

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **225872**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **411946**

(22) Data zgłoszenia: **10.04.2015**

(51) Int.Cl.
G01N 21/25 (2006.01)
G01N 21/27 (2006.01)
G01N 21/84 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
C12Q 1/04 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)

(54) **Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych
i układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
24.10.2016 BUP 22/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
31.05.2017 WUP 05/17

(73) Uprawniony z patentu:

**BIOAVLEE SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

DAMIAN ANDRZEJEWSKI, Sinzing, DE
ŁUKASZ PAWEŁEK, Dąbrówka, PL
IGOR BUZALEWICZ, Wrocław, PL
RAFAŁ GNOJNICKI, Zerniki Wrocławskie, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Andrzej Witek

PL 225872 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych i układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych.

Znany jest z opisu patentowego US 7465560 układ i sposób szybkiego wykrywania i charakteryzowania kolonii bakterii za pomocą rozpraszania światła. Układ do charakteryzowania kolonii mikroorganizmów zawiera źródło światła, uchwyt przystosowany do utrzymywania stałego podłoża mającego powierzchnię przystosowaną do wzrostu kolonii mikroorganizmów, uchwyt umieszczony w taki sposób, że światło ze źródła światła pada na co najmniej jedną kolonię hodowaną na podłożu stałym oraz błonę lub elektroniczny czujnik optyczny do uzyskania obrazu. Sposób szybkiego wykrywania i charakteryzowania kolonii bakterii polega na tym, że kolonię bakteryjną na podłożu stałym umieszcza się pomiędzy laserem a detektorem optycznym. Światło ze źródła światła kieruje się na kolonię bakterii i wykrywa się przez optyczny czujnik światło rozproszone przez bakterie. Następnie sygnał podlega analizowaniu przez analizator i wyświetlaniu na ekranie lub zapisywaniu na nośniku danych.

Znany jest z polskiego opisu patentowego PL 218010 sposób badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych i układ optyczny do badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych. Sposób polega na tym, że kolonie bakterii oświetla się wiązką światła laserowego, którą następnie poddaje się detekcji i analizuje się widma dyfrakcyjne. 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. Tak uformowaną zbieżną sferyczną wiązkę światła oświetla się badaną kolonię bakterii, znajdującą się 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. Układ optyczny do badania kolonii bakterii hodowanych na podłożach stałych zawiera laser i detektor połączony z układem analizującym wyposażonym w ekran i nośnik danych. Układ ma wzdłuż osi optycznej zestawione koherentne źródło światła, generujące skolimowaną wiązkę światła, filtr amplitudowy, polaryzator liniowy, poszerzacz wiązki, przesłoną irysową, dodatnią soczewkę, badaną kolonię bakterii umieszczoną na transparentnym podłożu umieszczonym na transparentnej płytce, zamocowanej na statywie i detektor, który połączony jest z komputerem.

W sposobie badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych według wynalazku, oświetla się kolonie mikroorganizmów, znajdujące się na podłożu na transparentnej płytce i rejestruje się obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów i przesyła się go do komputera, i analizuje się za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej, i wyodrębnia się oraz ustala się dokładne położenie zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów. Następnie przemieszcza się transparentną płytkę z koloniami mikroorganizmów względem układu optycznego i oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła, i po detekcji widm dyfrakcyjnych oświetlanej kolonii mikroorganizmów, rejestruje się te widma i porównuje się je z widmami referencyjnymi.

Korzystnie jest, gdy przemieszczanie transparentnej płytki wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów dokonuje się w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

Korzystnie jest także, gdy obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku prostopadłego do powierzchni transparentnej płytki.

Korzystnie jest też, gdy obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku równoległego do powierzchni transparentnej płytki.

Korzystnie jest również, kiedy obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku równoległego do powierzchni transparentnej płytki poprzez rejestrację promienia odbitego z dzielnika światła.

Korzystnie jest też, kiedy po wyodrębnieniu i ustaleniu dokładnego położenia na transparentnej płytce zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów, przemieszcza się transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów względem układu optycznego i wykonuje się powiększone zdjęcia pojedynczych kolonii.

Korzystnie jest również, gdy algorytmy przetwarzania informacji obrazowej obejmują analizę morfologii kolonii.

Układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych według wynalazku, zawiera koherentne źródło światła, elementy modulujące wiązkę światła, wychodzącego z tego źródła, soczewkę skupiającą, transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie, umieszczoną między soczewką a detektorem, połączonym z komputerem wyposażonym w układ analizujący widma dyfrakcyjne. Układ charakteryzuje się tym, że detektorem jest kamera a pomiędzy soczewką, skupiającą wiązkę światła a transparentną płytką wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, umieszczony jest dzielnik światła, usytuowany ukośnie w stosunku do kierunku rozchodzenia się wiązki światła, a obok dzielnika światła usytuowana jest kamera dodatkowa, wykonująca rejestrację obrazu całej transparentnej płytki wraz z koloniami mikroorganizmów i/lub powiększone obrazy poszczególnych kolonii mikroorganizmów, połączona z komputerem. Statyw wyposażony jest w źródło podświetlającego światła oraz napęd do jego przemieszczania, natomiast komputer wyposażony jest dodatkowo w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych.

Korzystnie jest, gdy źródło podświetlającego światła stanowią diody, umieszczone w postaci pierścienia przy brzegu transparentnej płytki.

Korzystnie jest też, gdy dzielnik światła stanowi cienka płasko-równoległa płytka szklana pokryta powłoką światłodzielną.

Korzystnie jest także, kiedy dzielnik światła stanowi kostka światłodzielną.

Korzystnie jest również, gdy dzielnik światła usytuowany jest pod kątem 45 stopni do osi optycznej układu a kamera dodatkowa jest usytuowana prostopadle do osi optycznej układu.

Także jest korzystnie, gdy napęd umożliwi przemieszczanie się statywu w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

Też jest korzystnie, kiedy kamera dodatkowa wyposażona jest w dwa obiektywy.

Również jest korzystnie, gdy kamera dodatkowa wyposażona jest w obiektyw ze zmienną ogniskową.

Układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według drugiego wynalazku, dotyczącego układu, zawiera koherentne źródło światła, elementy modulujące wiązkę światła, wychodzącego z tego źródła, soczewkę skupiającą, transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie, umieszczoną między soczewką a detektorem, połączonym z komputerem, wyposażonym w układ analizujący widma dyfrakcyjne. Układ charakteryzuje się tym, że detektorem jest kamera a układ wyposażony jest w kamerę dodatkową, wykonującą rejestrację obrazu całej transparentnej płytki wraz z koloniami mikroorganizmów i/lub powiększone obrazy poszczególnych kolonii mikroorganizmów, połączoną z komputerem, zaś statyw wyposażony jest w źródło podświetlającego światła oraz napęd do jego przemieszczania a także koherentne źródło światła wraz z elementem do jego modulowania oraz soczewką jest wyposażone w napęd drugi. Natomiast komputer wyposażony jest dodatkowo w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych.

Korzystnie jest, gdy napęd drugi umożliwi przemieszczanie się koherentnego źródła światła wraz z elementem do jego modulowania oraz soczewką, jako całości, w kierunku równoległym do osi optycznej układu.

Korzystnie jest też, gdy napęd umożliwi przemieszczanie się statywu w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

Korzystnie jest także, kiedy kamera, będąca detektorem wyposażona jest w dwa obiektywy i kamera dodatkowa wyposażona jest w dwa obiektywy.

Korzystnie jest również, gdy kamera, będąca detektorem wyposażona jest w obiektyw ze zmienną ogniskową i kamera dodatkowa wyposażona jest w obiektyw ze zmienną ogniskową.

Jest także korzystnie, kiedy źródło podświetlającego światła stanowią diody umieszczone w postaci pierścienia przy brzegu transparentnej płytki.

Układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według trzeciego wynalazku, dotyczącego układu, zawiera koherentne źródło światła, elementy modulujące wiązkę światła, wychodzącego z tego źródła, soczewkę skupiającą, transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie, umieszczoną między soczewką a detektorem, połączonym z komputerem, wyposażonym w układ analizujący widma dyfrakcyjne. Układ charakteryzuje się tym, że statyw wyposażony jest w źródło podświetlającego światła oraz napęd do

jego przemieszczania, zaś detektor jest kamerą wyposażoną w co najmniej dwa obiektywy, a co najmniej jeden z obiektywów ma zmienną ogniskową, przy czym komputer wyposażony jest dodatkowo w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych.

Korzystnie jest, gdy napęd umożliwia przemieszczanie się statywu wzdłuż osi optycznej układu oraz w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

Korzystnie jest też, gdy napęd do przemieszczania statywu stanowi aktuator.

Przedmiot wynalazków przedstawiony jest w przykładach wykonania na rysunku, na których fig. 1 przedstawia układ do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według pierwszego wynalazku, dotyczącego układu, gdy napęd statywu umożliwia jego przemieszczanie w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu, w ujęciu schematycznym, fig. 2 przedstawia układ do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych według pierwszego wynalazku, dotyczącego układu, gdy napęd statywu umożliwia jego przemieszczanie w kierunku równoległym do osi optycznej układu i w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu, w ujęciu schematycznym, fig. 3 przedstawia układ do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według drugiego wynalazku, dotyczącego układu, w ujęciu schematycznym, fig. 4 przedstawia układ do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych według drugiego wynalazku, dotyczącego układu z detektorem dodatkowym, w ujęciu schematycznym, a fig. 5 przedstawia układ do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według trzeciego wynalazku, dotyczącego układu, w ujęciu schematycznym.

Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych polega na tym, że koherentną wiązką światła oświetla się kolonie mikroorganizmów znajdujące się na transparentnej płytce 1 i rejestruje się obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów i przesyła się ten obraz do komputera 4. W komputerze 4 obraz analizuje się za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej i wyodrębnia się oraz ustala się dokładne położenie zarejestrowanych na podłożu kolonii mikroorganizmów. Następnie przemieszcza się transparentną płytkę 1 wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów względem układu optycznego i oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów. Jest oczywiste, że można przemieszczać układ optyczny względem transparentnej płytki 1. Chodzi o skierowanie skolimowanej wiązki światła na jedną wybraną kolonię mikroorganizmów. Następnie dokonuje się detekcji widm dyfrakcyjnych oświetlanej kolonii mikroorganizmów, rejestruje się te widma i porównuje się je z widmami referencyjnymi. Po zbadaniu kolonii mikroorganizmów, transparentną płytkę przemieszcza się i oświetla się kolejną kolonię mikroorganizmów, znajdującą się na transparentnej płytce 1. Dokonuje się detekcji widm dyfrakcyjnych oświetlanej kolonii mikroorganizmów, rejestruje się te widma i porównuje się je z widmami referencyjnymi.

Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych zostanie bliżej przedstawiony w przykładach realizacji wynalazków, dotyczących układów pomiarowych do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych.

Jak pokazano na fig. 1 i fig. 2 układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według pierwszego wynalazku dotyczącego układu, zawiera źródło światła 5 w postaci lasera, następnie wzdłuż osi optycznej tego źródła, umieszczony jest element modulujący 6 wiązkę światła ze źródła światła 5. Element modulujący 6 zawiera filtr amplitudowy, polaryzator liniowy, poszerzacz wiązki i przesłonę irysową.

Na wyjściu wiązki światła z elementu modulującego 6 jest umieszczona soczewka skupiająca 11a dalej w osi optycznej układu znajduje się transparentna płytka 1 wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowana w statywie 8 wyposażonym w napęd 9. Statyw 8 posiada źródło podświetlającego światła. Są nim diody, umieszczone w postaci pierścienia przy brzegu transparentnej płytki 1. Za transparentną płytką 1, na osi optycznej umieszczony jest detektor 7 w postaci kamery, połączony z komputerem 4. Komputer 4 wyposażony jest w układ analizujący widma dyfrakcyjne i w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych, które obejmują analizę morfologii kolonii. Pomiedzy soczewką 11 a transparentną płytką 1 umieszczony jest dzielnik światła 3 ukośnie w stosunku do kierunku rozchodzenia się wiązki światła. Dzielnik światła 3 ma postać kostki światłodziеляjącej.

W innych przykładach wykonania dzielnik 3 może stanowić cienka płasko-równoległa płytka szklana pokryta powłoką światłodziеляjącą. Natomiast nad dzielnikiem światła 3 umieszczona jest kamera dodatkowa 2, połączona również z komputerem 4. Statyw 8 wyposażony jest w napęd 9 do jego przemieszczania. Napęd 9 umożliwia poruszanie statywu 8 z transparentną płytką 1 w kierunkach

X i Y prostopadłych do osi optycznej układu, jak pokazano na fig. 1 lub dodatkowo w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu, co pokazano na fig. 2.

Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych realizowany w układzie, według pierwszego wynalazku, dotyczącego układu, pokazanym na fig. 1 i fig. 2, polega na tym, że rejestruje się obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów, znajdującego się na transparentnej płytce 1 z kierunku prostopadłego do osi optycznej układu, czyli z kierunku równoległego do powierzchni transparentnej płytki 1 kamerą dodatkową 2 poprzez rejestrację promienia odbitego z dzielnika światła 3. Dzielnik światła 3, w tym przykładzie wykonania wynalazku, dotyczącego układu, usytuowany jest pod kątem 45 stopni do osi optycznej układu a kamera dodatkowa 2 jest usytuowana prostopadle do osi optycznej układu. Wykonanie zdjęcia jest możliwe dzięki podświetleniu, w jakie wyposażony jest statyw 8. Obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów przesyła się do komputera 4. Następnie analizuje się go w komputerze 4 za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej. Wyodrębnia się na zdjęciu kolonie mikroorganizmów oraz określa się ich dokładne położenie. Następnie przemieszcza się transparentną płytkę 1 z koloniami mikroorganizmów do położenia, w którym pojedyncza kolonia znajdzie się na osi optycznej układu. Przemieszczanie transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów dokonuje się poprzez zmianę położenia statywu 8, w którym transparentna płytka jest zamocowana, za pomocą napędu 9, który steruje przesuwem statywu 8 w kierunkach prostopadłych X i Y w stosunku do osi optycznej układu, jak pokazano na fig. 1 lub w trzech kierunkach: wzdłuż osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu, jak pokazano na fig. 2. Potem oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła pochodzącą ze źródła światła 5 i przechodzącą przez element 6 modulujący tę wiązkę. Za pomocą detektora 7 w postaci kamery dokonuje się serii pomiarów widm dyfrakcyjnych kolonii mikroorganizmów, znajdujących się na transparentnej płytce 1. Widma dyfrakcyjne poszczególnych kolonii mikroorganizmów porównuje się z widmami referencyjnymi i na podstawie ich cech klasyfikujących, różnicuje się gatunek mikroorganizmów. Następnie przemieszcza się transparentną płytkę 1 z koloniami mikroorganizmów, z wykorzystaniem napędu 9 statywu 8, w którym zamocowana jest transparentna płytka 1 z koloniami mikroorganizmów do położenia, w którym kolejna pojedyncza kolonia znajdzie się na osi optycznej układu. Potem oświetla się tę kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła, pochodzącą ze źródła światła 5 i przechodzącą przez element 6 modulujący tę wiązkę. Każdą kolonię oświetla się zbieżną wiązką koherentnego światła, generowanego przez źródło 5 i modulowaną przez element modulujący 6, który zawiera elementy optyczne, które zmieniają średnicę, natężenie i front falowy wiązki świetlnej, generowanej przez źródło światła 5.

W innym przykładzie realizacji wynalazku, dotyczącego sposobu, po wyodrębnieniu i ustaleniu dokładnego położenia na transparentnej płytce 1 zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów, przemieszcza się transparentną płytkę 1 z wykorzystaniem napędu 9 statywu 8, w którym zamocowana jest transparentna płytka 1 i oświetla się pojedynczą kolonię zbieżną wiązką koherentnego światła, generowanego przez źródło światła 5 i wykonuje się kamerą dodatkową 2 powiększone zdjęcia pojedynczych kolonii. Potem dokonuje się detekcji widm dyfrakcyjnych tej kolonii i porównuje się je z widmami referencyjnymi. Kamera dodatkowa 2, w tym przykładzie realizacji wynalazku, dotyczącego układu, wyposażona jest w dwa obiektywy, przy czym jeden obiektyw ma zmienną ogniskową, dzięki temu kamerą dodatkową 2 wykonuje się powiększone zdjęcie pojedynczej kolonii mikroorganizmów i obrazy całego podłoża transparentnej płytki 1 wraz z koloniami mikroorganizmów. Algorytmy przetwarzania informacji obrazowej komputera 4 pozwalają na prowadzenie analizy morfologii kolonii mikroorganizmów.

Na fig. 3 i fig. 4 przedstawiony jest drugi wynalazek, dotyczący układu, gdzie układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych zawiera źródło światła 5 w postaci lasera, następnie wzdłuż osi optycznej tego źródła umieszczony jest element modulujący 6 wiązkę światła, pochodzącą ze źródła światła 5, zawierający w sobie filtr amplitudowy, polaryzator liniowy, poszerzacz wiązki i przesłonę irysową, a na wyjściu wiązki światła z elementu modulującego 6 jest umieszczona soczewka skupiająca 11. Dalej w osi optycznej układu znajduje się transparentna płytka 1 z koloniami mikroorganizmów, zamocowana w statywie 8. Statyw 8 wyposażony jest w źródło podświetlającego światła, którym są diody umieszczone w postaci pierścienia przy brzegu transparentnej płytki 1. Statyw 8 posiada też napęd 9 do jego przemieszczania w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu. Za transparentną płytką 1 z koloniami mikroorganizmów, na osi optycznej umieszczony jest detektor 7 w postaci kamery, połączony z komputerem 4. Komputer 4 wyposażony jest w układ analizujący widma dyfrakcyjne i w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych, które

obejmują też analizę morfologii kolonii. Obok detektora 7 umieszczona jest kamera dodatkowa 2 połączona również z komputerem 4, przy czym kamera dodatkowa 2 umieszczona jest równolegle do kamery 7, będącej w osi optycznej układu. Koherentne źródło światła 5 wraz z elementem do jego modulowania 6 oraz soczewką 11 jest wyposażone w napęd drugi 10, umożliwiający przemieszczanie się całego zestawu, złożonego z wyżej wymienionych elementów, jako całości w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu.

W przykładzie realizacji drugiego wynalazku, dotyczącego układu, przedstawionym na fig. 4, układ z fig. 3 został dodatkowo wyposażony w detektor dodatkowy 12, służący do rejestracji dodatkowych sygnałów. Dodatkowy detektor 12 i kamera dodatkowa 2 są usytuowane równolegle do kamery 7, leżącej w osi optycznej układu. Natomiast źródło światła 5, element modulujący 6 oraz soczewka transformująca 11 są zintegrowane z napędem drugim 10, który automatycznie przesuwa te elementy w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu. Dodatkowy detektor 12 może mieć postać kamery i służyć do rejestracji powiększonych obrazów pojedynczych kolonii mikroorganizmów.

Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych realizowany w układzie, według drugiego wynalazku, dotyczącego układu, pokazanym na fig. 3 i fig. 4, polega na przemieszczaniu transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów przed dodatkową kamerą 2 i rejestracji obrazu całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów w trybie transmisyjnym. Obraz ten przesyła się do komputera 4 i analizuje się za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej i wyodrębnia się i ustala się dokładne położenie zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów. Następnie przemieszcza się transparentną płytkę 1 z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie 8, z wykorzystaniem napędu 9 statywu 8, w celu usytuowania poszczególnych kolonii na wprost dodatkowej kamery 2 i dokonuje się rejestracji powiększonych obrazów kolonii mikroorganizmów, znajdujących się na transparentnej płytce 1. Przesyła się zarejestrowane obrazy do komputera 4 a następnie przemieszcza się transparentną płytkę 1 z koloniami mikroorganizmów, znów z wykorzystaniem napędu 9 przemieszczającego statyw 8, w którym osadzona jest transparentna płytka 1 z koloniami mikroorganizmów przed kamerą 7, leżącą w osi optycznej układu i oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła. Następnie dokonuje się detekcji widm dyfrakcyjnych oświetlanej kolonii mikroorganizmów, rejestruje się te widma i porównuje się je z widmami referencyjnymi. W układzie tym statyw 8 jest wyposażony w napęd 9 umożliwiający jego automatyczny przesuw w kierunkach X i Y, prostopadłych do osi optycznej układu. Ponadto źródło światła 5, element 6 modulujący oraz soczewka transformująca 11 są zintegrowane z napędem drugim 10, który automatycznie przesuwa te elementy w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu. Odległości między tymi elementami są ustalone, ale całość się przesuwa w celu doboru odpowiedniej średnicy wiązki oświetlającej w stosunku do średnicy kolonii.

Jak pokazano na fig. 5 układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, według trzeciego wynalazku, dotyczącego układu, zawiera źródło światła 5 w postaci lasera, następnie wzdłuż osi optycznej tego źródła umieszczony jest element modulujący 6 wiązkę światła pochodzącą ze źródła światła 5, zawierający w sobie filtr amplitudowy, polaryzator liniowy, poszerzacz wiązki i przesłonę irysową, a na wyjściu wiązki światła z elementu modulującego 6 jest umieszczona soczewka skupiająca 11 a dalej w osi optycznej układu znajduje się transparentna płytka 1 z koloniami mikroorganizmów, zamocowana w statywie 8, wyposażonym w napęd 9. Za transparentną płytką 1 w osi optycznej umieszczony jest detektor 13 w postaci kamery, połączony z komputerem 4. Komputer 4 wyposażony jest w układ analizujący widma dyfrakcyjne i w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych, które obejmują analizę morfologii kolonii. Detektorem 13 jest kamera, wyposażona w dwa obiektywy, a jeden z obiektywów ma zmienną ogniskową, co umożliwi rejestrację zdjęcia całej transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów, powiększonych zdjęć poszczególnych kolonii oraz widm dyfrakcyjnych. W tym przykładzie realizacji wynalazku, obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku prostopadłego do powierzchni transparentnej płytki 1. Napęd 9 umożliwi przemieszczanie się statywu 8 w kierunku równoległym do osi optycznej układu oraz w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

Sposób pomiaru w układzie, według trzeciego wynalazku, dotyczącego układu, polega na następujących czynnościach. Oświetla się transparentną płytkę 1 z koloniami mikroorganizmów koherentną zbieżną wiązką światła, pochodzącego ze źródła światła 5, a następnie rejestruje się za pomocą kamery 13 zdjęcie całej transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów i przesyła się do komputera 4. Następnie obraz analizuje się za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej i wyodrębnia się oraz ustala się dokładne położenie zarejestrowanych kolonii

mikroorganizmów. Następnie przemieszcza się automatycznie statyw 8 z transparentną płytką 1 z koloniami mikroorganizmów w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu poprzez napęd 9 i oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła i rejestruje się powiększone obrazy poszczególnych kolonii mikroorganizmów. Po czym oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła i rejestruje się widma dyfrakcyjne. Przesuwanie statywu 8 odbywa się automatycznie w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu przy użyciu napędu 9.

Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych oraz układ, według wynalazku, umożliwiają szybkie, łatwe, a także nieniszczące i bezkontaktowe badanie kolonii mikroorganizmów. Zostało to osiągnięte dzięki temu, że obraz transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku prostopadłego do osi optycznej układu położenia transparentnej płytki poprzez rejestrację promienia odbitego z dzielnika światła, który to obraz przesyła się do komputera, i analizuje się za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej i wyodrębnia się oraz ustala się dokładne położenie zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów. Informacja o rozmieszczeniu poszczególnych kolonii mikroorganizmów na transparentnej płytce 1 pozwala na takie przemieszczenie transparentnej płytki 1, aby pojedyncza badana kolonia mogła zostać oświetlona koherentną wiązką światła, a następnie w znany sposób dokonuje się pomiaru widm dyfrakcyjnych oświetlanej kolonii mikroorganizmów i porównuje z widmami referencyjnymi.

Wyposażenie statywu 8 w napęd 9 pozwala na automatyczną i szybką zmianę położenia statywu 8, a zarazem na szybkie i precyzyjne dokonanie pomiaru widm dyfrakcyjnych hodowanych mikroorganizmów. Dodatkowa rejestracja zdjęcia całej transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów dostarcza informacji o liczbie kolonii, a to w powiązaniu z zarejestrowanymi widmami dyfrakcyjnymi Fresnela, badanych kolonii mikroorganizmów, pozwala na procentowe określenie obecności danego gatunku mikroorganizmów na transparentnej płytce 1 z koloniami mikroorganizmów.

Wyposażenie układu optycznego (źródło światła 5, element 6 modulujący oraz soczewka transformująca 11) w napęd drugi 10 pozwala na zmianę położenia układu optycznego względem transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów.

Dopasowanie średnicy wiązki oświetlającej do średnicy badanej kolonii mikroorganizmów uzyskano dzięki wyposażeniu zestawu złożonego z koherentnego źródła światła 5 wraz z elementem modulującym 6 i soczewką 11 w napęd drugi 10 w kierunku równoległym do osi optycznej układu.

Wyposażenie statywu 8 w źródło podświetlającego światła pozwala na szybkie wykonanie zdjęcia całej transparentnej płytki 1 z koloniami mikroorganizmów.

Możliwość rejestracji powiększonych obrazów pojedynczych kolonii, poprzez kamerę z dwoma obiektywami lub kamerę ze zmienną ogniskową pozwala wyznaczyć cechy fenotypowe badanej kolonii mikroorganizmów. Określenie tych dodatkowych cech fenotypowych wraz z pomiarem widm dyfrakcyjnych Fresnela badanej kolonii mikroorganizmów pozwala na wyodrębnienie większej ilości cech różnicujących dany gatunek i/lub szczep mikroorganizmów.

Przedmiot wynalazku nie ogranicza się oczywiście do przedstawionych przykładów wykonania i możliwe są różne jego modyfikacje, w ramach zastrzeżeń patentowych, bez odejścia od istoty wynalazku.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych, w którym oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła, a następnie jej widma dyfrakcyjne poddaje się detekcji, potem rejestruje się je i analizuje się w komputerze, **znamienny tym**, że przed detekcją widm dyfrakcyjnych pojedynczej kolonii mikroorganizmów, oświetla się kolonie mikroorganizmów, znajdujące się na podłożu na transparentnej płytce (1) i rejestruje się obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów, i przesyła się go do komputera (4), i analizuje się za pomocą komputerowych algorytmów przetwarzania informacji obrazowej i wyodrębnia się oraz ustala się dokładne położenie zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów, a następnie przemieszcza się transparentną płytkę (1) wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów względem układu optycznego i oświetla się pojedynczą kolonię mikroorganizmów koherentną wiązką światła a po detekcji widm dyfrakcyjnych oświetlanej kolonii mikroorganizmów, rejestruje się te widma i porównuje się je z widmami referencyjnymi.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że przemieszczanie transparentnej płytki (1) wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów dokonuje się w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku prostopadłego do powierzchni transparentnej płytki (1).

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku równoległego do powierzchni transparentnej płytki (1).

5. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że obraz całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów rejestruje się z kierunku równoległego do powierzchni transparentnej płytki (1) poprzez rejestrację promienia odbitego z dzielnika światła (3).

6. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że po wyodrębnieniu i ustaleniu dokładnego położenia na transparentnej płytce (1) zarejestrowanych kolonii mikroorganizmów, przemieszcza się transparentną płytkę (1) wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów względem układu optycznego i wykonuje się powiększone zdjęcia pojedynczych kolonii.

7. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 6, **znamienny tym**, że algorytmy przetwarzania informacji obrazowej obejmują analizę morfologii kolonii.

8. Układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych zawierający koherentne źródło światła, elementy modulujące wiązkę światła, wychodzącego z tego źródła, soczewkę skupiającą, transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie, umieszczoną między soczewką a detektorem, połączonym z komputerem, wyposażonym w układ analizujący widma dyfrakcyjne, **znamienny tym**, że detektorem (7) jest kamera a pomiędzy soczewką (11), skupiającą wiązkę światła a transparentną płytką (1) wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, umieszczony jest dzielnik światła (3), usytuowany ukośnie w stosunku do kierunku rozchodzenia się wiązki światła, a obok dzielnika światła (3) usytuowana jest kamera dodatkowa (2), wykonująca rejestrację obrazu całego podłoża transparentnej płytki (1) wraz z koloniami mikroorganizmów i/lub powiększone obrazy poszczególnych kolonii mikroorganizmów, połączona z komputerem (4), zaś statyw (8) wyposażony jest w źródło podświetlającego światła oraz napęd (9) do jego przemieszczania, przy czym komputer (4) wyposażony jest dodatkowo w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych.

9. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że źródło podświetlającego światła stanowią diody, umieszczone w postaci pierścienia przy brzegu transparentnej płytki (1).

10. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że dzielnik światła (3) stanowi cienka płasko-równoległa płytka szklana pokryta powłoką światłodzielącą.

11. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że dzielnik światła (3) stanowi kostka światłodzieląca.

12. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że dzielnik światła (3) usytuowany jest pod kątem 45 stopni do osi optycznej układu a kamera dodatkowa (2) jest usytuowana prostopadle do osi optycznej układu.

13. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że napęd (9) umożliwia przemieszczanie się statywu (8) w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

14. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że kamera dodatkowa (2) wyposażona jest w dwa obiektywy.

15. Układ według zastrz. 8, **znamienny tym**, że kamera dodatkowa (2) wyposażona jest w obiektyw ze zmienną ogniskową.

16. Układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych zawierający koherentne źródło światła, elementy modulujące wiązkę światła, wychodzącego z tego źródła, soczewkę skupiającą, transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie, umieszczoną między soczewką a detektorem, połączonym z komputerem wyposażonym w układ analizujący widma dyfrakcyjne, **znamienny tym**, że detektorem (7) jest kamera a układ wyposażony jest w kamerę dodatkową (2), wykonująca rejestrację obrazu całego podłoża wraz z koloniami mikroorganizmów i/lub powiększone obrazy poszczególnych kolonii bakterii, połączoną z komputerem (4), zaś statyw (8) wyposażony jest w źródło podświetlającego światła oraz napęd (9) do jego przemieszczania a także koherentne źródło światła (5) wraz z elementem do jego modulowania (6) oraz soczewką (11) jest wyposażone w napęd drugi (10), przy czym komputer (4) wyposażony jest dodatkowo w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych.

17. Układ według zastrz. 16, **znamienny tym**, że napęd drugi (10) umożliwia przemieszczanie się koherentnego źródła światła (5) wraz z elementem do jego modulowania (6) oraz soczewką (11), jako całości, w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu.

18. Układ według zastrz. 16, **znamienny tym**, że napęd (9) umożliwia przemieszczanie się statywu (8) w kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

19. Układ według zastrz. 16, **znamienny tym**, że kamera, będąca detektorem (7), wyposażona jest w dwa obiektywy i kamera dodatkowa (2) jest wyposażona w dwa obiektywy.

20. Układ według zastrz. 16, **znamienny tym**, że kamera, będąca detektorem (7) wyposażona w obiektyw ze zmienną ogniskową i kamera dodatkowa (2) jest wyposażona w obiektyw ze zmienną ogniskową.

21. Układ według zastrz. 16, **znamienny tym**, że źródło podświetlającego światła stanowią diody umieszczone w postaci pierścienia przy brzegu transparentnej płytki (1).

22. Układ pomiarowy do badania mikroorganizmów hodowanych na podłożach stałych zawierający koherentne źródło światła, elementy modulujące wiązkę światła, wychodzącego z tego źródła, soczewkę skupiającą, transparentną płytkę wraz z podłożem z koloniami mikroorganizmów, zamocowaną w statywie, umieszczoną między soczewką a detektorem, połączonym z komputerem, wyposażonym w układ analizujący widma dyfrakcyjne, **znamienny tym**, że statyw (8) wyposażony jest w źródło podświetlającego światła oraz napęd (9) do jego przemieszczania, zaś detektor (13) jest kamerą wyposażoną w co najmniej dwa obiektywy, a co najmniej jeden z obiektywów ma zmienną ogniskową, przy czym komputer (4) wyposażony jest dodatkowo w algorytmy przetwarzania informacji obrazowych.

23. Układ według zastrz. 22, **znamienny tym**, że napęd (9) umożliwia przemieszczanie się statywu (8) w kierunku Z równoległym do osi optycznej układu i kierunkach X i Y prostopadłych do osi optycznej układu.

24. Układ według zastrz. 22, **znamienny tym**, że napęd (9) do przemieszczania statywu (8) stanowi akuator.

Rysunki

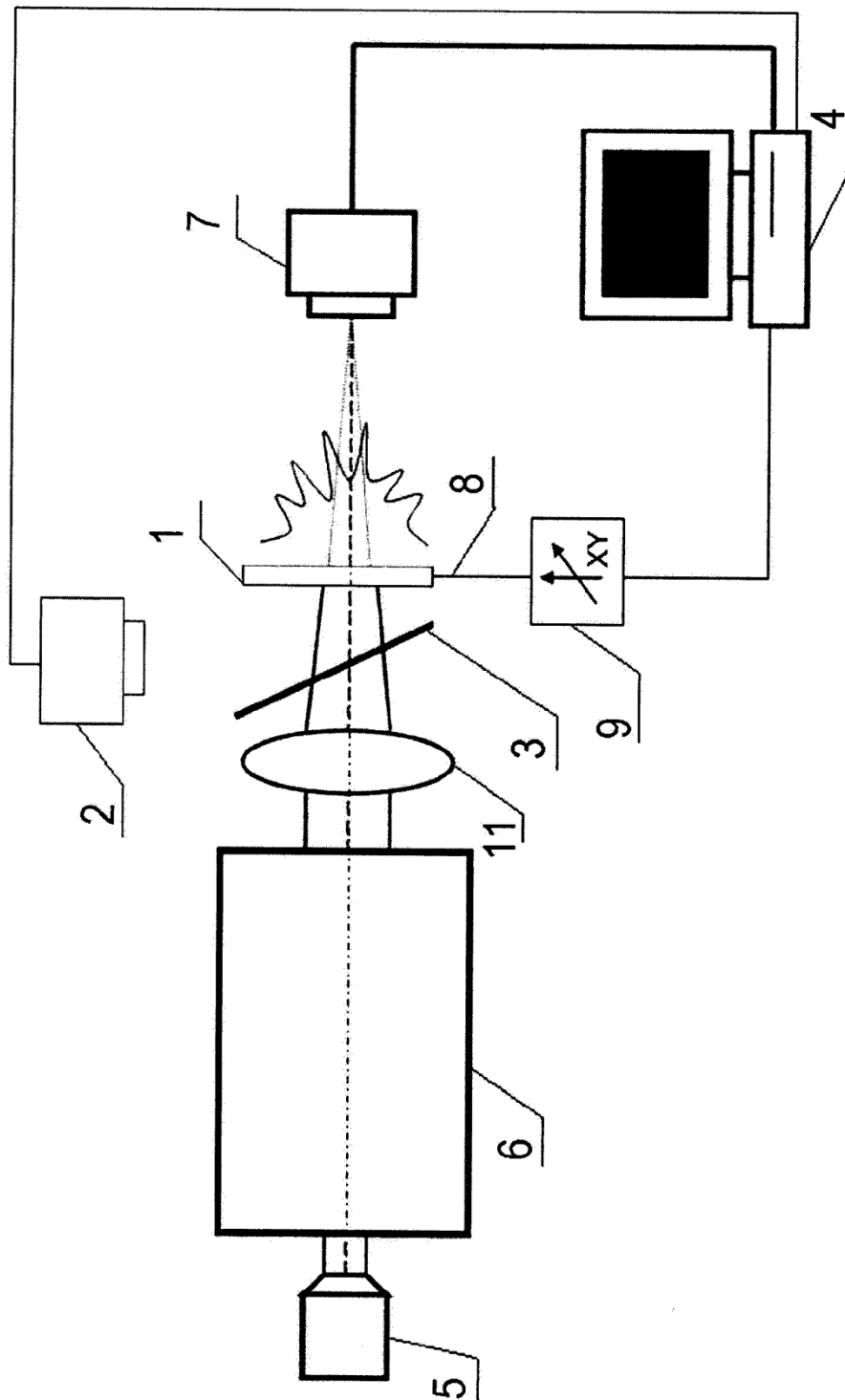


Fig.1

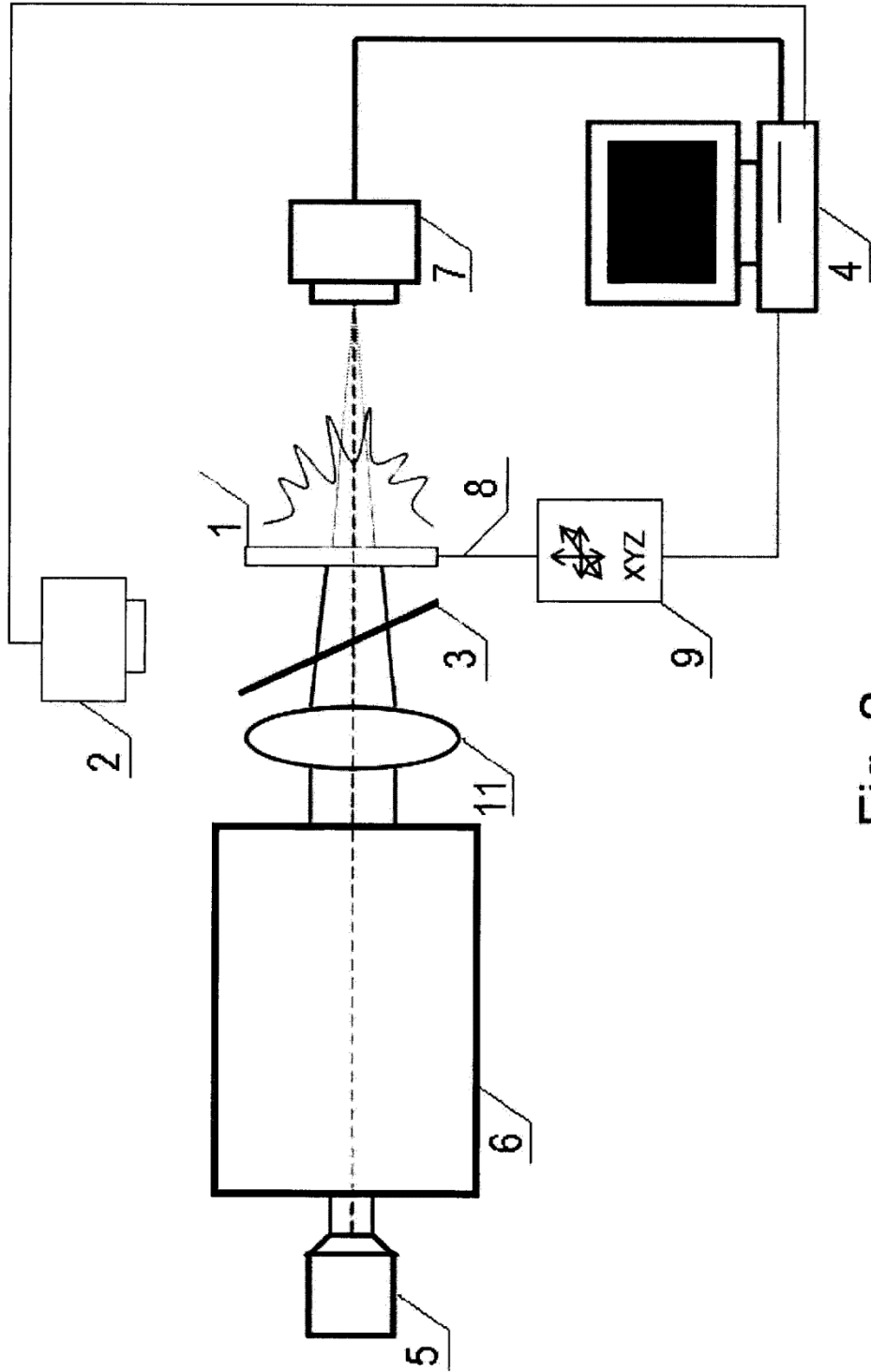


Fig. 2

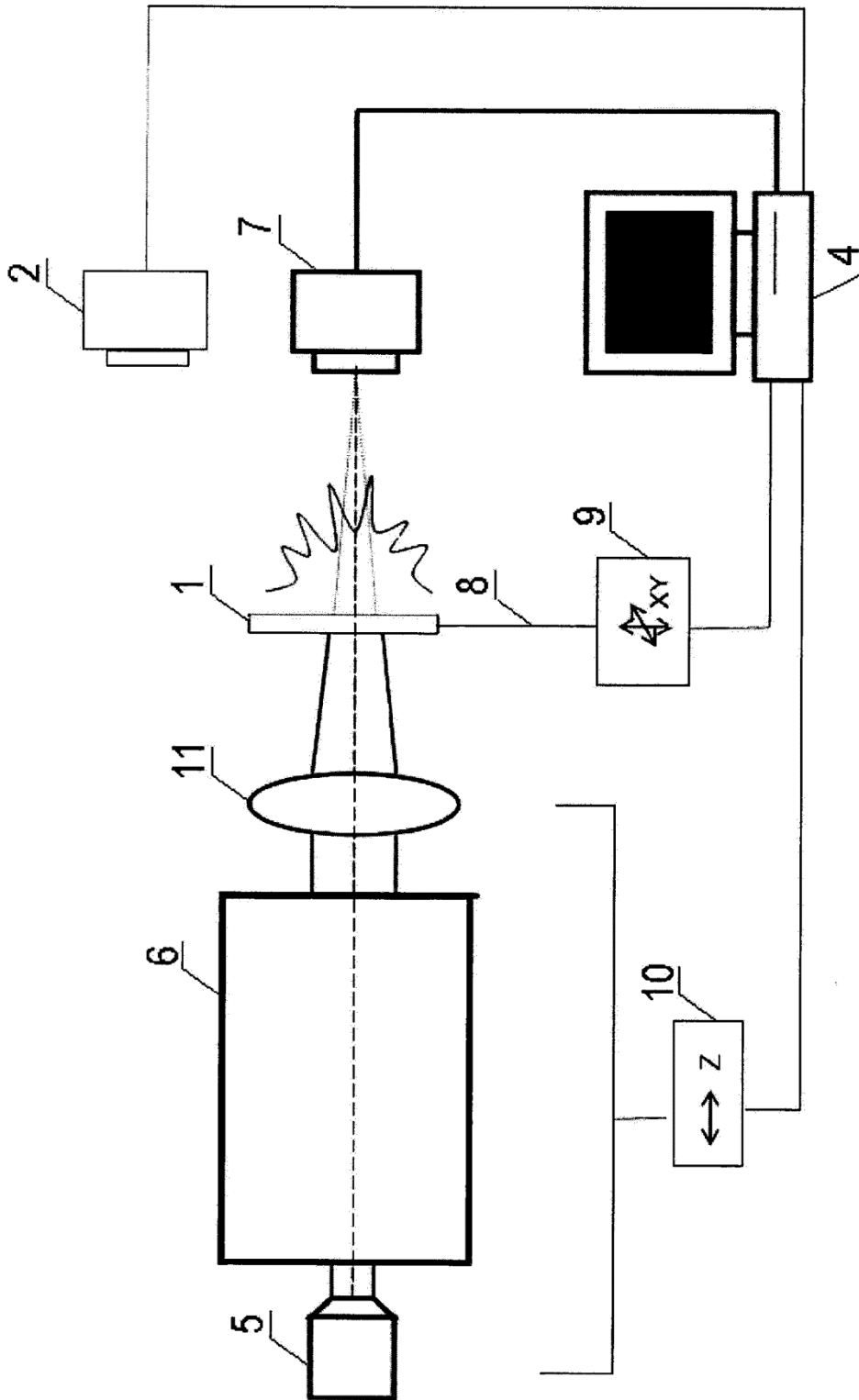


Fig.3

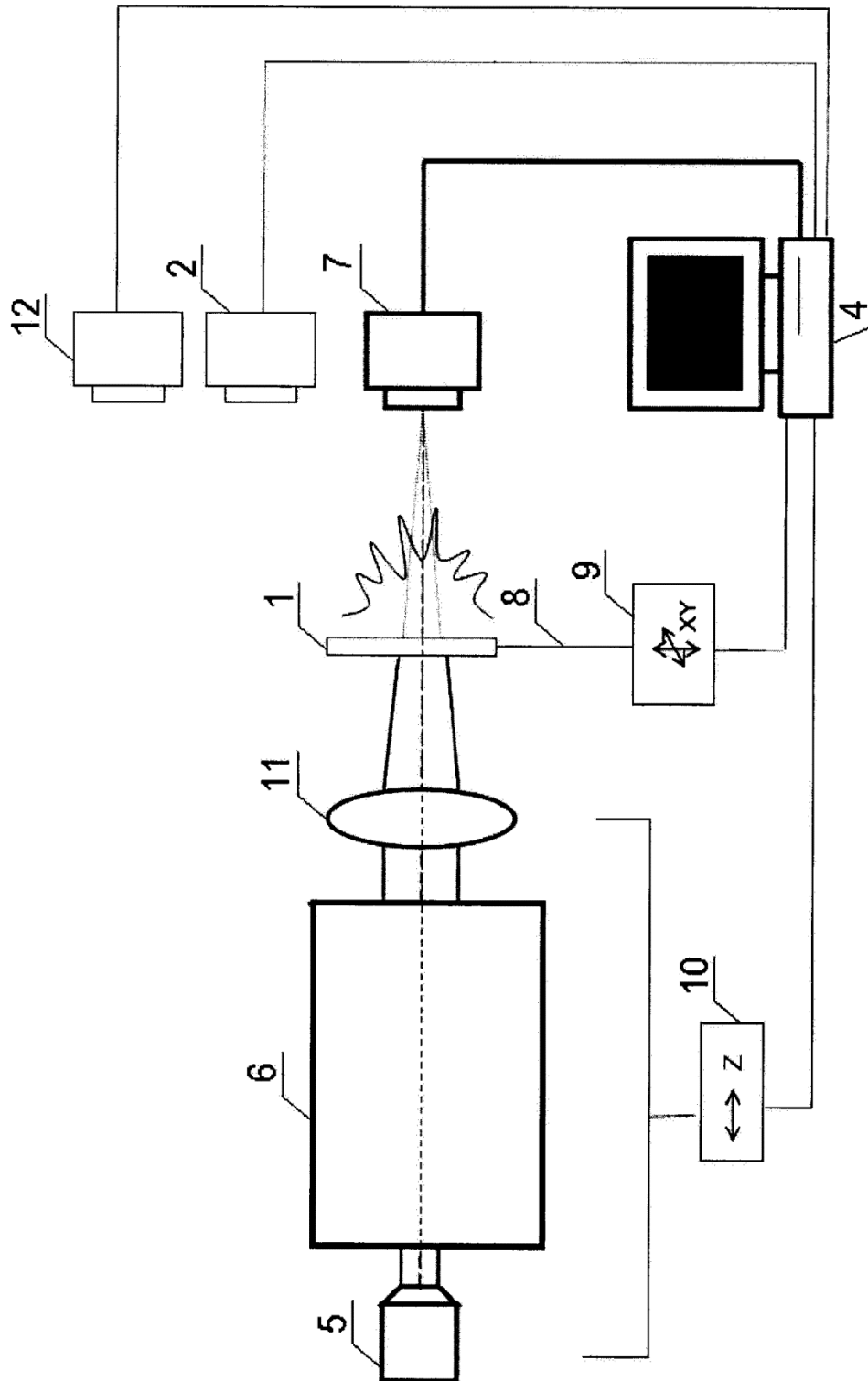


Fig.4

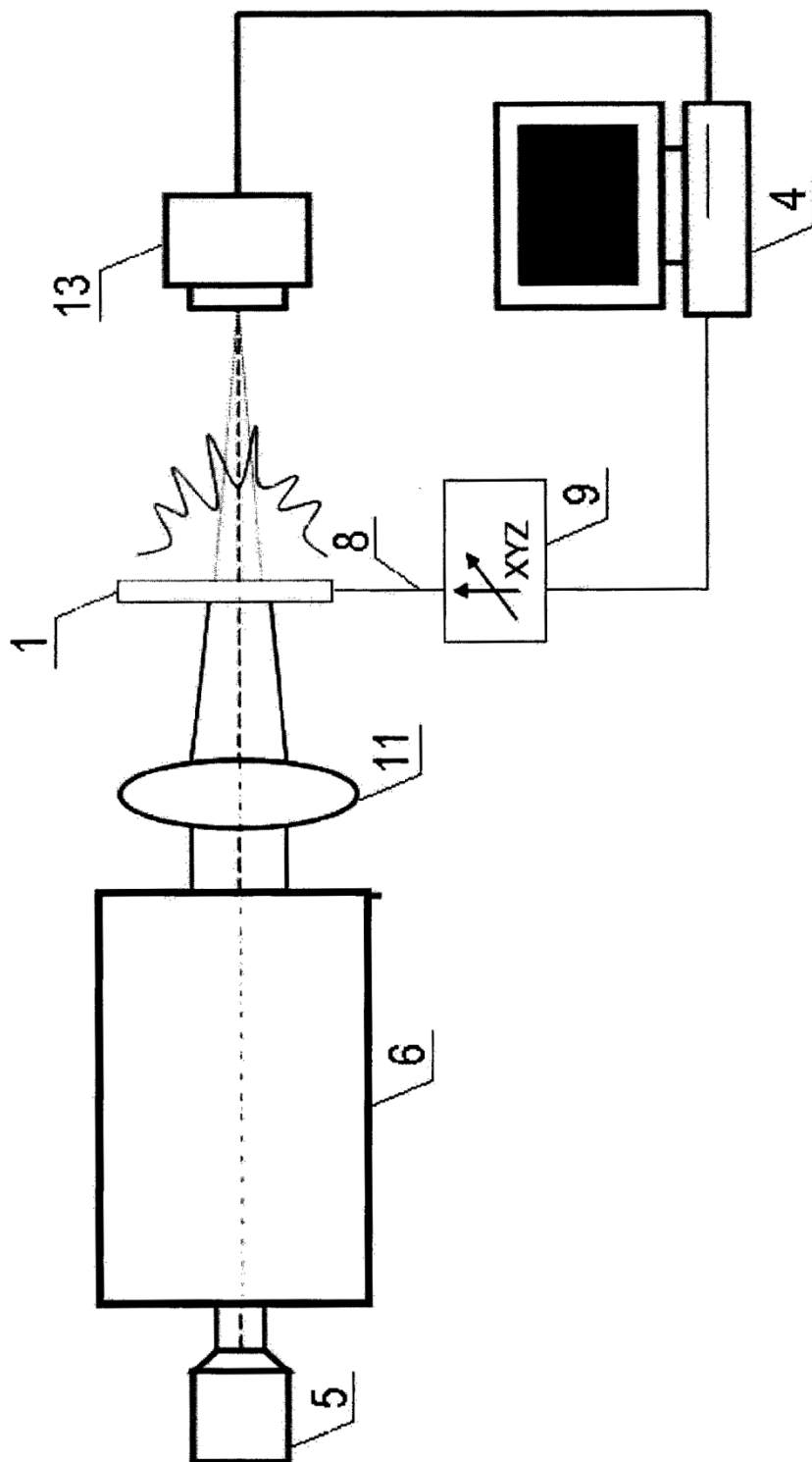


Fig.5