

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **218010**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **395007**

(22) Data zgłoszenia: **25.05.2011**

(51) Int.Cl.

G01N 33/483 (2006.01)

G01N 21/17 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

C12Q 1/04 (2006.01)

(54) **Sposób badania koloni bakterii hodowanych na podłożach stałych i układ optyczny do badania koloni bakterii hodowanych na podłożach stałych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
21.11.2011 BUP 24/11

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
30.09.2014 WUP 09/14

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, Wrocław, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

IGOR BUZALEWICZ, Wrocław, PL

HALINA PODBIELSKA, Wrocław, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Regina Kozłowska

PL 218010 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób badania koloni bakterii hodowanych na podłożach stałych i układ optyczny do badania koloni bakterii hodowanych na podłożach stałych.

Układ i sposób szybkiego wykrywania i charakteryzowania kolonii bakterii za pomocą rozpraszania światła padającego znane są z opisu patentowego USA nr US7465560. Zgodnie ze sposobem kolonię bakterii umieszcza się na podłożu pomiędzy laserem a detektorem światła z lasera, które jest rozpraszane przez kolonie bakterii. Światło rozproszone jest wykrywane przez optyczny czujnik, z którego sygnał jest analizowany przez analizator i wyświetlany na ekranie lub zapisywany na nośniku danych. Różne szczepy bakterii posiadają unikalne właściwości rozpraszania światła padającego, co pozwala na identyfikowanie szczególnych szczepów.

Sposób oznaczania stężenia drobnoustrojów i naczynie do oznaczania stężenia drobnoustrojów znane są z polskiego opisu patentowego nr PL156162. Sposób polega na tym, że rozlewa się badaną próbkę i pożywkę w naczyniu, zestala i inkubuje, a następnie oblicza się kolonię drobnoustrojów, przy czym pożywkę miesza się z próbką aż do uzyskania homogenicznej mieszaniny o stałym stężeniu drobnoustrojów, po czym powoduje się zestalenie tej mieszaniny tak, aby grubość warstwy pożywki z próbką zmieniała się w sposób kontrolowany. Naczynie ma taki kształt, że po rozlaniu mieszaniny badanej próbki z pożywką w naczyniu wytwarza się zestalona warstwa w grubości zmieniającej się w sposób kontrolowany.

Istota sposobu według wynalazku, polega na tym, że skolimowaną wiązkę światła z koherentnego źródła światła filtruje się w filtrze amplitudowym, polaryzuje w polaryzatorze liniowym oraz poszerza się za pomocą poszerzacza wiązki, przesłoną irysową reguluje się jej średnicę i wiązkę światła skupia się w tylnej płaszczyźnie ogniskowej dodatniej soczewki, a tak uformowaną zbieżną sferyczną wiązkę światła oświetla się badaną kolonię bakterii umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowanej w statywie pomiędzy soczewką a jej tylną płaszczyzną ogniskową. Następnie transmitowaną i ugiętą na kolonii bakterii wiązkę światła w detektorze poddaje się detekcji, po czym rejestruje się i analizuje w komputerze dwuwymiarowy rozkład natężenia światła ugiętego na kolonii bakterii.

Korzystnie, badaną kolonię bakterii umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowanej w statywie przemieszcza się wzdłuż osi optycznej układu, przez co reguluje się rozmiar poprzecznych rejestrowanych widm dyfrakcyjnych kolonii bakterii.

Korzystnie, rejestruje się i analizuje w komputerze dwuwymiarowe widma dyfrakcyjne Fresnela uzależnione od struktury morfologicznej kolonii bakterii w zależności od położenia detektora wzdłuż osi optycznej układu względem położenia płaszczyzny ogniskowej soczewki.

Korzystnie, rejestruje się i analizuje w komputerze dwuwymiarowe widma dyfrakcyjne Fraunhofera uzależnione od struktury morfologicznej kolonii bakterii.

Istota układu według wynalazku, polega na tym, że wzdłuż osi optycznej zestawione ma koherentne źródło światła generujące skolimowaną wiązkę światła, filtr amplitudowy, polaryzator liniowy, poszerzacz wiązki, przesłonę irysową, dodatnią soczewkę, badaną kolonię bakterii umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce i detektor, który połączony jest z komputerem.

Korzystnie, badana kolonia bakterii umieszczona na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowana jest przesuwnie w statywie umożliwiającym regulację położenia w kierunkach XYZ.

Korzystnie, detektorem jest matryca CCD/CMOS albo kamera CCD/CMOS.

Korzystnie, detektor może być przesuwany wzdłuż osi optycznej układu.

Zaletą sposobu i układu według wynalazku, jest możliwość kompresji płaszczyzny obserwacji widm dyfrakcyjnych bliskiego pola (Fresnela) oraz dalekiego pola (Fraunhofera) do skończonego obszaru przestrzeni położonego pomiędzy badanym obiektem a płaszczyzną ogniskową obrazową soczewki transformującej, tym samym zmieniając położenie detektora względem osi optycznej pomiędzy kolonią bakterii a płaszczyzną ogniskową obrazową soczewki transformującej możliwe jest zarejestrowanie różnych widm dyfrakcyjnych kolonii bakterii przy ustalonym położeniu badanego obiektu. Jednocześnie istnieje możliwość regulacji rozmiarów przestrzennych rejestrowanych widm dyfrakcyjnych poprzez zmianę położenia obiektu wzdłuż osi optycznej pomiędzy soczewką transformującą a detektorem przy stałej pozycji kamery rejestrującej intensywność światła ugiętego przez kolonię bakterii. Dodatkowo

sposób analizy dyfrakcji światła na kolonii bakterii umożliwia zachowanie niskiego poziomu aberracji optycznych oraz całkowitego wyeliminowanie aberracji sferycznej.

Przedmiot wynalazku objaśniony jest w przykładzie wykonania i na rysunku, który przedstawia układ optyczny do badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych w ujęciu schematycznym.

Przykład 1

Sposób badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych polega na tym, że skolimowaną wiązkę światła z koherentnego źródła światła LS filtruje się w filtrze amplitudowym F, polaryzuje w polaryzatorze liniowym P oraz poszerza się za pomocą poszerzacza wiązki BE, przesłoną irysową D reguluje się jej średnicę i wiązkę światła skupia się w tylnej płaszczyźnie ogniskowej dodatniej soczewki L. Tak uformowaną zbieżną sferyczną wiązkę światła oświetla się badaną kolonię bakterii S umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce Petriego zamocowanej w statywie pomiędzy soczewką a jej tylną płaszczyzną ogniskową. Następnie transmitowaną i ugiętą na kolonii bakterii S wiązkę światła w detektorze C poddaje się detekcji, po czym wiązkę światła rejestruje się i analizuje w komputerze K dwuwymiarowy rozkład natężenia światła ugiętego na kolonii bakterii S. W komputerze K rejestruje się i analizuje dwuwymiarowe widma dyfrakcyjne Fresnela uzależnione od struktury morfologicznej kolonii bakterii. Detektor C znajduje się w ustalonej odległości pomiędzy soczewką L oraz tylną płaszczyzną ogniskową soczewki L, a zamocowaną w statywie badaną kolonię bakterii S przemieszcza się wzdłuż osi optycznej układu przez, co reguluje się rozmiar poprzecznych rejestrowanych widm dyfrakcyjnych kolonii bakterii.

Przykład 2

Sposób badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych przebiega jak w przykładzie pierwszym z tą różnicą że detektor umieszcza się w takiej odległości od badanej kolonii bakterii S o ustalonym położeniu, aby płaszczyzna ta spełniała warunek dyfrakcji Fraunhofera, wówczas rejestruje się i analizuje w komputerze K dwuwymiarowe widma dyfrakcyjne Fraunhofera uzależnione od struktury morfologicznej kolonii bakterii.

Przykład 3

Układ optyczny do badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych ma wzdłuż osi optycznej zestawione koherentne źródło światła LS generujące skolimowaną wiązkę światła, filtr amplitudowy F, polaryzator liniowy P, poszerzacz wiązki BE, przesłoną irysową D o średnicy otworu większej bądź równej średnicy analizowanej kolonii bakterii, transformującą dodatnią soczewkę L o ogniskowej obrazowej większej bądź równej średnicy 4 cm oraz średnicy (clear aperture) większej lub równej średnicy analizowanej kolonii bakterii, badaną kolonię bakterii S umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce i detektor C, który połączony jest z komputerem K. Jako detektor C jest matryca CCD/CMOS. Kolonia bakterii hodowana jest na podłożu agarowym w płytce Petriego, a koherentne źródło światła LS stanowi dioda laserowa o mocy wyjściowej ≥ 1 mW i długości fali: 635 nm oraz 670 nm.

Przykład 4

Układ optyczny do badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych wykonany jak w przykładzie pierwszym z tą różnicą, że badana kolonia bakterii S umieszczona na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowana jest w statywie z możliwością przesuwu, a detektorem C jest kamera CCD/CMOS. Zmiana położenia próbki w postaci kolonii bakterii S wzdłuż osi optycznej dla ustalonej pozycji detektora umożliwia regulację rozmiarów poprzecznych rejestrowanych widm dyfrakcyjnych.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych polegający na tym, że kolonie bakterii oświetla się wiązką światła laserowego, którą następnie poddaje się detekcji i analizuje, **znamienny tym**, że skolimowaną wiązkę światła z koherentnego źródła światła (LS), filtruje się w filtrze amplitudowym (F), polaryzuje w polaryzatorze liniowym (P) oraz poszerza się za pomocą poszerzacza wiązki (BE), przesłoną irysową (D) reguluje się jej średnicę i wiązkę światła skupia się w tylnej płaszczyźnie ogniskowej dodatniej soczewki (L), a tak uformowaną zbieżną sferyczną wiązkę światła oświetla się badaną kolonię bakterii (S) umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowanej w statywie pomiędzy soczewką a jej tylną płaszczyzną

ogniskową następnie transmitowaną i ugiętą na kolonii bakterii (S) wiązkę światła w detektorze (C) podaje się detekcji, po czym rejestruje się i analizuje w komputerze (K) dwuwymiarowy rozkład natężenia światła ugiętego na kolonii bakterii (S).

2. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że badaną kolonię bakterii (S) umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowanej w statywie przemieszcza się wzdłuż osi optycznej układu przez, co reguluje się rozmiar poprzecznych rejestrowanych widm dyfrakcyjnych kolonii bakterii.

3. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że rejestruje się i analizuje w komputerze (K) dwuwymiarowe widma dyfrakcyjne Fresnela uzależnione od struktury morfologicznej kolonii bakterii.

4. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że rejestruje się i analizuje w komputerze (K) dwuwymiarowe widma dyfrakcyjne Fraunhofera uzależnione od struktury morfologicznej kolonii bakterii.

5. Układ optyczny do badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych zawierający laser i detektor połączony z układem analizującym wyposażonym w ekran i nośnik danych, **znamienny tym**, że ma wzdłuż osi optycznej zestawione koherentne źródło światła (LS) generujące skolimowaną wiązkę światła, filtr amplitudowy (F), polaryzator liniowy (P), poszerzacz wiązki (BE), przesłonę irysową (D), dodatnią soczewkę (L), badaną kolonię bakterii (S) umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowanej na statywie i detektor (C), który połączony jest z komputerem (K).

6. Układ, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że badana kolonia bakterii (S) umieszczona na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce zamocowana jest w statywie umożliwiającym regulację położenia w kierunkach XYZ.

7. Układ, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że detektorem (C) jest matryca CCD/CMOS.

8. Układ, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że detektorem (C) jest kamera CCD/CMOS.

9. Układ, według zastrz. 5, **znamienny tym**, że detektor (C) może być przesuwany wzdłuż osi optycznej układu.

Rysunek



