



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112673246 B

(45) 授权公告日 2024. 11. 08

(21) 申请号 201980053572.7
 (22) 申请日 2019.06.05
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 112673246 A
 (43) 申请公布日 2021.04.16
 (30) 优先权数据
 102018000006083 2018.06.06 IT
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2021.02.08
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/IB2019/054679 2019.06.05
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02019/234654 EN 2019.12.12

(73) 专利权人 埃尔特克有限公司
 地址 意大利卡萨莱蒙费拉托
 (72) 发明人 M·皮济 G·麦罗利 V·加洛
 M·扎宁
 (74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
 72001
 专利代理师 余鹏 王丽辉
 (51) Int.Cl.
 G01N 1/40 (2006.01)
 B01L 3/00 (2006.01)
 G01N 35/00 (2006.01) (续)
 (56) 对比文件
 EP 2817519 A1, 2014.12.31 (续)
 审查员 马雪

权利要求书3页 说明书14页 附图22页

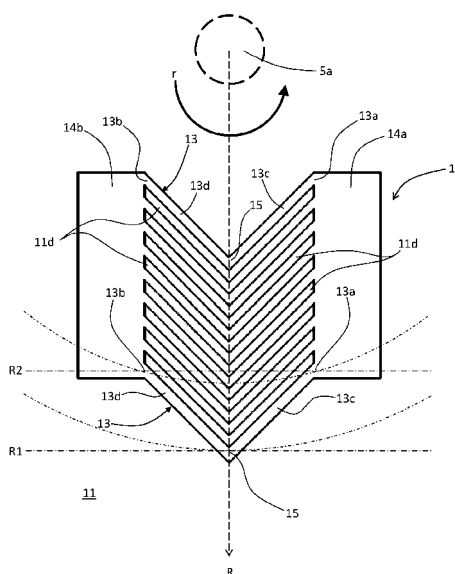
(54) 发明名称

用于通过离心力浓缩颗粒的微流体装置以及对应的离心和/或检测装置

(57) 摘要

一种用于浓缩流体样本(FS)中包含的颗粒的微流体装置包括构造成用于设置成绕旋转中心(5a)旋转的基板(11),所述基板(11)具有表面(11b),至少一个微流体布置结构(12)被限定在所述表面(11b)中,所述微流体布置结构(12)基本上按照由所述基板(11)确定的平面延伸。所述至少一个微流体布置结构(12)包括具有第一端部(13a)和第二端部(13b)的至少一个微通道(13),其中:-所述至少一个微通道(13)在其处于其第一端部(13a)和其第二端部(13a)中间的区域中包括至少一个积聚区域(15),所述积聚区域(15)在径向方向(R)上与所述基板(11)的所述旋转中心(5a)相距第一距离(R1);-所述至少一个微通道(13)的所述第一端部(13a)和所述第二端部(13b)在径向方向(R)上与所述基板(11)的所述旋转中心(5a)相距第二距离(R2);以及-以如下方式,在径向方向(R)上的所述第一距离(R1)

大于在径向方向(R)上的所述第二距离(R2),即:使得由于所述基板(11)绕所述旋转中心(5a)的旋转所引起的离心力,渗透到所述至少一个微通道(13)中的所述流体样本(FS)的流体体积中可能包含的颗粒(P)趋于集中在所述至少一个积聚区域(15)中。



CN 112673246 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

US 2007275426 A1,2007.11.29

C12Q 1/18 (2006.01)

US 2008317634 A1,2008.12.25

(56) 对比文件

WO 2015131662 A1,2015.09.11

US 2004248093 A1,2004.12.09

1. 一种用于浓缩以及检测流体样本 (FS) 中包含的颗粒的微流体装置, 包括构造成用于设置成相对于旋转中心 (5a) 旋转的基板 (11), 所述基板 (11) 具有表面 (11b), 至少一个微流体布置结构 (12) 被限定在所述表面 (11b) 处, 所述微流体布置结构 (12) 基本上按照由所述基板 (11) 确定的平面延伸, 其中, 所述至少一个微流体布置结构 (12) 包括均具有第一端部 (13a) 和第二端部 (13b) 的多个微通道 (13), 其中:

- 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道在其处于其第一端部 (13a) 和其第二端部 (13b) 中间的区域中包括至少一个检测区域 (15), 所述检测区域 (15) 相对于所述基板 (11) 的所述旋转中心 (5a) 在径向方向 (R) 上处于第一距离 (R1) 处;

- 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道的所述第一端部 (13a) 和所述第二端部 (13b) 相对于所述基板 (11) 的所述旋转中心 (5a) 在径向方向 (R) 上处于第二距离 (R2) 处; 以及

- 在径向方向 (R) 上的所述第一距离 (R1) 大于在径向方向 (R) 上的所述第二距离 (R2),

其中:

- 所述检测区域 (15) 是颗粒积聚的区域;

- 所述至少一个微流体布置结构 (12) 包括至少一个第一管道或腔室 (14a) 和第二管道或腔室 (14b), 所述多个微通道 (13) 中的微通道具有并联连接到所述第一管道或腔室 (14a) 的所述第一端部 (13a) 和并联连接到所述第二管道或腔室 (14b) 的所述第二端部 (13b), 所述第一管道或腔室 (14a) 和第二管道或腔室 (14b) 中的一者被预先布置成用于接收所述流体样本 (FS);

- 在用于颗粒积聚的所述至少一个检测区域 (15) 中, 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道为基本上 V 形或 U 形的; 或者包括两个基本上会聚的微通道分支 (13c、13d);

- 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道仅在第一端部 (13a) 和其第二端部 (13b) 处开口, 即: 使得由于所述基板 (11) 绕所述旋转中心 (5a) 的旋转所引起的离心力, 渗透到所述多个微通道 (13) 中的至少一个微通道中的所述流体样本 (FS) 的流体体积中包含的颗粒 (P) 集中在所述至少一个检测区域 (15) 中。

2. 根据权利要求 1 所述的微流体装置, 其中, 同一微流体布置结构 (12) 的多个微通道 (13) 在径向方向 (R) 上基本上并排布置。

3. 根据权利要求 1 所述的微流体装置, 其中, 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道在相应的检测区域 (15) 处成形为限定以下至少一者:

- 至少一个虹吸管 (13f、13g),

- 至少一个孔 (16)。

4. 根据权利要求 1 所述的微流体装置, 其中, 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道包括至少一个微通道分支 (13c、13d), 所述微通道分支 (13c、13d) 沿基本上径向方向 (R) 延伸并且通向相应的一个所述检测区域 (15)。

5. 根据权利要求 1 所述的微流体装置, 其中, 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道具有相关联的至少两个电极 (17), 所述至少两个电极 (17) 处于一个所述检测区域 (15) 处, 和/或处于如下位置, 即: 所述位置包含在一个所述检测区域 (15) 与多个微通道 (13) 中的对应一个微通道的所述第一端部 (13a) 和所述第二端部 (13b) 中的一个之间。

6. 根据权利要求 1 所述的微流体装置, 其中, 所述多个微通道 (13) 中的每个微通道:

- 具有介于 $5\mu\text{m}$ 和 $200\mu\text{m}$ 之间的宽度, 和/或

- 具有介于 $2\mu\text{m}$ 和 $100\mu\text{m}$ 之间的深度或高度,和/或
- 具有介于 5mm 和 50mm 之间的长度,和/或
- 具有基本上恒定的通口剖面。

7. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中:

-所述多个微通道(13)中的每个微通道具有由亲水性材料和疏水性材料中的至少一者限定的至少一个表面部分,所述亲水性材料和/或所述疏水性材料属于至少部分地在所述多个微通道(13)中的每个微通道上方延伸的装置(10)的所述基板(11)和覆盖元件(12a)中的至少一者;和/或

-所述装置(10)至少部分地由透明材料制成,所述透明材料属于至少部分地在所述多个微通道(13)中的每个微通道上方延伸的所述基板(11)和覆盖元件(12a)中的一者。

8. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述基板(11):

- 构造成用于安装在离心装置的旋转构件上;和/或
- 是基本上盘形的。

9. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,多个所述微流体布置结构(12)被限定在所述基板(11)的所述表面(11b)中,所述微流体布置结构(12)在径向方向上基本上彼此对准地布置和/或基本上按照周界来设置。

10. 一种离心装置,包括旋转构件以及根据权利要求1-9中任一项所述的微流体装置(10),所述旋转构件构造成用于使所述微流体装置(10)旋转。

11. 一种检测系统,所述检测系统包括检测装置(1)以及根据权利要求1-9中任一项所述的微流体装置(10),所述检测装置(1)包括:旋转构件,其构造成用于使所述微流体装置(10)经受角运动;以及光学传感器装置(21),其构造成用于在所述微流体装置(10)上执行光学检测,和/或用于检测已积聚在所述微流体装置(10)的至少一个检测区域(15)中的颗粒(P),

其中,所述光学传感器装置(21)被构造成用于获取所述微流体装置(10)的一个或多个检测区域(15)的光信号或图像,

其中:

-所述检测装置(1)被预先布置成用于基于通过所述光学传感器装置(21)获取的光信号或图像来处理信息,所述信息表示已积聚在所述微流体装置(10)的检测区域(15)中或多个检测区域(15)中的颗粒量;和/或

-所述光学传感器装置(21)以固定的位置或者以可移位的方式安装在所述检测装置(1)的结构上。

12. 一种用于检测存在于流体样本(FS)中的颗粒(P)的方法,包括以下步骤:

- a) 提供根据权利要求1-9中任一项所述的微流体装置(10);
- b) 将一体积的所述流体样本(FS)引入到所述微流体装置(10)的至少一个微流体布置结构(12)的多个微通道(13)中的每个微通道中;
- c) 使所述微流体装置(10)以离心速度相对于对应的旋转中心(5a)旋转;以及
- d) 检测已积聚在所述多个微通道(13)中的每个微通道(13)的检测区域(15)中的颗粒(P)。

13. 根据权利要求12所述的方法,所述方法用于执行抗菌谱检测,其中:

-所述步骤b) 包括提供含有微生物的液体培养基,以获得所述流体样本(FS);
-所述步骤d) 包括量化已积聚在多个微通道(13)中的每个微通道的检测区域(15)中的微生物的数量。

14. 根据权利要求13所述的方法,包括:

- i) 用至少一种第一抗生素来预处理所述多个微通道(13)中的第一微通道;
- ii) 获得微生物的团块;
- iii) 将所述团块的至少一部分接种到所述液体培养基中;
- iv) 将一体积的所述液体培养基引入到所述第一微通道(13)中;
- v) 等待包含在10分钟和6小时之间的时间段;
- vi) 使所述微流体装置(10)经受离心作用;以及
- vii) 量化已积聚在所述第一微通道(13)的检测区域(15)中的微生物的数量,这在所述第一微通道(13)和所述多个微通道(13)的未用所述至少一种第一抗生素预处理的第二微通道之间执行相对定量,以便获得所述微生物对所述至少一种第一抗生素的敏感性概况。

用于通过离心力浓缩颗粒的微流体装置以及对应的离心和/或检测装置

技术领域

[0001] 本发明总体上涉及用于检测或估计流体样本中存在的颗粒、特别是低浓度和小体积的颗粒的量的技术。

[0002] 本发明的开发特别参考了离心支撑件或基板并且参考了设计成经受离心分离的微流体布置结构或装置,以及如下装置和方法,即:其用于对包含细菌或微生物的流体样本进行检查或分析,以例如用于抗菌谱检测的快速执行。在任何情况下,本发明还可应用于检测流体样本中可能存在的其他类型的颗粒,其不一定是有机或生物流体或颗粒。

背景技术

[0003] 已知各种技术用于计数存在于流体、例如生物流体的样本中的颗粒,例如细胞。最常用的系统具有光学类型的(具有或不具有荧光)、阻抗测量类型(impedancemetry type)或借助于图像识别的静态类型。这些已知的系统通常需要相对大的样本量,并且不能实现测量的高效并行化;即,它们假定相当大量的起始样本能够并行和/或同时地执行许多测量。基于图像识别技术的已知系统可用于分析小流体样本,但是不能实现多个样本的并行化,从而增加了测量时间,除非进行投资,但这经常证明是不经济的。

发明内容

[0004] 概括地说,本发明的目的在于指示如下装置和方法,即:其使得能够以简单、快速和廉价的方式执行对以低浓度和/或小体积存在于流体样本中的颗粒的分离和/或积聚和/或量化和/或识别,从而使得能够以同样简单且廉价的方式实现多个样本之间的并行化,而在时间和成本方面以及在关于灵敏度和可重复性的效率方面具有优势。

[0005] 本发明的另一目的在于指示如下方法,即:该方法使得能够(在测量微生物时)执行抗菌谱检测,即在表示性的几个小时的相对短的时间内获得微菌或细菌对抗生素的敏感性概况(profile);本发明的一种辅助目的在于指示使得能够同时执行多个抗菌谱检测的方法。

[0006] 根据本发明,上述目的通过具有所附权利要求中规定的特征的用于通过离心浓缩颗粒的微流体装置以及相对应的支撑件和方法来实现。

[0007] 特别地,本发明涉及一种可离心的微流体装置,其包括基板,在该基板上设置有至少一个微流体布置结构,该微流体布置结构旨在浓缩存在于流体样本中的颗粒,以用于评估或检测其量的目的。该微流体布置结构包括至少一个微通道,优选为基本上彼此对准或在径向方向上并排设置的多个微通道,其能够接收样本的流体,并且成形为使得由于基板的离心作用而能够将颗粒积聚在微通道本身的精确和有限的部分中。然后,例如可使用光学类型的检测装置和/或电类型的检测装置,使已积聚在微通道的前述部分中的颗粒经受检测,即,用于对其直接或间接量化和/或识别。优选地,在离心之后,至少主要部分的流体样本保留在微通道中,或者至少保留在其积聚部分中,而积聚的颗粒因此保持浸没在液体

中。

[0008] 本发明同样涉及可与前述微流体装置结合使用的离心和/或检测装置,以及基于使用这样的装置的分析方法。

[0009] 如在下文中将清楚地呈现的,本发明使得能够以简单和快速的方式执行对所关注的流体的相对适中体积的样本中的颗粒量的有效检测。

附图说明

[0010] 参考附图,根据后续的详细描述,本发明的另外的目的、特性和优点将清晰地呈现出来,附图仅作为非限制性示例提供,并且在附图中:

- [0011] - 图1是根据本发明的可能实施例的离心装置以及微流体装置的示意性透视图;
- [0012] - 图2是根据本发明的可能实施例的微流体装置的示意性透视图;
- [0013] - 图3和图4是根据本发明的可能实施例的微流体装置的示意性透视图;
- [0014] - 图5是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的示意性前视图;
- [0015] - 图6是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的端部部分的示意性透视图;
- [0016] - 图7是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的中央部分的示意性前视图;
- [0017] - 图8是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的示意性前视图;
- [0018] - 图9和图10是示意性透视图,其旨在例示根据本发明的可能实施例的将流体样本装载到微流体布置结构中的步骤;
- [0019] - 图11是一放大图片,其旨在说明使用根据本发明的可能实施例的微流体装置的可能结果;
- [0020] - 图12、图13、图14和图15是关于根据本发明的可能实施例的其他微流体装置和布置结构的相应地类似于图3、图4、图5和图6的视图;
- [0021] - 图16是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的一部分的示意性透视图;
- [0022] - 图17和图18相应地是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的示意性前视图和较大比例的对应细节图;
- [0023] - 图19和图20相应地是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的示意性前视图和较大比例的对应细节图;
- [0024] - 图21和图22相应地是根据本发明的可能实施例的微流体布置结构的示意性前视图和较大比例的对应细节图;
- [0025] - 图23是根据本发明的可能实施例的微流体装置的示意性透视图;
- [0026] - 图24是图23的装置的分解示意图;
- [0027] - 图25是图23中所示类型的装置的一部分的剖面透视图;以及
- [0028] - 图26和图27是根据本发明的可能实施例的离心和/或检测装置的示意性透视图。

具体实施方式

[0029] 在本说明书的框架中对“实施例”或“一个实施例”的引用意在指示关于所述实施

例所描述的特定的构造、结构或特性被包含在至少一个实施例中。因此,可存在于本说明书的不同位置的例如“在实施例中”、“在一个实施例中”、“在各种实施例中”之类的用语不一定指的是一个和相同的实施例。此外,在一个或多个实施例中,即使与所呈现的实施例不同,在本说明书的框架中限定的特定构造、结构或特性也可按照任何适当的方式组合。本文使用的附图标记和空间参考(例如“顶”、“底”、“上”、“下”等)仅为方便而提供,并且因此,不限定保护范围或实施例的范围。在附图中,相同的附图标记用于表示彼此相似或技术上等同的元件。

[0030] 首先参考图1,离心装置整体上由1表示,其具有限定处理或离心腔室3的结构2。在各种实施例中,装置1包括优选地铰接到结构2的盖或门4,以用于封闭腔室3。装置1具有驱动或移动系统5,其包括处于腔室3内的旋转构件5a,该旋转构件5a设计成使离心支撑件、即可离心装置旋转。可能的是,该离心支撑件的定位和/或引导系统的对应部分4a可与盖4相关联。前述的致动系统5优选地包括电动机,其可能设有电动机减速器和/或电子控制电路。在所检测的颗粒是小尺寸的细菌或微生物的情况下,离心速度可指示性地高于5000 rpm,而在所检测的颗粒是血细胞或体细胞的情况下,离心速度可指示性地高于1200 rpm。

[0031] 在各种实施例中,装置1包括用于控制腔室3内的温度和/或湿度的系统。在各种实施例中,该系统被构造成用于维持高于25°C、优选地在36°C和38°C之间的温度和/或优选地高于95%的湿度。在各种优选实施例中,装置1包括抽吸系统和/或用于调节压力的系统,该系统预先布置成用于将离心区域或腔室3保持在低于环境压力的压力下,和/或用于迫使从所述区域或腔室输出的气流进入到过滤系统中,该过滤系统构造成用于防止潜在污染的气溶胶扩散到环境中。

[0032] 在各种实施例中,装置1包括控制面板6,位于其上的是合适的控制元件6a,该控制元件6a用于启动和/或停止离心和/或调节和/或压力调节和/或检测的过程,并且可能用于设置前述过程的参数(例如,离心速度和/或时间,和/或腔室3中的温度和/或湿度和/或压力)。前述控制元件可具有任何合适的类型(按钮、旋钮、滑块、触摸显示器等)。

[0033] 在图1中,由10表示的是根据本发明的可能实施例的可离心装置。在各种优选实施例中,装置10被构造成用于集成或收容设计成通过离心来浓缩流体物质的样本中包含的颗粒的布置结构,并且为此目的包括设置有至少一个微流体布置结构12的基板11:由于这个原因,在下文中,装置10将被认定为“微流体装置”。

[0034] 装置10的基板11被构造成用于设置成甚至以高速绕旋转中心旋转,该旋转中心在这里假定为由装置1的构件5a确定。为此目的,在各种优选实施例中,装置10是盘形的,并且优选地包括装置11a,该装置11a用于耦接到对应的离心装置的致动系统,例如,用于耦接到图1的装置1的构件5a。在所例示的情况下,前述耦接装置11a包括处于盘形基板11中的中央通口或孔口。另一方面,如将看到的,基板11的盘形形状不构成必要的特性,这并不妨碍以下事实,即:该基板将被设置成绕旋转中心旋转。

[0035] 在各种实施例中,基板11具有相对小的厚度,例如包含在0.5 mm和4 mm之间。该基板例如可由玻璃或塑料(例如,聚碳酸酯,或聚乙烯,或环烯烃共聚物或COC)制成,并且具有指示性地包含在10 cm和30 cm之间或者在6 cm和30 cm之间、优选为在8 cm和10 cm之间的直径,因此可能类似于经典的光盘。所使用的材料优选地是电绝缘材料,非常优选为至少部分透明的材料。

[0036] 还参考图2,基板11具有表面11b,其在本文中通常称为“上表面”,前述至少一个微流体布置结构12被限定在该表面11b处。在各种优选实施例中,在表面11b上限定了多个微流体布置结构12,它们优选但不一定彼此相同。在各种实施例中,多个微流体布置结构在径向方向上基本上彼此对准,例如,图2中由 12_1 和 12_2 表示的布置结构,和/或多个微流体布置结构基本上按照周界设置或者设置在距旋转中心11a或5a同一距离处,例如,图2中由 12_1 和 12_3 表示的布置结构或由 12_2 和 12_4 表示的布置结构。

[0037] 该至少一个微流体布置结构12或每个微流体布置结构12优选地按照由基板11确定的平面延伸,并且为此目的,可通过合适的技术、例如通过微蚀刻或模制或者借助于UV使树脂聚合来限定在表面11b上。不会从本发明的范围排除通过在基板11上沉积材料来形成微通道。

[0038] 该至少一个微流体布置结构12包括具有两个相对端部的至少一个微通道13,该微通道13被预先布置成用于接收样本流体。优选但非必要地,布置结构12还包括至少一个腔室14a或14b(其也可呈管道或通道的形式),该至少一个微通道13的两个前述端部中的一个流体连通地与之连接。在各种优选实施例中,设置了两个腔室14a和14b,流体连通地连接到其中每一个的是该至少一个微通道13的相应端部。

[0039] 在各种优选实施例中,每个布置结构12包括多个微通道13,其优选地但不一定使相应的第一端部和相应的第二端部中的一个流体连通地连接到一个所述腔室,例如第一腔室14a和第二腔室14b中的一个。在下文中,将参考包括一个所述多个微通道13的实施例。

[0040] 在各种实施例中,多个微通道13的第一端部或第二端部流体连通地连接到同一腔室,例如腔室14a或腔室14b。优选地,多个微通道13的第一端部并联连接到第一腔室,例如腔室14a,并且多个微通道13的第二端部并联连接到第二腔室,例如腔室14b;然而,由于下文所解释的原因,这并不构成本发明的必要特征。在各种实施例中,腔室14a和14b处于大致彼此相对的位置,使得微通道13至少部分地在它们之间的中间位置延伸。

[0041] 前述多个微通道优选地至少部分地彼此相同和/或至少部分地彼此基本上平行或等距地延伸,优选地在基板的径向方向上彼此平行或等距地延伸。在各种实施例中,设置在形状和大小方面基本上彼此相同的微通道,而在其他实施例中,设置的微通道基本上具有同一样式,但是具有彼此不同的长度。

[0042] 在各种实施例中,微流体布置结构12或每个微流体布置结构包括覆盖元件12a,该覆盖元件12a至少部分地覆盖对应的微通道13。优选地,覆盖元件12a至少部分地由透明材料制成,例如,玻璃或塑料材料,以便使得能够观察下面的微通道13,用于光学检测的目的。

[0043] 这样的覆盖元件12a例如在图3中清晰可见,其中在同一装置10上设置沿径向方向(相对于基板11的旋转中心)对准的三个微流体布置结构12。每个布置结构12包括对应的覆盖元件12a,其覆盖在对应的微通道13上,而相反,使侧腔室14a、14b中的至少一个暴露,优选地使它们两者暴露。微通道13可在图4中看到,其中覆盖元件12a的图示被省略。

[0044] 制成覆盖元件12a或每个覆盖元件12a的材料优选地是亲水的,以有助于流体通过毛细管作用进入每个微通道13中。在这种情况下,制成微通道13的材料或基板11的材料也可以是疏水性材料。还优选的是,使微通道13的在微通道13的整个长度上延伸的至少一个表面由亲水性材料制成:例如,在具有矩形或梯形剖面的微通道13中,限定该微通道的剖面的四个壁中的至少一个将优选地由亲水性材料制成,例如覆盖元件12a。

[0045] 此外,基板11也可至少部分地由透明材料制成,以使得能够观察微通道(例如,在元件12a不透明的情况下)和/或使得能够对微通道背光照明(例如,在元件12a透明的情况下)。因此,基板11和覆盖元件12a两者都可以是透明的。

[0046] 在各种实施例中,每个微通道都在其整个范围内具有至少一个具有亲水特性的连续的内表面部分。沿微通道的内壁的亲水部分的连续性在填充步骤中是有用的,该填充步骤例如设想了在两个腔室14中的一个、例如腔室14a中沉积一滴样本液体。与亲水部分的接触通过毛细管作用引起微通道的填充。只要在底部处(即,当它到达腔室14b时)流体遇到疏水性表面,一旦每个微通道都被完全填充,它就不再受其内部的液体流动的影响:以这种方式,即使相连的微通道将以不同的速度填充样本液体,先填充的微通道在任何情况下都将会在液体到达底部的情况下停止液体流动,从而防止液体在微通道完全填充之前渗透到相邻的一个或多个微通道中(这将被避免,只要液体将封闭尚未完全填充的微通道,从而捕获气泡)。获得这种效果的一种方法是,例如,使微通道13的底壁和侧壁以及腔室14由单一疏水性材料制成,并且使微通道的上壁(例如,由覆盖元件12a形成的壁)由亲水性材料制成,例如玻璃,小心地略微在液体将到达的腔室、例如腔室14b之前终止所述顶壁(例如,由玻璃制成的覆盖元件12a形成),从而留下微通道的侧壁没有覆盖至少几微米。相反,如果上壁(例如,覆盖元件12a)将终止于部分地上覆液体将到达的腔室14b,则通过毛细管作用首先填充的微通道将找到能够渗透到相邻的通道中的亲水性路径:如果后者尚未充满液体,则流动将停止,并且填充将不完全。

[0047] 如先前提到的,装置10的基板11不一定必须是盘形的。实际上,在图3和图4中例示了这样的情况,其中由11表示的基板具有基本上平行六面体、优选为平面的形状(为了更清楚,在图4中省略了元件12a的图示)。这种基板,即非盘形的基板可有利地预先布置成用于例如通过合适的适配器元件来收容或固定在中间支撑件或商用型的离心装置的架中,或者收容或固定在待耦接到图1的装置1的旋转构件5a的通用盘形支撑件上。

[0048] 然而,图3和图4可被理解为表示较大的装置10的一部分,例如图2中所示类型的盘形支撑件的矩形部分。

[0049] 在图5中,以前视图示意性地呈现了微流体布置结构12,而没有对应的覆盖元件12a,其中由13a和13b表示的是一些微通道13的端部,这些微通道13分别在侧腔室14a和14b处开口。也可从图6中理解该特性,图6图示了腔室14a,腔室14b优选地以相似的方式构造是理所当然的。因此,从图6可注意到,在各种优选实施例中,侧腔室14a(和14b)以及微通道13是如何通过在基板11中形成的腔或表面蚀刻获得的,微通道13特别是呈微槽的形式。

[0050] 一般而言,每个微通道13可具有在5 μm 和200 μm 之间、优选为在15 μm 和50 μm 之间的宽度,和/或在2 μm 和100 μm 之间、优选为在5 μm 和40 μm 之间的深度或高度。理解为其两端13a、13b之间的距离的每个微通道13的长度可指示性地在5 mm和50 mm之间。为了分析的均一性,优选的是,使微通道具有恒定的通口剖面。

[0051] 图7示出了微流体布置结构12的中间区域的细节,并且特别是微通道13的中央区域的细节,这些微通道13由基板11的壁或凸出部分11d限定或分隔。

[0052] 在各种优选实施例中,每个微通道13包括至少两个大致会聚的微通道分支,在图7中分别由13c和13d表示。还可从图8中所示的布置结构13的示意性示例注意到该优选特性,其中,为了更加清楚的需要,已大大减小了微通道12的长度。在该示例中,两个微通道分支

13c和13d以基本上镜面的布置结构沿相反的方向倾斜。在各种实施例中,这两个微通道分支13c和13d具有用于液体的同一通口剖面。

[0053] 再次参考图8,并且根据本发明的一个方面,该至少一个微通道13或每个微通道在其端部13a和13b之间的中间区域中包括至少一个检测或积聚区域,由15表示,该区域在径向方向上与基板11的旋转中心相距距离R1,该距离R1大于微通道的两个端部13a和13b与相同的旋转中心的再次沿径向方向的距离R2。在以示例方式提供的图8的示意图中,旋转中心由5a表示,假定后者由图1的构件5a表示;基板的旋转方向由r表示,而径向方向由箭头R示意性地呈现。区域15在本文中被定义为检测或积聚区域,因为在所述区域中浓缩的颗粒被设计成可能存在于渗透到微通道13中的一部分体积的流体中,以用于后续检测的目的,特别是针对所述颗粒的量化和/或识别和/或行为研究的检测。

[0054] 优选地,积聚区域15与第一端部13a之间的距离等于或基本上等于积聚区域15与第二端部13b之间的距离;即,区域15处于微通道13的基本上中央区域中。因此,这两个微通道分支13c和13d可具有相同的长度。

[0055] 优选地,该至少一个微通道13或每个微通道的两个端部13a和13b在径向方向上与基板11的旋转中心5a基本上处于同一第二距离,但是这不构成必要的特性。例如,从图8中可以注意到,每个微通道13的端部13a和13b如何可在径向方向上与旋转中心5a基本上位于相同的距离R2处。端部13a和13b优选地与旋转中心5a基本上位于同一径向距离R2处,特别是用于防止存在于微通道13内的流体可能在装置10的离心过程中从那里离开。优选的是,使微通道13仅在其端部处开口。

[0056] 因此,由于上面提到的布置结构,由于基板11绕旋转中心5a的旋转所引起的离心力,渗透到微通道13中的一部分体积的流体中可能包含的任何颗粒都趋于集中在积聚区域15中。为简单起见,该离心力的作用可被理解为在图8中由指示径向方向的相同箭头R表示。

[0057] 优选的是,使微通道13的积聚区域15没有用于液体的离开路径,使得在离心之后,颗粒在任何情况下都集中在前述区域15处存在的液体中。

[0058] 在各种优选实施例中,同一微流体布置结构12的微通道13在基板11的径向方向R上至少部分地基本上对准或并排设置,优选地彼此接近。指示性地,将通道彼此分隔的壁或凸出部分11d可具有在5 μm 和200 μm 之间、优选为在15 μm 和100 μm 之间的宽度。

[0059] 在各种优选实施例中,腔室14a和/或14b具有的深度等于或接近微通道13的深度,例如,在2 μm 和100 μm 之间、优选为在5 μm 和40 μm 之间的深度。

[0060] 在优选实施例中,同一微流体布置结构12的微通道13连接两个端部腔室14a和14b,优选地后者在径向方向上与基板11的旋转中心5a基本上位于同一距离,特别是并行连接:在这种情况下,微通道基本上在两个腔室之间的中间位置延伸,而这两个腔室基本上彼此平行。优选地,两个腔室14a、14b仅经由微通道13连接在一起。

[0061] 在各种优选实施例中,在所述的积聚区域15中,对应的微通道13为基本上V形或U形的,或者包括两个大致会聚的微通道段,特别是设计成在它们之间形成角度或可能通过弯曲段成圆角的两个微通道段:在到目前为止例示的情况下,在两个分支13c和13d之间接合的区域中限定了区域15。

[0062] 如从图中可以注意到的,在各种优选实施例中,微通道13基本上相同,并且沿其整个长度彼此平行布置,以确保更大的可重复性。

[0063] 图9和图10是根据本发明的可能实施例的在微流体装置中引入流体样本的可能模式的示意图。在所例示的情况下,通过合适的工具T(例如,设计成分配受控量的流体的移液器,所述受控量指示性地为微升或数十微升的量级),将经受检查的流体的样本FS被沉积在微流体布置结构的侧腔室14a或14b中的至少一个中,优选为仅一个中。如所例示的情况中一样,样本FS可以是简单的流体滴,或者甚至可具有更大的体积,在任何情况下,呈足以填充微通道13的量。

[0064] 所使用的侧腔室有助于将流体样本引入到微流体布置结构12中。此外,当该布置结构12包括多个微通道13时,如在所例示的情况中一样,所使用的侧腔室基本上用作收集器,以将流体并行地引入到多个微通道中。换句话说,设置与多个微通道13的相应端部并行的至少一个侧腔室14a和/或14b呈现了如下优点,即:避免了需要将样本的各个相应部分引入到各个微通道中。应当注意的是,如先前提到的,腔室14a或每个腔室14a和14b可通过管道或通道获得,流体样本通过该管道或通道输送到微通道或每个微通道的入口端部。

[0065] 将多个微通道连接到同一入口的可能性使得能够增加检测的统计基础,即使得可获得多个相同标称条件的重复,无论该入口是腔室还是管道。在优选构造中,微通道被分成至少两组,每组具有至少一个对应的填充腔室14a或14b。

[0066] 待在相同标称条件下使用的微通道的数量将取决于装置的使用类型以及每个微通道的体积:例如,如果微通道13的两个相对分支13c和13d各自为1 cm长并且具有50 μm 的宽度和5 μm 的深度,则总体积将为 $5 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$ 。在浓度为 10^5 细菌/mL时,每立方微米将有 10^{-7} 个细菌。这意味着在每个微通道中平均将有0.5个细菌。这也意味着,在含有至少一个细菌的微通道中,在增殖的情况下,信号可能会在非常短的时间(大约20-40分钟)后加倍,而在其中没有增殖的微通道中则保持恒定。

[0067] 这种类型的用途可称为“数字抗菌谱”。由于微通道非常小,并且可以相似的样式限定在非常靠近在一起的位置,因此可以在非常有限的区域(例如,单个显微镜载片的区域)上具有多个通道,例如介于250和500个微通道之间。

[0068] 在像刚刚提到的浓度那样的浓度下,将合宜的是,在相同的标称浓度下为每个n重复体(n-tuplicate)(即,在相同标称条件下使用的n个微通道的组)分配包含在100个和200个之间的多个微通道,以便具有足够的统计基础。因此,在单个可离心装置,例如盘形可离心装置上,将能够测试多种(数十种)不同条件,其中每个条件都被n次重复(n-tuplicated),其中n包含在100和200之间。相反,对于更高的浓度,将能够在较少数量的通道中对名义上相同的条件分组。例如,在每毫升大约一百万个细菌的浓度的情况下,对于每个名义上相同的条件,可以使用10-20个微通道的n元组。

[0069] 优选的是,使每个微通道13的两个端部13a和13b开口,特别是当设置在微通道13的顶部上的是先前由12a表示的类型的覆盖元件时(因此,流体可从微通道的一端渗透,并且微通道中包含的空气可在另一端处逐渐排出)。如各种实施例中,每个微通道13通过毛细管作用或者通过利用界定微通道自身的壁或表面中的至少一个的亲水性来填充。另一方面,在其他实施例(未呈现)中,流体样本可通过正压或负压被促动到微通道中,例如在入口处使用过压或者在出口处使用负压(始终相对于环境压力)。

[0070] 如已经提到的,在装置10旋转之后,并且由于离心力,存在于占据微通道13的一定体积的液体中的颗粒将趋于积聚在相应的积聚区域15处,该积聚区域15没有用于液体的离

开路径。这在图11的放大图片中清晰可见,从中可以注意到,在至少一些积聚区域15处,相应的颗粒P的团块如何集中在对应的微通道13中所包含的液体中。

[0071] 当然,微通道13的尺寸必须足以使得所关注的颗粒P能够进入其中。一般而言,相对浅的微通道是优选的,即,具有大约为所关注的颗粒的大小或只是略微更大的高度或深度的微通道。其原因在于,给定相同数量和尺寸的颗粒,在浅微通道13的区域15中,在彼此旁边积聚的颗粒量将在平面中形成图像,与较深的微通道相比,该图像具有更大的面积,其中,这些颗粒可位于彼此的顶部上,并且因此,如果浓度非常低,则在一定程度上歪曲了颗粒数量和/或其类型的检测。因此,优选地具有近似矩形剖面的浅微通道的使用有助于并改善了使用光学系统读取数量和/或类型的质量。

[0072] 例如,如果需要使用装置10来分离不同类型的全血细胞,则优选的是,使微通道13具有在10 μm 和40 μm 之间、优选为在10 μm 和20 μm 之间的高度(深度)。替代的是,如果分析对象是细菌,则微通道可具有在3 μm 和10 μm 之间、优选为在4 μm 和8 μm 之间的高度(深度)。同样,在要测量酵母的情况下,微通道的高度(深度)将优选地在5 μm 和20 μm 之间,优选地在8 μm 和12 μm 之间。

[0073] 可通过以光学方式量化由于离心作用而在每个积聚区域15处形成的颗粒团块的大小来执行检测或读数。在颗粒先前已经用荧光染料标记的情况下,还可通过测量荧光的强度来执行这样的数量和/或类型的检测。

[0074] 图12和图13以类似于图3和图4的视图图示了四边形离心支撑件10(或形状像盘或具有不同形状的四边形离心支撑件10的四边形部分)的可能的变型实施例。在这种实施例中,每个微流体布置结构12包括多组微通道13,其设置成在径向方向上隔开小的距离,它们连接到相应的侧腔室14a和14b;在所示示例中,并且如在图14和图15中也清楚可见的,为每个微流体布置结构12设置三组微通道13,并因此设置三个侧腔室14a和三个侧腔室14b。该微流体装置的操作原理与刚才描述的微流体装置相似。

[0075] 在这种实施例中,每个微流体布置结构12设想了彼此分离的多组微通道13,优选地每多个微通道与至少一个相应的侧腔室14a和/或14b相关联,上述事实可能证明对分析目的有用,特别是同时具有可用的不同检测条件(并且因此,并行化),以及如果选择在相同标称条件下使用多组,则增加了统计基础。

[0076] 在各种实施例中,布置结构12的微通道仅用于检测流体样本中包含的所关注的颗粒,而在其他实施例中,特别是在待检测的颗粒是能够繁殖的微生物的情况下,这些微通道也可被用作培养孔(culture well)。可替代地,一些微通道可被“装载”生物材料(例如,细菌),该生物材料在装置外已被诱导增殖或已被抗生素抑制。

[0077] 图16中示意性地呈现了在微通道13的积聚区域15处的微流体布置结构12的中间部分。如可以注意到的,在各种实施例中,优选地处于微通道分支13c和13d之间的相交处的该区域15可成形为限定至少一个凹部或腔,该凹部或腔基本上形成孔16,该孔16可被用作培养孔。当被分析的流体是培养液或布置结构12包含培养基时,将微通道13的至少一部分也用作培养孔的可能性证明是特别有利的。从这个角度来看,根据本发明的微流体装置对于执行抗菌谱检测、特别是快速抗菌谱检测的目的是特别有利的,如也在下文中解释的。

[0078] 在各种实施例中,微流体布置结构12的至少一个微通道13或每个微通道可包括至少一个虹吸管。图17和图18中例示了这种实施例。

[0079] 在这种类型的各实施例中,在区域15中,两个微通道分支13c和13d可通过两个相对的虹吸管13e和13f(即,双虹吸管)连接在一起,该两个相对的虹吸管13e和13f基本上形成两个积聚子区域,每个分支13c和13d分别形成一个。这两个子区域的存在可证明对验证两个分支13c和13d之间的颗粒浓度的可能差异有用,该差异是由于离心力的不同分量(例如,在具有通过双虹吸管连接的基本上呈镜面V形的分支的微通道的情况下)和/或由于微通道的两个会聚分支存在不同形状或长度(例如,一个分支竖直,而另一个倾斜)引起的,其中颗粒与微通道的壁之间的摩擦和/或粘附可能会影响分析。

[0080] 特别参考后一种情况,图19-20例示了如下实施例,即:其中每个微通道13包括相应的端部部分13a₁和13b₁,其基本上垂直于径向方向R延伸,并且从其分支的是大致会聚的分支13c、13d,该分支13c、13d在它们之间限定了积聚区域15。在该示例中,分支13d基本上沿径向方向R延伸,并且倾斜分支13c借助于两个相对的虹吸管13e和13f(或双虹吸管)连接到分支13d的最低点,其中优选地,虹吸管13e具有阻挡来自倾斜部分13c的颗粒的功能,并且虹吸管13f用作积聚区域。

[0081] 在颗粒趋于粘附到微通道13的壁的情况下,该解决方案是优选的。竖直分支13d使这种影响最小化,因为在离心期间颗粒经受基本上平行于分支13d的壁的加速度的作用。另一方面,位于倾斜分支13c中包含的流体中的颗粒将具有趋于将它们推向分支13c的壁的加速度分量。颗粒粘附到微通道的壁会导致在计数中损失这些颗粒中的至少一些:虹吸管13e防止未粘附到倾斜分支13c的壁的那部分颗粒到达用于计数目的的检测区域,在此由虹吸管13f表示,并且防止由于到达量的变化性而可能使检测无效。

[0082] 因此,在各种实施例中,并且不管可能存在一个或多个虹吸管,导致相应的积聚区域的微通道分支的至少一部分基本上沿径向方向延伸,特别是用于最小化颗粒粘附的风险。

[0083] 图21和图22中例示了如下实施例,即:其中,每个微通道13在设置成彼此相距一定距离或彼此远离的位置限定了两个不同的积聚区域15。同样在这种情况下,每个微通道13包括相应的端部部分13a₁和13b₁,其基本上垂直于径向方向R延伸,并且从其分支出分支13c、13d,该分支13c、13d在这里基本上沿径向方向R设置。如已经说过的,这样的布置结构使颗粒粘附到微通道的壁的风险最小化,并且因此,使积聚区域中的颗粒集中最大化。

[0084] 在分支13c和13d的下部点相应地设置两个相对的虹吸管13e和13f,它们形成所考虑的微通道13的相应的积聚区域。这两个虹吸管13e和13f,即两个区域15,定位在与微流体装置的旋转中心基本上相同的径向距离处,并且借助于微通道的中间段13g连接在一起,该中间段13g在这里在径向方向上大致弯曲(凹形)。

[0085] 由虹吸管13e和13f构成的两个积聚区域15的存在使得可以获得两个不同的检测区域,以例如在使用相同数量的微通道13的情况下增加(加倍)统计基础。

[0086] 如已经指出的,多个微通道需要优选地彼此相同,而它们的相对分支(右和左)甚至可以彼此不同。

[0087] 在各种实施例中,至少一个微通道或每个微通道可关联至少两个电极,特别是至少在相应的积聚区域15中,或者在微通道的处于其端部与其积聚区域之间的位置。这些电极可以是用于检测的电极,或者是颗粒的操纵电极。

[0088] 例如,在各种实施例中,处于积聚区域15处的至少一对电极可用于经由电阻抗的

检测来执行颗粒量的读数。通过将另外的电极对定位在微通道的包含在对应端部13a、13b与区域15之间的部分中,也可执行差异读数(differential reading),以便使得可以区分颗粒代表的对电阻抗的贡献和样本的流体代表的贡献。在流体样本是培养基或生理溶液的情况下,由于溶解在流体中的离子,电导率相对高。

[0089] 处于微通道的上部(即,在与积聚区域相比更靠近对应端部的位置)中的电极对也使得能够验证微通道是否适当地填充有包含待计数的颗粒的流体(考虑到流体具有的电导率通常比作为绝缘体的空气的电导率要高得多,因此此验证相对容易)。

[0090] 图23-25是四边形装置10(或形状像盘或具有不同形状 of 装置10的四边形部分)的示意图,其中微通道13在相应的积聚区域中设有电极17。

[0091] 如从图24可注意到的,在各种实施例中,装置10,即基板11,可由设置在彼此顶部上的多个层形成。在该示例中设置了下层11₁,其例如由先前提到的用于基板的电绝缘材料中的一种制成,其中限定了至少一个微流体布置结构12,即,具有对应的腔室14a和/或14b的对应的微通道13。然后设置由电绝缘材料制成的上层11₂,该材料优选为透明的,例如聚合物,该上层11₂在与层11₁的腔室14a和14b相对应的位置设有窗口或开口18,并且在与层11₁的各个微通道13的积聚区域15相对应的位置设有一系列的微开口或微窗口19。在电绝缘层11₂上设置成对的电极17,这里设置在两个窗口18之间的中间位置,其中电极17成形为在微通道13的积聚区域15处具有相应的检测端部。

[0092] 例如,这可以在图25中看到,其中由19表示前述微开口中的一些,而由17a表示各个电极17的检测端部。如可以注意到的,基本上在每个积聚区域处,在层11₂上限定了两个大致平行的微开口19,其中每一个设置在对应电极17的检测端部17a的顶部上:以这种方式,这些检测端部17a的一部分面向微通道13的内部,用于电气类型(阻抗或电阻率或电导率等)的必要检测。

[0093] 返回到图23-24,在各种实施例中,电极17在顶部处至少部分地由对应的覆盖元件12a保护,该覆盖元件12a也由电绝缘并且优选为透明的材料制成。然而,在各种实施例中,为了电连接到管理电极17的使用的系统的目的,如例如在图23中可以看到,电极17的至少一部分被暴露。在各种实施例中,前述电连接通过设置在离心和/或检测装置1上的滑动接触件获得,该滑动接触件被构造成用于接触电极17的前述暴露部分。在测量在静态条件下,例如在离心开始和结束时发生的情况下,该接触件例如可由弹簧接触件或其他类型的接触连接构成。

[0094] 优选地,电极17也至少部分地由导电的透明材料制成。

[0095] 假定根据本发明的装置10可用于使细胞积聚在精确的位置(即,在区域15处),则所提及类型的电极也可用于执行对细胞本身的操纵,例如电穿孔,或者例如借助于介电电泳使它们保持就位。

[0096] 如先前提到的,在各种实施例中,以光学方式执行对积聚在微通道13的区域15中的颗粒的检测。

[0097] 为此目的,在各种实施例中,离心装置1本身可集成光学传感器装置。该传感器装置可包括在待检测的各点之间移动的单个传感器,或者包括传感器阵列(例如,如在光学扫描仪中一样)。然后,通常,同一装置1可集成离心功能和检测或读取功能,特别是通过将装置10的旋转用于前述离心作用,以及用于使用光学该传感器装置的读取操作。

[0098] 例如,图26例示了具有检测或读取单元20的离心装置1,该检测或读取单元20在这里与盖4相关联,该检测或读取单元20包括单个光学传感器21(另一方面,其本身可由光学传感器阵列构成)。传感器21例如通过未提及的其自身的致动器可移动地安装在对应的引导件21a上,该引导件21a可由透明材料制成,或者其在任何情况下都成形为不构成对于图像采集的障碍。在所例示的情况下,传感器21所代表的检测单元可相对于装置10在径向方向上移位,以便对沿前述径向方向在装置10上对准的多个微流体布置结构12执行必要的光学检测。当然,假定可通过装置1使装置10旋转,则可以通过传感器21也对并排设置或沿周界布置在装置10上的多个微流体布置结构12执行光学检测。

[0099] 另一方面,装置1的控制系统可被预先布置成用于根据每次要执行的光学检测来控制传感器21在径向方向上的位置。该控制系统还可被预先布置成在离心步骤结束之后通过每次将装置10驱动和停止在不同的角度读取位置来执行光学检测,或者使得光学检测随着装置10优选地以低速移动而执行,例如,在检测或读取期间低于离心速度的速度,即,通过使旋转与读取同步。

[0100] 在本发明的各种实施例中,所提到的类型的离心和/或检测装置的光学传感器装置21被构造用于获取微流体装置的多个积聚区域的累积光信号或累积图像,即关于对应的微流体布置结构12的微通道13的所有积聚区域15的信号或图像。然后,例如通过合适的软件,离心和/或检测装置被预先布置成用于基于前述光信号或图像来处理信息,该信息表示已在同一微流体布置结构的各个微通道的各个积聚区域15中的每一个中积聚的颗粒的量,特别是利用以下处理,即:该处理使得能够估算每个单独的微通道13的颗粒数量。

[0101] 在其他实施例中,例如,当光学传感器21包括诸如光学扫描仪中的传感器阵列时,传感器本身可被构造用于获取对应的微流体布置结构12的每个单独的微通道13的积聚区域15的单独的光信号或单独的图像。同样在这种情况下,离心和/或检测装置被预先布置成用于基于前述光信号或图像来处理信息,该信息表示已在微流体布置结构的各微通道的各个积聚区域15中的每一个中积聚的颗粒量。

[0102] 当然,装置1还可被设计成使得能够采用所提到的光学检测的两种技术(即,集体和个体)。

[0103] 图27呈现了装置1的情况,其检测或读取单元20包括两个固定的光学传感器21,例如,其各自由光学传感器阵列形成,该光学传感器21以如下方式设置,即:在装置10的旋转运动的过程中,至少对应的微流体布置结构12的积聚区域15周期性地位于传感器自身下方,以用于必要的光学检测。由于装置10的基板优选地由透明材料制成,因此光学构造将能够以透射和反射两者操作,或者能够测量颗粒在不同方向上的散射。

[0104] 如已经提到的,根据本发明的微流体装置10可用于对流体样本中包含的颗粒的简单计数和/或类型检测的目的,或者也用于更复杂的分析功能,例如用于执行抗菌谱检测(在这种情况下,微通道也可被预处理,例如通过在其中引入抗生素)。

[0105] 根据本发明的支撑件或微流体装置以及离心和/或检测装置可有利地用于评估细菌和微菌的增殖能力的目的,以及从属地,用于在短时间内和以少量的流体样本确定其对抗生素的敏感性概况(抗菌谱)的目的。

[0106] 为此目的已知的方法是基于对微菌或细菌在适合于其生长的培养基中形成菌落的能力的评估,或是基于对微菌增殖后培养液的浊度的评估。经典地通过计数对应菌落或

对应培养液的浊度水平来评估抗生素抑制微菌或细菌增殖的能力,它们是根据微菌或细菌对抗生素的敏感性而变化的特性。

[0107] 这种敏感性与抗生素抑制细菌菌株的有效增殖的能力有关,并且很明显,与这种类型的分析有关的时间取决于微菌或细菌增殖的速率。根据现有技术所采用的方法本质上基于以下事实:细菌或微菌(菌落)的“二维”层可生长,直到其变得肉眼可见,或者基于以下事实:细菌或微菌在液体中的增殖能够使得以统计学上显著的方式改变液体本身的浊度,该浊度可借助于光度测定在浊度范围内测量(通常在500 nm和600 nm之间的波长下进行读数)。

[0108] 替代的是,本文提出的利用先前描述的微流体装置的技术是基于某些参数,这些参数不考虑细菌或微菌层的二维生长或者在液体中的生长,该在液体中的生长被读取为浊度的增加。

[0109] 更具体而言,本文提出的方法设想了:

[0110] i) 在添加或不添加生长因子(例如,细菌培养液,例如BH)的情况下,获得生物材料(例如,直接通过患者收集的尿液)的短期生长;

[0111] ii) 将在先前步骤中获得的培养物引入到微通道13中,该微通道13以相同浓度的生物材料和/或培养基播种(为此目的,可特别有利的在微通道13中设置孔,如图16中由16表示的孔);

[0112] iii) 测量微通道13中的细菌的增殖;

[0113] iv) 识别一个或多个“阴性”微通道13,即其中将仅添加培养基的微通道(例如,在PBS缓冲液或生理溶液的情况下为50%);

[0114] v) 识别一个或多个“阳性”微通道13,即能够验证存在于微通道13的系统中的细菌或微菌菌株的增殖能力的微通道;以及

[0115] vi) 以如下方式识别一系列包含抗生素的微通道13,即:验证存在于播种的生物材料中的细菌或微菌菌株对抗生素的抗性或敏感性。

[0116] 可使用不同的策略来执行对抗生素的敏感性的测量,从在微通道13的积聚区域15中增殖之后细菌或微菌的沉降开始,如已经提到的,这可通过装置10的离心来获得。该方法有利地使得可以在以下各项之间进行必要的比较:

[0117] - 起始材料中存在的细菌或微菌的量;

[0118] - 培育结束时存在的细菌或微菌的量;以及

[0119] - 用抗生素处理的微通道13中存在的细菌或微菌的量;使用适当的荧光染料可使得能够选择性地识别活细菌和死细菌。

[0120] 对于这种分析,可能特别有利的是设置有包括多个系列的微通道13的微流体布置结构的装置10,例如图12-15的装置。与其他技术(例如,浊度)相比,这些微流体技术具有更高的灵敏度,这是考虑到离心作用使微生物“浓缩”在小空间中,并且因此使得它们以透射和反射两者在具有可见光的清晰场中可见,或者以荧光中标记的细胞上可见。利用所提出的集中技术和适当的图像分析,借助于传感器的线性阵列或者借助于传感器的矩形阵列(例如,CCD或CMOS相机或用于图像采集的任何其他技术),以可靠和精确的方式测量细胞数量的+/-20%的改变。即使在短的生长时间(例如,包含在20分钟和40分钟之间)之后,也可确定这种程度的变化,该变化可使用所提出的方法检测,而无法使用经典的浊度技术检测。如

已经提到的,可至少在所关注的各个微通道13的积聚区域15处通过光学检测来进行量化或估计。

[0121] 附加地或作为替代,可使用设置在积聚区域15中的电极来执行对细菌体的计数,以便检测包含“增殖”的细菌或微菌种群的电场的阻抗变化:该变化可被用作在检查的细菌菌株的敏感性(或抗性)的信号。同样在这种情况下,检测时间可能极短。

[0122] 可在从临床观点看极其不同的状况下有利地使用上述方法。

[0123] 例如,可以测量相对常见的生物材料(例如,用于尿液培养的尿液)的样本中的细菌或微菌的“绝对”数量。例如,如果计数高于100000细菌/mL表示尿路感染,则仅细菌电荷(charge)的“数字”记录以高精度表明了病理状况。

[0124] 此外,在没有微菌或细菌识别(如果需要,其在任何情况下都可用标准技术执行)的情况下,可容易地评估对抗生素组的敏感性/抗性的概况,从而为患者提供接受“非经验”治疗的机会,但这是基于对实际抗生素敏感性的研究。在这种情况下,重要的是要记住,大多数阳性尿液培养以单个分离的微菌为特征,而在住院患者中,或者由于分析前原因,在由于与采样技术有关的原因而复杂的患者中,多细菌感染症更为频繁。

[0125] 在更复杂的状况下(例如,在住院患者中),细菌的识别不仅导致善患者的治疗策略的改善,而且还导致可能与之相关的医院感染的治疗策略的改善。另一方面,如已经说过的,对于如尿液之类的不那么“高贵”的材料,病原体的识别可遵循不同的途径,而未在极短时间内进行的对抗生素的敏感性的概况分析可能会导致在建立挽救生命的抗生素治疗方面的延误。由于这个原因,装置10(特别是具有如图16中由16表示的类型的微孔)可装载单个菌落(例如,从血液培养分离),该菌落尚未被识别,但是为此立即的治疗方法变得必要。在此后一种情况下,可播种从复合材料(complex material)分离的细菌,并且可在数十分钟内获得抗菌谱。

[0126] 从前述描述,本发明的特征以及其优点同样显而易见。

[0127] 所提出的装置和方法使得能够以相对小的起始样本体积来操作,例如,包含在0.05 mL和1 mL之间的起始样本体积。例如,在儿科中,在对小动物进行的研究中,以及在减少(生物和试剂)材料的量是有用的任何情况下,也由于经济原因,能够使用相对小的体积是有利的。当计数多个颗粒而使可重复性问题几乎不存在时终止对微粒组分(corpusculated component)的测量:通常,对16000个颗粒计数以获得对亚种群的精确估算,这些亚种群占全体的1%至5%。因此,如果例如假定从每毫升十万个颗粒的浓度开始,则根据本发明,包含在0.2 mL和0.4 mL之间的起始样本的量就将足够,而对于更高的浓度,例如每毫升一百万个颗粒,起始样本的量可降低,例如降低至0.02 mL和0.06 mL之间。

[0128] 根据本发明的装置对于执行抗菌谱检测特别有利。

[0129] 一般而言,为此目的,细菌培养物可被接种到装置10的至少一个布置结构12的微通道13中。然后,使装置10经受离心(例如,使用所描述的装置1中的一个),并且随后,量化或估计已积聚在微通道13的区域15中的细菌数量。在这种应用中,微流体装置10可专门用于量化微生物,例如细菌,只要可使用普通的实验室设备和装置预先获得待比较的不同条件下的增殖。

[0130] 在其他应用中,可从固体支撑件上的细菌的二维培养物开始执行抗菌谱检测。在这种情况下,该方法可设想以下步骤:

[0131] i) 从固体培养皿中取出细菌菌落;

[0132] ii) 将菌落或其一部分接种到例如培养液的液体培养基中,以优选地形成均匀分散体;以及

[0133] iii) 将含有细菌的液体培养基装载到装置10的至少一个布置结构12的微通道13中,其中至少一些前述的微通道先前已设置有抗生素,优选为不同类型和/或不同浓度的冻干抗生素,并且其他微通道未设置抗生素;

[0134] iv) 培育范围从10分钟至6小时、优选为介于1小时和2小时之间的时间段;

[0135] v) 对装置10离心;以及

[0136] vi) 特别是通过在用抗生素预处理的微通道13和未预处理的微通道13之间执行相对定量,来量化已积聚在微通道13的区域15中的细菌,以获得所讨论的细菌对所使用的一种或多种抗生素的敏感性的概况。

[0137] 但在其他应用中,根据本发明的装置可有利地用于从原始样本、即直接从受试者或宿主生物(人类或动物)获取的样本开始执行抗菌谱检测。在这种情况下,该方法可设想以下步骤:

[0138] i) 从例如尿液的原始样本获得细菌的浓缩物或团块(或团粒);为此目的,例如,可使用普通的实验室设备和装置使原始样本经受离心,以便使前述细菌团块与表面活性物质分离;离心优选地以两个步骤进行:第一步以低速去除细胞;以及第二步以高速浓缩细菌;可替代地,第一离心步骤可替换为过滤,以去除细胞;

[0139] ii) 将获得的细菌团块或其一部分接种到例如培养液的液体培养基中,以优选地形成均匀分散体;

[0140] iii) 将含有细菌的液体培养基装载到装置10的至少一个布置结构12的微通道13中,其中至少一些前述的微通道先前已设置有抗生素,优选为不同类型和/或不同浓度的冻干抗生素,并且其他微通道未设置抗生素;

[0141] iv) 培育范围从10分钟至6小时、优选为介于1小时和2小时之间的时间段;

[0142] v) 对装置10离心;以及

[0143] vi) 特别是通过在用抗生素预处理的微通道13和未预处理的微通道13之间执行相对定量,来量化已积聚在微通道13的区域15中的细菌以获得所讨论的细菌对所使用的一种或多种抗生素的敏感性的概况。

[0144] 清楚的是,本领域技术人员可对本文作为示例所述的支撑件和基板、装置和方法进行多种变型,而不由此脱离本发明的范围。对于本领域技术人员将同样显而易见的是,即使与先前的示例不同,关于一个实施例描述的各个特征也可用在本文所述的其他实施例中。

[0145] 本发明的应用不限于医学或兽医领域,而是可以将所描述的支撑件和装置用于浓缩和/或量化存在于任何类型的流体中的颗粒,例如也存在于工业或农业领域中的颗粒。

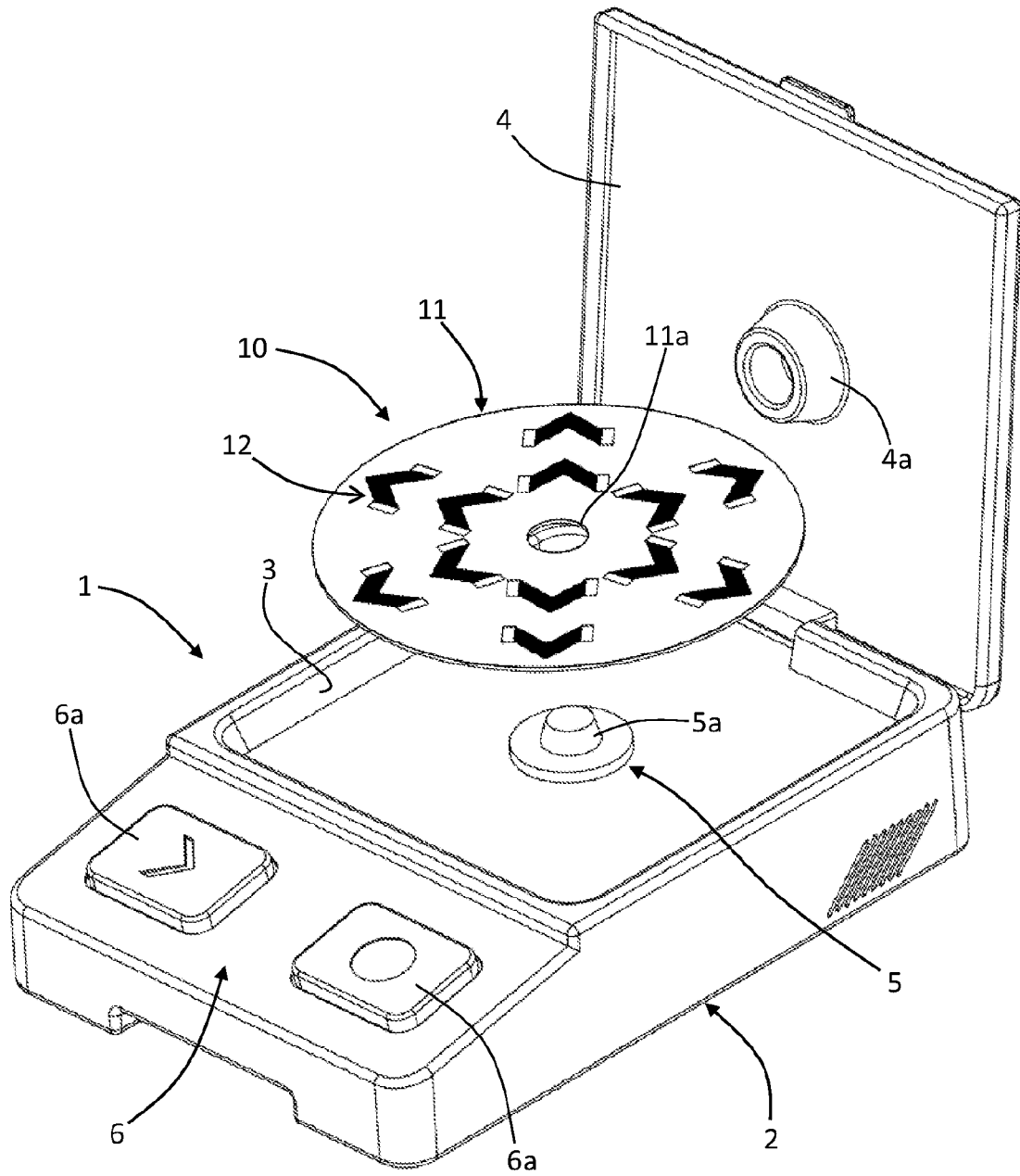


图 1

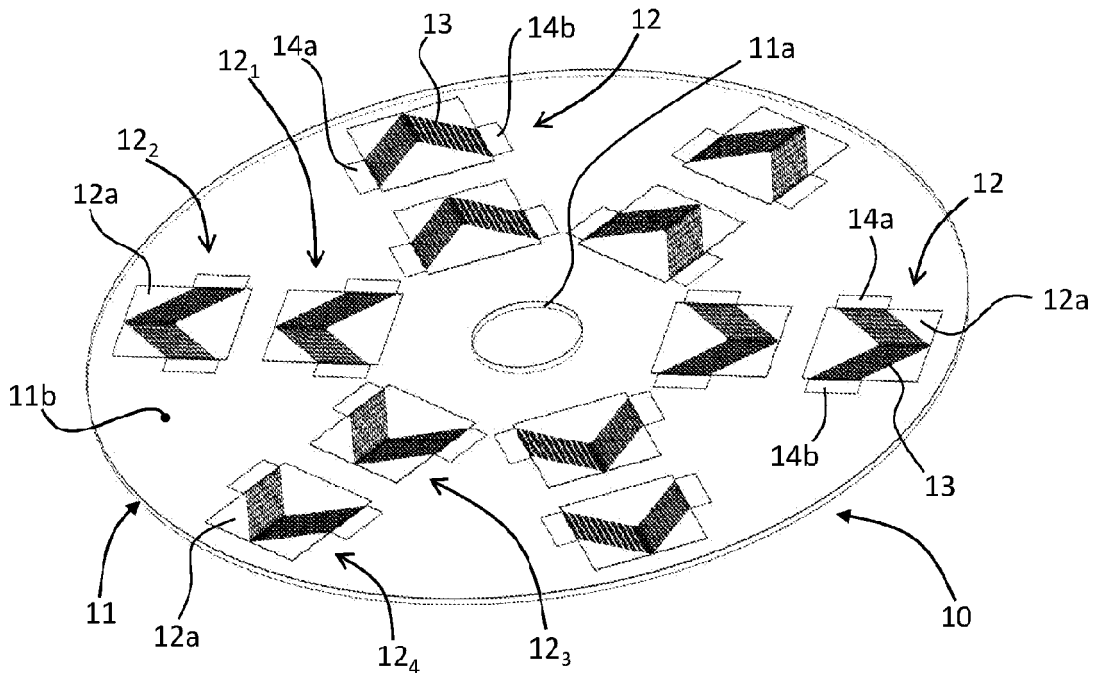


图 2

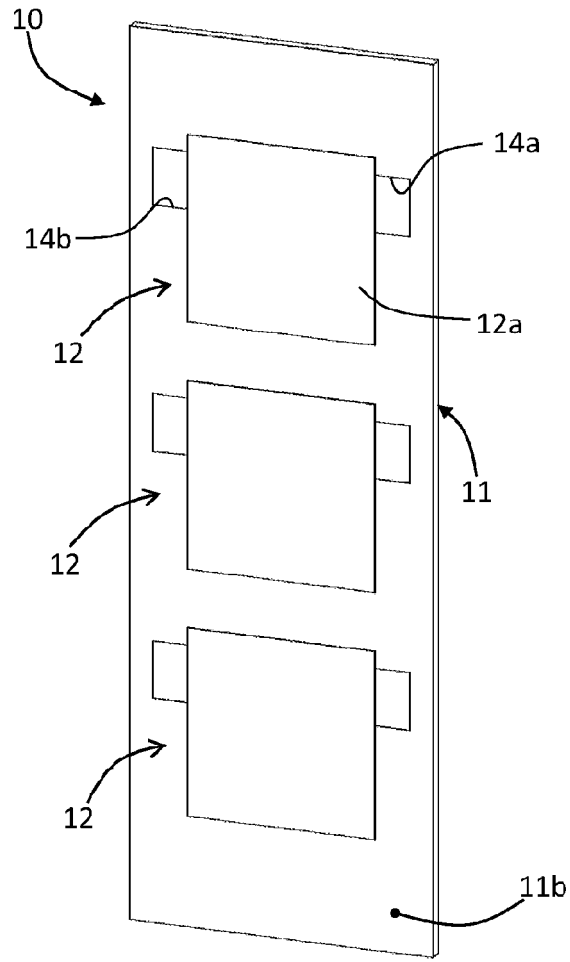


图 3

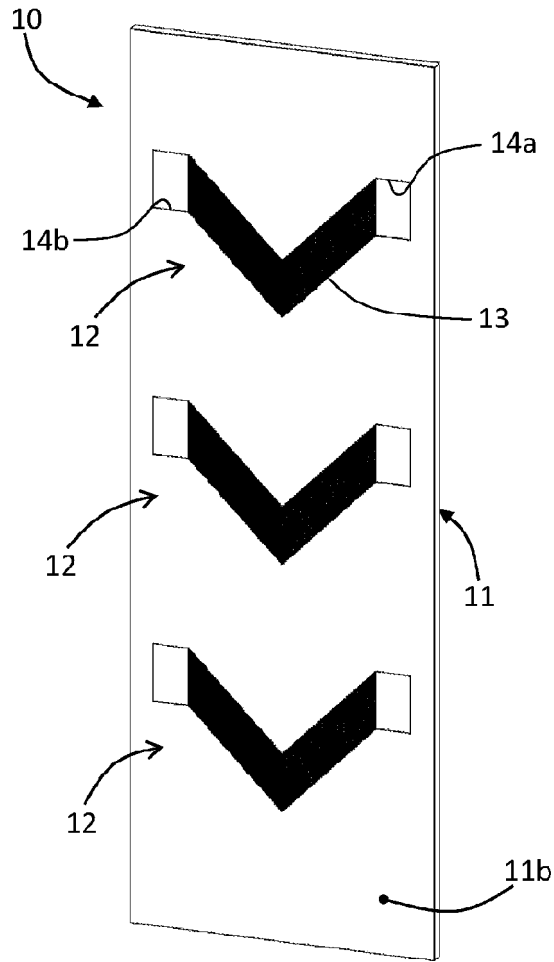


图 4

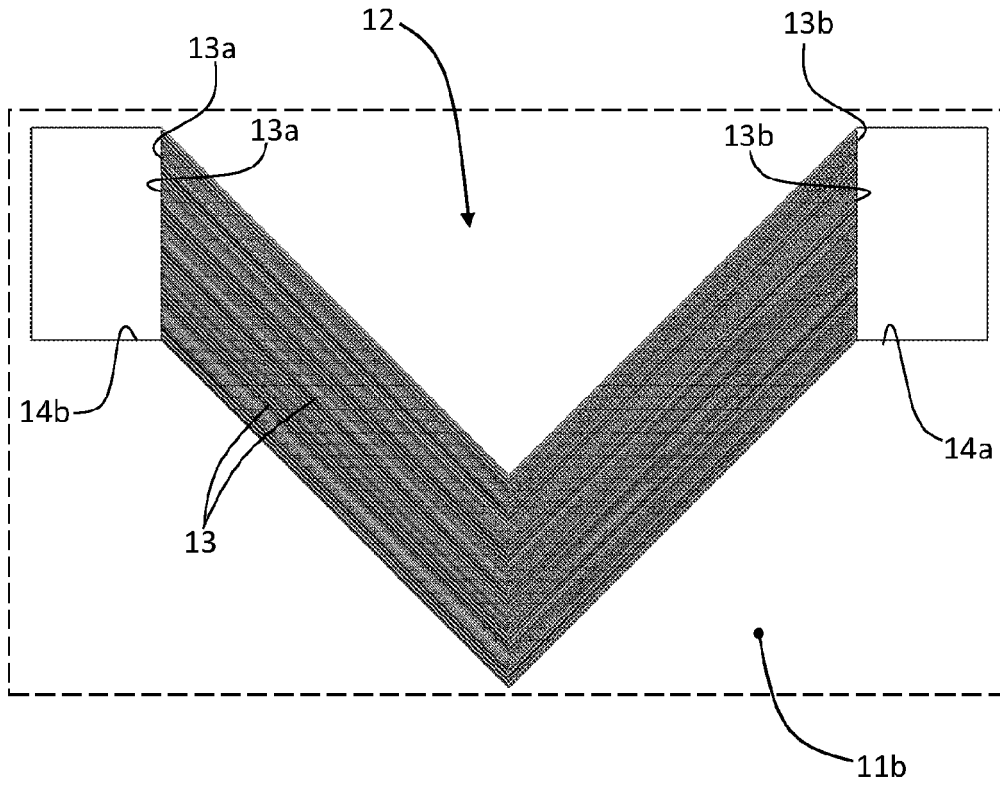


图 5

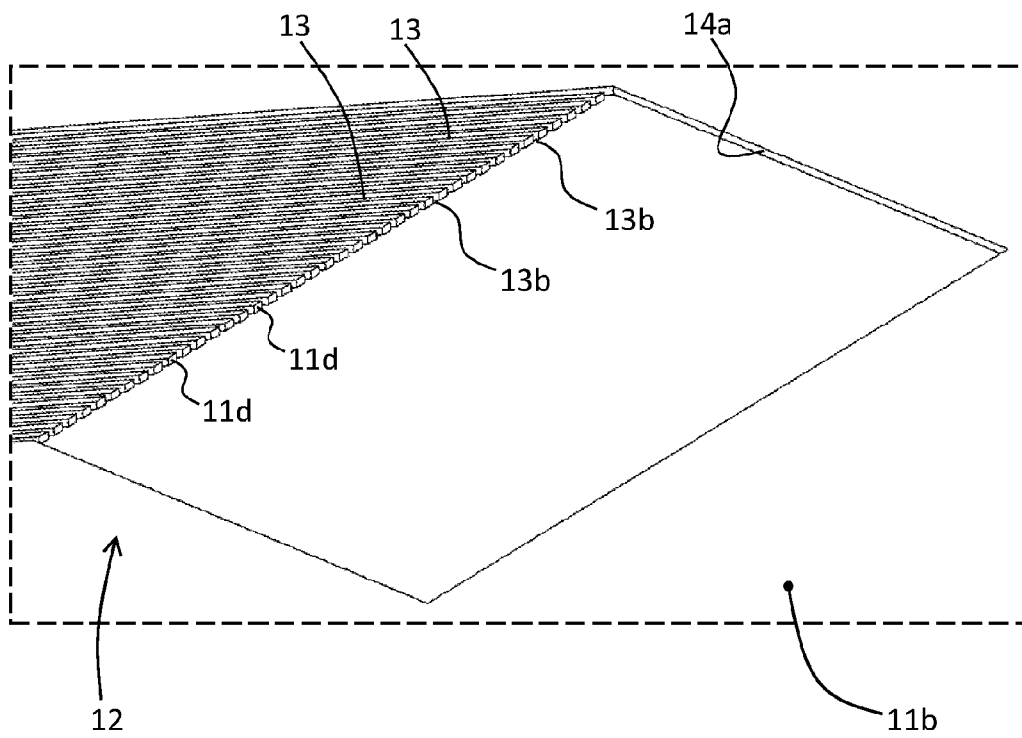


图 6

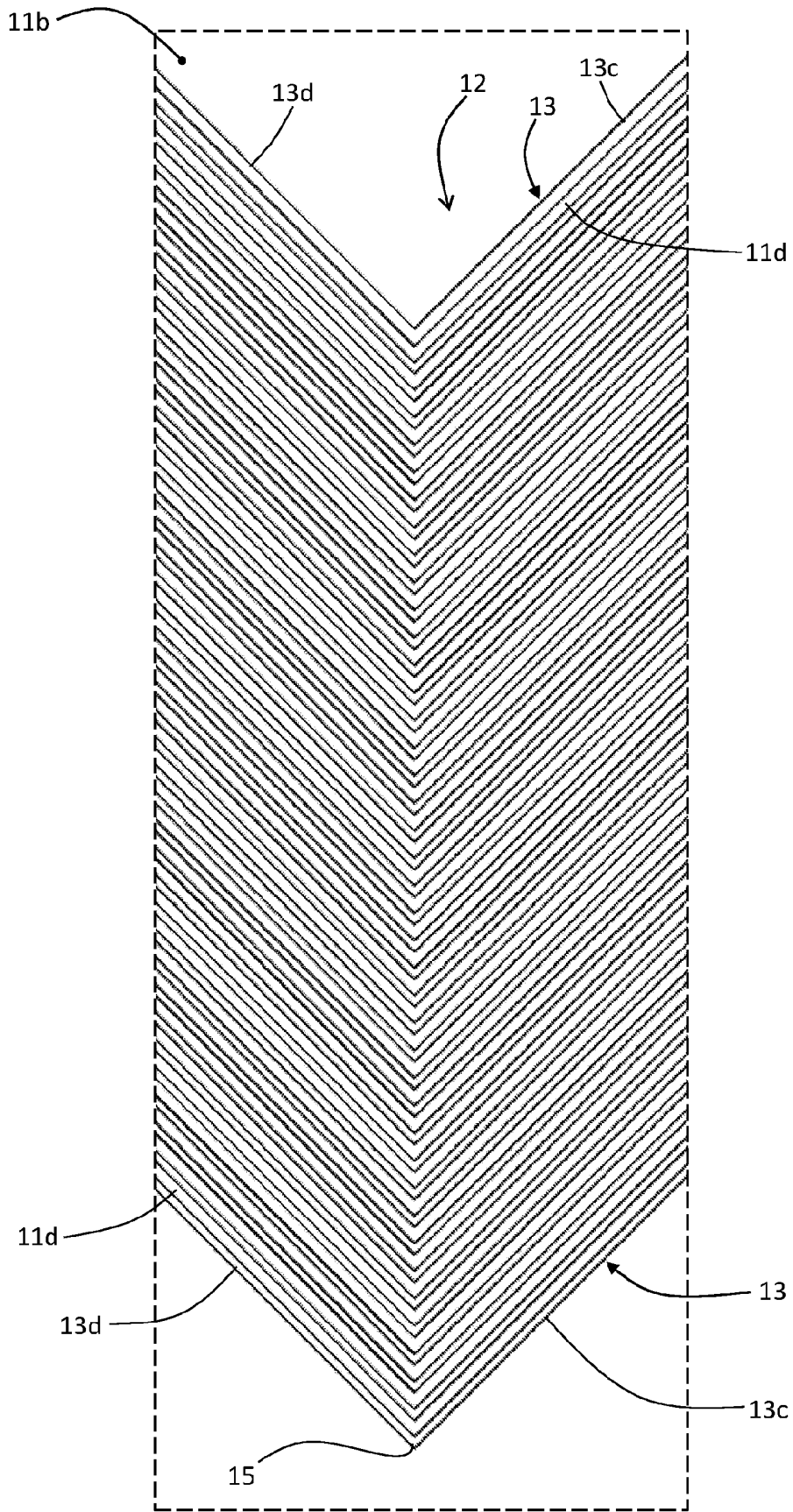


图 7

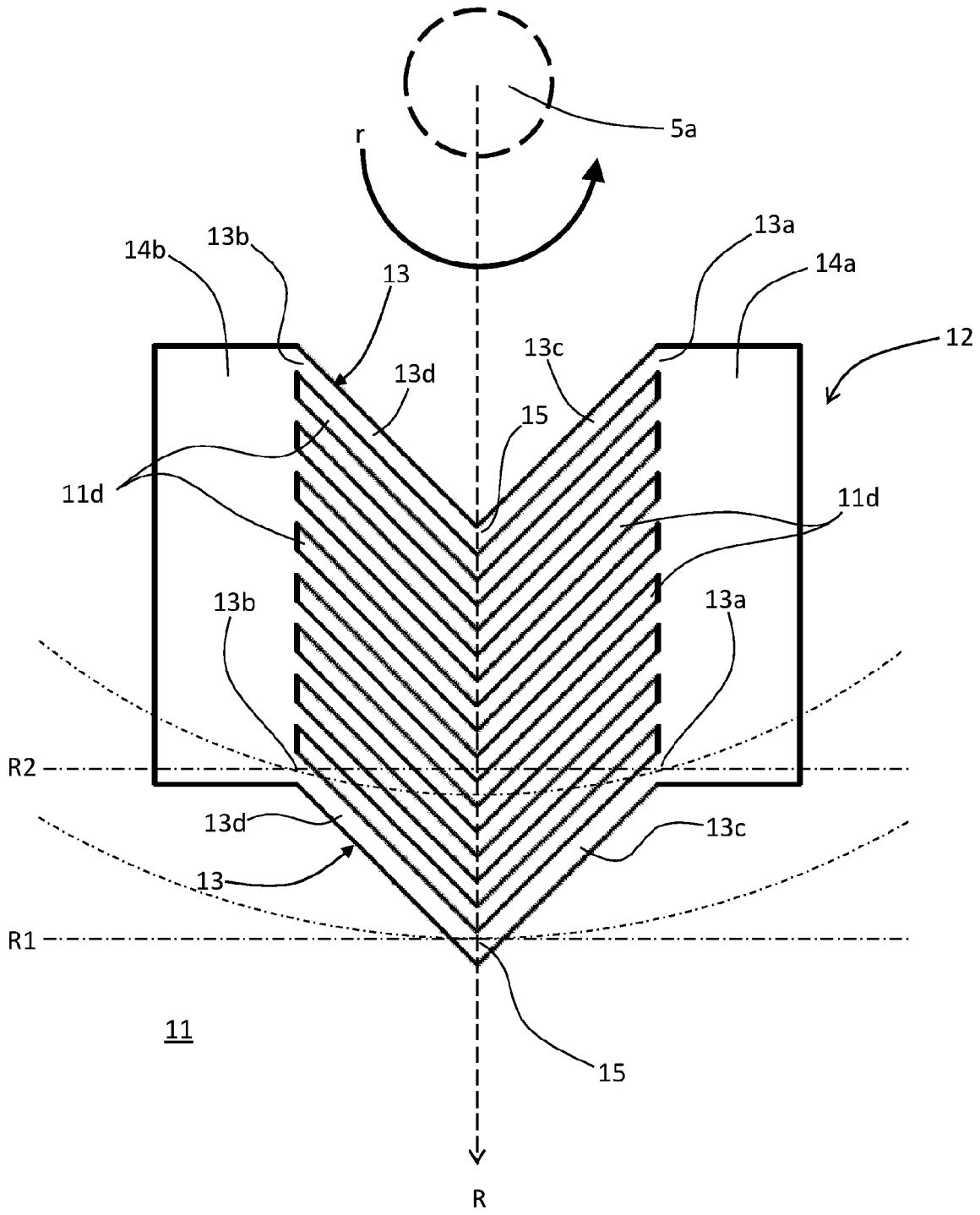


图 8

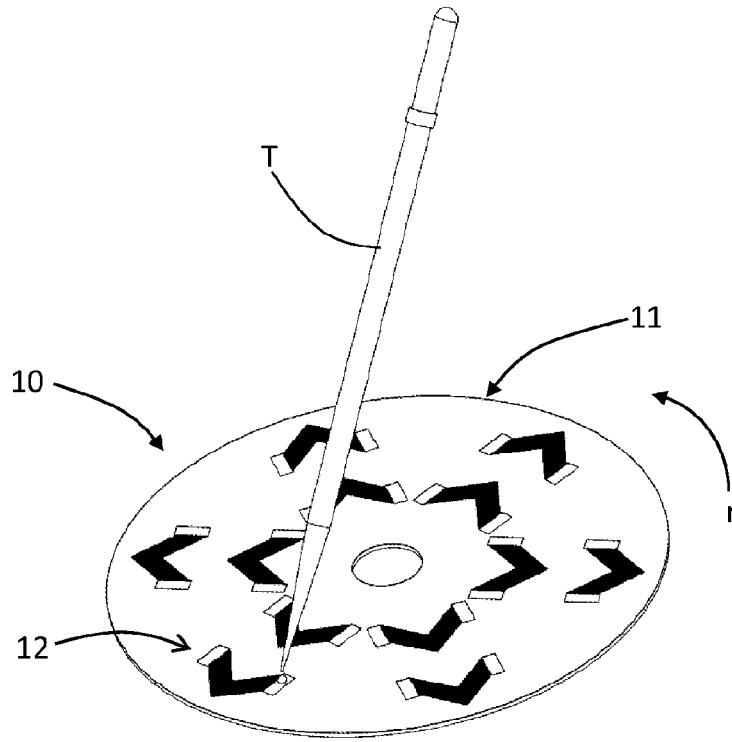


图 9

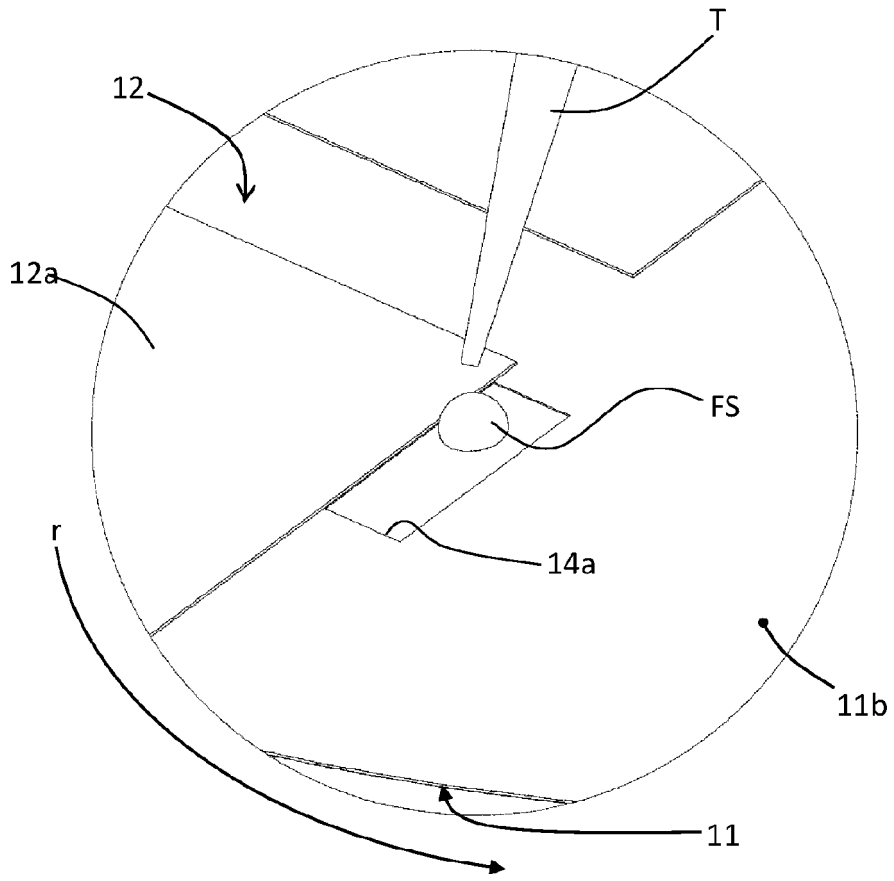


图 10

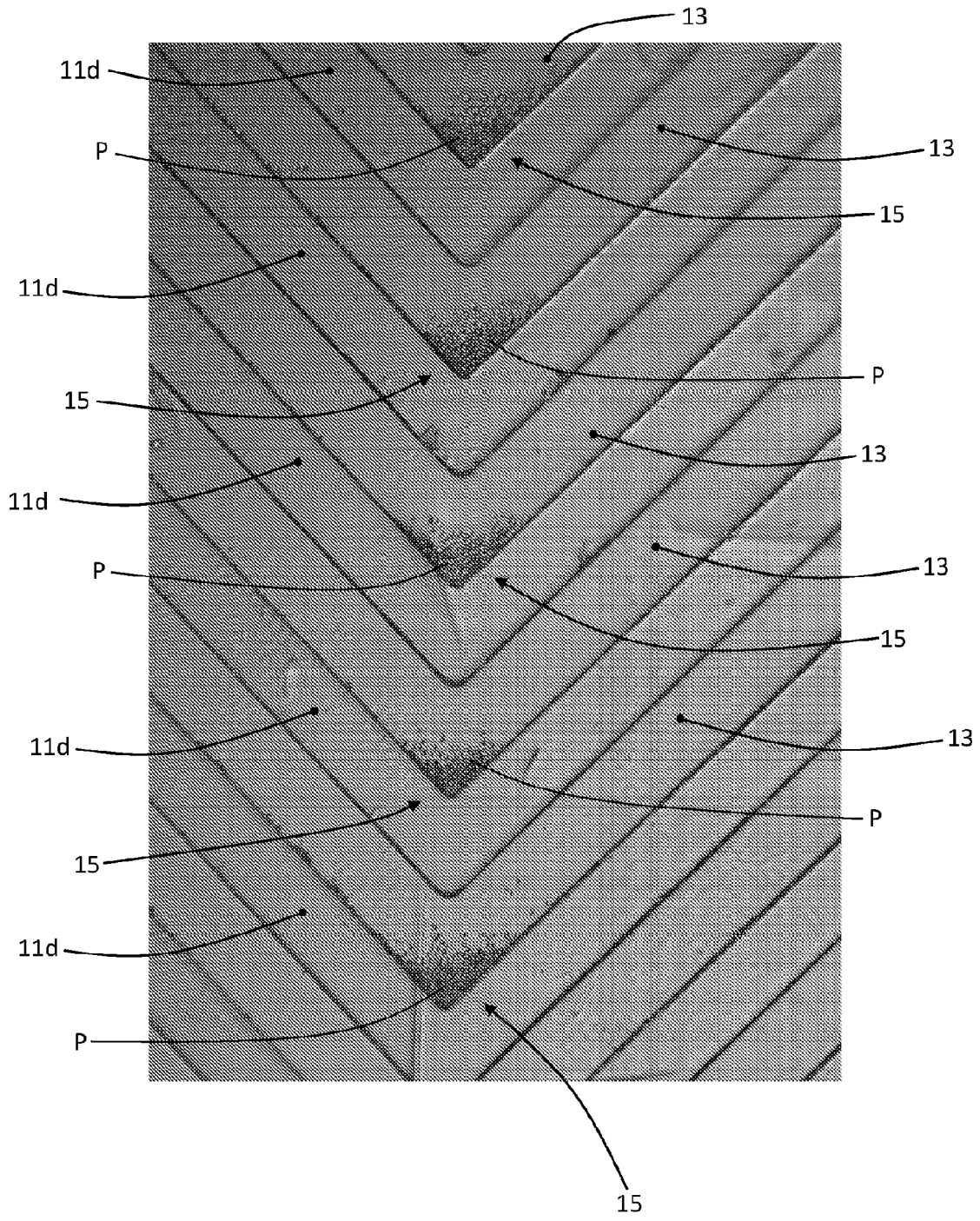


图 11

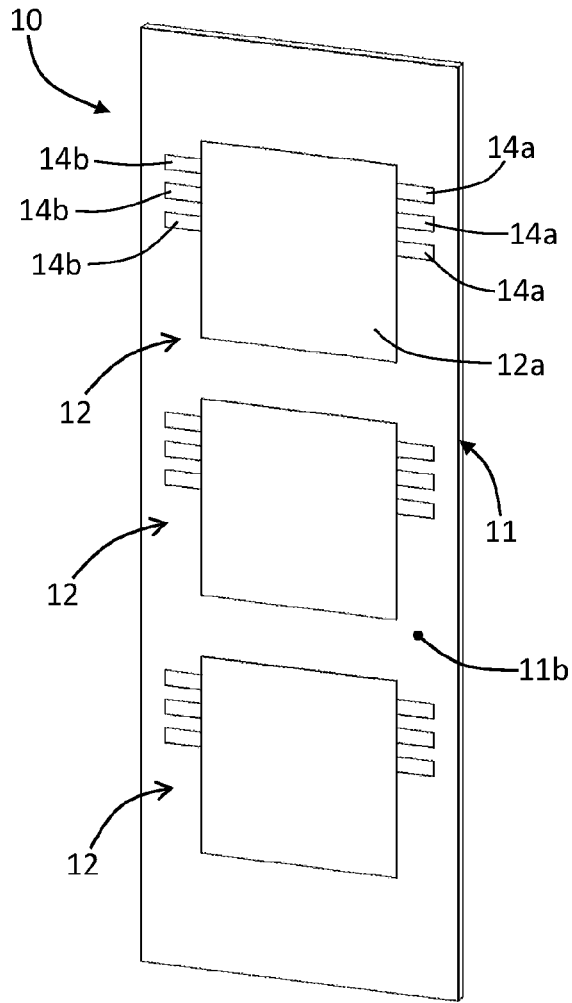


图 12

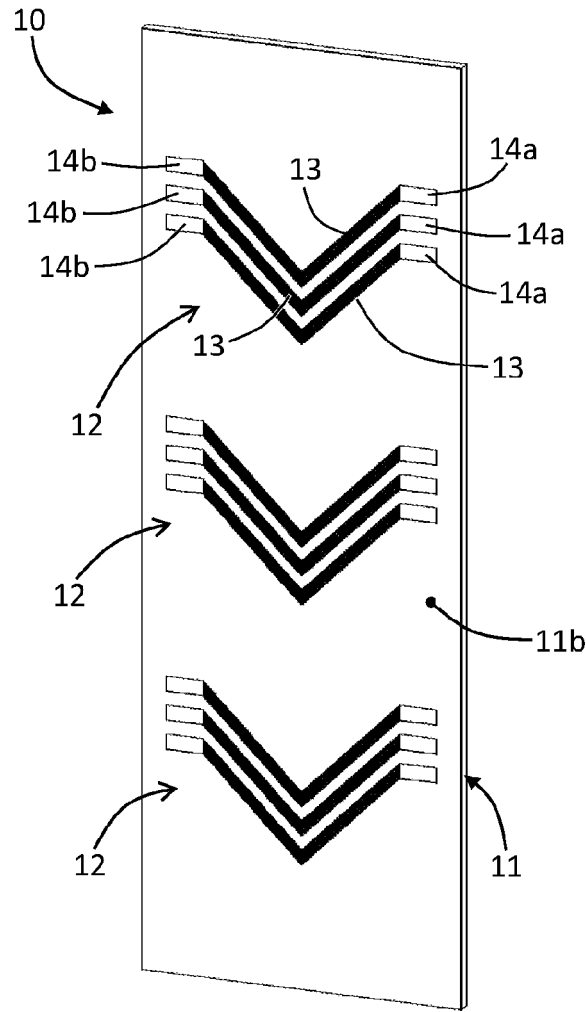


图 13

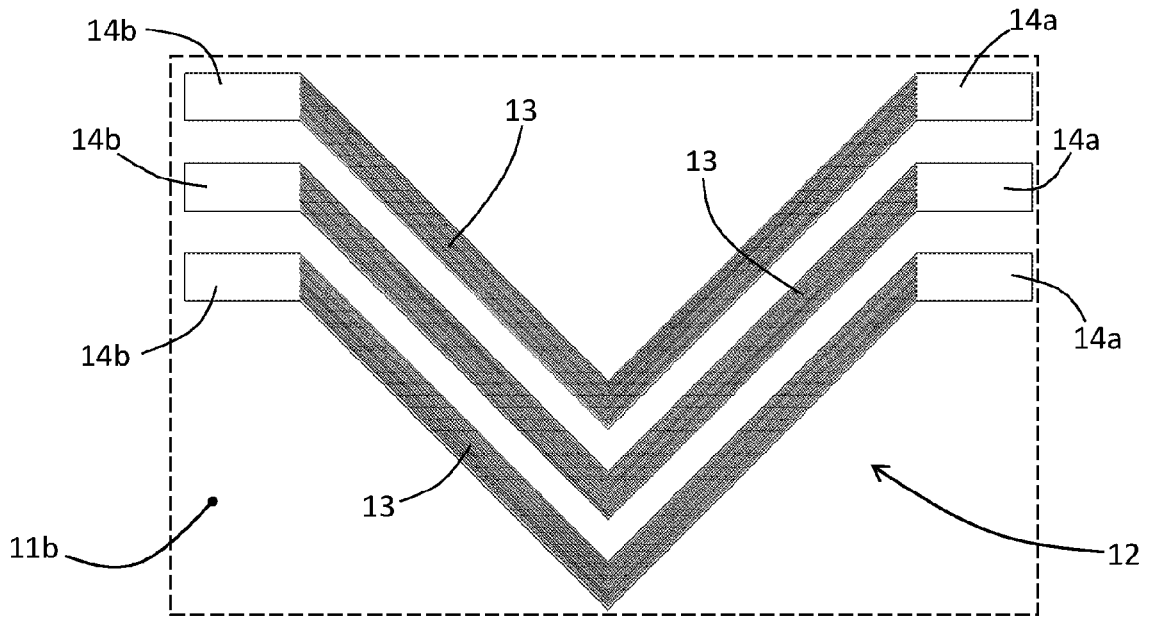


图 14

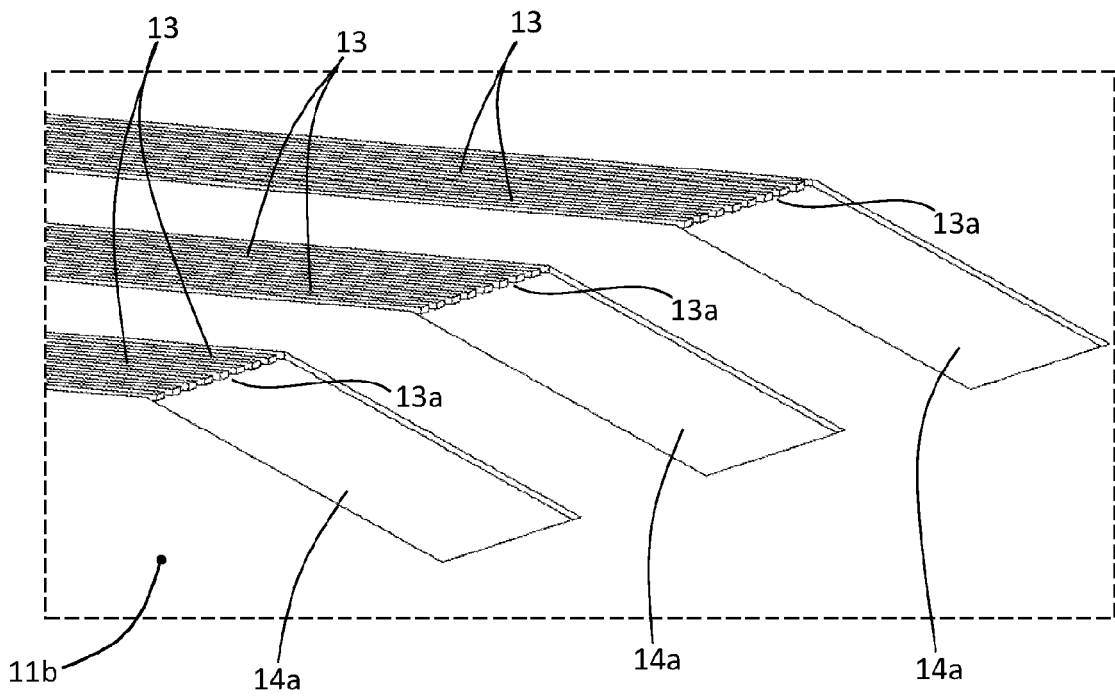


图 15

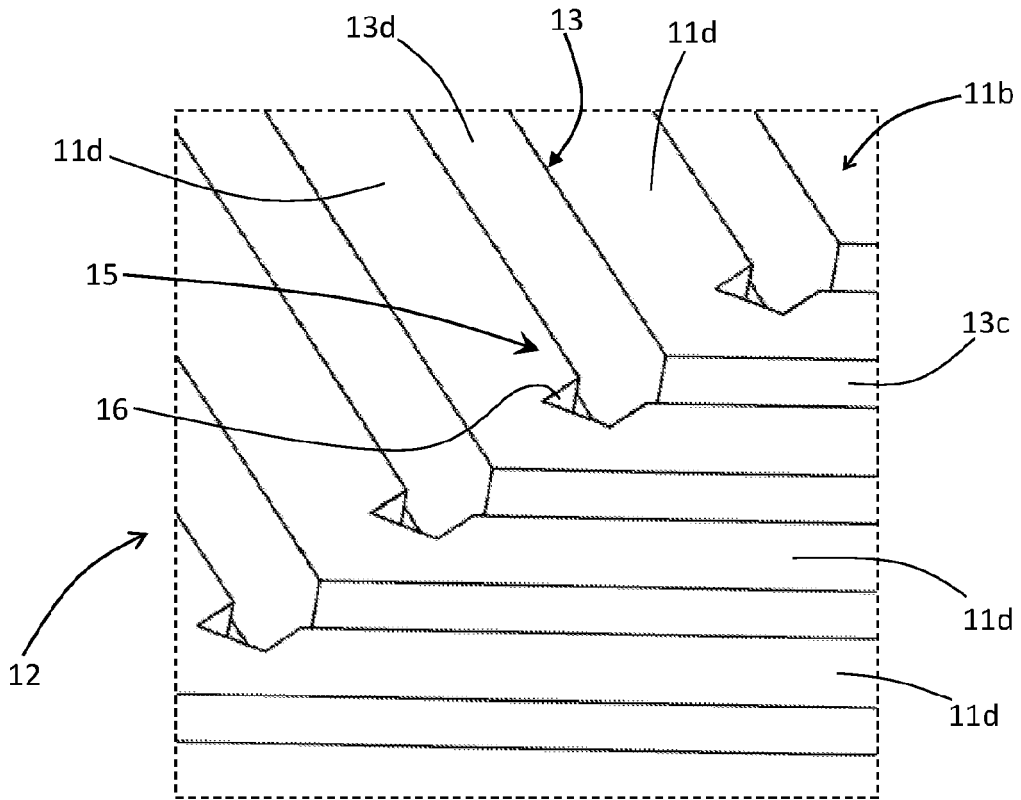


图 16

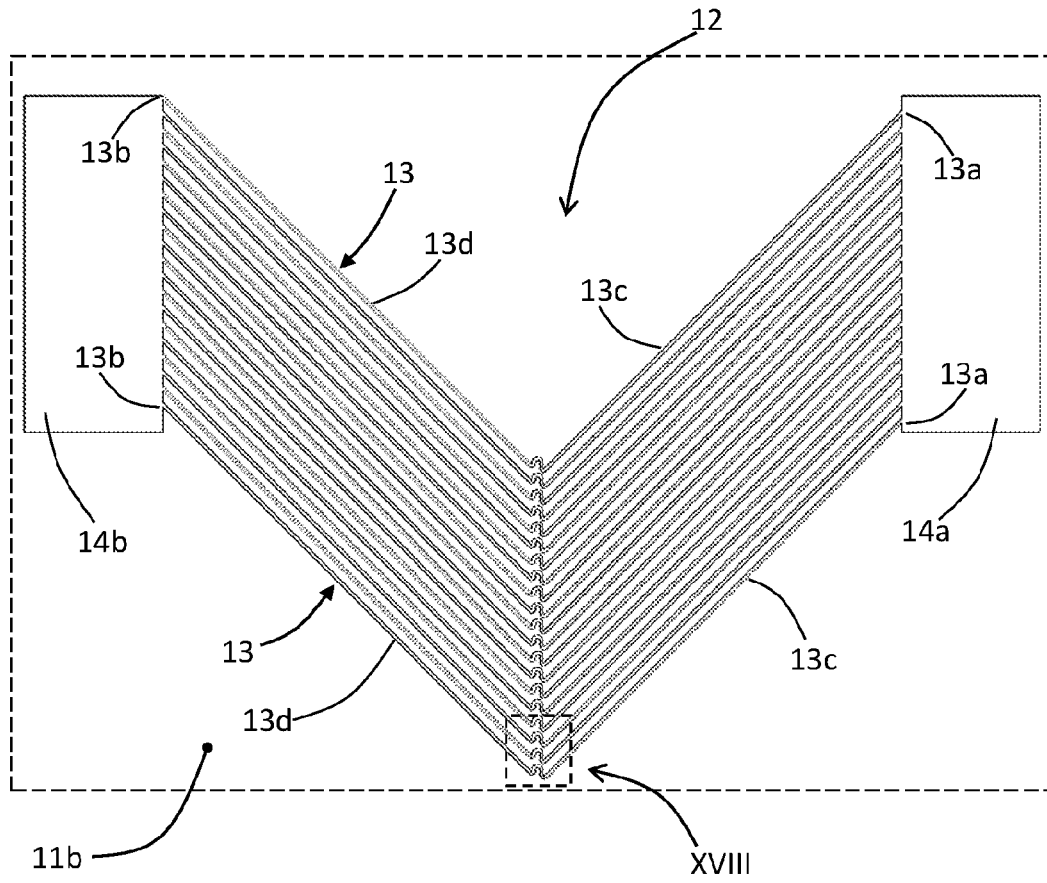


图 17

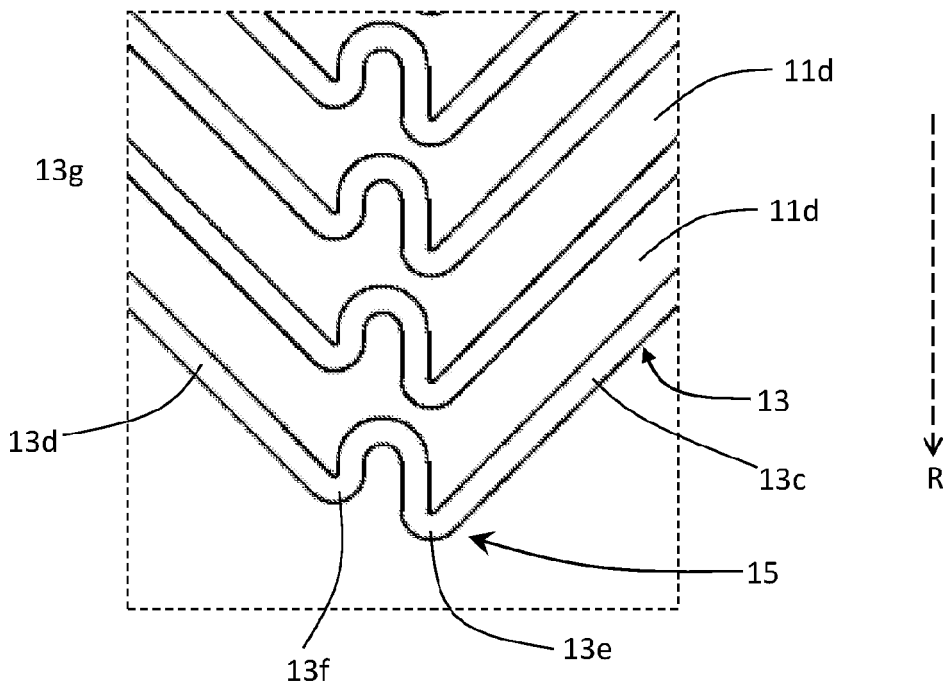


图 18

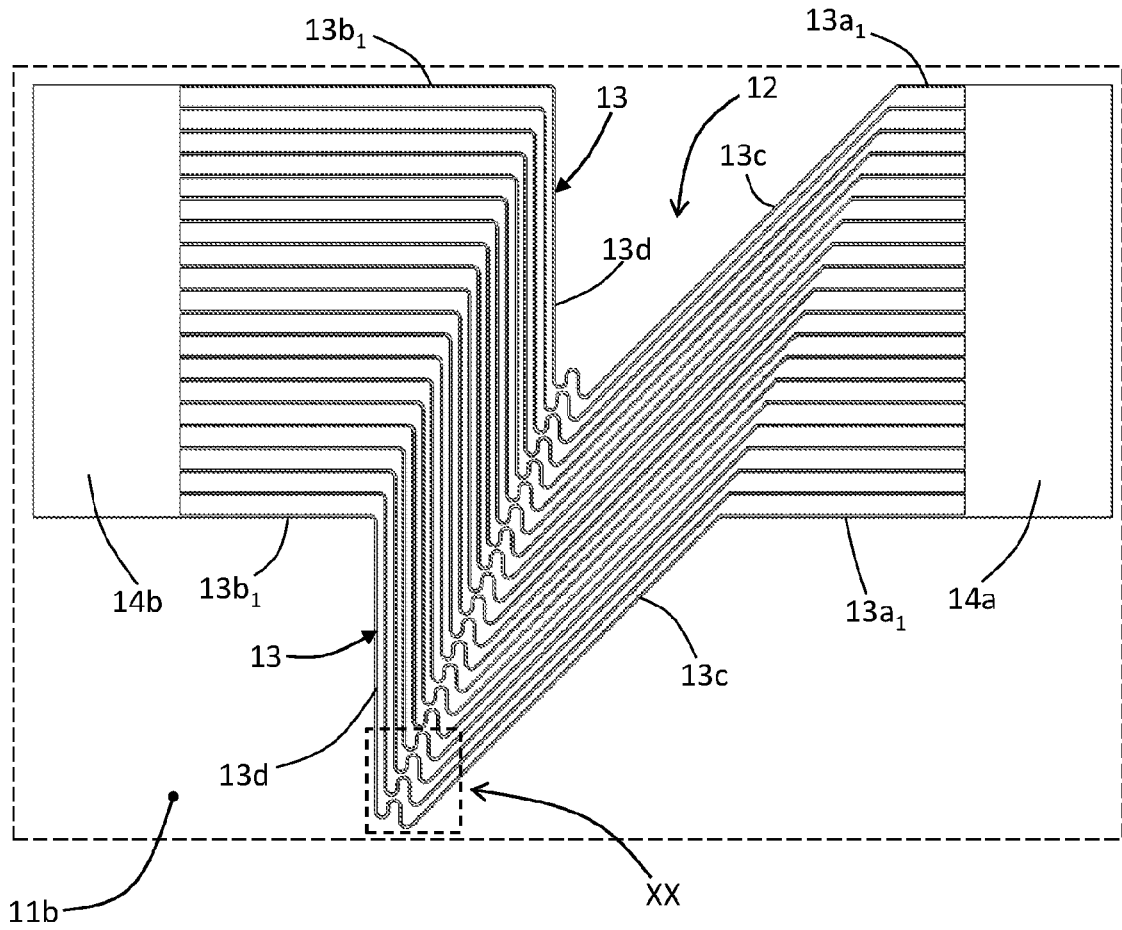


图 19

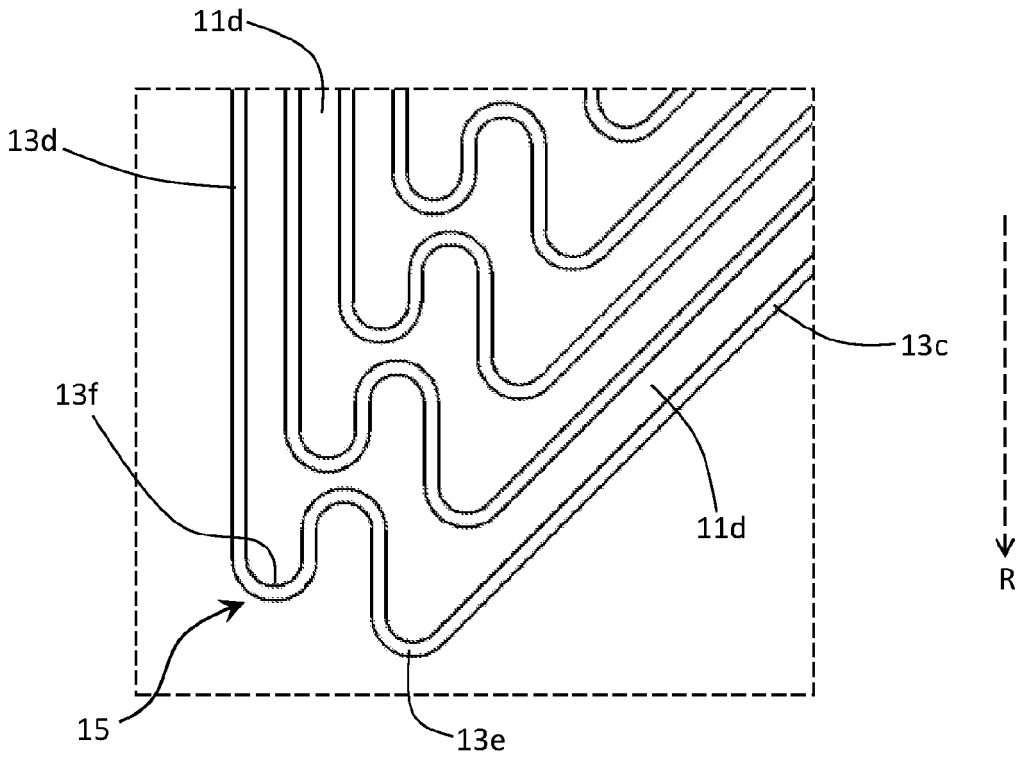


图 20

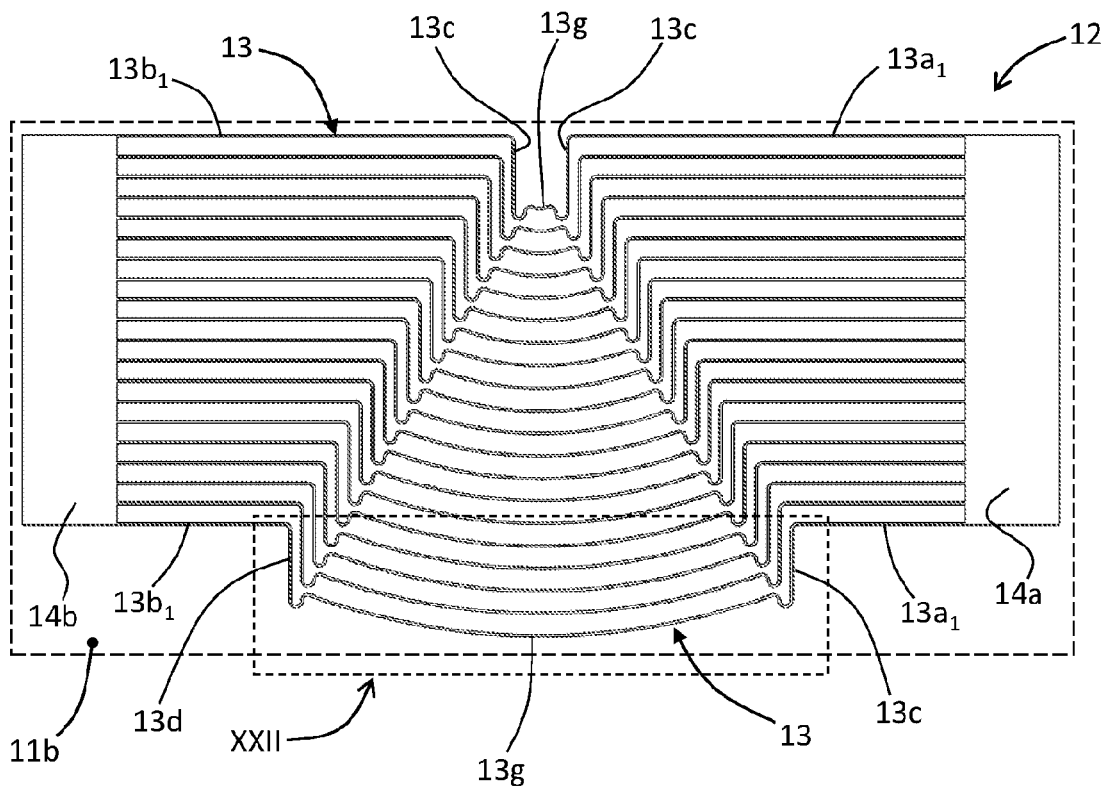


图 21

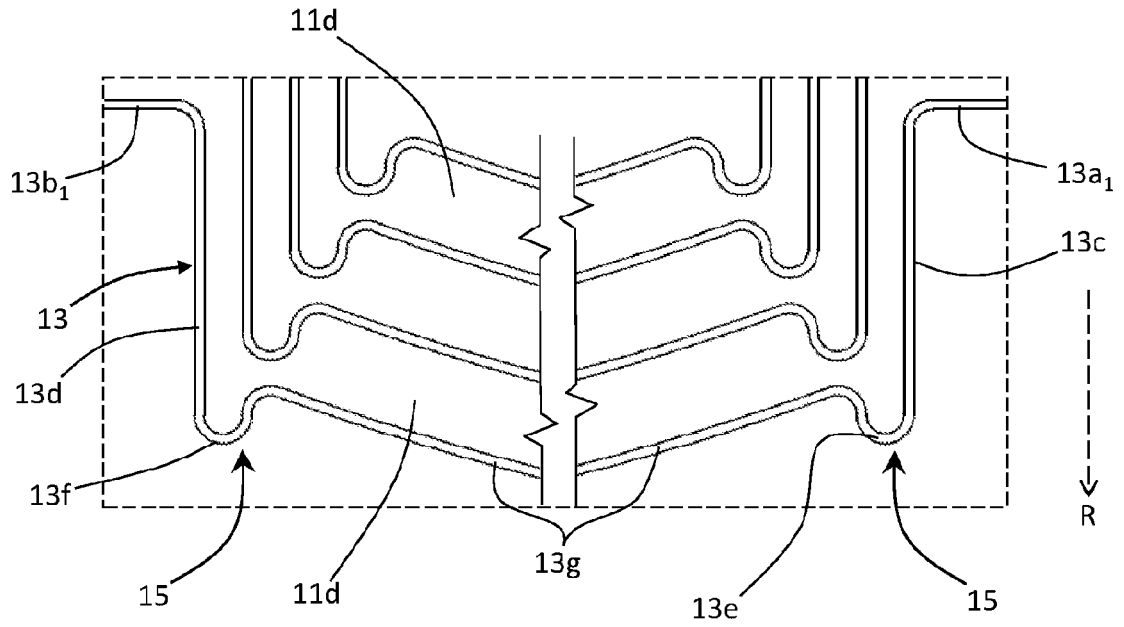


图 22

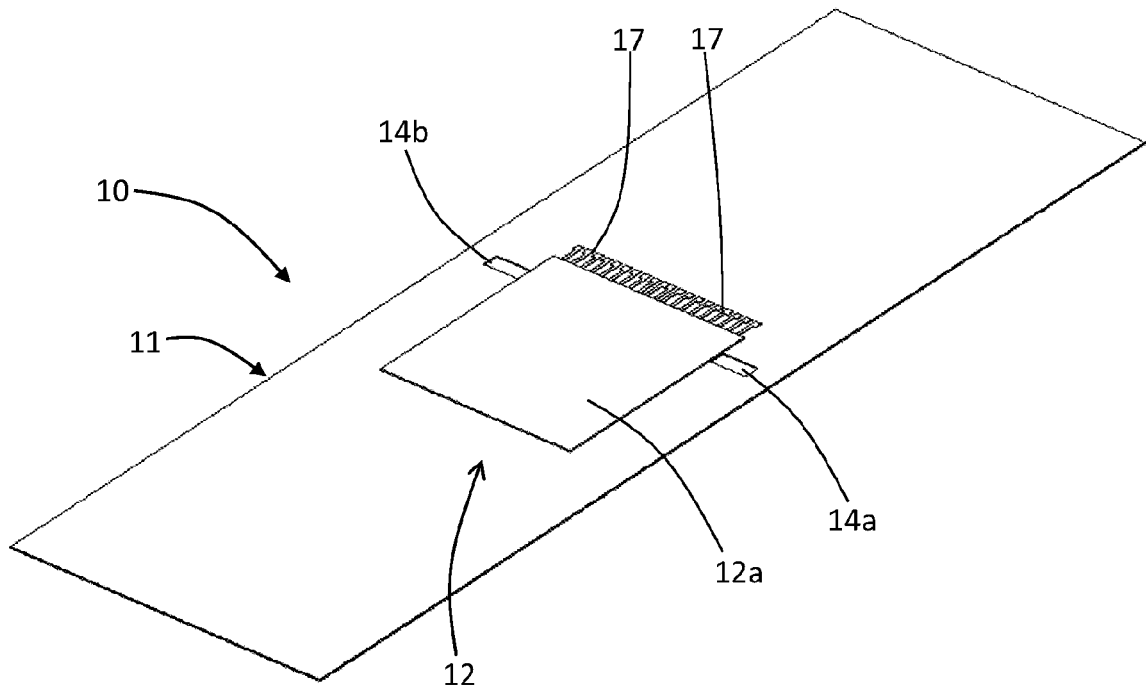


图 23

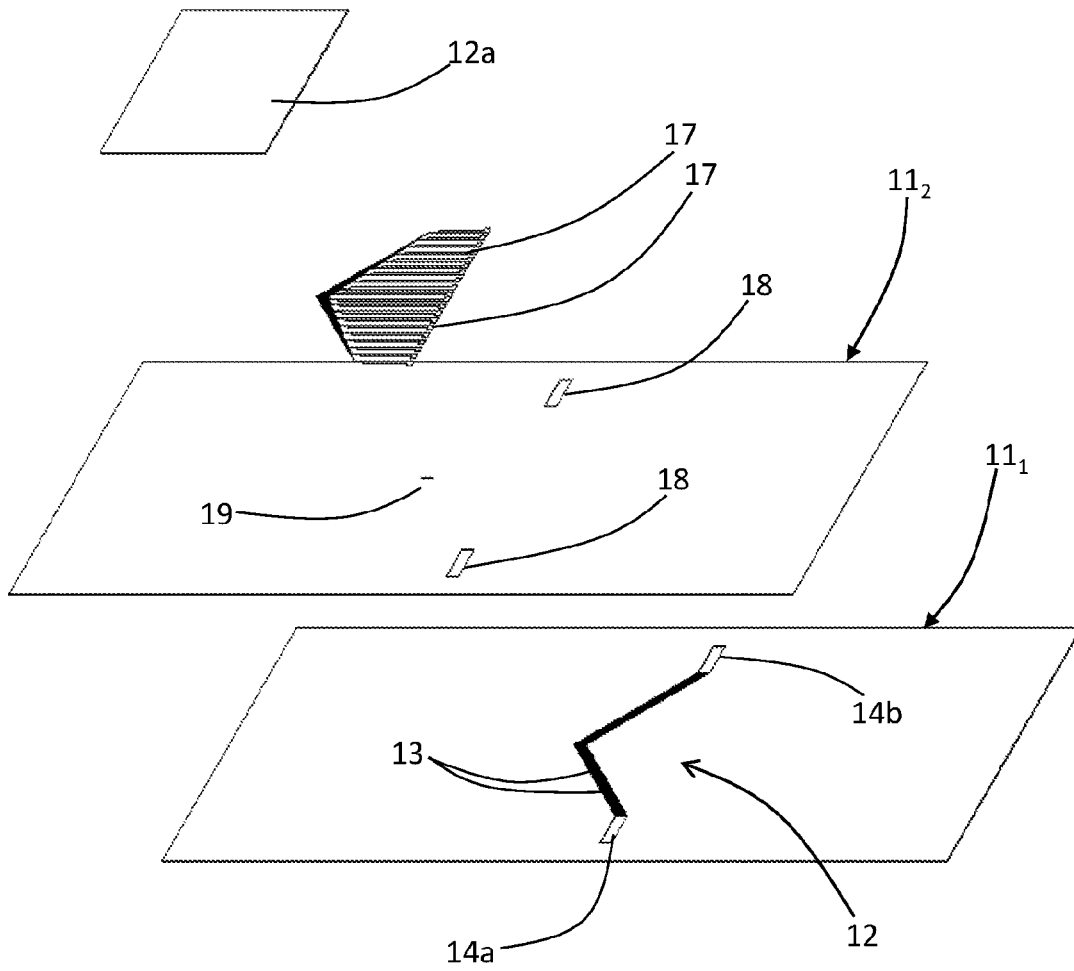


图 24

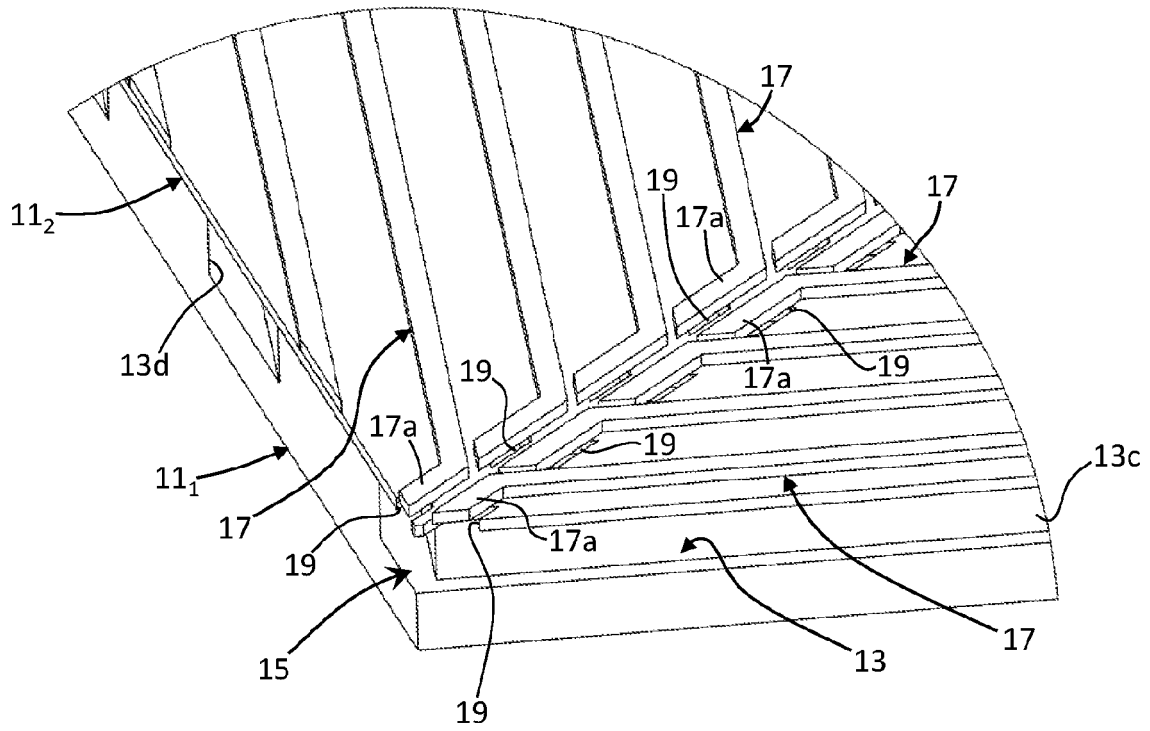


图 25

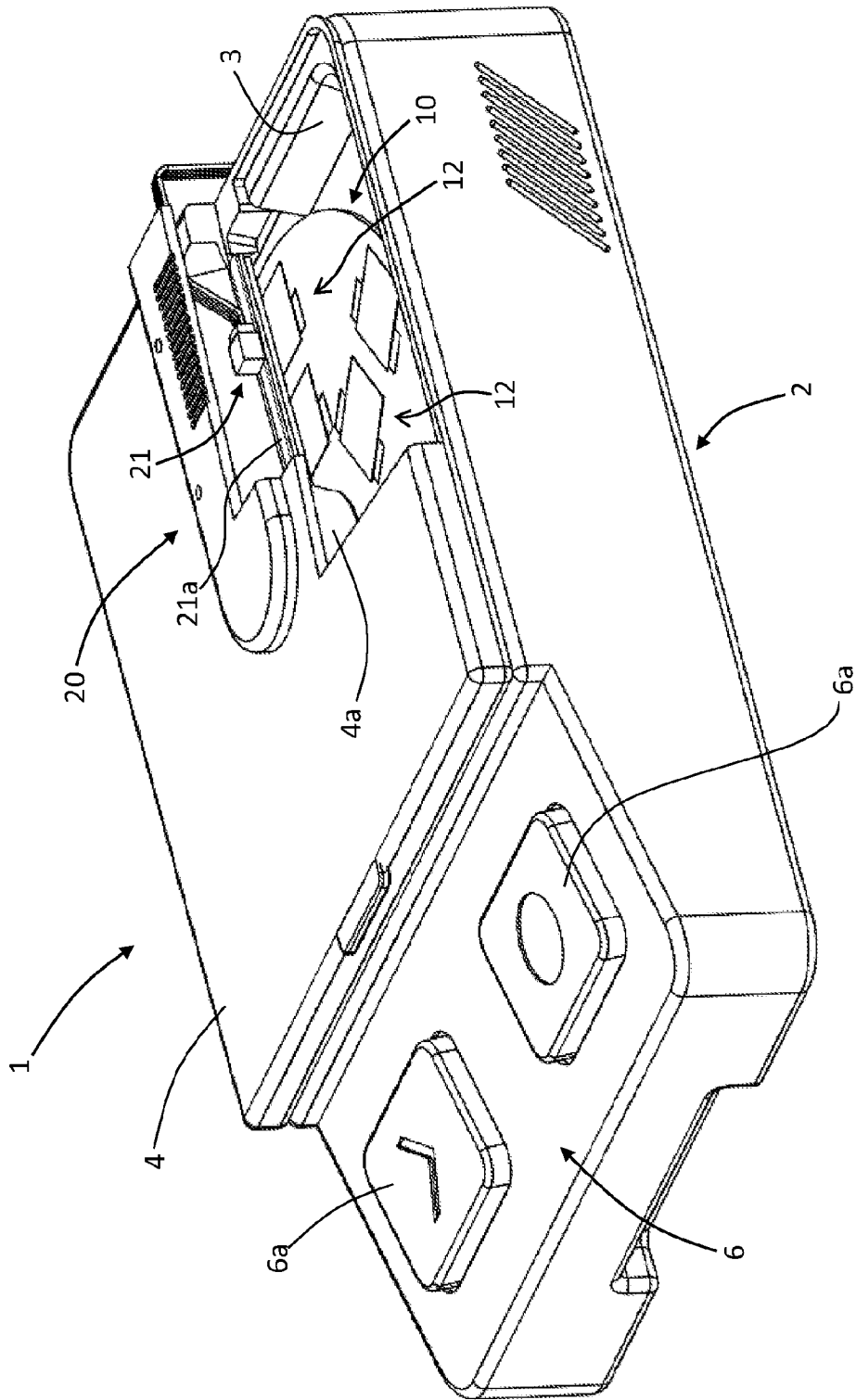


图 26

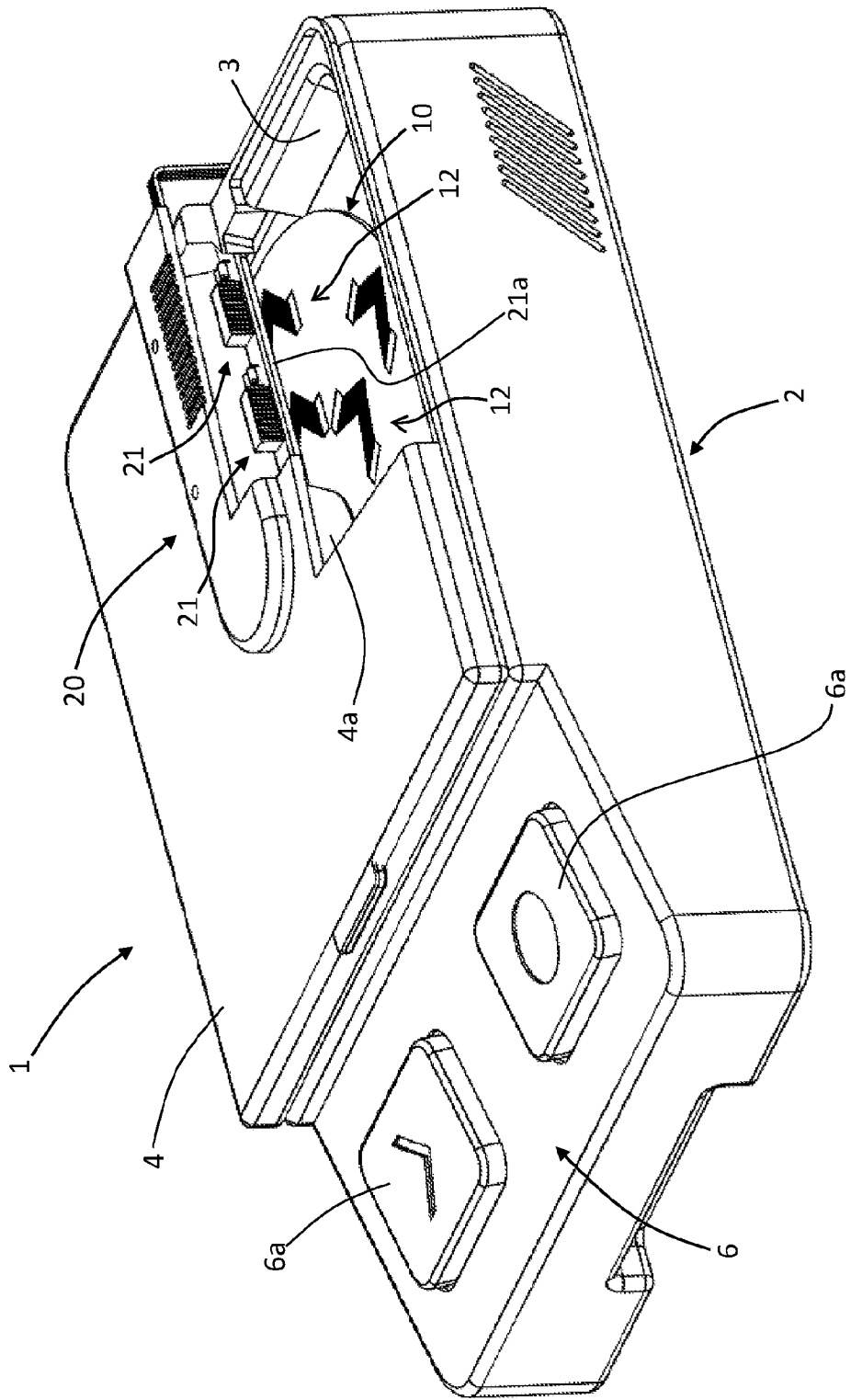


图 27