

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 977 459**

51 Int. Cl.:

G01N 1/38 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

G01N 35/10 (2006.01)

C12M 1/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.05.2016 PCT/US2016/034554**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2016 WO16191646**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2016 E 16730568 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2024 EP 3304032**

54 Título: **Método y sistema automatizados para obtener y preparar una muestra de microorganismo para ensayos tanto de identificación como de susceptibilidad a antibióticos**

30 Prioridad:

28.05.2015 US 201562167593 P

28.05.2015 US 201562167577 P

18.12.2015 US 201562269545 P

05.04.2016 US 201662318494 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.08.2024

73 Titular/es:

BD Kiestra B.V. (100.0%)

Marconilaan 6

9207 JC Drachten, NL

72 Inventor/es:

HANSEN, TIMOTHY, R.;

HOLTZ, RICK;

KLEEFSTRA, MARTIJN;

MARCELPOIL, RAPHAEL, RODOLPHE;

PIERPONT, RICK;

POHL, BRENT, RONALD;

SHEDLOSKY, ALYSSA;

SHINDLEDECKER, SCOTT;

SKEVINGTON, EDWARD;

SMITH, KERRY, LYNN y

WILES, TIMOTHY

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 977 459 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método y sistema automatizados para obtener y preparar una muestra de microorganismo para ensayos tanto de identificación como de susceptibilidad a antibióticos

5

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de la fecha de presentación de la solicitud provisional de EE. UU. n.º 62/167.577 presentada el 28 de mayo de 2015, la solicitud provisional de EE. UU. n.º 62/318.494 presentada el 5 de abril de 2016, la solicitud provisional de EE. UU. n.º 62/167.593 presentada el 28 de mayo de 2015 y la solicitud provisional de EE. UU. n.º 62/269.545 presentada el 18 de diciembre de 2015.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Se conocen métodos y sistemas para ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos e identificar microorganismos usando espectrometría de masas, en particular MALDI-TOF-MS (espectrometría de masas por desorción e ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo) y los sistemas para realizarlos. Tales sistemas y métodos se describen en el documento WO2013/147610 de Botma y col. La Publicación de patente de EE. UU. n.º 2015/086971(A1) de Botma y col. es el homólogo para EE. UU. del documento WO2013/147610 de Botma y col. La publicación de patente de EE. UU. n.º 2021/009558 (A1) describe un método automatizado para seleccionar colonias y depositarlas en una placa para análisis de MALDI.

15

20

El análisis de MALDI es una herramienta útil para resolver problemas estructurales en bioquímica, inmunología, genética y biología. Las muestras se ionizan en la fase gaseosa y se usa un analizador de tiempo de vuelo (TOF) para medir las masas de iones. El análisis de TOF comienza cuando se forman iones y son acelerados a una energía cinética constante a medida que entran en una región de deriva. Estos llegan a un detector siguiendo tiempos de vuelo que son proporcionales a la raíz cuadrada de sus masas. Se crea un espectro de masa dado que iones de diferente masa llegan al detector en momentos diferentes.

25

La espectrometría de masas generalmente puede ser una potente herramienta en los campos del descubrimiento y el desarrollo de fármacos, genotipificación, e investigación del proteoma. MALDI, un tipo específico de espectrometría de masas, ya se ha usado para caracterización e identificación de bacterias y microorganismos. Las actuales tendencias en investigación son analizar números cada vez mayores de muestras usando cantidades de muestras individuales que varían entre niveles micro-molares y niveles atómico-molares. Como resultado, las muestras también se están volviendo más pequeñas y existe la necesidad de adquisición eficiente y fiable de la cantidad correcta de microorganismos y el depósito preciso de una muestra de la cantidad adquirida sobre una placa diana usada en el instrumento de MALDI.

30

35

En una operación de MALDI TOF MS típica, la muestra a analizar se coloca o se deposita sobre una placa diana de MALDI que puede ser de metal u otro material que permitirá la ionización de muestras. El método comúnmente aceptado para preparar una placa diana de MALDI es depositar o sembrar directamente una muestra sospechosa de contener microorganismos, procedente de medio en placa sobre la placa diana. Después de la adición de la muestra, a menudo se añaden reactivos de matriz para apoyar la ionización de la muestra. En algunos casos, también se añaden reactivos de extracción. En otros casos, puede requerirse una etapa de extracción fuera de línea antes de añadir la muestra a la placa diana.

40

45

Una vez que la placa diana está preparada, se coloca en una posición fija en el instrumento de MALDI. La placa diana tiene una pluralidad de puntos de depósito (por ejemplo, de 24 a 384 puntos de depósito en una única placa diana) y estos puntos de depósito tienen una orientación fija con respecto a los bordes de la placa diana. La placa diana se coloca sobre una platina X-Y de tal modo que una muestra obtenida de una colonia de microorganismos pueda depositarse sobre un punto de depósito seleccionado. Se mantiene un potencial de alto voltaje entre la placa diana y una rejilla metálica. Este voltaje puede mantenerse o pulsarse, dependiendo de los resultados deseados y se crea un vacío en la cámara. Un láser es disparado en la muestra/matriz y se forma un penacho de iones. La diferencia de voltaje se usa para acelerar los iones hasta un tubo de vuelo de tal modo que puedan analizarse. El análisis relaciona directamente el tiempo de vuelo con la masa del componente ionizado.

50

55

Varios parámetros pueden afectar a la calidad de los resultados, incluyendo la planeidad de la diana, la cantidad y el tipo de matriz, la concentración de la muestra, la conductividad de la diana de muestra, la precisión de la colocación sobre el punto de depósito, así como otras variables.

60

Dado que el proceso requiere recoger la colonia y depositarla directamente sobre la placa, la muestra recogida no puede usarse como una fuente de muestra de otro análisis. En consecuencia, si se desea realizar otro ensayo en la muestra, se debe adquirir otra porción de la muestra para realizar el ensayo. Dado que requieren múltiples recogidas de colonias para múltiples ensayos, aumenta el tiempo de procesamiento requerido y el potencial para resultados discrepantes debido a diferencias entre las dos muestras recogidas. Por lo tanto, se sigue buscando un método

65

eficiente y automatizado que obtiene una muestra de microorganismo a partir de una colonia y somete esa muestra obtenida a múltiples ensayos.

BREVE COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

5 Para resolver al menos uno de los problemas mencionados anteriormente, la presente invención proporciona un método y sistema automatizados para ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos en una placa de cultivo e identificar microorganismos en la colonia seleccionada usando MALDI y al menos otro ensayo. El método incluye las etapas automatizadas de: ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos en una placa de cultivo; obtener una muestra de la colonia de microorganismos seleccionada; preparar una suspensión para la muestra obtenida; dispensar una porción de la muestra obtenida sobre una placa diana y colocar la placa diana en un aparato para realizar MALDI para la identificación de la muestra de la colonia de microorganismos seleccionada; y usar o transferir otra porción de la suspensión para otro ensayo. En una realización, el segundo ensayo es un ensayo de susceptibilidad a antibióticos (AST). El AST podría ser usando métodos de AST automatizados existentes (BD Phoenix o Vitek) o podría ser con Kirby-Baur/difusión en disco, dilución en disco, dilución en caldo y agar u otros métodos.

En una realización, la suspensión se prepara en una cubeta. La suspensión en la cubeta es inspeccionada usando un nefelómetro para determinar si la turbidez de la muestra es un valor dentro de un intervalo predeterminado de valores que se ha determinado que son adecuados para el ensayo de MALDI. En caso negativo, la cantidad de muestra o la cantidad de diluyente en la suspensión se ajusta para proporcionar una suspensión con un valor de turbidez diana. Una vez que una alícuota de suspensión es retirada de la cubeta para MALDI, la suspensión es inspeccionada de nuevo y la turbidez de la suspensión se determina mediante nefelometría. La turbidez de la suspensión se evalúa para determinar si la turbidez está dentro de un intervalo de valores de turbidez adecuado para usar la muestra en un segundo ensayo (por ejemplo, un ensayo de AST). En caso negativo, la cantidad de diluyente en la suspensión está ajustada para proporcionar una suspensión que tiene una turbidez adecuada.

Todas las etapas se realizan automáticamente, lo que obvia los problemas mencionados anteriormente en su mayor parte, dado que la automatización evita divergencias y errores no deseados, que causan resultados incorrectos procedentes del instrumento de MALDI, costes adicionales y pérdida de tiempo. Automatizando cada una de las etapas, estos problemas pueden superarse al menos en gran medida. En el presente campo, se ha dado por sentado que al menos algunas de las etapas solo podían realizarse manualmente, sin embargo, en contraste con ello, la presente invención proporciona la posibilidad, por primera vez, de automatizar todas las etapas necesarias para ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos e identificar microorganismos en la colonia seleccionada usando MALDI.

Automatizando completamente la preparación de una suspensión, la invención proporciona un método preciso y reproducible de uso de suspensiones para la identificación por MALDI y AST u otro ensayo. El método comprende además la etapa automatizada de recubrir con una alícuota de una solución de matriz de MALDI la suspensión de muestra dispensada en la placa diana. En algunas realizaciones, la suspensión de muestra dispensada depositada sobre la placa diana se deja secar antes de que la alícuota de solución de matriz de MALDI la recubra. Una realización adicional incluiría la colocación de un reactivo de extracción, tal como ácido fórmico antes que el reactivo de la matriz para resultados mejorados.

Este método alternativo de uso de una suspensión es, además, extremadamente útil en caso de que se vaya a realizar otro ensayo o análisis en la muestra de la colonia de microorganismos. Tal análisis adicional pueden realizarse de una forma particularmente reproducible y eficiente en una realización de un método según la invención en la que el método comprende además las etapas automatizadas de: obtener una segunda alícuota de la suspensión de muestra; depositar la segunda alícuota de suspensión de muestra en un caldo para ensayo de AST; y transferir el tubo de caldo de AST inoculado a un aparato para realizar un ensayo de susceptibilidad u otro análisis adicional. En consecuencia, el método de la invención puede usarse para obtener o recoger automáticamente una muestra que puede alimentarse a instrumentos de ID/AST disponibles, incluyendo, aunque sin limitarse a, BACTEC™, Phoenix, MGIT, VITEK y BacT/Alert.

Una realización completamente integrada del método automatizado incluye las etapas descritas anteriormente combinadas en un único flujo de proceso. Específicamente, se proporciona una platina para una placa de cultivo que porta microorganismos. La placa de cultivo se coloca sobre la platina. Se proporciona una herramienta de recogida automatizada que tiene un dispositivo de colocación automatizado con un soporte de herramienta de recogida para soportar la herramienta de recogida (por ejemplo, una pipeta). El dispositivo de colocación está dispuesto para colocar la herramienta de recogida en una posición de partida por encima de la placa de cultivo y para hacer descender y ascender automáticamente una herramienta de recogida hacia y lejos de la placa de cultivo y para colocar una herramienta de recogida en una posición de transferencia, respectivamente. La herramienta de recogida está situada en el soporte de herramienta de recogida del dispositivo de colocación. La herramienta de recogida se coloca en la posición de partida por encima de la placa de cultivo, y se le hace descender automáticamente hacia la placa de cultivo hasta hacer contacto con el microorganismo para recoger una muestra del microorganismo. A la herramienta de recogida se le hace ascender automáticamente portando la muestra del microorganismo lejos de la placa de cultivo

hasta la posición de transferencia. Se proporciona un dispensador de medio de suspensión automático para dispensar automáticamente un medio de suspensión en un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión. El dispensador automático suministra automáticamente una cantidad inicial de medio de suspensión a la suspensión. El dispositivo de colocación mueve automáticamente la herramienta de recogida desde encima de la placa de cultivo hasta una posición por encima de una suspensión. El dispositivo de colocación hace descender y ascender la herramienta de recogida al interior y lejos de un medio de suspensión contenido en un tubo de suspensión, y opcionalmente coloca la herramienta de recogida en una posición de espera por encima del tubo de suspensión, respectivamente. El dispositivo de colocación hace oscilar la herramienta de recogida en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo mientras la herramienta de recogida con la muestra del microorganismo es sumergida en el medio de suspensión. Después de que el período de tiempo ha transcurrido, se hace ascender a la herramienta de recogida lejos del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión hasta la posición de espera. Se proporciona un turbidímetro (también denominado en la presente memoria un nefelómetro) para realizar mediciones de la turbidez de un medio de suspensión contenido en un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión. Al menos después de que el período de tiempo durante el cual se hace oscilar la herramienta de recogida ha transcurrido, la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión es medida por el turbidímetro y se proporciona un valor de medición final indicativo de la turbidez medida.

Un controlador conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación, el dispositivo de transferencia, el dispensador de medio de suspensión automático y el turbidímetro para controlar automáticamente el movimiento del dispositivo de colocación, el movimiento del dispositivo de transferencia, el funcionamiento del dispensador de medio de suspensión automático y el funcionamiento del turbidímetro, respectivamente. El controlador controla y supervisa la suspensión y funciona para proporcionar una suspensión que tiene turbidez dentro de la especificación como se ha descrito anteriormente.

La invención se refiere además a un aparato para la preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos para realizar el método descrito anteriormente para seleccionar automáticamente una colonia de microorganismos en una placa de cultivo y preparar una suspensión de una muestra de microorganismos y usar esa suspensión para un ensayo al menos tanto para la identificación de microorganismos como para la susceptibilidad a antibióticos. El aparato tiene:

- una platina para una placa de cultivo que porta el microorganismo;
- una herramienta de recogida y un dispositivo de colocación con un soporte de herramienta de recogida para soportar una herramienta de recogida. El dispositivo de colocación está dispuesto para colocar una herramienta de recogida en una posición de partida por encima de la placa de cultivo y para hacer descender y ascender automáticamente la herramienta de recogida hacia y lejos de la placa de cultivo y para colocar una herramienta de recogida en una posición de transferencia, respectivamente;
- una estación de tubos de suspensión para soportar un tubo de suspensión;
- un dispensador de medio de suspensión automático para dispensar automáticamente un medio de suspensión en un tubo de suspensión soportado en la estación de tubos de suspensión;
- un dispositivo de colocación para transferir automáticamente una herramienta de recogida desde la posición de transferencia del dispositivo de colocación hasta una posición por encima de un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión, y para hacer descender y ascender una herramienta de recogida al interior y lejos de un medio de suspensión contenido en un tubo de suspensión, y para colocar una herramienta de recogida en una posición de espera por encima de un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión, respectivamente, estando dispuesto el dispositivo de transferencia además para hacer oscilar una herramienta de recogida en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo;
- un turbidímetro para realizar mediciones de la turbidez de un medio de suspensión contenido en un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión y para proporcionar un valor de medición final indicativo de la turbidez medida; y
- un controlador conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación, el dispensador de medio de suspensión automático y el turbidímetro para controlar automáticamente el movimiento del dispositivo de colocación, el movimiento del dispositivo de transferencia, el funcionamiento del dispensador de medio de suspensión automático y el funcionamiento del turbidímetro, respectivamente.

El controlador:

- a) determina si el valor de medición de turbidez final está por encima de un primer valor umbral (un valor máximo) almacenado previamente en una memoria del controlador, estando dispuesto el controlador, en caso afirmativo, para realizar la etapa b) (dilución); o si el valor de medición de turbidez final es idéntico a o está por debajo del primer valor umbral e idéntico a o por encima de un segundo valor umbral (un valor mínimo) almacenado previamente en la memoria del controlador, siendo el primer valor umbral mayor que el segundo valor umbral, estando dispuesto el controlador, en caso afirmativo, para realizar la etapa c) (turbidez aceptable); o si el valor de medición final está por debajo del segundo valor umbral, estando dispuesto el controlador, en caso afirmativo, para realizar la etapa d) (concentración);

- b) controla el dispensador de medio de suspensión automático para suministrar una cantidad adicional de medio de suspensión al tubo de suspensión;
- c) proporciona una señal de que el tubo de suspensión con la suspensión puede retirarse del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional; o
- d) coloca la herramienta de recogida adicional en el soporte de herramienta de recogida del dispositivo de colocación de la forma descrita para la primera herramienta de recogida.

En una realización adicional de un aparato según la invención, el controlador está dispuesto para controlar el turbidímetro, de tal modo que la medición de la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión por el turbidímetro comience antes de que la herramienta de recogida se sumerja en el medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión.

En una realización ventajosa de un aparato según la invención en la etapa d) la primera herramienta de recogida se proporciona como herramienta de recogida adicional; y el controlador está dispuesto para controlar el dispositivo de transferencia para colocar la herramienta de recogida adicional en el soporte de herramienta de recogida del dispositivo de colocación.

Preferiblemente, el controlador está dispuesto para determinar la cantidad adicional de medio de suspensión basándose en la cantidad inicial de medio de suspensión, el valor de medición final y el valor del primer y/o segundo valor umbral. En particular, el controlador está dispuesto para controlar el dispensador de medio de suspensión automático de la forma descrita anteriormente.

Un dispositivo completamente automático según la invención cuando el aparato comprende un dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático para colocar y retirar automáticamente una placa de cultivo que comprende el microorganismo sobre y de la platina, respectivamente, estando el controlador dispuesto para conectarse de forma comunicativa al dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático para controlar el funcionamiento del dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático, y para colocar automáticamente una placa de cultivo que comprende el microorganismo sobre la platina, y cuando el aparato comprende un dispositivo de colocación y de retirada de envases de suspensión automático para colocar y retirar automáticamente un envase de suspensión en y de la estación de envases de suspensión, respectivamente, estando el controlador dispuesto para conectarse de forma comunicativa al dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático para controlar el funcionamiento del dispositivo de colocación y de retirada de envases de suspensión automático, y para colocar automáticamente un envase de suspensión en la estación de envases de suspensión. En este caso, se prefiere entonces que el controlador esté dispuesto para permitir que una placa de cultivo sea retirada automáticamente de la platina por el dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático solo después de que se ha proporcionado la señal de que el envase de suspensión con la suspensión puede ser retirado de la estación de envases de tubo de suspensión para procesamiento adicional. Además, el controlador está, entonces, preferiblemente dispuesto para retirar automáticamente un envase de suspensión de la estación de envases de suspensión por el dispositivo de colocación y de retirada de envases de suspensión automático solo después de la señal de que el envase de suspensión con la suspensión preparada en su interior puede ser retirado de la estación de envases de suspensión.

La invención aún se refiere además a un método para depositar automáticamente una gota de a suspensión que contiene una muestra de una colonia de microorganismos sobre un punto de depósito de una placa diana para MALDI. En ciertas realizaciones, el sistema y método está configurado para usar la suspensión como una fuente para muestra para otro ensayo (por ejemplo, AST).

El aparato tiene una herramienta de pipeteo y un dispositivo de colocación con un soporte de herramienta de pipeteo para soportar la herramienta de pipeteo. El dispositivo de colocación está dispuesto para colocar la herramienta de pipeteo en una posición de partida por encima de un tubo de suspensión que porta la suspensión que contiene una muestra de una colonia de microorganismos. La herramienta de pipeteo hace descender y ascender automáticamente la herramienta de pipeteo dentro y fuera de la suspensión y coloca la herramienta de pipeteo en una posición de transferencia, respectivamente.

La herramienta de pipeteo recoge una cantidad de suspensión, hace ascender la herramienta de pipeteo con la cantidad de suspensión a la posición de transferencia. La herramienta de pipeteo tiene una cámara presurizable cerrada por una válvula controlada para contener la cantidad de medio de suspensión.

Se proporciona un soporte de placas diana que soporta la placa diana, teniendo la placa diana al menos un punto de depósito.

El aparato coloca la placa diana en el soporte de placas diana.

El aparato incluye un dispositivo de transferencia para transferir automáticamente la herramienta de pipeteo desde la posición de transferencia del dispositivo de colocación hasta una posición por encima de uno de los puntos de depósito

de la placa diana, y para hacer descender la herramienta de recogida (por ejemplo, una punta de pipeta) hasta una distancia predefinida por encima de la placa diana, presurizar la cámara (por ejemplo, una presión en un intervalo de aproximadamente 0,5 bares a 1,1 bares aunque tal cosa es a modo de ilustración y no de limitación), y abrir la válvula durante un tiempo tal que una gota de suspensión con un volumen en un intervalo de aproximadamente 0,5 µl a 3,0 µl se deposite sobre el uno de los puntos de depósito. Preferiblemente la forma de la herramienta de pipeteo es tal que el depósito de la gota de suspensión sobre la placa diana tiene lugar de forma libre de salpicaduras.

Los tubos de suspensión son movidos a continuación a una segunda ubicación. En la segunda ubicación, la turbidez de la suspensión se ajusta para un segundo ensayo (por ejemplo, AST). La segunda ubicación tiene un nefelómetro para determinar si la turbidez de la suspensión es adecuada para el segundo ensayo. La herramienta de pipeteo se usa a continuación para obtener suspensión adicional y usar esa suspensión para inocular un recipiente para otro ensayo (por ejemplo, AST).

En una realización, se describe un sistema automatizado para preparar una única suspensión de muestra de la que se retiran alícuotas para la identificación (ID) de microorganismos en la muestra y un segundo ensayo. En otras realizaciones, el sistema automatizado prepara una única suspensión de muestra de la que se retiran alícuotas para la identificación (ID) de microorganismos en la muestra y para la susceptibilidad a antibióticos (AST) de microorganismos. El sistema incluye al menos una primera sección para realizar un análisis de ID. La primera sección tiene un mecanismo que recibe un cultivo en placa mediante transporte automático o manualmente. El sistema incluye o está en comunicación con un aparato de formación de imágenes que inspecciona ópticamente la placa de cultivo y, a partir de esa imagen, se disciernen colonias de interés. En realizaciones alternativas, las imágenes se obtienen y las colonias ser seleccionan antes de que el cultivo en placa sea recibido por el sistema. El sistema incluye un mecanismo que identifica la ubicación de una colonia de interés sobre la placa y para designar la colonia de interés que se recogerá para ensayo. La primera sección incluye una herramienta de recogida robótica automatizada. El sistema también incluye un controlador que comunica con la herramienta de recogida robótica, dirigiendo la herramienta de recogida robótica para que adquiera una pipeta, y a continuación porte la pipeta a una ubicación por encima de la colonia de interés. La parte superior de la placa ha sido retirada para facilitar la recogida de la colonia. La herramienta de recogida robótica hace descender entonces la pipeta de tal modo que la punta esté en contacto con la colonia de interés.

Después de que la colonia ha sido recogida, el controlador indica a la herramienta de recogida robótica que transporte la muestra recogida hasta una primera estación de preparación de suspensiones de muestra. Opcionalmente, el sistema captura una nueva imagen de la placa después de que la colonia ha sido recogida para verificar que la recogida es de la ubicación correcta. La primera estación de suspensión de muestra tiene un dispensador de suspensión que dispensa el líquido de suspensión de muestra a un tubo o cubeta de suspensión u otro receptáculo adecuado. La primera estación de suspensión de muestra tiene un nefelómetro u otro aparato adecuado para medir la turbidez del líquido en el tubo o cubeta de suspensión. La herramienta de recogida robótica libera la muestra portada desde la placa de cultivo al líquido de suspensión. En algunas realizaciones, la herramienta de recogida robótica hace oscilar la herramienta de recogida para facilitar la liberación de la muestra en la suspensión. El nefelómetro mide la turbidez de la suspensión en donde el sistema automatizado, en respuesta a una medición de turbidez que está fuera de un valor de turbidez predeterminado, ajusta la suspensión para hacerla aceptablemente pesada (es decir turbia) para un análisis de ID.

La primera sección incluye además un primer pipeteador robótico. El primer pipeteador robótico obtiene una primera alícuota de la suspensión en la primera estación e inocula un receptáculo para su uso en el análisis de ID. El receptáculo (por ejemplo, una placa de MALDI) es retirado entonces del sistema y transportado a un aparato ara realizar MALDI. El receptáculo puede ser transportado mecánica o manualmente. El tubo o cubeta de suspensión es transportado a continuación a una ubicación en la primera sección en donde la porción restante de la suspensión se prepara para usarla en un segundo análisis (por ejemplo, un análisis de AST). El transporte es mediante medios automatizados usando una cinta transportadora.

La primera sección tiene un segundo nefelómetro en la segunda estación de suspensión de muestra para medir la turbidez de la suspensión. El primer pipeteador robótico está configurado además para ajustar la concentración de la muestra en el tubo o cubeta de suspensión a una concentración predeterminada para el segundo análisis y para obtener una segunda alícuota de la suspensión de muestra que tiene una concentración ajustada e inocular un tubo de muestra para el análisis de AST con la segunda alícuota de suspensión. Tales tubos de muestra se denominan comúnmente como tubos de caldo de AST.

El sistema opcionalmente tiene una segunda sección para preparar un panel para el análisis de AST. El sistema automatizado tiene un mecanismo automatizado para transportar el tubo de muestra inoculado desde la primera sección hasta la segunda sección. En una realización, se hace descender el tubo de muestra inoculado a través de una plataforma para la segunda estación de suspensión de muestra y es transportado debajo de la plataforma, emergiendo desde debajo de la plataforma en la segunda sección. La segunda sección tiene un segundo pipeteador robótico que obtiene una alícuota a partir del tubo de muestra inoculado e inocula el panel de AST con la alícuota obtenida. La segunda sección también tiene unos medios mediante los cuales almacenar, dispensar, manipular y

presionar tapas 99 (véase la figura 26) en agujeros para tapa en el panel inoculado. La segunda sección también tiene un robot que carga el panel inoculado en un aparato en el que se realiza AST, el aparato de AST configurado para tener dos puertas, recibiendo la primera puerta el panel desde el robot de carga de paneles. La segunda puerta es para la carga de forma manual de paneles inoculados por parte de un usuario. No se requiere que el aparato de AST esté ubicado en la segunda sección del sistema y puede ser adyacente a éste. La segunda sección tiene también un controlador que está conectado de forma comunicativa al instrumento de AST para solicitar, programar acceso a y apertura de la primera puerta del instrumento de AST.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La invención se explicará adicionalmente con referencia a las siguientes figuras.

La figura 1 es una vista frontal de un sistema según una realización de la presente descripción que incluye una carcasa del sistema.

La figura 2 es una vista esquemática de un esquema de componentes dentro de la carcasa del sistema de la figura 1 según una realización de la descripción.

La figura 3 es un diagrama de bloques de una arquitectura del sistema de la figura 1 según una realización de la presente descripción que incluye componentes ilustrativos adecuados para implementar las metodologías descritas en la presente memoria.

La figura 4A es una vista en perspectiva de una realización de un nefelómetro de cubeta única de bajo volumen. La figura 4B es una vista superior de sección del nefelómetro de cubeta única de bajo volumen de la figura 4A tomada a lo largo de un plano horizontal que se extiende a su través.

La figura 5A es una vista en perspectiva de una única cubeta según una realización de la presente descripción para uso con el nefelómetro de cubeta única de bajo volumen de la figura 4A.

La figura 5B es una vista en perspectiva de una única cubeta según otra realización de la presente descripción para uso con el nefelómetro de cubeta única de la figura 4A.

La figura 6 es un diagrama de flujo del proceso que ilustra una realización del proceso para preparar una muestra usando el nefelómetro de la figura 4A.

La figura 7A es una vista en perspectiva de un nefelómetro de cubeta continua según una realización de la presente descripción.

La figura 7B es una vista superior de sección del nefelómetro de cubeta continua de la figura 7A tomada a lo largo de un plano horizontal que se extiende a su través.

La figura 8 es una vista en perspectiva de una disposición/tira de múltiples cubetas de bajo volumen lineal según una realización de la presente descripción para uso con el nefelómetro de cubeta continua de la figura 7A.

La figura 9 es una vista en perspectiva, parcialmente transparente, de cubetas apiladas.

La figura 10 es una vista en perspectiva de un nefelómetro según otra realización de la presente descripción.

La figura 11 es una vista recortada del nefelómetro de la figura 10 que ilustra una trayectoria del detector de luz transmitida del mismo.

La figura 12 es una vista recortada adicional del nefelómetro de la figura 10 que ilustra la trayectoria del detector de luz transmitida de la figura 10 mientras que también ilustra una fuente óptica y un detector de luz transmitida.

La figura 13 es otra vista recortada del nefelómetro de la figura 10 que ilustra una trayectoria del detector de luz dispersada del mismo.

La figura 14 es un árbol de decisiones de preparación de muestras en donde la preparación de muestras se basa en la turbidez de la muestra medida.

La figura 15 ilustra una pipeta retirando una muestra mucoide a partir de una placa diana en donde comienza a formarse un hilo.

La figura 16 ilustra la placa diana de la figura 15 en donde la pipeta es alejada adicionalmente de una superficie de agar de la placa, extendiendo adicionalmente el hilo.

La figura 17A es un gráfico temporal que ilustra un cambio de capacidad a lo largo del tiempo cuando una pipeta recoge una muestra pero no se forma ningún hilo.

La figura 17B es un gráfico temporal que ilustra un cambio de capacidad a lo largo del tiempo cuando una pipeta recoge una muestra y se forma un hilo.

La figura 18 es un diagrama de flujo que ilustra un proceso automatizado según una realización de la presente invención

La figura 19 es un diagrama de flujo que compara la cronología del proceso automatizado de la figura 18 con la cronología de un proceso realizado manualmente comparable.

La figura 20 es una vista lateral esquemática del sistema de la figura 1 junto con un instrumento de transferencia de cartuchos y una pluralidad de instrumentos de análisis.

La figura 21 es un diagrama de un sistema ilustrativo para preparar, transferir y analizar automáticamente una muestra que incluye el sistema, instrumento de transferencia de cartuchos, e instrumentos de análisis de la figura 20 y que también incluye un cartucho de ensayo de microbiología ilustrativo y el controlador 30 de la figura 3.

La figura 22 es una vista en perspectiva posterior de un sujetador de cartuchos del instrumento de transferencia de cartuchos según una realización de la descripción a medida que acerca un cartucho a una estructura de

soporte de cartuchos.

La figura 23 es una vista en perspectiva lateral del sujetador de cartuchos de la figura 21 que hace hincapié en un acoplamiento pivotable entre una placa de sujeción y un brazo del instrumento de transferencia de cartuchos automatizado.

5 La figura 24 es una vista en perspectiva frontal del sujetador de cartuchos de la figura 21.

La figura 25 ilustra el cartucho de ensayo microbiológico ilustrativo de la figura 21.

La figura 26 ilustra una bandeja para almacenar temporalmente cartuchos.

La figura 27A es una vista en perspectiva frontal de uno de los instrumentos de análisis de la figura 20 que incluye una puerta manual.

10 Las figuras 27B-27D son diversas vistas posteriores del instrumento de análisis de la figura 27A que incluye una puerta automática de tal instrumento.

La figura 28A es un diagrama de componentes de instrumento de análisis ilustrativos que pueden estar controlados automáticamente por el controlador de la figura 3.

15 La figura 28B es un diagrama de componentes de instrumento de transferencia ilustrativos que pueden estar controlados automáticamente por el controlador de la figura 3.

La figura 28C es un diagrama que ilustra además la arquitectura ilustrativa del controlador de la figura 3.

La figura 29 es una vista esquemática de una estación de recogida según otra realización de la presente descripción.

20 La figura 30 es una vista esquemática de un esquema de componentes dentro de la carcasa del sistema de la figura 1 según otra realización de la presente descripción.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

25 Como se emplea en esta memoria, una "cubeta" y/o "micro-cubeta" y/o "cubeta de bajo volumen" y/o "LVC" y/o "recipiente de muestra" o "recipiente" es el envase adecuado para recibir una suspensión líquida. El envase está hecho preferiblemente de plástico o vidrio ópticamente transparente que está diseñado para contener una muestra de ensayo en un espacio y orientación específicos para ensayo o procesamiento.

30 Como se emplea en esta memoria, "algoritmos" son una o más instrucciones matemáticas que se usan para manipular valores de datos para tomar una decisión basándose en un valor matemático y a continuación producir un valor de datos corregido o más preciso representativo de la salida deseada.

35 Como se emplea en esta memoria, un "amplificador" es un circuito electrónico que se usa para tomar una señal electrónica original más pequeña y aumentar su amplitud para producir una nueva señal proporcionalmente más grande que es representativa de la señal original. Amplificadores adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica y no se describen en detalle en la presente memoria.

40 Como se emplea en esta memoria, un "convertidor de analógico a digital" o "convertidor A/D" es un dispositivo electrónico que es capaz de tomar una señal eléctrica variable y convertirla en un número que es representativo de la amplitud de la señal original.

45 Como se emplea en esta memoria, "dilución" significa una solución o suspensión producida añadiendo un diluyente líquido a una solución o suspensión concentrada dando como resultado una nueva suspensión o solución con una concentración uniforme de muestra en la solución o suspensión inferior a la original.

Como se emplea en esta memoria, "láser" o "diodo láser" es un dispositivo electrónico que produce un haz de luz concentrado y enfocado cuando se aplica una corriente eléctrica.

50 Como se emplea en esta memoria, "filtro de atenuación de luz" es un dispositivo que se coloca en una trayectoria de luz para absorber y reducir la cantidad de luz a medida que pasa a través del filtro, dando como resultado que la luz que se hizo pasar a través del filtro tenga proporcionalmente menos intensidad que la fuente de luz original.

55 Como se emplea en esta memoria, "diodo emisor de luz" o "LED" es un dispositivo electrónico que emite luz de un tipo y orientación específicos cuando se aplica una corriente eléctrica.

Como se emplea en esta memoria, "McFarland" es una unidad de medida de la cantidad de partículas sólidas dispersadas en un fluido o suspensión líquida.

60 Como se emplea en esta memoria, "nefelómetro" es un instrumento que es capaz de medir la cantidad de partículas sólidas en una suspensión. Como se emplea en esta memoria, "nefelometría" se refiere a un método mediante el cual puede medirse la cantidad de partículas suspendidas en una suspensión.

65 Como se emplea en esta memoria, "fotodiodo" y/o "detector" es un dispositivo electrónico usado para medir la intensidad de luz en un entorno dado.

Como se emplea en esta memoria, "saturado" y/o "saturación" es el punto en el que el detector ha alcanzado la cantidad máxima de señal de salida que es capaz de producir. Por ejemplo, añadir más luz al fotodetector pasada la saturación no produce ningún cambio adicional en la señal de salida del detector que ha alcanzado su máxima capacidad operativa.

5 Como se emplea en esta memoria, "suspensión" es una solución en la que los sólidos se distribuyen uniformemente en el líquido.

10 Como se emplea en esta memoria, "turbidez" es la medición de la cantidad de sólidos sospechados en una solución (es decir, opacidad de una muestra líquida).

15 En la presente memoria se describen métodos y sistemas para preparar una única suspensión a partir de una colonia de microorganismos que es la fuente para muestra para determinar tanto la ID como la susceptibilidad a antibióticos de la colonia de microorganismos seleccionada. Dado que la muestra usada para caracterizar e identificar microorganismos se obtiene normalmente de una placa de cultivo con una pluralidad de colonias desarrolladas en cultivo, es importante que una muestra se obtenga de una colonia de interés. Si se toman muestras de colonias no interesantes, el uso eficiente del tiempo y el instrumento de MALDI está comprometido. La presente invención contempla un proceso automatizado para identificar y seleccionar una colonia de interés entre una pluralidad de colonias presentes en la placa. El proceso de discriminar colonias puede estar al menos parcialmente automatizado proporcionando una placa de cultivo que comprende un número de colonias de microorganismos, obteniendo una imagen inicial de la placa de cultivo que incluye todas las colonias de microorganismos, visualizando la imagen inicial de la placa de cultivo que incluye todas las colonias de microorganismos en una pantalla, y seleccionando al menos una colonia de microorganismos a partir de la imagen inicial.

25 De esta forma un investigador o analista puede seleccionar colonias de interés basándose en formación y conocimiento. En una realización particular, la placa de cultivo está dotada de una identificación individual que identifica la placa de cultivo, tal como un código de barras, y el método comprende además la etapa de almacenar la imagen inicial de la placa de cultivo que incluye todas las colonias, almacenar información respecto a la al menos una colonia de microorganismos seleccionada, almacenar la identificación de la placa de cultivo en una memoria de un ordenador de control central. En una realización adicional, el investigador o analista puede introducir manualmente instrucciones de procesamiento respecto al procesamiento al que se someterá una colonia de microorganismos seleccionada de la placa de cultivo, estando las instrucciones de procesamiento almacenadas en la memoria del ordenador de control central para uso posterior.

35 En una realización, las colonias en la placa se someten a formación de imágenes según los métodos descritos en la solicitud de patente provisional n.º 62/151.681 presentada el 23 de abril de 2015 titulada "*Colony Contrast Gathering*" y también presentada como la PCT/US2016/028913 y también la PCT/EP2015/052017 titulada "*A System and Method for Image Acquisition Using Supervised High Quality Imaging*". El contraste de las diferentes colonias contra el medio de cultivo proporciona la capacidad de discriminar colonias para facilitar una recogida de colonias automatizada. Como se menciona en otra parte, la imagen del cultivo en placas puede obtenerse en un aparato independiente antes de ser recibida por el sistema descrito en la presente memoria o el sistema en la presente memoria puede estar integrado con un módulo en el que pueden obtenerse tales imágenes.

45 Después de que se obtiene la imagen inicial de la placa de cultivo, la placa de cultivo se incuba durante un período de tiempo para permitir que los microorganismos en la placa, si están presentes, crezcan. En una realización adicional de la invención, el método comprende las etapas automatizadas de colocar la placa de cultivo sobre una platina para una placa de cultivo, obtener una imagen de la placa de cultivo colocada en la platina, obtener la identificación de la placa de cultivo, comparar la imagen obtenida por el dispositivo de formación de imágenes del dispositivo de herramienta de recogida con la imagen inicial almacenada de la placa de cultivo para obtener información respecto a la ubicación de la colonia de microorganismos seleccionada y opcionalmente para obtener las instrucciones de procesamiento respecto a los procesos a realizar en la colonia de microorganismos seleccionada. Comparando la imagen de la placa de cultivo cuando está colocada en el dispositivo de herramienta de recogida con la imagen inicial, la ubicación de las colonias seleccionadas puede obtenerse automáticamente, por ejemplo, mediante comparación de imágenes por ordenador.

55 En otra realización, pueden usarse marcas de referencia en la superficie del agar o en la placa de cultivo para reubicar colonias. Estas marcas de referencia pueden incluirse en la placa durante la fabricación, o ser aplicadas por el usuario o por crecimiento orgánico o incorporarse en la superficie de la placa o del agar mediante cualquier medio adecuado. Usando un aparato de visión automático, se detecta otro punto de referencia tal como el centro de la placa a partir del cual pueden determinarse coordenadas de la placa. Un código de barras es un ejemplo de una referencia. La ubicación de colonias en la placa puede determinarse en referencia con su distancia relativa desde el centro y el desplazamiento angular respecto al desplazamiento nulo del código de barras. Una vez que la ubicación relativa de la colonia es determinada cuando la placa puede moverse a otro sistema en donde se realizan las dos etapas siguientes. La placa es centrada, por ejemplo, mediante medios mecánicos. El desplazamiento nulo del código de barras es detectado, por ejemplo, rotando la placa que tiene un sensor fijo para detectar la presencia de la etiqueta del código de barras y

leyendo el código de barras con un lector de código de barras. En este punto, se conoce el centro de la placa y se conoce el desplazamiento nulo del código de barras y, por lo tanto, la ubicación de las colonias referenciadas previamente puede calcularse fácilmente a medida que se almacenan como distancia hasta el centro de la placa y desplazamiento angular hasta la etiqueta del código de barras. El método, como se describe en el presente documento, no necesita una cámara o sistema de visión por ordenador en el segundo sistema (sistema de recogida de colonias en este ejemplo), o cualquier otro sistema en donde se requiera la información de posición de la colonia. El desplazamiento nulo usado en este ejemplo es respecto a la etiqueta del código de barras pero podría ser respecto a cualquier característica de referencia única de la placa o aplicada a la placa, como se indicó anteriormente.

Un método y aparato automatizados para recoger microorganismos de la superficie de un medio de cultivo se describen en la publicación de patente de EE. UU. n.º 2014/0242570 (n.º de serie de EE. UU. 14/347.841) titulada "*Method For Picking Up Cell Material And Assembly For Performing Said Method*", de Botma y col.

Como se describe en el documento de Botma y col., en una realización ventajosa, el método incluye además las etapas de retirar la herramienta de recogida una distancia predeterminada lejos de la posición de contacto hacia una posición de revisión y mantener dicha herramienta de recogida en dicha posición de revisión y de medir la capacidad eléctrica del sistema compuesto por la herramienta de recogida y el soporte en la posición de revisión. En algunos casos, el material de muestra a recoger es muy pegajoso o limoso. Cuando la herramienta de recogida, después de establecer contacto con tal material de muestra, es retirada lejos de la muestra un fino hilo puede permanecer en contacto entre la herramienta de recogida y el material de muestra que permanece en la placa de cultivo. Este fino hilo puede romperse y posiblemente contaminar el dispositivo de herramienta de recogida. Midiendo la capacidad eléctrica de la herramienta de recogida y el soporte de herramienta de recogida en la posición de revisión, que puede estar, por ejemplo, varios milímetros por encima de la placa de cultivo, es posible detectar la presencia de un hilo de este tipo, de tal modo que se puedan tomar medidas apropiadas. En aquellas realizaciones en las que se proporciona un soporte de herramienta de recogida para soportar de forma amovible una herramienta de recogida, estando el soporte de herramienta de recogida adaptado para sujetar y liberar una herramienta de recogida, puede implementarse una respuesta automatizada para la detección de un hilo restante. Por ejemplo, la herramienta de recogida puede liberarse del soporte de herramienta de recogida si la capacidad eléctrica medida en la posición de revisión difiere de la capacidad eléctrica de partida en la posición de partida, de tal modo que la herramienta de recogida caiga al interior de la placa de cultivo, después de lo cual la placa de cultivo puede ser desechada. Estas etapas pueden realizarse fácilmente de forma automatizada, de tal modo que no es necesaria ninguna intervención humana que requiera tiempo para desechar la herramienta de recogida y la placa de cultivo.

En una realización, se usa una punta de pipeta para recoger la colonia de la superficie del medio de cultivo (por ejemplo, agar) sobre la que está dispuesta la colonia. La pipeta puede aspirar la colonia al interior de la punta usando succión en una realización. En otras realizaciones, no se usa succión para aspirar la colonia al interior de la punta de pipeta y solo fuerzas de contacto entre la colonia y la punta de pipeta empujan la colonia al interior de la punta de pipeta.

En aún una realización adicional de un método según la invención, el método comprende la etapa de preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos. En tal método se realizan las siguientes etapas.

Se proporciona una primera herramienta de recogida junto con un dispositivo de colocación con un soporte de herramienta de recogida para soportar una herramienta de recogida (por ejemplo, la herramienta de recogida de punta de pipeta descrita anteriormente). El dispositivo de colocación está dispuesto para colocar una herramienta de recogida en una posición de partida por encima de la ubicación obtenida de la colonia de microorganismos seleccionada en la placa de cultivo. El dispositivo de colocación hace descender y ascender automáticamente una herramienta de recogida hacia y lejos de la placa de cultivo y coloca la herramienta de recogida en una posición de transferencia, respectivamente.

La primera herramienta de recogida es colocada en el soporte de herramienta de recogida del dispositivo de colocación. La herramienta de recogida es colocada a continuación en la posición de partida por encima de la ubicación obtenida de la colonia de microorganismos seleccionada en la placa de cultivo. A continuación, se hace descender automáticamente la herramienta de recogida para contactar con la colonia de microorganismo para recoger una muestra del microorganismo. A continuación, se hace ascender automáticamente la herramienta de recogida junto con la muestra recogida del microorganismo lejos de la placa de cultivo hasta la posición de transferencia.

Se proporciona un soporte de tubos de suspensión que soporta al menos un tubo de suspensión. El tubo de suspensión se coloca en el soporte de tubos de suspensión. Aunque denominado un tubo de suspensión en la presente memoria, el recipiente para la suspensión puede ser un tubo, vial, cubeta u otro recipiente para contener la solución de suspensión.

Se proporciona un dispensador de medio de suspensión automático para dispensar automáticamente un medio de suspensión en un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión. El dispensador automático suministra automáticamente una cantidad inicial de medio de suspensión al interior del tubo de suspensión soportado

5 en el soporte de tubos de suspensión. Un dispositivo de transferencia, que puede ser independiente del dispositivo de colocación o como parte del dispositivo de colocación, también se proporciona para transferir automáticamente una herramienta de recogida (que ya ha recogido una muestra) a una posición por encima de un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión. El dispositivo de transferencia hace descender y ascender la herramienta de recogida (y la muestra portada por la herramienta de recogida) al interior y lejos de un medio de suspensión contenido en un tubo de suspensión. El dispositivo de transferencia también coloca la herramienta de recogida en una posición de espera por encima del tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión, respectivamente.

10 El dispositivo de transferencia hace oscilar la primera herramienta de recogida en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo mientras que la primera herramienta de recogida con la muestra del microorganismo se sumerge en el medio de suspensión para liberar la muestra al medio de suspensión y mezclar la suspensión. Después de que el período de tiempo ha transcurrido se hace ascender a la primera herramienta de recogida lejos del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión hasta la posición de espera. Como alternativa, en lugar de oscilación para liberar la muestra de microorganismo, puede utilizarse aspiración repetida con una herramienta de recogida de punta de pipeta mientras está parcialmente sumergida en el medio de suspensión para efectuar liberación del microorganismo y mezcla de la suspensión.

15 En el método automatizado, se proporciona un turbidímetro que mide la turbidez de un medio de suspensión contenido en un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión. En una realización, ese turbidímetro es como se describe en la solicitud de patente provisional de EE. UU. n.º de serie 62/056.911 presentada el 29 de septiembre de 2014 y PCT/IB2015/00272 (publicada como WO2016/051267).

20 Después de que el período de tiempo durante el cual se hace oscilar a la herramienta de recogida ha transcurrido, la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión es medida por el turbidímetro y se proporciona un valor de medición final indicativo de la turbidez medida.

25 En realizaciones adicionales, se proporciona un controlador que está conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación, el dispositivo de transferencia, el dispensador de medio de suspensión automático y el turbidímetro. Tal controlador controla automáticamente el movimiento del dispositivo de colocación, el movimiento del dispositivo de transferencia, el funcionamiento del dispensador de medio de suspensión automático y el funcionamiento del turbidímetro, respectivamente.

30 Con referencia a la figura 6, en una realización, el controlador determina si el valor de medición de turbidez final está por encima de un primer valor umbral (un valor máximo) almacenado previamente en una memoria del controlador. En caso afirmativo, entonces se realiza la etapa b) (dilución descrita a continuación). Si la medición de turbidez final es idéntica a o está por debajo del primer valor umbral y en o por encima de un segundo valor umbral almacenado previamente en la memoria del controlador, en donde el primer valor umbral es igual a o mayor que el segundo valor umbral, entonces se realiza la etapa c) (turbidez aceptable descrita a continuación). Si el valor de medición final está por debajo del segundo valor umbral, entonces se realiza la etapa d) (aumentar la turbidez descrita a continuación).

35 En la etapa b) el dispensador de medio de suspensión automático está controlado automáticamente para suministrar una cantidad adicional de medio de suspensión al tubo de suspensión. En la etapa c) se proporciona una señal de que el tubo de suspensión con la suspensión es retirado del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional.

40 Según la etapa d) se obtiene una herramienta de recogida adicional y se coloca en el soporte de herramienta de recogida del dispositivo de colocación como se ha descrito anteriormente. El dispositivo de colocación coloca la herramienta de recogida adicional en la posición de partida por encima de la placa de cultivo, hace descender automáticamente la herramienta de recogida adicional hacia la placa de cultivo hasta hacer contacto con el microorganismo para recoger una muestra adicional del microorganismo, hace ascender automáticamente la herramienta de recogida adicional con la muestra del microorganismo lejos de la placa de cultivo a la posición de transferencia, todo como se describe para la primera recogida. Aunque la herramienta de recogida descrita en la presente memoria es una pipeta, otras herramientas de recogida adecuadas se describen en la solicitud provisional de EE. UU. n.º 62/144.574 presentada el 8 de abril de 2015 titulada "*Device And Apparatus For Collecting Microbial Growth From A Semi-Solid Surface*", y el documento PCT/US2016/026625 presentado el 8 de abril de 2016.

45 El dispositivo de transferencia transfiere automáticamente la herramienta de recogida adicional con la muestra adicional del microorganismo desde la posición de transferencia del dispositivo de colocación hasta una posición por encima del tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión, y hace descender la herramienta de recogida adicional con la muestra adicional del microorganismo al interior del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión y hace oscilar la herramienta de recogida adicional en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo mientras que la herramienta de recogida adicional con la muestra adicional del microorganismo se sumerge en el medio de suspensión. Después de que el período de tiempo ha transcurrido, se hace ascender a la herramienta de recogida lejos del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión hasta la posición de espera. Después de que el período de tiempo durante el cual se hace oscilar a la herramienta de recogida adicional

50

55

60

65

ha transcurrido, la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión es medida por el turbidímetro y se proporciona un valor de medición final adicional indicativo de la turbidez medida.

5 Después de que la muestra ha sido adquirida, en otra realización más, el sistema de pipeteo puede realizar una serie de rápidas aspiraciones y dispensaciones de la punta de pipeta en la suspensión líquida. Por ejemplo, el sistema de pipeteo puede repetir la serie de retiradas hasta aproximadamente 24 veces dentro de un período de 20 segundos y dispensar aproximadamente 250 µl de una muestra de 300 µl. La acción repetitiva crea fuerzas de cizallamiento elevadas en la punta de la pipeta. Las fuerzas de cizalla elevadas permiten la dispersión de aglomeraciones o hebras mucoides de la muestra que contiene microorganismos para crear una suspensión más uniforme.

10 De esta forma, es posible preparar una suspensión de una muestra de un microorganismo de una forma automática avanzada mientras que, por medio del controlador y el turbidímetro es posible proporcionar un tubo de suspensión que contiene unos medios de suspensión que contienen una cantidad de microorganismo que es siempre suficiente (y reproducible) para realizar un análisis correcto del microorganismo.

15 En una realización adicional de un método para preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos según la invención, el controlador está dispuesto de tal modo que la etapa de medir la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión por el turbidímetro se realice adicionalmente durante el período de tiempo durante el cual se hace oscilar a la herramienta de recogida, en donde el turbidímetro está dispuesto para proporcionar un valor de medición en línea indicativa de la turbidez medida durante el período de tiempo durante el cual se hace oscilar a la herramienta de recogida hasta el controlador. De esta forma, puede obtenerse una determinación automática extremadamente rápida de la cantidad de microorganismo en la suspensión. En particular, si durante la oscilación, el valor de medición en línea de la turbidez es igual a o menor que el primer valor umbral e igual a o mayor que el segundo valor umbral el controlador controla el movimiento del dispositivo de transferencia, de tal modo que se hace ascender a la herramienta de recogida hasta la posición de espera, y el controlador proporciona además una señal de que el tubo de suspensión con la suspensión puede retirarse del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional. De esta forma la oscilación de la herramienta de recogida se detiene cuando el medio de suspensión contiene una cantidad suficiente de microorganismos, de tal modo que el método pueda realizarse de una forma extremadamente eficiente en cuanto al tiempo.

20 La disposición mutua de la herramienta de recogida y los sensores del turbidímetro es tal que, durante la oscilación de la herramienta de recogida, la herramienta de recogida no obstruye la trayectoria del turbidímetro.

25 En una realización adicional de un método para preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos según una realización en la presente memoria, el controlador está dispuesto para controlar el turbidímetro, de tal modo que la etapa de medición de la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión por el turbidímetro comience antes de que la herramienta de recogida se sumerja en el medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión. De esta forma es posible, por ejemplo, comprobar si el medio de suspensión inicial usado no está contaminado. Además, esto proporciona una indicación del valor de partida para la turbidez que es útil para determinar el valor de medición final.

30 En aún una realización preferida de un método para preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos, el método comprende además la etapa de proporcionar un soporte de tubos de suspensión para soportar un tubo de suspensión. El soporte de tubos de suspensión puede estar adaptado para rotar un tubo de suspensión soportado en el soporte de tubos de suspensión rotatorio. En realizaciones adicionales, el controlador está dispuesto de tal modo que esté conectado de forma comunicativa al soporte de tubos de suspensión rotatorio para controlar la rotación del soporte de tubos de suspensión. El controlador está dispuesto además de tal modo que el tubo de suspensión se rote durante la medición de la turbidez del medio de suspensión contenido en el tubo de suspensión. Una rotación de este tipo del tubo de suspensión permite mediciones de turbidez en una serie de posiciones dentro del tubo de suspensión que están separadas rotacionalmente entre sí, conduciendo a una medición final más correcta de la turbidez de la suspensión. En este sentido, la rotación no es necesaria para liberar la muestra de la herramienta de recogida. La oscilación de la herramienta de recogida como se ha descrito anteriormente es más que suficiente para liberar la muestra.

35 Aunque puede usarse una herramienta de recogida adicional que es diferente de la primera herramienta de recogida, el método puede realizarse de forma económica cuando, en la etapa d), la primera herramienta de recogida se proporciona como herramienta de recogida adicional; y la colocación de la herramienta de recogida adicional en el soporte de herramienta de recogida del dispositivo de colocación es realizada por el dispositivo de transferencia bajo el control del controlador.

40 En aún una realización preferida de un método para preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos según la invención, la cantidad adicional de medio de suspensión es determinada por el controlador basándose en la cantidad inicial de medio de suspensión, el valor de medición final y el valor del primer y/o segundo

valor umbral. Esto hace posible controlar cuidadosamente la cantidad de medio de suspensión que se usa. En este sentido, se conserva medio de suspensión.

5 Dado que, en algunas realizaciones, se hace oscilar a la herramienta de recogida en un movimiento lineal vertical con respecto al tubo de suspensión, la sección transversal horizontal del tubo de suspensión puede ser relativamente pequeña. Esto hace posible usar volúmenes de suspensión más pequeños. En una realización, el controlador hace que una cantidad inicial de aproximadamente 0,1 ml 5 ml de líquido de suspensión sea dispensada, y preferiblemente menos de aproximadamente 1 ml (aproximadamente 300 µl en un ejemplo). En otras realizaciones, el volumen de líquido de suspensión es de aproximadamente 0,5 ml a aproximadamente 2 ml. En una realización, el volumen dispensado es de 300 µl. Una cantidad relativamente pequeña de este tipo de medio de suspensión es suficiente para preparar una suspensión correcta de una muestra de microorganismos.

15 En un método de este tipo para preparación automática de una suspensión de una muestra de microorganismos, es posible usar como recipiente de suspensión un tubo, un vial o una cubeta que tiene una dimensión de sección transversal máxima de aproximadamente 2 a aproximadamente 12 mm, preferiblemente aproximadamente 3 mm, que es relativamente pequeña cuando se compara con los tubos de suspensión tradicionales que tienen un diámetro de aproximadamente 16 mm. El tubo puede tener una sección transversal cuadrada, rectangular o redonda y la forma de la cubeta real es, en gran medida, una cuestión de elección del diseño. En una realización, el tubo es circular con un diámetro de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 mm. En una realización ventajosa, el diámetro es de aproximadamente 10 mm. Con un tubo de suspensión relativamente pequeño de este tipo, se obtiene una correcta liberación de la muestra de la herramienta de recogida cuando el controlador está dispuesto para controlar la oscilación del dispositivo de transferencia de tal modo que la herramienta de recogida oscile a una frecuencia entre aproximadamente 5 Hz y aproximadamente 250 Hz. La selección de frecuencias dentro de este intervalo es, en gran medida una cuestión de elección del diseño y dependerá de los constituyentes de la suspensión que se está formando.

20 Para suspensiones que están formadas por muestra y solución que se entremezclan fácilmente, frecuencias de 5-12 HZ pueden ser adecuadas. Para constituyentes que no forman una suspensión tan fácilmente, puede requerirse una frecuencia de aproximadamente 100 HZ o superior. Preferiblemente, el controlador está dispuesto para controlar la oscilación del dispositivo de transferencia de tal modo que la herramienta de recogida oscile con una amplitud de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 4 mm, preferiblemente de aproximadamente 2 mm a aproximadamente 3 mm y lo más preferiblemente de aproximadamente 1 mm, lo que da como resultado una liberación óptima de la muestra de la herramienta de recogida. En realizaciones en donde el controlador está dispuesto para controlar la oscilación del dispositivo de transferencia, de tal modo que el período de tiempo durante el cual oscila la herramienta de recogida es de aproximadamente 3 segundos a aproximadamente 120 segundos, preferiblemente de aproximadamente 30-60 segundo, la muestra completa puede ser liberada a partir de la herramienta de recogida en virtualmente todos los casos. Para eficiencia y rendimiento es ventajoso que la oscilación se requiera durante solo aproximadamente 3 a 10 segundos con 6 segundos siendo aproximadamente el tiempo de oscilación mínimo promedio.

40 Los valores para la frecuencia, amplitud y duración dependen de las propiedades del microorganismo específico y, por ejemplo, su adherencia a la herramienta de recogida. En una realización, puede usarse inspección por formación de imágenes para deducir si la muestra ha sido o no al menos en su mayor parte, liberada de la herramienta de recogida usando en primer lugar los valores preferidos mencionados anteriormente. Si hay aún cierto material que queda en la herramienta de recogida, entonces la oscilación vertical se repite dentro de los intervalos dados a diferentes valores.

45 El método automatizado para preparar una suspensión de una muestra de microorganismos incluye adicionalmente proporcionar un dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático para colocar y retirar automáticamente una placa de cultivo de la platina. El controlador está conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático para controlar el funcionamiento del dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático. De esta forma, la colocación de una placa de cultivo (que porta los microorganismos diana) sobre la platina puede realizarse automáticamente bajo el control del controlador. En otras realizaciones, se proporciona un dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático que coloca y retira automáticamente tubos de suspensión en y del soporte de tubos de suspensión, respectivamente. El controlador está conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático para controlar el funcionamiento del dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático, de tal modo que la colocación de un tubo de suspensión en el soporte de tubos de suspensión puede realizarse automáticamente bajo el control del controlador. Ventajosamente, el controlador se dispone a continuación de tal modo que se permite que una placa de cultivo sea retirada automáticamente de la platina por el dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático solo después de que se ha proporcionado la señal de que el tubo de suspensión con la suspensión puede retirarse del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional. En otras realizaciones adicionales más, el controlador está dispuesto de tal modo que un soporte de tubos de suspensión es retirado automáticamente del soporte de tubos de suspensión por el dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático solo después de que se proporciona la señal de que el tubo de suspensión con la suspensión puede ser retirado del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional.

En aún una realización adicional de un método según la invención, una marca de identificación está provista en el tubo de suspensión. Según el método, la marca de identificación del tubo de suspensión se almacena junto con las propiedades de la suspensión con un enlace con la identidad de la placa de cultivo a partir de la cual se obtuvo la colonia de microorganismos seleccionada, en la memoria del ordenador de control central. Esto garantiza que el método no solo puede manejarse automáticamente de forma extremadamente eficiente, sino también un procesamiento rápido y correcto de los resultados de análisis obtenidos.

En una realización adicional del método descrito en la presente memoria, se proporciona una herramienta de pipeteo (por separado o el dispositivo de herramienta de recogida está adaptado para recibir y usar pipetas) para depositar una alícuota (o múltiples alícuotas) de suspensión sobre una placa de MALDI y también depositar una alícuota de suspensión para otro análisis aguas abajo (por ejemplo, AST). Un dispositivo de colocación está dotado de un soporte de herramienta de pipeteo para soportar la herramienta de pipeteo. El dispositivo de colocación está dispuesto para colocar la herramienta de pipeteo en una posición de partida por encima del tubo de suspensión. El dispositivo de colocación hace descender y ascender automáticamente la herramienta de pipeteo dentro y fuera de la suspensión y para colocar la herramienta de pipeteo en una posición de transferencia, respectivamente. La herramienta de pipeteo es recibida por el soporte de herramienta de pipeteo del dispositivo de colocación. El dispositivo de colocación coloca la herramienta de pipeteo en la posición de partida por encima del tubo de suspensión, hace descender la herramienta de pipeteo al interior de la suspensión en el tubo de suspensión, hace funcionar la herramienta de pipeteo para recoger una cantidad de suspensión, y hace ascender la herramienta de pipeteo con la cantidad de suspensión a la posición de transferencia. La herramienta de pipeteo tiene una cámara presurizable cerrada por una válvula controlada para contener la cantidad de medio de suspensión.

El método proporciona un soporte de placas diana para soportar una placa diana, teniendo la placa diana al menos un punto de depósito. La placa diana se coloca en el soporte de placas diana. Se proporciona un dispositivo de transferencia que transfiere automáticamente la herramienta de pipeteo desde la posición de transferencia del dispositivo de colocación hasta una posición por encima de uno de los puntos de depósito de la placa diana, y hace descender la herramienta de pipeteo hasta una distancia predefinida por encima de la placa diana. La cámara está presurizada a una presión en un intervalo de aproximadamente 0,5 bares a 1,1 bares, y la válvula se abre a continuación durante un tiempo tal que una gota de suspensión con un volumen en un intervalo de aproximadamente 0,5 a 3,0 μ l se deposite sobre el punto de depósito, en particular cubriendo como máximo aproximadamente la mitad de uno de los puntos de depósito de la placa diana. Después de lo cual se hace ascender a la herramienta de pipeteo a partir de la placa diana. Dependiendo de las propiedades del microorganismo específico, por ejemplo, su pegajosidad, la presión y el tiempo de apertura pueden ajustarse para obtener una pequeña gota de suspensión que puede prepararse de forma reproducible y que, como resultado del proceso automatizado, puede depositarse de forma precisa sobre la placa diana.

La herramienta de pipeteo se usa para obtener más suspensión de la forma descrita anteriormente. La herramienta de pipeteo se usa a continuación para dispensar la suspensión en un recipiente para otro análisis (por ejemplo, un recipiente adecuado para realizar un ensayo de susceptibilidad a antibióticos (AST)).

Para evitar contaminación cruzada en una realización preferida de un método según la invención, la forma de la herramienta de pipeteo, en particular la punta de dispensación de la misma, es tal que el depósito de la gota de suspensión sobre la placa diana u otro recipiente tiene lugar de forma libre de salpicaduras. Se ha visto que, dependiendo del tipo de microorganismo usado, y especialmente la pegajosidad del mismo, además de seleccionar una presión correcta en el intervalo mencionado anteriormente y un tiempo de apertura de la válvula en el intervalo mencionado anteriormente, una forma adecuada de la herramienta de pipeteo garantiza que una gota de suspensión pueda depositarse de forma libre de salpicaduras.

En una realización adicional de un método, se proporciona una marca de identificación en la placa diana y otro u otros recipientes para análisis de muestras (por ejemplo, AST) y proporcionar opcionalmente una marca de identificación en los puntos de depósito de la placa diana. Según el método, la marca de identificación de la placa diana y los puntos de depósito se almacena junto con las propiedades de la suspensión con un enlace a la identidad de la placa de cultivo a partir de la cual se obtuvo la colonia de microorganismos seleccionada, todos almacenados en la memoria del ordenador de control central. El método no solo puede hacerse funcionar automáticamente de forma extremadamente eficiente sino que también se consigue el procesamiento correcto y rápido de los resultados de análisis obtenidos.

En una realización incluso adicional del método, un recipiente preparado, tal como un recipiente que ayuda a la realización de un análisis adicional tal como AST, puede moverse desde una ubicación en la que el tubo es inoculado con la suspensión de microorganismo y otros reactivos apropiados a una segunda ubicación en donde un pipeteador adicional pipetea las mezclas desde el recipiente e inocular un cartucho usado para análisis. Tal cartucho puede ser colocado además, después de la inoculación, por un robot, en una estructura de soporte que soporta el cartucho hasta que es recuperado por un instrumento de transferencia de cartuchos. Cuando está disponible, el instrumento de transferencia de cartuchos recoge o sujeta el cartucho de la estructura de soporte y transfiere el cartucho a otra estructura de soporte ubicada dentro de un instrumento de análisis, tal como un instrumento de análisis de AST.

La espectrometría de masas, como se pone en práctica mediante MALDI o MALDI-TOF-MS, se usa para identificar microorganismos. En una operación de MALDI-TOF-MS, una muestra de una colonia de microorganismos se coloca o se deposita sobre una placa diana que se mantiene en una posición fija en un instrumento de MALDI. Una placa diana de este tipo normalmente tiene una pluralidad de puntos de depósito (por ejemplo, de 24 a 384 puntos de depósito en una única placa diana). Estos puntos de depósito tienen una orientación fija con respecto a los bordes de la placa diana. La placa diana se coloca sobre una platina X-Y de tal modo que una muestra obtenida de una colonia de microorganismos pueda depositarse sobre un punto de depósito seleccionado. La ubicación en donde una muestra específica ha sido depositada se indica mediante coordenadas/parámetros X-Y y se almacena en una memoria de un ordenador de control central.

Aunque no representada en detalle en la figura 2, se ilustra una placa diana 42 como colocada por debajo de una pista de transferencia 18 en una posición indicada por B. Una muestra puede ser transferida a lo largo de la pista de transferencia 18 desde una placa de cultivo 3 y/o un tubo de suspensión 11 hasta por encima de la placa diana en la posición B, en donde se hace descender a la muestra para depositarla sobre un punto de depósito de la placa diana. Se contemplan otros mecanismos de transferencia diferentes de los ilustrados en la figura 1. Por ejemplo, pueden desplegarse mecanismos de transferencia montados en plataforma.

La invención se describirá en detalle a continuación con referencia a la preparación de una suspensión que contiene una muestra y el depósito de la suspensión sobre un punto de depósito de una placa diana. En general, una colonia de microorganismos es ubicada y detectada automáticamente en una placa de cultivo. Una muestra de la colonia de microorganismos seleccionada se obtiene de forma automatizada, por ejemplo, mediante una herramienta de recogida que es puesta en contacto en contacto con la colonia.

Cuando se realiza caracterización e identificación de microorganismos, normalmente se desarrolla una pluralidad de colonias en una placa de cultivo. Además, una pluralidad de placas de cultivo diferentes se procesan a través del aparato. En este sentido, la invención proporciona la capacidad de identificar cada placa de cultivo por separado, por ejemplo, por medio de un código de barras, y además cada colonia de interés en una única placa de cultivo se selecciona y se le da una marca de identificación. A este fin, antes de la etapa automatizada de ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos en una placa de cultivo, se proporciona una placa de cultivo que se ha determinado que contiene un número de colonias de microorganismos. Se obtiene una imagen inicial de la placa de cultivo. La imagen incluye todas las colonias de microorganismos. El aparato, o un dispositivo que funciona en comunicación con el aparato, presenta la imagen inicial de la placa de cultivo, que incluye todas las colonias de microorganismos en una pantalla, y selecciona al menos una colonia de microorganismos en la imagen inicial. De esta forma, un investigador o analista puede seleccionar colonias de interés basándose en formación y conocimiento exhaustivos. En una realización, la información de formación de imágenes se procesa y se identifican colonias para su recogida basándose en las especificaciones. Dado que cada placa de cultivo está dotada de una identificación individual que identifica la placa de cultivo, tal como un código de barras, la imagen inicial de la placa de cultivo que incluye todas las colonias es almacenada, e información respecto a la al menos una colonia de microorganismos diana seleccionada es almacenada (preferiblemente con enlaces dados en la imagen inicial (electrónica)). Toda la información e identificaciones de la placa de cultivo son almacenadas en una memoria de un ordenador de control central que permite un alto grado de precisión e integridad de procesamiento.

De esta forma, el único funcionamiento manual potencial en el método y aparato descrito en la presente memoria en el acto de seleccionar las colonias de interés. Todos los datos relativos a la muestra son procesados de forma automatizada. Opcionalmente, el investigador o analista puede introducir manualmente instrucciones de procesamiento respecto al procesamiento al que se someterá una colonia de microorganismos seleccionada de la placa de cultivo. Las instrucciones de procesamiento también están almacenadas en la memoria del ordenador de control central para uso posterior. Después de este acto manual, todas las etapas adicionales realizadas son automatizadas de forma fiable y eficiente.

Para este procesamiento adicional automatizado, la placa de cultivo se coloca automáticamente sobre una platina para una placa de cultivo de un dispositivo de herramienta de recogida que comprende un dispositivo de formación de imágenes. Se obtiene una imagen de la placa de cultivo colocada en el dispositivo de herramienta de recogida y, junto con la identificación de la placa de cultivo, es posible comparar esta imagen obtenida por el dispositivo de formación de imágenes del dispositivo de herramienta de recogida con la imagen inicial almacenada de la placa de cultivo y, de este modo, derivar información respecto a la ubicación de la colonia de microorganismos seleccionada y opcionalmente respecto a las instrucciones de procesamiento respecto a los procesos a realizar en la colonia de microorganismos seleccionada. Comparando la imagen de la placa de cultivo cuando está colocada en el dispositivo de herramienta de recogida con la imagen inicial, la ubicación de las colonias seleccionadas puede obtenerse automáticamente, por ejemplo, mediante comparación de imágenes por ordenador. Además, cada placa diana está dotada de una marca de identificación y opcionalmente cada punto de depósito de la placa diana tiene una marca de identificación o identificador de ubicación individual. El recipiente usando para AST también porta una marca de identificación para asociar los resultados con la muestra correcta. Después de almacenar la marca de identificación de la placa diana y los puntos de depósito junto con las propiedades de la suspensión con un enlace a la identidad de la placa de cultivo a partir de la cual se obtuvo la colonia de microorganismos seleccionada en la memoria del

ordenador de control central es posible un correcto enlazado de los resultados de MALDI/AST obtenidos para la colonia de microorganismo específica que está siendo analizada de forma correcta y automatizada.

Se ha descubierto que, entonces cuando la muestra cubre como máximo aproximadamente la mitad de uno de los puntos de depósito de la placa diana, los resultados del análisis obtenidos del instrumento de MALDI de la parte del punto de depósito que inicialmente no estaba cubierta con la muestra son, sorprendentemente, extremadamente más precisos que los resultados del análisis obtenidos del instrumento de MALDI de la parte del punto de depósito que inicialmente estaba cubierta con la muestra. Se supone que la cristalización que tiene lugar después de que una gota de material de la matriz se ha sobrepuesto sobre la muestra que cubre parte del punto de depósito garantiza que también la parte del punto de depósito que no estaba cubierta contiene una cantidad de material de muestra, y que esta cantidad es extremadamente adecuada para proporcionar resultados del análisis excelentes. Los procesos físicos y químicos que son la causa para este efecto son, en este momento, poco claras, pero quizás pueda surgir más claridad cuando se conozcan los procesos fundamentales que subyacen en MALDI.

15 SISTEMA Y MÉTODO DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS

A continuación, se describirá una realización de un método de la invención, en la que se prepara una suspensión a partir de una muestra de una colonia de microorganismos recogida a partir de una placa de cultivo junto con una realización de un sistema de preparación de muestras 1000 para realizar un método de este tipo.

La figura 1 representa el sistema 1000 para realizar los métodos descritos en la presente memoria. El sistema 1000 incluye una carcasa 1005 que proporciona un entorno para poner en práctica los métodos y para componentes que realizan los métodos descritos. A este respecto, los componentes están distribuidos dentro de la carcasa 1005 entre una pluralidad de estaciones. De izquierda a derecha, la carcasa proporciona una estación de recepción 1010, una estación de recogida 1020, una estación de preparación 1030 y una estación de transferencia 1040. La estación de recepción 1010 recibe una o más placas de cultivo que se sospecha que portan microorganismos de interés y alimenta automáticamente tales placas de cultivo a la estación de recogida 1020. La estación de recogida 1020 detecta automáticamente una colonia de interés y recoge una muestra de ella. La estación de preparación 1030 prepara automáticamente muestras para análisis, tal como identificación (ID) y ensayo de susceptibilidad a antibióticos (AST). La estación de transferencia 1040 transfiere automáticamente muestras de AST preparadas a cartuchos de AST (también denominados en la presente memoria paneles) que son transferidos automáticamente a un sistema de AST.

En el método general, se proporciona un dispositivo de herramienta de recogida automatizada 8 para obtener una herramienta de recogida 6 y transferir esa herramienta a una platina 2 que soporta una placa de cultivo 3 que se ha colocado sobre tal platina. Antes de la recogida, se identifica una colonia de interés 4 en la placa de cultivo 3 y se determina su ubicación en ella. La herramienta de recogida 6, habiendo sido informada de la ubicación a través de un controlador 30, mueve la herramienta de recogida 6 sobre la colonia de interés 4 y recoge la colonia. Una vez recogida, la muestra recogida 19 es transferida al interior de una o más cubetas o tubos de suspensión 11. Adicionalmente, una alícuota de líquido de suspensión 14 es dispensada al interior del tubo de suspensión 11, lo cual se realiza preferiblemente antes de la transferencia de la muestra de colonia recogida 19 al interior del tubo 11. La herramienta de recogida 6 se coloca a continuación de tal modo que la porción de la herramienta de recogida 6 que porta la muestra recogida 19 es sumergida en el líquido de suspensión 14. Se hace oscilar a la herramienta de recogida 6 para liberar los microorganismos. Un turbidímetro 20 supervisa la turbidez de la suspensión y proporciona tal información a un controlador 30 que establece referencia cruzadas de la turbidez medida con especificaciones de concentración para ensayos a realizar en alícuotas de la suspensión, tales como ID y AST. Las concentraciones diana tanto para ID como para AST se describen en la presente memoria.

Una vez que la suspensión alcanza la turbidez deseada, una alícuota de la suspensión es pipeteada desde el tubo 11, y una placa 42 para realizar ensayo de ID es inoculada con la suspensión. La herramienta de pipeteo 46 obtiene a continuación otra alícuota de suspensión para AST. En algunas realizaciones, la suspensión podría requerir dilución adicional con el líquido de suspensión antes de pipetear la suspensión para AST. Una vez obtenida, la herramienta de pipeteo 46 dispensa a continuación al interior de un recipiente 82 para ensayo de AST u otro análisis tal como un análisis de diagnóstico molecular. Tal recipiente puede incluir reactivos utilizados para tal ensayo adicional y puede leerse su código de barras mediante un robot 50 sujetador de tubos antes de la dispensación.

Seguidamente, el recipiente 82 es transferido a una ubicación secundaria por un dispositivo de movimiento 80. En esta ubicación, otra herramienta de pipeteo 66 pipetea la suspensión desde recipiente 82 e inocula un cartucho de ensayo 90. Este cartucho 90 puede ser movido antes de la inoculación por un robot de transferencia de cartuchos 70 a una estructura de soporte de una unidad de llenado de cartuchos 78. La unidad de llenado de cartuchos 78 puede ser accionable para rotar el cartucho 90 a un ángulo óptimo para inoculación. Un robot destapador (no mostrado) puede quitar una tapa del cartucho 90, según sea necesario para inoculación mediante el pipeteador 60. Después de que el cartucho 90 es inoculado, puede ser transferido por un instrumento de transferencia 2000 a un instrumento de análisis 2050 (véase la figura 20). Una vez que se ha realizado el análisis, el sistema puede emitir a continuación un informe final de la muestra indicando una cuantificación de crecimiento de la muestra y resultados ID y AST.

El método se describe a continuación más específicamente con respecto al sistema 1000 y componentes del mismo. La figura 2 muestra esquemáticamente estaciones 1020, 1030 y 1040 dispuestas dentro de la carcasa 1005 del sistema 1000.

5 La estación de recogida 1020 comprende una platina 2 para una placa de cultivo 3 que comprende un microorganismo 4 sobre una capa nutritiva 5, tal como una capa de gel de agar. La placa de cultivo 3 puede colocarse sobre la platina 2 mediante un brazo de movimiento (no mostrado) que transfiere la placa 3 desde la estación de recepción 1010. La estación de recepción 1010 puede recibir automáticamente una pluralidad de placas de cultivo procedentes de otro equipo de laboratorio aguas arriba y disponerlas en una disposición apilada antes de alimentar la placa 3 a la estación 1020.

15 Una vez que la placa 3 es recibida en la estación de recogida 1020, se realiza la identificación de colonias y la recogida de colonias. La estación 1020 incluye un dispositivo de colocación 8 que comprende un soporte de herramienta de recogida 9 para soportar de forma liberable una herramienta de recogida, tal como una punta de pipeta desechable. Como se muestra, el soporte de herramienta de recogida 9 soporta una primera herramienta de recogida 6. El dispositivo de colocación 8 está dispuesto para colocar la primera herramienta de recogida 6 en una posición de partida (mostrada en líneas continuas en la figura 2) por encima de la placa de cultivo 3 y está dispuesto para hacer descender y ascender automáticamente la primera herramienta de recogida 6 hacia y lejos de la placa de cultivo 3, de tal modo que la primera herramienta de recogida 6 pueda colocarse en una posición (indicada con líneas discontinuas) en que está en contacto con el microorganismo 4 y recoge una muestra 19 del microorganismo 4. Después de que la primera herramienta de recogida 6 ha recogido una muestra 19 (primera herramienta de recogida con muestra retenida 19 indicada en la figura 2 como 6'), el dispositivo de colocación 8 hace ascender y coloca la primera herramienta de recogida 6' en una posición de transferencia "A" ubicada sobre un tubo de suspensión 11. El dispositivo de colocación 8 preferiblemente hace ascender la herramienta de recogida 6' verticalmente respecto a la posición de partida antes de moverla horizontalmente a lo largo de una pista de transferencia 18 hasta la ubicación de transferencia A. Esto puede ayudar a impedir la contaminación por hilos mucoides que pueden formarse durante la recogida de la muestra. Sin embargo, en otras realizaciones, el dispositivo de colocación 8 puede moverse simultáneamente tanto vertical como horizontalmente (como se indica mediante flechas en la figura 2) hacia la posición de transferencia A.

20 En la recogida de colonias para ensayo adicional, una propiedad de algunas colonias es las características pegajosas o limosas indicadas anteriormente. Esto se denomina una consistencia mucoide que hace difícil la retirada de la colonia de la superficie de agar. Como se indicó anteriormente, después de que la colonia es tocada por el dispositivo de recogida, a menudo se formará un hilo mucoide entre el dispositivo de recogida y la colonia en la superficie de agar (figuras 15 y 16). Este hilo puede ser difícil de romper de forma controlada y plantea los problemas indicados anteriormente con respecto a potencial contaminación de otras muestras y superficies dentro del instrumento.

25 Cuando se recogen colonias manualmente, el usuario verá la formación del hilo y puede realizar cualquier número de movimientos manuales para eliminar el hilo. Esto incluye rotar el dispositivo de recogida y/o frotar el dispositivo sobre una porción limpia de la placa. Dado que el hilo puede observarse visualmente, el usuario verá cuándo se rompe el hilo y puede continuar con el ensayo. Todas estas medidas pueden tomarse con poco riesgo de contaminación cruzada

30 En una realización de un proceso automatizado para abordar la presencia de un hilo mucoide, el hilo es detectado ópticamente (por ejemplo, puede usarse una cámara para supervisar y detectar tales hilos) o supervisando cambios en un campo eléctrico. El hilo es conductor con respecto al aire circundante. Una vez que el hilo es detectado, el experto en la técnica entenderá que puede usarse cualquier número de dispositivos mecánicos para romper el hilo. Con referencia a la figura 15, se ilustra una placa de cultivo 710 dispuesta en un sistema automatizado 700. La placa de cultivo 710 tiene agar 720 dispuesto sobre ella, en el que se han formado muchas colonias diferentes 730. Una punta de pipeta 740 se hace descender hasta hacer contacto con una colonia y, a medida que ésta es retirada, se forma un hilo 750. Con referencia a la figura 16, a medida que la punta de pipeta 740 sigue siendo alejada de la superficie del agar 720, el hilo 750 se alarga. Mover la punta de pipeta en este punto haría que el hilo se moviera a otra ubicación en el sistema 700. Esto puede causar contaminación cruzada por el hilo en otras ubicaciones en el sistema 700.

35 En una realización, la presencia de un hilo se detecta supervisando la capacidad de la punta de pipeta a medida que la colonia es recogida y la pipeta es retirada de la superficie de la placa para transferir la muestra recogida a la suspensión. Un hilo causará una diferencia en la carga de capacidad a medida que la herramienta de recogida es retraída desde la muestra.

40 Sensores del nivel de capacidad pueden detectar una amplia variedad de sólidos, líquidos acuosos y orgánicos. La detección de la capacidad depende de una señal de radiofrecuencia aplicada al circuito de capacidad. Supervisando la capacidad (pF = picofaradios) puede detectarse la formación de un hilo mucoide. La figura 17A es un gráfico de capacidad a medida que la herramienta de recogida desciende y toca la superficie del agar. La capacidad cae rápidamente a medida que se hace ascender a la herramienta de recogida arriba y lejos de la superficie de agar. La figura 17B ilustra el cambio en la señal capacitiva cuando se forma un hilo mucoide a medida que la herramienta de recogida se aleja de la superficie. La capacidad desciende lentamente a medida que el hilo adelgaza cada vez más y

finalmente se rompe.

Los sensores del nivel conductor usan un nivel de bajo voltaje entre dos sensores. Dado que un hilo mucoide es conductor, la conductividad seguirá siendo alta siempre que la superficie de agar esté conectada a la herramienta de recogida por el hilo mucoide.

El hilo también puede detectarse ópticamente. La señal óptica a través de la placa es difractada por el hilo que se forma entre la placa y la pipeta. Esta interrupción en la señal puede detectarse mediante el software e indicar de ese modo la presencia de un hilo.

Puede usarse cualquier número de dispositivos mecánicos para retirar el hilo. Las soluciones preferidas son rentables y no crean aerosoles o contaminan otras placas en el sistema. El revestimiento mucoide sobre algunas bacterias hace la recogida difícil en sistemas manuales y automatizados. La biopelícula mucoide protege al organismo pero dificulta el trabajo con ellos. Para tales ejemplos, se proporcionan etapas y características automatizadas adicionales después de la recogida de una muestra mucoide para eliminar el hilo e impedir la contaminación del sistema.

En una realización se proporciona un alambre o cuchilla caliente calentada de forma resistiva para cortar a través del hilo mucoide. El alambre o cuchilla se calienta a una temperatura que es suficiente para esterilizar el dispositivo de corte, de tal modo que pudiera reutilizarse continuamente. El experto en la técnica puede seleccionar una temperatura adecuada que descontaminará el alambre o cuchilla destruyendo los microorganismos, pero no tan caliente como para inducir la vaporización rápida de la muestra recogida que puede dar como resultado liberación en aerosol del organismo.

También puede usarse temperatura muy fría para romper el hilo. Una pequeña pulverización de nitrógeno líquido a la punta de pipeta una vez que se ha detectado un hilo endurecerá el hilo, haciendo que se rompa. En una realización alternativa, podría usarse una sonda de corte que está enfriada hasta congelación para rebanar a través del hilo mucoide y permitir una rotura limpia.

En otra realización, se usa una varilla desechable rotatoria para romper el hilo. Cuando un hilo es detectado la varilla de corte se pone en contacto con él. En realizaciones alternativas, la varilla de corte puede girar para enrollar el hilo mucoide alrededor de la varilla para asegurarse de que el hilo está roto.

En otra realización, se proporciona un dispositivo de sonicación que rompe el hilo cuando la punta de pipeta se desplaza lejos de la placa de agar formando un hilo. Por ejemplo, una bocina ultrasónica está conectada al adaptador de punta de pipeta. Pulsos cortos a alta frecuencia hacen que la hebra mucoide se cizalle fácilmente cuando el dispositivo de recogida es arrastrado lejos de la superficie de agar.

En otra realización, el hilo se deja secar, volviéndose de ese modo quebradizo y rompiéndose. El tiempo de secado se reduce soplando aire sobre el hilo mediante una pequeña boquilla situada al lado de la placa. El tiempo de secado está controlado para no aumentar significativamente el tiempo para cualquier recogida.

En otra realización, se hace pasar una corriente intensa a través del hilo. La resistencia natural del fino hilo mucoide dará como resultado la mayor resistencia en la parte más fina (menos conductora) del hilo. Esta resistencia incrementada hará que el hilo se rompa. La corriente se selecciona de tal modo que es suficientemente intensa para romper el hilo, pero no tan intensa como para inducir vaporización rápida que puede dar como resultado liberación en aerosol del organismo.

Después de que el hilo es detectado, se hace avanzar a la punta a través de la superficie de agar (3-6 mm por encima de la superficie). A medida que el hilo cae sobre el agar y la punta sigue moviéndose, el hilo se estirará hasta el punto de rotura. Sin embargo, dado que el hilo se romperá sobre el agar, no se presenta ningún riesgo de contaminación cruzada. En realizaciones alternativas, se usa un rápido patrón en zigzag para hacer que el hilo se rompa a medida que la punta cambia de dirección sobre el agar.

En realizaciones alternativas, la punta es hundida en el agar en la placa en donde no hay crecimiento. Esto limpiaría la punta y retiraría el hilo. En otra realización, la punta de pipeta es movida a través de la superficie de agar hasta el borde de la placa. El hilo puede quitarse eficazmente en el borde de la placa y el hilo eliminarse.

En otra realización, se usa un pequeño dispositivo de vacío cerca de la punta cuando un hilo mucoide es detectado. El vacío usaría un sistema de filtro HEPA para vacío en el hilo y eliminar la contaminación ambiental.

En realizaciones alternativas, la pipeta es tratada o revestida con un agente mucolítico que puede romper las glucoproteínas de alto peso molecular descubiertas en el hilo mucoide. Un ejemplo de un agente de este tipo es n-acetil-1-cisteína.

En otra realización, un láser de baja potencia está situado fuera del lado de la placa. Cuando el pipeteador abandona

la zona de la placa, la punta de pipeta es movida justo encima del haz láser. Si un hilo está presente, el hilo mucoide se movería entonces a través del haz. El hilo mucoide se calentaría hasta el punto de que el hilo se romperá.

5 En otra realización, cuando un hilo es detectado, la punta puede rotarse 360 grados. La rotación corta el hilo mucoide. En otra realización, la punta de pipeta se mueve arriba y abajo hasta tocar la superficie de agar en la misma ubicación que en donde se produjo la recogida, rompiendo de ese modo el hilo. Con cada descenso con contacto, la punta de pipeta aspira algo de volumen. Esto desconecta el hilo mucoide y en realidad arrastra la mayoría o parte del hilo al interior de la punta de pipeta.

10 La estación de recogida 1020 comprende además un soporte de tubos de suspensión 10 para soportar el tubo de suspensión 11 que puede contener un medio de suspensión 14. En la presente realización, el soporte de tubos de suspensión 10 es un soporte de tubos de suspensión rotatorio para rotar el tubo de suspensión 11 alrededor de un eje vertical D. Sin embargo, en algunas realizaciones, el soporte de tubos 10 puede ser estacionario. Medio de suspensión 14, como se muestra, es dispensado desde un dispensador de medio de suspensión automático 12, que tiene una boquilla de dispensación 13 para dispensar automáticamente un medio de suspensión 14 en el tubo de suspensión 11 soportado en el soporte de tubos de suspensión 10. Sin embargo, en algunas realizaciones, un pipeteador automático, tal como el pipeteador 40, puede dispensar por separado medio de suspensión 14 al interior del tubo 11.

20 El dispositivo de colocación 8 también incluye un dispositivo de transferencia 15 incorporado en su interior para ayudar en la transferencia automática de la muestra 19 al medio de suspensión 14. El dispositivo de transferencia 15 está conectado al soporte de herramienta de recogida 9 y está configurado para hacer oscilar la herramienta de recogida 6' en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo que es suficiente para que la muestra 19 sea liberada de la herramienta de recogida 6'. En el método, una vez que el tubo de suspensión 11 es inoculado con el medio de suspensión 14 y la herramienta de recogida 6' está colocada en una posición de partida en la ubicación de transferencia A por encima del tubo 11, el dispositivo de colocación 8 hace descender la herramienta de recogida 6' al interior del medio de suspensión 14. Con la muestra 19 sumergida, como se representa esquemáticamente en la figura 2, el dispositivo de transferencia 15 es activado para hacer oscilar la herramienta de recogida 6' para liberar la muestra 19 al interior del medio de suspensión 14. Seguidamente, el dispositivo de colocación 8 coloca la herramienta de recogida 6 en una posición de espera por encima del tubo de suspensión 11, que puede ser idéntica a la posición de partida. 30 En otras realizaciones, la posición de espera y la posición de partida pueden ser diferentes entre sí.

El sistema 1000 también incluye un turbidímetro 20 para realizar mediciones de la turbidez del medio de suspensión 14 contenido en el tubo de suspensión 11 soportado en el soporte de tubos de suspensión 10. Como se conoce generalmente en la técnica, un turbidímetro puede proporcionar valores de medición que son una medida de la concentración de material, en el presente caso la concentración de un microorganismo suspendido en el medio de suspensión. Como se muestra en la figura 2, el turbidímetro 20 comprende un láser 21 que transmite luces láser hacia y a través del medio de suspensión 14 y un sensor 22 que detecta la cantidad de luz láser transmitida a través del medio de suspensión 14. Preferiblemente, un sensor (no indicado en la figura) puede estar dispuesto perpendicular a la trayectoria de la luz láser para detectar la cantidad de luz láser que ha sido dispersada por la suspensión. 40

El funcionamiento del sistema 1000 está controlado por un controlador 30. El controlador 30, como se muestra esquemáticamente en la figura 3, incluye un procesador 32 y una memoria 34. El controlador 30 está conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación 8, el dispositivo de transferencia 15, el dispensador de medio de suspensión automático 12 y el turbidímetro 20 para controlar automáticamente el movimiento del dispositivo de colocación 8, el movimiento del dispositivo de transferencia 15, el funcionamiento del dispensador de medio de suspensión automático 12 y el funcionamiento del turbidímetro 20, respectivamente. Además, el controlador 30 puede estar directamente conectado de forma comunicativa a otras partes del aparato, tales como, por ejemplo, el soporte de herramienta de recogida 9, el láser 21 y el sensor 22. 45

50 En la realización representada en las figuras 2 y 3, el controlador 30 está dispuesto para controlar el turbidímetro 20 de tal modo que la medición de turbidez del medio de suspensión 14 se inicie antes de que la herramienta de recogida 6' se sumerja en el medio de suspensión 14. Además, el controlador 30 controla el soporte de tubos de suspensión rotatorio 10 para comenzar la rotación del tubo de suspensión 11 soportado en el soporte 10 antes de que la herramienta de recogida 6' se sumerja en el medio de suspensión 14, y para mantener la rotación del tubo de suspensión 11 durante la medición de la turbidez del medio de suspensión 14. El controlador 30 controla además el turbidímetro 20 de tal modo que la medición de la turbidez se realice durante el período de tiempo total durante el cual se hace oscilar la herramienta de recogida 6'. De esta forma, el turbidímetro 20 proporciona un valor de medición en línea al controlador 30, valor que es indicativo de la turbidez medida, y de este modo la concentración del microorganismo, durante el período de tiempo durante el cual se hace oscilar a la herramienta de recogida 6'. 60

Como se ha mencionado anteriormente, el controlador 30 comprende una memoria 34, que almacena un primer y un segundo valor umbral. El primer valor umbral es igual a o mayor que el segundo valor umbral. Si la medición del valor de turbidez proporcionada por el turbidímetro es igual a o está entre el primer y el segundo valor umbral, la concentración/cantidad de microorganismo en el medio de suspensión es suficiente para permitir que el tubo de suspensión 11 con la suspensión 14 sea procesado adicionalmente. En un caso de este tipo, en donde la turbidez 65

medida está entre el primer y el segundo valores umbral, el controlador 30 proporciona una señal de que la suspensión dentro del tubo de suspensión 11 puede procesarse adicionalmente. Además, en esta situación, la herramienta de recogida 6 puede desecharse, por ejemplo, moviendo el dispositivo de colocación sobre un receptáculo de desechos y activar el soporte de herramienta de recogida para liberar la herramienta de recogida 6 al interior del receptáculo de desechos.

En el caso de que el valor de medición final del turbidímetro 20 esté por encima del primer valor umbral almacenado previamente en la memoria 34 del controlador 30, entonces se determina que la concentración del microorganismo es demasiado alta para permitir que la suspensión dentro del tubo de suspensión 11 sea procesada adicionalmente. En tal situación, el controlador 30 controla el dispensador de medio de suspensión automático 12, o algún otro dispensador de medio, para suministrar una cantidad adicional de medio de suspensión 14 al interior del tubo de suspensión 11. Esta cantidad adicional de medio de suspensión 14 está basada en la cantidad inicial de medio de suspensión, el valor de medición final y el valor del primer y/o segundo valor umbral de tal modo que la adición de la cantidad adicional de medio de suspensión al medio de suspensión 14 ya presente en el tubo de suspensión 11 causará una concentración de microorganismo en el medio de suspensión 14 del tubo 11 que cumple el requisito para procesamiento adicional, tal como puede confirmarse mediante una medición adicional o suplementaria de la turbidez por el turbidímetro 20.

En el caso de que el valor de medición final del turbidímetro 20 está por debajo del segundo valor umbral, lo que significa que la concentración de microorganismo en el medio de suspensión 14 es demasiado baja, el controlador 30 controla el dispositivo de colocación 8 de tal modo que una muestra adicional 19 de microorganismo 4 es recogida por la primera herramienta de recogida 6 para concentrar adicionalmente el medio de suspensión 14. Como alternativa, la primera herramienta de recogida 6 puede desecharse y puede usarse una segunda herramienta de recogida para recoger tal muestra adicional. A este respecto, cuando se determina que el valor de medición final está por debajo de un umbral, el controlador controla la primera herramienta de recogida 6 en el soporte de herramienta de recogida 9 del dispositivo de colocación 8, de tal modo que se le haga descender desde la posición de partida por encima de la placa de cultivo 3 hacia la placa de cultivo y hasta hacer contacto con el microorganismo 4 para recoger una muestra adicional 19 del microorganismo 4. Seguidamente, a la primera herramienta de recogida 6' se le hace ascender automáticamente con la muestra adicional 19 del microorganismo 4 lejos de la placa de cultivo hasta la posición de partida en la ubicación de transferencia A por encima del tubo de suspensión 11. A continuación, a la herramienta de recogida 6' con la muestra adicional del microorganismo se le hace descender al interior del medio de suspensión 14 y se le hace oscilar mediante el dispositivo de transferencia 15 en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo para liberar la muestra adicional 19 del microorganismo 4 en el medio de suspensión 14. De nuevo, la turbidez se mide durante la oscilación, y el valor medido se compara con el primer y el segundo valor umbral almacenado en la memoria 34 del controlador 30. En este caso, el controlador 30 puede estar dispuesto para controlar el movimiento del dispositivo de colocación 8, de tal modo que a la primera herramienta de recogida 6, una vez que la muestra adicional está al menos parcialmente retirada de él, se le haga ascender hasta una posición de espera si, durante la oscilación, el valor de medición en línea de la turbidez adquirido por el turbidímetro 20 es igual a o menor que el primer valor umbral e igual a o mayor que el segundo valor umbral.

Aunque la concentración del microorganismo dentro del medio de suspensión 14 puede incrementarse mediante múltiples recogidas de colonias posteriores, como se acaba de describir en el caso de que la turbidez medida esté por debajo del nivel umbral, pueden realizarse otros procedimientos en su lugar para acabar con una concentración medida que se determinó que es demasiado baja. A este respecto, como se describe con más detalle a continuación, múltiples dispensaciones de la suspensión de baja concentración pueden depositarse sobre el mismo punto de una placa de MALDI. Esto tiene el efecto de concentrar el microorganismo 4 sobre la placa de MALDI, en lugar de en el medio de suspensión 14.

Los tubos de suspensión 11, o como alternativa, viales o cubetas que son particularmente útiles en el aparato de la invención tienen una sección transversal con una dimensión máxima diámetro de aproximadamente 2 a aproximadamente 12 mm, preferiblemente aproximadamente 3 mm. En estos tubos de suspensión relativamente pequeños, el controlador 30 puede controlar el dispensador de medio de suspensión automático 12, u otro dispensador de medio, de tal modo que la cantidad inicial suministrada de medio de suspensión es de aproximadamente 0,1 - 5 ml, preferiblemente menor de aproximadamente 1 ml.

La oscilación del dispositivo de transferencia 15 está controlada por el controlador 30, de tal modo que la herramienta de recogida 6' oscile a una frecuencia entre aproximadamente 5 Hz y aproximadamente 250 Hz, preferiblemente aproximadamente 100 Hz, con una amplitud de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 4 mm, preferiblemente de aproximadamente 2 mm a aproximadamente 3 mm. El controlador 30 está dispuesto además para controlar la oscilación del dispositivo de transferencia 15, de tal modo que el período de tiempo durante el cual oscila la herramienta de recogida 6' es de aproximadamente 3 segundos a aproximadamente 120 segundos, preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 segundos.

NEFELÓMETROS DE SISTEMA Y MÉTODO AUTOMATIZADOS

A continuación, se describen diversas realizaciones de nefelómetro. Debe entenderse que uno cualquiera de tales

nefelómetros descritos puede constituir el nefelómetro 20 descrito anteriormente. En una realización, el nefelómetro usado en el sistema automatizado 1000 puede ser el nefelómetro descrito en la solicitud provisional de EE. UU. 62/056.911 que es de cesión común. En esta realización, no se hace oscilar la suspensión a medida que se mide la turbidez.

5 Otra realización de nefelómetro 100 se representa en las figuras 4A y 4B. El nefelómetro 100 es un nefelómetro de bajo volumen diseñado para alojar un único tubo de suspensión ilustrado como una cubeta 110 que tiene un fluido de suspensión 120 colocado dentro de una base de nefelómetro 101, como se muestra en la figura 4A. El nefelómetro 100 también incluye una fuente de luz 130, una lente de enfoque 170, un detector de dispersión lateral 140, un detector de luz transmitida 150 y un filtro de atenuación de luz 160 (mostrado de la mejor forma en la figura 4B). La cubeta 110 con una muestra 120 está colocada en el centro del nefelómetro 100 y dentro de la base de nefelómetro 100. La fuente de luz 130, el detector de dispersión 140 y el detector de luz transmitida 150 están colocados en ángulos de 90 grados uno con respecto a otro alrededor de la cubeta 110. El detector de dispersión 140 está colocado estrechamente cerca de la cubeta 110 que contiene la suspensión de muestra 120 y paralelo a la fuente de luz incidente 130. Esto minimiza los efectos de difracción, refracción y reflexión sobre la luz dispersada. El detector de luz transmitida 150 está colocado a 180 grados u opuesto respecto a la fuente de luz 130. El detector 150 también puede estar orientado perpendicular al haz de luz incidente o en un ángulo diferente para reducir efectos de reflectancia desde sus superficies. El filtro de atenuación de luz 160 está colocado entre la cubeta 110 y el detector de luz transmitida 150. En esta configuración, las suspensiones de muestra son procesadas individualmente dentro del recipiente 110 y el nefelómetro 100 detecta luz dispersada y/o transmitida que se hace pasar a través de la muestra analizada 120 en un ángulo.

Se contempla el uso de recipientes/cubetas (o micro-cubetas) de bajo volumen que están diseñados para procesar cantidades relativamente pequeñas de suspensiones biológicas y de fluido para uso junto con un nefelómetro de bajo volumen, tal como el nefelómetro 100. Las figuras 5A y 5B representan realizaciones alternativas de tales cubetas de bajo volumen. Las cubetas 110, 110' son moldeadas a partir de plástico ópticamente transparente con lados mínimamente ahusados 430, 440 que tienen un pulido ópticamente liso para estar convenientemente orientados dentro del nefelómetro 100. Las cubetas 110, 110' pueden estar configuradas como unidades individuales para aplicaciones de un solo uso. Sin embargo, en algunas realizaciones, como se describe adicionalmente a continuación, en donde se usan una serie de cubetas para preparar suspensiones, las cubetas 110, 110' pueden estar configuradas para uso con tiras de disposición lineal para tales aplicaciones. Como alternativa, las cubetas 110, 110' pueden estar configuradas para uso con una disposición de matriz diseñado para procesar múltiples muestras simultáneamente. En la realización de matriz, múltiples series de suspensiones se preparan en paralelo.

Como se muestra, las cubetas 110, 110' tienen una porción inferior 410 que tiene un volumen relativamente pequeño en comparación con una porción superior 400. La suspensión se prepara inicialmente en la porción de pequeño volumen 410. La suspensión está dispuesta, por lo tanto, en primer lugar dentro de la porción inferior 410 de las cubetas 110, 110'. Una muestra biológica que se sospecha que contiene un microorganismo diana se añade a, y se mezcla con, la suspensión de fluido para proporcionar una suspensión de muestra de ensayo 120. Se mide la turbidez de la suspensión en la porción inferior 410. A este respecto, cuando la cubeta 110 o 110' está acoplada al nefelómetro 100, la luz generada por la fuente de luz 130 pasa a través de la suspensión de muestra 120 que está dispuesta dentro de la porción inferior 410. El nefelómetro 100 detecta la luz dispersada por la porción inferior 410 mediante los detectores 140 y 150 y mide la turbidez de la muestra en la porción inferior 410 de la cubeta basándose en la luz detectada.

Por debajo de la porción inferior 410 de cada una de las cubetas 110, 110' hay una zona de recogida de "particulado grande" 420 que está diseñada para recibir partículas grandes que sedimentan a partir de la suspensión de muestra que, en caso contrario, afectarían de forma adversa a la precisión de las mediciones de turbidez realizadas por el nefelómetro 100. Muestras de bajo volumen tienen, de lo contrario, un volumen insuficiente para permitir que los contaminantes particulados sedimenten a partir de la porción de la suspensión interrogada por el nefelómetro. Por ejemplo, una luz que pasa a través de una suspensión de bajo volumen que contiene impurezas particuladas puede no diferenciar entre la muestra en suspensión y las impurezas y puede producir valores de McFarland imprecisos (es decir, valores indicativos de turbidez) que hacen que la muestra sea procesada de forma incorrecta. Por ejemplo, un valor de McFarland impreciso puede informar de la dilución errónea. Un valor de McFarland impreciso también puede hacer que una muestra sea procesada aguas abajo (por AST o MALDI, por ejemplo), cuando, si se hubiera conocido el auténtico valor de McFarland, la muestra no habría sido procesada adicionalmente. Es decir, el auténtico valor de McFarland habría informado al operador de que la muestra no era adecuada para MALDI o AST. Además, la presencia de impurezas en la muestra puede interferir en las mediciones de concentración precisas de la muestra que está siendo analizada. En este sentido, las cubetas 110, 110' según las realizaciones representadas proporcionan esta zona de recogida de particulado independiente 420 que está fuera de la trayectoria de luz directa que pasa a través de la porción inferior 410. Los contaminantes particulados sedimentan en la zona de recogida 420 y no permanecen en la zona analizada de la suspensión de muestra, lo que se produce en la porción inferior 410. La longitud de celda de la porción inferior está en el intervalo de aproximadamente 5,5 mm y está diseñada para proporcionar longitud de celda para que muestras de bajo volumen obtengan mediciones de turbidez adecuadas. La porción inferior está diseñada para proporcionar longitud de celda suficiente una vez que se prepara una suspensión de muestra de ensayo para que la luz pase a través de las muestras y sea capturada por los detectores 140 y 150. Preferiblemente, la porción

inferior 410 está hecha de un material óptico altamente pulido o un material que casi tiene transparencia óptica y otros materiales ópticamente transmisores conocidos por un experto en la técnica. Tales materiales permiten que la luz pase a través de las paredes 440 de la porción inferior de la cubeta sin interferencia.

5 Un experto en la técnica apreciará que hay tres dimensiones de libertad de diseño para configurar la porción de pequeño volumen 410 de las cubetas 110, 110'. Las dimensiones de la porción de pequeño volumen 410 son, en gran medida, una cuestión de elección del diseño. En una realización, las dimensiones de la porción de pequeño volumen 410 están configuradas para recibir un dispositivo (por ejemplo, una herramienta de recogida) que introducirá la muestra en la porción inferior de la cubeta. Por ejemplo, y no a modo de limitación, la porción inferior de la cubeta está dimensionada para proporcionar espacio adecuado para una herramienta de recogida de 3 mm de diámetro que se sumergirá y se rotará dentro de la porción inferior de tal modo que no toque los lados de la cubeta 110 o 110', creando arañazos y aberraciones superficiales que degradarían la transparencia óptica de la misma.

10 Por supuesto, las dimensiones de la porción inferior 410 deben adaptarse a la inspección óptica de la muestra. Específicamente, la porción inferior 410 de las cubetas 110, 110' está dimensionada para funcionar con la fuente óptica 130 y los detectores 140, 150 del nefelómetro 100. Las limitaciones dimensionales sobre el diseño de la cubeta están, por lo tanto, en función de la configuración del nefelómetro 100.

15 Por encima de la porción inferior 410 está la porción superior 400 que se usa para diluir la suspensión de muestra colocada dentro del recipiente para procesamiento adicional en aplicaciones aguas abajo, tales como AST. La porción superior 400 tiene una anchura y longitud mayores que la porción inferior 410. Preferiblemente, las dimensiones internas del recipiente están diseñadas para adaptarse a la mezcla automatizada de la muestra biológica con un fluido de suspensión para diluir adicionalmente la suspensión de muestra de ensayo directamente dentro del recipiente cuando se requiere. En funcionamiento, el diseño de recipiente con gradas de las cubetas 110, 110' permite que la turbidez de la suspensión de muestra en su interior se mida y, si la turbidez diana no se ha alcanzado, diluir adicionalmente la muestra y repetir las mediciones de turbidez. Una configuración de este tipo permite la dilución de la muestra en tiempo real (es decir, a medida que la muestra está siendo interrogada ópticamente). Además, el diseño de recipiente con gradas hace posible medir la turbidez de suspensiones de muestra de bajo volumen (por ejemplo, suspensiones con un volumen de aproximadamente 200 µl a aproximadamente 500 µl) aún tiene los beneficios de un volumen mayor para adaptarse a la dilución de la muestra.

20 Como se representa, la grada superior o porción superior 400 de cada una de las cubetas 110, 110' tiene un perímetro aproximadamente cuadrado o rectangular. Básicamente, la configuración geométrica de la porción superior 400 es una cuestión de elección del diseño. La grada inferior o porción inferior 410 también tiene un perímetro aproximadamente cuadrado. A este respecto, las cubetas 110, 110' "se pliegan" desde la porción superior a la inferior debido a las mayores dimensiones de sección transversal de la porción superior 400 con respecto a la porción inferior 410. Formas alternativas para las cubetas 110, 110' también están contempladas, siempre que las paredes 440 de la porción inferior 410 estén en un ángulo una con respecto a otra (por ejemplo, la cubeta no es cilíndrica, elíptica, etc.). Se ha descubierto que colocar las paredes 440 de la porción inferior 410 (es decir, la porción recibida por el nefelómetro) en un ángulo una con respecto a otra (en comparación con un tubo de forma redonda) permite menos aberración a la señal óptica y mejor mezcla de la muestra de ensayo. Esto se ilustra en las realizaciones representadas 110, 110' en las que la porción inferior 410 tiene cuatro lados 440 que son perpendiculares entre sí, definiendo de ese modo un cuadrado. Además, la porción superior 400 también tiene cuatro lados 430 que son perpendiculares entre sí, excepto que las dimensiones de los lados 430 son más anchas que los lados 440. La porción inferior más pequeña 410 está configurada para ser recibida por la base de nefelómetro 101 y/o la disposición de cubetas lineal (descrita a continuación). La parte superior de cada cubeta 110, 110' tiene una abertura 450 para recibir la muestra y el diluyente/medio de suspensión. Las paredes laterales 430 y 440 de las porciones superior e inferior 400, 410, respectivamente, están definidas por superficies planas. Sin desear quedar ligados a ninguna teoría particular, se cree que las superficies planas minimizan la difracción y la refracción de la luz que pasa a través de las cubetas 110, 110'. Además, la configuración cuadrada de las cubetas/recipientes 110, 110' permite que las trayectorias de luz pasen a través de y al interior de la suspensión de muestra y el recipiente en ángulos rectos con respecto a la superficie plana de tal recipiente 110, 110'. Esta configuración también minimiza el potencial para difracción o refracción de la fuente de luz 130 a medida que entra y sale de las cubetas 110, 110'.

45 Se contemplan diversas configuraciones de las cubetas 110, 110'. En la realización representada en la figura 5A, la porción superior 400 de la cubeta 110 está ahusada hacia la porción inferior 410. Las esquinas de la porción superior 400 en donde las paredes laterales 430 intersecan, se alinean con las esquinas de la porción inferior 410 tal como puede verse mediante los bordes rectos 401). Los bordes ahusados 401 demarcan la transición entre la porción superior más ancha 400 y la porción inferior más estrecha 410.

50 En la otra realización 110' representada en la figura 5B, las esquinas de la porción superior 400 en donde las paredes laterales 430 intersecan están desplazadas respecto a las esquinas de la porción inferior 410 en donde las paredes laterales 440 intersecan. Tal desplazamiento se produce en los bordes de desplazamiento 402 como se ilustra en la figura 5B. En un ejemplo particular, las esquinas de la porción inferior 410 están desplazadas 45 grados respecto a las esquinas de la porción superior 400. Ventajosamente, esta configuración permite que la fuente de luz 130 y los

detectores 140, 150 estén dispuestos a ambos lados de la cubeta 110' cuando la cubeta 110' está colocada dentro de la base de nefelómetro 101.

A continuación, se describen métodos de uso del nefelómetro 100 y la cubeta 110 para medir la turbidez como se muestra en el diagrama de flujo de la figura 6. La cubeta 110 se coloca dentro de la base de nefelómetro 100 manual o automáticamente. El fluido de suspensión inicial (libre de microorganismos) se coloca dentro de la cubeta 100. El volumen de fluido es de aproximadamente 200 µl a aproximadamente 500 µl. Preferiblemente, el volumen de fluido de suspensión inicial es de aproximadamente 300 µl. Puede añadirse fluido adicional a la cubeta 110 si se necesita dilución para obtener los valores de McFarland especificados. A continuación, una muestra biológica que se sospecha que contiene microorganismos se añade a la cubeta 110 y se mezcla con el fluido de suspensión para dar una suspensión de muestra de ensayo 120. El nefelómetro 100 mide la turbidez inicial de la muestra de ensayo 120 y el valor de McFarland es registrado en la memoria 34. La suspensión de muestra se diluye adicionalmente añadiendo fluido de suspensión adicional si las lecturas de turbidez iniciales son demasiado altas. La dilución es automatizada en una realización. La porción superior 400 de la cubeta 110 permite que el volumen del fluido de suspensión supere el volumen de la porción inferior 410. El nefelómetro 100 mide la turbidez de la suspensión diluida. Una vez que se obtiene el valor de McFarland predeterminado, la suspensión se procesa para ensayo aguas abajo, se almacena o se desecha. La suspensión puede diluirse tantas veces como sea necesario para obtener los valores de McFarland deseados.

Una luz procedente de la fuente 130 interroga la suspensión 120 (por ejemplo, muestra analizada) dispuesta dentro de la cubeta 110. La luz que impacta sobre una superficie (por ejemplo, la pared lateral plana 440 de la cubeta/recipiente 110) se denomina en la presente memoria la luz incidente. La luz que es dispersada a partir de las partículas de la suspensión 120 se denomina en la presente memoria la luz dispersada. Una porción de la luz incidente es reflejada por la superficie de la cubeta. La luz refractada o transmitida es la porción de la luz incidente que es transmitida a través de la superficie (por ejemplo, la pared lateral plana 440 de la cubeta/recipiente 110).

En funcionamiento, la luz transmitida es recibida por el detector de luz transmitida 150. En las realizaciones ilustrativas, el detector de luz transmitida 150 está colocado sobre la trayectoria de luz incidente para maximizar la detección de la luz transmitida a través de la suspensión. En casos en donde la superficie del detector 150 es altamente reflexiva, el detector 150 puede estar colocado de tal modo que la superficie del detector está ubicada en un ángulo pequeño (no de 90 grados) con respecto al eje de la trayectoria de luz. Colocar el detector 150 en un ángulo optimiza la detección de la luz transmitida sin reflejar la luz de vuelta a la suspensión 120 o dirigir la luz a otras porciones del nefelómetro 100. La intensidad de luz recogida por el detector 150 es proporcional a la turbidez de la suspensión.

Un filtro de atenuación de luz 160 está colocado directamente frente al detector de luz transmitida 150. El filtro reduce la intensidad de la luz incidente sobre el detector 150 en una cantidad que es proporcional a la del haz incidente. En las realizaciones ilustrativas, el filtro 160 permite al detector 150 funcionar sin saturación y proporciona suficiente ancho de banda de intensidad operativa del detector para detectar ligeras variaciones en la intensidad de la luz transmitida.

El nefelómetro 100 también mide la cantidad de luz dispersada. El detector de dispersión 140 se coloca con su superficie de detección paralela a la trayectoria de luz incidente y a lo largo de un lado de la cubeta 110. Porciones de la luz que se hacen pasar a través de la muestra en suspensión 120 son dispersadas por las partículas en suspensión. El detector de dispersión lateral 140 recoge parte de la luz dispersada. La cantidad de luz dispersada que el detector 140 recoge proporciona una señal que es proporcional a la cantidad de partículas en la suspensión analizada 120. Una forma de medir la turbidez de la suspensión 120 es procesar la cantidad de luz dispersada recogida por el detector de dispersión 140 a través de diversos algoritmos bien conocidos en la técnica. Los datos recopilados a partir del detector de dispersión 140 pueden combinarse con los datos recopilados a partir del detector de transmisión 150 de diversas formas. Por ejemplo, las señales pueden combinarse físicamente o los valores del detector manipularse matemáticamente para combinarlos de una forma para potenciar adicionalmente la precisión y fiabilidad de las señales iniciales. Las señales o valores de los datos pueden combinarse de forma aditiva, sustractiva, diferencial, etc., para proporcionar una señal resultante que es representativa de las señales combinadas. Tal combinación puede ser realizada por el procesador 32. Cuando las señales o los valores del detector se combinan de esta forma, es posible potenciar la resolución y la precisión de datos recopilados para medir la turbidez. Ventajosamente, los datos recopilados a partir de dos detectores independientes (datos de dispersión y transmitancia) pueden proporcionar resultados más precisos para volúmenes de muestra pequeños. La medición doble es ventajosa en aquellas realizaciones en donde una medición de dispersión no basta. La medición de rendimientos de luz tanto transmitida como dispersada puede ser más precisa dado que la longitud limitada de la trayectoria de luz a través del pequeño volumen de la muestra 120.

En las realizaciones ilustrativas, el detector de dispersión 140 y el detector de transmitancia 150 son detectores de fotodiodo de alta eficiencia estándar. Sin embargo, también pueden usarse otros detectores que tienen características similares. Los detectores adecuados incluyen aquellos que funcionan en el espectro de luz visible de ultravioleta (UV) a infrarrojo (IR). Los detectores adecuados pueden seleccionarse basándose en sus curvas de lineal, tamaño, reproducibilidad de resultados, y la capacidad para manejar/detectar trayectorias de luz en condiciones de poca luz y

detectar variaciones diminutas en la intensidad de la luz con resolución medible. Los ejemplos incluyen fotodiodos, tubos fotomultiplicadores, detectores de avalancha, células solares, fotorresistencias, fotosensores, etc. Tales detección están disponibles en el mercado, son bien conocidos por un experto en la técnica y no se describen en detalle en la presente memoria.

5 En las realizaciones ilustrativas, la fuente de luz es un diodo emisor de luz (LED) o diodo láser de alta intensidad. Preferiblemente, la frecuencia de la luz LED es de aproximadamente 650 nm. Preferiblemente, la longitud de onda de la luz del detector está dentro de la banda de color rojo (es de decir aproximadamente 620 a 750 nm). Sin embargo, el experto en la técnica podría usar luz interrogante a diferentes frecuencias de luz visible. Opcionalmente, una lente de enfoque 170 (figura 4B) se usa para enfocar la luz en un haz estrecho (por ejemplo, un haz que es de aproximadamente 3 mm de diámetro). La lente de enfoque 170 está colocada enfrente de la fuente de luz 130. El uso de una lente de enfoque 170 concentra la luz procedente de la fuente de luz 130 dentro de la zona de la muestra 410 del recipiente/cubeta y minimiza la cantidad de luz que puede ser dispersada a partir de la zona de ensayo. Un experto en la técnica es consciente de que una luz que es dispersada fuera de la zona de ensayo (es decir, la porción inferior 410 de la cubeta 110) hace a la dispersión no utilizable para los fines de medir la turbidez de la muestra debido a una elevada señal de fondo. La luz enfocada pasa a continuación desde la lente de enfoque 170 (no mostrada) al interior de la porción inferior 410 de la cubeta 110 en un ángulo perpendicular a la cara de la cubeta 110. El ángulo perpendicular mitiga la difracción y refracción no deseadas que se producen cuando un haz de luz pasa desde un medio (por ejemplo, aire) a otro medio (por ejemplo, lados de la superficie plana de una cubeta). La trayectoria del haz de luz enfocada se mantiene a medida que la luz se transmite a través de la suspensión hacia los detectores 140 y 150. En las realizaciones en donde la fuente de luz 130 es un láser de diodo, pueden no requerirse lentes adicionales 170 para enfocar el haz de luz. Esto se debe en parte a las propiedades del láser que proporcionan luz colimada y enfocada para interrogar la suspensión. Una lente de enfoque 170 se usa en las realizaciones en donde la fuente de luz 130 es un LED y la colimación o enfoque de la luz según se desee o se requiera.

25 Las figuras 7A y 7B ilustran otra realización de nefelómetro 200 en donde se hace avanzar a las cubetas a través del nefelómetro en serie. El sistema está diseñado para uso con una serie de cubetas (descritas a continuación) que se hacen avanzar a través del nefelómetro de forma continua. Cubetas individuales 110 pueden colocarse directamente dentro de una base de nefelómetro 201 colocando la porción inferior de la cubeta en el interior del canal 220 como se muestra en la figura 7A. Como alternativa, recipientes individuales 110 pueden colocarse en primer lugar dentro de la disposición de recipientes lineal 300 y la disposición lineal 300 (figura 8) que aloja múltiples recipientes puede colocarse dentro del nefelómetro mediante el pase a través del canal 220. Después de que los recipientes están colocados dentro de la base de nefelómetro individualmente o dentro de la disposición lineal, la suspensión se prepara en la cubeta y la turbidez se mide como se ha descrito anteriormente.

35 El nefelómetro 200 también incluye una fuente de luz 230, una lente de enfoque 270, un detector de dispersión 240, un detector de luz transmitida 250 y un filtro de atenuación de luz 260, que se han descrito anteriormente en relación con el nefelómetro de la figura 4B. La cubeta 110 con una muestra 120 está colocada en el centro del aparato y dentro de la base de nefelómetro 201. La fuente de luz 230, el detector de dispersión 240 y el detector de luz transmitida 250 están colocados en un ángulo de 90 grados entre sí alrededor de la cubeta 110 como se ha descrito anteriormente. La superficie del detector de dispersión lateral 240 está colocada paralela al haz incidente respecto a la fuente de luz 230. La colocación del detector de dispersión 240 estrechamente cerca de la muestra analizada 120 y paralela a la fuente de luz incidente minimiza los efectos de difracción, refracción y reflexión sobre la luz dispersada. El detector de luz transmitida 250 está colocado opuesto respecto a la fuente de luz 230 y la luz incidente proveniente de la fuente de luz se propaga hacia el detector de luz transmitida. El detector 250 también puede estar colocado perpendicular a la trayectoria de luz incidente o a unos pocos grados respecto a la perpendicular para reducir los efectos de reflexión desde sus superficies. El filtro de atenuación de luz 260 está colocado entre la cubeta 110 y el detector de luz transmitida 250.

50 La figura 8 ilustra la disposición de cubetas/receptáculo en serie para uso con una realización del aparato de la presente invención, tal como el nefelómetro 200. Esta realización difiere de realizaciones descritas anteriormente en donde los tubos de suspensión se rotan para colocarse para medición de la turbidez. La disposición de cubetas en serie 300 es una tira de cubetas en serie que es movida a lo largo del canal guiado 220. Una fuente de luz LED 230 está colocada en un lado del canal guiado 220 que guía la tira 300. La tira 300 está encajada de forma deslizante con los canales 220. La tira 300 también puede incluir distanciadores u otras estructuras 530 (figura 9) para apilamiento, envasado y envío cómodos. Se hace avanzar a la tira 300 a través del nefelómetro y las paredes de la cubeta 320 están situadas entre la fuente de luz 230 y los detectores 240 y 250 para procesamiento. Después de que el procesamiento esté completo, la tira lineal 300 puede indexarse y hacerse avanzar hasta la siguiente cubeta, y continuarse el procesamiento para las muestras posteriores usando el mismo nefelómetro. La tira de cubetas 300 puede almacenarse o desecharse basándose en las necesidades del usuario individual. En esta realización, un único nefelómetro está diseñado para procesar de forma eficiente múltiples muestras sin necesidad de retirar cubetas individuales y reemplazarlas con nuevas cubetas. La tira de cubetas lineal 300 puede estar diseñada con diversas formas, tamaños y configuraciones de cubeta. Por ejemplo, los pocillos 320 de la tira 300 pueden estar diseñados para ser más o menos profundos, más anchos, más estrechos, más largos, más cortos, etc., dependiendo del diseño de la cubeta. Además, los pocillos pueden estar unidos entre sí a través de pocillos individuales o insertarse individualmente

en los pocillos colocados unos próximos a otros. La colocación de las múltiples cubetas 110' con los bordes 402 dentro de una disposición lineal 300 permite un transporte más eficiente de las cubetas 110' a través del nefelómetro 200 dado que éstas pueden procesarse en serie y ser recibidas por el nefelómetro y medirse sin manipulación adicional de las mismas.

5 En otra realización de cubetas en serie representada en la figura 9, las tiras de cubetas son apilables y pueden separarse en cubetas individuales o una tira lineal de cubetas, dependiendo de la configuración del nefelómetro. En la realización representada, la cubetas 500 son portadas por una gradilla 510. La gradilla 510 tiene una superficie plana a partir de la cual las cubetas están suspendidas. La superficie plana está marcada (no mostrado) para permitir que las cubetas se separen en cubetas individuales o tiras de cubetas. Las cubetas apilables también tienen distanciadores 530 como se ha descrito anteriormente. Obsérvese que, para facilitar el apilamiento, la porción inferior 540 de la cubeta 500 es recibida por la porción superior más ancha 550.

15 La figura 10 es una vista en perspectiva de un nefelómetro 590 que muestra el orificio 575 para una fuente óptica 570, el orificio 635 para un sensor de luz dispersada y el orificio 605 para un sensor de luz transmitida.

20 La figura 11 es un recorte de un nefelómetro 590 que la trayectoria para la luz transmitida a través de la porción inferior 540 de la cubeta 500. La fuente de luz (570, figura 12) es recibida por un orificio 575 en un lado del receptáculo para cubetas 580 del nefelómetro 590. El orificio 575 recibe la fuente de luz. El sensor 600 (figura 12) está colocado en un orificio 605 directamente opuesto al orificio 575, con la porción inferior de la cubeta 540 colocada entre ambos. El nefelómetro tiene una tapadera 620.

25 La figura 12 es un recorte del nefelómetro 590 que muestra la trayectoria para la luz dispersada a través de la porción inferior 540 de la cubeta 500. La fuente de luz 570 (figura 12) está en un lado del receptáculo para cubetas 580 del nefelómetro 590. El sensor 630 (figura 10) está colocado en un orificio 635 ortogonal a la fuente de luz 570, con la porción inferior de la cubeta 540 colocada entre ambos.

30 La figura 13 es un recorte de nefelómetro 590 que muestra la trayectoria para la luz transmitida a través de la porción inferior 540 de la cubeta 500. La fuente de luz 570 es recibida por un orificio 575 en un lado del receptáculo para cubetas 580 del nefelómetro 590. Entre el sensor 600 y la cubeta 500 hay un filtro de atenuación de luz 640 que está colocado frente al detector de transmitancia para reducir la intensidad de la luz a un nivel utilizable para no saturar el sensor. El orificio 575 recibe la fuente de luz 570 y la lente 650 para enfocar la señal óptica. El sensor 600 está colocado en un orificio 605 directamente opuesto al orificio 575, con la porción inferior de la cubeta 540 colocada entre ambos.

35 En una realización, la muestra está dispuesta dentro de una cubeta y es procesada individualmente cuando se coloca en el interior del nefelómetro. Después de que la muestra es procesada y se obtienen valores de McFarland, la cubeta es retirada del nefelómetro y reemplazada por una nueva cubeta. En esta realización, el uno o más nefelómetros se hacen funcionar independientemente. En una realización alternativa, el nefelómetro está configurado para suministrar una serie continua de cubetas al nefelómetro para medición. Un canal 220 para cubetas lineal recibe una tira 300 de pocillos de cubeta 320 individuales (figura 4B). La tira es transportada a través del nefelómetro, que se detiene para que cada cubeta sea ópticamente interrogada para medición como se describe en detalle en otra parte en la presente memoria.

45 Los métodos de medición de la turbidez según la presente invención están automatizados. Los datos recopilados a partir de las mediciones pueden procesarse adicionalmente para generar resultados significativos. En estas realizaciones, la señal procedente de los detectores es alimentada a amplificadores de señales. La salida del amplificador es comunicada a un circuito convertidor de analógico a digital que emite una representación digital de la señal de entrada que se procesa a continuación usando diversos algoritmos para determinar si el valor medido está en el valor diana. Si el valor medido es mayor que el valor diana, entonces la muestra se diluye como se ha descrito anteriormente, y se vuelve a medir la turbidez. Tal medición de nuevo puede realizarse manualmente por un operador o de forma automatizada en donde la cubeta es transferida fuera del nefelómetro para dilución y transportada de vuelta al nefelómetro para una medición adicional. Los métodos para procesar la señal a una salida utilizable se desarrollan usando diluciones variables de diversas muestras biológicas y no biológicas y valores de McFarland asociados con las concentraciones de la suspensión. Estos datos se usan a continuación para producir conjuntos de datos que se analizan adicionalmente usando algoritmos que corrigen la linealidad y los desplazamientos de las curvas de datos para producir un valor de salida representativo para un valor de turbidez y se comparan con el valor diana. Este proceso se repite hasta que se obtiene la turbidez diana, como se describe en otra parte en la presente memoria.

60 El sistema 1000 también puede comprender una cinta transportadora cuya posición terminal puede formar la platina 2 para la placa de cultivo o una cinta transportadora y una platina 2 que pueden estar colocadas mutuamente de tal modo que una placa de cultivo pueda ser transportada sobre la platina y retirada de la platina mediante el funcionamiento apropiado de la cinta transportadora. La cinta transportadora está controlada por el controlador 30 para colocar y retirar automáticamente una placa de cultivo que comprende el microorganismo sobre y de la platina, respectivamente. Obsérvese que en otras realizaciones, no mostradas, pueden usarse diferentes medios para colocar

y retirar automáticamente una placa de cultivo sobre y de la platina, respectivamente. En particular, el controlador 30 está dispuesto para permitir que una placa de cultivo sea retirada automáticamente de la platina por el dispositivo de colocación y de retirada de placas de cultivo automático solo después de que se ha proporcionado la señal de que el tubo de suspensión con la suspensión puede retirarse del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional. Esto garantiza que siempre es posible recoger una muestra adicional, si fuera necesario.

Como se muestra en la figura 2, el aparato de la invención 1000 también puede comprender un dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático (no mostrado) para colocar y retirar automáticamente un tubo de suspensión en y del soporte de tubos de suspensión, respectivamente. Tal dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático puede incluir unos medios de sujeción para sujetar de forma liberable un tubo de suspensión 11. De nuevo, el controlador 30 puede estar dispuesto para estar conectado de forma comunicativa al dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático para controlar el funcionamiento del dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático, y para colocar automáticamente un tubo de suspensión 11 en el soporte de tubos de suspensión 10. El controlador 30 en particular está dispuesto para retirar automáticamente un soporte de tubos de suspensión del soporte de tubos de suspensión mediante el dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático solo después de que se ha proporcionado la señal de que el tubo de suspensión con la suspensión puede retirarse del soporte de tubos de suspensión para procesamiento adicional. El dispositivo de colocación y de retirada de tubos de suspensión automático puede ser móvil a lo largo del raíl 18 independientemente del movimiento del dispositivo de colocación 8. Pueden traerse tubos de suspensión 11, y tubos de suspensión con un medio de suspensión que contiene una concentración suficiente de microorganismo pueden entregarse a un equipo para procesamiento adicional, tal como una incubadora. Obsérvese que un sistema de pistas múltiples puede conducir el dispositivo de colocación y retirada de tubos de suspensión y el dispositivo de colocación 8 a diferentes ubicaciones en las que están presentes diferentes componentes o pueden realizarse diferentes procesos.

La suspensión de muestra preparada de este modo se usa para realizar caracterización o identificación de los microorganismos usando MALDI y opcionalmente se usa para otro análisis, tales como AST. Para identificar microorganismos usando MALDI, se obtiene una alícuota de la suspensión de muestra usando una herramienta de pipeteo o recogida y esta alícuota es transferida sobre la placa diana 42. Puede obtenerse una gota usando tal herramienta 46 que es sostenida por los medios de sujeción 49 del pipeteador 40 y a continuación, se le hace descender automáticamente en la suspensión en la posición A. Cuando se hace ascender esta herramienta 46 fuera de la suspensión, una gota de suspensión se pegará a la punta de esta herramienta 46, que puede transferirse a lo largo de la pista a la posición B, en donde se hace descender a la herramienta 46 con la suspensión hasta que la gota de suspensión contacta con el punto de depósito 44 en la placa diana 42. Al menos una parte de la suspensión permanecerá en el punto de depósito 44 después de que se ha hecho ascender a la herramienta 46 lejos de la placa diana 42. Como alternativa, la herramienta de recogida 6, puede usarse para recoger una cantidad de suspensión 14 a partir del tubo de suspensión 11, transferir esta cantidad a la posición B y depositar una gota de suspensión sobre la placa diana 42. Después de que una gota de suspensión se ha depositado sobre la placa diana 42, y en particular cuando se ha permitido que esta gota se seque, la solución de matriz de MALDI recubre automáticamente la cantidad o porción de la muestra depositada sobre la placa diana 42. Para realizar otros ensayos u otros análisis, una segunda gota de la suspensión de muestra puede obtenerse de forma similar, y una gota de este tipo puede transferirse automáticamente a y depositarse sobre, por ejemplo, una placa de cultivo de ensayo que es transferir además de forma automatizada para realizar un ensayo de susceptibilidad u otro análisis adicional.

En una realización, la solución de matriz es dispersada sobre la placa diana 42 en múltiples puntos. Esto mejora el rendimiento y reduce el coste de consumibles tales como pipetas y similares. En esta realización, un volumen suficiente de solución de matriz (es decir, una solución de matriz para muchos puntos diana) es aspirado al interior de una pipeta y esa pipeta se usa para dispensar múltiples puntos secuencialmente. Normalmente, dispensar volúmenes bajos de fluido en el intervalo de 1 μ l a 20 μ l requiere el contacto de la gota de fluido con la superficie para ser dispensada para permitir que la tensión superficial del fluido que contacta con la placa diana arranque la gota de la punta de pipeta 46. Durante el proceso de "desprendimiento" de la gota sobre la superficie de la placa diana, la punta de pipeta 46 puede tocar de forma involuntaria la superficie de la placa diana 42. Si la punta de pipeta 46 toca la placa diana 42 existe un riesgo de que porte material de muestra de un punto de la placa diana al siguiente, dando como resultado contaminación cruzada. En un esfuerzo por prevenir la contaminación cruzada, se integra detección capacitiva de líquido en el pipeteador 40 para detectar cuándo la gota toca la placa diana 42. La detección capacitiva de líquido se usa para realizar múltiples dispensaciones desde un único volumen de solución de matriz en una única pipeta según las siguientes etapas.

En primer lugar, se recoge una nueva punta de pipeta. Después de eso una punta seca es movida a la placa diana 42 y se toca la placa con la punta de pipeta 42 en una posición no diana para determinar y registrar la posición vertical (Z) precisa de la ubicación de interfaz de la placa diana respecto a la punta.

A continuación, un volumen suficiente de solución de matriz es aspirado a partir de un envase de reactivo de matriz. El envase tiene un tabique para impedir la evaporación de la solución de matriz. Después de la aspiración de solución de matriz y la punta es retirada del envase de matriz, el tabique retira cualquier fluido de matriz residual que pueda

haber revestido la punta 46. Esto garantiza que la gota se formará en el extremo de la punta cuando la solución de matriz es dispensada desde la punta y no se moverá hacia arriba por el lado de la punta 46.

5 La punta de pipeta 46 es movida a continuación hasta la placa diana 42. Se forma una gota en el extremo de la punta 46. La punta 46 es movida hacia abajo en la dirección vertical (Z) hasta que la gota toca el punto de la placa diana 44. Cuando la gota toca la placa, el circuito de detección capacitiva provoca una señal que indica que la gota está tocando la placa 42. La posición vertical (Z) de la punta 46 es comprobada para confirmar que la punta 46 no está tocando la placa 42. Si la punta 46 no está tocando la placa 42, el proceso de multi-dispensación continúa. Si la punta 46 está tocando la placa 42, la punta 46 será expulsada a la basura, se adquirirá una nueva punta, y la punta seca se moverá a posición hasta tocar la placa diana para establecer una nueva posición vertical (Z) de punta para tocar la palca diana y el proceso continúa hasta que todos los puntos diana 44 en la placa 42 son inoculados con solución de matriz.

OBTENCIÓN DE UNA MUESTRA PARA ID Y AST A PARTIR DE LA MISMA SUSPENSIÓN

15 La preparación de una suspensión a partir de una recogida de colonia que se usa para ensayo tanto de MALDI como de AST se describe en la patente de EE. UU. n.º 9.180.448 que es de cesión común con la presente solicitud. La descripción en la presente memoria puede referirse a un aparato de preparación de muestras (prep de muestras o estación de prep, en lo sucesivo) como un "Phoenix AP", o un sistema de AST como un BD Phoenix™ o referirse al sistema de espectrometría de masas como MALDI, pero debe entenderse que el significado estos términos no está limitado por el aparato que tiene estos nombres comerciales, sino que puede incluir aparatos que tienen una funcionalidad sustancialmente similar. Los aparatos que tienen funcionalidad sustancialmente similar puede incluir los sistemas de ID/AST Vitek (bioMerieux) y MicroScan (Siemens Healthcare).

20 En una realización, el aparato descrito en la presente memoria integra las capacidades de identificación microbiana de un instrumento de MALDI con las capacidades de AST y procesamiento de datos de un análisis de laboratorio o sistema de procesamiento tal como los sistemas Phoenix, Phoenix AP, BACTEC o EpiCenter.

25 Como se ha descrito anteriormente, se prepara una suspensión a partir de microorganismos tomados a partir de una placa preparada 3 o tomada a partir de un vial de cultivo sanguíneo. En una realización, los tubos de suspensión 11 están sobreinoculados con los microorganismos 4. Los tubos 11 se usan ventajosamente como la fuente tanto para ID como para AST. Esto garantiza que no solo la misma muestra del paciente, sino que también el mismo aislado, es sometido al ensayo de ID y AST.

30 La suspensión se prepara para una concentración adecuada para MALDI. Las suspensiones adecuadas para MALDI normalmente tienen un valor de McFarland de aproximadamente 2. Se usa un sistema automatizado para inocular el tubo de suspensión 11 con la herramienta de recogida 6, supervisar la turbidez, y procesar la suspensión para proporcionar una suspensión con la turbidez diana. Procesos automatizados para proporcionar suspensiones con turbidez diana se describen en detalle en la presente memoria. La suspensión se usa a continuación para inocular la placa de MALDI 42 como se ha descrito anteriormente. Como se indicó anteriormente, el sistema 1000, a través del uso de etiquetas y códigos legibles por una máquina asocia la placa de cultivo 3 con el tubo de suspensión 11 y la placa de MALDI 42. En una realización, el aparato lee el código de barras en la placa de MALDI 42 y escribe la ID de la placa en la etiqueta de RFID en la gradilla de tubos de suspensión. El sistema 1000, usando el pipeteador automatizado 40, añade automáticamente los reactivos de MALDI (por ejemplo, ácido fórmico, matriz, etc.) para preparar la suspensión dispensada sobre la placa de MALDI 42 para análisis, como se describe en la presente memoria.

35 El sistema 1000, que usa el pipeteador automático 40, o la boquilla de dispensación 13, dispensa a continuación solución adicional (por ejemplo, agua desionizada) al interior del tubo 11 y el nefelómetro 20 supervisa la turbidez para proporcionar una suspensión con una turbidez adecuada para AST u otro ensayo de diagnóstico (por ejemplo, ensayo molecular). El y método sistema automatizados para proporcionar una suspensión con turbidez diana se describen en detalle en la presente memoria y no se repiten. Para AST, la turbidez diana es de aproximadamente 0,5 McFarland y normalmente no menos de aproximadamente 0,25 McFarland. El pipeteador 40 transfiere a continuación una alícuota al tubo de AST 82. La etiqueta de RFID en la gradilla de tubos de ensayo se actualiza con el resultado del ajuste.

40 El tubo de AST 82, como se muestra en la figura 2, es soportado por un trasladador de tubos de AST 80. El trasladador de tubos de AST 80 es un robot generalmente dispuesto debajo de una plataforma de sistema 7 y está configurado para moverse en al menos dos dimensiones, como se ilustra mediante las flechas verticales y horizontales en la figura 2. En particular, el trasladador de tubos de AST 80 está configurado para sostener, tal como mediante un receptáculo o sujetador, un tubo de AST 82 y mover el tubo de AST 82 debajo de la plataforma 7 y mover el tubo de AST 82 entre posiciones predesignadas ubicadas en la estación de preparación 1030 y la estación de transferencia 1040, respectivamente. A este respecto, la plataforma 7 puede tener aberturas a través de las cuales el trasladador 80 puede hacer ascender y descender el tubo de AST 82 en estas posiciones predesignadas. Por supuesto, también está contemplado que un robot 50 sujetador de tubos suspendido podría mover el tubo de AST 82 entre la estación de preparación 1030 y la estación de transferencia 1040 desde una posición suspendida por encima de la plataforma 7, en lugar de por debajo de la plataforma 7.

El tubo de AST 82 puede almacenarse dentro de la estación 1040. Antes de la transferencia de una alícuota al tubo de AST 82, el robot 50 sujetador de tubos sujeta el tubo de AST 82 mediante los medios de sujeción 59 y mueve el tubo 82 desde su posición de almacenamiento hasta un lector de códigos de barras para registrar el tubo 82 con el controlador 30. Seguidamente, el robot sujetador 50 entrega el tubo 82 al robot trasladador 80. El robot 80 transborda a continuación el tubo 82 debajo de la plataforma 7 hasta una posición C ubicada en la estación de preparación 1030 en donde el tubo 82 está ascendido al menos parcialmente por encima de la plataforma. El pipeteador 40 recupera a continuación una alícuota de la suspensión diluida a partir del tubo 11, se mueva a la posición C, y a continuación inocula el tubo de AST 82 con la alícuota en la posición C. El trasladador de tubos 80 transborda a continuación el tubo 82' con la suspensión en su interior de vuelta a la estación de transferencia 1040, como se representa mediante la figura 2.

Mientras está en la estación 1040, otro pipeteador 60 recupera una alícuota de la suspensión del tubo de AST 82'. Antes de la recuperación de esta alícuota, un robot de transferencia de cartuchos 70 sujeta un cartucho de AST vacío 90 mediante unos medios de sujeción 79 y transfiere el cartucho 90 desde una ubicación de almacenamiento hasta una unidad de llenado de cartuchos 78 que incluye una estructura de soporte de cartuchos para soportar el cartucho 90. La unidad 78 puede ser móvil para hacer pivotar al cartucho 90 desde una configuración vertical hasta una configuración inclinada, como se muestra, para facilidad de inoculación. Un destapador (no mostrado) también puede retirar una tapa que sella el cartucho 90 antes de la inoculación. El pipeteador 60 inocula automáticamente a continuación el cartucho de AST 90 con la suspensión diluida. Tanto el tubo de suspensión de AST 82 como el cartucho de AST 90 portan códigos que permiten la asociación de la suspensión sometida a análisis de AST con la recogida a partir de la cual se preparó la suspensión. El aparato tiene un sistema de gestión de datos que asocia los cartuchos con la suspensión usada para inocular el cartucho 90. El sistema 1000 lee la ID de la placa de MALDI y las posiciones de la placa para cada suspensión y realiza las asociaciones necesarias con la colonia recogida a partir de la placa de cultivo identificada 3 con la suspensión preparada para ello y la placa de MALDI 42 y se coloca sobre la placa 42 inoculada con la suspensión pertinente y el tubo de suspensión de AST 82 y el cartucho de AST 90 inoculado con la suspensión de AST. Se proporciona automatización para inocular el cartucho de AST y para transportar el cartucho inoculado hasta un instrumento de análisis que realiza AST en el cartucho inoculado. Un instrumento de transferencia de cartuchos ilustrativo para mover automáticamente un cartucho inoculado 90 al interior de y retirar un cartucho analizado de un instrumento de análisis de AST se describe a continuación.

PREPARACIÓN DE UNA PLACA DE MALDI USANDO UNA TÉCNICA DE DISPOSICIÓN EN CAPAS

En una realización de la presente invención, la suspensión se deposita automáticamente sobre la placa de MALDI 42 usando un método de dispensación/disposición en capas. Este método se describe en la solicitud provisional de EE. UU. n.º 62/038.509 presentada el 18 de agosto de 2014 titulada *Method Of Sample Preparation For Maldi* y de cesión común con la presente solicitud, que se presentó como el documento PCT/US21015/45506 publicado como WO2016028684.

En el método de dispensación/disposición en capas en solución descrito en la presente memoria, la suspensión bacteriana que se dispensará se evalúa en primer lugar para determinar su turbidez como se describe en otra parte en la presente memoria.

La suspensión bacteriana se crea como se describe en otra parte en la presente memoria. El método de dispensación/disposición en capas en solución requiere, tal como implica su nombre, la formación de dos o más capas de solución para la identificación mediante MALDI. Un volumen de muestra seleccionado es dispensado sobre la placa de MALDI 42 y secado. Posteriormente, al menos una segunda alícuota de suspensión es dispensada (preferiblemente el mismo volumen) sobre la suspensión seca. La dispensación se consigue usando los métodos automatizados descritos anteriormente. La segunda alícuota dispensada se seca. Opcionalmente, pueden depositarse y secarse más capas de suspensión. Después de que la capa final de las dos o más capas se seca, la muestra es procesada para MALDI (por ejemplo, añadiendo ácido fórmico y a continuación aplicando la matriz sobre la muestra como se describe en la presente memoria). La muestra es evaluada a continuación mediante MALDI. Se ha determinado que el método de dispensación/disposición en capas en solución proporciona resultados de MALDI aceptables para muestras líquidas con valores de turbidez de McFarland significativamente menores de 2,0 para bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas.

Por ejemplo, en una realización, si la suspensión bacteriana líquida (preparada a partir de una colonia bacteriana recogida de una placa de agar y suspendida en agua (calidad de espectrometría de masas) como se hizo referencia anteriormente, tiene un valor de 0,5 McFarland, ese valor está significativamente por debajo del valor de 2,0 McFarland, lo cual es una indicación de que la preparación de muestras de dispensación/disposición en capas en solución debe usarse para preparar esta muestra para MALDI.

Después de decidir usar dispensación/disposición en capas en solución para preparar la muestra para MALDI, se selecciona la cantidad de suspensión por capa. En el ejemplo anterior con una muestra que tiene un valor de McFarland de 0,5, se selecciona el volumen por capa de al menos aproximadamente 3 µl pero que no supera

aproximadamente 4 µl. El número de capas está regido por el valor de turbidez y el volumen de muestra. Una vez que el volumen de la capa se selecciona y se deposita sobre la placa de MALDI, la muestra se seca. Las condiciones exactas de secado son una cuestión de elección del diseño y se seleccionan para proporcionar secado rápido mientras se preserva la integridad de la muestra para ensayo de MALDI. Las condiciones de secado adecuadas son determinadas fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, las etapas de secado pueden completarse a temperatura ambiente o con la asistencia de una placa caliente (de forma ilustrativa, de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 45 °C). Después del secado, una segunda capa de suspensión se deposita sobre la primera capa. La segunda capa tiene el mismo volumen que la primera capa. Si fuera necesario, se añaden y se secan capas adicionales. Dado que el método de disposición en capas requiere tiempo y recursos adicionales, el número de capas está limitado a ese número necesario para obtener resultados precisos a partir de MALDI.

Siguiendo el depósito de muestras por dispensación/disposición en capas en solución, el pocillo diana de muestra se procesa usando el procedimiento MALDI típico (adicional de ácido fórmico al 70 % y matriz).

Se ha determinado que el proceso de preparación de muestras para MALDI depende de diversos factores, pero de la forma más significativa: i) la concentración de los microorganismos en la suspensión; ii) el volumen de la suspensión; y iii) si es aplicable, el número de dispensaciones. La concentración microbiana es reflejada por la turbidez de la muestra. Aproximadamente, cuanto mayor sea la turbidez, mayor será la concentración microbiana.

La turbidez se mide mediante nefelometría, como se describe en otra parte en la presente memoria. Una vez que la turbidez de la suspensión se ha valorado como se ha descrito anteriormente, se toma una decisión sobre cómo abordar la preparación de muestras para MALDI. Una determinación de este tipo se realiza evaluando la información de turbidez y el volumen de muestra. En estas realizaciones, la información de la muestra se introduce en una base de datos. La base de datos (preprogramada con información respecto a la preparación de muestras más adecuada para la muestra particular) emite el método recomendado para preparación de muestras de MALDI.

En el sistema automatizado, un procesador controla el protocolo de preparación de MALDI, dependiendo de la información que el procesador recibe respecto a la muestra. El procesador del sistema compara la turbidez medida con un umbral de turbidez predeterminado como se describe en la presente memoria. Si el procesador determina que la turbidez de la muestra está dentro del intervalo predeterminado de valores de turbidez, a continuación el procesador proporciona instrucciones para transferir un volumen predeterminado de la muestra diluida a la placa de MALDI 42. El sistema automatizado prepara la muestra para MALDI (es decir la adición de ácido fórmico para fijar la muestra, seguida por la aplicación de solución de matriz de MALDI sobre la muestra antes de MALDI como se describe en otra parte en la presente memoria) basándose en instrucciones procedentes del procesador. Si el procesador determina que la turbidez está por encima del intervalo predeterminado, el procesador proporciona instrucciones para preparar una muestra de MALDI usando menos que el volumen típico (es decir si normalmente se depositan 0,5 µl sobre la placa de MALDI 42, solo se depositan 0,25 µl sobre la placa de MALDI 42 en lugar de para las muestras de alta turbidez). Si el procesador determina que la turbidez está por debajo del intervalo predeterminado, la muestra se deposita en capas sobre la placa de MALDI 42, con secado de la muestra entre depósitos. Como se indicó anteriormente, dado que el método y el aparato descritos en la presente memoria son realizaciones completamente automatizadas, el sistema usa el pipeteador automático descrito anteriormente descrito en la presente memoria para dispensar la suspensión sobre la placa de MALDI 42 basándose en instrucciones procedentes del procesador.

La figura 14 ilustra el flujo del proceso para el proceso automatizado de múltiples dispensaciones de suspensión sobre una placa de MALDI 42. La suspensión se prepara automáticamente y su turbidez se valora, como se describe en otra parte en la presente memoria. Si la turbidez medida está dentro de un intervalo predeterminado, una alícuota con un volumen predeterminado se deposita sobre la placa de MALDI. Si la turbidez medida es más elevada que un intervalo predeterminado, entonces un volumen de muestra más pequeño se deposita sobre la placa de MALDI 42. Si la turbidez medida es menor que el intervalo predeterminado, entonces se usa el protocolo de preparación de muestras descrito anteriormente usando múltiples dispensaciones con secado entre dispensaciones.

En una realización ilustrativa, se obtiene una muestra y se prepara una suspensión. Se mide la turbidez. Si la turbidez (en McFarland) está entre aproximadamente 2 y aproximadamente 6, aproximadamente 3 µl se depositan sobre la placa de MALDI 42. Si la turbidez de la muestra es mayor que aproximadamente 6 µl, entonces la cantidad de muestra depositada sobre la placa de MALDI 42 se reduce a aproximadamente 1 µl. Si la turbidez de la muestra es menor que aproximadamente 2 pero está en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 2, entonces aproximadamente 3 µl de muestra se depositan sobre la placa de MALDI 42, se secan y unos segundos 3 µl de muestra se depositan y se secan. Si la turbidez de la muestra si de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1, entonces tres "capas" de suspensión, cada una de aproximadamente 3 µl, se depositan y se secan. Si la turbidez de la muestra es de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 0,5, entonces 4 "capas" de suspensión (de 3 µl cada una) se depositan y se secan.

Después de que la muestra se ha depositado y secado, las muestras se procesan para MALDI como se describe en otra parte en la presente memoria.

Cada tubo de suspensión comprende una marca de identificación única, que se almacena junto con las propiedades de la suspensión con un enlace a la identidad de la placa de cultivo a partir de la cual se obtuvo la colonia de microorganismos seleccionada en la memoria del ordenador de control central para, entre otras cosas, enlazar correctamente y de forma rápida los resultados de análisis obtenidos con la placa de cultivo y la colonia que concierne a los resultados.

En otras realizaciones adicionales más, el sistema tiene un intervalo predeterminado de turbidez en donde no se requerirán diluciones para MALDI o AST. Si la turbidez está dentro de este intervalo predeterminado (por ejemplo, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2 McFarland), entonces la suspensión puede usarse para inocular la placa de MALDI 42 usando el método de disposición en capas descrito anteriormente (si la concentración de la suspensión no es suficientemente alta, de tal modo que una dispensación bastará). En esta realización, el volumen de la suspensión inoculado en el tubo de suspensión también se modifica dependiendo de la turbidez medida. Por ejemplo, si el valor de McFarland para la suspensión es 0,5, entonces un volumen de 25 µl se inocula en el tubo de suspensión. Para esa misma especificación entonces, si el nefelómetro mide una suspensión de 1 McFarland, entonces solo se usarían 12,5 µl de esa suspensión. Ambas dispensaciones suministran aproximadamente la misma cantidad de microorganismos al interior del tubo de suspensión 11, pero el volumen de la suspensión de 0,5 McFarland es dos veces el volumen de la suspensión de 1 McFarland. Existe, por lo tanto, una relación inversamente proporcional entre el valor de McFarland de la suspensión y el volumen de la suspensión inoculado en el tubo de AST 82. Cuanto mayor sea el valor de McFarland, menor será el volumen de la suspensión que es inoculado en el tubo de suspensión 11. Esto es porque, para AST, es la cantidad del microorganismo inoculada en el tubo 11, y no el volumen, la que determina si la cantidad dispensada es adecuada. Si el nefelómetro 20 determina que la suspensión está dentro del intervalo predeterminado, la información es comunicada al controlador 30, que determina a continuación si la dispensación sobre la placa de MALDI 42 debe realizarse mediante el método de disposición en capas o si una única dispensación es suficiente. El controlador 30 también determinará el volumen de suspensión a dispensar al interior del tubo de AST 82 haciendo referencia a una tabla de consulta que especificará la cantidad dispensada en función de la turbidez medida.

La inoculación de un cartucho para AST se describe en la patente de EE. UU. n.º 6.096.272 de Clark y col. En la práctica, la suspensión se inocula en un fluido de inóculo de AST que se transfiere a continuación al interior del cartucho de ensayo 90 usando los mecanismos automatizados para la transferencia de fluido descrito anteriormente. Los cartuchos de AST 90 están inclinados con los orificios de inoculación en la parte superior para llenado (véase la figura 25). Cada pocillo en el cartucho de AST 90 es inoculado con el fluido de inóculo de AST. El inóculo fluye hacia abajo por el cartucho de AST de forma serpentina, llenando los pocillos a medida que el frente de líquido avanza hacia una almohadilla absorbente. Cada pocillo está ventilado, lo que permite que el líquido llene el pocillo. Cada pocillo tiene un reborde circular afilado para separar una cantidad consistente de líquido del exceso y para aislar cada pocillo del líquido en los pocillos adyacentes 31. La almohadilla absorbe el exceso de líquido.

Como se muestra en la figura 2, puede tomarse una cantidad de suspensión de la suspensión en el tubo de suspensión por medio de una herramienta de pipeteo 46 que puede ser sostenida y colocada automáticamente por los medios de sujeción (que funcionan como soporte de herramienta de pipeteo) 49. El pipeteador 40 está dispuesto para colocar la herramienta de pipeteo 46 en una posición de partida por encima del tubo de suspensión 11 y para hacer descender y ascender automáticamente la herramienta de pipeteo 46 al interior y fuera de la suspensión y para colocar la herramienta de pipeteo 46 en una posición de transferencia B por encima de la placa de MALDI 42, respectivamente. Cuando se hace descender a la herramienta de pipeteo 46 al interior de la suspensión en el tubo de suspensión 11, la herramienta de pipeteo 46 es manejada de una forma conocida per se (por ejemplo, usando subpresión) para recoger una cantidad de suspensión. Seguidamente, se hace ascender a la herramienta de pipeteo con la cantidad de suspensión hasta la posición de transferencia. Para contener la cantidad, la herramienta de pipeteo comprende una cámara presurizable cerrada por una válvula controlada. La herramienta de pipeteo 46 es transferida automáticamente a la posición B por encima de uno de los puntos de depósito 44 de la placa diana 42. En esta posición, se hace descender a la herramienta de pipeteo 46 a una distancia predefinida por encima de la placa diana 42, después de lo cual la cámara es presurizada a una presión en un intervalo de aproximadamente 0,5 bares a 1,1 bares. La válvula se abre a continuación durante un tiempo tal que una gota de suspensión con un volumen en un intervalo de aproximadamente 0,5 a 3,0 µl se deposite sobre el punto de depósito 44, en particular cubriendo como máximo aproximadamente la mitad de uno de los puntos de depósito de la placa diana 42. Después de que se ha depositado la gota, se hace ascender a la herramienta de pipeteo 46 desde la placa diana 42 y puede ser transferida a una posición en la que puede desecharse o limpiarse para reutilizarla.

La figura 19 muestra un diagrama de flujo que compara una cronología del proceso automatizado de la figura 18 con una cronología de un proceso realizado manualmente comparable. Se muestra que el proceso manual tarda hasta 48 horas, y requiere un período de incubación de 18-24 horas, solo después del cual es evaluada la placa para el crecimiento. En cambio, dado que el proceso automatizado puede detectar incluso el contraste relativamente malo entre colonias (en comparación con el fondo y entre sí), solo son necesarias 12-18 horas de incubación antes de que la muestra pueda identificarse y prepararse para ensayo adicional (por ejemplo, AST, MALDI).

A continuación, se describen aspectos adicionales de las realizaciones descritas previamente. La interfaz de usuario

descrita previamente proporciona una imagen de la placa de cultivo al usuario. El usuario puede interactuar con la interfaz para recoger colonias de interés de la placa.

5 Cuando el usuario selecciona una colonia, el aparato proporciona elecciones en el menú para que el usuario seleccione uno de MALDI, AST o ambos para el procesamiento de la muestra. Basándose en el tamaño de la herramienta de recogida (es decir la pipeta descrita en otra parte en la presente memoria) el aparato proporciona una tolerancia de recogida para garantizar que la colonia es recogida en una zona designada. La recogida se bloquea a continuación sobre la diana y las colonias son recogidas. En una realización, el diámetro de la tolerancia de recogida es de 5 mm. Con una herramienta de recogida que tiene un diámetro de 3 mm esta distancia garantiza que una zona de 1 mm de diámetro en la zona de tolerancia de recogida será recogida. Las selecciones de procesamiento son enviadas al controlador para permitir rastrear el procesamiento de la muestra.

15 La visión de conjunto del sistema en las figuras 1-3 ilustra ubicaciones de preparación de identificación (MALDI-TOF) y AST (susceptibilidad a antibióticos) y una pantalla táctil de interfaz de usuario 1006. La figura 2 ilustra la placa 3 con colonias 4 sobre ella que están siendo designadas para su recogida siendo movidas a la estación de recogida 1020 del sistema. La placa 3 está alineada para la recogida de colonias de la forma descrita anteriormente en la presente memoria. La placa 3 es sometida a un barrido a continuación para trazabilidad.

20 A continuación, se retira la tapadera de la placa y la herramienta de recogida de pipeta 6 es movida sobre las colonias seleccionadas 4. El dispositivo de colocación 8 mueve la herramienta de recogida de pipeta 6 desde la posición de recogida hasta la posición de inoculación A en donde las colonias se colocan en el interior del tubo de suspensión 11 como se ha descrito anteriormente. Los tubos o cubetas se han descrito anteriormente en la presente memoria. La pipeta 6 lleva la muestra al interior del tubo 11 que tiene el líquido de suspensión ya presente en su interior. La cantidad relativa de suspensión está controlada de tal modo que la suspensión cumpla los estándares de McFarland predeterminados como se ha descrito anteriormente en la presente memoria.

30 Justamente al igual que las muestras, suspensiones, etc., son rastreables por todo el procesamiento en el método y aparato descritos en la presente memoria, también lo son los consumibles en el aparato y el método mediante un código de barras. El aparato proporcionará un control del inventario completamente automatizado de consumibles dentro del aparato.

35 Cuando la suspensión se deposita sobre la placa diana de MALDI 42, puede depositarse en capas como se describe en otra parte en la presente memoria. El secado de la muestra y la extracción con ácido fórmico también se ha descrito anteriormente. El depósito de los puntos de MALDI sobre la placa diana 42 seguido por depósito de la solución de matriz está automatizado como se ha descrito anteriormente.

40 Después de que la alícuota para MALDI se obtiene de la suspensión, la suspensión se usa además para inoculación de los tubos 82 para ensayo de AST. En una realización, se usa una pipeta 46 más grande para la inoculación del tubo de AST que para la recogida de colonias. En una realización, se usan pipetas de 50 µl para la recogida de colonias y se usan puntas de pipeta de 1 ml para preparar la suspensión para AST. La turbidez diana para AST en una realización es de 0,5 McFarland (McF). Los tubos de AST con caldo de AST en su interior se extraen de una gradilla. En una realización, los tubos de caldo también contienen azul de Alamar (Alamar Biosciences, Sacramento, Calif.). El azul de Alamar es un indicador colorimétrico de oxidación-reducción que cambia de tonalidad de un azul oscuro a un rosa claro en presencia de organismos en crecimiento metabólicamente activos. El uso de azul de Alamar en los análisis de susceptibilidad es bien conocido por el experto en la técnica y no se describe en detalle en la presente memoria. El tubo de AST 82 es sometido a barrido como una ilustración de la trazabilidad de consumibles, reactivos y muestra en todo el sistema. La tapa es retirada del tubo de caldo de AST usando un destapador y a continuación, se desecha la tapa, después de lo cual el tubo de caldo de AST 82 es transferido a una posición en la que un panel de AST 90 es inoculado. La posición de inoculación se ilustra en la figura 2. La figura 2 ilustra el pipeteador automático 60 usado para inocular el panel de AST 90 con el caldo de AST en el frasco de la izquierda. Se proporciona colorante para cambiar el color del caldo. La figura 2 ilustra la pipeta 46 que se usa para inocular el tubo de AST con la suspensión de 0,5 McF. La figura 2 ilustra que la pipeta 46 se usa para mezclar la suspensión en el tubo de AST 82 aspirando y dispensando repetidamente la solución.

55 La figura 2 ilustra la automatización de proporcionar el panel de AST 90 (otro consumible) para inoculación. La figura 2 también ilustra la inoculación del panel de AST 90. El retapado del panel de AST 90 también está automatizado. La figura 2 ilustra, por lo tanto, cómo el aparato que proporciona un proceso sin interrupciones y el flujo de trabajo para la preparación de muestras tanto para ID como para AST. El sistema 1000 puede configurarse como modular, realizando solo uno de identificación (MALDI-TOF), susceptibilidad a antibióticos (AST) o ambos. Se contempla que el aparato descrito en la presente memoria puede integrarse con sistema más grandes tales como Work Cell Automation de Total Lab Automation.

TRANSFERENCIA DE CARTUCHOS

65 En este sentido, el sistema 1000 puede usarse junto con otros sistemas/instrumentos de laboratorio para ayudar a

automatizar completamente la preparación y el análisis de muestras. Como se muestra en la figura 20, el sistema 1000 puede utilizarse junto con un instrumento de transferencia de cartuchos 2000 automatizado y uno o más instrumentos 2050a-d de análisis de cartuchos. Como se ha descrito anteriormente, el sistema 1000 puede preparar automáticamente cartuchos de AST 90 para análisis. En la realización representada, el instrumento de transferencia de cartuchos 2000 está configurado particularmente para transportar tales cartuchos de AST 90 preparados desde el sistema 1000 a uno de una pluralidad de instrumentos 2050a-d de análisis de cartuchos de AST.

El cartucho de AST 90, como se muestra en las figuras 21, 25 y 26, puede ser cualquier cartucho disponible para analizar un analito/inóculo. Por ejemplo, el cartucho 90 puede ser cualquier cartucho para realizar un ensayo de susceptibilidad a antibióticos, tal como el panel de ID/AST BD Phoenix™ (Becton, Dickinson, and Co., Franklin Lakes, NJ). Se use el cartucho que se use, tal cartucho 90 generalmente incluye una entrada 95 para inocular un espacio interno del cartucho 90 con un analito, que puede incluir una suspensión microbiana o cultivo sanguíneo, por ejemplo. Tal entrada 95 puede sellarse mediante una tapa amovible o un tabique 99. Por ejemplo, el sistema 1000 puede incluir un tapador/destapador (no mostrado) dentro de la estación de transferencia 1040 que destapa y vuelve a tapar la tapa amovible 99.

Como se ilustra en la figura 21, el controlador 30 está acoplado al sistema 1000 (como se ha descrito anteriormente con respecto a la figura 3), el instrumento de transferencia de cartuchos 2000 e instrumentos de análisis de cartuchos 2050. El controlador 30 coordina y controla cada uno de estos sistemas/instrumentos 1000, 2000, 2050a-d para realizar la preparación del cartucho, la transferencia del cartucho y el análisis de la muestra. A este respecto, el controlador 30 está configurado para realizar ciertas tareas dependiendo del tipo de carga y descarga del instrumento de análisis de cartuchos 2050. Por ejemplo, el controlador 30 puede estar configurado para permitir la distribución/transferencia manual y/o automática del cartucho 90 desde el sistema de preparación 1000 al instrumento de análisis de cartuchos 2050, carga manual y/o automática del instrumento de análisis 2050 y retirada manual y/o automática del cartucho 90 del instrumento de análisis 2050, que puede ser, a continuación, transferido manual o automáticamente al almacenamiento 2006 o la basura 2004. El controlador 30 puede estar en forma del ordenador de escritorio representado, incorporado en un panel de pantalla táctil, tal como el panel 1006 representado en la figura 1 o en alguna otra forma como se conoce en la técnica. Como alternativa, pueden utilizarse múltiples controladores. Por ejemplo, el controlador 30 puede estar conectado al instrumento 1000 y al instrumento de transferencia de cartuchos 2000, mientras que otro controlador (no mostrado) puede estar conectado por separado al instrumento de análisis 2050. Tales controladores pueden comunicarse entre sí para coordinar la transferencia del cartucho.

INSTRUMENTO DE TRANSFERENCIA DE CARTUCHOS

El instrumento de transferencia de cartuchos 2000, como se muestra de la mejor forma en la figura 20, puede ser un robot multiaxial que incluye un brazo de eje z 2010, un brazo de eje x 2012, un miembro de rotación 2014, un conjunto sujetador de cartuchos 2015, y una bomba de vacío 2002. El conjunto sujetador de cartuchos 2015 está conectado al miembro de rotación 2014 que puede rotar el conjunto sujetador de cartuchos 2015 para orientar el sistema 1000 en una orientación y para orientar los instrumentos de análisis 2050a-d en otra dirección. A este respecto, el miembro de rotación 2014 puede rotar el conjunto sujetador de cartuchos al menos 180 grados alrededor de un eje z. El miembro de rotación 2014 y el conjunto sujetador de cartuchos 2015 pueden estar conectados al brazo de eje x 2012, que, a su vez, está conectado al brazo de eje z 2010. El brazo de eje z 2010 puede mover el conjunto sujetador de cartuchos 2015 en una dirección vertical para acceder a uno cualquiera de los instrumentos de análisis 2050a-d que se representan estando apilados en una disposición vertical. Adicionalmente, el brazo de eje x 2012 puede mover el conjunto sujetador de cartuchos 2015 en un eje x entre el sistema 1000 y los instrumentos 2050a-d.

Las figuras 22-24 representan el conjunto sujetador de cartuchos 2015 que generalmente incluye un brazo móvil 2030, un brazo de soporte 2038, y una placa/miembro de sujeción 2020. El brazo móvil 2030 está suspendido desde el brazo de soporte 2038 y es móvil con respecto al brazo de soporte 2038 a lo largo de un eje del mismo, tal como mediante un mecanismo de cremallera y piñón. El brazo móvil 2030 incluye una superficie superior curvilínea 2034, como se muestra de la mejor forma en la figura 23. La placa de sujeción 2020 está acoplada de forma pivotante al brazo móvil 2030 adyacente a la superficie superior curvilínea 2034 y pivota alrededor de un eje de un acoplamiento 2036 que conecta los dos. La superficie superior curvilínea 2034 ayuda a guiar y soportar la placa de sujeción 2020 a medida que pivota entre una primera posición y una segunda posición.

La función de pivotamiento de la placa de sujeción 2020 alrededor de un eje de pivotamiento se consigue además a través del uso de un resorte de torsión 2035, que se representa en la figura 23. El resorte de torsión 2035 está enrollado alrededor del acoplamiento 2036 que acopla la placa de sujeción 2020 con el brazo móvil 2030. De esta forma, a medida que una fuerza es aplicada a la placa de sujeción 2020 y la placa de sujeción 2020 pivota desde la primera posición hasta la segunda posición, la tensión en el resorte de torsión 2035 aumenta. A medida que la tensión aumenta, la energía potencial en el resorte de torsión 2035 aumenta para ser solicitado hacia la primera posición. A este respecto, la energía potencial del resorte 2035 en la configuración representada es la más baja cuando la placa de sujeción 2020 está inclinada hacia atrás a la primera posición o posición de reposo, de tal modo que una superficie de contacto con cartucho 2026 de la misma es oblicua con respecto a un eje vertical, como se muestra de la mejor forma en la figura 23. En la primera posición, la superficie de contacto con cartucho 2026 está preferiblemente

aproximadamente a 30 grados con respecto a un eje vertical. Sin embargo, se contempla que el ángulo de la placa de sujeción 2020 pueda ser de más o menos de 30 grados cuando está en la posición de reposo.

Una fuerza aplicada a un extremo inferior de la placa 2020 puede hacer que la placa de sujeción 2020 se mueva hacia la segunda posición o una posición de transferencia (no mostrada) desde la posición de reposo. Cuando está en la segunda posición, el resorte 2035 es tensionado de tal modo que cuando la fuerza es liberada a partir de la parte inferior de la placa 2020, la placa vuelve a la posición de reposo. En la segunda posición, la superficie de contacto con cartucho 2026 de la placa de sujeción está situada en un ángulo diferente respecto al de la primera posición. Por ejemplo, la placa de sujeción 2020 está orientada, de tal modo que la superficie de contacto con cartucho 2026 es preferiblemente sustancialmente vertical en la segunda posición. Sin embargo, la segunda posición puede ser casi cualquier ángulo en el intervalo de pivotamiento desde la primera posición y es generalmente cualquier ángulo en el que el cartucho 2020 se pone en contacto a ras con una superficie opuesta 2072. La superficie opuesta 2072, como se muestra en la figura 22, es una superficie de una estructura de soporte de cartuchos 2070 que recibe el cartucho 2070 desde el conjunto sujetador 2015 o entrega el cartucho 90 al conjunto sujetador 2020. Tal estructura de soporte de cartuchos 2070 puede estar ubicada en los instrumentos de análisis 2050 y también en el instrumento 1000. Como alternativa, la estructura de soporte de cartuchos puede ser una bandeja, tal como la bandeja 2040 mostrada en la figura 26. De este modo, como se ha descrito, la placa de sujeción 2020 puede pivotar entre una posición de reposo y la posición de transferencia. Es la capacidad de la placa de sujeción de cartuchos 2020 para pivotar la que permite que la placa de sujeción 2020 sujete, recupere, reubique y libere objetos, tal como cartucho de AST 90.

La superficie de contacto con cartucho 2026 está adaptada para sujetar el cartucho 90 tras el contacto con el mismo. En un ejemplo, la sujeción se consigue a través de la aplicación de presión neumática negativa sobre la superficie de contacto con cartucho 2026 de la placa de sujeción 2020. Para obtener presión neumática negativa, una ventosa 2028 se embebe en la superficie de contacto con cartucho 2026 de la placa (véase la figura 24) y está conectada a un conducto neumático 2037 alimentado a través de una abertura en la placa 2026 que suministra el vacío a partir de la bomba de vacío 2002 (véase la figura 20).

En un método de uso, se hace avanzar a la placa de sujeción 2020 hacia una primera estructura de soporte de cartuchos 2070, que puede estar ubicada en el sistema 1000, mediante el brazo móvil 2030 mientras que la placa de sujeción 2020 está en la primera posición (véase la figura 22). A este respecto, un borde inferior de la placa de sujeción 2020 alcanza el cartucho 90 y contacta con el cartucho 90 en primer lugar, antes que cualquier otra porción de la placa de sujeción 2020. Hacer avanzar la placa de sujeción 2020 hacia el cartucho 90 de esta forma ayuda a que la placa de sujeción 2020 encaje de forma apareada el cartucho 90 y desprenda el cartucho 90 del soporte de cartuchos 2070. Cuando la placa de sujeción 2020 contacta con el cartucho 90, el brazo móvil 2030 continúa avanzando, lo que aplica una fuerza sobre el resorte de torsión y hace que la placa de sujeción 2020 pivote desde la primera posición hasta la segunda posición. La segunda posición se alcanza cuando la superficie de contacto con cartucho 2026 de la placa de sujeción 2020 está casi a ras con la superficie opuesta estacionaria 2072 que retiene el cartucho 90. En la segunda posición, la superficie de contacto con cartucho 2026 también está generalmente a ras con una superficie del cartucho 92 (véase la figura 25) de tal modo que la presión de vacío empuja al cartucho 90 contra la placa de sujeción 2020 y retiene la placa de sujeción 2020 sobre él.

Seguidamente, cuando el cartucho 90 está fijado a la placa de sujeción 2020, el conjunto sujetador 2015 se aleja de la estructura de soporte de cartuchos 2070, lo que retira la fuerza que retiene la placa 2020 en la segunda posición, lo que hace que la placa de sujeción 2020 y el cartucho 90 vuelvan a la primera posición bajo la sollicitación del resorte 2036. Esto ayuda a retirar el cartucho 90 de la estructura de soporte de cartuchos 2070. Adicionalmente, el brazo móvil 2030 se mueve a lo largo del brazo de soporte 2038 en una dirección lejos de la estructura de soporte de cartuchos 2070, de tal modo que una superficie de paragolpes 2039 (véase la figura 24) en el brazo de soporte 2038 empuja contra una superficie superior del cartucho 90 que está sostenida por la placa de sujeción 2020. Esto hace que la placa de sujeción 2020 sea pivotada de vuelta a la segunda posición de tal modo que el cartucho 90 esté orientado en una orientación sustancialmente vertical. Esto proporciona holgura desde la estructura de soporte de cartuchos 2070 para que el conjunto sujetador 2015 sea rotado por el miembro de rotación 2014, de tal modo que el cartucho 90 pueda ser transportado a otra estructura de soporte de cartuchos 2070 para recepción del mismo.

A este respecto, el miembro de rotación 2014 rota el conjunto sujetador hacia una segunda estructura de soporte de cartuchos 2070, que pueden estar ubicadas dentro de un instrumento de análisis 2050. La rotación de esta forma permite que la placa de sujeción 2020 sea presentada a la segunda estructura de soporte de cartuchos 2070. Cuando está alineado con la segunda estructura de soporte de cartuchos 2070, se hace avanzar al brazo móvil 2030 hacia la estructura de soporte 2070 que desencaja la superficie de paragolpes 2039 del cartucho liberando de ese modo la fuerza que retiene el cartucho 90 y la placa de sujeción 2020 en la segunda posición. Esto hace que el cartucho 90 y la placa 2020 se muevan a la primera posición a medida que avanza hacia la segunda estructura de soporte 2070. A este respecto, un extremo inferior del cartucho 90 es recibido en primer lugar por la segunda estructura de soporte de cartuchos 2070. A medida que el brazo móvil 2030 avanza más, la resistencia aplicada por la segunda estructura de soporte de cartuchos 2070 ayuda a pivotar el cartucho 90 hacia la segunda posición, de tal modo que esté generalmente a ras con una superficie de recepción 2072 de la estructura de soporte 2070. En este punto, el cartucho 90 es recibido por la estructura de soporte 2070, y se apaga el vacío que permite que la placa de sujeción 90 se aleje

y vuelva a la primera posición.

Se contemplan características alternativas del conjunto sujetador de cartuchos 2015. Por ejemplo, en otra realización, la función de pivotamiento de la placa de sujeción 2020 se suministra a través del uso de un resorte de compresión (no mostrado). El resorte de compresión se coloca entre la placa de sujeción 2020 y una superficie inferior 2032 del brazo móvil 2030. En la primera posición, el resorte de compresión tiene una energía potencial relativamente baja. A medida que la placa de sujeción pivota 2020 desde la primera posición hasta la segunda posición, el resorte es comprimido y la energía potencial en el resorte aumenta. En una variante, el resorte de compresión es precargado con fuerza de compresión suficiente para garantizar que la placa de sujeción 2020 no es propensa a inclinarse en cualquier dirección antes de establecer contacto con una estructura de soporte de cartuchos 2070. La compresión en el resorte sirve para retener la placa de sujeción 2020 en posición a medida que el brazo 2030 mueve la placa 2020 desde una ubicación a otra.

En otra realización más, la función de pivotamiento de la placa de sujeción 2020 se consigue a través del uso de un resorte de tensión (no mostrado). Como con el resorte de compresión descrito anteriormente, el resorte de tensión se coloca entre la placa de sujeción 2020 y el brazo 2030, sin embargo, en este caso, el resorte se coloca sobre la superficie superior 2034 del brazo. Esto garantiza que la tensión aumenta en el resorte a medida que la placa de sujeción 2020 se mueve desde la primera posición hasta la segunda posición, almacenando más energía hacia esta última. En una variante similar a aquella para el resorte de compresión anteriormente, el resorte de tensión puede precargarse con tensión en la primera posición.

En otra realización, un miembro elastomérico (no mostrado) se usa para proporcionar la función de pivotamiento. El miembro elastomérico es una estructura que se deforma desde un estado de equilibrio cuando la placa de sujeción 2020 pivota desde la primera posición hasta la segunda posición y a continuación vuelve a su tamaño original cuando la placa de sujeción vuelve a la primera posición. El miembro elastomérico está hecho preferiblemente de un material que tiene un módulo de Young suficientemente bajo para permitir la deformación elástica en respuesta a la fuerza de resistencia generada por contacto con un instrumento estacionario a medida que la placa de sujeción establece contacto con y se acerca más a la estructura de soporte de cartuchos 2070.

En otra realización, un resorte de ondulación (no mostrado) proporciona la función de pivote. La colocación y el funcionamiento del resorte de ondulación con respecto al conjunto 2015 es similar a la de un resorte de compresión y, de lo contrario, estaría ubicado y fijado de una forma conocida por los expertos en la técnica.

En otras realizaciones, pueden usarse medios pasivos diferentes de los descritos anteriormente para proporcionar la función de pivotamiento. Las formas pasivas de control son bien conocidas por los expertos en la técnica y no se describen en detalle en la presente memoria.

En realizaciones adicionales, pueden usarse medios activos para proporcionar la función de pivotamiento. Ejemplos de control activo incluyen un accionador lineal, tal como un accionador eléctrico o neumático, un pistón, tal como un pistón eléctrico o neumático, tornillo de cabeza redonda rotatorio y tuerca, y cremallera y piñón. También se contemplan cualesquiera otras formas activas de control conocidas por los expertos en la técnica.

En una cualquiera de las realizaciones anteriores, la placa de sujeción 2020 puede estar dimensionada para encajar con un tamaño de cartucho particular. De esta forma, las dimensiones de la placa de sujeción no están limitadas a una anchura o longitud particular. Además, el grosor de la placa de sujeción es, en gran medida, una cuestión de elección del diseño, siempre que sea suficiente en vista del material usado para soportar cargas de objeto esperadas.

Asimismo, en una cualquiera de las realizaciones anteriores, la superficie de contacto con cartucho 2026 de la placa de sujeción 2020 puede estar adaptada para estar a ras con diferentes tipos, formas y tamaños de cartucho. Por ejemplo, la superficie de contacto 2026 puede caracterizarse mediante una forma cóncava o convexa a lo largo de una longitud de la placa de sujeción 2020.

En una cualquiera de las realizaciones anteriores, la placa de sujeción 2020 puede estar adaptada para incluir diversas características superficiales para sujetar un objeto particular. Por ejemplo, el cartucho 90 ilustrado en la figura 25 incluye diversas características que pueden usarse para sujeción por la placa de sujeción 2020. Éstas incluyen un hueco intersticial 93 cerca de una región central del cartucho que discurre en una dirección generalmente longitudinal, una región cóncava 94 en una porción central de una superficie superior del cartucho 90, protuberancias 96 en los extremos superior e inferior del cartucho 90, entre otros.

Para adaptarse a estas características del cartucho, la superficie de contacto 2026 puede incluir abultamientos conformados y situados para encajar con características correspondientes en el cartucho 90. La placa de sujeción 2020 también puede estar estructurada para expandirse entre las protuberancias 26 para ejercer fuerzas en direcciones opuestas en el eje longitudinal del cartucho 90. Dicho de otro modo, la placa de sujeción 2020 puede adaptarse para retención de las protuberancias 96. También se contempla que otra estructura de placa de sujeción, tal como una con dedos oponibles, puede estar adaptada para sujetar sobre los lados 98 del cartucho 90.

En una cualquiera de las realizaciones anteriores, la superficie 2026 de la placa de sujeción 2020 puede incluir una estructura para mantener el alineamiento de un objeto que se ha sujetado y recuperado. En un ejemplo, el alineamiento mejorado de los cartuchos recuperados 90 con respecto a la placa de sujeción 2020 se proporciona mediante raíles 2027 que discurren paralelos a los lados de la placa 2020 y pueden extenderse desde la parte superior a la parte inferior de la placa, como se ilustra en la figura 24.

CARGA AUTOMATIZADA DE CARTUCHOS DE MUESTRA PARA AST

Las figuras 27A-27D representan un instrumento de análisis de cartuchos 2050 ilustrativo. En particular, el instrumento de análisis de cartuchos 2050 representado es un instrumento de AST. Sin embargo, debe entenderse que los principios descritos en la presente memoria pueden aplicarse a cualquier instrumento de laboratorio en donde se desee entrada y retirada automáticas de un cartucho de muestra.

El instrumento de análisis de cartuchos 2050 generalmente incluye una carcasa 2052 que define una cavidad en su interior y una puerta primera o manual 2060 y una puerta segunda o automática 2066 para acceder a dicha cavidad. La carcasa 2052 puede incluir un soporte de cartuchos 2054 dispuesto en la cavidad que incluye una pluralidad de receptáculos o estructuras de soporte de cartuchos 2073 para la recepción de cartuchos individuales 90. El soporte de cartuchos 2054 y los receptáculos pueden ser móviles dentro de la cavidad mediante activación de un accionador de receptáculos 2078 (por ejemplo, un motor y correa) de tal modo que cada receptáculo es presentable a una puerta que se abre para recibir o retirar el cartucho 90. En un ejemplo, el soporte de cartuchos 2054 puede ser un tambor con una pluralidad de receptáculos 2073 que es rotatorio alrededor de un eje.

Como se muestra en la figura 27A, la primera puerta 2060 generalmente está ubicada en un primer lado (considerado el frente en esta realización) del instrumento 2050 y es manejable manualmente. La primera puerta 2060 está montada sobre bisagras en la carcasa 2052 e incluye un cerrojo mecánico o magnético 2064 o una cerradura de seguridad que puede ser bloqueada por un mecanismo de bloqueo automático 2074 durante el funcionamiento del instrumento de análisis para impedir que la primera puerta 2060 se abra. En una realización alternativa, en lugar de estar en conexión por bisagras con la carcasa 2052, la primera puerta 2060 puede estar fijada de forma deslizante a una pista que permite que la puerta se deslice para abrirse y cerrarse.

Como se muestra en las figuras 27B-27D, la segunda puerta 2066 está ubicada generalmente en un segundo lado (considerado la parte posterior en esta realización) del instrumento 2050 y es manejable automáticamente. La segunda puerta 2066 está situada de forma deslizante en una pista 2056 que permite que la puerta 2066 se deslice de un lado a otro, y acoplada a un accionador 2076 lineal o de puerta, tal como un husillo principal, cremallera y piñón, cilindro/pistón neumático, accionador lineal motorizado o algún otro dispositivo mecánico o electromecánico. Tal accionador de puerta 2076 abre y cierra la puerta 2064. La pista 2056 define al menos parcialmente la expansión de la abertura de segunda puerta. La segunda puerta 2066 puede dejar expuesto uno o una pluralidad de soportes de cartuchos 2054. Están previstas dos puertas automáticas posteriores que funcionan independientemente que permiten la flexibilidad de dejar expuesto solo el soporte de cartuchos superior o soporte de cartuchos inferior. Esto puede necesitar el uso de pistas adicionales 2056 y el accionador de puerta 2076.

El instrumento de análisis 2050 puede incluir puertas adicionales, tales como una tercera y una cuarta puerta que pueden estar dispuestas en lados del instrumento 2050 y pueden manejarse manual o automáticamente. Además, la segunda puerta 2066 puede estar dispuesta, como alternativa, en un lado del instrumento 2050 adyacente al lado frontal en donde está ubicada la primera puerta 2060. En otra realización, la puerta automática 2066 puede estar integrada en la puerta manual 2060 de tal modo que, durante el funcionamiento manual, la puerta automática 2066 se mueve con la puerta manual 2060, y durante el funcionamiento automático, solo la puerta automática 2066 se abre y se cierra mientras que la puerta manual 2060 permanece cerrada. Por supuesto, también se contempla que el instrumento de análisis 2050 pueda tener solo una puerta, que puede manejarse automáticamente.

Como se ha mencionado anteriormente, el instrumento de análisis 2050 puede estar incorporado como un subsistema componente en un sistema más amplio que incluye el instrumento de transferencia 2000 y el sistema de preparación 1000 y que está controlado por el controlador 30. En este sentido, el instrumento de análisis 2050 puede incluir características 2070 que comunican con y/o se manejan por el controlador 30. Tales características se ilustran en la figura 28A y generalmente incluyen, aunque sin limitarse a, una interfaz de entrada de usuario 2071, una interfaz de visualización 2072, así como el mecanismo de bloqueo 2074, el accionador de puerta 2076 y el accionador de receptáculos 2078.

Como se muestra en la figura 27A, la carcasa 2052 también puede incluir la interfaz de entrada de usuario 2071 y la interfaz de visualización 2072. La interfaz de usuario 2071 puede ser uno o más pulsadores o una pantalla táctil que permite al usuario/operador introducir una orden o solicitud, tal como una solicitud o instrucción de anulación manual. Por ejemplo, cuando el instrumento de análisis 2050 está en modo automático, el controlador 30 hace funcionar el accionador de puerta 2076 para la segunda puerta 2066 mientras que el controlador 30 hace funcionar el mecanismo de bloqueo 2074 para mantener la primera puerta 2060 bloqueada. La interfaz de entrada 2071 puede estar

5 configurada de tal modo que un usuario pueda anular el modo automático de tal modo que, cuando un ciclo de análisis está completo, el controlador 30 inhabilita el accionador de puerta 2076 y hace funcionar el mecanismo de bloqueo 2074 permitiendo al usuario abrir la primera puerta 2060. Además, la entrada de usuario 2071 puede estar configurada para permitir al usuario especificar adicionalmente si los cartuchos 90 están siendo cargados o descargados. El controlador 30 puede determinar entonces si el cartucho 90 o receptáculo apropiado es presentado correctamente a la abertura de la puerta manual.

10 La interfaz de visualización 2072 puede ser una pantalla o una luz LED. Cuando el usuario solicita el modo manual mediante la interfaz de entrada de usuario 2071, la interfaz de visualización 2072 puede presentar una advertencia de que el análisis dentro del instrumento 2050 aún está teniendo lugar y que la primera puerta 2060 no puede abrirse hasta que el análisis esté completo. La interfaz de visualización 2072 también puede visualizar un mensaje o indicar cuándo la primera puerta 2060 está desbloqueada para el comienzo de la carga o descarga manual. La interfaz de visualización 2072 también puede visualizar el presente modo del instrumento 2050, ya sea manual o automático.

15 Adicionalmente, el instrumento de transferencia de cartuchos 2000 puede incluir características 2041 que comunican con y/o son manejadas por el controlador 30. Tales características se ilustran en la figura 28B y generalmente incluyen, aunque sin limitarse a, el sujetador de cartuchos 2020, el/los accionador(es) de traslado de cartuchos 2030 y el/los sensor(es) de posición de cartuchos 2048.

20 Como se ha mencionado anteriormente, la placa de sujeción de cartuchos 2020 puede incluir un orificio de vacío/ventosa 2028 que proporciona succión para fijar y liberar el cartucho 90. El funcionamiento de encendido/apagado de la bomba de vacío 2002 que proporciona tal succión puede estar controlado por el controlador 30.

25 Los accionadores de traslado de cartuchos 2030 controlan el movimiento del instrumento de transferencia 2000. De este modo, en donde el instrumento de transferencia 2000 es un robot como se ha descrito anteriormente, los accionadores de traslado 2030 proporcionan al robot un movimiento con grados de libertad automático para mover la placa de sujeción 2020 y cualquier cartucho 90 fijado a ella. El controlador 30 controla los accionadores 2030 para dirigir el movimiento del cartucho y también desactiva los accionadores 2030 cuando el modo manual del instrumento de análisis 2050 está implementado.

30 Para determinar la posición y la orientación de un cartucho 90 fijado a la placa de sujeción 2020, el instrumento de transferencia 2000 puede incluir sensores de posición de cartuchos 2048, que comunican con el controlador 30 en un bucle de retroalimentación para ayudar a la transferencia directa del cartucho.

35 Como se ha mencionado anteriormente, el controlador 30 puede ser un ordenador de escritorio o algún otro dispositivo informático y puede incluir una interfaz de visualización 2072 e interfaz de usuario 2071, tal como un teclado y ratón. Asimismo, como se representa en la figura 28C, la arquitectura informática del controlador generalmente incluye un procesador 32 y una memoria 34. Como se muestra en la figura 28C, el controlador también puede incluir una interfaz de subsistema 36.

40 La interfaz de subsistema 36, que puede incluir un bus externo, acopla el controlador 30 al sistema de preparación 1000, el instrumento de transferencia de cartuchos 2000 y el instrumento de análisis de cartuchos 2050. En particular, se comunican instrucciones y datos entre el controlador 30 y los componentes 2070 mediante la interfaz de subsistema 36.

45 La memoria/almacenamiento de datos 34 puede incluir RAM, ROM, memoria flash, y similares. La memoria 34 incluye instrucciones de control de procesador 37 y datos almacenados 38. Las instrucciones de control de procesador 37 incluyen instrucciones relacionadas con el funcionamiento del mecanismo de bloqueo 2074, el accionador de puerta 2076, el accionador de receptáculos 2078 y la interfaz de entrada 2071, por ejemplo. Los datos almacenados 38 pueden incluir identificación del cartucho (tal como información de código de barras o números de serie), identificación del receptáculo correspondiente, e información de temporización, tiempo de comienzo del ensayo y duración del ensayo.

50 En una realización de un método que implica transferencia de cartuchos automatizada, el cartucho 90 es cargado automáticamente y descargado automáticamente del dispositivo de análisis 2050. En tal realización, el sistema de preparación 1000 prepara el cartucho de AST 90 inoculando el cartucho 90 con una muestra, como se ha descrito en detalle anteriormente. Más específicamente, el cartucho 90 es inoculado automáticamente mediante uno o más robots, que pueden retirar una cubierta de entrada 99 (por ejemplo, una tapa) del cartucho 90. El pipeteador 60 dispensa el analito al interior del cartucho 90. Como alternativa, la entrada puede estar cubierta por un tabique, en cuyo caso un robot puede utilizar una aguja para inocular el interior del cartucho 90 a través del tabique. Seguidamente, el cartucho 90 puede colocarse en una ubicación de recogida, tal como dentro de la estación de transferencia 1040, y el sistema de preparación 1000 notifica al controlador 30 que el cartucho 90 está listo para análisis y que el tiempo de preparación se ha completado.

65

Seguidamente, el controlador 30 hace funcionar el instrumento de transferencia de cartuchos 2000, que recoge el cartucho inoculado 90 y los transfiere mediante el conjunto sujetador 2015 y los accionadores de traslado 2030 a un receptáculo predeterminado para tales cartuchos en el instrumento de análisis 2050. El controlador 30 también activa el accionador de puerta 2076 y el accionador de receptáculos 2078, lo que abre la segunda puerta 2066 del instrumento de análisis 2050 y mueve un receptáculo a alineamiento con la abertura de segunda puerta usando retroalimentación procedente de los sensores de posición de cartuchos 2048.

El instrumento de transferencia 2000 coloca a continuación el cartucho 90 en el interior del receptáculo y comunica la ubicación particular del cartucho/receptáculo (que está asociada con los otros detalles del cartucho) al controlador 30. El instrumento de transferencia 2000 recupera entonces cartuchos adicionales 90 según lo indicado por el controlador 30. Normalmente, los receptáculos estarán completamente ocupado por cartuchos 90 antes del análisis. Cuando el soporte de cartuchos 2054 está ocupado por cartuchos 90 según lo indicado por el controlador 30, esto es detectado por el instrumento de transferencia 2000 o el instrumento de análisis 2050 y comunicado al controlador 30. El controlador 30 hace funcionar a continuación el accionador de receptáculos 2078, que presenta más receptáculos vacíos a la abertura de segunda puerta. Una vez que todos los receptáculos están ocupados por cartuchos, según las indicaciones del controlador 30, el controlador 30 activa el accionador de puerta 2076, que cierra la segunda puerta 2066 e indica al instrumento de análisis 2050 que comience el ensayo, que, en esta realización, es AST.

Una vez que el análisis está completo, el controlador 30 activa el accionador de puerta 2076 y hace funcionar el instrumento de transferencia de cartuchos 2000, u otro instrumento de transferencia de cartuchos, para retirar los cartuchos analizados mediante accionadores de traslado de cartuchos 2030 desde sus respectivos receptáculos en el instrumento de análisis 2050. Tales cartuchos pueden moverse al almacenamiento 2006. Como alternativa, el instrumento de transferencia 2000 puede tirar los cartuchos analizados en un envase de desechos 2004. Este proceso puede realizarse de forma continua 24 horas/día, 7 días por semana.

En otra realización del método, el dispositivo de análisis 2050 puede cargarse o descargarse manualmente. Inicialmente, el instrumento 2050 puede ajustarse en un modo automático en donde el instrumento de transferencia 2000 realiza carga y descarga automática como se ha descrito anteriormente en relación con la primera realización del método de transferencia automática. Sin embargo, en donde un usuario elige realizar carga o descarga manual del instrumento de análisis 2050, el usuario puede implementar la interfaz de usuario 2071 para ajustar el instrumento 2050 y el sistema global en modo manual. Una vez que la interfaz de usuario 2071 está implementada, el instrumento de análisis 2050 notifica al controlador 30, que inhabilita el accionador de puerta 2076 y determina si hay un análisis que se está realizando actualmente. Otros subsistemas pueden ser desactivados por el controlador 30, tales como el instrumento de transferencia de cartuchos 2000. Si no se está realizando ningún análisis, el controlador 30 activa el mecanismo de bloqueo 2074, lo que desbloquea la primera puerta 2060. Si se está realizando un análisis, el controlador 30 mantiene la puerta 2060 bloqueada y notifica o indica al usuario, mediante la interfaz de visualización 2072, que no puede abrirse la puerta 2060. Una vez que el análisis está completo, el controlador 30 desbloquea la primera puerta 2060 y notifica al usuario con una notificación de que es aceptable continuar. El usuario puede abrir a continuación la primera puerta 2060 y comenzar a cargar o descargar manualmente el instrumento de análisis 2050 con cartuchos inoculados 90.

En algunas realizaciones, la interfaz de usuario 2071 proporciona funcionalidad adicional, tal como especificando si se desea carga o descarga manual, en lugar de simplemente activar el modo manual. También se contempla que un cartucho específico 90 puede ser identificado para retirada. en donde el usuario indica carga manual, el controlador 30, junto con la activación del mecanismo de bloqueo 2074, desbloquea la primera puerta 2060, y activa el accionador de receptáculos 2078 para mover uno o más receptáculos vacíos en alineamiento con la abertura de la primera puerta. A la inversa, en donde se selecciona descarga manual, el controlador 30 hace funcionar el accionador de receptáculos 2078 para presentar cartuchos que han sido analizados a la abertura de la primera puerta de tal modo que puedan descargarse manualmente.

ALTERNATIVAS AL SISTEMA

Pueden utilizarse numerosas variaciones, adiciones y combinaciones de las características descritas anteriormente sin alejarse de la presente invención. Por ejemplo, la figura 29 representa un sistema de preparación alternativo 1000'. El sistema 1000' es similar al sistema 1000 ya que incluye una carcasa que aloja varias estaciones tales como la estación de recepción 1010, la estación de preparación 1030 y una estación de transferencia 1040. Sin embargo, el sistema 1000' difiere con respecto a su estación de recogida 1020'. Como se ha descrito anteriormente con respecto al sistema 1000, la estación 1020 incluye un dispositivo de colocación 8 que porta una herramienta de recogida 6 y usa tal herramienta de recogida 6 para recoger una muestra de una colonia 4 en una placa 3 y transfiere tal colonia recogida a un tubo de suspensión 11. Tal dispositivo de colocación 8 incluye un dispositivo de transferencia 15 que se usa para 15 hacer oscilar la herramienta de recogida cuando está sumergida en el medio de suspensión.

La estación 1020', por otro lado, separa el dispositivo de colocación 8 y el dispositivo de transferencia 15. A este respecto, el dispositivo de colocación 8 y el dispositivo de transferencia 15 están conectados independientemente a la pista de transferencia 18. El dispositivo de transferencia 15 comprende un soporte de transferencia 16 con una

herramienta de sujeción 17 para soportar de forma liberable la herramienta de recogida 6. De esta forma, el dispositivo de transferencia 15 puede ser movido hasta el dispositivo de colocación 8, de tal modo que la herramienta de sujeción 17 pueda hacerse cargo de la herramienta de recogida 6 procedente del dispositivo de colocación 8. El soporte de herramienta de recogida 9 libera la herramienta de recogida 6 después de que los medios de sujeción 17 hayan sujetado la herramienta de recogida. En la realización mostrada en la figura 29, la herramienta de recogida 6', habiendo recogido previamente una muestra del microorganismo 4, es situada por encima del tubo de suspensión 11 por el dispositivo de transferencia 15 en una posición de partida indicada mediante líneas continuas. El dispositivo de transferencia 15 está dispuesto para hacer descender la herramienta de recogida 6' al interior del medio de suspensión 14 contenido en el tubo de suspensión 11, en cuya posición la herramienta de recogida 6' con la muestra 19 es sumergida en el medio de suspensión 14 como se indica mediante líneas discontinuas en la figura 29. En esta posición, el dispositivo de transferencia 15 es activado para hacer oscilar la herramienta de recogida 6' en un movimiento vertical lineal durante un período de tiempo que es suficiente para que la muestra sea liberada de la segunda herramienta de recogida 6'. Seguidamente, el dispositivo de transferencia 15 coloca la herramienta de recogida 6, que ha liberado su contenido, en una posición de espera por encima del tubo de suspensión 11, posición de espera que, en la realización mostrada en la figura 29, es idéntica a la posición de partida del dispositivo de transferencia 15. Seguidamente, el dispositivo de transferencia puede liberar la herramienta de recogida 6 sobre un receptáculo de desechos tiempo durante el cual el dispositivo de colocación 8 puede haber recuperado ya una segunda herramienta de recogida y una segunda muestra. De este modo, en esta realización, el dispositivo de colocación entrega la herramienta de recogida al dispositivo de transferencia 15 en lugar de retener la herramienta de recogida a través de la transferencia de la muestra al medio de suspensión. Tal realización puede utilizarse en donde la herramienta de recogida no requiere succión activa o vacío para retener la muestra.

Otra realización del sistema de preparación 3000 se representa en la figura 30. El sistema 3000 es similar al sistema 1000, ya que incluye una carcasa que aloja varias estaciones tales como una estación de recepción (no mostrada), estación de recogida 4020, estación de preparación 4030 y una estación de transferencia 4040. Además, la estación de recogida 4020 incluye un dispositivo de colocación 3008 que porta una herramienta de recogida 3006 y la estación de preparación incluye un pipeteador 2040 que porta una punta de pipeta 3046. Sin embargo, a diferencia del sistema 1000 en donde el tubo de suspensión 11 permanece en la misma ubicación general para inoculación con una muestra recogida 19 mediante el dispositivo de colocación 8 y la recuperación de muestra suspendida mediante el pipeteador 40, el dispositivo de colocación 3008 y el pipeteador 3040 son relegados a su respectivas estaciones 3020, 3030. En otras palabras, el pipeteador 3040 no se desplaza desde la estación de preparación 4030 a la estación de recogida 4020 para recuperar una muestra suspendida desde el tubo de suspensión 3011, en su lugar el tubo de suspensión 3011 es movido desde la estación de recogida 4020, después de la inoculación por la herramienta de recogida 3006, a la estación de preparación 4030.

Esto se consigue mediante un trasladador de tubos de suspensión 3070. El trasladador de tubos de suspensión 3070 es un robot generalmente dispuesto por debajo de la plataforma 3007 y está configurado para moverse en al menos dos dimensiones, como se ilustra mediante las flechas de doble punta en la figura 30. En particular, el trasladador de tubos de suspensión 3070 está configurado para retener, tal como mediante un receptáculo o sujetador, un tubo de suspensión 3011 y mover el tubo de suspensión 3011 por debajo de la plataforma 3007 y mover el tubo de suspensión 3011 entre las posiciones predesignadas A y A' ubicadas en la estación de recogida y la estación de preparación, respectivamente. A este respecto, la plataforma puede tener aberturas a través de las cuales el trasladador puede hacer ascender y descender un tubo de suspensión en estas posiciones predesignadas.

Además, cada una de estas posiciones A y A' tiene un nefelómetro 3020, 3060, tal como uno de los nefelómetros descritos anteriormente, que incluye un láser o emisor de luz 3021, 3061 y un detector 3022, 3062. De este modo, una primera posición A ubicada en la estación de recogida 4020 incluye un primer nefelómetro 3020 y una segunda posición A' ubicada para la preparación 4030 incluye un segundo nefelómetro 3060. En una realización, el nefelómetro es un dispositivo de 8 canales que puede medir la turbidez en ocho cubetas simultáneamente, tal como incluyendo múltiples fuentes de luz y detectores.

En un método de uso del sistema 3000, una placa de cultivo 3003 es movida desde la estación de recepción hasta la estación de recogida 4020 y puede colocarse sobre la plataforma 3002. Tal placa 3003 incluye un medio de cultivo 3005 y una o más colonias de microorganismo. Una colonia diana 3004 se selecciona y la herramienta de recogida 3006 se coloca por encima de la colonia diana 3004. Se hace descender a la herramienta de recogida 3006 para recuperar una muestra 3019 de la colonia diana 3004 mediante un dispositivo de colocación 3008. Seguidamente, el dispositivo de colocación 3008 mueve la colonia recogida 3019 a la posición A por encima del tubo de suspensión 2011 dentro de la estación de recogida 4020. El dispositivo de colocación 3008 hace descender el microorganismo recogido 3019 y lo sumerge en un medio de suspensión dentro del tubo de suspensión 3011. Un dispositivo de transferencia 3015 hace oscilar a la herramienta de recogida 3006 para liberar el microorganismo al interior del medio de suspensión. El nefelómetro 3020 mide la turbidez de la suspensión. Pueden realizarse recogidas adicionales del microorganismo 3004 hasta que se consiga la turbidez deseada.

Una vez que se ha conseguido la turbidez deseada a través de recogidas de colonias sucesivas, el trasladador de tubos 3070 hace descender el tubo de suspensión 3011' con una suspensión de microorganismos en su interior hasta

que está debajo de la plataforma 3007. El trasladador mueve a continuación el tubo 3011' a una segunda posición del tubo A' ubicada en la preparación 4030. Seguidamente, el trasladador 3070 hace ascender el tubo 3011' a través de la abertura en la plataforma 3007 para la preparación de una placa de MALDI 3042. La placa de MALDI es preparada por el pipeteador 3040 que se mueve a la posición A' por encima del tubo 3011' y recupera una alícuota de la suspensión del mismo. El pipeteador 3040 mueve a continuación la alícuota a una posición B por encima de la placa de MALDI 3042 en donde el pipeteador 3040 deposita la alícuota sobre la placa de MALDI 3040 en ubicaciones predeterminadas 3044, como se ha descrito en detalle anteriormente. Una vez que la placa de MALDI 3042 está preparada, el pipeteador 3040 puede aspirar a continuación agua desionizada o algún otro medio de suspensión al interior del tubo de suspensión 2011' en la segunda posición del tubo A'. El nefelómetro 3060 en la segunda posición del tubo A' mide la turbidez. Una vez que el número de McFarland deseado se consigue para AST, el pipeteador 3040 aspira una alícuota a partir del tubo de suspensión 2011' en la posición A' y transfiere a continuación esa alícuota a una posición C en donde el pipeteador 3040 inocular un tubo de caldo de AST 3082 con la suspensión. El tubo de caldo de AST 3082 es movido a la estación de transferencia 4040 mediante un trasladador de tubos de AST 3080 de una forma similar a la del trasladador 3070 haciendo descender el tubo por debajo de la plataforma 3007 y transportándolo bajo la plataforma a una posición dentro de la estación de transferencia 4040. Desde allí, la muestra dentro del tubo de AST 3082 es inoculada en cartuchos de AST 90, como se ha descrito anteriormente.

En otras realizaciones del sistema 3000, la preparación 4030 puede incluir dos posiciones de tubo, de tal modo que el sistema incluye tres posiciones totales de tubo de suspensión, una en la estación de recogida 4020 y dos en la preparación 4030. En una realización de este tipo, una de las posiciones de tubo dentro de la preparación 4030 puede utilizarse para la preparación de la placa de MALDI, mientras que la otra posición dentro de la preparación 4030 puede utilizarse para preparar tubos de AST 3082. A este respecto, la posición del tubo para la preparación de MALDI puede no tener un nefelómetro, dado que la turbidez de la suspensión para la preparación MALDI habría sido determinada por el nefelómetro 3020 en la estación de recogida 4020. Sin embargo, la posición del tubo de suspensión para preparación del tubo de AST tendría un nefelómetro 3060 para ayudar al pipeteador 2040 a diluir la suspensión al número de McFarland apropiado para AST.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos en una placa de cultivo y preparar una única suspensión de muestra con la colonia seleccionada para múltiples análisis, en donde el método comprende las etapas automatizadas de:
- 10 ubicar y seleccionar una colonia (4) de microorganismos en una placa de cultivo (3);
 obtener una muestra (120) de la colonia (4) de microorganismos seleccionada;
 15 transferir la muestra (120) obtenida a un envase que tiene una cantidad de un medio de suspensión, adaptado el envase para ser recibido por un nefelómetro (20) en donde una suspensión de muestra (120) se prepara transfiriendo al menos una porción de la muestra (120) obtenida al medio de suspensión usando una primera herramienta de recogida robótica en donde la primera herramienta de recogida robótica transporta una herramienta de recogida que porta la muestra (120) obtenida desde la
 20 placa de cultivo (3) al envase, comprendiendo además hacer ascender la herramienta de recogida desde una superficie de la placa de cultivo (3) usando la primera herramienta de recogida robótica y supervisar la herramienta de recogida a medida que esta se hace ascender desde la superficie de la placa de cultivo (3) para detectar la formación de una cadena de muestra (120) que se extiende desde la herramienta de recogida, en donde la herramienta de extracción es una punta de pipeta;
 obtener una primera alícuota de la suspensión preparada;
 dispensar la primera alícuota de la suspensión preparada en un receptáculo para un primer análisis;
 transferir el primer receptáculo de análisis con la muestra (120) a un aparato para realizar una espectrometría de masas para la identificación de la muestra de la colonia (4) de microorganismos seleccionada;
 25 determinar si una turbidez medida de la suspensión está dentro de una especificación predeterminada para un segundo análisis usando un nefelómetro (20) automatizado y, si está dentro de la especificación, determinar un volumen de dispensación para el segundo análisis basándose en la turbidez medida e;
 inocular un envase de muestra (120) para el segundo análisis con la suspensión si se determina que la suspensión está dentro de la especificación;
 en donde, si se determina que la suspensión no está dentro de la especificación para su uso en el segundo
 30 análisis sin dilución, ajustar la turbidez de la suspensión a una turbidez dentro de la especificación predeterminada adecuada para el segundo análisis antes de inocular el segundo envase de análisis con un volumen de dispensación determinado basándose en la turbidez de la suspensión;
 obtener una alícuota de la suspensión en el segundo envase de análisis; e
 inocular un receptáculo para el segundo análisis con la suspensión ajustada;
 35 en donde la espectrometría de masas se realiza mediante MALDI y en donde el método comprende además la etapa automatizada de recubrir con una gota de una solución de matriz de MALDI la gota de suspensión de muestra depositada sobre el receptáculo para el primer análisis en donde el receptáculo es una placa diana y en donde el segundo análisis es un ensayo de susceptibilidad a antibióticos (AST) y el segundo receptáculo de análisis es un panel de AST.
- 40 2. Un método según la reivindicación 1, en donde el método comprende una etapa automatizada de seleccionar colonias (4) para su recogida proporcionando imágenes de las colonias (4), información de imágenes a partir de la cual se realiza una selección antes de la etapa automatizada de ubicar y seleccionar una colonia de microorganismos en una placa de cultivo, comprendiendo la etapa de proporcionar una placa de cultivo (3) un número de colonias (4)
 45 de microorganismos, obtener una imagen inicial de la placa de cultivo (3) que incluye todas las colonias (4) de microorganismos, visualizar la imagen inicial de la placa de cultivo (3) que incluye todas las colonias de microorganismos en una pantalla, y seleccionar manualmente al menos una colonia (4) de microorganismos en la imagen inicial.
- 50 3. Un método según la reivindicación 2, en donde la placa de cultivo (3) está dotada de una identificación individual que identifica la placa de cultivo (3), tal como un código de barras, y el método comprende la etapa de almacenar una imagen inicial de la placa de cultivo (3) que incluye todas las colonias, almacenar información respecto a la al menos una colonia de microorganismos seleccionada, almacenar la identificación de la placa de cultivo (3) en una memoria de un ordenador de control central.
- 55 4. El método de la reivindicación 1, que comprende además identificar una región de tolerancia de recogida de muestras en la placa de cultivo (3) y hacer descender la herramienta de recogida portada por la herramienta de recogida robótica hasta hacer contacto con la muestra sobre una superficie de la placa de cultivo en la región de tolerancia identificada.
- 60 5. El método de la reivindicación 1, en donde la herramienta de recogida se supervisa usando una de capacidad o formación de imágenes.
- 65 6. Un sistema automatizado para preparar una única suspensión de muestra (120) de la que se retiran alícuotas tanto para la identificación (ID) de microorganismos en la muestra (120) como para la susceptibilidad a antibióticos (AST)

de microorganismos, comprendiendo el sistema:

- 5 una primera sección configurada para preparar una muestra (120) para un análisis de ID, comprendiendo la primera sección:
 unos medios para recibir un cultivo en placa en una placa de cultivo (3);
 el sistema en comunicación con unos medios de formación de imágenes configurados para obtener información de imagen del cultivo en placa y unos medios configurados para identificar una colonia (4) en el cultivo en placa basándose en la información de imagen y configurados para designar esa colonia (4) para la selección de muestra (120) automatizada a partir la información de imagen;
- 10 un primer robot configurado para manejar automáticamente una herramienta de recogida en donde el primer robot recoge y libera automáticamente la herramienta de recogida y en donde la herramienta de recogida es una punta de pipeta desechable;
 unos medios configurados para comunicar una ubicación de la colonia (4) al primer robot;
 unos medios configurados para controlar una recogida de la colonia (4) por el primer robot en donde el primer robot está configurado además para transportar la muestra (120) recogida a una primera estación de preparación de suspensiones de muestra (120);
- 15 un detector (140, 150) configurado para detectar si se forma una cadena de muestra a medida que el primer robot transporta la herramienta de recogida que porta la muestra desde la placa de cultivo (3) en donde la cadena se detecta supervisando la herramienta de recogida óptica o eléctricamente a medida que la herramienta de recogida se hace ascender lejos de la placa de cultivo (3);
 unos medios configurados para proporcionar líquido de suspensión a un tubo de suspensión en la primera estación de preparación de suspensiones de muestra (120) en donde el primer robot está configurado para depositar la muestra (120) recogida en el líquido de suspensión;
- 20 un primer nefelómetro (20) en la primera estación de preparación de suspensiones de muestra de la primera sección configurado para medir una turbidez de la suspensión, en donde el sistema automatizado, en respuesta a la medición de turbidez que está fuera de un valor de turbidez predeterminado, está configurado para ajustar una de o bien una cantidad de muestra (120) o bien una cantidad de suspensión en el tubo de suspensión y para proporcionar una suspensión con una concentración de muestra (120) en un intervalo predeterminado;
- 25 un segundo robot, en donde el segundo robot es un pipeteador configurado para obtener una primera alícuota de la suspensión en la primera sección y configurado para inocular un receptáculo para su uso en el análisis de ID;
 unos medios configurados para transportar el tubo de suspensión con una porción restante de la suspensión desde la primera estación de preparación de suspensiones de muestra (120) a una segunda estación de preparación de suspensiones de muestra (120);
- 30 un segundo nefelómetro en la segunda estación de preparación de suspensiones de muestra para medir la turbidez de la suspensión;
 en donde el segundo robot está configurado además para ajustar la concentración de la muestra (120) en el tubo de suspensión a una concentración predeterminada para un análisis de AST y configurado para obtener una segunda alícuota de la suspensión de muestra (120) que tiene una concentración ajustada y configurado para inocular un tubo de muestra (120) para el análisis de AST con la segunda alícuota de suspensión; y
- 35 una segunda sección configurada para inocular un panel para el análisis de AST; en donde el sistema automatizado tiene unos medios configurados para transportar el tubo de muestra (120) inoculado desde la primera sección hasta la segunda sección; teniendo la segunda sección un tercer robot que es un pipeteador (40, 60) configurado para obtener una alícuota a partir del tubo de muestra (120) inoculado e inocular el panel de AST (90) con la alícuota obtenida; y
 un robot de carga configurado para cargar el panel de AST (90) inoculado en un aparato en el que se realiza AST.
- 50 7. El sistema automatizado de la reivindicación 6, en donde el aparato de AST está configurado para tener al menos dos puertas, recibiendo una primera puerta el panel desde el robot de carga para la transferencia del panel de AST (90) inoculado en donde el robot de carga es un sujetador de paneles que incluye una placa de sujeción, acoplada la placa de sujeción a un brazo de un accesorio controlado por motor paso a paso de tres ejes de tal modo que la placa de sujeción está configurada para pivotar alrededor de un eje de acoplamiento desde una primera posición hasta una segunda posición; y
- 55 en donde la placa de sujeción incluye una superficie de sujeción que está configurada para sujetar objetos.
- 60 8. El sistema de la reivindicación 6, que comprende además un mecanismo para cortar el hilo, seleccionado el mecanismo del grupo que consiste en una herramienta de corte, sonicación, secado y congelación, en donde la herramienta de corte se selecciona del grupo que consiste en un láser, una varilla, un alambre y una cuchilla.
9. El sistema automatizado de la reivindicación 8, en donde la herramienta de corte es calentada.
- 65 10. El sistema automatizado de la reivindicación 6, en donde los medios configurados para controlar comprenden un controlador configurado para controlar la preparación de la suspensión de muestra a partir de la cual se obtienen alícuotas para ID y AST;

en donde el primer robot está configurado para obtener, portar y desechar automáticamente la herramienta de recogida en comunicación con el controlador,

5 en donde el primer robot está controlado por el controlador y configurado para obtener la punta de pipeta y usar la punta de pipeta para recoger muestra a partir de una placa de cultivo recibida por la primera sección, dirigiendo el controlador el primer robot para portar la herramienta de recogida a la ubicación en la placa de cultivo en donde está ubicada la colonia designada para ser recogida, configurado el primer robot para poner la punta de pipeta en contacto con la colonia designada y portar la muestra recogida para su recogida hasta el tubo de suspensión en el que está dispuesto diluyente de suspensión, en donde el primer robot está configurado para colocar la punta de pipeta que porta la muestra en contacto con la suspensión, y liberar la muestra en el tubo de suspensión;

en donde los medios configurados para proporcionar el líquido de suspensión en el tubo de suspensión comprenden un dispensador de diluyente de suspensión en comunicación con el controlador y configurado para dispensar diluyente de suspensión en el tubo de suspensión;

15 en donde el segundo nefelómetro está en comunicación con el controlador, en donde el segundo nefelómetro está configurado para medir la turbidez de la suspensión;

en donde el controlador, si la medición de turbidez está fuera de un valor o intervalo de valores predeterminado, está configurado para ajustar la concentración de la muestra en la suspensión mediante uno de hacer que el dispensador de diluyente de suspensión añada más diluyente reduciendo de ese modo la turbidez de la muestra, hacer que la herramienta de recogida recoja y deposite más muestra en la suspensión, aumentando de ese modo la turbidez de la muestra, o ambos, ajustando de ese modo la concentración de muestra en la suspensión;

20 en donde el segundo robot comprende un primer pipeteador robótico en donde, cuando el controlador, basándose en las mediciones de turbidez, está configurado para determinar que la turbidez de la suspensión está dentro de los valores de turbidez predeterminados, el controlador indica al primer pipeteador robótico que obtenga una primera alícuota de la suspensión de muestra para el análisis de ID y que inocule un receptáculo para el análisis de ID con la primera alícuota;

25 en donde los medios configurados para transportar el tubo de suspensión son un primer dispositivo de transferencia en comunicación con el controlador en donde el controlador está configurado para indicar al dispositivo de transferencia que transfiera el tubo de suspensión desde la primera estación de preparación de suspensiones de muestra a la segunda estación de preparación de suspensiones de muestra en la primera sección después de que la primera alícuota haya sido retirada del tubo de suspensión;

30 en donde el controlador, en respuesta a la medición de turbidez de la suspensión, controla el primer pipeteador robótico para ajustar un volumen de la muestra en la suspensión para proporcionar una cantidad predeterminada de muestra para el análisis de AST, controlando además el controlador el primer pipeteador robótico para obtener una segunda alícuota de la suspensión que tiene el volumen que portará la cantidad predeterminada de muestra e inocular un tubo de ensayo para el análisis de AST; y

35 un segundo dispositivo de transferencia en comunicación con el controlador, en donde el controlador está configurado para indicar al segundo dispositivo de transferencia que transfiera el tubo de análisis de AST inoculado a la segunda sección, el controlador en comunicación con el tercer robot en la segunda sección en donde el controlador indica al tercer robot que obtenga una tercera alícuota a partir del tubo de ensayo inoculado y dispense la tercera alícuota a un panel para el análisis de AST, comprendiendo además la segunda estación un robot de transferencia configurado para la transferencia del panel de AST inoculado a partir de la segunda sección.

40 45 11. El sistema automatizado de la reivindicación 10, en donde el robot de transferencia para la transferencia del panel de AST inoculado es un sujetador de paneles que incluye una placa de sujeción (2020), acoplada la placa de sujeción a un brazo (2030) de un accesorio controlado por motor paso a paso de tres ejes de tal modo que la placa de sujeción (2020) está adaptada para pivotar alrededor de un eje de acoplamiento desde una primera posición hasta una segunda posición; y en donde la placa de sujeción (2020) incluye una superficie de sujeción que está adaptada para sujetar objetos.

12. El sistema automatizado de la reivindicación 10, en donde el controlador define una región de tolerancia de recogida para la ubicación en la placa de cultivo en donde está ubicada la colonia designada para ser recogida.

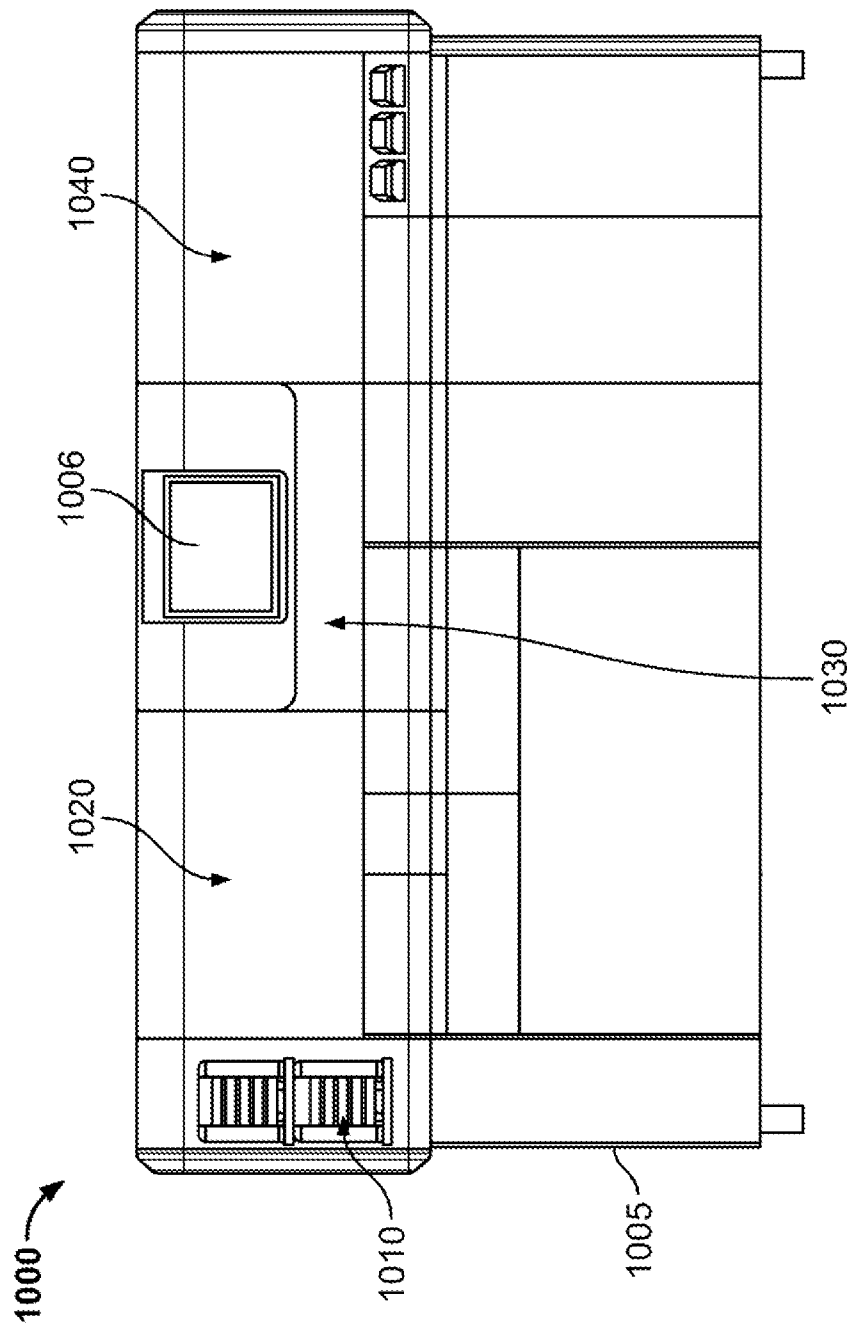


FIG. 1

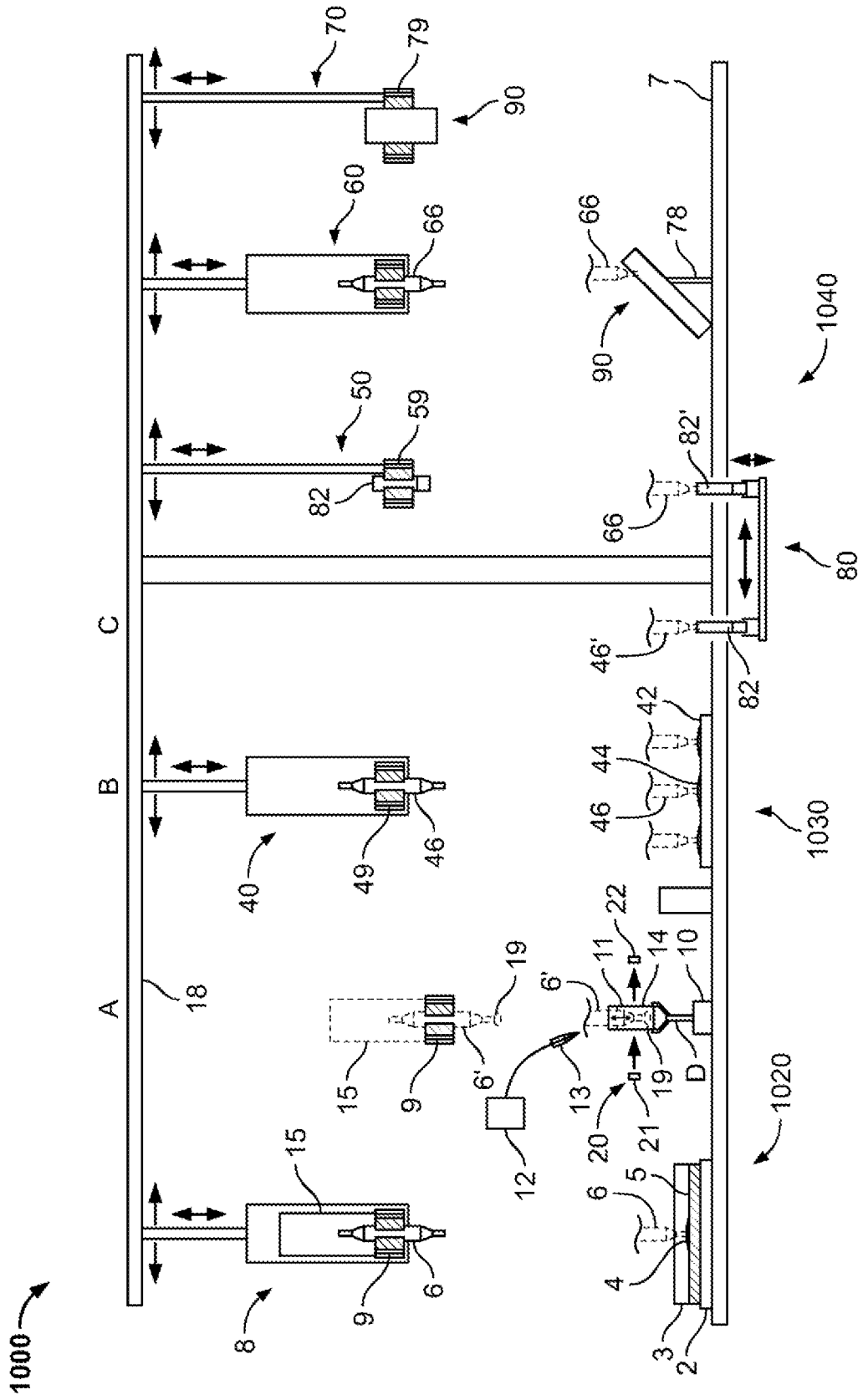


FIG. 2

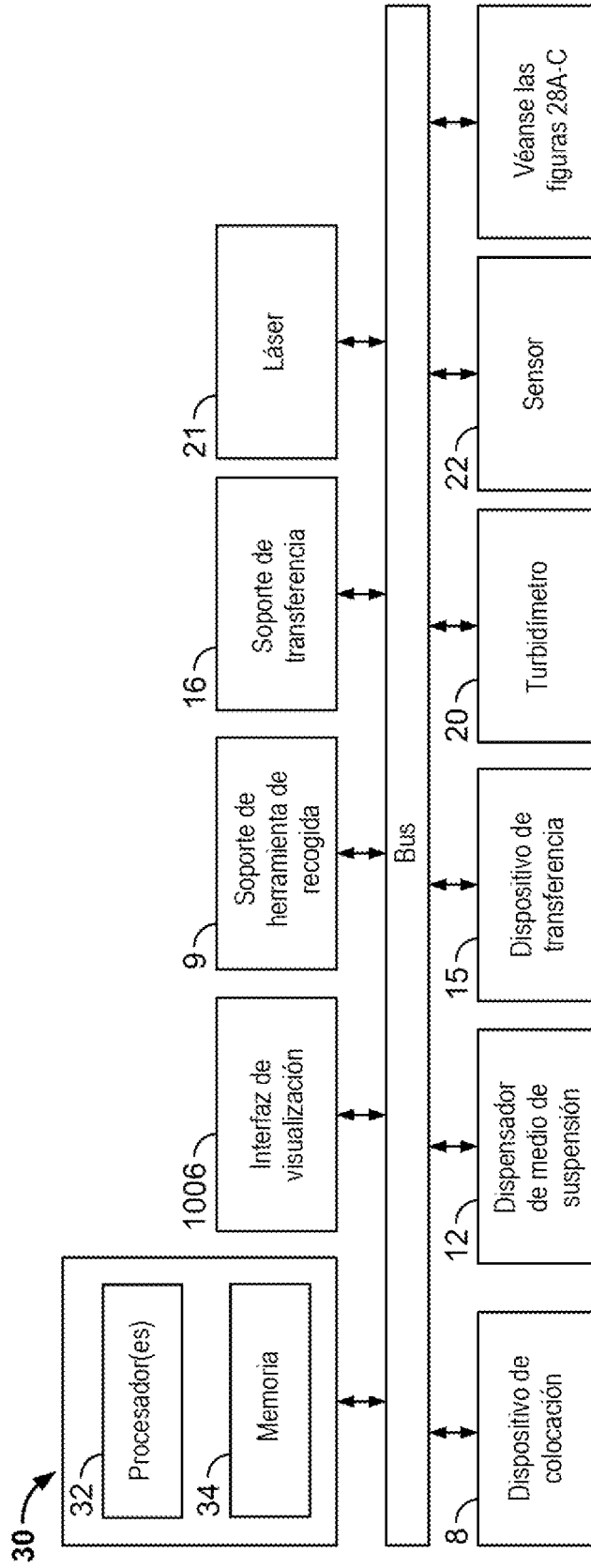


FIG. 3

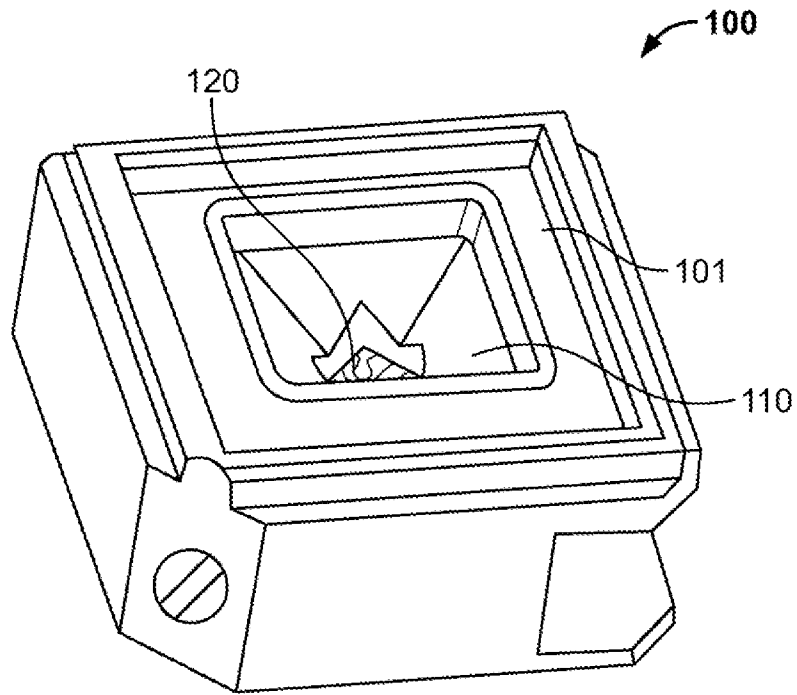


FIG. 4A

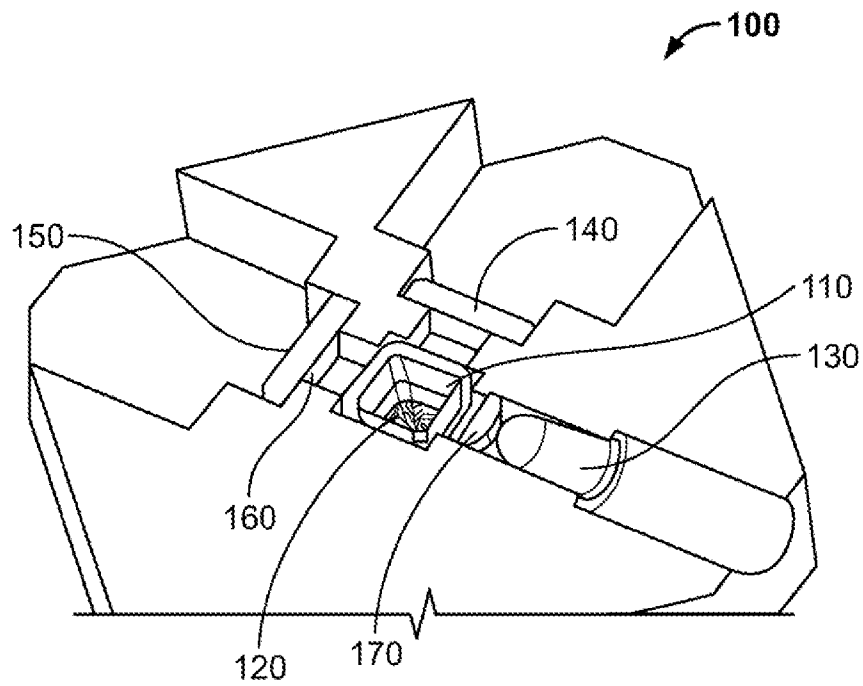


FIG. 4B

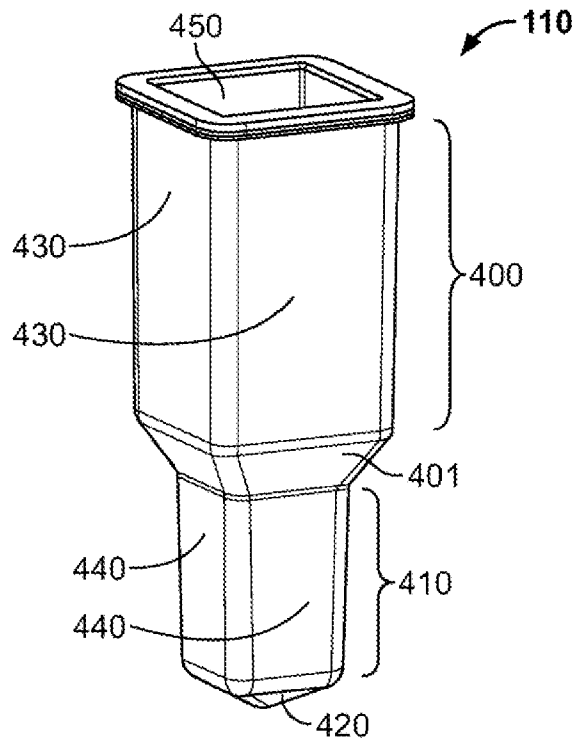


FIG. 5A

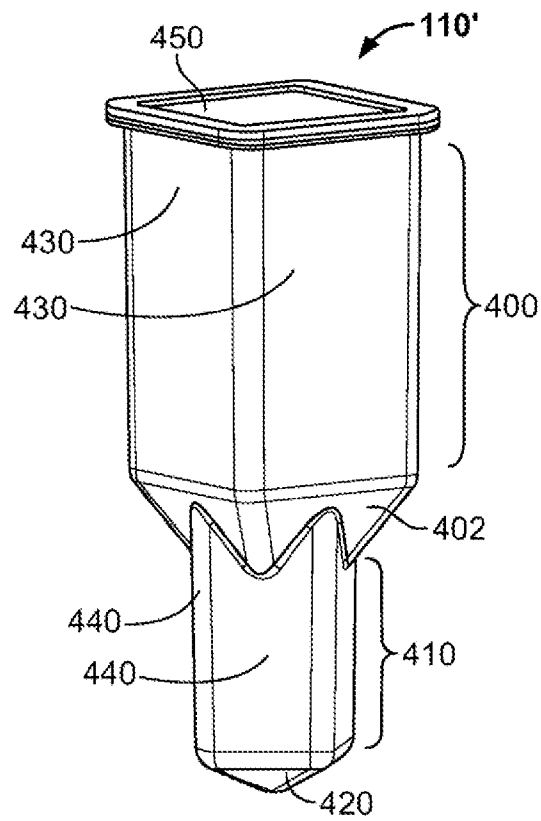


FIG. 5B

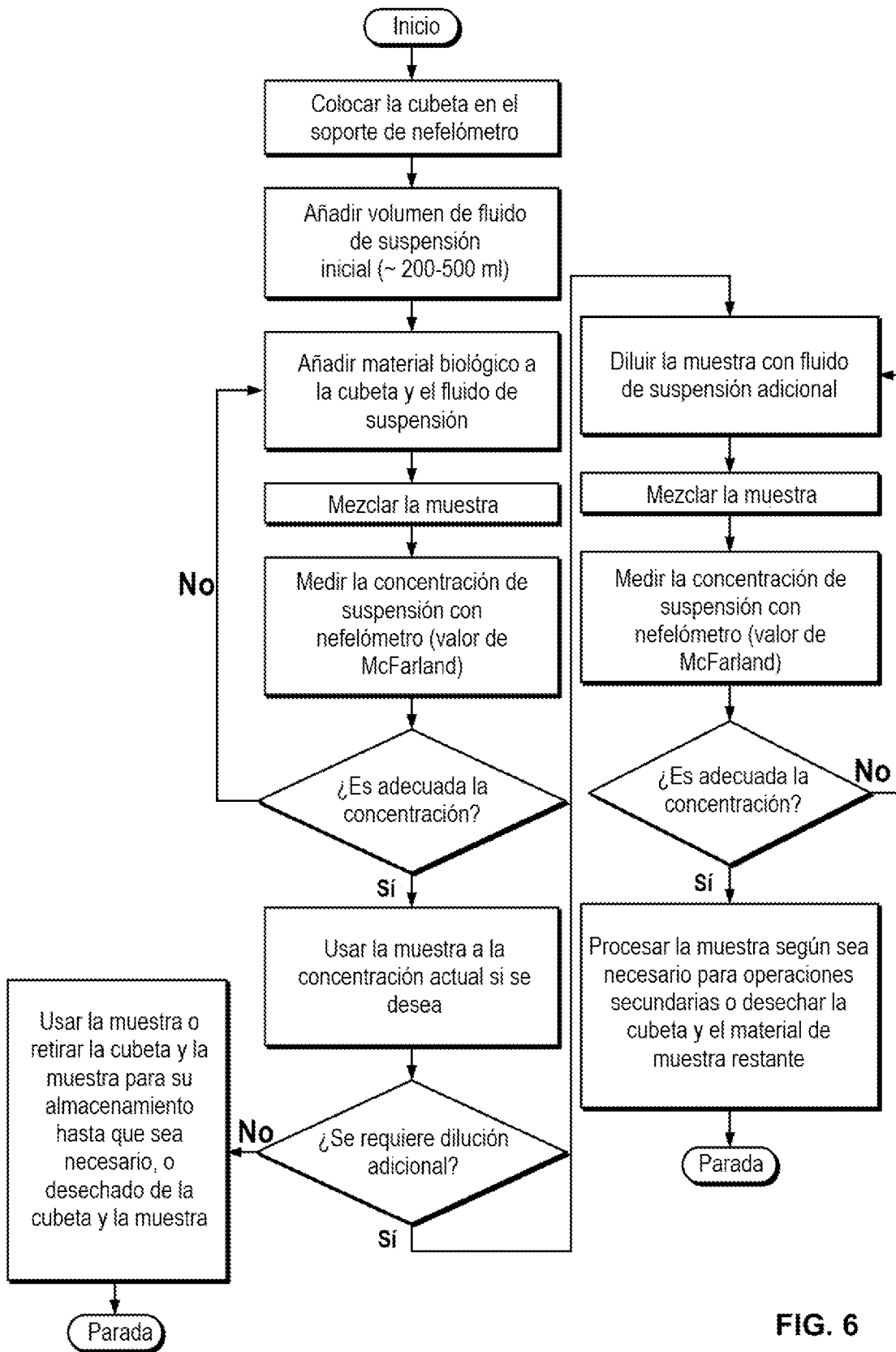


FIG. 6

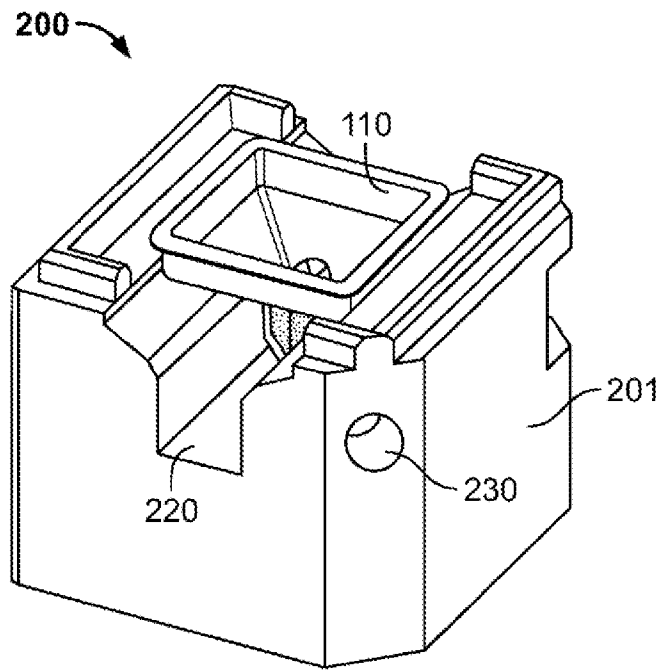


FIG. 7A

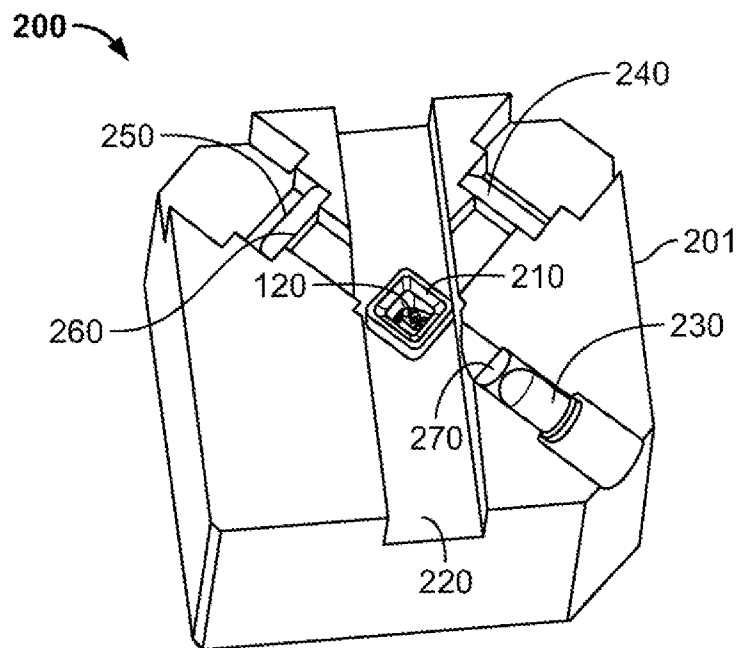


FIG. 7B

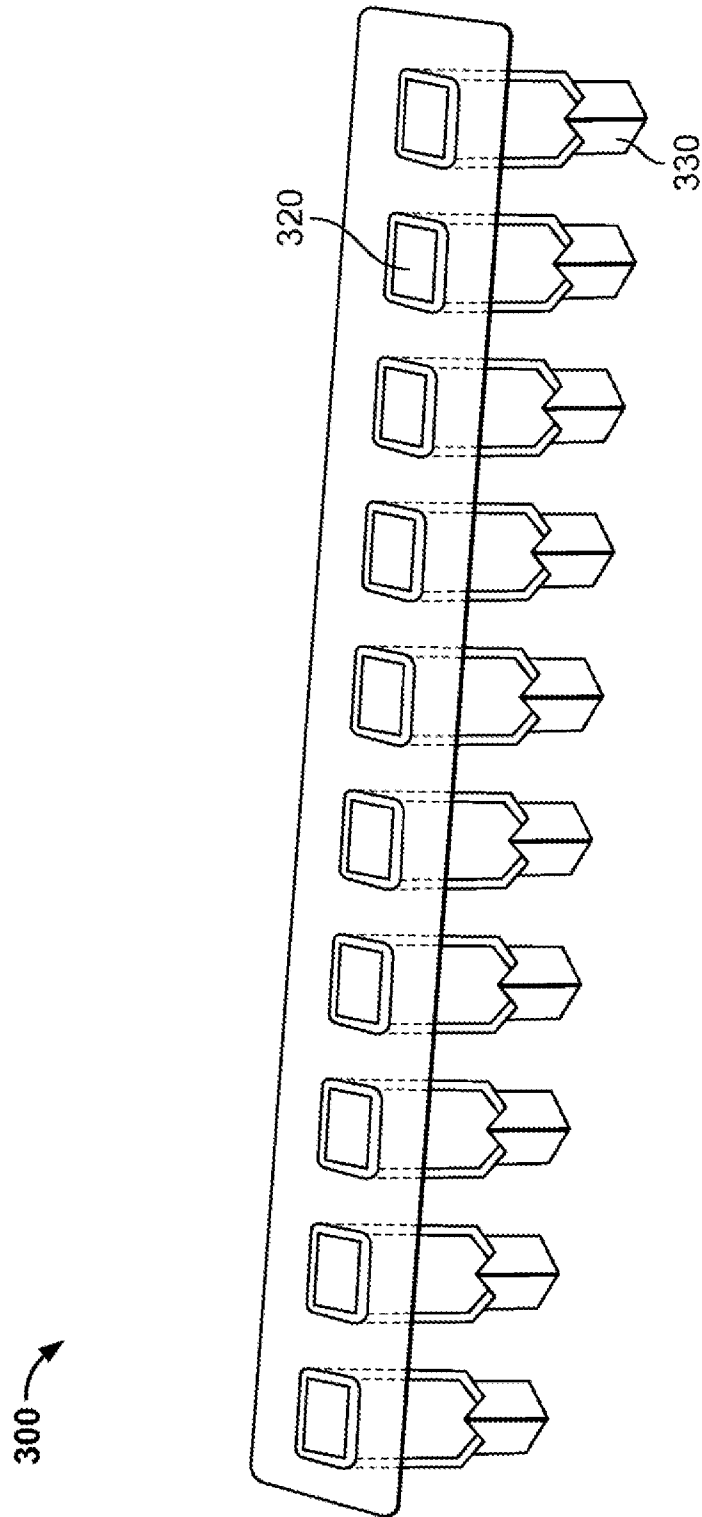


FIG. 8

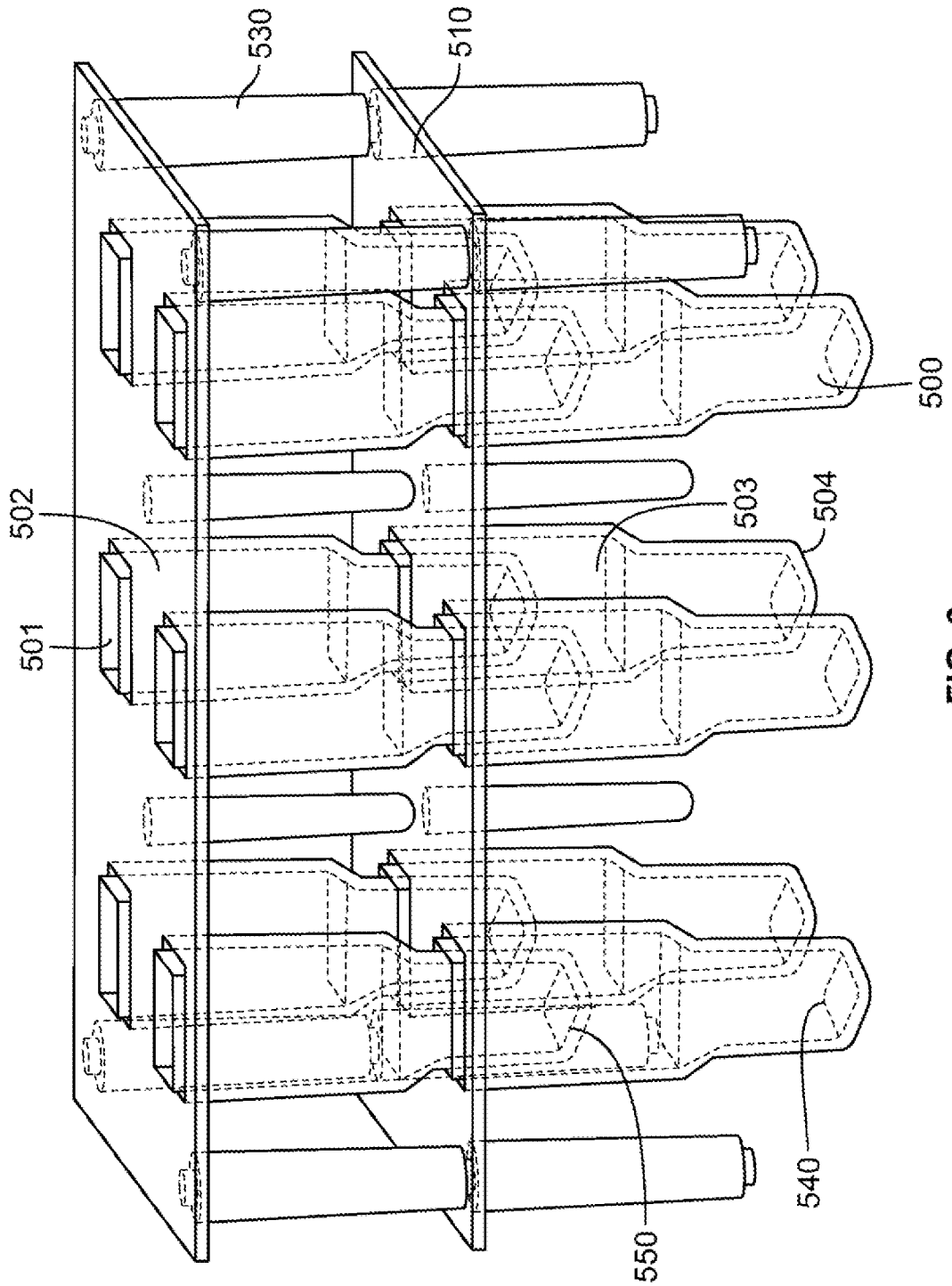


FIG. 9

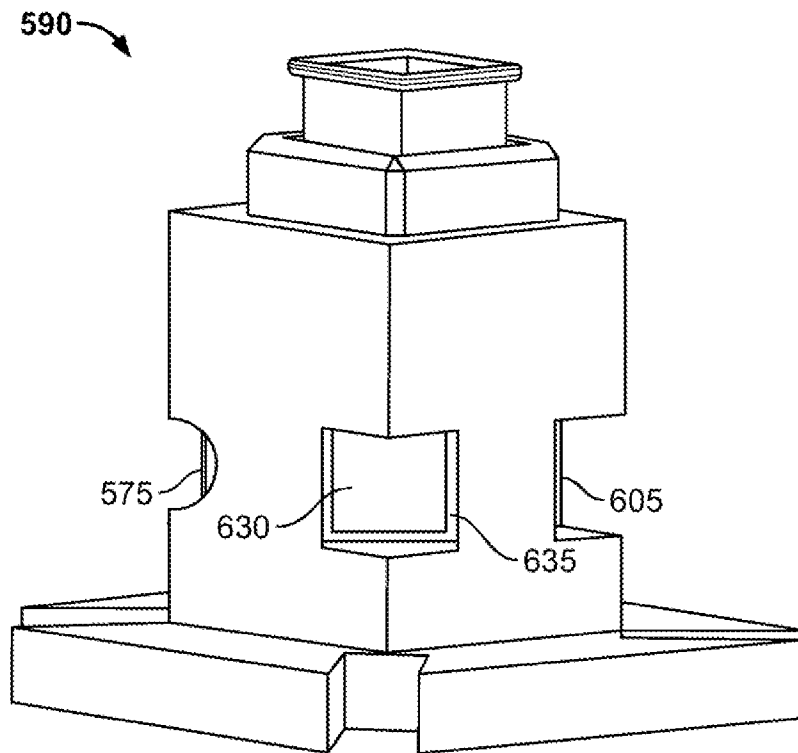


FIG. 10

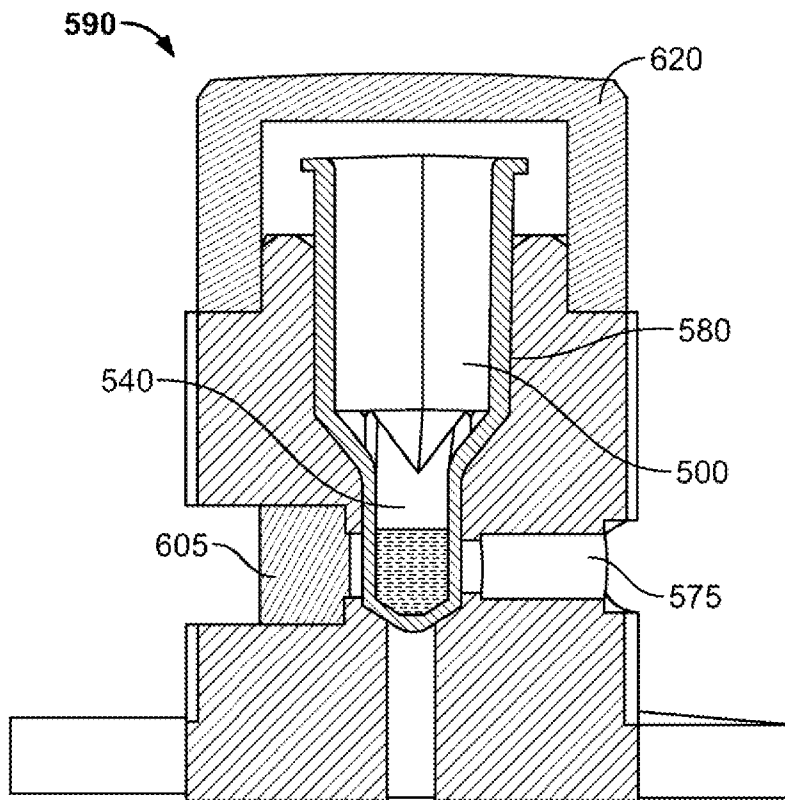


FIG. 11

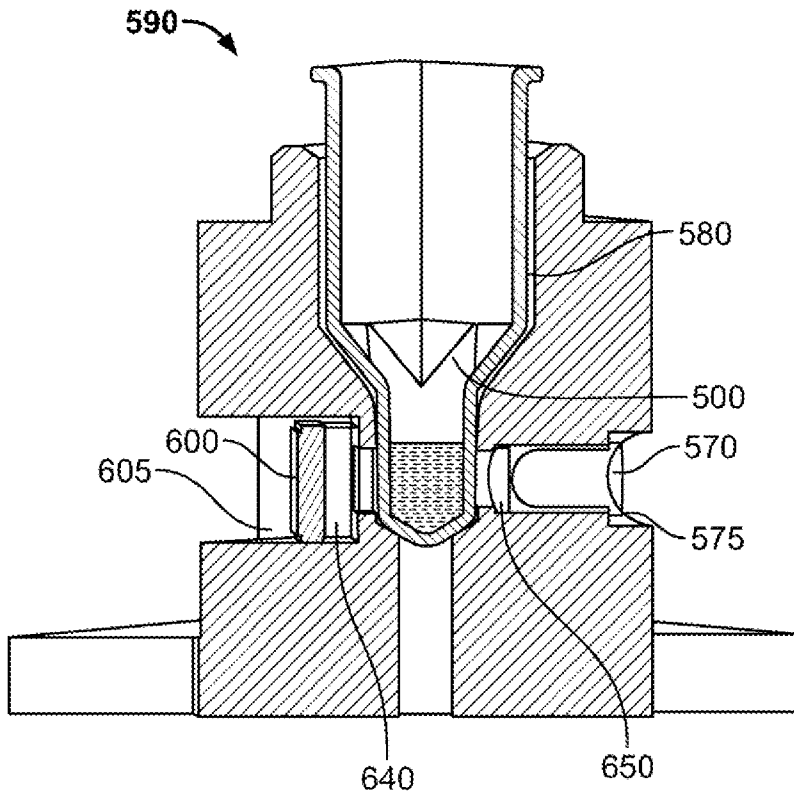


FIG. 12

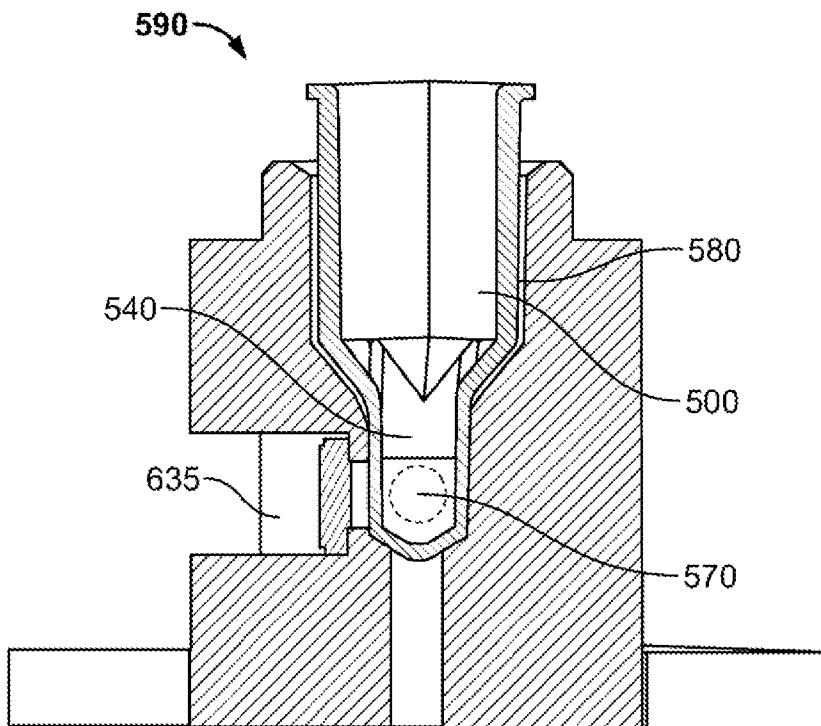


FIG. 13

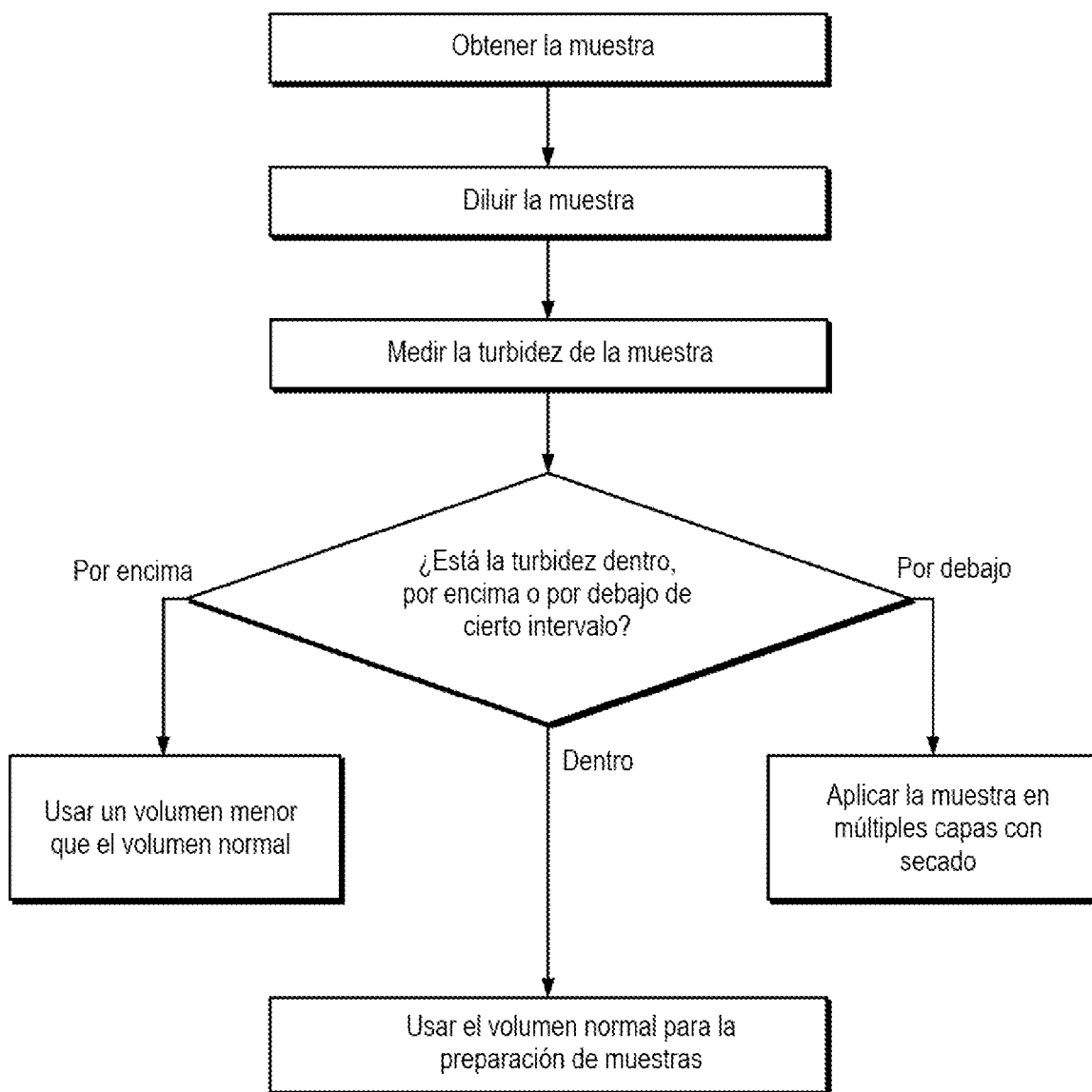


FIG. 14

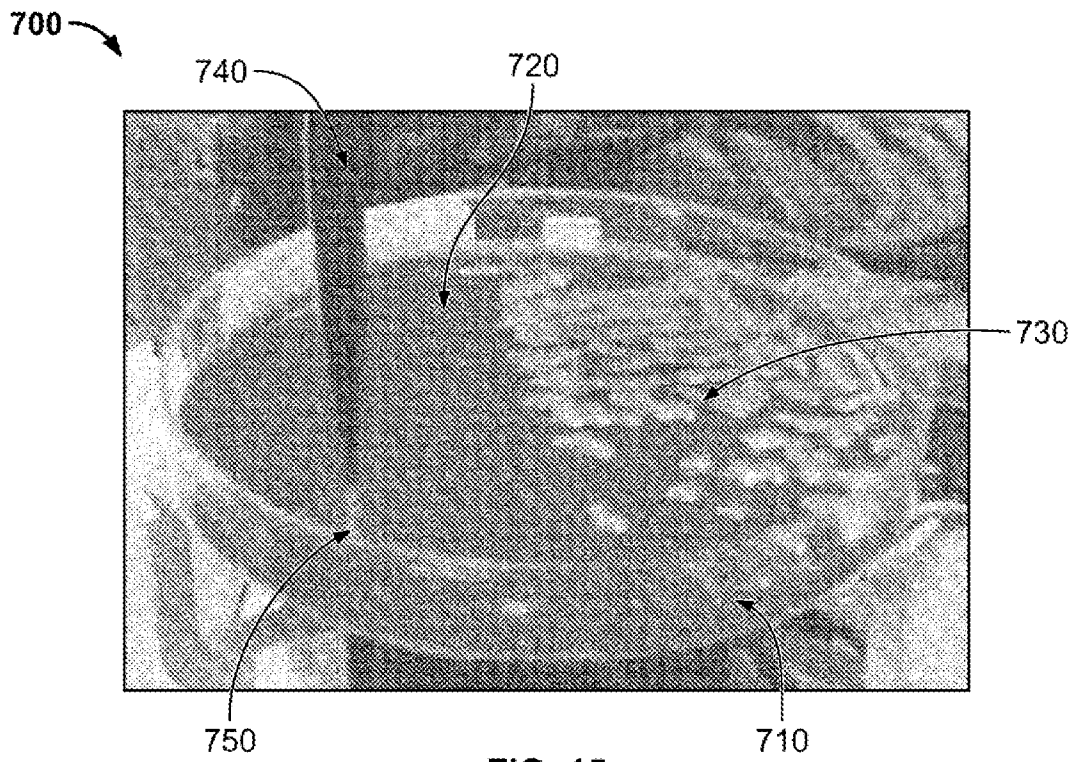


FIG. 15

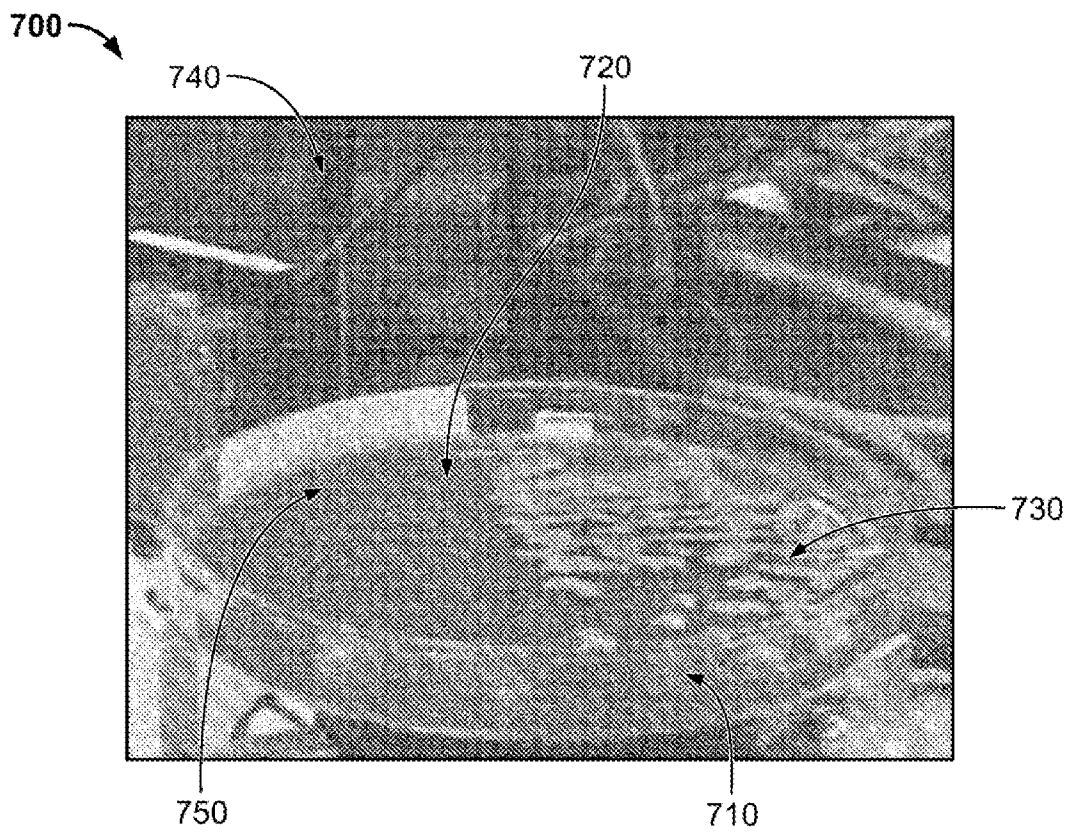


FIG. 16

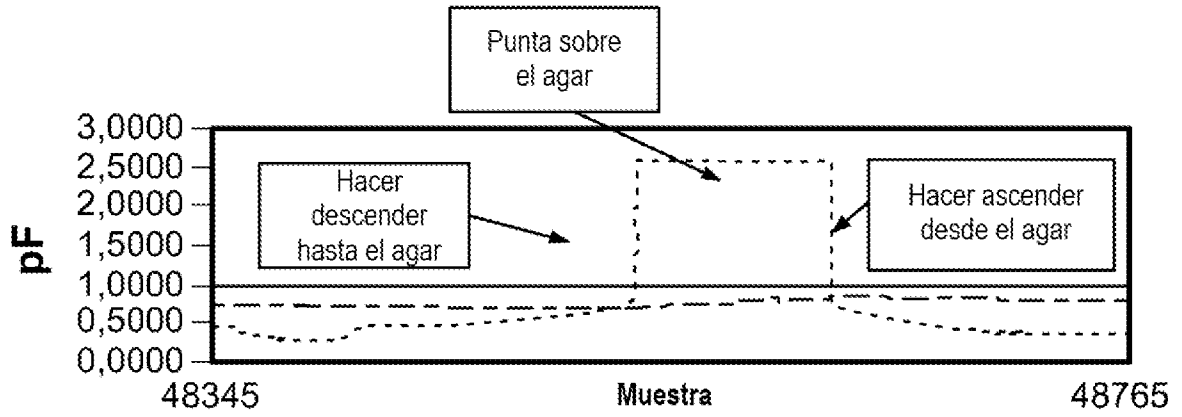


FIG. 17A

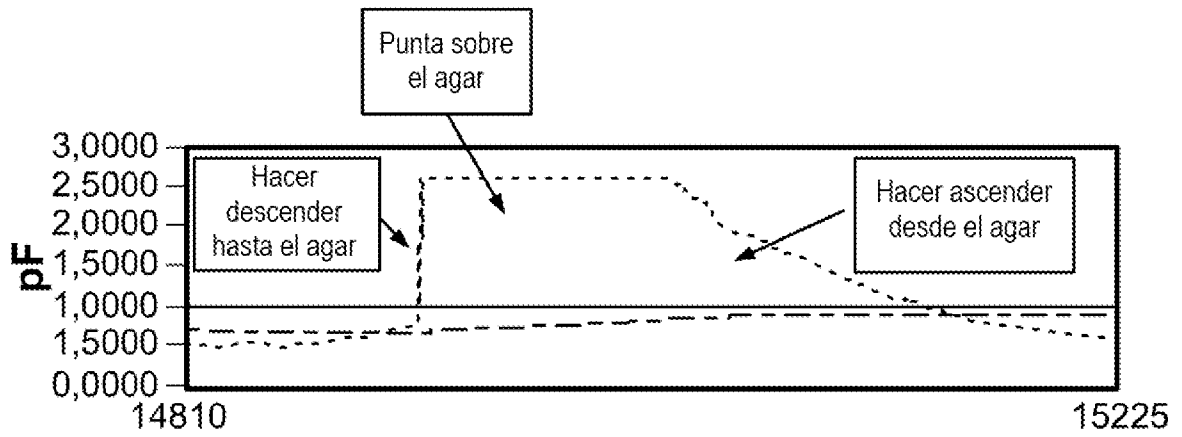


FIG. 17B

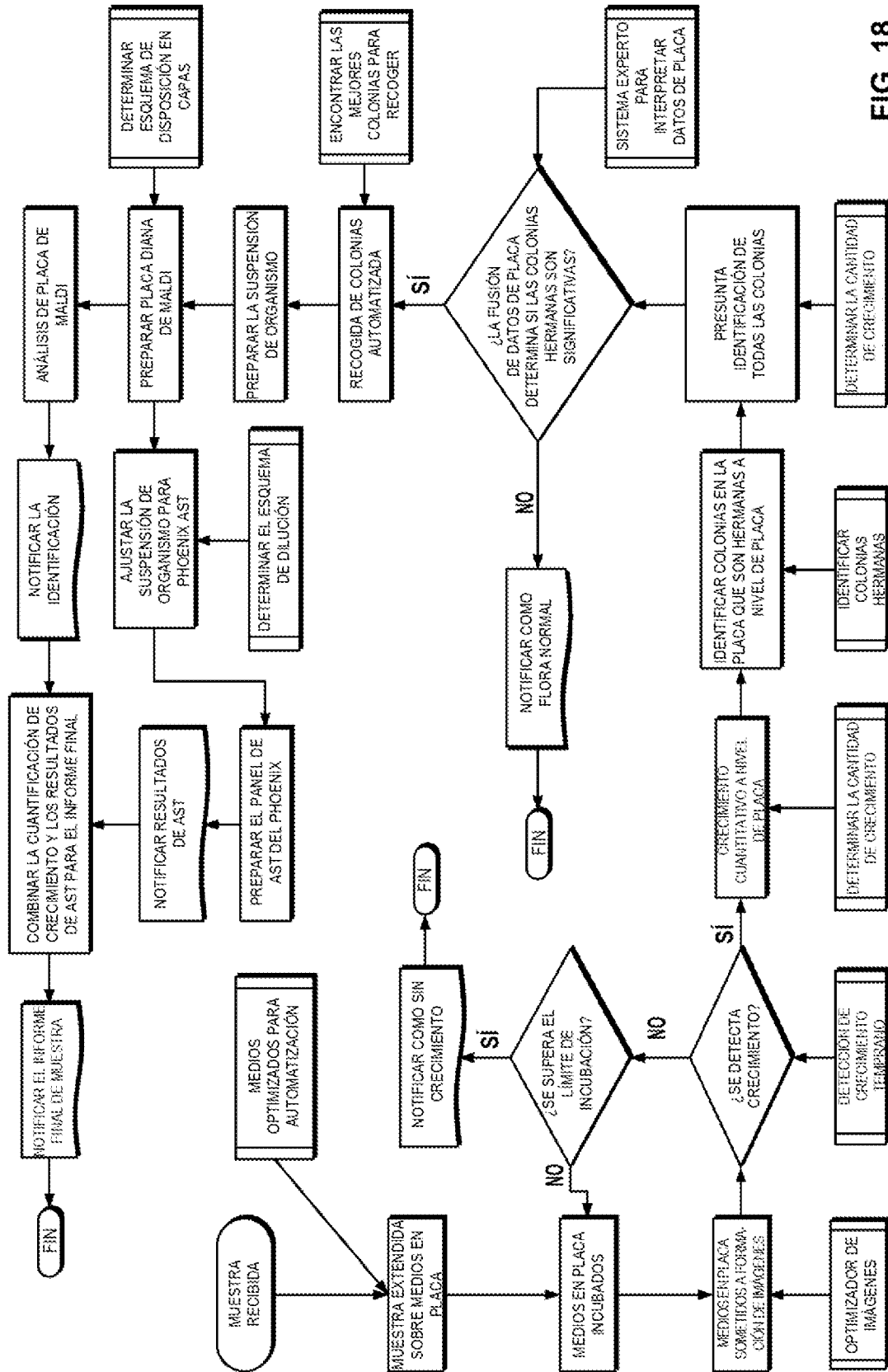


FIG. 18

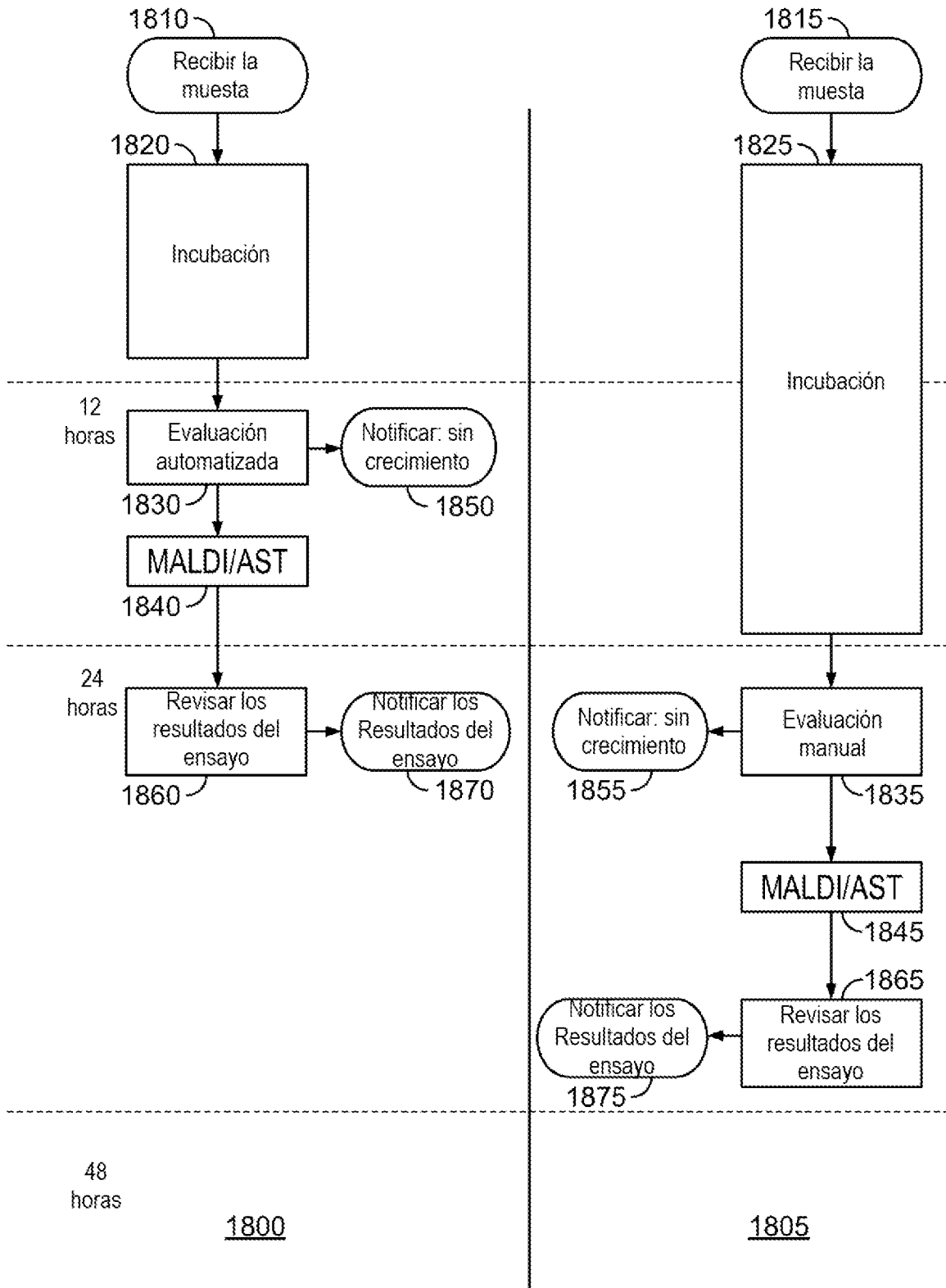


FIG. 19

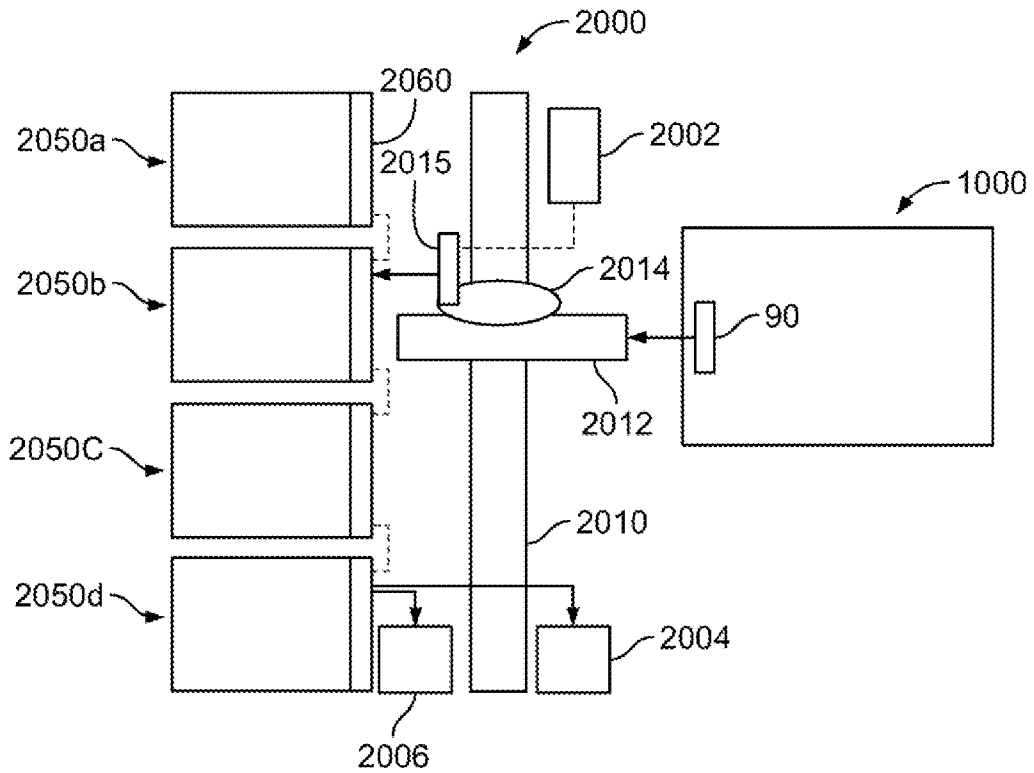


FIG. 20

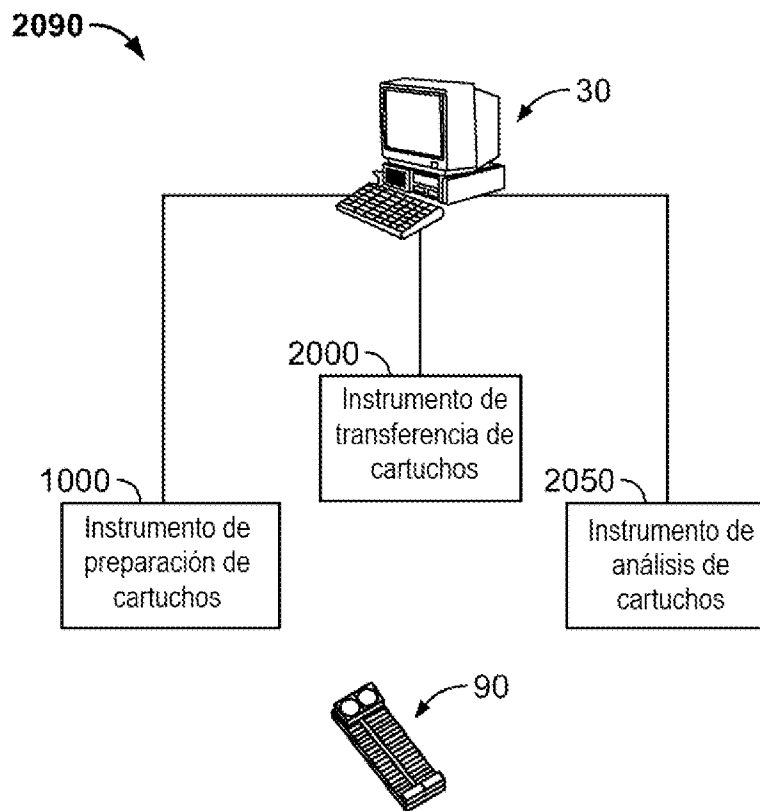


FIG. 21

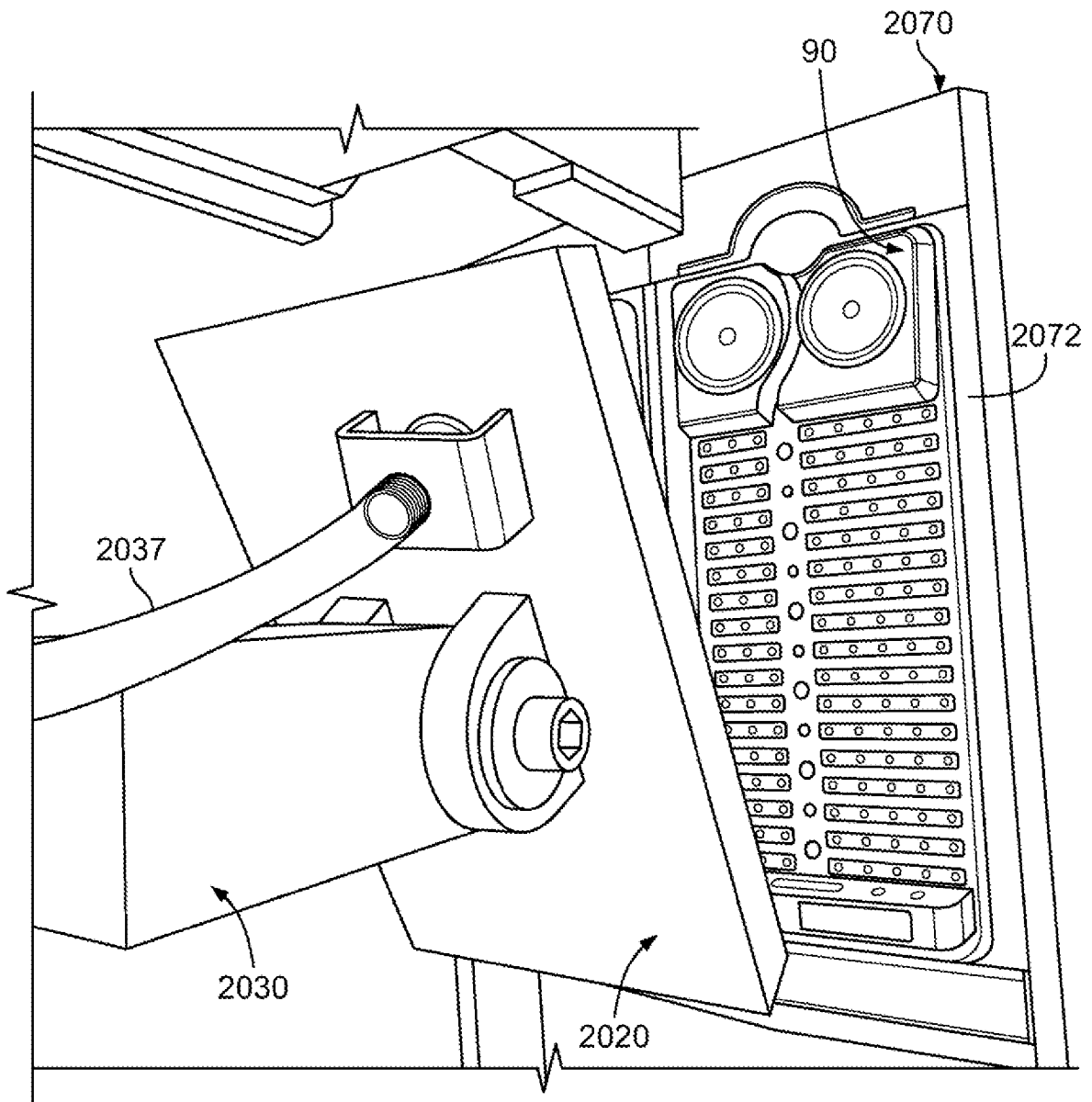


FIG. 22

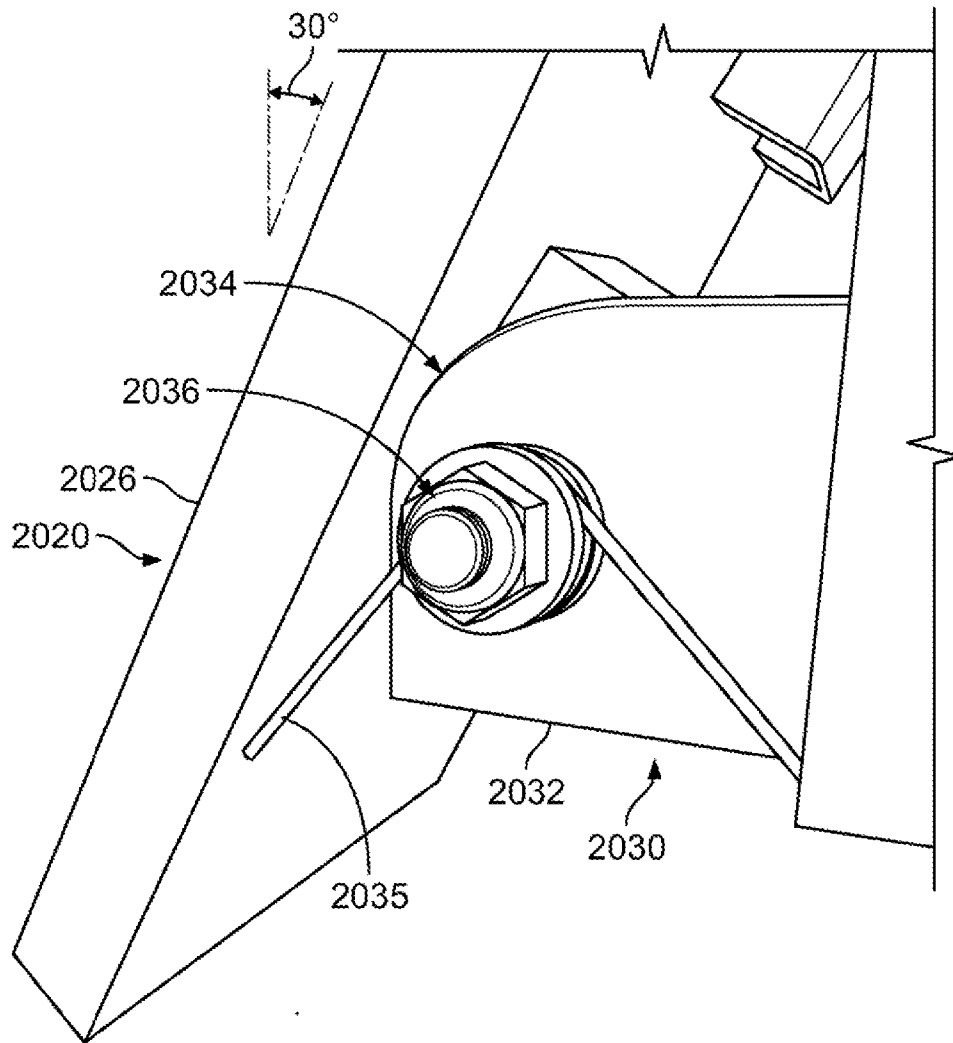


FIG. 23

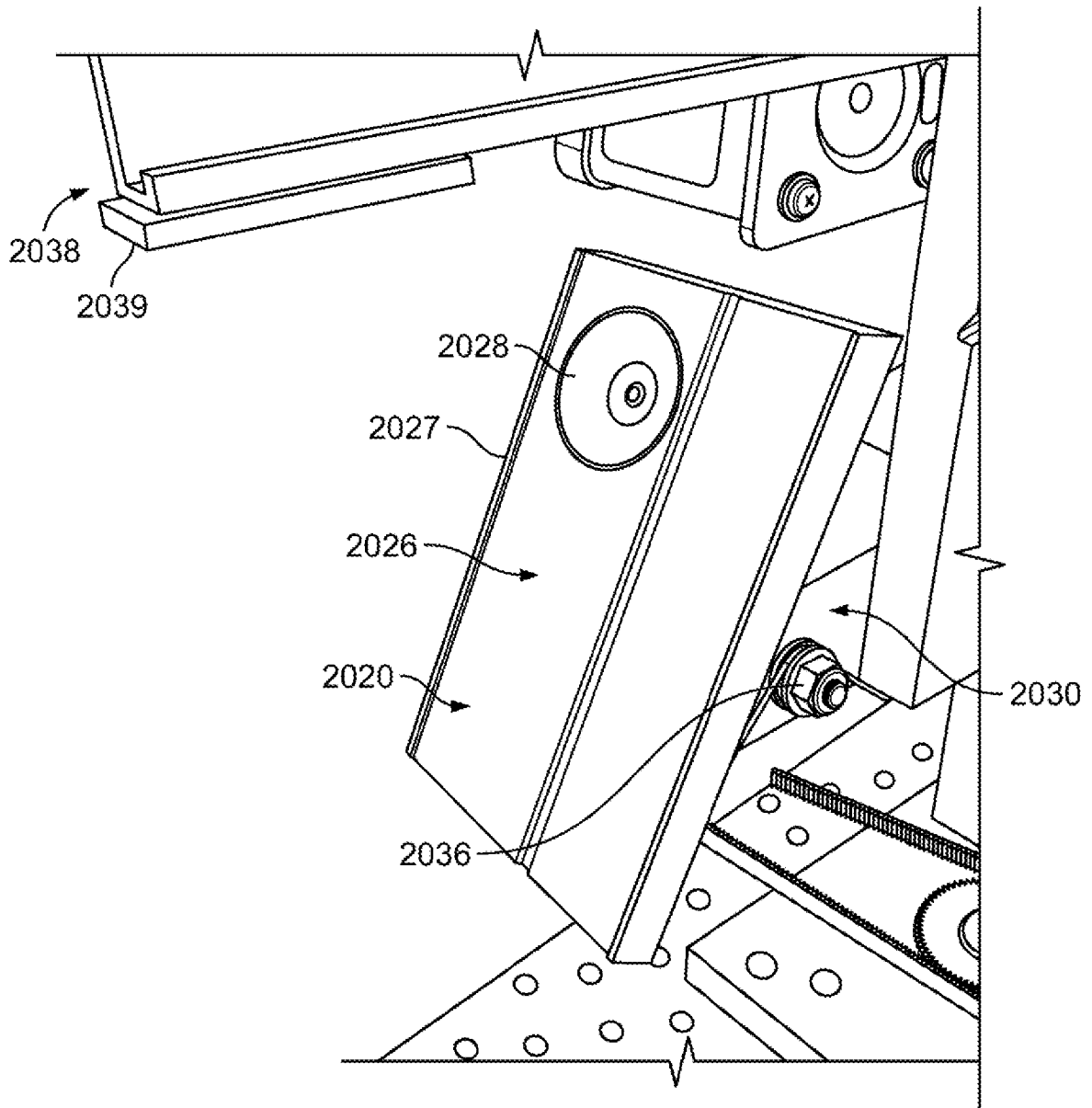


FIG. 24

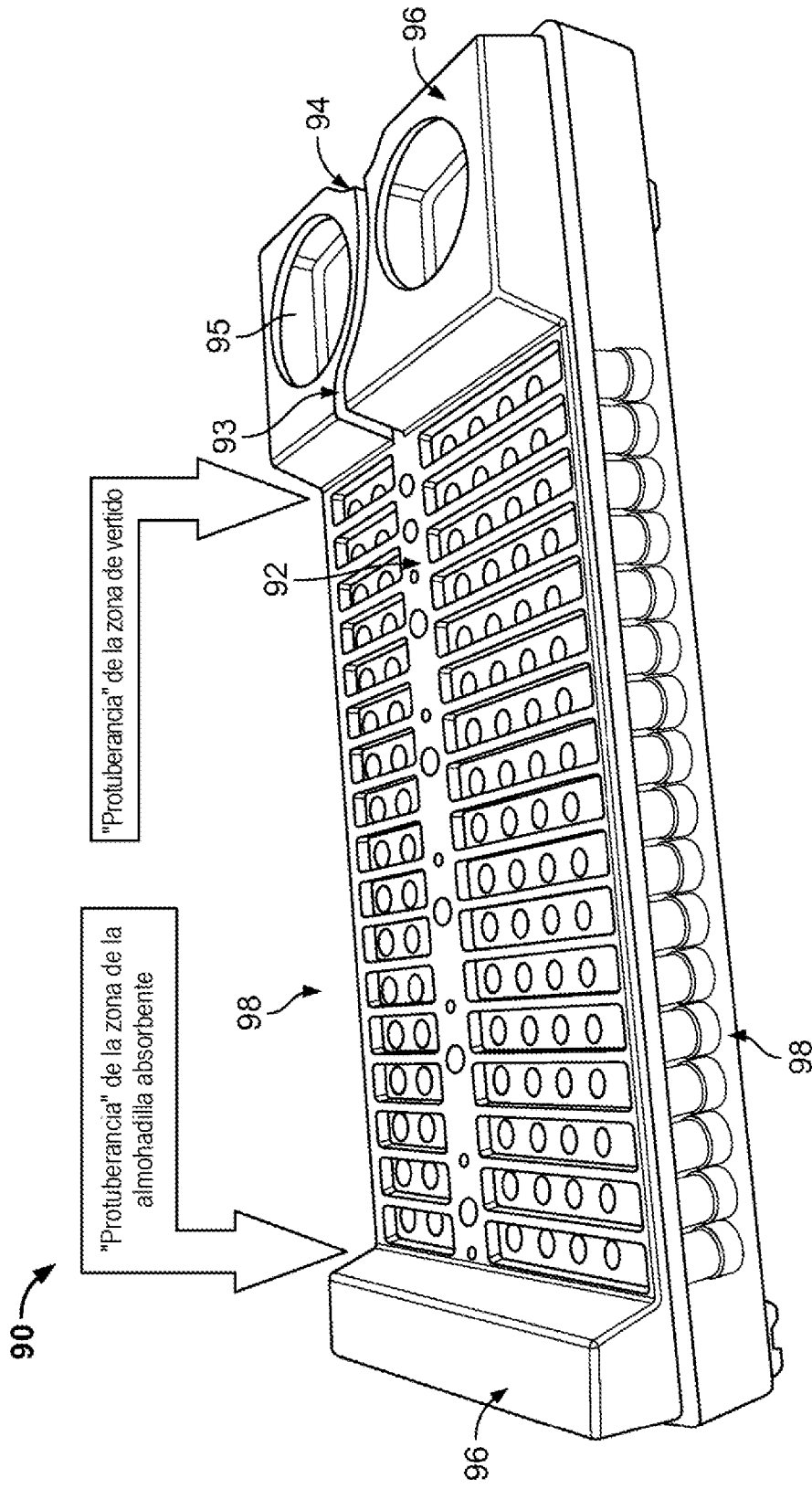


FIG. 25

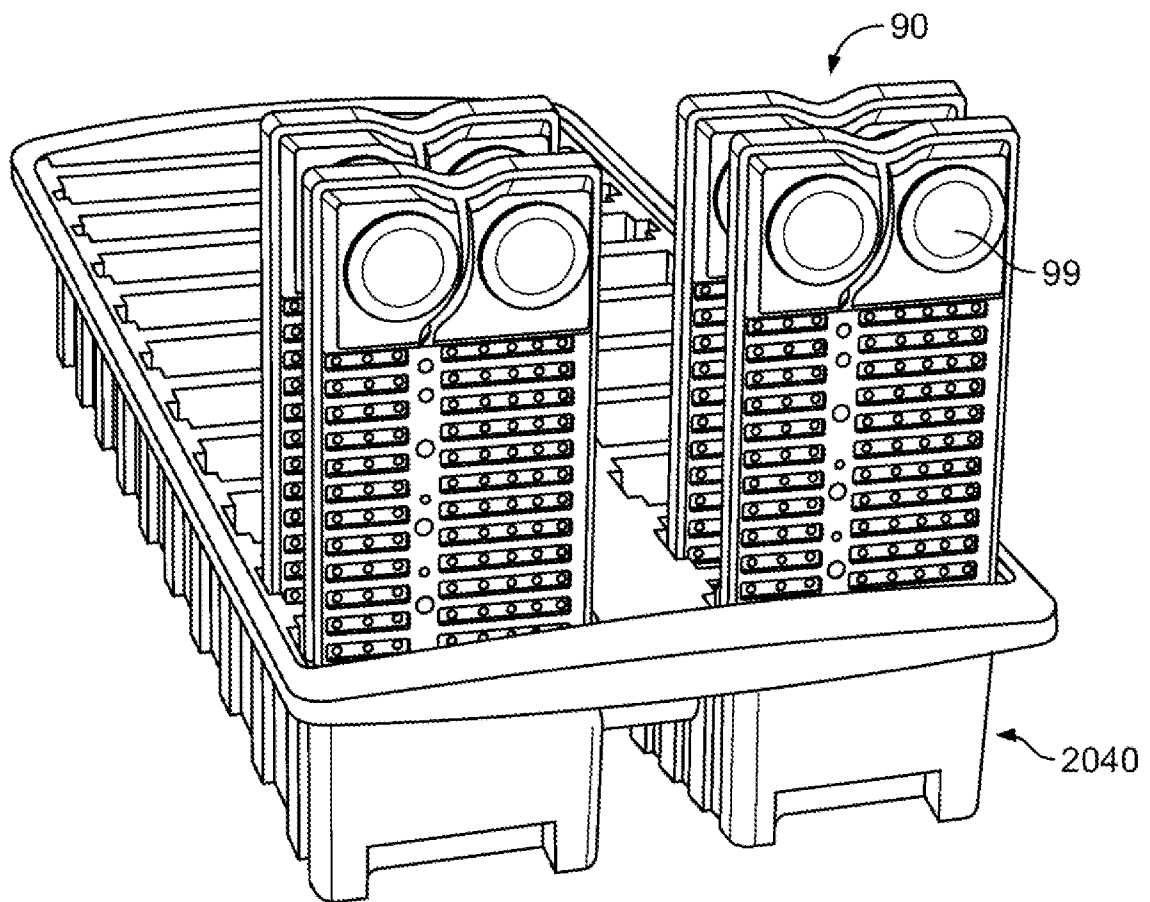
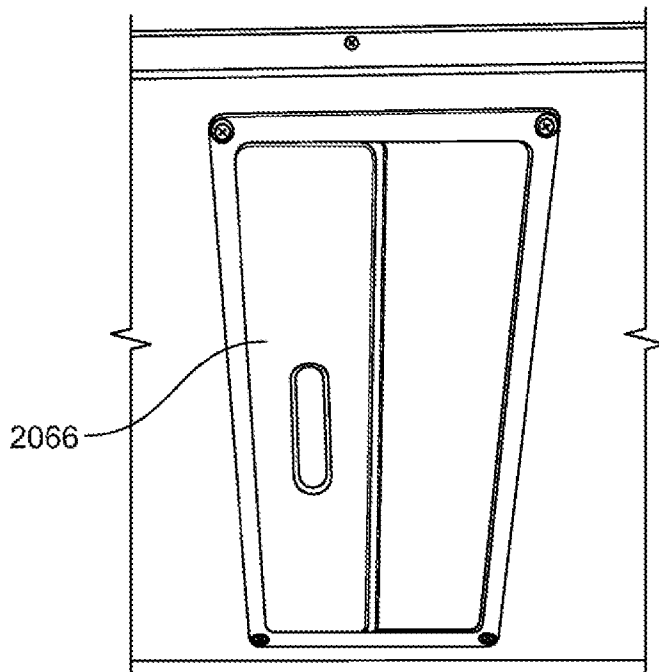
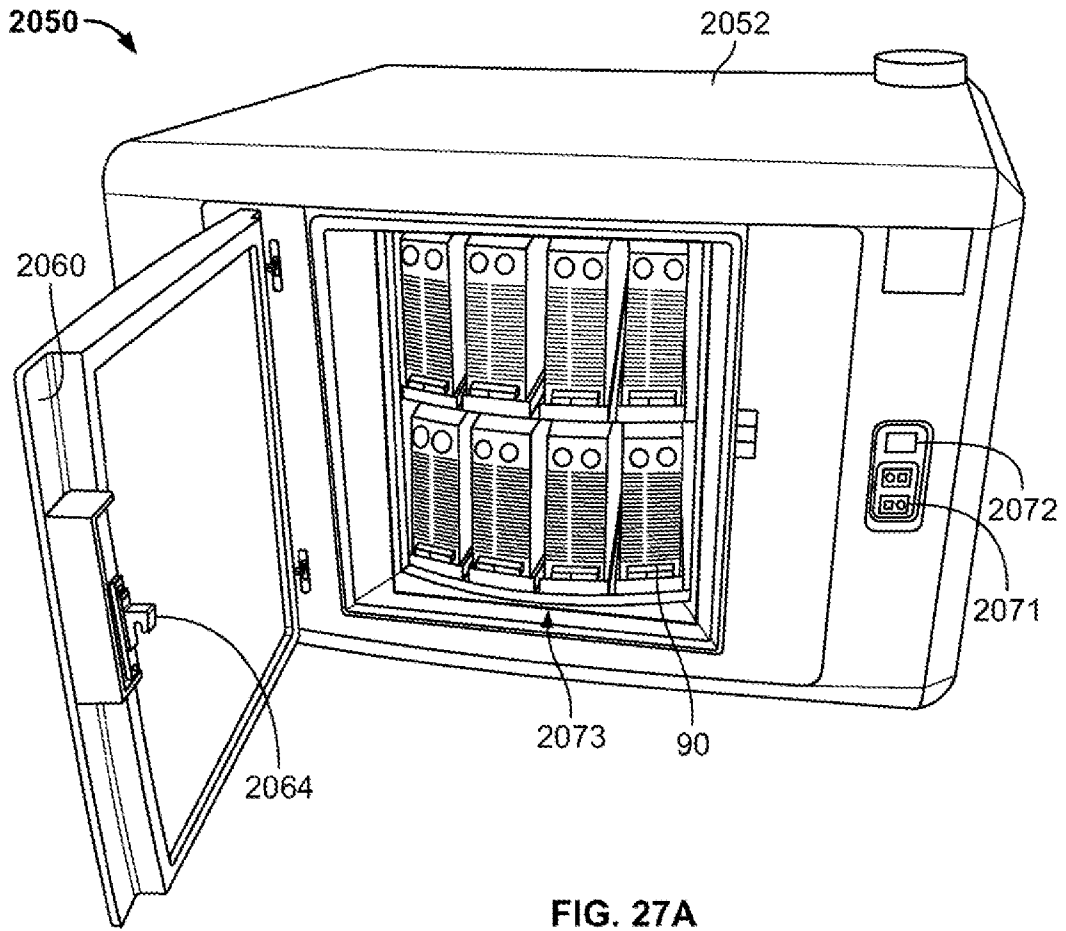


FIG. 26



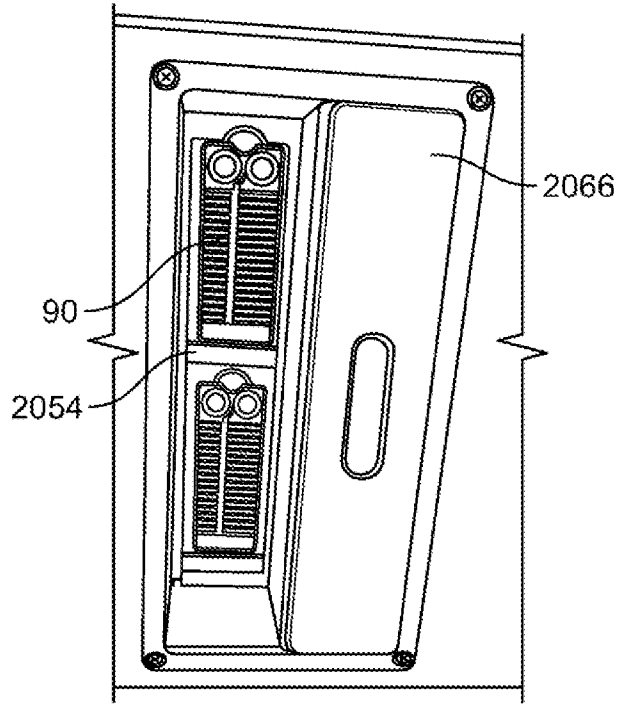


FIG. 27C

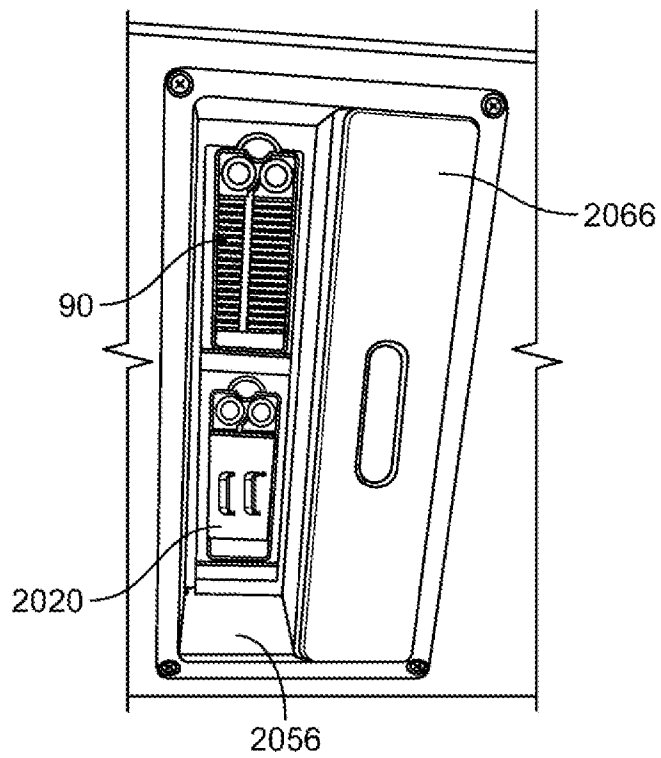


FIG. 27D

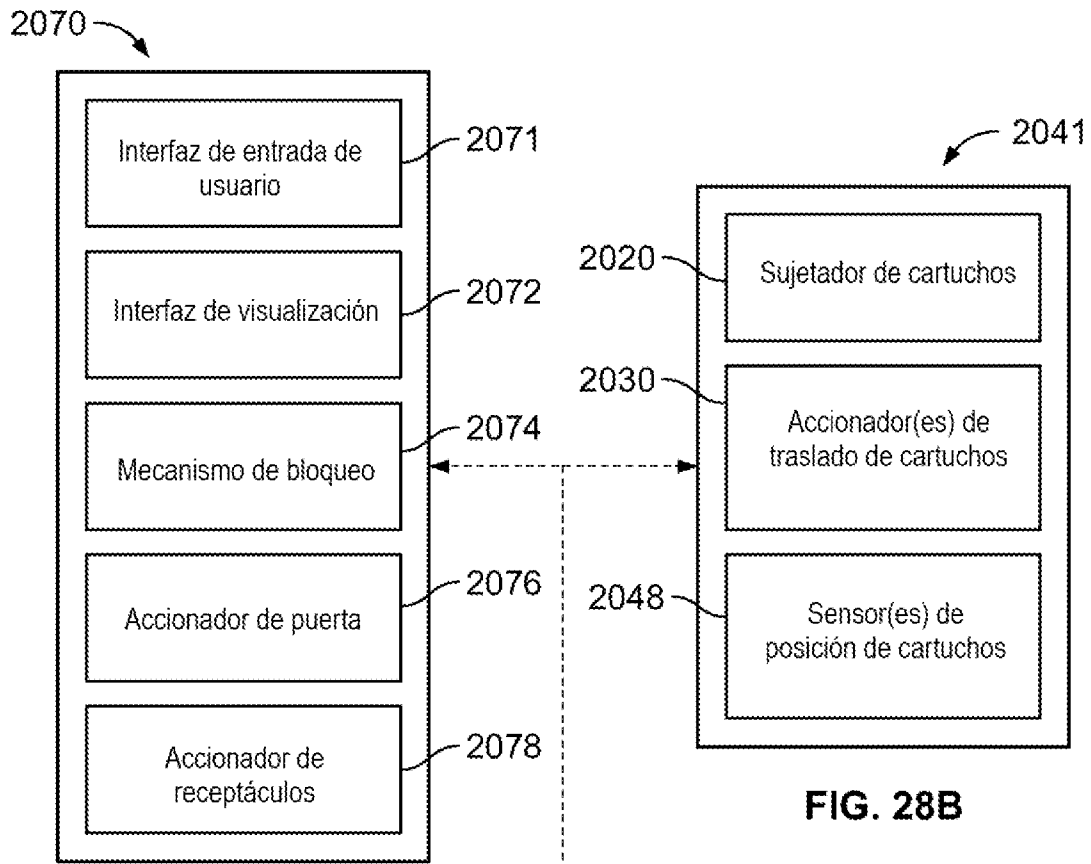


FIG. 28A

FIG. 28B

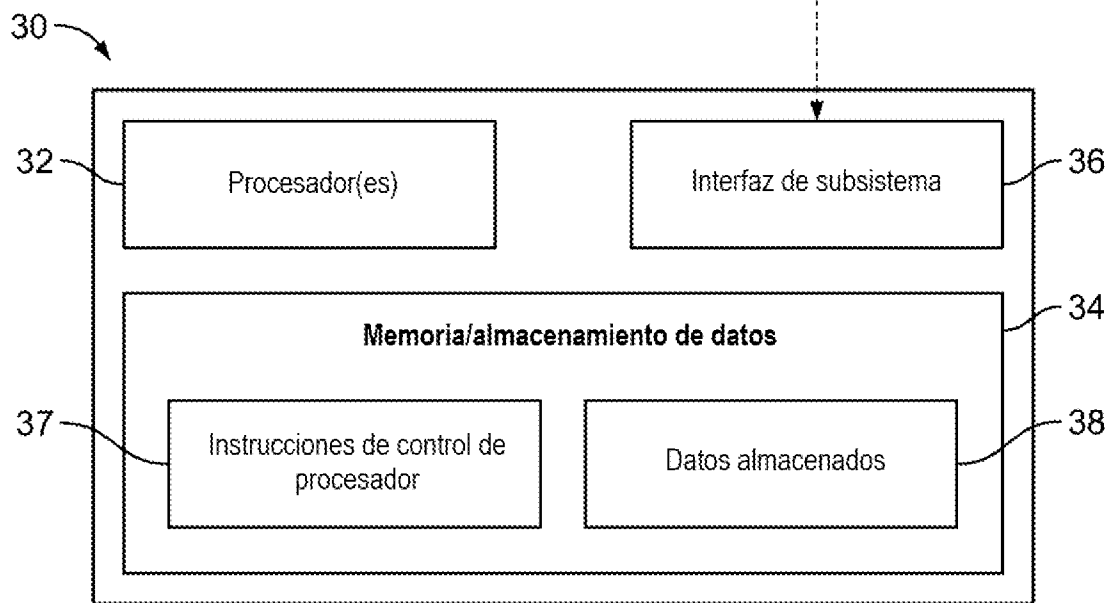


FIG. 28C

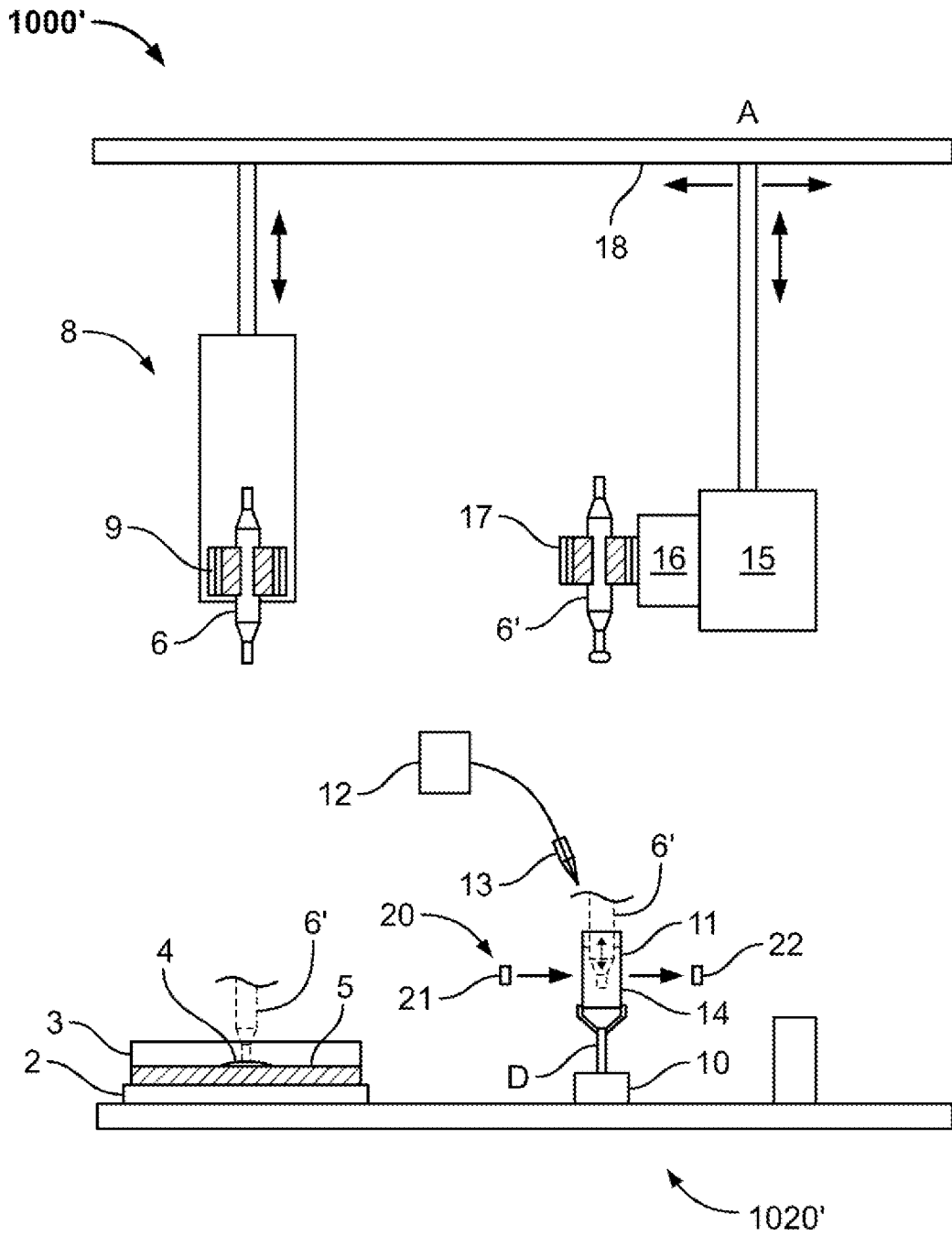


FIG. 29

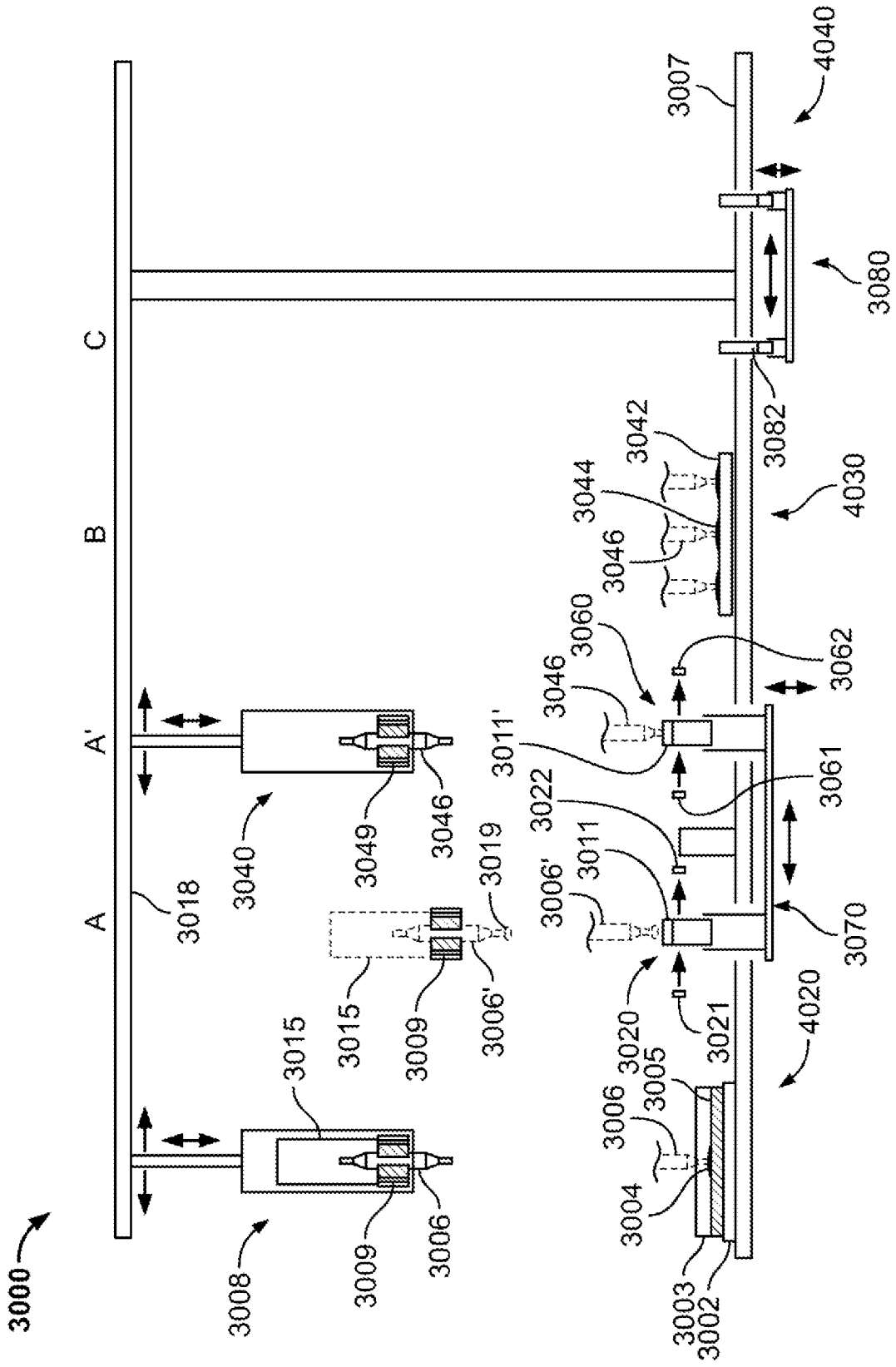


FIG. 30