具46的尖端,其可以被沿着轨道转移到位置B,在那里带有悬浮液的工具46被降低直到悬浮液滴接触靶板42上的沉积点44。在工具46已经升高离开靶板42之后,至少一部分悬浮液将留在沉积点44。可替换地拾取工具46可以被用于从悬浮液试管11拾取一定量的悬浮液14,将该量转移到位置B并且在靶板42上沉积悬浮液滴。在悬浮液滴已经沉积在靶板42上之后,并且特别地该液滴已经干燥时,MALDI基质溶液被自动地覆盖在沉积于靶板42上的样本量或样本部分上。为了执行其他试验或另一分析,第二滴样本悬浮液可以被以类似方式获得,并且该液滴可以被自动转移和沉积到例如试验培养皿上,其被进一步以自动化方式转移,以实施敏感性试验或另一分析。

[0264] 在一个实施例中,基质溶液被分散到靶板42上的多个点。这提高了产量并且减少了消耗成本,例如移液管等。在该实施例中,足够体积的基质溶液(即,许多靶点的基质溶液)被吸入移液管内,并且该移液管被用于依次分配多个点。通常,分配范围在1微升到20微升的低体积流体需要将流体滴接触待分配表面,使得接触靶板的流体的表面张力将液滴从

移液管尖端46上拽下来。在“触发”液滴到靶板表面上的过程中，移液管尖端46可以非故意地接触靶板42的表面。如果移液管尖端46接触靶板42，将会有将过量样本材料从一个靶板沉积点运送到下一个从而造成交叉污染的风险。在阻止交叉污染的尝试中，电容性液体检测被集成到移液器40，以检测何时液滴接触靶板42。根据以下步骤，电容性液体检测被用于从单个移液管内的单个体积的基质溶液进行多次分配。

[0265] 首先，拾取新的移液管尖端。之后干燥的尖端被移动到靶板42并且板与移液管尖端在非靶点位置接触，以确定和记录靶板42位置到尖端界面之间的精确垂直(Z)位置。

[0266] 接着，足够体积的基质溶液被从基质试剂容器中吸出。所述容器具有防止基质溶液蒸发的隔膜。在基质溶液被吸取和尖端从基质容器中移走后，隔膜擦去任何可能覆盖尖端46的残留的基质液体。这确保了当基质溶液从尖端分配时液滴将形成在尖端的端部并且不会移动到移液管尖端46的侧面上。

[0267] 移液管尖端46接着被移动到靶板42。液滴在尖端46的端部形成。尖端46以垂直(Z)方向向下移动，直到液滴接触靶板点44。当液滴接触板时电容传感电路产生信号，其表示液滴正在接触板42。该尖端46的垂直(Z)位置被检查以确认所述尖端46没有正在接触靶板42。如果尖端46没有正在接触板42，多次分配过程继续进行。如果尖端46正在接触板42，尖端46将被弹射作废，拾取新的尖端，并且干燥的尖端移动进入位置以接触靶板来建立新的尖端-接触-到-靶板垂直(Z)位置并且所述过程继续直到板42的所有的靶点44均被基质溶液接种。

[0268] 从相同的悬浮液中获取用于ID和AST的样本

[0269] 从一个菌落拾取制备悬浮液用于MALDI和AST试验被描述于美国专利号 9,180,448,其被共同转让于本申请并通过参考全部引入本文。本文的公开可以指样本制备设备(后文中为样本制备或制备平台)如“Phoenix AP”,或AST系统如BD Phoenix<sup>TM</sup>或指的是质谱系统如MALDI,但是应该了解的是这些术语的意思不限于具有这些商标名称的设备,还可以包括具有基本类似功能的设备。具有基本类似功能的设备可以包括Vitek (bioMerieux) 和 MicroScan (Siemens Healthcare) ID/AST系统。

[0270] 在一个实施例中,本文所述设备集成了MALDI仪器的微生物鉴定能力和AST及实验室分析或处理系统的数据处理能力,例如Phoenix、Phoenix AP、BACTEC、或EpiCenter系统。

[0271] 如以上所述的,悬浮液从由制备的板3拾取或从血液培养瓶获得的微生物制备。在一个实施例中,悬浮液试管11被微生物4覆盖接种。试管11有利地被用作ID和AST的源。这确保了不仅相同患者的样本,而且相同的隔离群,经历ID和AST试验。

[0272] 悬浮液制备为适合于MALDI的浓度。适用于MALDI的悬浮液通常具有大约2的麦克法兰值。自动化系统被用于通过拾取工具6接种悬浮液试管11、监测浊度并且处理悬浮液以提供具有目标浊度的悬浮液。提供具有目标浊度的悬浮液的自动化过程已经在本文中详细描述。悬浮液接着被用于接种如以上所述的MALDI板42。如以上指出的,系统1000,通过使用机器可读标签和编码将培养皿3与悬浮液试管11和MALDI板42关联起来。在一个实施例中,设备扫描MALDI板42上的条形码并且将板ID写到悬浮液试管支架上的RFID标签。系统1000,使用自动化移液器40,自动添加MALDI试剂(例如蚁酸、基质等)以制备用于如本文所述的分析的分配到MALDI板42上的悬浮液。

[0273] 系统1000使用自动化移液器40,或分配喷嘴30,接着将额外的溶液(例如去离子水)分配到试管11内,并且比浊计20监测浊度以提供具有适合AST 或其他诊断试验(例如分子试验)的浊度的悬浮液。用于提供具有目标浊度的悬浮液的自动化系统和方法在本文中详细描述并且不再重复。对于AST来说,目标浊度为大约0.5麦克法兰并且通常不小于大约0.25麦克法兰。移液器40 接着转移一等分到AST试管82中。试验试管支架上的RFID标签随着调整结果更新。

[0274] AST试管82,如图2所示,被AST试管移动器80支撑。AST试管移动器80是机器人,其通常布置于系统面板7下方并且被配置为在至少两个维度移动,如图2的垂直和水平箭头所示。特别地,AST试管移动器80被配置为支撑(例如通过容器或夹具)AST试管82和分别地在面板7下方移动AST试管82,并且在位于制备平台1030的预先指定的位置和转移平台1040之间移动AST试管82。在这点上,面板7可以具有开口,穿过该开口移动器80可以在这些预先指定的位置升高和降低AST试管82。当然,也可以考虑悬浮的试管夹具机器人 50可以在制备平台1030和转移平台1040之间从面板7上方的悬浮位置,而不是从面板7下方移动AST试管82。

[0275] AST试管82可以存储在平台1040内。在等分转移到AST试管82之前,试管夹具机器人50通过夹具工具59抓住AST试管82,并且从AST试管82的存储位置移动到条形码扫描器,以通过控制器30登记试管82。之后,夹具机器人50放下试管82到移动器机器人80。机器人80接着在面板7下方将试管82 运送到位于制备平台1030的位置C,在这里试管82被升高为至少部分高于面板。移液器40接着从试管11取回一等分稀释的悬浮液,移动到位置C,并且接着在位置C处用所述等分接种AST试管82。试管移动器80接着将其中盛有悬浮液的试管82'运送到转移平台1040,如图2所描述的。

[0276] 当在平台1040处时,另一个移液器60从AST试管82'中取得一等分悬浮液。在取得这一等分之前,盒转移机器人70通过夹具工具79抓取空的AST盒 90,并从存储位置将盒90移动到盒填充单元78,其包括用于支撑盒90的盒支撑结构。该单元78可以是可移动的,使得转动盒90从垂直结构到倾斜结构,如所示的,以便于接种。开盖器(未示出)也可以在接种前移走密封盒90的盖。移液器60接着自动地用稀释的悬浮液接种AST盒90。AST悬浮液试管82和AST盒90都带有编码,其将经历AST分析的悬浮液与制备悬浮液的拾取相关联。设备具有数据管理系统,其将盒与用于接种盒90的悬浮液关联。系统1000 读取MALDI板ID和每个悬浮液的板位置,并且形成从鉴定的培养皿3拾取的菌落与由此制备的悬浮液和所述MALDI板42和在板42上接种过相关悬浮液的位置和AST悬浮液试管82和用AST悬浮液接种的AST盒90的必要关联。自动化动作被提供以接种AST盒和传送接种的盒到试验仪器,该试验仪器在接种的盒上执行AST。一个示例性的用于自动地移动接种的盒90进入AST试验仪器和将测试过的盒从AST试验仪器中移走的盒转移仪器将在下面描述。

[0277] 使用成层技术制备MALDI板

[0278] 在本发明的一个实施例中,使用分配/成层方法,悬浮液被自动沉积在MALDI板42上。该方法被描述于2014年4月18日提交的美国临时申请号 62/038,509,题目为“Method Of Sample Preparation For Maldi”,其被共同转让于本申请,其被提交为PCT/US21015/45506,公开为W02016028684。美国临时申请号62/038,509和PCT/US21015/45506通过参考全文并入本文。

[0279] 在本文描述的溶液分配/成层方法中,将被分配的细菌悬浮液首先被评价以确定它的浊度,如本文其他地方所述。

[0280] 细菌悬浮液的制备如本文其他地方所述。溶液分配成层方法需要,如它的名字所隐含的,形成溶液的两层或更多层用于MALDI的鉴定。选定体积的样本被分配到MALDI板42上并且被干燥。接着,至少第二等分的悬浮液被分配(优选为相同体积)到干燥的悬浮液上。分配使用以上所述的自动化方法完成。第二分配的等分被干燥。任选地,更多层悬浮液可以被沉积并干燥。在两层或更多层悬浮液的最后层被干燥后,样本被处理用于MALDI(例如通过加入蚁酸并且接着在样本上施加基质,如本文所述的)。样本接着被MALDI评价。溶液分配/成层方法已经被确定为对于具有显著小于2.0麦克法兰浊度值的液体样本提供可接受的MALDI结果,对于革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌均适用。

[0281] 例如,在一个实施例中,如果液体细菌悬浮液(从琼脂板拾取的细菌菌落制备的并且悬浮在水(质谱级)中,如参考以上所述的)具有0.5麦克法兰值,该值显著低于2.0麦克法兰值,其表示溶液分配/成层样本制备可以被用于制备该用于MALDI的样本。

[0282] 在确定使用溶液分配/成层制备用于MALDI的样本之后,每层选择一定量的悬浮液。在以上具有0.5麦克法兰值的样本的示例中,选择的每层的体积为至少大约3微升并且不超过大约4微升。层的数量受到浊度值和样本体积的控制。一旦层的体积被选定并且沉积到MALDI板上,则干燥样本。确切的干燥条件是设计选择的问题并且被选择以提供快速干燥,同时保持用于MALDI试验的样本完整性。适合的干燥条件是本领域技术人员容易确定的。例如,干燥步骤可以在周围环境温度或热板(示例性的为大约40摄氏度到大约45摄氏度)的帮助下完成。在干燥后,第二层悬浮液被沉积在第一层上。第二层具有与第一层相同的体积。如果需要的话,额外的层被添加并干燥。因为成层方法需要额外的时间和物力,层的数目被限定在从MALDI获取准确结果所需要的层数。

[0283] 在溶液分配/成层样本沉积之后,样本目标并被使用典型的MALDI程序处理(添加70%蚁酸和基质)。

[0284] 已经确定MALDI样本的制备过程取决于多种因素,但是最重要的是:i) 悬浮液中微生物的浓度;ii) 悬浮液的体积;和iii) 如果适用的话,分配的次数。微生物的浓度由样本浊度反映。大体上,浊度越高,微生物浓度越高。

[0285] 如本文其他地方所述的,浊度被比浊计检测。一旦悬浮液的浊度如以上所述的被评定,关于如何进行MALDI的样本制备的决策被做出。这样的决定通过评价浊度信息和样本体积做出。在这些实施例中,样本信息被输入数据集。该数据集(用关于最适合特定样本的样本制备的信息预编程)输出推荐的MALDI样本制备方法。

[0286] 在自动化系统中,处理器控制MALDI制备协议,取决于处理器接收的关于样本的信息。系统处理器将测得的浊度与预定的浊度阈值进行比较,如本文所述的。如果处理器确定样本浊度在浊度值的预定的范围内,接着处理器提供转移预定体积的稀释样本到MALDI板42的指令。自动化系统基于处理器的指令制备用于MALDI的样本(即在MALDI之前添加蚁酸以固定样本,接着在样本上方施加MALDI基质溶液,如本文其他地方所述的)。如果处理器确定浊度超过预定范围,处理器提供指令使用小于通常体积(即如果0.5微升正常沉积在MALDI板42上,则相反对于高浊度样本,仅沉积0.25微升在MALDI板42上)制备MALDI样本。如果处理器确定浊度小于预定范围,样本在MALDI板42上沉积成层,多次沉积之间进行样

本干燥。如以上指出的,因为本文所述的方法和设备是全自动实施例,系统基于处理器的指令使用本文描述的上述自动化移液器分配悬浮液到MALDI板42上。

[0287] 图14显示了悬浮液多次分配到MALDI板42上的自动化过程的流程图。悬浮液被自动地制备并且它的浊度如本文其他地方所述的被评价。如果测得的浊度在预定范围内,一等分预定体积被沉积到MALDI板上。如果测得的浊度高于预定范围,那么较小体积的样本被沉积在MALDI板42上。如果测得的浊度小于预定范围,那么采用上述的在分配之间进行干燥的多次分配的样本制备方案。

[0288] 在一个示例性实施例中,样本被获得并且悬浮液被制备。浊度被测量。如果浊度(以麦克法兰为单位)介于大约2和大约6,大约3微升被沉积在MALDI板42上。如果样本浊度高于大约6,那么沉积在MALDI板42上的样本的量减少到大约1微升。如果样本浊度小于大约2,但是处于大约1到大约2的范围,那么大约3微升样本沉积到MALDI板42上,干燥,并且第二个3微升样本被沉积并且干燥。如果样本浊度为大约0.5到大约1,那么三“层”悬浮液,每一层为大约3微升,被沉积并干燥。如果样本浊度为大约0.25到大约0.5,那么四“层”悬浮液(每一层3微升)被沉积并干燥。

[0289] 在样本被沉积和干燥后,样本被处理进行MALDI,如本文其他地方所述的。

[0290] 每个悬浮液试管包括唯一的识别标记,其被连同悬浮液的性质(与从中获得选定微生物菌落的培养皿标识相关)保存在所述中央控制计算机的存储器中,为了准确地和以快速的方式链接到获得的附属于结果的培养皿和菌落的分析结果等目的。

[0291] 在另一实施例中,系统具有预定范围的浊度,其中不需要进行稀释用于MALDI或AST。如果浊度处于该预定范围内(例如大约0.5到大约2麦克法兰),那么悬浮液可以被用于接种MALDI板42,使用以上所述的成层方法(如果悬浮液的浓度不够高,使得将进行一次分配)。在该实施例中,接种进入悬浮液试管的悬浮液的体积也取决于测得的浊度变化。例如如果悬浮液的麦克法兰值为0.5,那么25微升体积被接种进入悬浮液试管。对于同规格的话,那么如果比浊计检测1麦克法兰悬浮液,那么该悬浮液仅使用12.5微升。两次分配传送大约相同量的微生物进入悬浮液试管11,但0.5麦克法兰悬浮液的体积是1麦克法兰悬浮液体积的两倍。因此悬浮液的麦克法兰值和接种到AST试管82内的悬浮液体积之间存在反比关系。麦克法兰值越高,接种进入悬浮液试管11内的悬浮液体积越小。这是因为对于AST,接种进入试管11的微生物的量而不是体积决定是否分配的量是足够的。如果比浊计20确定悬浮液处于预定范围之内,信息被通知给控制器30,其接着确定是否必须通过成层方法来分配到MALDI板42上,或是否单次分配是足够的。控制器30还将参考查阅表确定待分配到AST试管82内的悬浮液的体积,所述查阅表将分配的量指定为测得的浊度的函数。

[0292] 对AST盒的接种被描述于Clark等的美国专利号6,096,272中,其通过参考并入本文。实际上,悬浮液被接种进入AST接种物液体,其通过如以上所述的用于流体转移的自动机械转移进入试验盒90。AST盒90是倾斜的,接种口处于顶部用于填充(见图25)。AST盒90内的每个孔被AST接种物流体接种。接种物以蜿蜒的方式流下AST盒,当液体前沿向着吸收垫前进时填充孔。每个孔是开放的,允许液体填充孔。每个孔具有尖锐的圆形边缘以将恒定量的液体与过量部分分离并且将每个孔与相邻孔31的液体隔离。所述垫吸收过量的液体。

[0293] 如图2所示,一定量的悬浮液通过移液工具46从悬浮液试管内的悬浮液中取得,移液工具46可以被抓握工具(功能上为移液工具支架)49自动抓握和定位。移液器40被配置为

分别地定位移液工具46到悬浮液试管11上方的开始位置和自动降低和升高所述移液工具46进出所述悬浮液和将移液工具46定位在MALDI板42上方的转移位置B。当移液工具46被降低进入悬浮液试管11 内的悬浮液时,移液工具46被以本身已知的方式操作(例如使用负压)以拾取一定量的悬浮液。之后带有一定量的悬浮液的移液工具被升高到转移位置。为了盛放所述量,移液工具包括由控制阀关闭的加压腔室。移液工具46被自动地转移到靶板42的沉积点44之一上方的位置B。在该位置,移液工具46被降低到靶板42上方的预定距离,之后腔室被加压至范围为大约0.5巴到1.1巴的压力。阀接着被打开这样的时间,使得一滴体积为大约0.5到3.0微升范围的悬浮液被沉积在沉积点44上,特别是最多覆盖所述靶板42上其中一个沉积点的大约一半。在液滴被沉积之后,移液工具46从靶板42升高,并且可以转移到它可以被抛弃或清洁以再次使用的位置。

[0294] 图19显示了流程图,将图18的自动化过程的时间轴与可比较的手动实施过程的时间轴相比。手动过程被显示花费多达48小时,并且需要18-24小时的孵育时间,仅在其之后是关于生长的板评价。通过对比,因为自动化过程可以检测到菌落间甚至相对小的对比(与背景和彼此比较),在样本可以被鉴定和制备用于进一步的试验(例如AST,MALDI)之前孵育仅需要12-18小时。

[0295] 之前描述的实施例的另外的方面如下所述。前述的使用者界面给使用者提供了培养板的图像。使用者可以与界面互动以从板上拾取感兴趣的菌落。

[0296] 当使用者选择了菌落时,设备为使用者提供了菜单选择,以选择MALDI 或AST中一个或两者进行样本处理。基于拾取工具的尺寸(即本文其他地方所述的移液管),所述设备提供了拾取公差以确保菌落在指定的区域内拾取。拾取接着被锁定在目标处,并且菌落被拾取。在一个实施例中,拾取公差的直径为5mm。使用具有3mm直径的拾取工具,该距离拾取确保拾取公差内1mm直径拾取区域将被拾取。处理选择被发送到控制器以能够追踪样本的处理。

[0297] 图1-3的系统概览图显示了鉴定(MALDI-TOF)和AST(抗生素敏感性) 制备位置和使用界面触摸屏1006。图2显示了培养皿3,其上带有被指定为用于拾取的菌落4,并被移动到系统的拾取平台1020。培养皿3以本文前面所述的方式排列进行菌落拾取。培养皿3接着被扫描用于追踪。

[0298] 培养皿的盖接着被移走,并且移液管拾取工具6被移动到选定的菌落4上方。定位装置8移动移液管拾取工具6从拾取位置到接种位置A,在这里菌落被放入悬浮液试管11内,如上文所述。试管或比色皿如本文前面所述。移液管 6将样本带入里面已经存在有悬浮液液体的试管11。悬浮液的相对量被控制,使得悬浮液满足预定的麦克法兰标准,如本文前面所述。

[0299] 正如样本、悬浮液等在本文所述的方法和设备的整个处理中是可跟踪的,这些在所述设备和方法是消耗品,通过条形码实现可跟踪。所述设备将提供对设备内消耗品的全自动的库存控制。

[0300] 当悬浮液被沉积在MALDI靶板42上时,如本文其他地方所述的,它可以点样成层。样本的干燥和蚁酸的提取也如前文所述。靶板42上的MALDI点的沉积接着基质溶液的沉积是自动化的,如前文所述。

[0301] 在用于MALDI的等分从悬浮液中获取后,悬浮液被进一步用于接种用于 AST试验



的试管82。在一个实施例中,相比菌落拾取,更大的移液管46被用于AST试管接种。在一个实施例中,50微升移液管被用于菌落拾取,1毫升移液管尖端被用于制备AST的悬浮液。AST的目标浊度值在一个实施例中为0.5 麦克法兰 (McF)。带有AST肉汤的AST试管从支架上提取。在一个实施例中,肉汤试管还包括阿尔玛蓝 (Alamar Biosciences, Sacramento, Calif.)。阿尔玛蓝是氧化-还原比色指示剂,其在代谢活性、生长的有机物存在下颜色从深蓝变为亮粉色。阿尔玛蓝在敏感性分析中的使用对本领域技术人员来说是公知的,在本文中不做详细描述。作为整个系统的消耗品、试剂和样本的可跟踪性的一个例证,AST试管82被扫描。使用开盖器从AST肉汤试管上移走盖,并且所述盖接着被处理掉,之后AST肉汤试管82被转移到AST板90被接种的位置。接种位置如图2所示。图2显示了自动移液器60,其采用左边的瓶中的AST肉汤接种AST板90。染料被提供用来改变肉汤的颜色。图2显示了移液管46,其被用于使用0.5McF悬浮液接种AST试管。图2显示了移液管46通过重复抽吸和分配溶液来混合AST试管82内的悬浮液。

[0302] 图2显示了提供用于接种的AST板90 (另一消耗品) 的自动化。图2还显示了AST板90的接种。AST板90的再压盖也是自动化的。图2因此显示了设备如何提供ID和AST的样本制备的无缝过程和工作流程。系统1000可以被配置为模块化地仅实施鉴定 (MALDI-TOF)、抗生素敏感性 (AST) 中的一个,或两者均实施。考虑将本文描述的设备与更大的系统,例如Total Lab Automation 的Work Cell Automation集成。

[0303] 盒转移

[0304] 如此,系统1000可以被用于与其它实验室系统/仪器联合以有助于完全自动化的样本制备和试验。如图20所示,系统1000可以与自动化盒转移仪器2000 和一个或多个盒试验仪器2050a-d联合使用。如前文所述的,系统1000可以自动化制备用于试验的AST盒90。在所述的实施例中,盒转移仪器2000特别地配置为将这样制备的AST盒90从系统1000运送到多个AST盒试验仪器2050a-d 中的一个。

[0305] AST盒90,如图21、25和26所示,可以为任何可用于测试分析物/接种物的盒,例如BD Phoenix™ ID/AST板 (Becton, Dickinson, and Co., Franklin Lakes, NJ)。无论使用哪个盒,这样的盒90通常包括入口95,其用于用分析物对盒90 的内部空间接种,分析物例如可以包括微生物悬浮液或血液培养物。该入口95 可以被可移走的盖或隔膜99密封。例如,系统1000可以包括位于转移平台1040 内的压盖机/开盖机 (未示出),其可以对可移走的盖99进行开盖或再压盖。

[0306] 如图21所示,控制器30与系统1000 (如前文参考图3所述)、盒转移仪器2000、和盒试验仪器2050耦连。控制器30协调和控制这些系统/仪器1000, 2000, 2050a-d中的每一个以实施盒制备、盒转移和样本试验。在这点上,控制器30被配置为执行取决于盒试验仪器2050的装卸的类型的特定任务。例如,控制器30可以配置为允许手动和/或自动地从制备系统1000将盒90分布/转移到盒试验仪器2050,手动和/或自动地装载试验仪器2050,和手动和/或自动地从试验仪器2050移走盒90,其可以接着被手动或自动地转移到存储箱2006或废物箱2004。控制器30的形式可以是描绘的台式计算机,与触摸式平板合并,例如图1所示的平板1006,或一些本领域公知的其他形式。可替换地,可以使用多个控制器。例如,控制器30可以连接到仪器1000和盒转移仪器2000,同时另一控制器 (未示出) 可单独地连接到试验仪器2050。这样的控制器可以彼此通讯以协同盒的转移。

[0307] 盒转移仪器

[0308] 盒转移仪器2000,最好如图20所示,可以为多轴机器人,其包括z轴臂 2010,x轴臂 2012,旋转部件2014,盒夹具组件2015和真空泵2002。盒夹具组件2015连接到旋转部件2014,其可以旋转盒夹具组件2015,使得其以一个取向面对系统1000和以另一个取向面对试验仪器2050a-d。在这点上,旋转部件2014可以围绕z轴旋转盒夹具组件至少180度。旋转部件2014和盒夹具组件2015可以连接到x轴臂2012,其自身连接到z轴臂2010。Z轴臂2010可以在垂直方向上移动盒夹具组件2015,使得访问试验仪器2050a-d中的任一个,其被描述为以垂直排列堆叠。另外,x轴臂2012可以在系统1000和仪器2050a-d 之间在x轴上移动盒夹具组件2015。

[0309] 图22-24描述了盒夹具组件2015,其通常包括可移动臂2030,支撑臂2038,和夹具板/部件2020。可移动臂2030从支撑臂2038悬挂并且相对于支撑臂2038 沿着它的轴可移动,例如通过支架和小齿轮结构。可移动臂2030包括曲线形的顶部表面2034,最好如图23中所示的。夹具板2020邻近曲线形顶部表面2034 枢转地耦连到可移动臂2030,并且围绕连接这两个部件的耦连件2036的轴枢转。当夹具板2020在第一位置和第二位置之间枢转时曲线形顶部表面2034帮助引导和支撑夹具板2020。

[0310] 夹具板2020围绕枢转轴的枢转功能进一步通过使用扭力弹簧2035完成,其被描述于图23中。扭力弹簧2035绕着将夹具板2020和移动臂2030耦连的耦连件2036盘绕。在这种方式下,当力施加到夹具板2020并且夹具板2020从第一位置枢转到第二位置时,扭力弹簧2035的张力增加。随着张力增加,增加了在扭力弹簧2035中的势能以便偏向所述第一位置。在这方面,当所述夹具板 2020被向后倾斜进入第一位置或休息位置使得它的盒接触表面2026相对于垂直轴是倾斜的时,在这种所示的配置中的扭力弹簧2035的势能最低,最好如图 23所示。在第一位置,盒接触表面2026优选地相对于垂直轴成约30度。然而,考虑当处于休息位置时,夹具板2020的角度可以大于或小于30度。

[0311] 力施加到板2020的底端,其可以引起夹具板2020从休息位置朝着第二位置或转移位置(未示出)移动。当处于第二位置时,弹簧2035是拉紧的使得当力从板2020底部释放时,板返回到休息位置。在第二位置,夹具板的盒接触表面2026位于与其处于第一位置时不同的角度。例如,夹具板2020取向为使得盒接触表面2026优选地在第二位置处基本是垂直的。然而,第二位置可以从第一位置的枢转范围内的几乎任何角度,并且通常是使盒2020与相对面2072 平齐接触的任意角度。相对面2072,如图22所示,是盒支撑结构2070的表面,其从夹具组件2015接收盒2070或将盒90移交给夹具组件2020。该盒支撑结构 2070可以位于试验仪器2050中或也可以位于系统1000中。可替换地,盒支撑结构可以是托盘,例如托盘2040,如图26所示。因此,如所述的,夹具板2020 可以在休息位置和转移位置之间枢转。盒夹具板2020枢转的能力使得夹具板 2020能夹住、取回、重新定位和释放目标,例如AST盒90。

[0312] 盒接触表面2026适于在其接触时夹住盒90。在一个示例中,通过负气压施加在夹具板2020的盒接触表面2026上实现夹住。为了获得负气压,吸盘2028 被嵌入板的盒接触表面2026上(见图24)并且与通过板2026的开口馈送的气动管道2037连接,其从真空泵2002提供真空(见图20)。

[0313] 在使用方法中,当夹具板2020位于第一位置时,夹具板2020通过移动臂 2030朝着

第一盒支撑结构2070前进,其可以位于系统1000内(见图22)。在这点上,夹具板2020的底部边缘到达盒90,并且在夹具板2020的其他部分之前首先接触盒90。以这种方式向着盒90前进的夹具板2020有助于夹具板2020 匹配地与盒90接合,并且把盒90从盒支架2070上移走。当夹具板2020接触盒90时,移动臂2030继续前进,其在扭力弹簧上施加力,并且引起夹具板2020 从第一位置枢转到第二位置。当夹具板2020的盒接触表面2026几乎平齐于保持盒90的固定的相对面2072时,到达第二位置。在第二位置,盒接触表面2026 也大致与盒表面92(见图25)平齐,使得真空压力推动盒90紧靠着夹具板2020,并且将夹具板2020保持在其上。

[0314] 在那之后,当盒90被紧固到夹具板2020时,夹具组件2015从盒支撑结构2070移走,其移走了在第二位置支撑板2020的力,这引起夹具板2020和盒 90在弹簧2036的偏压下返回到第一位置。这有助于从盒支撑结构2070移走盒 90。另外,移动臂2030沿着支撑臂2038在远离盒支撑结构2070的方向移动,使得支撑臂2038上的减震器表面2039(见图24)对着被夹具板2020握住的盒 90的上部表面推动。这使得夹具板2020枢转回到第二位置,使得盒90取向为基本垂直的方向。这提供了与盒支撑结构2070的间距,用于夹具组件2015被旋转部件2014旋转,使得盒90可以被传送到另一个接收它的盒支撑结构2070。

[0315] 在这点上,旋转部件2014朝着第二盒支撑结构2070旋转夹具组件,其可以位于试验仪器2050内。以这种方式旋转使得夹具板2020出现在第二盒支撑结构2070处。当与第二盒支撑结构2070对齐时,移动臂2030朝着支撑结构2070 前进,其将减震器表面2039与盒分离,借此释放将盒90和夹具板2020保持在第二位置的力。这使得当它朝着第二支撑结构2070前进时,盒90和夹具板2020 移动到第一位置。在这点上,盒90的底端首先被第二盒支撑结构2070接收。当移动臂2030进一步前进时,由第二盒支撑结构2070施加的阻力帮助将盒90 向着第二位置枢转,这样它与支撑结构2070的接收表面2072大致平齐。在该点上,盒90被支撑结构2070接收,并且真空被关闭,使得夹具板90移走并回到第一位置。

[0316] 考虑了盒夹具组件2015的可替换特征。例如,在另一实施例中,夹具板 2020的枢转功能被通过使用压缩弹簧(未示出)来提供。压缩弹簧位于夹具板 2020和移动臂2030的底部表面2032之间。在第一位置,压缩弹簧具有相对低的势能。随着夹具板2020从第一位置枢转到第二位置,弹簧被压缩并且弹簧的势能增加。在变型中,压缩弹簧被足够的压缩力预负载,以确保夹具板2020在接触盒支撑结构2070之前不易于向任何方向倾斜。当臂2030将板2020从一个位置移动到另一个时,弹簧内的压缩用于将夹具板2020保持在适当的位置上。

[0317] 在另一实施例中,夹具板2020的枢转功能通过使用拉力弹簧(未示出)完成。如同上述压缩弹簧,拉力弹簧被放置在夹具板2020和臂2030之间,然而,在这个情况中,弹簧放置在臂2030的顶部表面2034上方。这确保了当夹具板2020从第一位置移动到第二位置,弹簧内的张力增加,朝向后者存储了更多能量。在类似于上述压缩弹簧的变型中,拉力弹簧可以在第一位置预负载张力。

[0318] 在另一个实施例中,弹性部件(未示出)被用于提供枢转功能。弹性部件是这样的结构,当夹具板2020从第一位置枢转到第二位置时它从平衡状态变形,并且然后当夹具板返回到第一位置时它回到它的原始尺寸。弹性部件优选由这样的材料制成,其具有足够低的杨氏模量,当夹具板接触并更靠近盒支撑结构 2070时,足以允许响应于通过与固定的仪器接触产生的阻力的弹性变形。

[0319] 在另一实施例中,波形弹簧(未示出)提供了枢转功能。波形弹簧相对于组件2015的放置和操作类似于压缩弹簧,并且可以另外地以本领域技术人员公知的方式定位和连接。

[0320] 在其他实施例中,与以上描述的那些不同的被动方式可以被用于提供枢转功能。控制的被动方式对于本领域技术人员来说是公知的,并且在本文中不做详细描述。

[0321] 在进一步的实施例中,主动方式可以被用于提供枢转功能。主动控制的示例包括线性驱动器,例如电子或气动驱动器,活塞,例如电动或气动活塞,旋转滚珠丝杠和螺母,和齿条和齿轮。还可以考虑任何本领域技术人员公知的主动控制方式。

[0322] 在以上实施例中的任一个中,夹具板2020可以设定尺寸以适应特定盒的尺寸。这种方式下,夹具板的尺寸不被限制在特定的宽度或长度。另外,夹具板的厚度很大程度上是设计选择的问题,条件是其基于使用的材料足以支撑期望的目标负载。

[0323] 而且,在以上实施例中的任一个中,夹具板2020的盒接触表面2026可以适于与不同盒类型、形状和尺寸平齐。例如,接触表面2026的特征可以是在夹具板2020的长度上的凹面或凸面形状。

[0324] 在以上实施例中的任一个中,夹具板2020可以适于包括多个用于抓握特定目标的表面特征。例如,图25所示的盒90包括多个特征,其可以被用于通过夹具板2020抓握。这些中包括以大致纵向方向走向的在盒的中心区域附近的缝隙93,在盒90的顶部表面的中心部分内的凹面区域94,在盒90的最上端和最下端的隆起物96。

[0325] 为了适应这些盒的特征,接触表面2026可以包括凸起形状和定位以适应盒90的相关特征。夹具板2020也可以这样构造,其中在隆起物26之间扩张,以在盒90的纵向轴上施加相反方向的力。换一种方式,夹具板2020可以适于抓紧隆起物96。还可以考虑另一种夹具板结构,例如带有可相对的指状物,可以适于夹住盒90的侧面98。

[0326] 在以上实施例中的任一个中,夹具板2020的表面2026可以包括保持已经被抓住和收回的目标的对准的结构。在一个实例中,收回的盒90的相对于夹具板2020的改进的对准由轨道2027提供,轨道2027平行于板2020的侧面行走并且可从板的顶部向底部延伸,如图24所示。

[0327] 用于AST的样本盒的自动加载

[0328] 图27A-27D描述了示例性的盒试验仪器2050。特别地,所述的盒试验仪器2050是AST仪器。然而,应该理解的是本文描述的原理是可以应用到任何实验室仪器,其中需要自动化输入和样本盒的移动。

[0329] 盒试验仪器2050通常包括其中限定腔室的外壳2052和用于访问所述腔室的第一或手动门2060和第二或自动门2066。外壳2052可以包括布置在腔室内的盒支架2054,其包括多个容器或盒支撑结构2073用于接收各个盒90。盒支架2054和容器可以在腔室内通过启动容器驱动器2078(例如电机和传送带)而移动,使得每个容器是可以从门开口拿出的,用于接收或移走盒90。在一个示例中,盒支架2054可以为带有多个容器2073的鼓,其围绕轴旋转。

[0330] 如图27A所示,第一门2060通常位于仪器2050的第一侧(在该实施例中视为前面)并且可手动操作。第一门2060是安装到外壳2052的铰链上,并且包括机械或磁性门闩2064或锁定插销,其可以在试验仪器的运行期间被自动锁定机械2074锁定,以阻止第一门2060

打开。在可替换实施例中,不同于与外壳2052的铰链连接,第一门2060可以可滑动地与导轨连接,这允许门滑动打开或关闭。

[0331] 如图27B-27D所示,第二门2066通常位于仪器2050的第二侧(在该实施例中视为背面)并且可自动操作。第二门2066可滑动地设置在导轨2056内,允许门2066从一侧滑到另一侧,并且耦连到线性或门驱动器2076,例如导向螺杆、支架和小齿轮(rack and pinion)、气动气缸/活塞、机动线性驱动器、或一些其他机械或机电装置。该门驱动器2076打开和关闭门2064。导轨2056至少部分地限定了第二门打开的展开度。第二门2066可以暴露一个或多个盒支架2054。两个独立操作的后自动门被预见允许仅暴露顶部盒支架或底部盒支架的灵活性。这可需要使用另外的导轨2056和门驱动器2076。

[0332] 试验仪器2050可以包括另外的门,例如第三和第四门,其可以布置在仪器2050的侧面,并且可以为手动或自动操作的。另外,第二门2066可以可替换地布置在仪器2050的与第一门2060所处的前侧面邻近的侧面。在另一实施例中,自动门2066可以集成到手动门2060中,使得在手动操作期间,自动门2066随手动门2060移动,并且在自动操作期间,仅自动门2066打开和关闭,同时手动门2060保持关闭。当然,还考虑试验仪器2050可以仅有一扇门,其可以为自动操作的。

[0333] 如以上提到的,试验仪器2050可以被合并到更广泛的系统中作为部件子系统,更广泛的系统包括转移仪器2000,和制备系统1000并且其被控制器30控制。如此,试验仪器2050可以包括部件2070,其通讯连接控制器30和/或被控制器30控制。该部件在图28A中显示,并且通常包括但是不限于使用者输入界面2071、显示器界面2072、以及锁定机械2074、门驱动器2076和容器驱动器2078。

[0334] 如图27A所示,外壳2052还可以包括使用者输入界面2071和显示器界面2072。使用者界面2071可以为一个或多个按钮或触摸屏,这允许使用者/操作者输入命令或请求,例如手动重写请求或指令。例如,当试验仪器2050处于自动模式时,控制器30操作第二门2066的门驱动器2076,同时控制器30操作锁定机械2074保持第一门2060锁定。输入界面2071可以被配置为使得使用者可以重写自动模式,使得当试验周期完成时,控制器30停用门驱动器2076,并且操作锁定机械2074允许使用者以打开第一门2060。另外,使用者输入2071可以被配置为允许使用者进一步指定盒90是装载还是卸载。控制器30可以接着确定是否合适的盒90或容器正确地出现在手动门开口。

[0335] 显示器界面2072可以为屏幕或LED光。当使用者通过使用者输入界面2071请求手动模式时,显示器界面2072可以出现仪器2050内的试验仍然在进行并且第一门2060不能打开直到试验结束的警告。显示器界面2072还可以显示信息或指示何时第一门2060没有锁定以开始手动装载或卸载。显示器界面2072还可以显示仪器2050目前的模式,不论它是手动的或自动的。

[0336] 另外,盒转移仪器2000可以包括与控制器30通讯连接和/或被控制器30操作的部件2041。该部件显示在图28B内并且通常包括但不限于盒夹具2020、盒移置驱动器(一个或多个)2030和盒位置传感器(一个或多个)2048。

[0337] 如以上提到的,盒夹具板2020可以包括真空口/吸盘2028,其提供固定和释放盒90的吸力。提供该吸力的真空泵2002的打开/关闭操作可由控制器30控制。

[0338] 盒移置驱动器2030控制转移仪器2000的移动。因此,在如前所述转移仪器2000是

机器人的情况下,移置驱动器2030为机器人提供自动的自由度移动,以移动夹具板2020和任何附于其上的盒90。控制器30控制驱动器2030以导引盒的移动并且还当试验仪器2050的手动模式开启时停用驱动器2030。

[0339] 为了确定附于夹具板2020的盒90的定位和取向,转移仪器2000可以包括盒位置传感器2048,其与控制器30在反馈电路上通讯连接,以帮助导引盒的转移。

[0340] 如上提到的,控制器30可以为台式计算机或一些其他计算装置并且可以包括显示器界面2072和使用者界面2071,例如键盘和鼠标。而且,如图28C所示,控制器的计算体系通常包括处理器32和存储器34。如图28C所示,控制器还可以包括子系统界面36。

[0341] 子系统界面36,其可以包括外部总线,将控制器30耦合到制备系统1000、盒转移仪器2000和盒试验仪器2050。特别地,指令和数据在控制器30和部件2070之间通过子系统界面36通讯。

[0342] 存储器/数据存储34可以包括RAM、ROM、闪存等等。存储器34包括处理器控制指令37和存储的数据38。处理器控制指令37包括与例如锁定机械2074、门驱动器2076、容器驱动器2078和输入界面2071的操作相关的指令。存储的数据38可以包括盒识别(例如条形码信息或序号)、对应的容器识别和定时信息、试验开始时间和试验长度。

[0343] 在包括自动化盒转移的方法的一个实施例中,盒90是从试验仪器2050自动装载和自动卸载的。在该实施例中,制备系统1000通过用样本接种盒90制备AST盒90,如以上详细所述的。更特别地,盒90通过一个或多个机器人自动接种,其可以移走盒90的入口盖99(例如帽)。移液器60将分析物分配入盒90内。可替换地,入口可以被隔膜覆盖,这种情况下机器人可以使用针穿过隔膜来接种盒90内部。之后,盒90可以被放置在拾取位置,例如在转移平台1040内,并且制备系统1000通知控制器30,盒90准备进行试验并且时间准备完成。

[0344] 之后,控制器30操作盒转移仪器2000,其拾取被接种的盒90并且通过夹具组件2015和移置驱动器2030将它转移到试验仪器2050内的用于这样的盒的预定容器。控制器30还启动门驱动器2076和容器驱动器2078,其打开试验仪器2050的第二门2066并且使用来自盒位置传感器2048的反馈将容器移动成与第二门开口对齐。

[0345] 转移仪器2000接着将盒90放入容器并且将特定的盒/容器位置(其与盒的其他限定有关)通讯给控制器30。按控制器30指令,转移仪器2000接着取回另外的盒90。通常,在试验之前容器将被盒90填充满。当盒支架2054按控制器30指令被盒90填充时,这被转移仪器2000或试验仪器2050感应并且通讯给控制器30。控制器30接着操作容器驱动器2078,其将更多的空容器提供到第二门开口。一旦所有的容器按控制器30指令被盒填充,控制器30启动门驱动器2076,关闭第二门2066并命令试验仪器2050开始试验,在该实施例中试验为AST。

[0346] 一旦试验完成,控制器30启动门驱动器2076并操作盒转移仪器2000,或另一盒转移仪器,以通过盒移置驱动器2030从试验仪器2050内的它们各自的容器移走试验过的盒。这样的盒可以被移动到存储箱2006。可替换地,转移仪器2000可以将试验过的盒倒入废物箱2004。该过程可以连续执行24小时/天,7天一星期。

[0347] 在另一个方法的实施例中,试验仪器2050可以为手动装载或卸载的。最初,仪器2050可以设置为自动模式,其中转移仪器2000实施如上所述的关于自动转移的第一方法实施例的自动装载和卸载。然而,在使用者选择进行试验仪器2050的手动装卸或卸载的情况

下,使用者可以接通使用者界面2071以设置仪器2050和整个系统进入手动模式。一旦使用者界面2071被接通,试验仪器2050通知控制器30,其停用门驱动器2076并确定是否目前有试验正在进行。其他子系统可以被控制器30停用,例如盒转移仪器2000。如果没有试验正在进行,控制器30启动锁定机械2074,其将第一门2060解锁。如果试验正在进行,控制器30保持门2060锁定并且通过显示器界面2072向使用者通知或指示,门2060不能被打开。一旦试验完成,控制器30解锁第一门2060并且告知使用者可以接受继续进行的通知。使用者可以接着打开第一门2060并且开始用接种过的盒90手动装载或卸载试验仪器2050。

[0348] 在一些实施例中,使用者界面2071提供了另外的功能,例如规定是否需要手动装卸,而不是仅启动手动模式。还考虑特定盒90,其可以被识别用于移走。在使用者命令了手动装载的情况下,控制器30,连同启动锁定机械2074 解锁第一门2060,并且启动容器驱动器2078以移动一个或多个空容器与第一门开口对齐。相反,在选定了手动卸载的情况下,控制器30操作容器驱动器2078 以将已经被试验过的盒出现在第一门开口,使得它们可以被手动卸载。

[0349] 替换系统

[0350] 以上讨论的特征的多种变型、添加和结合可以在没有背离本发明的情况下使用。例如,图29描述了备选的制备系统1000'。系统1000'与系统1000类似,其中它包括外壳,其将几个平台例如接收平台1010、制备平台1030、和转移平台1040容纳其中。然而,系统1000'在它的拾取平台1020'方面是不同的。如前关于系统1000所述的,平台1020包括定位装置8,其承载拾取工具6并使用该拾取工具6以从板3上的菌落4拾取样本,并将该拾取的菌落转移到悬浮液试管11。该定位装置8包括转移装置15,当其被浸入悬浮液介质内时被用于振荡所述拾取工具。

[0351] 平台1020',在另一方面,分离定位装置8和转移装置15。在这点上,定位装置8和转移装置15独立地连接到转移轨道18。转移装置15包括配有抓握工具17的转移支架16,以可释放地抓住拾取工具6。以这种方式,转移工具15 可以被移动到定位装置8,使得抓握工具17可以从定位装置8接收拾取工具6。拾取工具支架9在抓握工具17已经抓住拾取工具之后释放拾取工具6。在图29所示的实施例中,拾取工具6',之前已经拾取微生物4的样本,被转移装置15 定位在悬浮液试管11上方的由实线表示的开始位置。转移装置15被配置为降低拾取工具6' 进入悬浮液试管11内包含的悬浮液介质14,在该位置处,如图29的虚线所示,将带有样本19的拾取工具6' 浸入悬浮液介质14内。在该位置,转移装置15被启动以线性垂直移动振荡拾取工具6' 一段时间,这足够将样本从第二拾取工具6' 释放。之后,转移装置15将已经释放了其内容物的拾取工具6 定位在悬浮液试管11上方的等待位置,该等待位置在图29所示的实施例中等同于转移装置15的开始位置。之后,转移装置可以在废物箱上方释放拾取工具6,在此期间定位装置8可以已经取回第二个拾取工具和第二个样本。因此,在该实施例中,定位装置将拾取工具推到转移装置15,而不是通过将样本转移到悬浮液介质而保留拾取工具。该实施例可以被用于拾取工具不需要主动吸力或真空以保持样本的情况。

[0352] 另一个实施例的制备系统3000显示于图30中。系统3000类似于系统1000,其中它包括外壳,其将几个平台例如接收平台(未示出)、拾取平台4020、制备平台4030、和转移平台4040容纳其中。另外,拾取平台4020包括承载拾取工具3006的定位装置3008,且制备平台

包括移液器2040,其承载移液管尖端3046。然而,与系统1000不同,其中悬浮液试管11保持在相同的通用位置,用于通过定位装置8用拾取的样本19接种和通过移液器40进行悬浮的样本的取回,定位装置3008和移液器3040被归入它们各自的平台3020,3030。换句话说,移液器3040不从制备平台4030移动到拾取平台4020以从悬浮液试管3011取回悬浮的样本,而是悬浮液试管3011在被拾取工具3006接种之后被从拾取平台4020移动到制备平台4030。

[0353] 这通过悬浮液试管移动器3070实现。悬浮液试管移动器3070是通常布置在面板3007下方的机器人,并且被配置为在至少两个维度移动,如图30的双向箭头所示。特别地,悬浮液试管移动器3007被配置为分别地支撑(例如通过容器或夹具)悬浮液试管3011,和在面板3007下方移动悬浮液试管3011,以及在位于拾取平台和制备平台的预先指定的位置A和A'之间移动悬浮液试管3011。在这点上,面板可以具有穿过其的开口,在那里移动器可以在这些预先指定的位置升高或降低悬浮液试管。

[0354] 另外,这些位置A和A'中的每一个具有比浊计3020,3060,例如前述的比浊计之一,其包括激光器或光发射器3021,3061和检测器3022,3062。因此,位于拾取平台4020的第一位置A包括第一比浊计3020,和位于制备平台4030的第二位置A'包括第二比浊计3060。在一个实施例中,比浊计为8通道装置,其可以同时检测8个比色皿中的浊度,例如通过包括多个光源和检测器。

[0355] 在使用系统3000的方法中,培养皿3003被从接收平台移动到拾取平台4020,并且可以定位在平台3002上。该培养皿3003包括培养介质3005和一个或多个微生物菌落。选择目标菌落3004并且拾取工具3006被定位在目标菌落3004上方。拾取工具3006被降低以通过定位装置3008从目标菌落3004取回样本3019。之后,定位装置3008将拾取的菌落3019移动到拾取平台4020内的悬浮液试管2011上方的位置A处。定位装置3008降低拾取的微生物3019并将它浸入悬浮液试管3011内的悬浮液介质。转移装置3015振荡拾取工具3006以将微生物释放到悬浮液介质中。比浊计3020检测悬浮液的浊度。可以实施微生物3004的另外的拾取直至获得期望的浊度。

[0356] 一旦通过连续的菌落拾取获得了期望的浊度,试管移动器3070将其中带有微生物悬浮液的悬浮液试管3011'降低直至它位于面板3007下方。移动器接着移动试管3011'到位于制备平台4030的第二试管位置A'处。之后,移动器3070穿过面板3007的开口将试管3011'升高以制备MALDI板3042。MALDI板通过移液器3040制备,其移动到试管3011'上方的位置A'处,并且从中取回一等分悬浮液。移液器3040接着将所述等分移动到MALDI板3042上方的位置B,在那里移液器3040将所述等分在预定位置3044沉积到MALDI板3042,如以上详细描述。一旦MALDI板3042被制备好,移液器3040可以接着在第二试管位置A'将去离子水或一些其他悬浮液介质吸取放入悬浮液试管2011'。在第二试管位置A'处的比浊计3060检测浊度。一旦获取了用于AST的期望的麦克法兰数,移液器3040在位置A'从悬浮液试管2011'吸取一等分,并且接着将该等分转移到位置C,在那里移液器3040使用悬浮液接种AST肉汤试管3082。AST肉汤试管3082通过AST试管移动器3080被移动到转移平台4040,以类似于移动器3070的方式,通过降低试管到面板3007下方并且将它在面板下传送到转移平台4040内的位置进行。从这里,AST试管3082内的样本被接种到AST盒90内,如前所述。

[0357] 在系统3000的其他实施例中,制备平台4030可以包括两个试管位置,这样系统总共包括三个悬浮液试管位置,一个在拾取平台4020内,且两个在制备平台4030内。在该实施



例中,制备平台4030内的试管位置中的一个可以被用于MALDI板制备,而制备平台4030内的其他位置可以被用于制备AST试管 3082。在这点上,用于MALDI制备的试管位置可以不具有比浊计,因为用于 MALDI制备的悬浮液浊度已经被拾取平台4020的比浊计3020测定。然而,用于AST试管制备的悬浮液试管位置将具有比浊计3060,使得有助于移液器2040 稀释悬浮液以达到用于AST的适当的麦克法兰数。

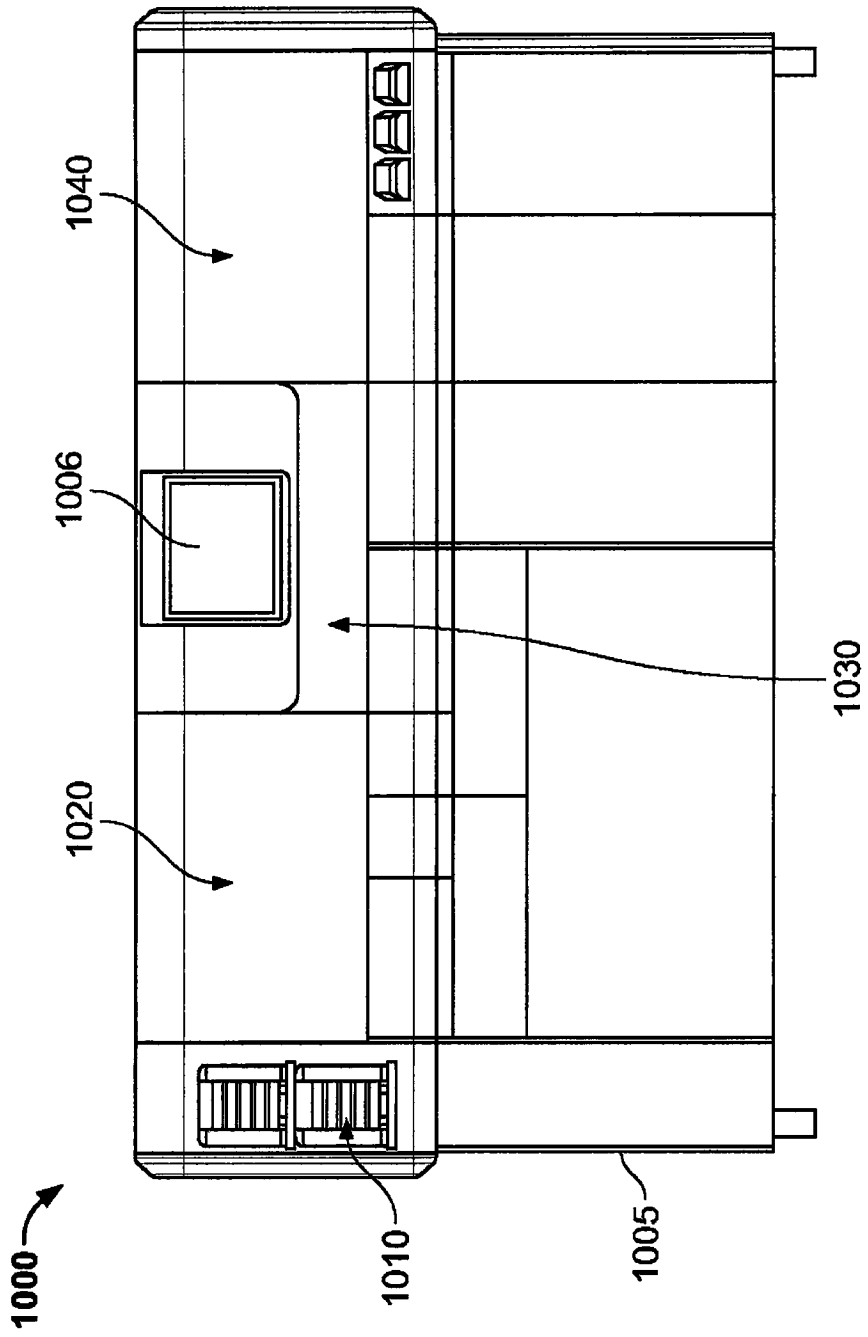


图1

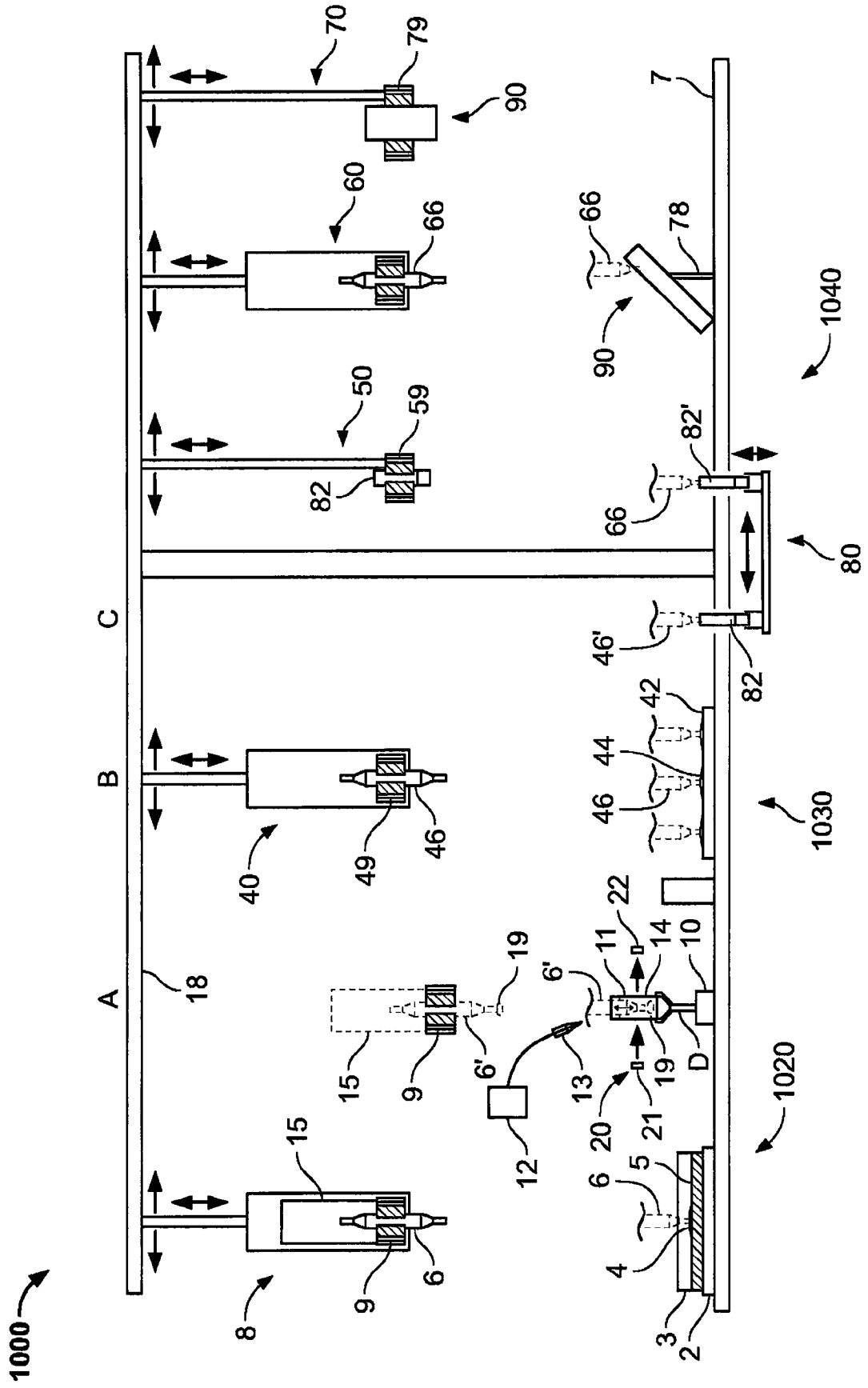


图2

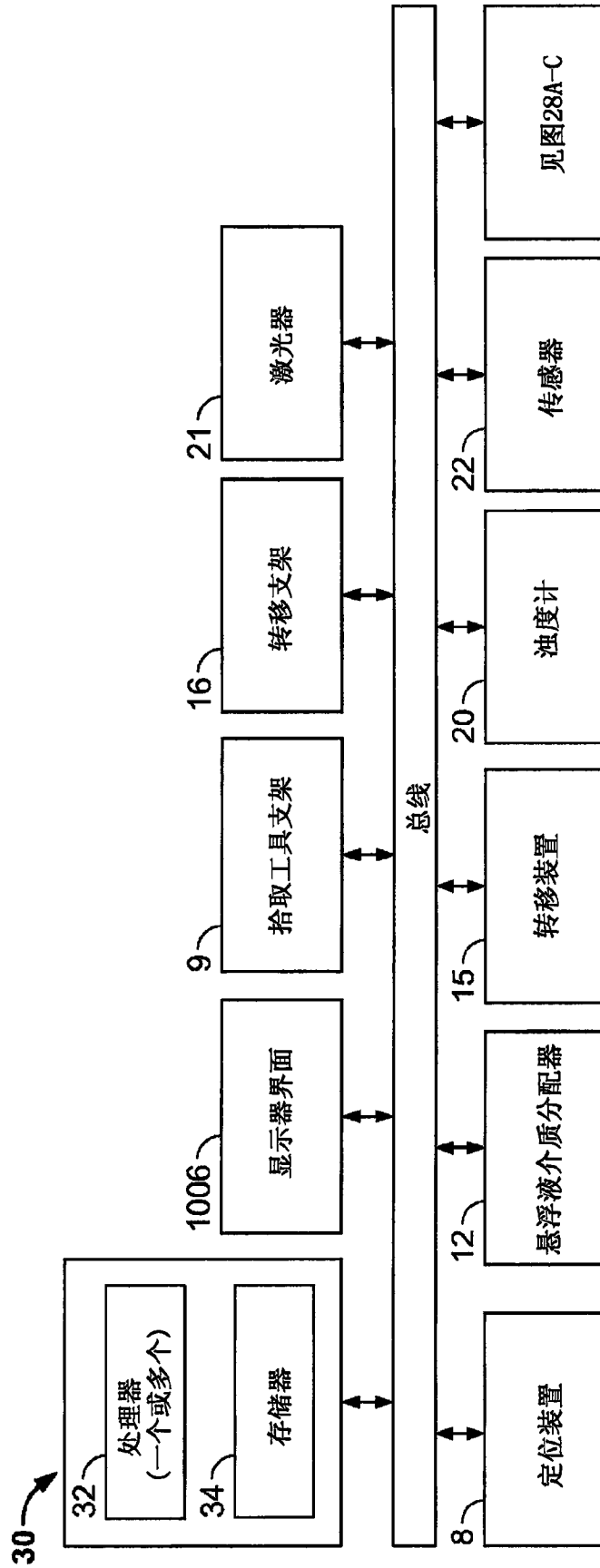


图3

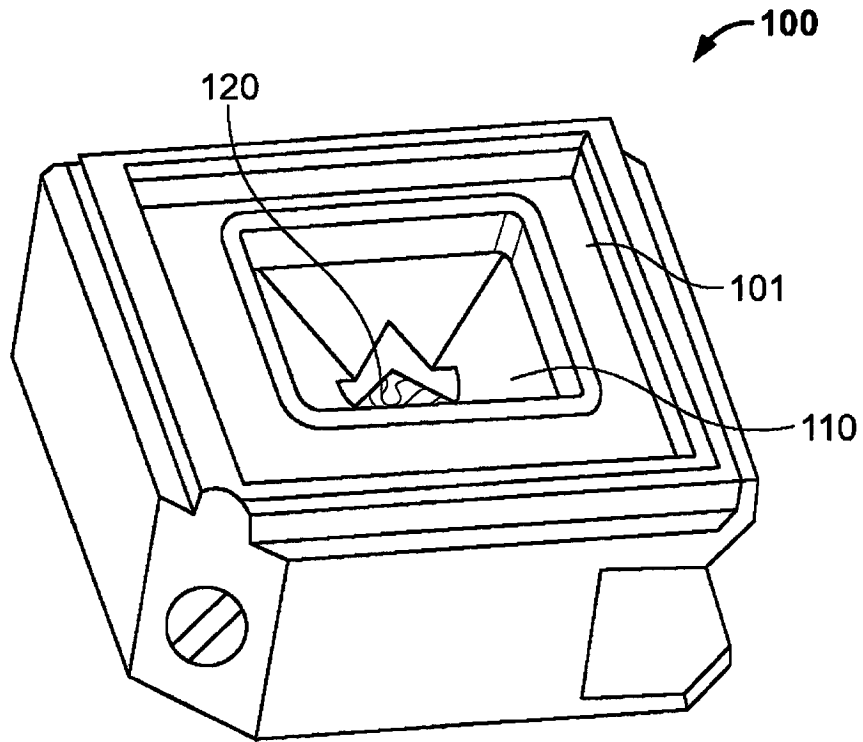


图4A

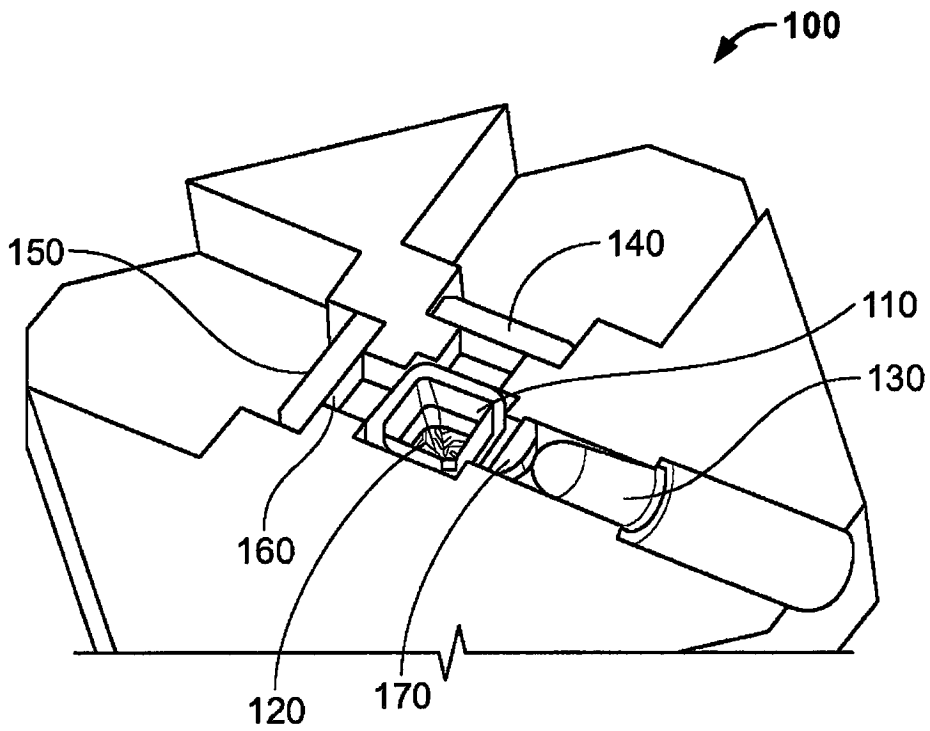


图4B

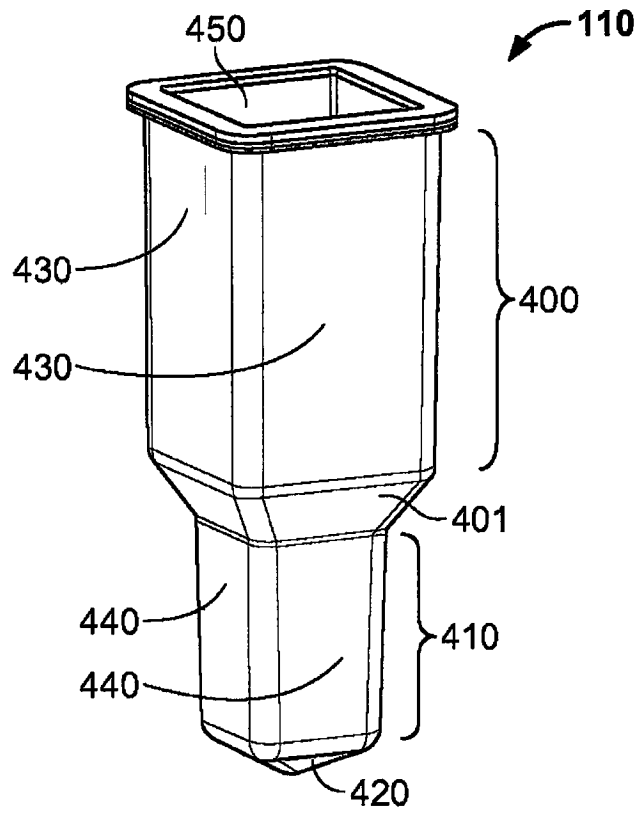


图5A

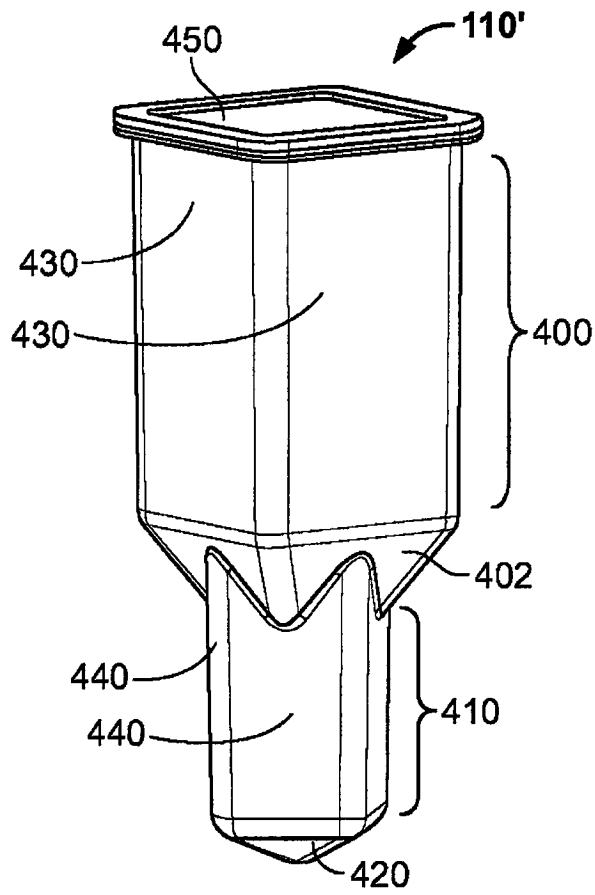


图5B

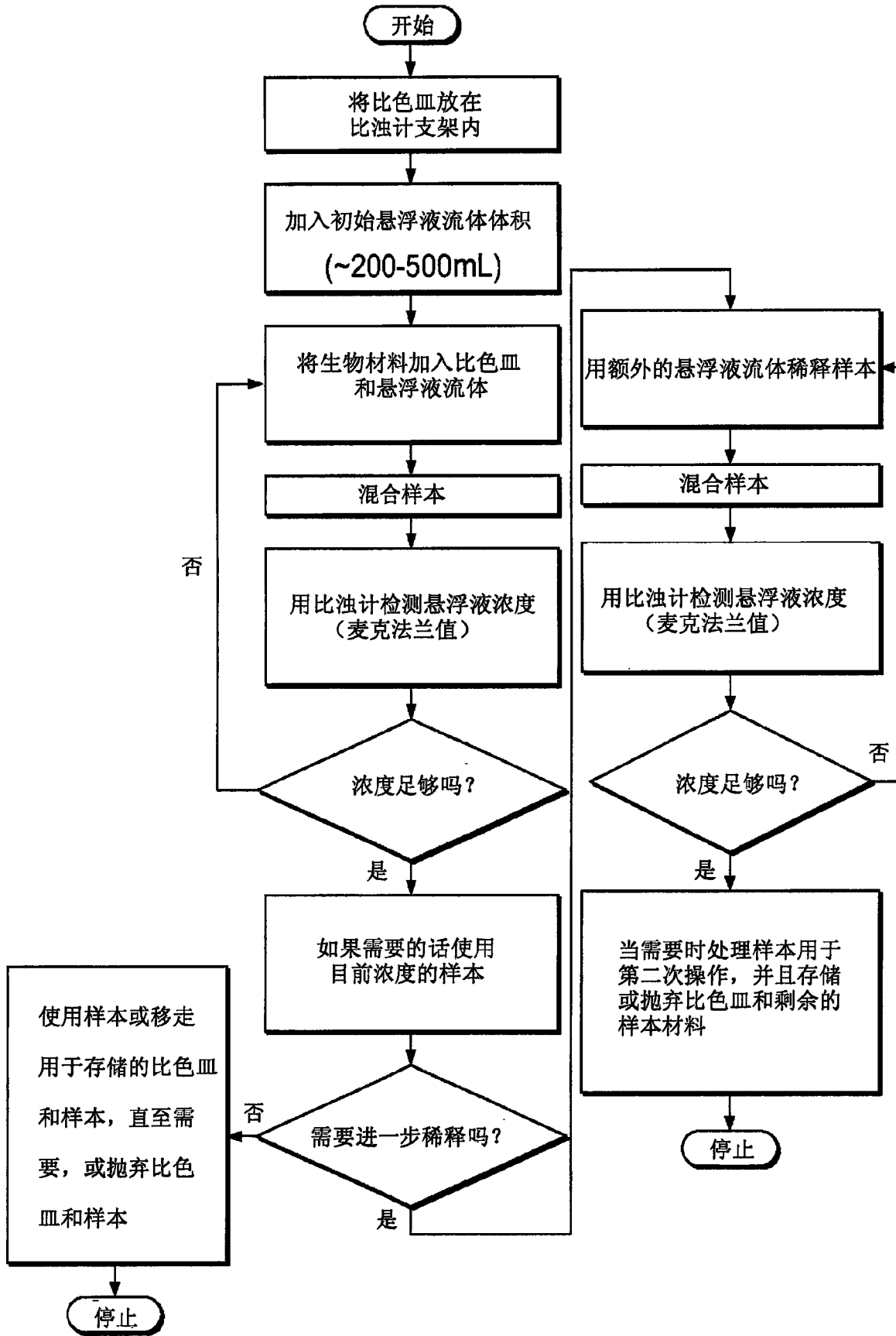


图6



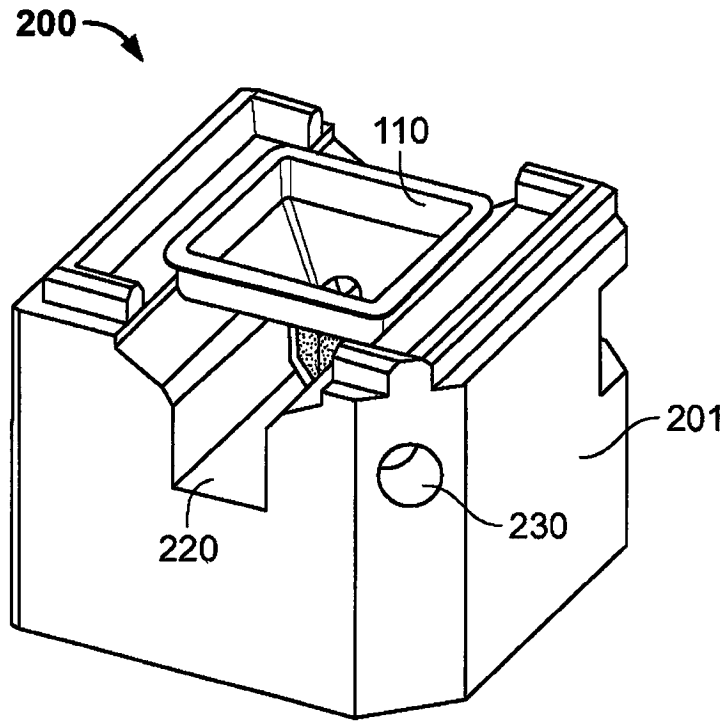


图7A

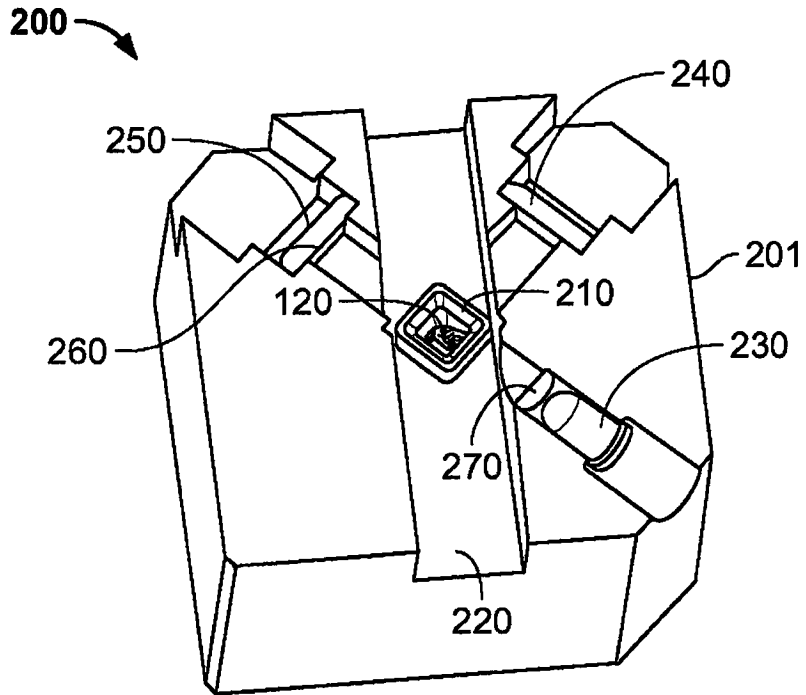


图7B

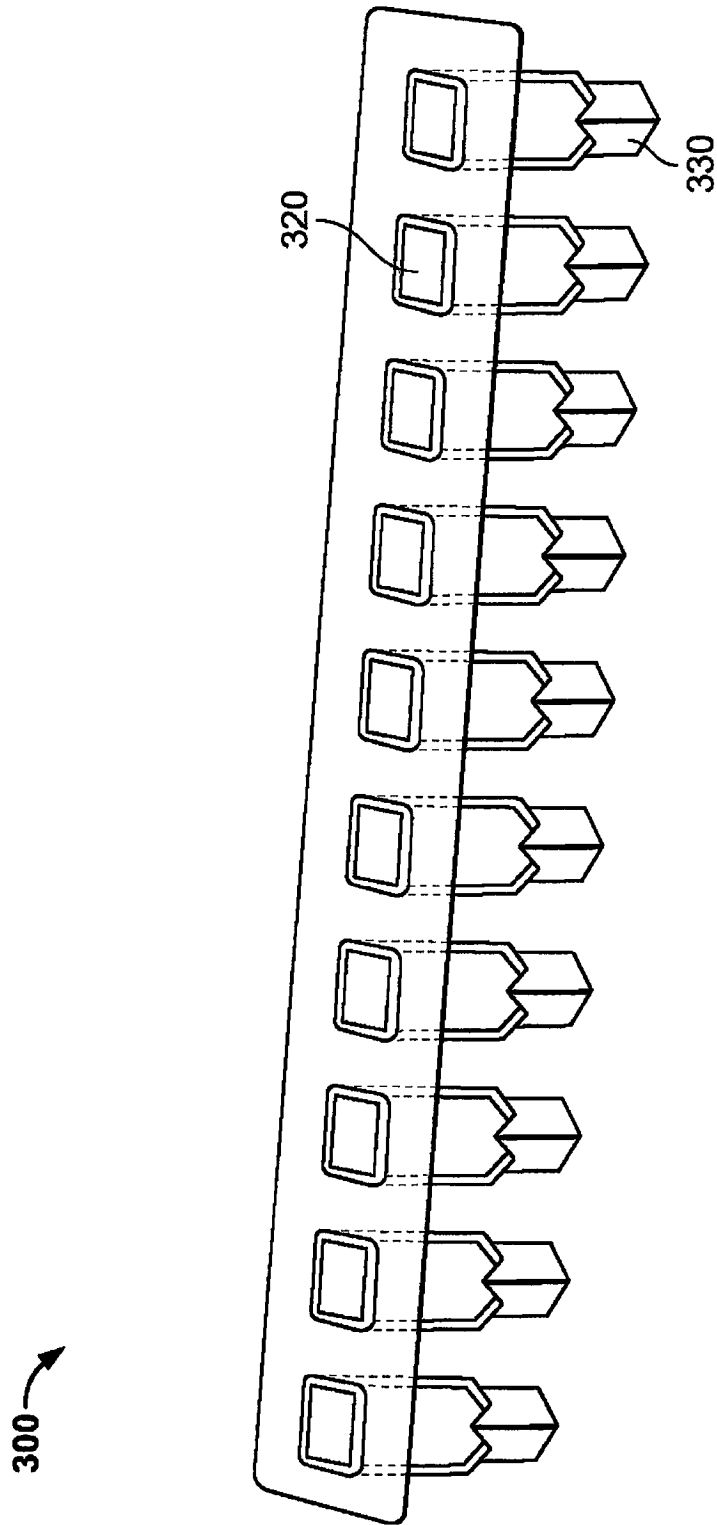


图8

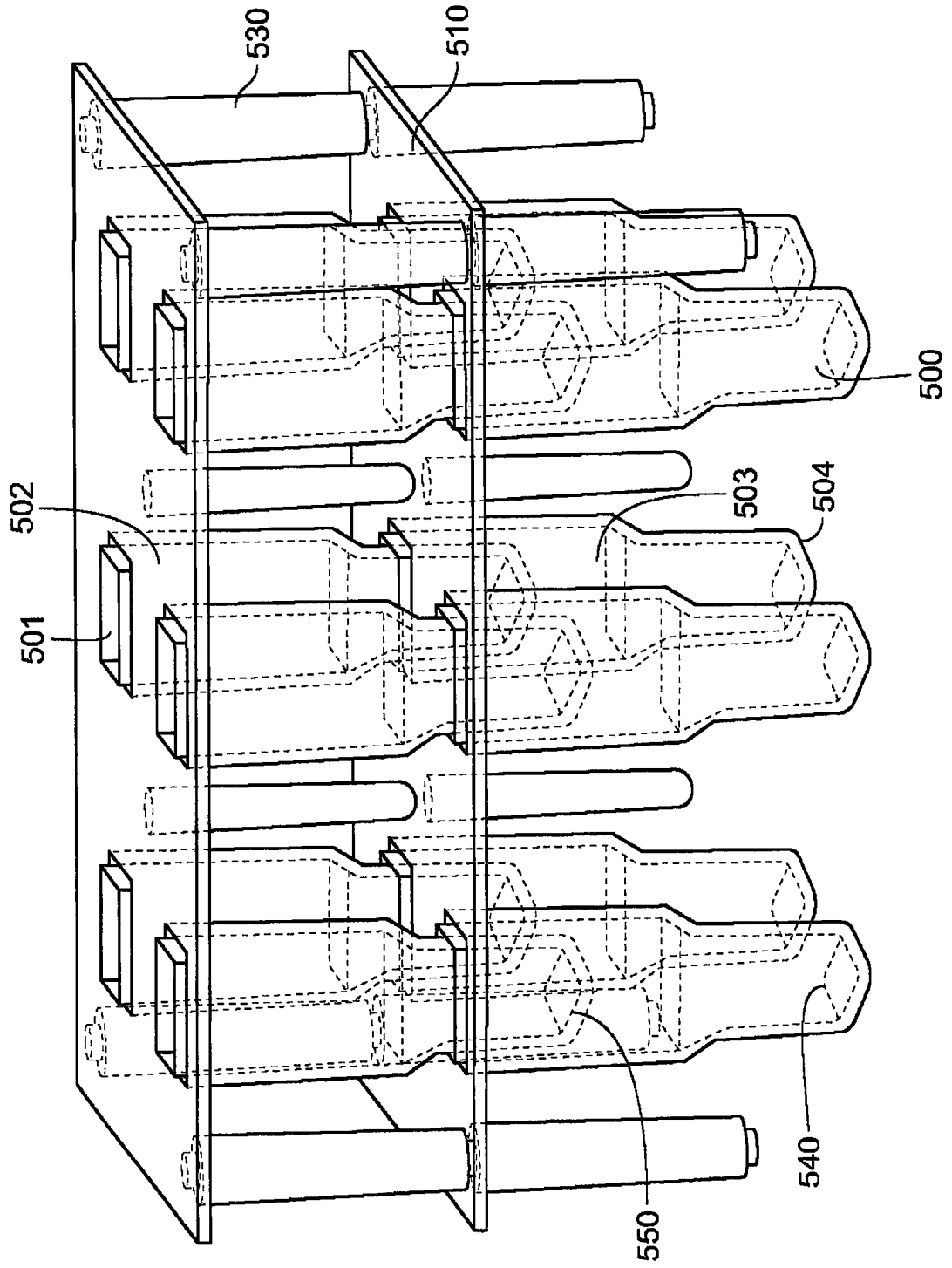


图9

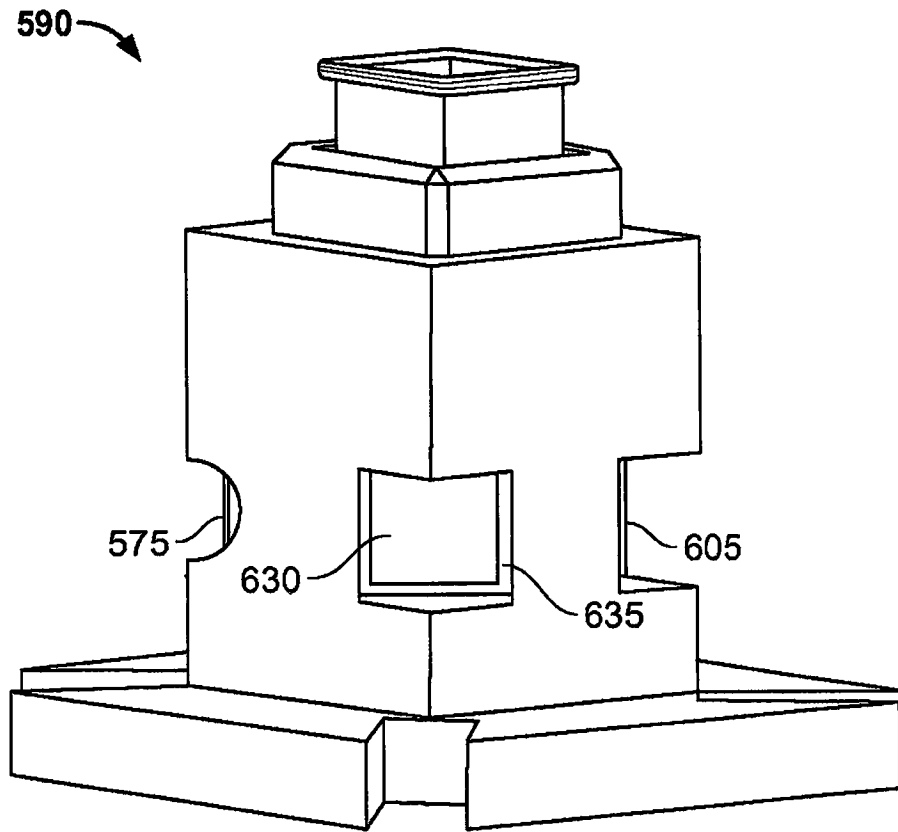


图10

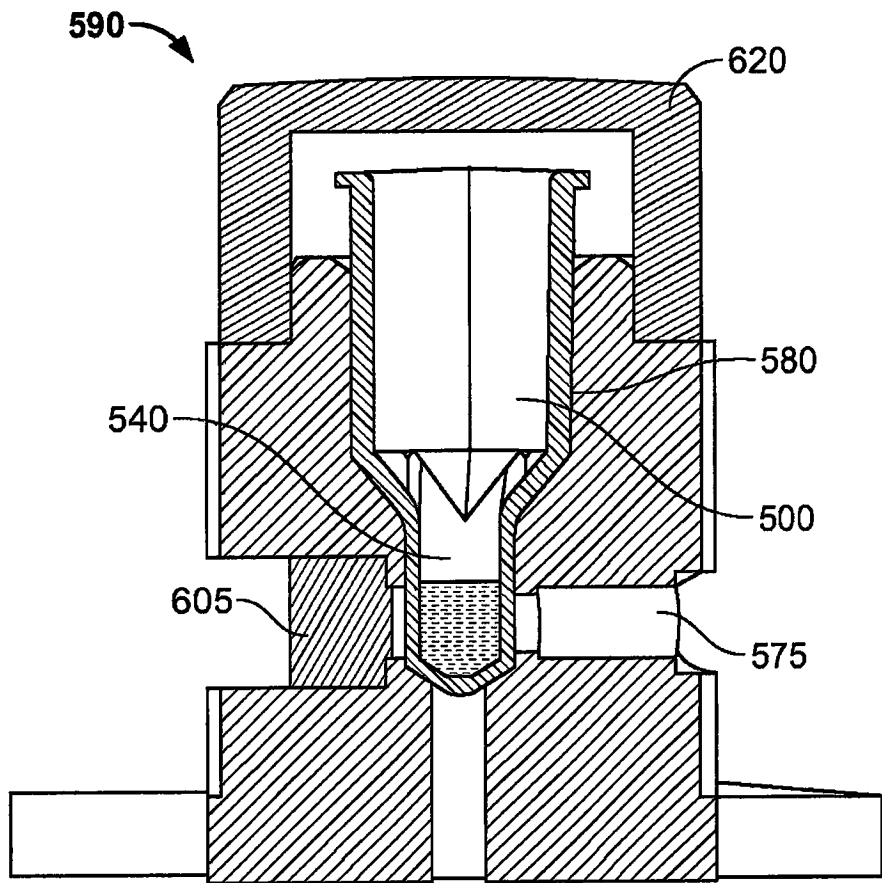


图11

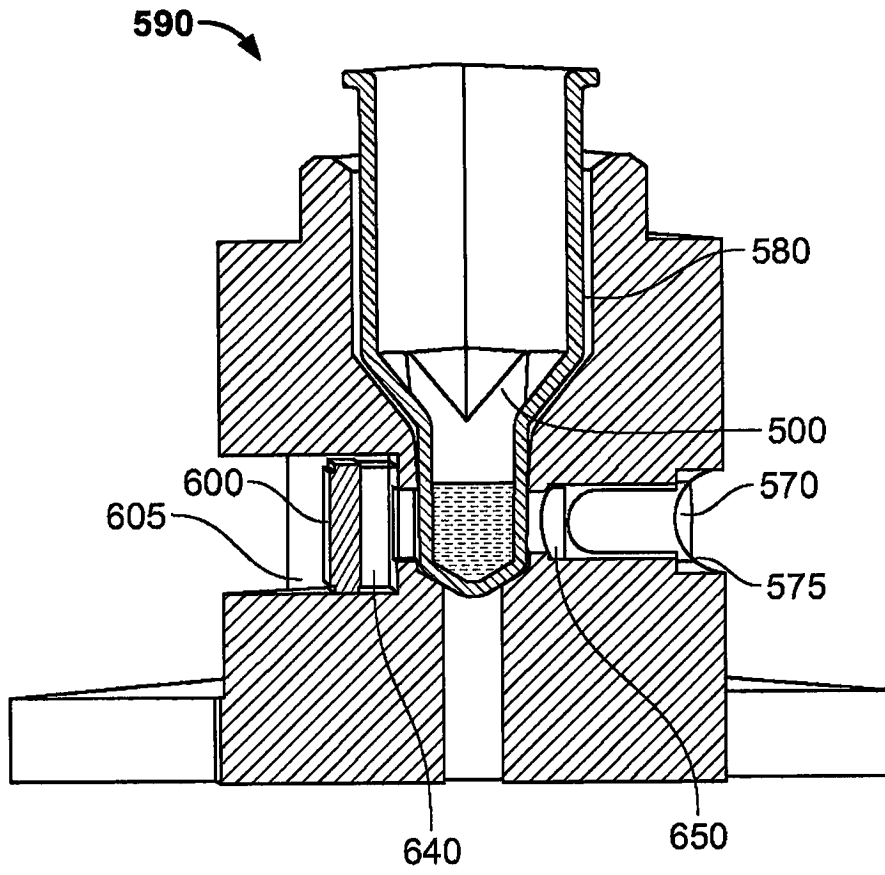


图12

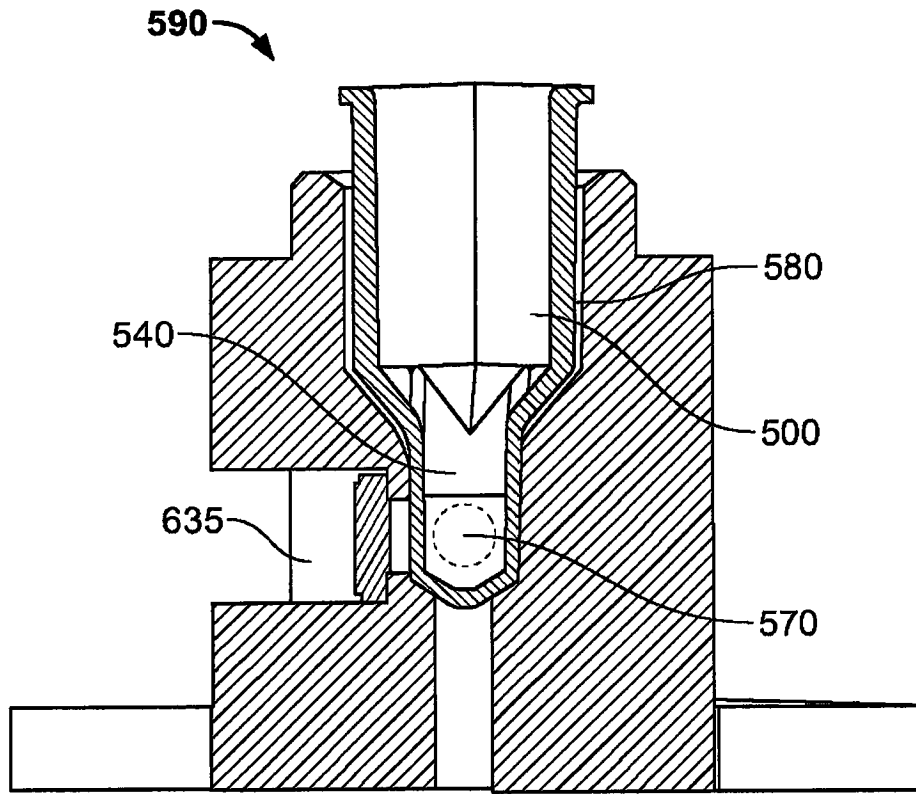


图13

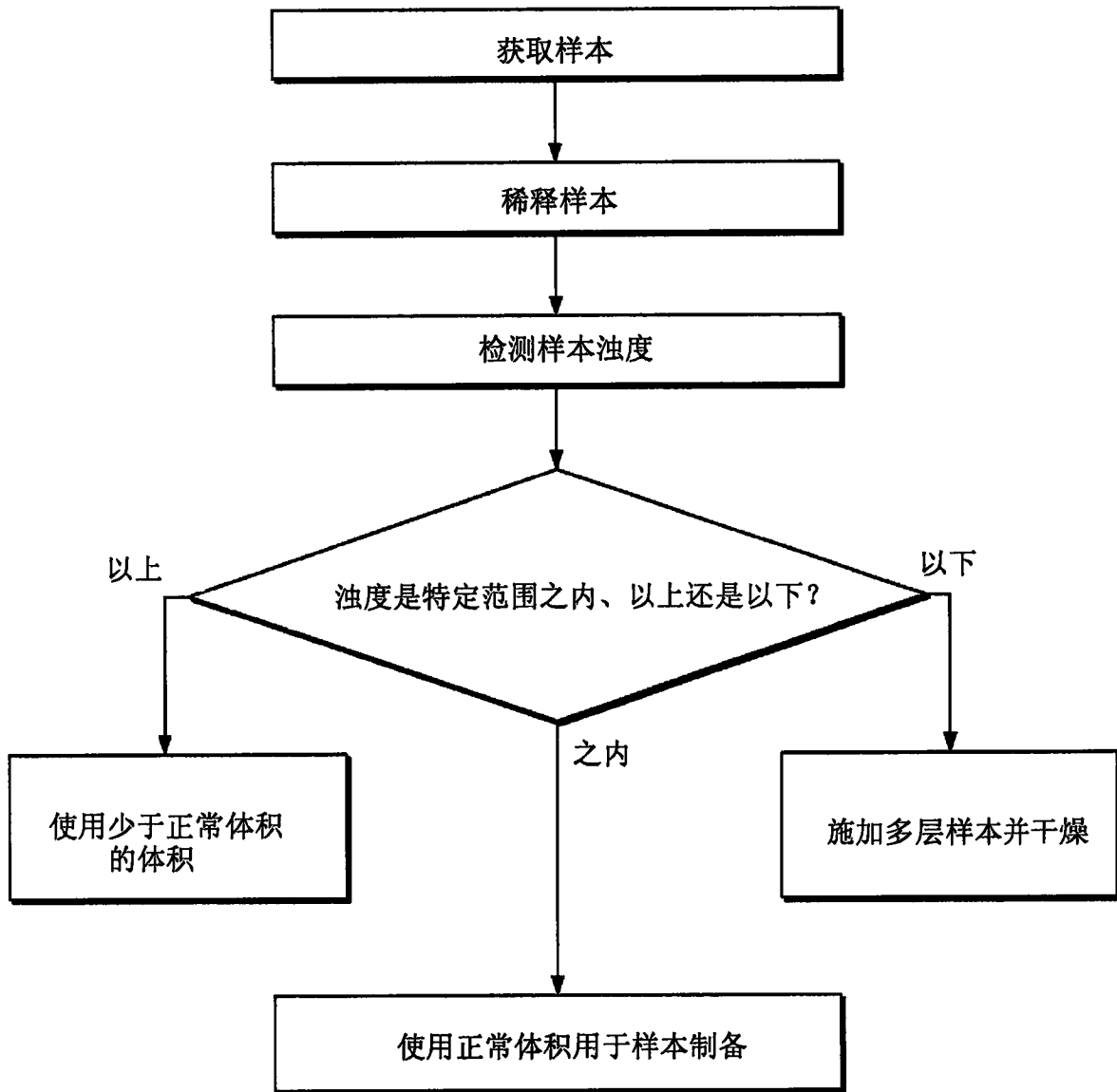


图14



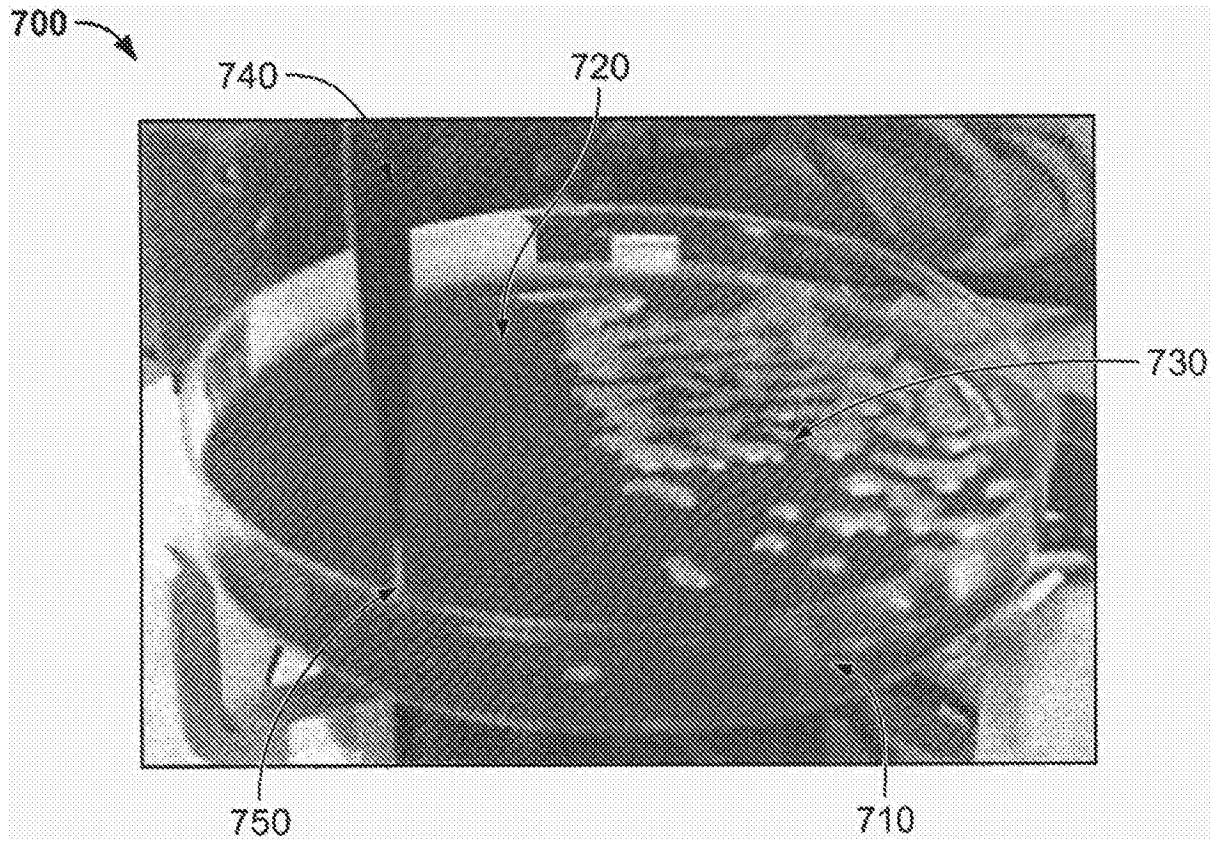


图15

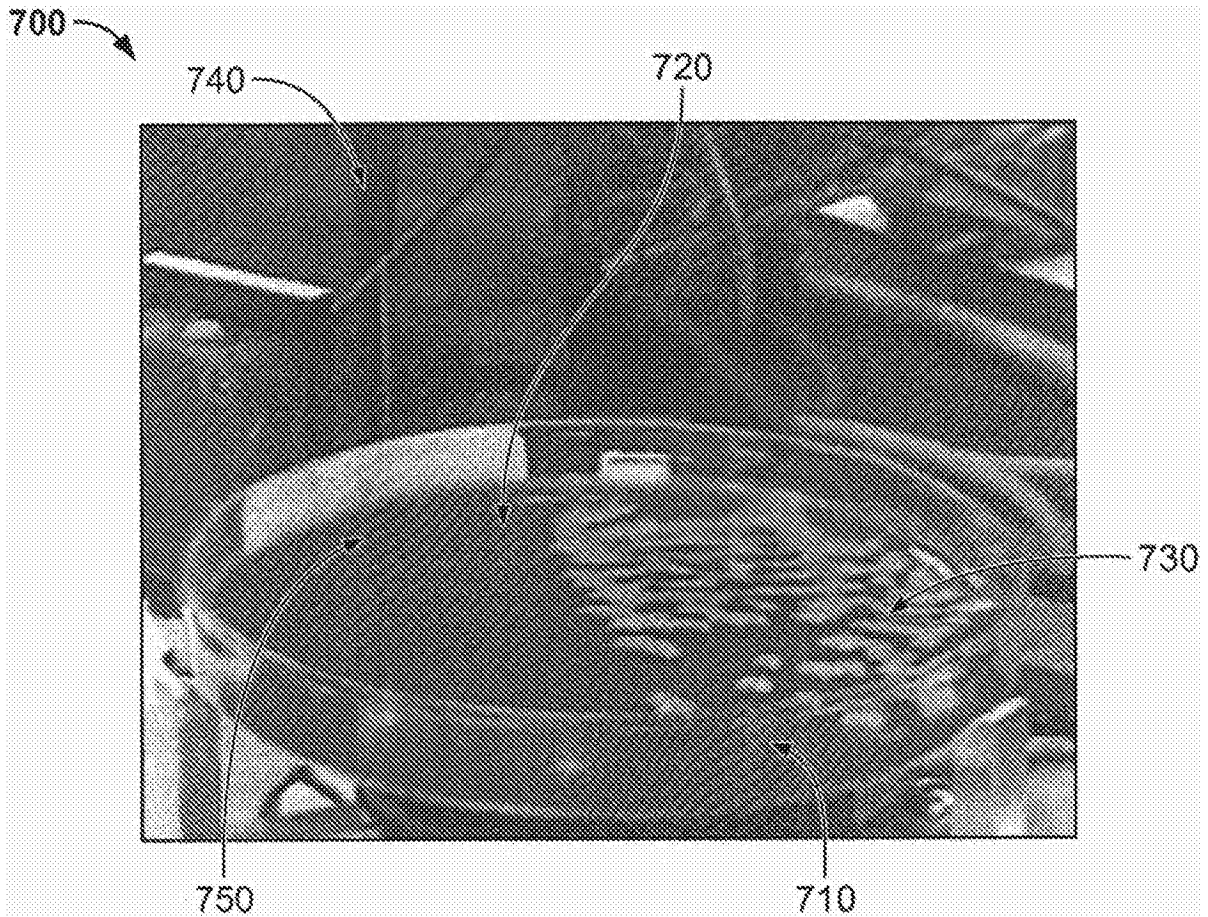


图16

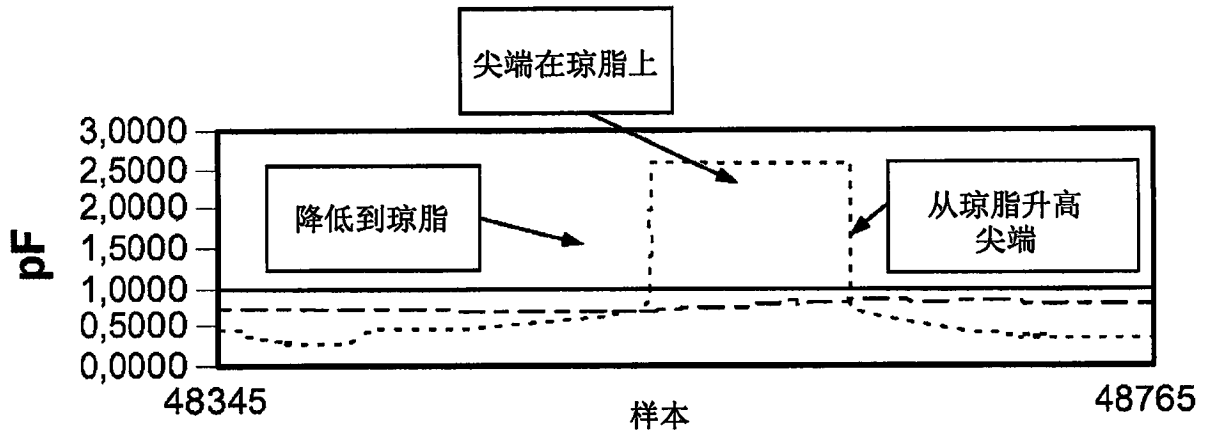


图17A

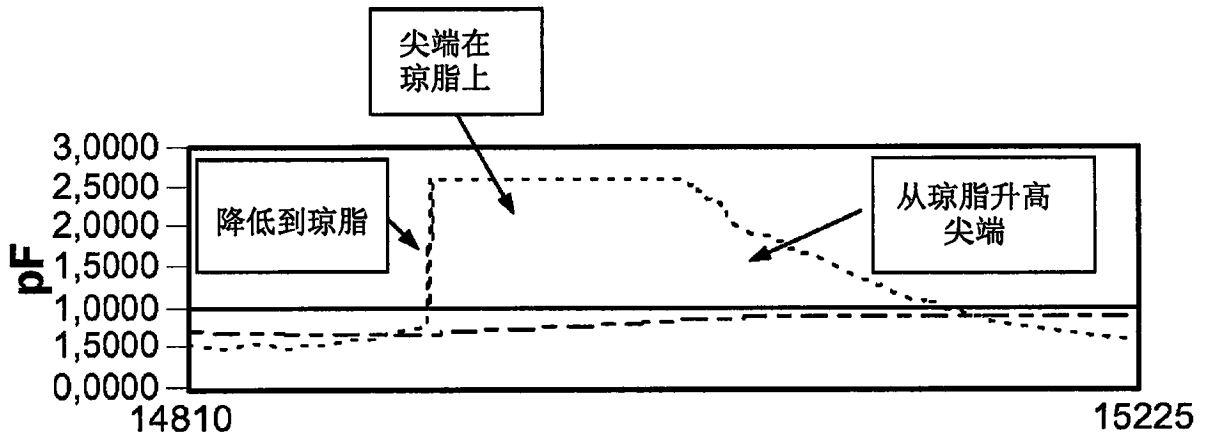


图17B

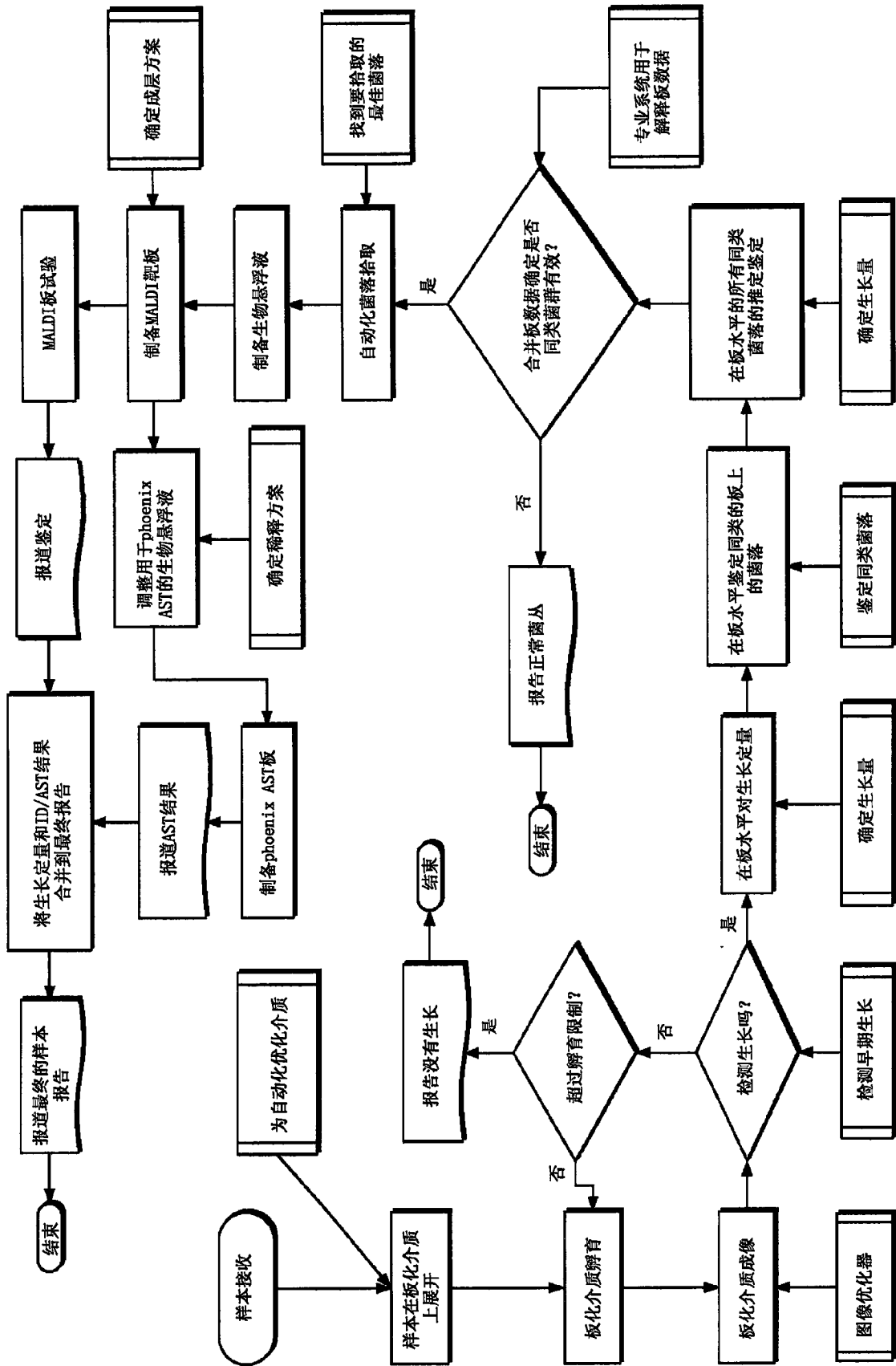


图18

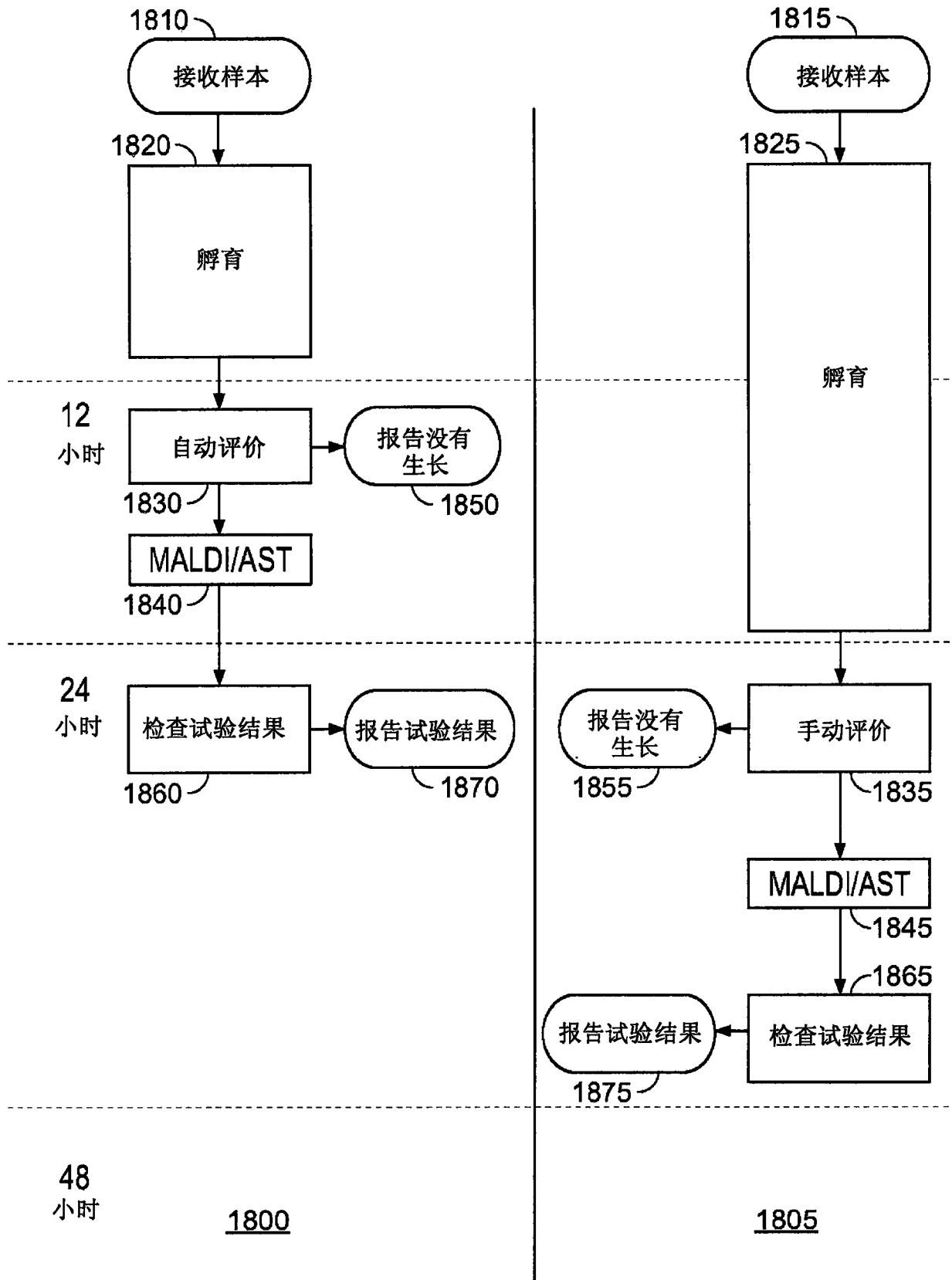


图19

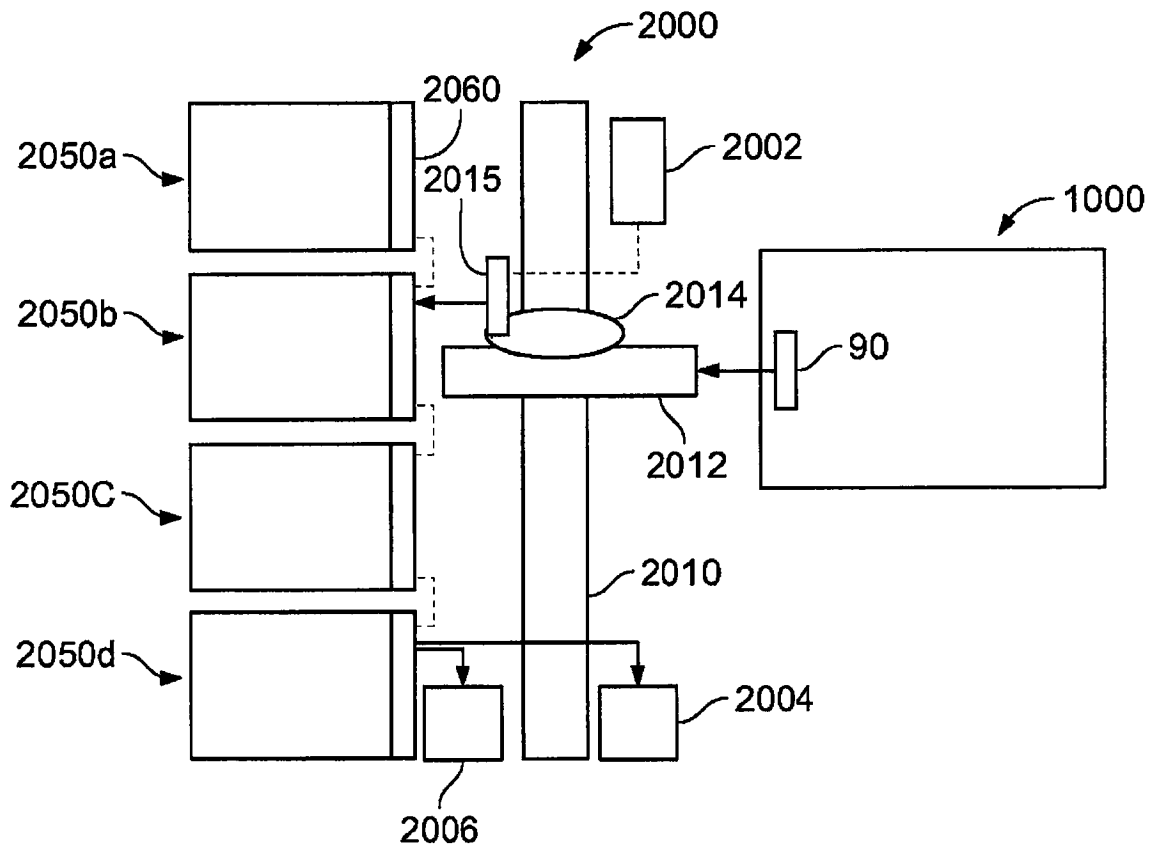


图20

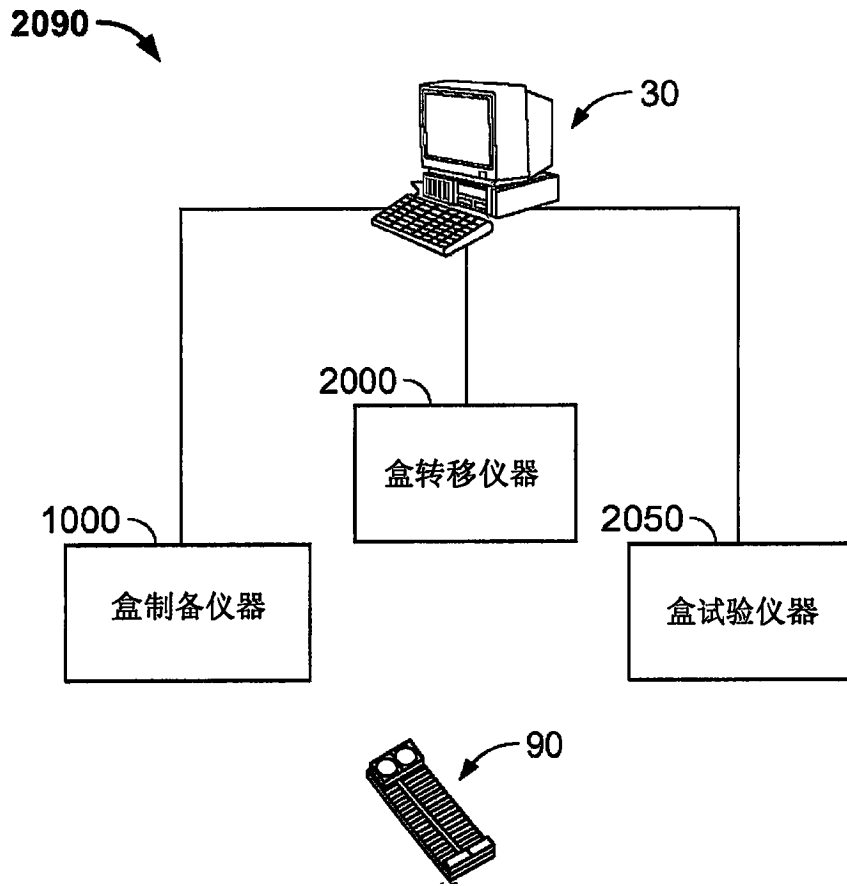


图21

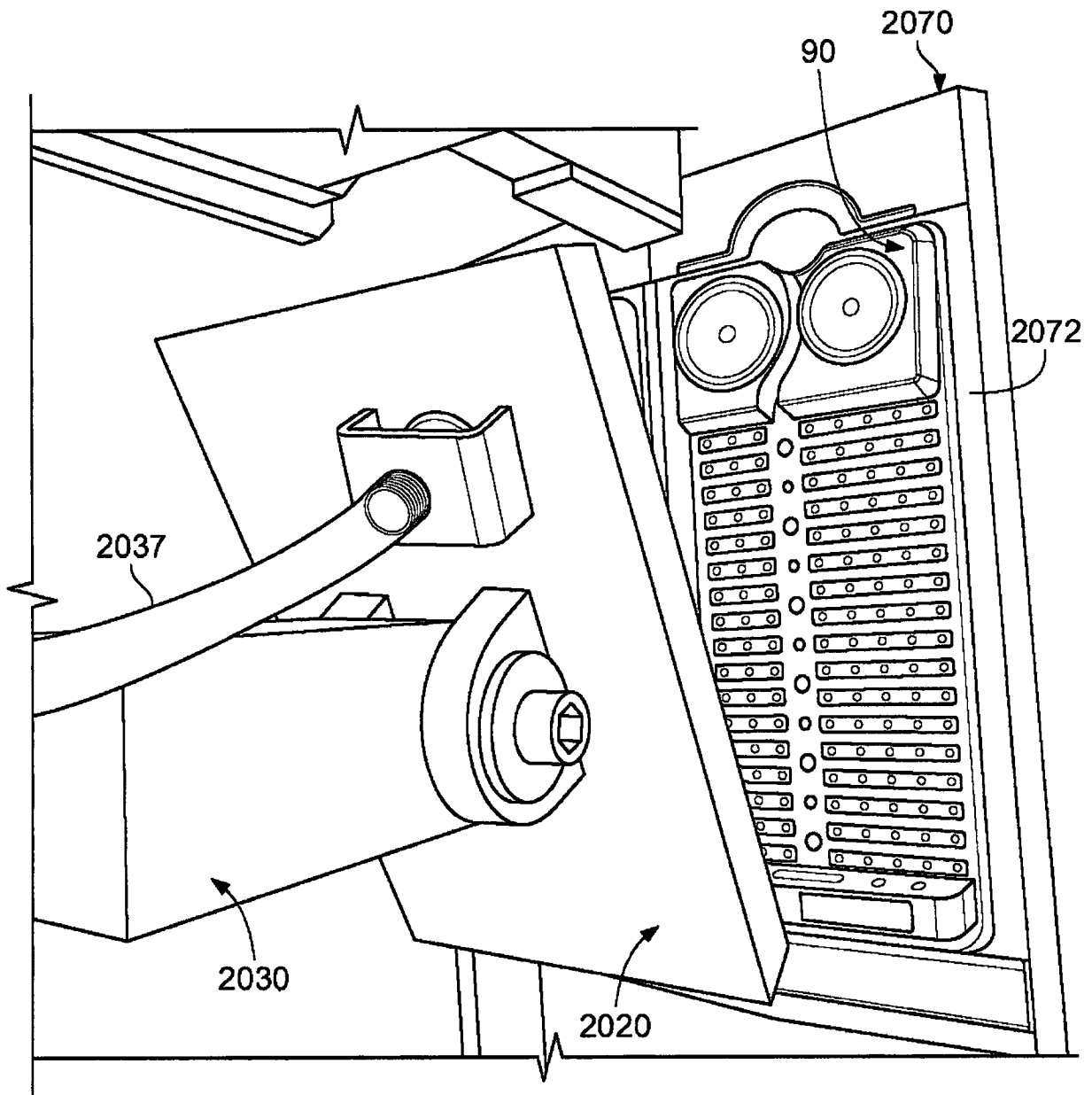


图22



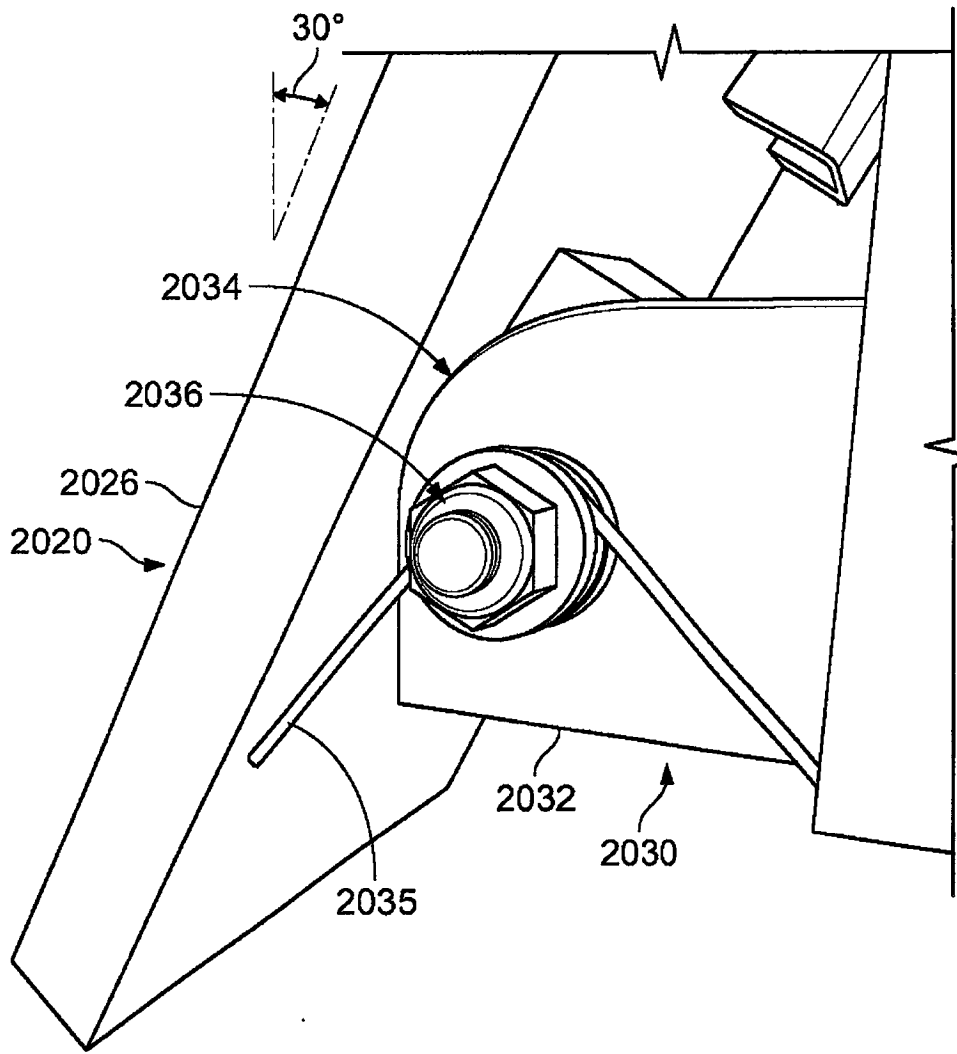


图23

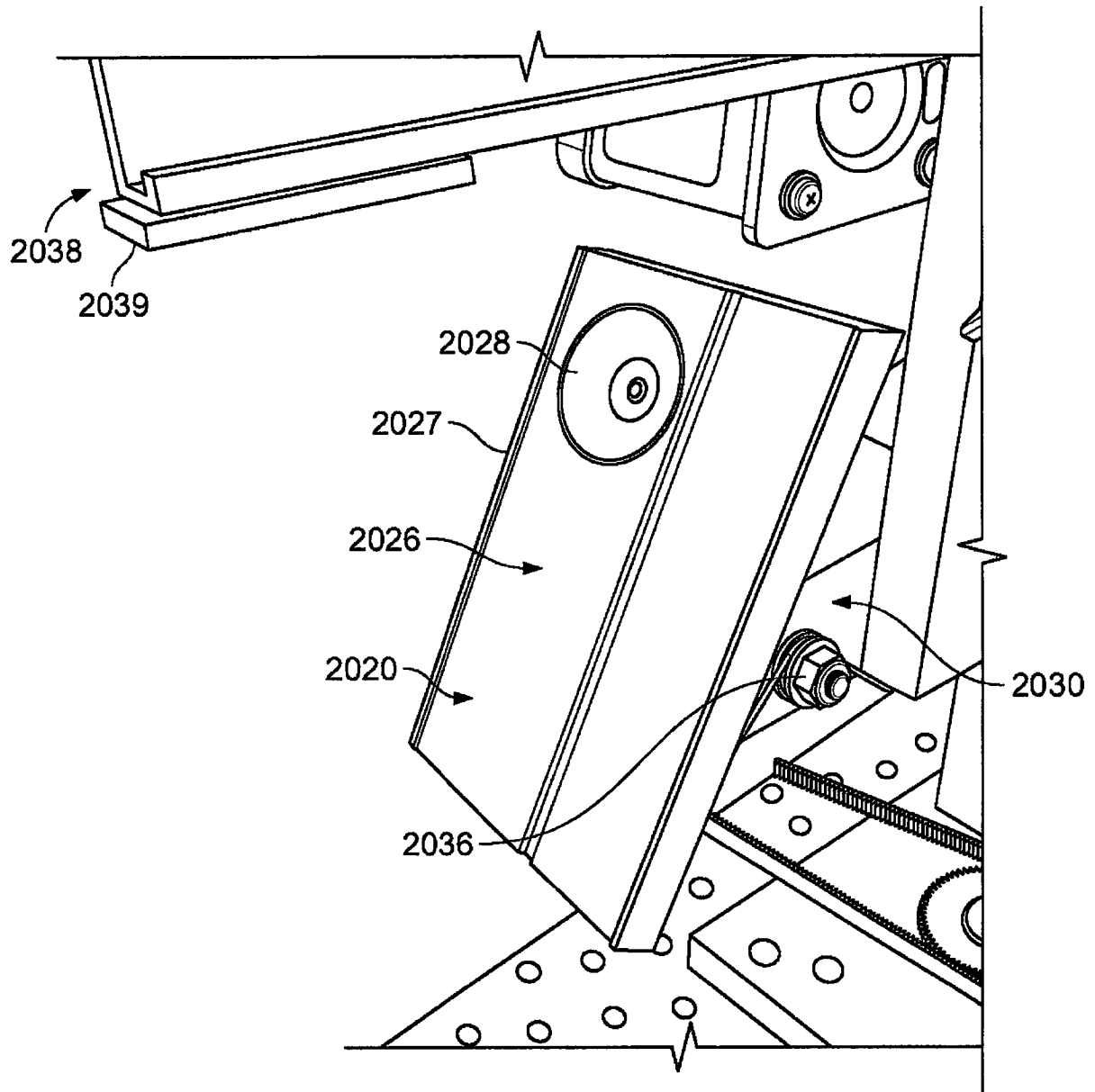


图24

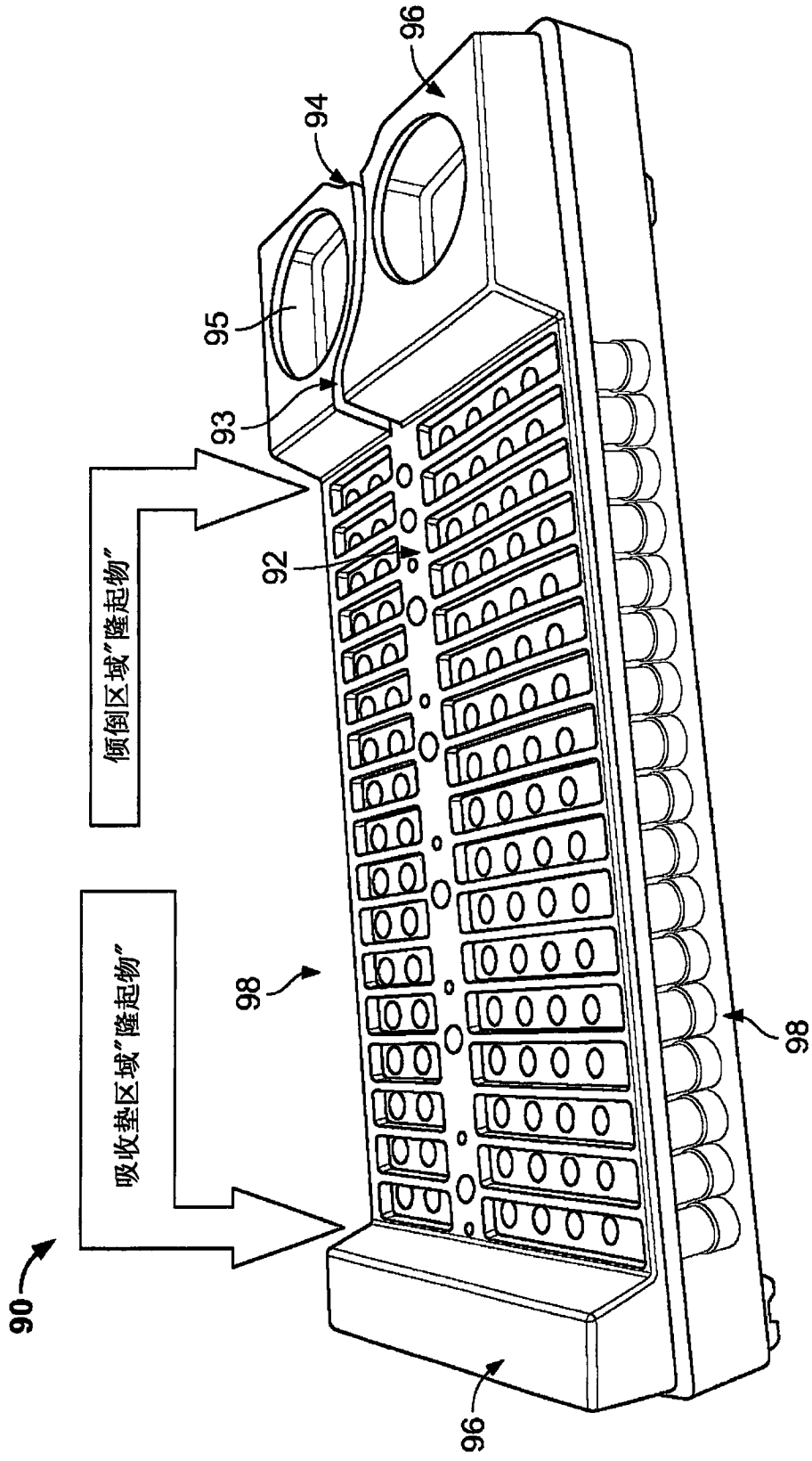


图25

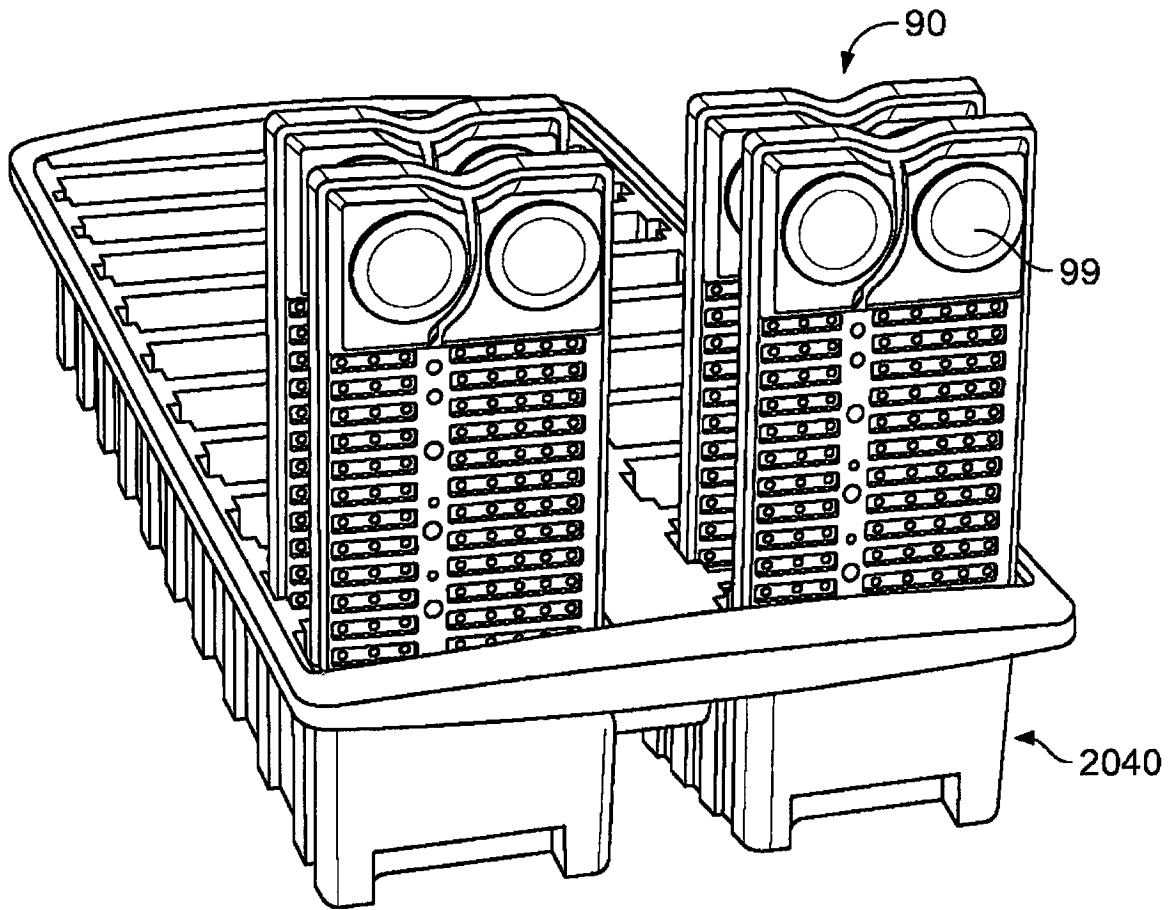


图26

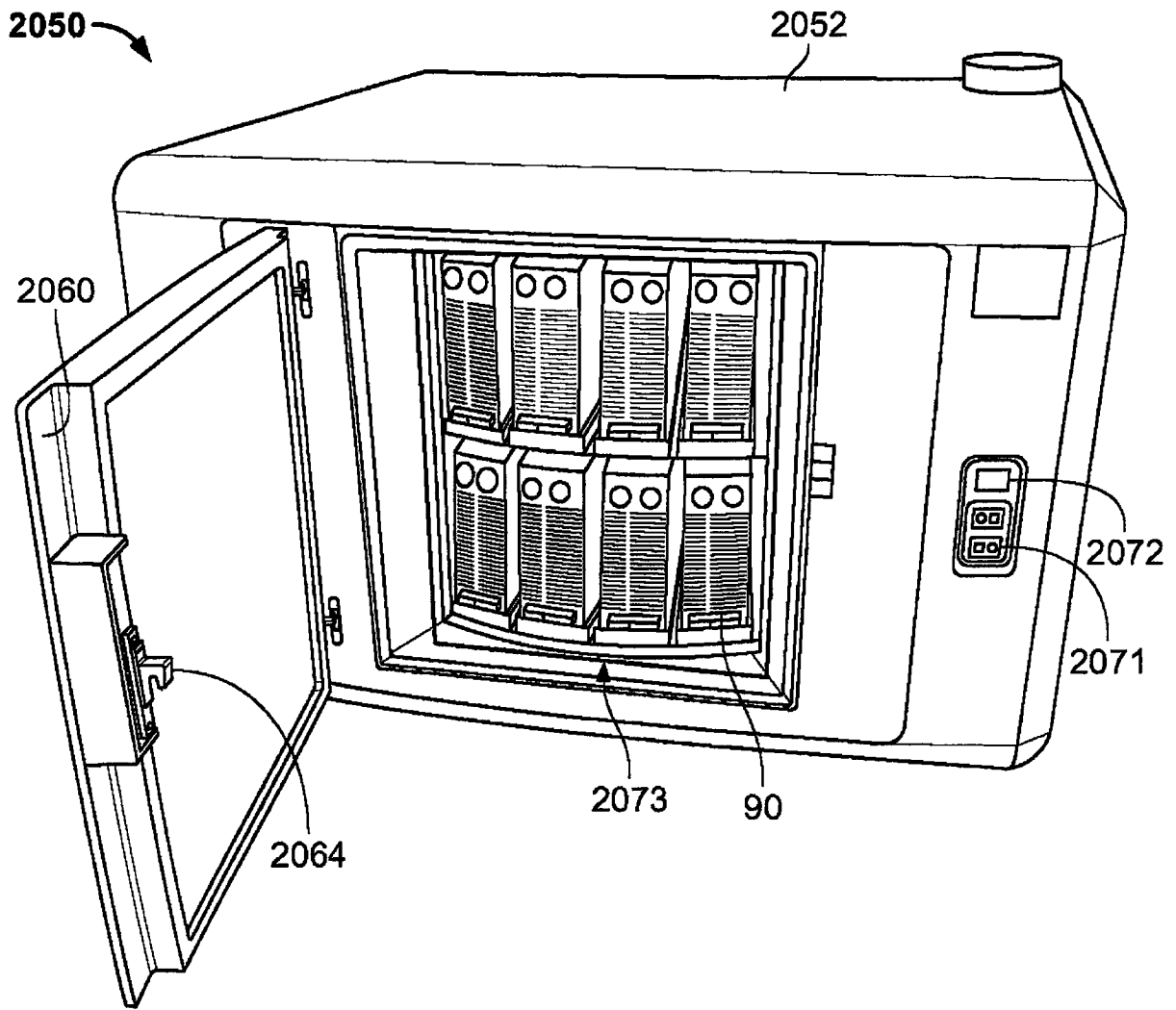


图27A

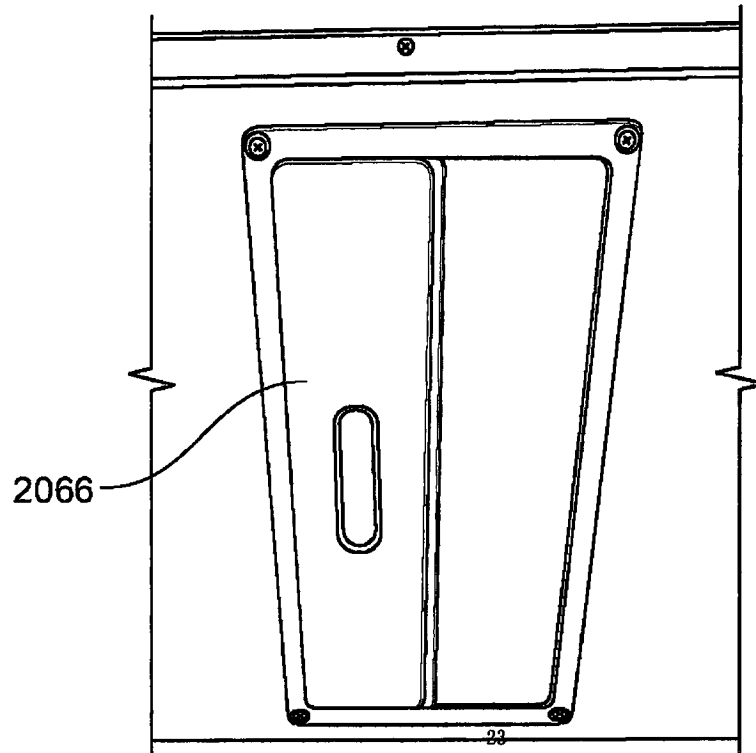


图27B

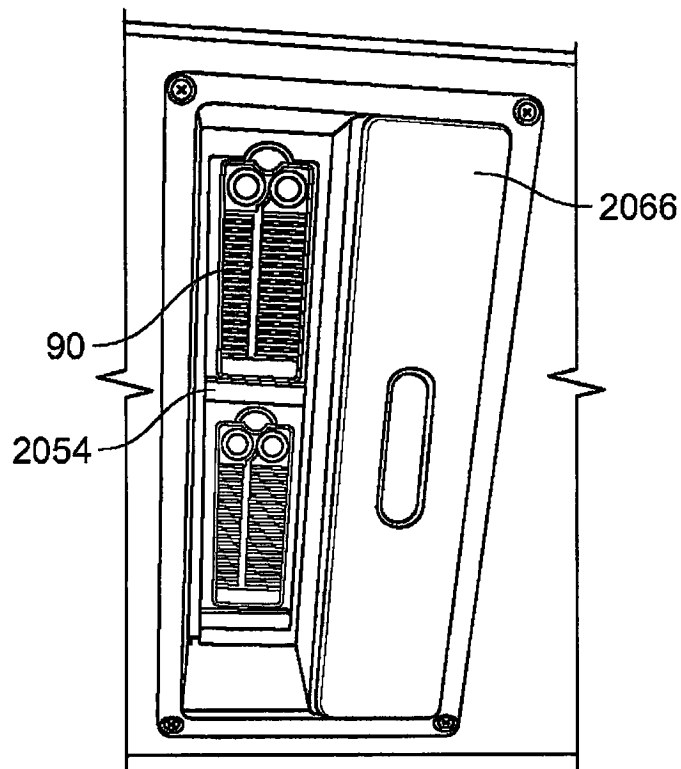


图27C

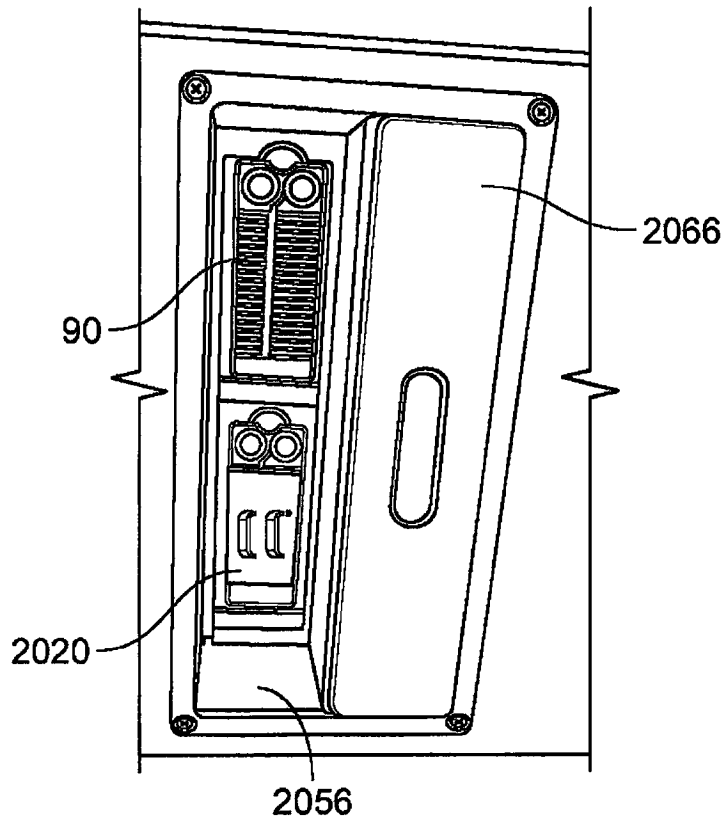


图27D

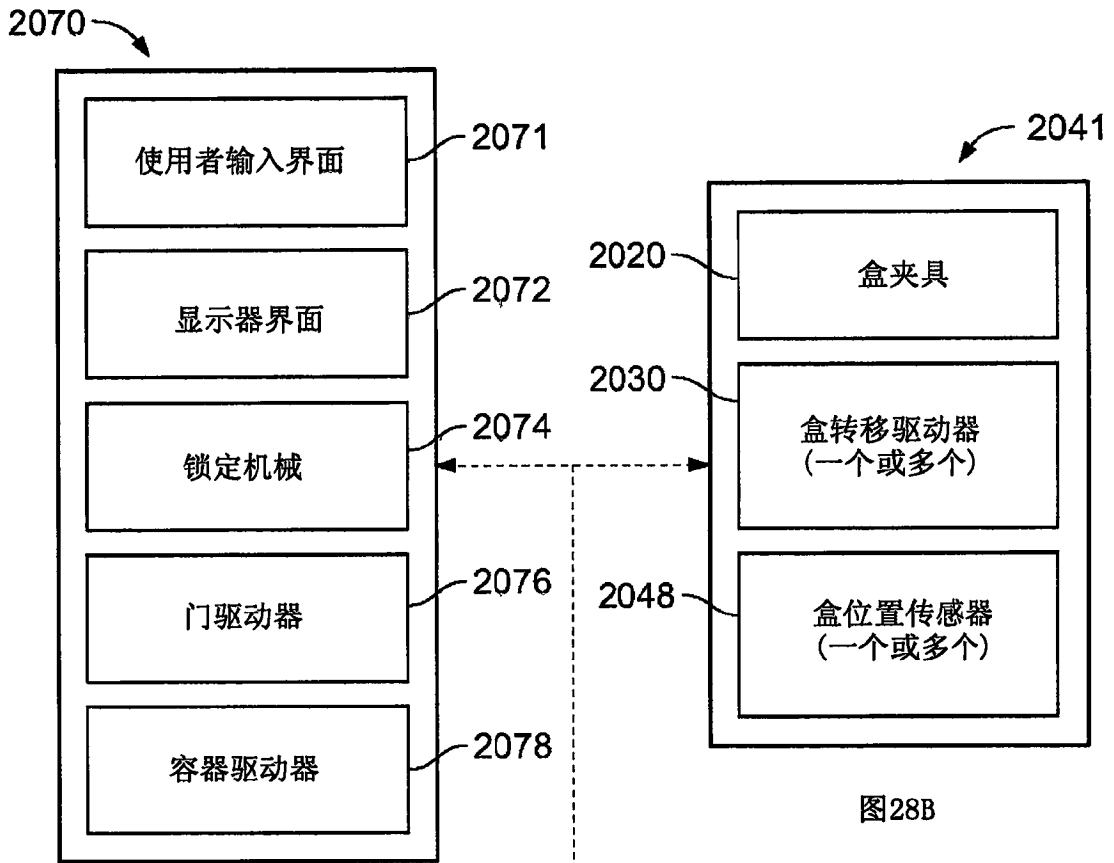


图28A

图28B

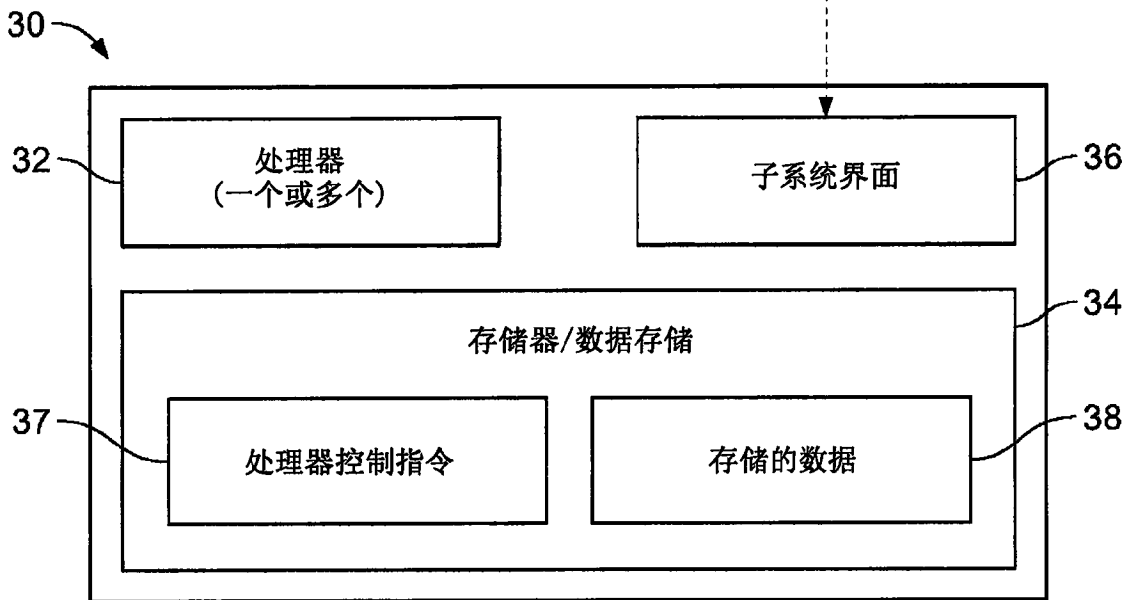


图28C



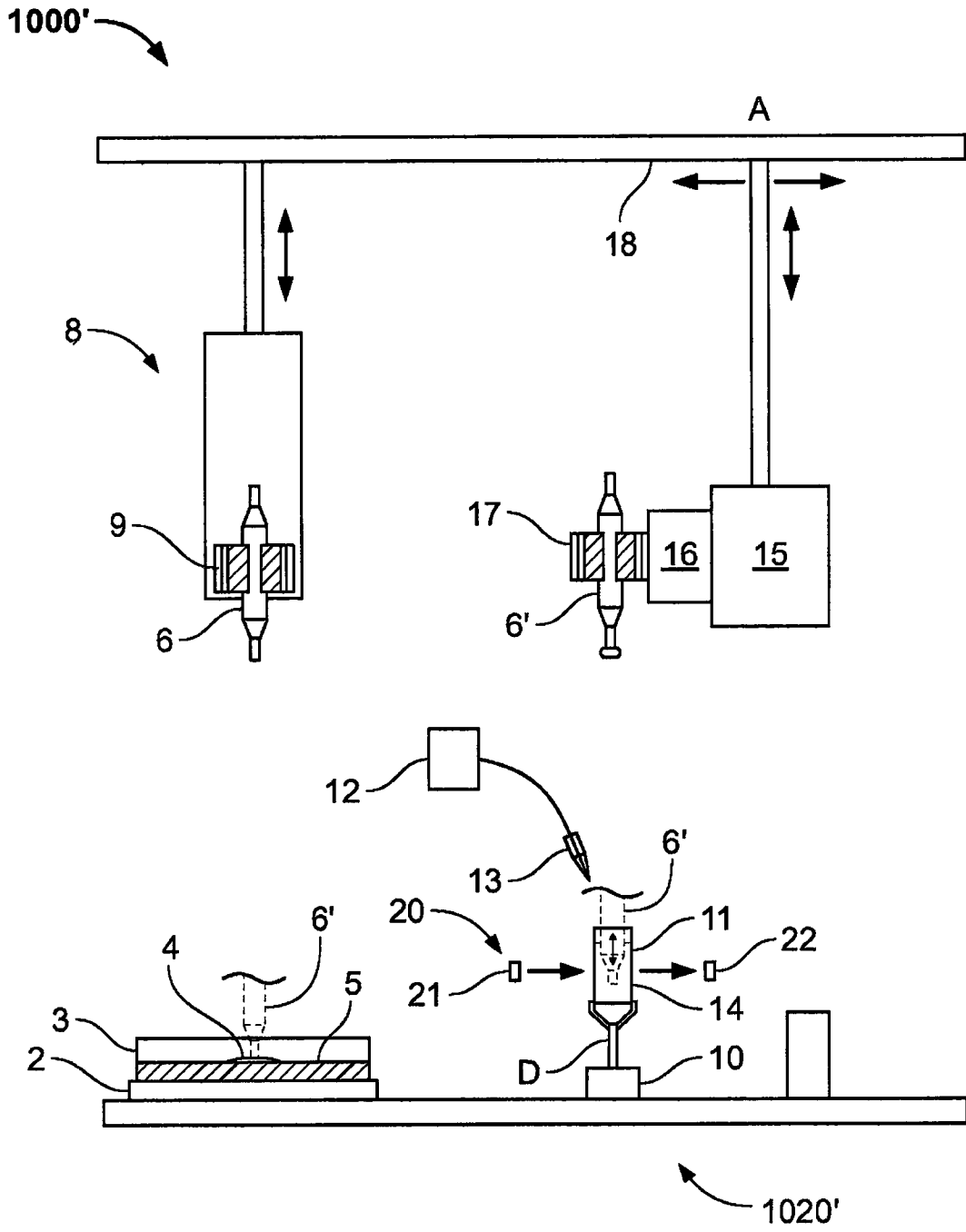


图29

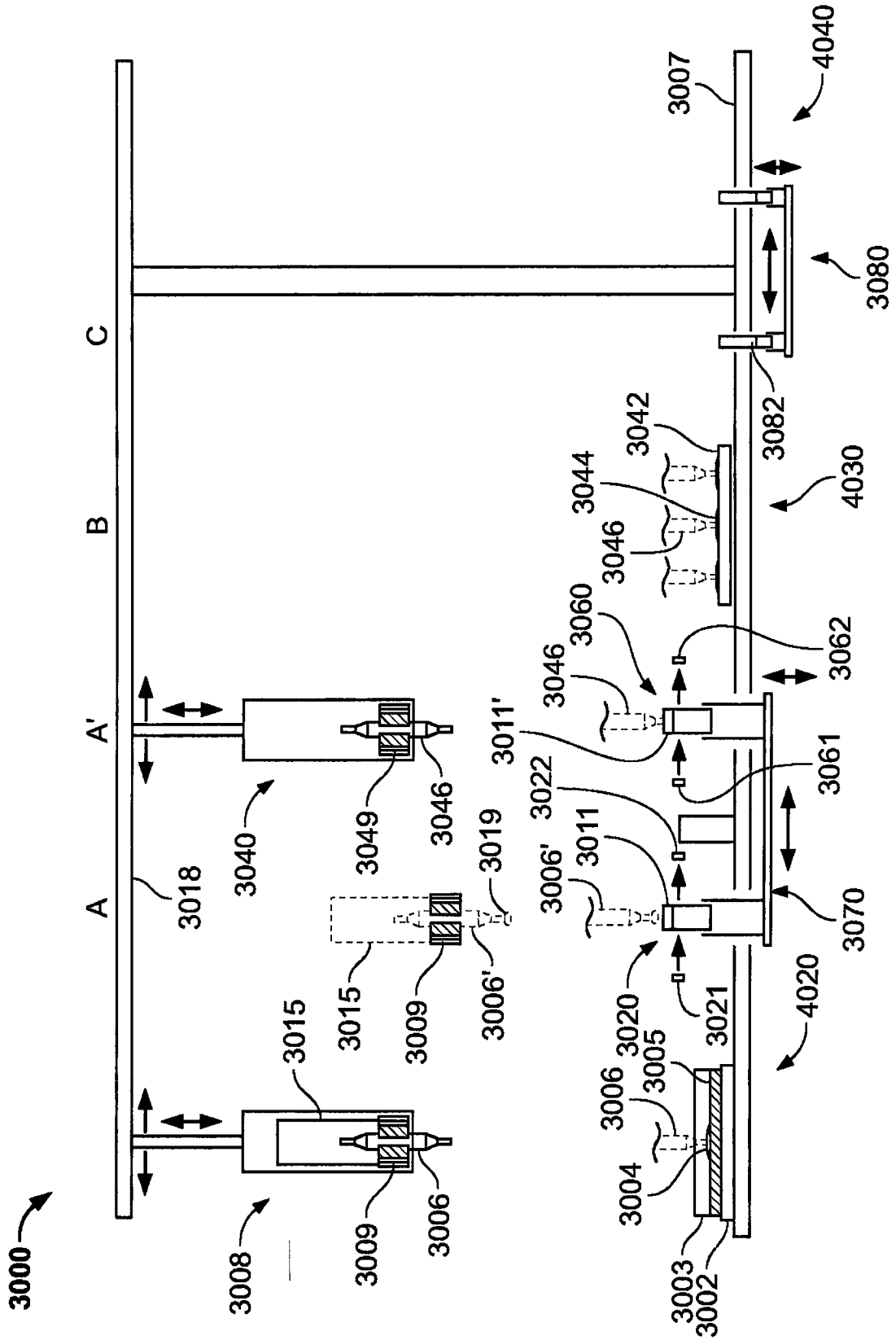


图30