(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105980550 B
(45)授权公告日 2021.08.20

(21)申请号 201480074682.9
(22)申请日 2014.12.04
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105980550 A
(43)申请公布日 2016.09.28
(30)优先权数据
61/911,840 2013.12.04 US
62/017,604 2014.06.26 US
62/050,859 2014.09.16 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.08.02
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IL2014/051057 2014.12.04
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2015/083166 EN 2015.06.11
(73)专利权人 普凯尔德诊断技术有限公司
地址 以色列雷霍沃特
(72)发明人 乔纳森·格芬克尔
加尔·因格贝尔
(74)专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713
代理人 王思琪 王建秀
(51)Int.Cl.
C12N 7/02(2006.01)
B01D 27/14(2006.01)
G01N 33/487(2006.01)
B01D 61/18(2006.01)
B01D 61/20(2006.01)
(56)对比文件
US 2011197685 A1,2011.08.18
WO 2008151093 A1,2008.12.11
CN 1713951 A,2005.12.28
审查员 李煦颖

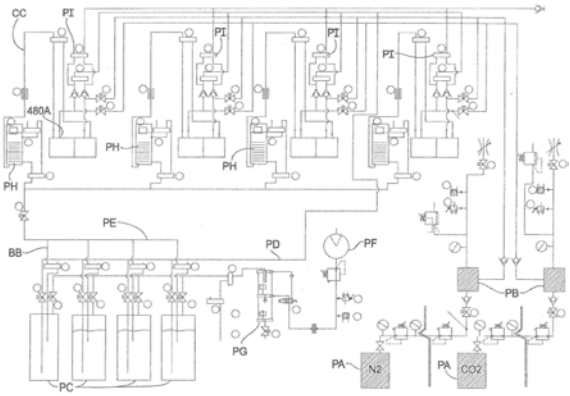
权利要求书3页 说明书14页 附图41页

(54)发明名称

用于处理和分析通过切向过滤提取的颗粒的方法和装置

(57)摘要

一种过滤装置，其具有顶元件和底元件，以及位于二者之间的过滤元件。该过滤元件在其上表面上捕获过大的颗粒，并采用洗脱液切向地冲洗这些颗粒，以在相对低的液体体积中提供颗粒浓度用于进一步的分析。一种采用滑动阀的配置也可以被利用。此外，一种供给容器和接收容器的布置可以用来减少所需容器的数量。质量流量计可以被用于测量洗脱液的流量。最后，该过滤过程的清洗阶段可以用来将染色剂引入到颗粒上，以用于后续分析，例如与革兰氏染色法相关的分析以及这些经染色的颗粒可以被进一步分析。



CN 105980550 B

1.一种切向过滤提取颗粒的装置，其特征在于，其包括：洗脱液、用于引入待过滤的颗粒的颗粒进口、过滤元件、阀装置、废液容器、真空泵和收集器，其中，

至少一个洗脱液供应源；

颗粒进口，其用于引入待过滤的颗粒；

过滤元件为切向过滤元件，其具有第一表面和第二表面；

阀装置，其中所述颗粒进口和洗脱液供应源中的每一个在不同时间与所述过滤元件的所述第一表面流体连通；

真空泵，其与所述过滤元件的所述第二表面以及与所述废液容器流体连通，以使得由所述过滤元件的所述第一表面引入并穿过所述过滤元件的任何液体或颗粒能够沉积在所述废液容器里；

收集器，其用于收集从所述过滤元件的所述第一表面上拭去的颗粒。

2.根据权利要求1所述的切向过滤提取颗粒的装置，其特征在于，包括冲洗液源，并且其中所述阀装置将所述冲洗液源与所述过滤元件的所述第一表面相连接，以使得穿过所述过滤元件的任何液体或颗粒能够沉积在所述废液容器内。

3.根据权利要求1所述的切向过滤提取颗粒的装置，其特征在于，其中所述过滤元件具有孔，该孔的宽度为0.01到50微米之间。

4.根据权利要求1所述的切向过滤提取颗粒的装置，其特征在于，其中所述过滤元件具有孔，该孔的宽度约为0.4微米。

5.一种用于处理和分析通过权利要求1-4任一所述的切向过滤提取颗粒的装置的方法，其特征在于，该方法包括以下步骤，

1)从液体/颗粒混合物中分离颗粒；

2)从过滤元件上切向冲拭颗粒；

3)确定穿过过滤元件的洗脱液的量；

4)分离和染色液体/颗粒混合物中的颗粒；

5)分析染色的颗粒。

6.根据权利要求5所述的方法，其特征在于，步骤1)中，采用液体/颗粒混合物和至少两个过滤元件来捕获过大颗粒并允许小颗粒穿过，其中每个过滤元件都在独立且不同的滤盒中，具体步骤如下：

a)提供第一容器和第二容器作为冲洗液的临时供应容器，以及第三容器作为临时的接收容器，接收容器内部为中空或者盛有部分废液；

b)通过每个滤盒的所述过滤元件来过滤所述液体/颗粒混合物，以使得过大的颗粒被沉积在每个滤盒的所述过滤元件的表面上，其中穿过所述过滤元件的所述液体变成废液并沉积在所述接收容器中；

c)采用冲洗液冲洗通过所述过滤元件的较小的颗粒，其中所述冲洗液在穿过所述过滤元件后变成废液并沉积在所述接收容器中；

d)采用洗脱液切向冲拭所述过滤元件的所述表面，其中所述洗脱液变成废液并沉积在所述接收容器中；

f)由所述第一容器提供冲洗液，直到所述第一容器内变空，此时所述第一容器从供应容器被重新指定为接收容器，随后冲洗液由所述第二容器提供，而废液被沉积在所述第一

容器中，借此利用之前盛有冲洗液的容器来接收并存储废液。

7.根据权利要求6所述的方法，进一步包括临时供应容器，其中每当一个供应容器被用尽时，其就会被重新指定为接收容器，适用于接收和存储废液。

8.根据权利要求6所述的方法，其中每一个容器的尺寸都被设计为能够容纳所述过滤过程、冲洗过程和提取过程在单个供应容器提供冲洗液的时间里所产生的废液。

9.根据权利要求6所述的方法，其中所述液体/颗粒混合物被同时引入并被多个滤盒中的过滤元件处理。

10.根据权利要求6所述的方法，其中所述颗粒为细菌。

11.根据权利要求6所述的方法，其中每个所述过滤元件都是聚碳酸酯型过滤元件。

12.根据权利要求6所述的方法，其中每个所述过滤元件都具有孔，该孔的开口宽度为0.01到50微米之间。

13.根据权利要求12所述的方法，其中每个所述过滤元件都具有孔，该孔的开口宽度为0.4微米。

14.根据权利要求6所述的方法，其中所述洗脱液是泡腾的。

15.根据权利要求6所述的方法，其中所述洗脱液包括发泡剂。

16.根据权利要求5所述的方法，其特征在于，步骤2)中从过滤元件上切向冲拭颗粒的方法包括如下步骤：

a)采用洗脱液切向冲洗所述过滤元件的上表面，以取代所沉积的颗粒；在此之后所用的洗脱液变成废液；

b)收集所述废液至器皿中，该器皿放置在称重传感器上，并测量容器的重量，直到达到预定的重量；

c)当达到预定的重量时，停止所述切向冲洗，并且释放所述器皿中收集的所述废液。

17.根据权利要求5所述的方法，其特征在于，步骤3)中，采用称重传感器进行测量。

18.根据权利要求5所述的方法，其特征在于，步骤4)中，包括如下步骤：

a)通过所述过滤元件过滤所述液体/颗粒混合物，以使得所述过大的颗粒被沉积在所述过滤元件的上表面上；

b)采用初染剂冲洗被所述过滤元件余留的所述颗粒；

b)采用洗脱液切向冲拭所述过滤元件的所述上表面，以取代沉积的颗粒至收集器中供进一步处理。

19.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述初染剂为适用于革兰氏染色法的结晶紫。

20.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，在过滤所述液体/颗粒混合物的步骤之后，采用冲洗液冲洗通过所述过滤元件的较小颗粒的步骤。

21.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中过滤通过所述过滤元件的所述液体/颗粒混合物是通过采用通过所述过滤元件的抽吸力来完成。

22.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述颗粒为细菌。

23.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述过滤元件是聚碳酸酯型过滤元件。

24.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述过滤元件具有孔，该孔的开口

宽度为0.01到50微米之间。

25.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述过滤元件具有孔，该孔的开口宽度为0.4微米。

26.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述洗脱液是泡腾的。

27.根据权利要求18所述的方法，其特征在于，其中所述洗脱液包含发泡剂。

用于处理和分析通过切向过滤提取的颗粒的方法和装置

背景技术

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2013年12月04日提交的美国临时申请序列号61/911,840、2014年6月26日提交的美国临时申请序列号62/017,604以及2014年9月16日提交的美国临时申请序列号62/050,859的优先权。其全部内容通过引用合并于此。

技术领域

[0003] 机械的颗粒过滤器被用于从液体/颗粒混合物中提取颗粒用于分析。然而，目前颗粒保存在过滤器中。最常见的用于从过滤器中移除颗粒用于分析的技术是引入额外的液体，例如通过使用反洗工艺。然而，理想地，颗粒应被包含在尽可能最少量的液体中而保持高的截留率，以便于分析。当颗粒为细菌时更是如此。因此，当反洗过滤器确实从过滤器中移除了颗粒时，该过程的效率很低，并且所需的液体的总量可能产生液体/颗粒与过量液体的二次混合。

[0004] 进一步地，当使用具有小孔径的亲水膜以及在过滤器的下游侧提供抽吸力以抽取液体和较小的颗粒时，通常，该膜在被弄湿后会变成空气的屏障。

[0005] 需要一种设计和方法，借此有利的颗粒可以被过滤并包含在少量液体中，进一步地，借此过滤器可以被构造成使得即使在液体经过后，过滤器的膜将允许更多的真空抽吸。

附图说明

[0006] 图1为示出了现有技术的过滤装置的简化分解示意图；

[0007] 图2为图1中的过滤装置的组装示意图；

[0008] 图3为示出了分解的现有技术的过滤装置的立体装置图的示意图，其中除去了过滤元件；

[0009] 图4为图3中的现有技术的过滤装置的实施方式的示意图，但是包含安装在位的过滤元件；

[0010] 图5A-10A为根据本发明的过滤装置的一个实施方式的顶半部和底半部的示意图，示出了过滤过程的不同配置；

[0011] 图5B-10B为组装状态中过滤装置的示意图，示出了过滤过程的不同配置；

[0012] 图11A为过滤装置的一个实施方式的顶半部和底半部的示意图，其中过滤装置利用止回阀和改进的通道，从而为洗脱液和水提供双进口并为真空提供双出口；

[0013] 图11B为图11A中的过滤装置组装状态下的示意图；

[0014] 图12A-17A为过滤装置的另一个实施方式的顶半部和底半部的示意图，示出了过滤过程的不同配置，并且进一步地利用旋塞阀来形成不同的液体路径；

[0015] 图12B-17B为图12A-17A中的过滤装置的实施方式在组装状态下的示意图，示出了过滤过程的不同配置；

[0016] 图18A为利用夹层配置的过滤装置的示意图，借此之前描述的“顶部”被夹在两个

“底部”之间，以提供更好的过滤性能；

[0017] 图18B为图18A中的过滤装置在组装状态下的示意图；

[0018] 图19为过滤装置的另一个实施方式的立体图，其利用滑动阀来形成不同的液体路径；

[0019] 图20为阀装置的截面图，示出了滑动阀；

[0020] 图21示出了滑动阀的细节；

[0021] 图22-28为过滤装置的另一个实施方式的示意图，示出了过滤过程的不同配置，并且进一步地利用滑动阀来形成不同的液体路径；

[0022] 图22A、23A、25A、26A和28A为工艺流程图，示出了这样的系统，其中利用如图22-28所示的滤盒配置的过滤装置(也被称为过滤盒)；

[0023] 图29为工艺流程图，示出了利用四个分开的过滤盒的系统；

[0024] 图30为图2中示意性示出的质量计的局部横截面示意图；

[0025] 图31为沿着图22中的箭头29的截面示意图；

[0026] 图32为工艺流程图，大致示出了样品中的细胞的处理过程和识别过程；

[0027] 图33A示出了采用WASP系统得到的接种在血琼脂培养基上的尿液样本中的细菌，其未经过本发明中的浓缩过程；

[0028] 图33B示出了采用WASP系统得到的接种在血琼脂培养基上的尿液样本中的细菌，其经过了本发明中的浓缩过程；

[0029] 图33C示出了采用WASP系统得到的接种在科马嘉培养基上的尿液样本中的细菌，其未经过本发明中的浓缩过程；

[0030] 图33D示出了采用WASP系统得到的接种在科马嘉培养基上的尿液样本中的细菌，其经过了本发明中的浓缩过程；

[0031] 图34示出了两个分开的尿液样本组处理前后的情况，一组接种在血琼脂培养基上，另一组接种在科马嘉培养基上，两组均采用WASP系统处理；

[0032] 图35为两组临床尿液样本在浓缩过程前后的投影图像，示出了该过程去除蛋白质、细胞以及无关物质的效果；

[0033] 图36为两组临床尿液样本在浓缩过程前后的投影图像，示出了该过程去除蛋白质、细胞以及无关物质的效果；以及

[0034] 图37为两组临床尿液样本在浓缩过程前后的投影图像，示出了该过程去除蛋白质、细胞以及无关物质的效果。

发明内容

[0035] 以下为了说明的目的，术语“端部”、“上部”、“下部”、“右”、“左”、“竖直”、“水平”、“顶部”、“底部”、“侧部”、“纵向”及由其导出的应与本发明相关，因为其为在附图中的方向。然而，应了解的是，除有具体的相反说明外，本发明可以具有多种替换变型和步骤顺序。还应了解的是，附图所示的以及在说明书中所描述的具体装置和过程仅仅是本发明的示例性的实施方式。因此，在此公开的与实施方式相关的具体尺寸和其他物理特征并不视为限制。

[0036] 图1示出了现有技术的过滤装置10，其具有顶元件15、底元件20以及位于二者之间的过滤元件25。图1为分解示意图，图2为具有相同部件的组装示意图，但是顶元件15和底元

件20画在一起以将过滤元件25压紧在二者之间。作为概述，请将注意力放在图2上，液体/颗粒混合物通过进口/出口30被引入到延伸通过顶元件15的通道内(未示出)。进口35被关闭，并且抽吸出口40提供真空，从而吸入液体/颗粒混合物使其通过过滤元件25，使得过大的颗粒余留在过滤元件25的上表面45上。此后，进口35被打开，并且抽吸出口40被关闭。随后，洗脱液被引入进口35，以切向地冲洗过滤元件25的上表面45。这使得离开进口/出口30的液体/颗粒混合物的体积减小。作为中间步骤，可以在抽吸出口40打开时关闭进口35，并且将水/冲洗剂引入进口/出口30，以在初始过滤步骤之后将颗粒冲走，从而进一步过滤未能在之前清洗通过过滤器的所有余留的颗粒。该水/冲洗剂和较小的颗粒的溶液通过抽吸出口40被移除并排出。因此，沉积在过滤元件25的上表面45上的过大的颗粒被分离并使用减小体积的洗脱液收集。

[0037] 图3和图4示出了现有技术的过滤装置10的一个实施方式，过滤装置10具有顶元件20和底元件15，以及位于二者之间的过滤元件25(图4)。这些附图中的每一幅都示出了处于未组装状态的过滤装置10。然而，可以了解的是，四个螺栓26A、26B、26C、26D分别可以被固定在孔27A、27B、27C、27D中，过滤元件25在其间，以组装过滤装置10。图3和图4所示的过滤装置10为单级过滤并且抽吸出口35向底通道60提供抽吸力。顶元件20具有进口/出口40和位于进口/出口40相对侧的进口38，之间具有通道50。过滤元件25被设置在顶元件20和底元件15之间。在操作中，抽吸力被施加在抽吸出口35处，使得底通道60形成真空。液体/颗粒混合物通过顶元件20的进口/出口40被引入，在此其经过过滤元件25，并且过大的颗粒被余留在过滤元件25的上表面45上。液体和较小的颗粒经过过滤元件25进入底通道60，并且通过抽吸出口40而被移除。过大的颗粒余留在过滤元件25的上表面的45上。此后，停止施加抽吸力，并且在压力下洗脱液通过进口38被引入并进入通道50，在此其横穿上表面45并将过大的颗粒冲洗至出口40，在此其被保存在收集器(未示出)中以供进一步分析。图3和图4所示的装置不包含用水冲洗保存在过滤元件25上的颗粒的中间步骤。

[0038] 如现有技术中已知的，洗脱液可以是泡腾的，并包含诸如吐温(TWEEN)的发泡剂。当颗粒为细菌时，本发明所称的过滤装置最为有效。过滤元件优选为聚碳酸酯型过滤器，其为表面过滤器，并且可以具有开口宽度约为0.01至50微米的孔。在一个实施方式中，开口宽度优选为约0.4微米。

[0039] 为便于讨论，在不同的实施方式中的相同元件将会标记为具有增量100的相同编号，例如10、110、210。

[0040] 在讨论图5A-10A的过程中，应了解的是，所示的顶元件115和底元件120的表面可以是透明的，并且顶元件115将被放置在底元件120上，使得每个元件115、120中的通道大体上相互对齐。因此，为了便于讨论，顶元件115为透明的，并且其中所示的通道会位于顶元件115的下侧147(图5B)，而在底元件120中所示的底通道150位于底元件120的上表面152上。图5A-10A中并未示出过滤元件25，但是其如图5B-10B所示位于顶部元件115和底元件120之间。

[0041] 阀A-H示于顶元件115中。取决于过滤装置110的配置，这些阀中的一个或多个被打开，而其他的被关闭。关闭状态通过将阀的符号变黑来示出。

[0042] 对于初始配置，请将注意集中在图5A和图5B上，液体/颗粒混合物通过进口130被引入，并且沿箭头162所指经过第一级通道160。阀A被打开，而阀B、C和D被关闭。在这种配置

中，真空被启动，使得抽吸出口140在整个底通道150产生真空。因此，液体/颗粒混合物被推向过滤元件125的上表面145(图5B)，由此将过大的颗粒165余留在过滤元件125的上表面145上。较小的颗粒以及液体被吸入通过过滤元件125，并沿着底通道150被排出抽吸出口140，如箭头167所指。此时，过大的颗粒165和其他杂质颗粒已经被沉积在过滤元件125的上表面145上。应注意的是，对于图5A和5B中所示的配置，至多有一半的过滤元件125被利用。

[0043] 为了完善该过滤工艺，发明人了解到，仅仅通过将诸如水冲洗剂的液体冲洗剂施加在颗粒165上，就能够将额外的较小的颗粒清洗通过过滤元件125。

[0044] 请将注意力放在图6A和图6B上，阀A、B、D和F被关闭，并且通过水进口170沿着水通道172引入水，如箭头174所示。正如原始的液体/颗粒混合物一样，抽吸出口140为底通道150提供真空，使得水被吸入通过过滤元件125进入底通道150，并且沿着箭头176在抽吸出口140被排出。这一水冲洗剂移除了在初始过滤步骤中可能余留的其他较小的颗粒。

[0045] 请注意图7A和7B，阀A、C、E和G在此被关闭，并且洗脱液(也可以被称为泡沫)受到泡沫进口180的压力被引入，其经过由箭头184定义的泡沫通道182到达收集器185，这时其包含减少体积的液体/颗粒混合物，其中液体为洗脱液。应注意的是，真空被取消，使得底通道150闲置，并且洗脱液流动穿过过滤元件125的上表面145，以将液体/颗粒混合物沉积在收集器185中。液体穿过过滤元件125的上表面145的这一过程被称为切向地冲洗上表面152，并且驱使上表面145上的颗粒，以采用机械方式刮净上表面145并且将颗粒165移至收集器185。这样，与初始液体/颗粒混合物相关的液体的相对大的体积已被显著减小。

[0046] 到此为止所描述的都是单级过滤过程，其能够显著减小与经过滤的颗粒相关的液体的体积，以改进后续对颗粒的研究的难易度。只有一部分基本上延伸跨越底元件120的宽度的过滤元件125已被利用。

[0047] 发明人意识到可以提供相对简单的二级过滤来进一步减小液体/颗粒混合物中的液体的体积或进一步移除非期望的小颗粒。

[0048] 请将注意力放在图8A和图8B上，经过提纯的液体颗粒样品在收集器185中，阀B、C、E、F和H被关闭，并且抽吸力被引入底通道150，使得来自收集器185的液体沿着箭头192被吸入第二级通道190，在此较小的颗粒和液体沿着箭头192被吸入通过过滤元件125进入底通道150，并且通过抽吸出口140排出。此外，阀A和D被打开，使得空气可以进入，以允许液体被拉出储水器185。再次地，颗粒165被沉积在过滤元件125的上表面145上，但是此时洗脱液和较小的颗粒经过过滤元件125进入底通道150并由抽吸出口140流出。

[0049] 请将注意力放在图9A和图9B上，阀C、E、G和H被关闭，并且水沿着箭头194通过水进口170被引入水通道172，随后进入第二级通道190。利用底通道150中的抽吸力，所有较小的颗粒和余留的洗脱液再次被吸入通过过滤元件125进入底通道150，在此其沿着箭头196的路径，并且通过抽吸出口140排出。

[0050] 最后，请将注意力放在图10A和图10B上，阀B、G和F被关闭，并且由泡沫进口180沿着泡沫通道182提供洗脱液，如箭头198所指。正如之前，洗脱液横向移动穿过过滤元件125的上表面145，并且将颗粒165从过滤元件125的上表面145上刮净，在此随后其被运输通过出口135进入第二收集器，以提供液体/颗粒混合物，其中液体相对于颗粒浓度具有格外低的液体体积，从而允许对颗粒进行分析，以大大简化后续程序。

[0051] 总的来说，图5-10示出了用于从液体/颗粒混合物中分离颗粒165的过滤装置110。

过滤装置包括顶元件115，其具有延伸于其中的至少一个开口通道160，以将顶元件进口130连接至第一收集器185，其中通道160在顶元件115的下侧147开口。底元件120具有延伸于其中的至少一个开口通道150，该通道被连接至底元件出口或抽吸出口140。通道150在底元件120的上侧152开口。顶元件115被固定在底元件120上，使得顶元件115的下侧147与底元件120的上侧152相对固定，并且其中通道160、150彼此相对齐。过滤元件125大致为平的，并且位于顶元件115和底元件120之间并与通道160、150相重叠。

[0052] 过滤装置110的顶元件进口130被连接至液体/颗粒供应端，并且顶元件进口180连接至洗脱液供应端，其中底元件出口140被连接至抽吸力供应端。如上所述，过滤装置具有至少两种流动配置的阀布置。

[0053] 利用施加在底元件出口140的抽吸力，液体/颗粒混合物被引入顶通道160，并且通过过滤元件125，从而将渗余的颗粒沉积在过滤元件125上，并使得渗透的颗粒穿过过滤元件125。此后，停止对底元件出口140施加抽吸力，洗脱液被引入顶通道160，并且通过过滤元件125，使得沉积在过滤元件125上的渗余的颗粒被切向地冲洗，并且通过顶元件出口135收集至第一收集器185。

[0054] 第二收集器可以设置在顶元件115的开口通道160的路径中，以在第一收集器185的一侧限定第一级通道160，以及在第一收集器185的另一侧限定第二级通道。关于第一收集器185所描述的用于第一级通道的阀布置在第二级通道中重复，从而为第一收集器中初始沉积的渗余提供第二级过滤装置，并且在此后最终被沉积在第二收集器中。

[0055] 在引入洗脱液之前和引入液体/颗粒混合物之后，利用施加在底元件出口140的抽吸力，冲洗溶液被引入顶通道160并通过过滤元件125。

[0056] 到此为止所描述的是利用开/关阀A-H的过滤装置，从而提供本发明主题的过滤装置的不同配置。在可替代的实施方式中，由于某些阀中只有单向流动，图5A-10A中所示的某些阀A-H可以由止回阀替代。通过在可能的位置采用止回阀取代这些开/关阀，控制元件的数量可以减少，从而不仅使得过滤装置的控制更加容易，而且这样的止回阀的成本低于开/关阀，因此能够制造成本低廉的一次性过滤装置。

[0057] 与图11A和图11B中的元件相关的参考标记与图5A和图5B中出现的参考标记相类似，然而也有例外情况，例如，每个阀的标号利用相同的大写字母，引入后缀“1”，而其他元件利用后缀“A”，或者在之前的元件现在被分为两部分的情况中，也可以使用后缀“B”。

[0058] 图11A和图11B包括第一底通道150A和第二底通道150B，这与图5A中所示的单个底通道150形成对比。此外，每个底通道150A、150B包括抽吸出口140A、140B，以分别引导液体沿箭头167A、167B所指的方向。此外，图11A包括第一泡沫进口180A和第二泡沫进口180B，其与单个泡沫进口180相对照。图11A包括两个分开的水进口170A、170B。通过使得不同的洗脱液/冲洗液能够位于两个水进口170A、170B和泡沫进口180A、180B中的每一个中，可以使得不同的洗脱液和冲洗液处在第一循环和分离的第二循环中。这将允许第一循环和第二循环之间的缓冲液交换。此外，通过使用分开的抽吸出口140A、140B，第二抽吸出口140B能够被用来将洗脱液吸入第二腔室。

[0059] 请将注意力放在图11A上，顶元件115A中示出了阀A1-H1，应了解的是，阀A1-C1和E1-G1为止回阀，而阀D1和H1为开/关阀。发明人发现对于那些流动只发生在单方向的路线来说，单个止回阀可以取代开/关阀，从而减轻了操作人员在操作中对阀进行调节的职责。

[0060] 如前对图5A-9A所述，过滤装置110可以被配置为六种不同的阶段。这些阶段在下文中将会被称为：1)吸入样品；2)第一冲洗；3)第一提取；4)第二吸入；5)第二冲洗；以及6)最终提取。

[0061] 对于吸入样品的初始配置，液体/颗粒混合物通过进口130A被引入，并且经过第一级通道160A。阀D1被关闭，并且真空被启用，使得抽吸出口140A通过底通道150A产生真空，从而沉积颗粒165。随着颗粒165A沉积在过滤器125A的上表面145A上，第一冲洗阶段开始。由水进口170A引入的水通过止回阀C1并进入第一级通道160A，而由抽吸出口140A提供的抽吸力吸着水/颗粒混合物通过过滤器125A，以过滤那些在初始步骤中可能没有被过滤掉的其他颗粒。来自抽吸出口140A的真空被停止，并且开/关阀D1被打开。此时，洗脱液在压力下由泡沫进口180A被引入，在此液体继续通过止回阀B1进入第一级通道160A，在此其从过滤元件125A的顶上表面145A将颗粒165拭去进入收集器185A。

[0062] 任何可能由洗脱泡沫分解成液体引起的正压力都有可能通过止回阀G1排出。

[0063] 此时，随着由抽吸出口140B提供真空和阀H1处于关闭位置，第二吸入阶段开始。颗粒/液体溶液从收集器185A被拉出，并经过阀G1进入第二级通道190A，随后在此其经过过滤元件125A进入底通道150B，在此洗脱液和较小的颗粒被移除，而过大的颗粒165A余留在过滤元件125A的上表面145A上。

[0064] 在第二冲洗阶段，抽吸出口140B仍然是通电的，但是此时水已经通过水进口170B被引入至第二级通道190A。水被吸入通过过滤器125A，并且从过滤元件125A的上表面145A将额外的颗粒清洗通过抽吸出口140B，在此其被沉积。

[0065] 最后的阶段是最终提取，借此没有底通道150B提供的抽吸力，但是洗脱液通过泡沫进口180B被引入，在此其进入第二级通道190A。阀H1被打开，使得洗脱液从过滤元件125A的上表面145A上将颗粒取代，并且将其移动经过打开的阀H1进入最终容器(未示出)。通过这样做，提供了具有相对低体积洗脱液的颗粒，这可能在此后更加容易进行进一步分析。

[0066] 刚刚讨论的实施方式通常用止回阀取代一些开/关阀，以使得过滤装置的多阶段控制更加容易，并且减少成本。

[0067] 图12A-17A和12B-17B示出了另一个实施方式，通过利用一系列三通旋塞阀M、N、O、P来配置过滤装置的不同阶段。再次地，讨论将针对之前讨论过的六个阶段，包括：1)吸入样品；2)第一冲洗；3)第一提取；4)第二吸入；5)第二冲洗；以及6)最终提取。

[0068] 图12A和12B是针对吸入样品的阶段，其中细菌样品通过进口130C被引入，并且阀M、N和O被定向，使得流动被引导通过通路210、230、250和290并进入第一级通道160C。真空被应用于底通道150C中，使得颗粒165C被余留在过滤元件125C的上表面145C上。穿过过滤元件125C的液体和颗粒被丢弃。

[0069] 请将注意力放在图13A和图13B上，随着颗粒165C余留在过滤元件125C的上表面145C上，水由定向阀M、N和O被引入，使得水从水进口170C进入，并且流经通路220、230、250和290进入第一级通道160C。随着真空被应用于底通道150C中，水和较小的颗粒穿过过滤元件125C并被排出，从而提供对较小的颗粒的额外的过滤。

[0070] 随着颗粒165C沉积在过滤元件125C的上表面145C上，这些颗粒此时可能会被提取。将注意力放在图14A和图14B上，洗脱液被引入通过第一级通道160C，并且阀O和N被定向为使得行进通过通路290、250和240的流体进入收集器185C。洗脱液将颗粒165C移动穿过过

滤元件125C的上表面145C，并进入通路290。这样，相对低体积的洗脱液与颗粒165C相混合并存放在收集器185C中。

[0071] 任何可能由洗脱泡沫分解成液体引起的正压力都有可能通过开着的收集器的顶被排出。

[0072] 现在沉积在收集器185C中的洗脱液/颗粒混合物可能通过第二过滤程序来处理，该程序包括第二阶段吸入。请将注意力放在图15A和15B上，阀N、O和P被定向为使得收集器185C中的洗脱液/颗粒混合物通过应用于底通道150D中的真空，被移动通过通路240、250、270和280，进入第二级通道160D，并且再次地，颗粒165C被沉积在过滤元件125C的上表面145C上。

[0073] 图16A和图16B中所示的第二冲洗阶段此时可以开始。特别地，阀M、N、O和P如所示定向，在水进口170C处水可以被引入，使得其流经通路220、230、250、270和280，并进入第二级通道160D。在那里水和较小的颗粒经过过滤元件125C并被排出，以提供更好的颗粒165C的样品。

[0074] 现在第二阶段通过如图17A和图17B所示的最终提取来完成。特别地，随着颗粒165C沉积在过滤元件125C的上表面145C上，在压力下洗脱液被引入第二级通道160D，从而从上表面145C上取代颗粒165C。利用阀P如所示定向，颗粒和洗脱液被清洗通过第二级通道160D，通过阀P进入通路280，在此其流经通路260进入最终收集器(未示出)，以提供具有混合在相对低的液体体积中的颗粒165C的高质量样品。

[0075] 图12A-17A和图12B-17B示出了具有两个分开通道160C、160D的过滤装置，每个通道都可以接受独立的洗脱液供应端，并且进一步地，一系列阀M、N、O和P允许原始颗粒液体样品被导向至第一级通道160C或第二级通道160D中的任一个。进一步地，这种配置允许通过进口170C的水被引入至第一级通道160C或第二级通道160D中的任一个。

[0076] 总之，图12A-17A和12B-17B示出了用于从液体/颗粒混合物中分离颗粒165的替代性的过滤装置。过滤装置包括顶元件，其具有延伸于其中的至少一个开口通道160C，该通道与顶通道进口/出口162C流体连通并延伸至第一收集器185C，其中通道160C在顶元件115的下侧147A开口。底元件120A具有延伸于其中的至少一个开口通道150C，该通道被连接至底元件出口，或抽吸出口140A。通道150C在底元件120A的上侧152A开口。顶元件115A被固定在底元件120A上，使得顶元件115A的下侧147A与底元件120A的上侧152A相对固定，并且其中通道160C、150C彼此相对齐。过滤元件125A一般为平的，并且被设置在顶元件115A和底元件120A之间并与通道160C、150C重叠。

[0077] 过滤装置的通道160C的顶通道进口/出口162C被连接至液体/颗粒供应端以及洗脱液供应端，其中底元件出口140A被连接至抽吸力供应端。如上所述，过滤装置提供具有至少两种流动配置的阀布置。

[0078] 利用施加在底元件出口140A的抽吸力，液体/颗粒混合物通过顶通道进口/出口162C被引入至顶通道160C，并且通过过滤元件125C，从而将渗余的颗粒165C沉积在过滤元件125C上，并且使得渗透的颗粒穿过过滤元件125C。从而，利用底元件140A上停止的抽吸力，洗脱液被引入至顶通道160C并穿过过滤元件125C，使得沉积在过滤元件125C上的渗余的颗粒被切向地冲洗，通过顶通道进口/出口162C，并且收集至收集器185C中。

[0079] 顶元件115C可以具有延伸于其中的第二级通道160D，该通道与另一个顶通道进

口/出口162D流体连通，以在顶元件115C的一侧限定第一级通道160C，并在顶元件115C的另一侧限定第二级通道160D，使得部分1)和部分2)中描述的用于第一级通道160C的阀布置在第二级通道160D中重复，从而为收集器185C中初始沉积的渗余提供二级过滤装置，并且在此后被再次处理以及最终在收集器185C中被再沉积。

[0080] 顶元件进口170C可以被连接至冲洗溶液供应端。在这些环境中，阀布置可以具有额外的配置。

[0081] 特别地，在引入洗脱液之前和引入液体/颗粒混合物之后，利用施加在底元件出口135的抽吸力，冲洗溶液由顶通道进口/出口162D被引入至顶通道160D并且通过过滤元件125C。

[0082] 正如前所述，相对于第一级通道160C，第二级通道160D可以具有类似的阀布置，使得来自第一级通道160C的保存在收集器185C的液体的处理可以被引入第二级通道160C，以进一步处理和提纯，此后经提纯的颗粒被再沉积至收集器185C中。

[0083] 当预设定步骤利用在此描述的过滤装置时，应了解的是，可以根据特定需要利用单级或多级，并且个别步骤或步骤的顺序可以不同。

[0084] 在进一步的实施方式中，如图18A和18B所示的双过滤装置是可行的。特别地，图18A示出了与图11A中所示的底元件120A完全相同的顶夹层元件300，并且示出了与图11B中所示的顶元件115A相似的中夹层元件305。然而，中夹层元件305的通道160A、190A完全延伸穿过中夹层元件305的厚度。通道160A、190A与收集器185C流体连通。进一步地，底夹层元件310与顶夹层元件300相同。然而，通道350A、360A位于顶夹层元件300的下侧347，而通道350B、360B位于底夹层元件310的上侧。

[0085] 如前所述，应了解的是，顶夹层元件300的示意图为透视示意图，实际上，通道是位于顶夹层元件300的下侧。此外，底夹层元件310中的通道是位于底夹层元件310的上侧，请将注意力放在图19上，使得当顶夹层元件300、中夹层元件305和底夹层元件310被放置在一起时，通道彼此对齐。顶过滤元件315位于顶夹层元件300与中夹层元件305之间，底过滤元件320位于中夹层元件305与底夹层元件310之间。通过利用这样的配置，顶过滤元件315和底过滤元件320为相同的通道体积提供了两倍的膜表面。

[0086] 任何可能由洗脱泡沫分解成液体引起的正压力都有可能通过收集器185C的直接下游的止回阀被排出。

[0087] 此外，在此讨论的过滤元件可以包括疏水膜，以允许被困的空气通往真空侧。

[0088] 最后，流量传感器可以附加在真空侧，以检测何时全部的样品已被吸入，从而无需在一次性过滤器的“清洁侧”设置传感器。

[0089] 在此公开的方法能够使用湿泡沫来从膜表面移除微生物，并且使其再次悬浮在所选的液体中。还可以为低浓度样本提供高回收率，同时不管样本源而保持一致性。

[0090] 过滤元件提供0.4微米过滤渗透并移除蛋白质、可溶物质和细胞组分。此外，通过采用冲洗溶液来冲洗过滤元件，可以从原始基质中移除小的表面悬挂颗粒以及液滴，而使用湿泡沫允许从过滤器表面提取微生物。

[0091] 通过使用泡沫，其80-90％可能为气体，在泡沫提取过程中，真空区被填充，而不会影响最终样品体积。此外，泡沫具有较高的粘性，这防止通道作用，并创造更加统一的穿过过滤表面的流动。泡沫产生微气泡，其相当于可变形的固体，有效地将颗粒从过滤元件的表

面刮扫掉。总体来说，基于过滤器的颗粒分离结合湿泡沫提取至基质提供了优秀的过滤系统。

[0092] 图19-28示出了与参考图12-17所描述的实施方式类似的又一个实施方式，然而之前用于配置过滤装置的不同阶段的旋塞阀M、N、O、P在此由线性滑动阀代替。此外，图22A、23A、25A、26A和28A为工艺流程图，其示出了这样的系统，其中滤盒被用于如图22-28所示的过滤配置。

[0093] 在讨论过滤装置的各个配置之前，先来看图29，其示出了过滤装置的整个集群的工艺流程图。为了方便，工艺流程图的不同部分被标以大写字母PA-PH。

[0094] 在压力容器PA中增压的气体被引入充满液体的压力容器PB，以使得增压的气体溶解在液体中，从而提供泡腾的液体。在流程图中有两个增压罐，其中一个具有氮气，另一个具有二氧化碳。氮气的优势在于其不会在样品中留下任何痕迹，而二氧化碳的优势在于其在液体中更易溶解。然而，气体选择的决定权属于用户。增压的泡腾液体从压力容器PB中离开，以在过滤装置中使用。每个增压气体的容器都有相应的阀，当系统闲置时，该阀可以用于释放管线中的压力。

[0095] 在讨论过滤装置之前，先来看图29中左下方示出的四个冲洗液/废液瓶PC。每个瓶子都是两用的，因为最初三个瓶子作为临时供应容器是装满冲洗液的，而第四个瓶子作为接收容器是空的。阀和管子可以被布置为例如使得瓶子2提供的冲洗液被运输通过冲洗管线PD，并且洗刷通过过滤装置，随后返回废液管线PE进入空的瓶子1。此时，阀的装设方式可以改变，以使得冲洗液可以取自另一个瓶子，例如瓶子3，并且被排出到空的瓶子2中。在这种情况中，瓶子1被重新指定为接收容器。来自瓶子2的干净的冲洗液已经被耗尽，而此时冲洗液已经填满瓶子1。这种双态布置可以一直进行，直到每个瓶子2、瓶子3和瓶子4中的干净的冲洗液都被耗尽，并且除了一个瓶子以外全部充满了废弃溶液。利用真空泵PF产生的真空，来自瓶子的冲洗液被移动通过冲洗管线和废液管线。排水分离器PG被用于将液体从真空管线分离到真空泵PF。

[0096] 每个过滤装置都具有相应的排放管线PI，以加强过滤件中的流动，并且在工艺过程的最后清洁管线上的液体。

[0097] 尽管用于吸入、冲洗和提取步骤的阀的配置比前述实施方式的更加复杂，但是减少阀的数量以占用更少空间的主要目标却达到了。此外，通过提供多个瓶子从而每次利用一个来供水，其他的瓶子来盛放废液，装置所占用的空间可以进一步减少。

[0098] 图29的示意图的上半部分示出的过滤装置利用具有一次性的双膜过滤件的滤盒，其利用滑动阀来实现必要的过滤配置。

[0099] 现在请将注意力集中在工艺过程图的一部分上，该部分注重具体的过滤盒配置以及处于不同过滤配置时与过滤盒相应的工艺流程。

[0100] 正如之前的实施方式所述的，讨论将针对六个阶段，其包括1)第一吸入样品；2)第一冲洗；3)第一提取；4)第二吸入样品；5)第二冲洗；以及6)最终提取。

[0101] 为了保持一致，相同项目的参考编号将会采用与前述实施方式相同的编号，只是采用400系列。

[0102] 图19示出了过滤装置400，其具有用于液体/颗粒混合物的进口430和抽吸出口440A、440B。此外，两个冲洗液进口470A、470B也用作泡沫进口480A、480B。出口435被用来收

集被分离的颗粒。分开的过滤元件425A、425B安装在盖子425C和425D里面，并且安装在过滤装置本体405上，如图19中虚线所示。

[0103] 请将注意力集中在图20和图21上，滑动阀490能够在过滤装置本体405中移动。滑动阀490的表面上配置有多个不同的通道492，其与过滤装置本体405上的多个通道494(图19)相对齐。滑动阀490在滑动阀通道496(图20)中横向移动，并且能够精确地转位到不同的位置以将过滤装置配置为不同的阶段。

[0104] 图22示出了类似于图12A-12B的装置，借此真空被应用于抽吸出口440A，并且液体/颗粒混合物通过进口430被拉入。与进口430相应的管道432为挠性管，其被压紧在两个由齿轮434A、434B操作的滚轴(未示出)之间，并且齿轮能够旋转使得进口430远离本体405延伸至容器，以提取液体/颗粒混合物。齿轮沿第一方向A和A'的旋转将管道432延伸至向下位置，如图22中虚线432'所示，延伸至容器433，同样如图22中虚线所示，以接收样品。齿轮沿第二方向B和B'的旋转将会缩回挠性管道432。

[0105] 在这种配置中，液体/颗粒混合物通过过滤元件425A吸入，并且残留的液体从抽吸出口440A被移除，以使得颗粒沉积在过滤元件425A的上表面上。液体的流动路径由箭头467表示。

[0106] 请将注意力放在图22A所示的工艺流程图上，过滤盒400的进口430浸在容器433的液体样品中。真空泵PF在管线AA中形成了真空，管线AA延伸至瓶子B1，从而在其中形成抽吸力。通过与瓶子B1的连接，该抽吸力延伸至废液管线BB。因此，样品液体通过进口430被拉入，经过过滤元件425A，废液穿过过滤元件425A并且通过抽吸出口440A被排出，沿着管线CC进入管线BB，在此废液被存放在本来是空的瓶子B1中，而渗余物颗粒余留在过滤盒400的过滤元件425A中。

[0107] 随着颗粒沉积在过滤元件425A的上表面上，滑动阀490被转位至新的位置，如图23所示，从而使得滑动阀490中的不同的通道和端口与本体405上的通道492相接合。此时，冲洗液被引入冲洗进口470A，并沿着箭头467所示的路径流过，从进口470A通过过滤元件425A并通过抽吸出口440A离开。

[0108] 图23A示出了刚刚参考图23描述的冲洗步骤的工艺流程图。特别地，真空泵PF仍然保持着沿管线AA的抽吸力，其形成了返回瓶子B1的抽吸力，通过管线BB至管线CC，通过管线DD，并进入管线EE，在此冲洗液从瓶子B2中被提取出来，并通过管线EE和DD输送至过滤盒400的冲洗进口470A，在此残留的颗粒被冲洗掉。随后，冲洗液在440A的抽吸力作用下离开过滤盒400，随后继续通过管线CC和BB被排出至瓶子B1中。注意到在图22A和图23A中，冲洗液都是从瓶子B2中提取并排出至瓶子B1中的。

[0109] 利用处于某些转位位置的滑动阀，滑动阀490和本体405被对齐，以使得在特别的配置中某些未被利用的通道保持连接，并因此能够接收液体。例如，图23中的通道499A暴露于液体。然而，通道具有死端，因此液体积累在通道499A和499B中。这些通道都用“x”标记而不是用箭头指示。然而，为了避免污染，这些通道必须清洗，出于这一原因，设置了第二冲洗步骤。

[0110] 图24示出了第二冲洗步骤，设置该步骤的唯一目的在于，为后续的工艺过程冲洗通道499A、499B。在此情况下，滑动阀490被转位进一步向下，以使得进口470A输送液体并冲洗通道499A、499B，在此残留的液体通过抽吸出口440A被移除。在前述实施方式中并不存在

与之相应的步骤。

[0111] 由图23和图24可见，应注意的是，在每种配置中，冲洗液都是通过进口470A提供的，并且通过抽吸出口440A提取。图24所示的布置的唯一目的在于，净化死端通道，过滤盒400的外部配置是相同的。因此，结合图23讨论的图23A所示的工艺流程图，同样可以应用在图24所构建的过滤配置中，在此不再提供单独的工艺流程图。

[0112] 随着通道清洗干净、颗粒沉积在过滤元件425A上，如图25所示，滑动阀490再次转位至接合一系列不同的端口和通道，以使得此时泡沫能够被引入泡沫进口480A，并沿着箭头467所示的路径流过过滤元件425A的顶部，这样颗粒从过滤元件425A的顶部被移除并沉积在过滤元件425B的顶部上，剩余的泡沫由抽吸出口440B排出。这种布置类似于图14A-14B所示的前述实施方式，但是还包含了图15A-15B中所示的配置，借此从过滤元件425A的上表面吸入的颗粒能够被移除并沉积在过滤元件425B的上表面上。经过过滤元件425B的泡沫分解为液体并通过抽吸出口440B排出。与前述实施方式不同的是，这种配置中并没有中间的储水器。应注意的是，在这种配置中，冲洗进口470A和泡沫进口480A是同一个进口。暂时注意图22，放大的“A”示出了这一进口的细节。可以注意到，特征C强调了进口端口的轮廓为圆锥形的。圆锥形的端口提供了很好的密封，而不需要使用弹性体。这种圆锥形密封基于与注射器中所见的鲁尔端口相同的原理。

[0113] 图25A示出了与刚刚参照图25讨论的配置相应的工艺流程图。特别地，泡沫由压力容器PB1通过管线EE提供，在此其由泡沫进口480A被引入流过过滤元件的表面。随后，从过滤元件上取代的颗粒沉积在过滤元件的表面上，此时泡沫分解为液体，从真空出口440B离开，并且穿过管线CC和BB被沉积在瓶子B1中。虽然泡沫的压力可能足以将液体从抽吸出口440B移动到瓶子B1中而不需要真空抽吸，但是为了使该工艺过程更加高效，真空泵保持通过管线AA至瓶子B1的抽吸力，以增强液体向瓶子B1的流动。

[0114] 此后，如图26所示，冲洗液由进口470B引入并沿着箭头467所示的路径流动，从而冲洗过滤元件425B的上表面，其中剩余的液体由抽吸出口440B被移除。这一布置等同于图16A-16B所示的布置。

[0115] 图26A示出了刚刚参照图26所描述的冲洗步骤的工艺流程。特别地，真空泵PF仍然保持管线AA上的抽吸力，其形成了返回瓶子B1的抽吸力，通过管线BB至管线CC，通过管线DD，并进入管线EE，在此冲洗液从瓶子B2中被提取出来，并通过管线EE和DD输送至过滤盒400的液体进口470B，在此残留的颗粒被冲洗掉。随后，冲洗液在440B的抽吸力作用下离开过滤盒400，随后继续通过管线CC和BB被排出至瓶子B1中。可以再次注意到，在图22A和23A中，冲洗液提取自瓶子B2并排出至瓶子B1中。

[0116] 暂时返回图26，注意到通道499C并没有连续流道，因此其中的液体成了死水。该通道被标记为“x”，并且此时需要第二冲洗步骤来净化液体。

[0117] 图27为前述实施方式中没有的第二冲洗步骤，借此滑动阀被进一步转位，以使得此时水仍由进口470B引入。滑动阀490被转位使得通道499C充满冲洗液，冲洗液沿箭头467的方向流动并从真空出口440B离开。

[0118] 观察图26和27，应注意到，在每种配置中，冲洗液都是通过进口470B提供并从抽吸出口440B离开的。图24所示的布置的唯一目的在于，净化死端通道，过滤盒400的外部配置是相同的。因此，结合图26讨论的图26A所示的工艺流程图，同样可以应用在图27所构建的

过滤配置中，在此不再提供单独的工艺流程图。

[0119] 在类似于图17A-17B所示的前述实施方式中的配置中，此时，颗粒沉积在过滤元件425B的上表面上。

[0120] 如图28所示，此时，泡沫由泡沫进口480B被引入，并且沿着箭头467所示的方向流过过滤元件425B的表面，从而从过滤元件的表面上取代颗粒，以使得经过滤的颗粒从出口435离开。这种布置类似于图17A-17B中所示的前述实施方式。

[0121] 图28A示出了刚刚参照图28所描述的布置的工艺流程图。特别地，泡沫由压力容器PB2通过管线FF提供至过滤盒400的进口480B，在此颗粒从过滤元件425B的表面上移除并由出口435排出，以提供悬浮在相对少量液体中的高浓度颗粒用于后续的分析。

[0122] 当应用于系统时，存在多个过滤装置400，用于多个过滤装置400的滑动阀490被启用，以使得多个单独的操作能够同时执行。特别地，过滤装置，也被称为浓缩器，将在处理程序中被使用，包括圆柱旋转架。此外，过滤装置400，如图所示，具有对齐的孔，以及用于这些对齐的孔的销。

[0123] 应注意的是，过滤元件425A、425B由多孔的亲水表面构成，以允许液体通过其中，而限制一定尺寸的颗粒通过。然而，过滤元件425A、425B的一部分必须是疏水的，以允许过滤过程中产生的累积气体能够通过。特别地，在该过程中利用的泡沫所形成的气体是必须释放的，从而避免限制液体流动。同样地，多孔网、多孔屏或多孔挡板500设置在排出流路径502中邻近出口435的位置，以减慢经浓缩的溶液从过滤装置中离开的速度。

[0124] 请将注意力转移到图29上，应了解的是，瓶子2、3和4中盛有液体，而瓶子1是空的。之前，单个容器的尺寸会被设计为能够接收来自所有瓶子的液体，这导致了容器尺寸非常大。发明人意识到，通过利用具有足以接收来自另一个单个瓶子的液体的容量的单个空的瓶子，能够使阀系统具有双态，以使得总是存在单个空的瓶子，这样使用过的废液能够流向这个空瓶子。以这样的方式，可以设置单个容器来接收一个瓶子的容量，只要该容器能够在这些瓶子之间交替使用，而不是设置单个容器来接收三个瓶子的容量。

[0125] 此外，流量计PH事实上是质量计，其用于测量流过盒子的体积。之前，蠕动泵被用于用已知量的冲洗液填充中间容器，随后真空被用于拉动该液体通过过滤器。然而，发明人确定更加有效的是，仅使用真空来移动液体。虽然流量计是能够买到的，然而通过过滤元件的流速取决于过滤元件阻塞量，使得流速范围较大。能够测量这样的流速的流量计比较昂贵，并且因此需要另一种方式来确定流速。在此使用的质量计累积流经滤盒的液体，并且完全通过重量来得到液体的量。一旦达到代表一定量液体的特定重量，冲洗循环将停止。通过测量液体的重量，利用相对简单的测量，就能够获得足够精确的结果，而无需使用更加复杂的流量计，流量计明显更加昂贵和复杂，并且有时会难于测量泡沫液体的流动。因此，发明人发现了一种简单且精巧的解决办法来确定流过过滤器的流量，即采用基于流经其中的累积的液体的重量的简单技术。

[0126] 虽然图29所示的布置涉及采用滑动阀的滤盒的描述，但是这样的布置可以应用在本文所描述的其他不同的滤盒和过滤器中，以及用于切向过滤的类似的滤盒和过滤器中。

[0127] 图30示出了一个这样的质量计PH的细节。特别地，质量计PH包括设有过滤件的筒504，其依靠在称重传感器506上，例如压电转换器。筒504中的液体的重量能够通过称重传感器506来确定。这样，流经每个过滤器的液体体积由与该过滤器相应的筒504中的液体的

重量来提供，而无需使用直接测量体积的设备。如前所述，这样直接测量体积的设备对于变速流并不理想，例如通过可能局部受阻的过滤器的变速流，并且相对昂贵。

[0128] 图31所示的配置正如图18A和图18B所示的双过滤装置被配置为使得过滤元件315和过滤元件320在同一通道体积中提供两倍的膜表面。

[0129] 请将注意力移至图31，顶元件600包括过滤元件425A，而底元件700包括过滤元件525A。液体颗粒进口630与腔室635流体连通，过滤元件425A和过滤元件525A共用腔室635。抽吸通道540A、540B被设置在过滤元件425A、525A的相对侧，以提供真空，来过滤由液体颗粒进口630引入的液体颗粒溶液中含有的颗粒。这样，过滤元件425A和过滤元件525A在同一通道体积内提供了两倍的膜表面。

[0130] 虽然至此为止讨论的是，颗粒从过滤器的表面拭去之前，在冲洗阶段利用冲洗溶液来冲洗颗粒，但是申请人还发现冲洗阶段的替代方式或共同作用方式，在相同的滤盒配置中，残留在过滤器上的颗粒可以通过相同的冲洗进口被引入，并且此时可以采用适用于革兰氏染色法的染色剂来冲洗颗粒，例如结晶紫。此后，经染色的颗粒可以进一步进行冲洗或从过滤器上拭去，以进行接下来的工艺流程。通过将适用于革兰氏染色法的染色剂引入经过过滤盒的颗粒，不仅省去了额外的步骤，而且节省了时间。

[0131] 虽然至此为止讨论的工艺流程是从样品中提取颗粒，例如细菌或其他微生物，但是仍需要识别这些颗粒。

[0132] 本发明接下来的内容将针对探测、定量、革兰氏类型识别以及微生物推定识别的方法，例如，尿液样本中的细菌。更具体地，本发明涉及独特的样本处理方法、技术和系统的结合，这将在下文进行描述，随后是显微图像分析，该分析将全自动地进行有效探测、定量并执行革兰氏类型识别尿液样本或体液中的微生物或其他细胞。

[0133] 一般来说，现行的用于识别微生物(例如，尿液样本中的细菌)的方法涉及微生物学实验室中复杂、冗长且昂贵的处理过程来识别和鉴定微生物。在这样现行的处理过程中，样本被送往实验室。随后，这些试样被分类并贴上标签，之后试样被注射至血琼脂培养基采用消毒循环。这三个为了分析而准备样品的步骤是手动完成的，其中将每个尿液样本涂布在有盖的培养盘或培养皿中的血琼脂培养基上。如果有50到100个样本，每个样本都要单独准备，这需要很多的时间和精力。

[0134] 随后，试样被插入专用的孵化器中24小时的时间。一天以后，实验室的技术人员筛查试样的阳性培养菌和阴性培养菌。一般来讲，多数培养菌是阴性的并且被手动记录。阳性培养菌的生物体被分离并悬浮在生化液中。这包括了悬浮、稀释、涡流和浊度测量，会导致生化废物。此外，为了分析而准备尿液样本的处理过程是由实验室的技术人员手动完成的，并且也需要大量的时间和精力，特别是，如果有50到100份尿液试样需要分析。

[0135] 随后，阳性培养菌将经历种类识别和将悬浮液暴露在多种试剂中的耐药性测验。在又一个6到24小时的孵化历程之后，实验室的技术人员将解释并记录实验结果。这整个处理过程一般需要经过11个步骤并耗费50个小时才能获得试样检测结果，并且这种处理过程是劳动密集型的。

[0136] 因此，需要一种特别是快速探测、定量、革兰氏类型识别和推定种类识别的上述实验室处理过程，来提供更加高效而省时省力的处理过程。

[0137] 本发明满足了这一需求。至此为止所描述的样本制备系统浓缩并净化试样的颗

粒，是基于死端过滤和湿泡沫提取。执行这一处理过程大约需要10分钟。然而，此时颗粒必须被识别出来。

[0138] 这一过程如图32所示，其始于样本，随后根据本发明之前详细的描述对该样本进行处理。此后，经浓缩的样本中的颗粒经过革兰氏染色法染色，随后通过显微镜扫描并进行图像分析。作为革兰氏染色法处理过程的一部分，颗粒可以被涂上适用于扫描显微镜的介质。虽然这样的处理浓缩样本的步骤可以手动执行，但是也可以采用试样处理机来执行，例如，科潘恩大黄蜂®全自动微生物样品工作站(Copan WASP® Walkaway Specimen Processor)，其是用于微生物液体样本处理的仪器。该系统提供革兰氏幻灯片制备，这此后适用于扫描显微镜并进行成像分析。

[0139] 图33-37示出了采用本文所述的样本处理方法得到的浓缩颗粒的效果图。作为示例，图33A示出了未经处理的临床尿液样本试样在血琼脂培养基上经过培养历程的图像。没有清晰可见的细菌。另一方面，图33B示出了经过处理的临床尿液样本试样，其中细菌颗粒通过本文所述的系统浓缩了。在经过一段培养历程之后，在相同的血琼脂培养基上，细菌的菌落清晰可见。这种观测结果在图33C和图33D中的试样中同样适用。

[0140] 特别需要注意的是，图33A-33D只是作为浓缩和净化样本的处理过程的有效性的示例。本发明并不需要培养来鉴定生物体，因此，用来浓缩生物体以进行下一步分析所需的时间会大大减少。

[0141] 图34-37是根据本发明的样本浓缩的有效性的又一示例。

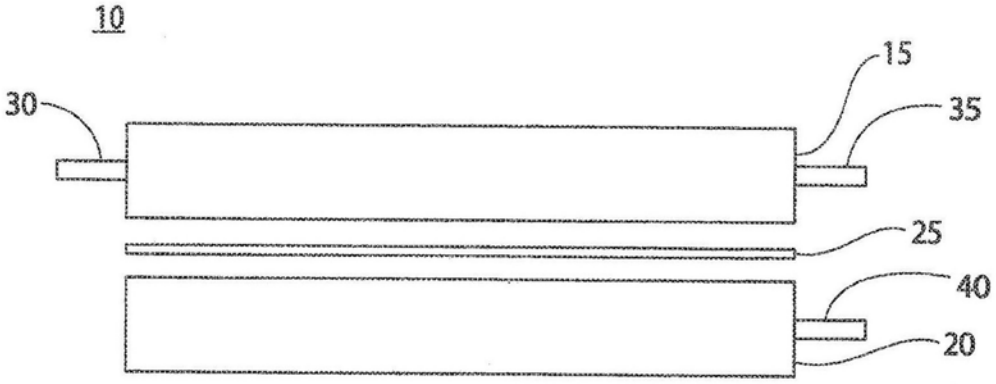
[0142] 总的来说，本发明的样本处理过程能够实现较低微生物浓缩水平的探测(例如，1E4CFU/ml的尿路感染)，并且简化了现有分析尿液样本的过程。除了全自动以外，本发明的样本处理过程简洁独立。该样本处理过程无需经验丰富的操作人员，并且能够快速地处理尿液样本或试样用于分析。本发明所提出的方法提高了效率、改善了工作负载、节省了时间和金钱，并且易于操作。分析可以在大约10分钟内执行。

[0143] 因此，样本处理过程输出的是浓缩且净化了的输入液体。小颗粒和可溶的物质从样本中移除，而确定体积中所需颗粒的数量增加了。通过移除干扰染色试剂的物质，样本处理过程的净化步骤能够更好地染色。通过移除小颗粒，净化步骤还移除了染色幻灯片中的杂质。样本处理过程的浓缩步骤能够更好地探测，由于显微镜的视野中仅可见幻灯片上有限体积的液体，在低浓度下，很多视野中可能没有任何所需要素。

[0144] 因此，本发明描述的是一种用于分析微生物样本的方法，其包括样本制备单元，该样本制备单元经过了革兰氏染色和涂抹程序(手动/自动)，并且通过显微成像分析来分析，以探测(扫描)、定量、革兰氏类型分类以及推定微生物识别。

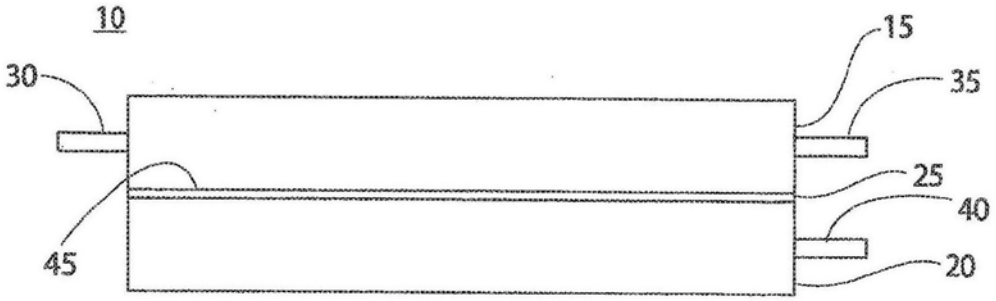
[0145] 虽然前文详细描述了本发明的具体实施方式，但是本领域技术人员应了解的是，根据本公开的整体教示，可以发展这些细节的各种修饰与替换。在此描述的优选的实施方式意在说明而非限制，本发明的范围由所附权利要求及其任一和全部等同来界定。

[0146] 虽然前文详细描述了本发明的具体实施方式，但是本领域技术人员应了解的是，根据本公开的整体教示，可以发展这些细节的各种修饰与替换。在此描述的优选的实施方式意在说明而非限制，本发明的范围由所附权利要求及其任一和全部等同来界定。



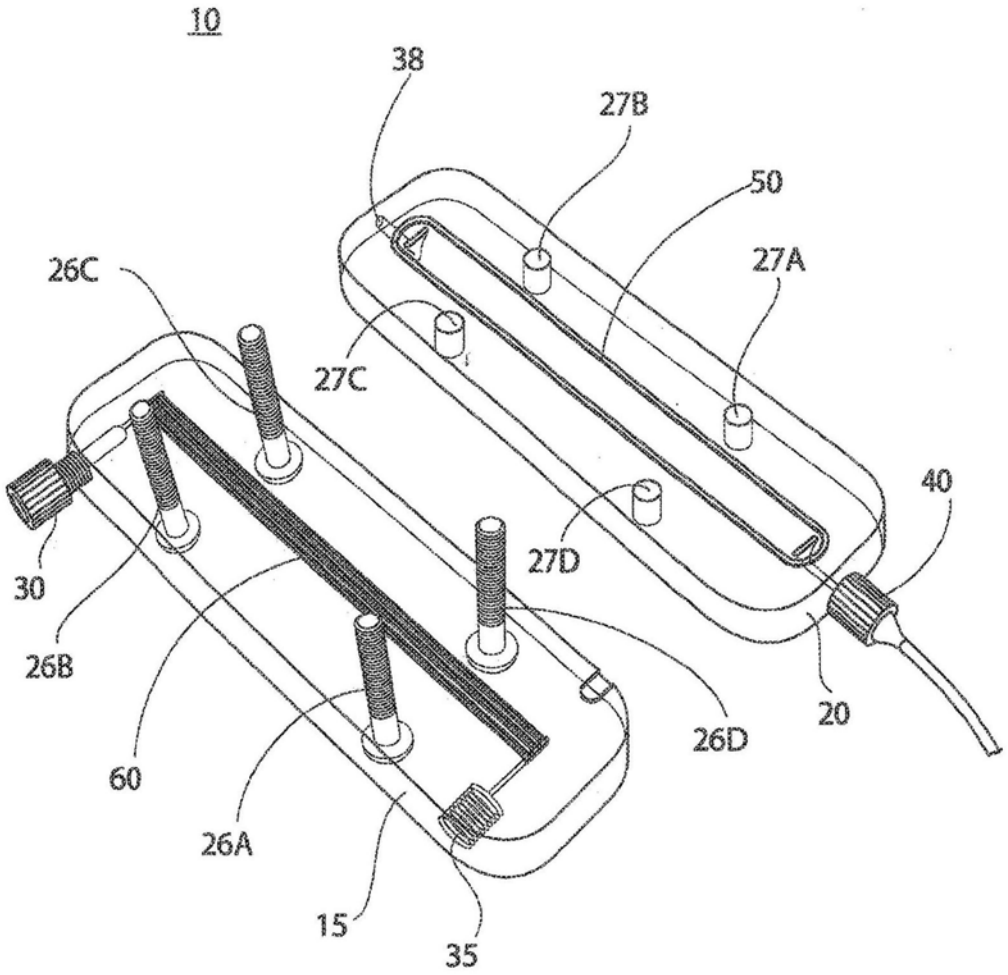
现有技术

图1



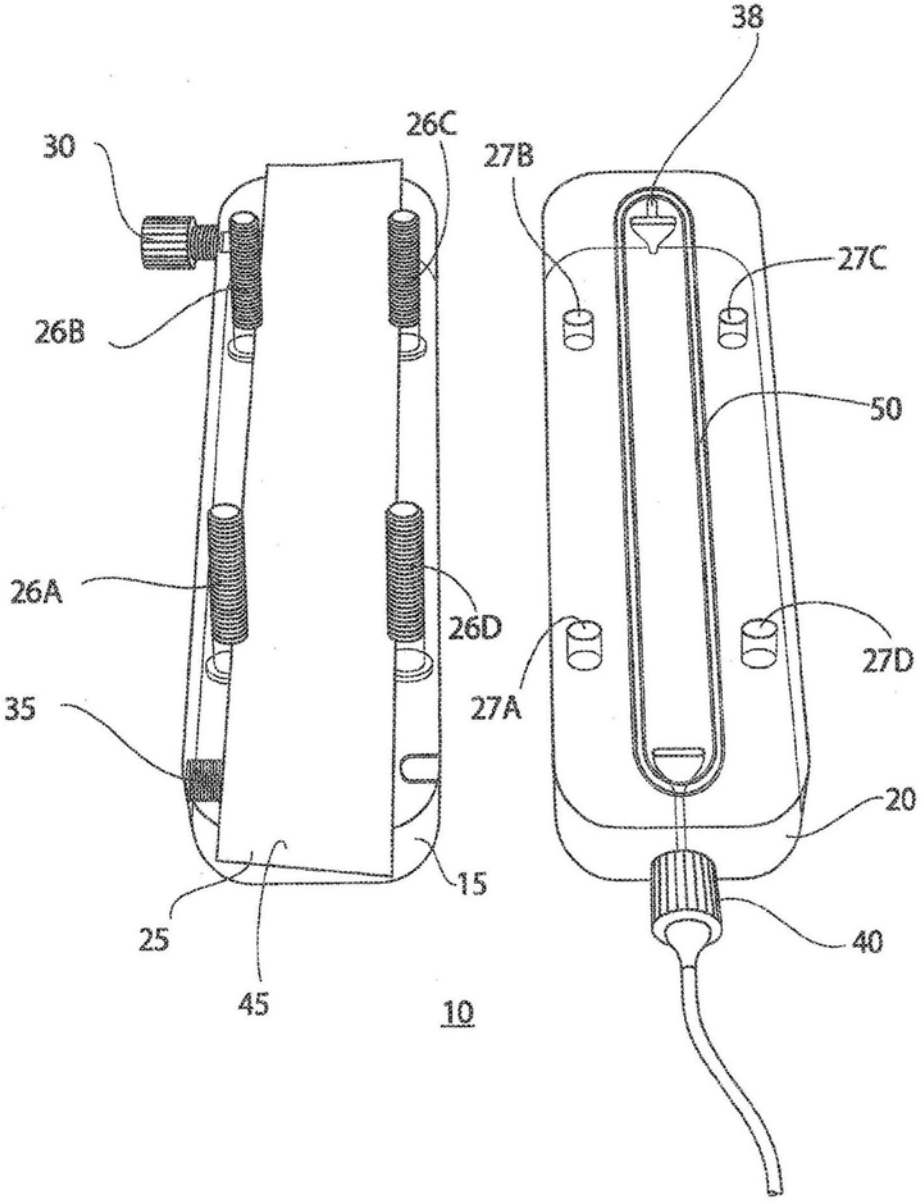
现有技术

图2



现有技术

图3



现有技术

图4

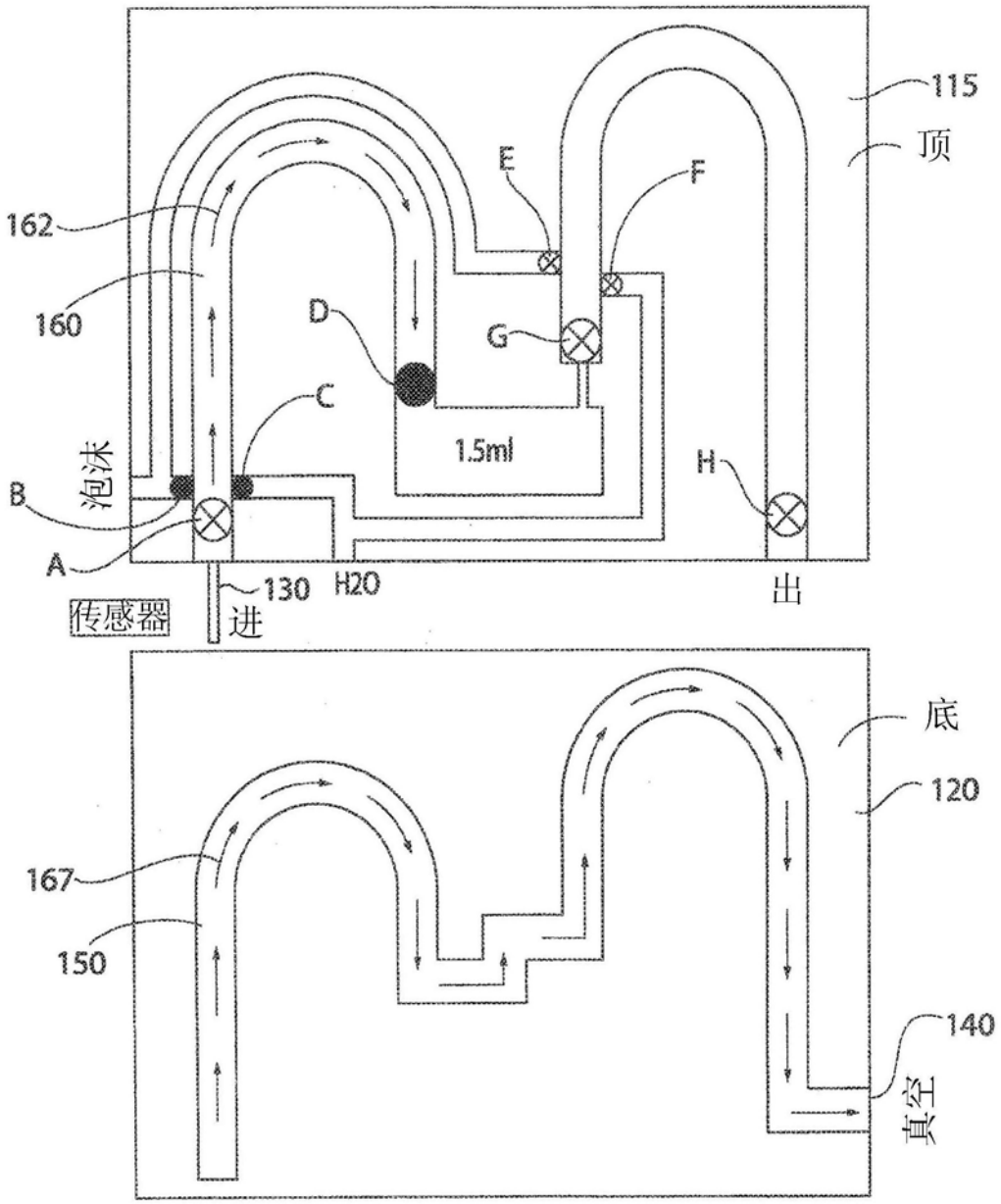

115
顶
E
F
162
160
D
G
C
1.5ml
H
泡沫
B
A
130
H20
出
传感器
进
底
120
167
150
140
真空

图5A

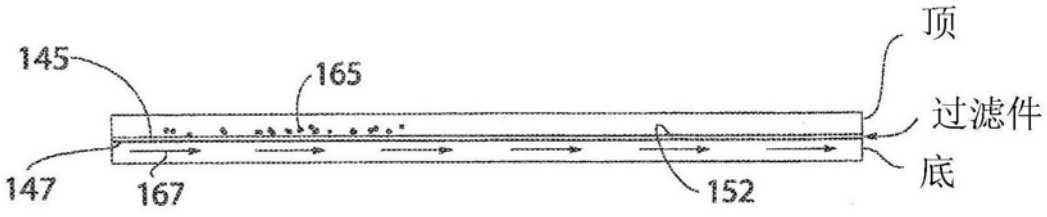

顶
145
165
过滤件
147
167
152
底

图5B

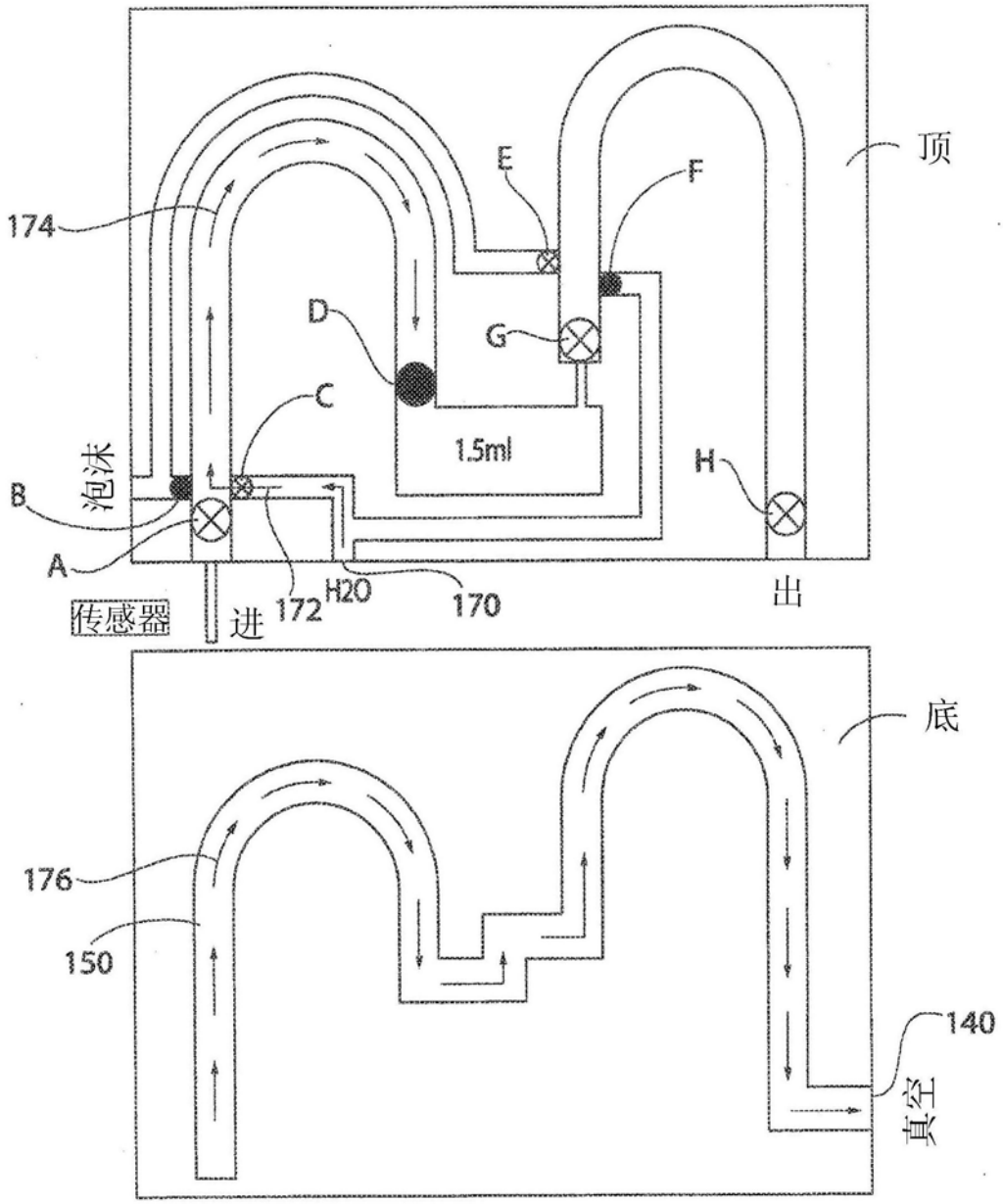

顶
174
E
F
D
G
C
1.5ml
H
B
泡沫
A
传感器
进
172
H2O
170
出
底
176
150
140
真空

图6A

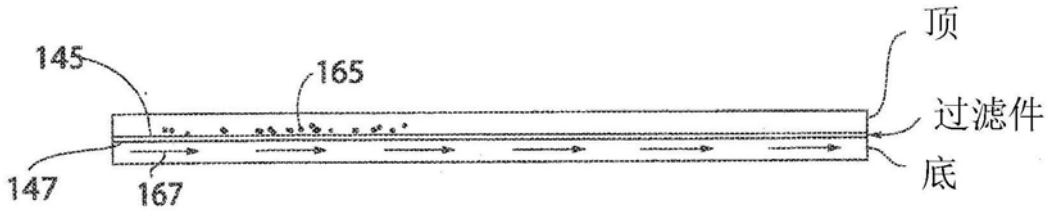

顶
145
165
过滤件
147
167
底

图6B

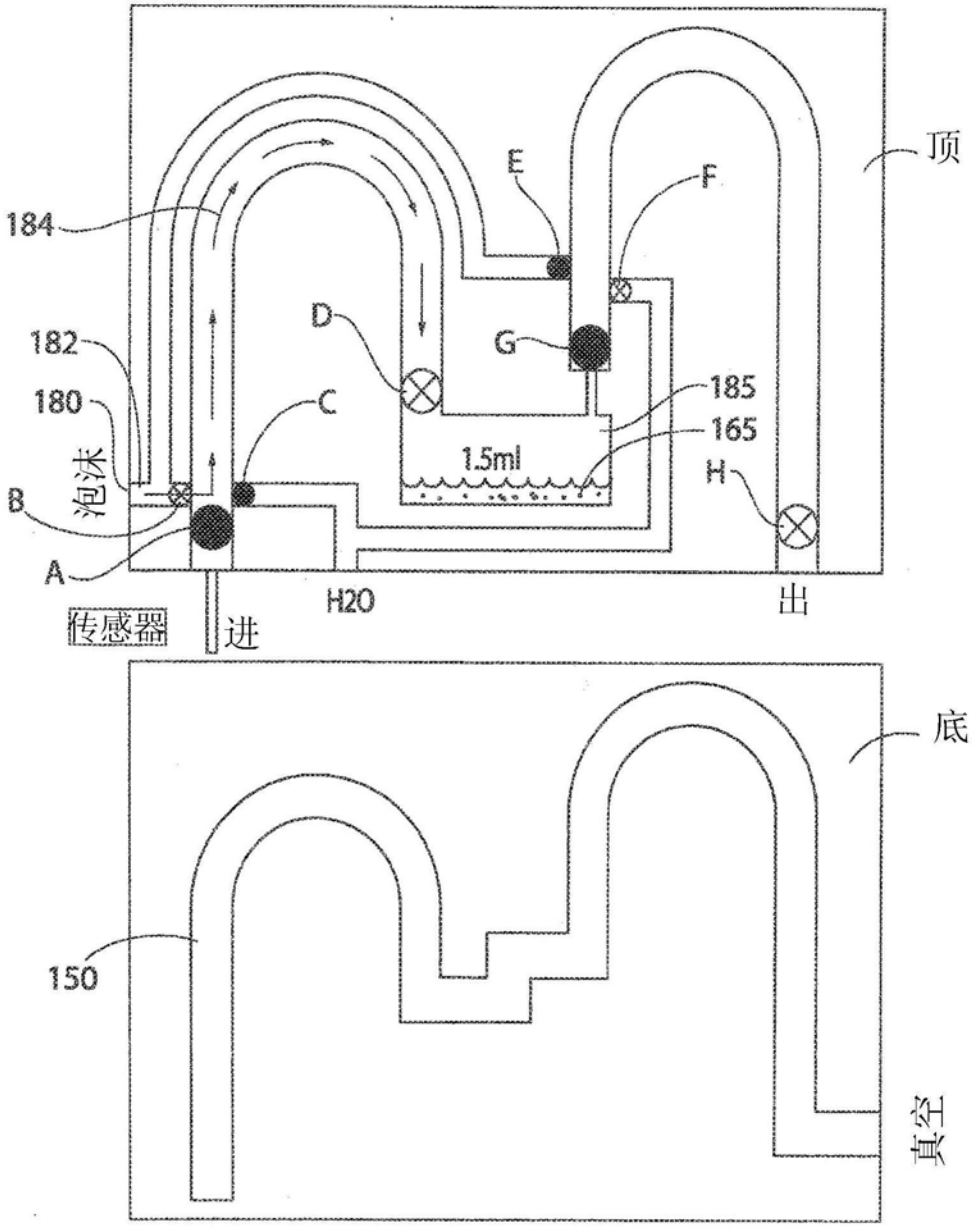

顶
E
F
184
D
G
182
185
180
C
165
1.5ml
泡沫
H
B
A
H2O
出
传感器
进
底
150
真空

图7A

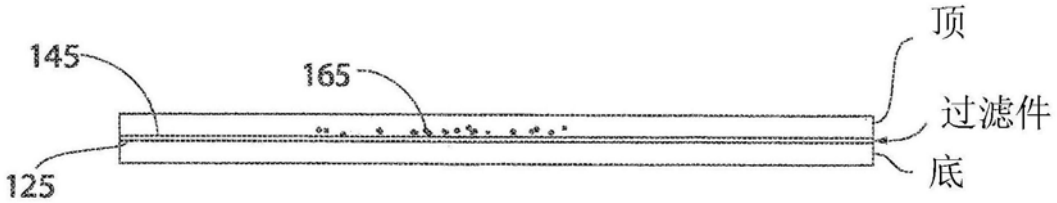

顶
145
165
过滤件
125
底

图7B

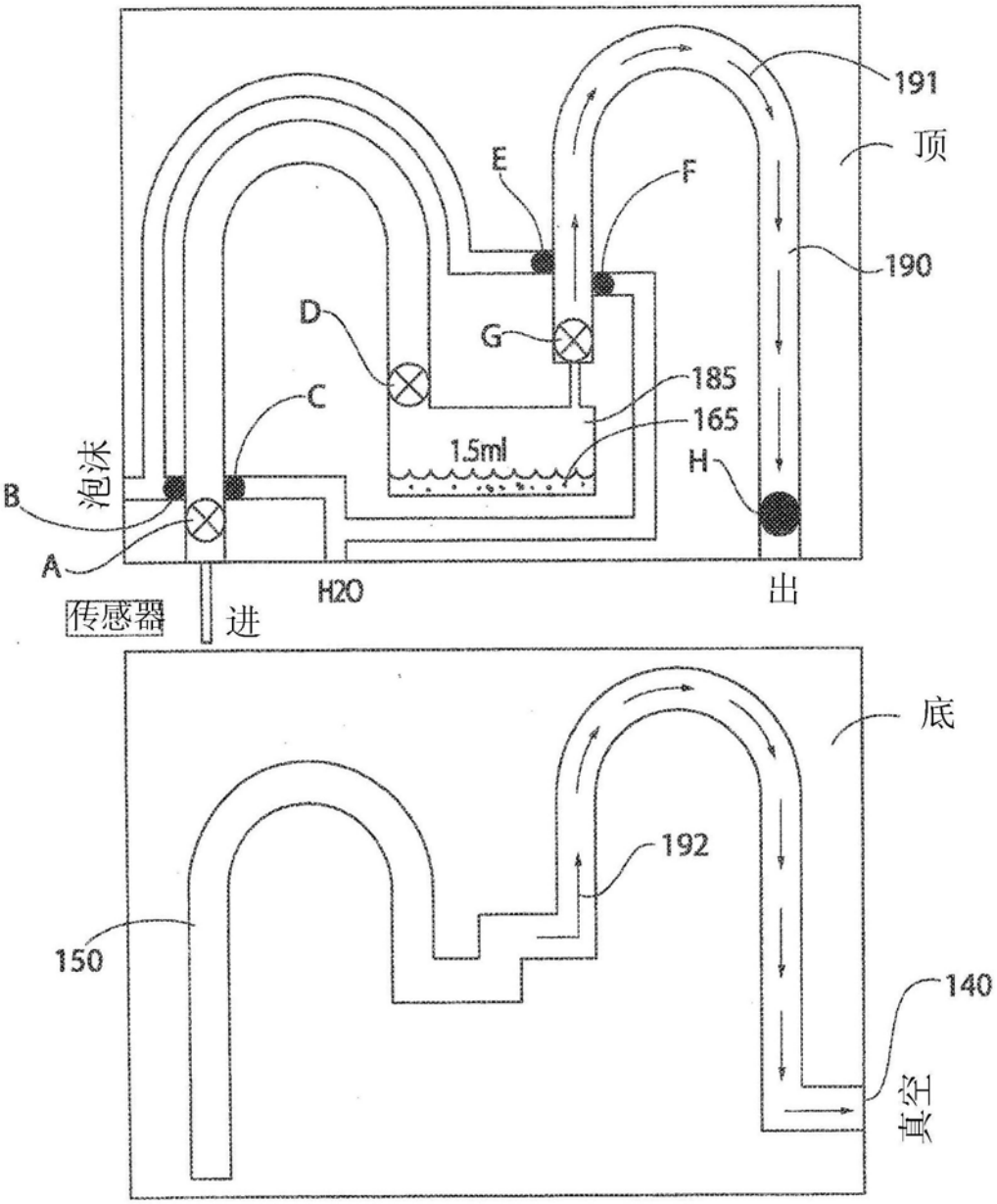

191
顶
E
F
190
D
G
185
C
165
1.5ml
H
泡沫
B
A
传感器
进
H2O
出
底
192
150
140
真空

图8A

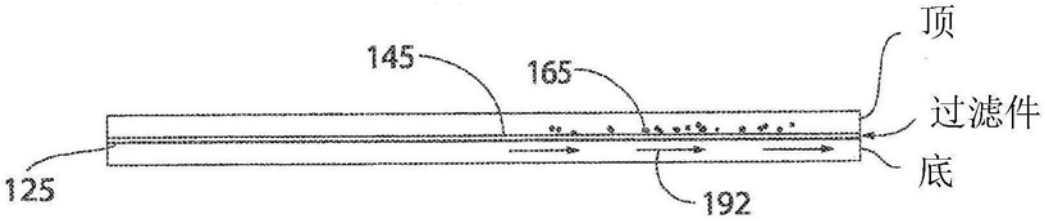

顶
145
165
过滤件
底
125
192

图8B

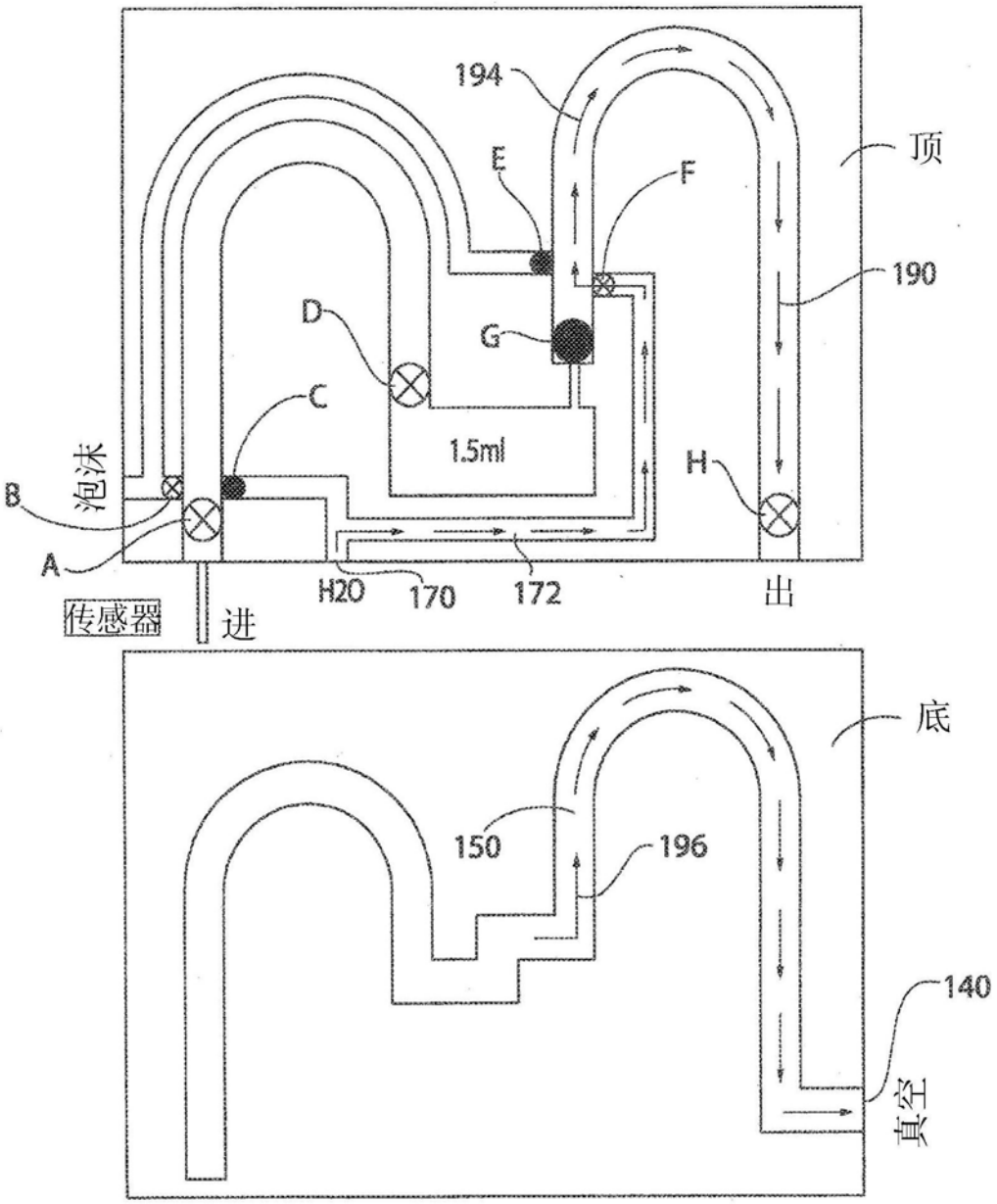

194
顶
E
F
190
D
G
C
1.5ml
H
泡沫
B
A
H20
170
172
出
传感器
进
底
150
196
140
真空

图9A

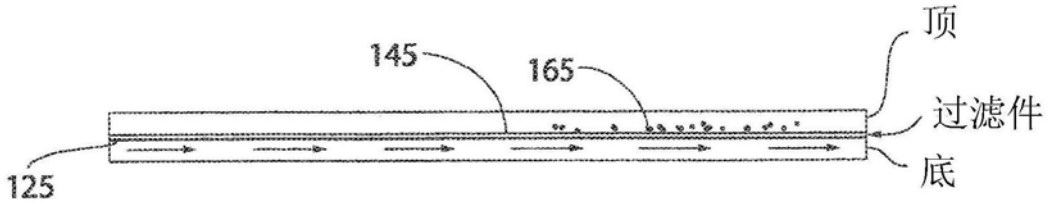

顶
145
165
过滤件
底
125

图9B

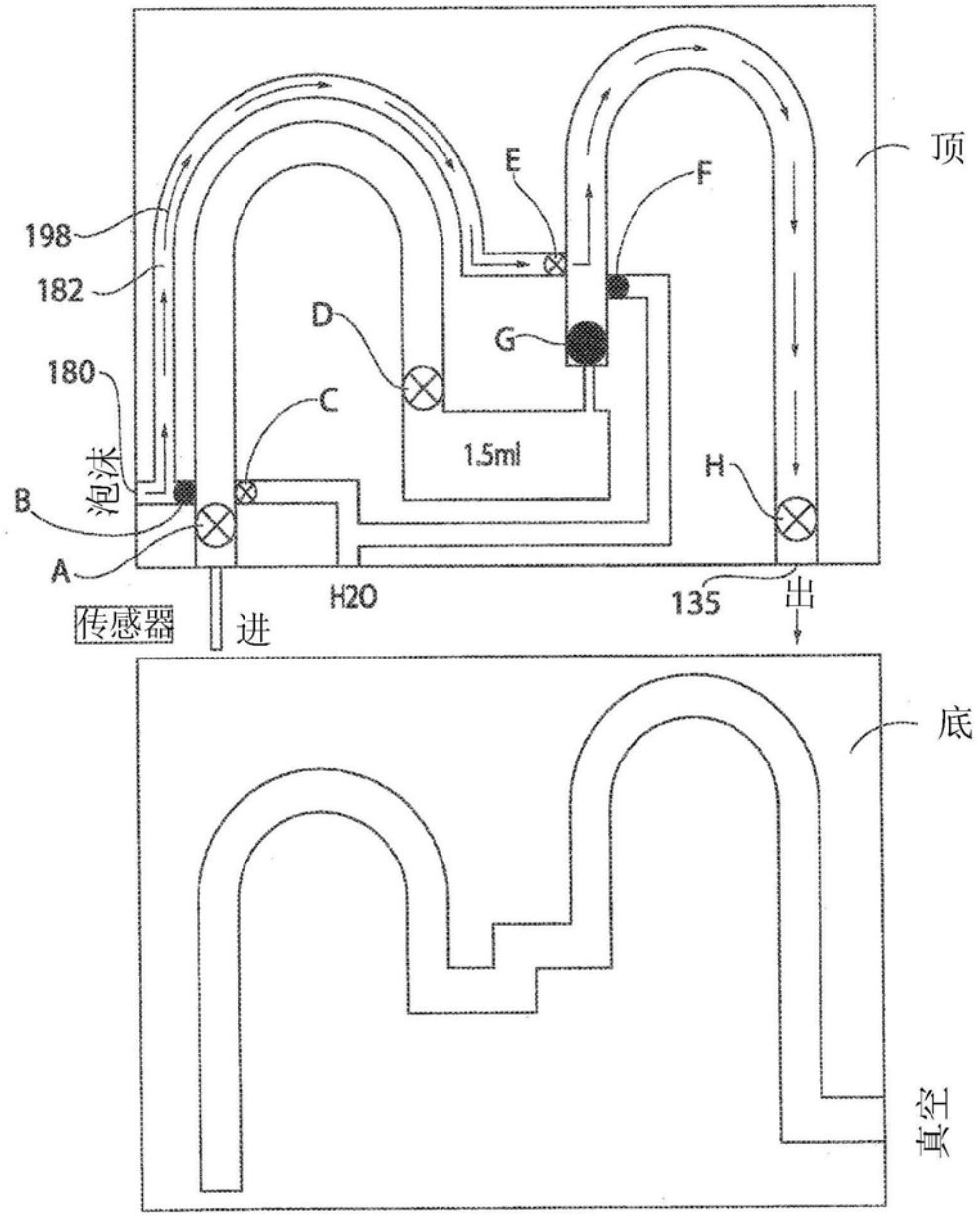

顶
198
182
180
泡沫
B
A
传感器
进
H2O
C
D
E
F
G
1.5ml
H
135
出
底
真空

图10A

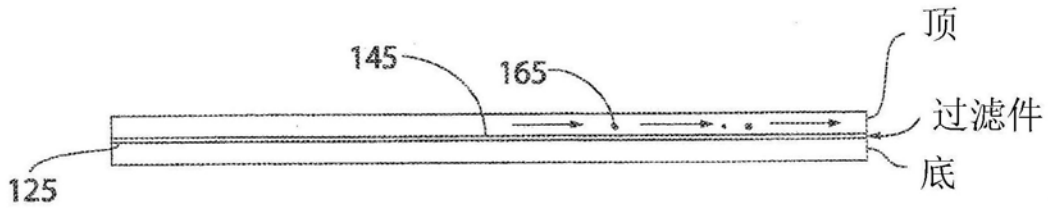

顶
145
165
过滤件
125
底

图10B

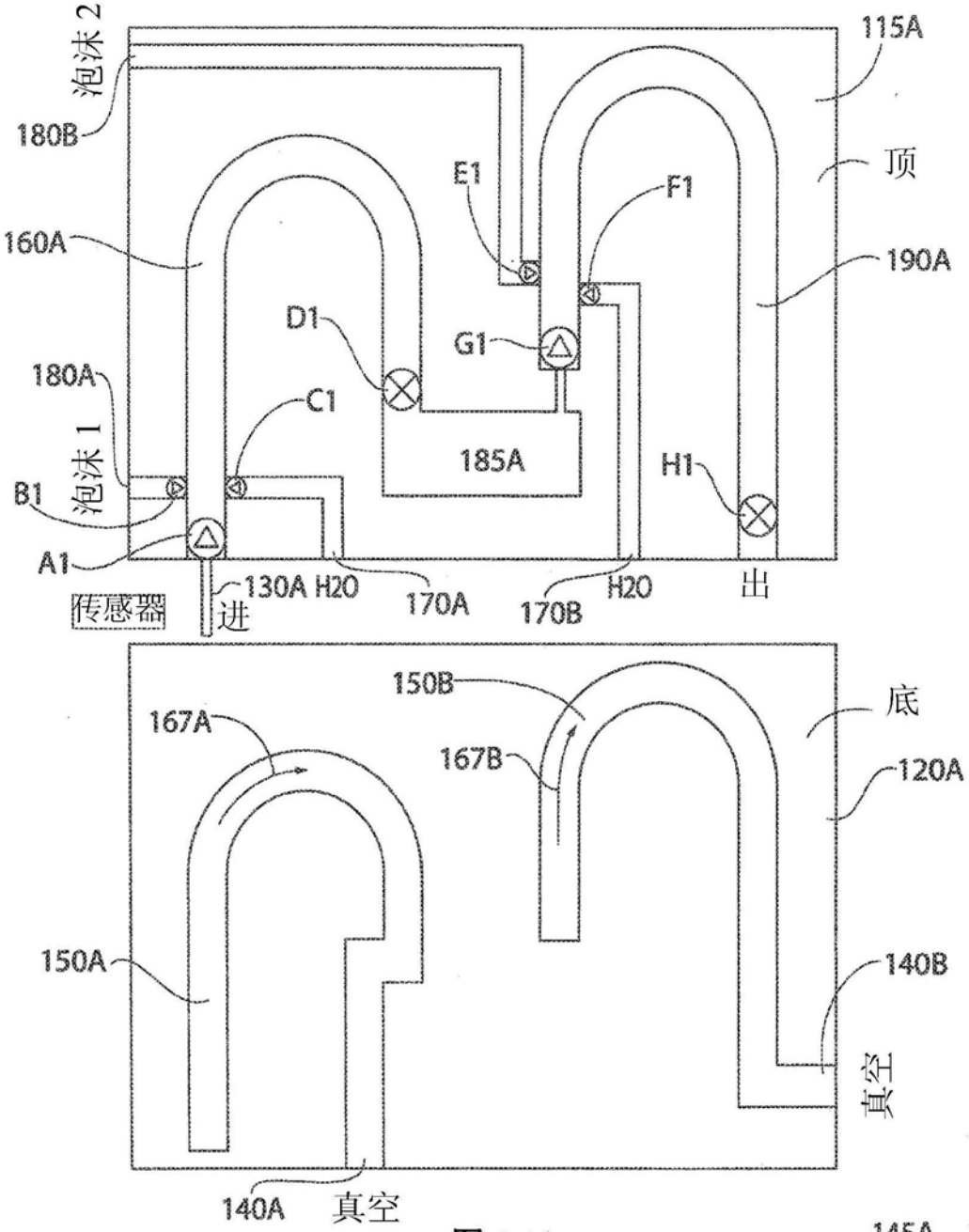

泡沫 2
180B
115A
顶
E1
F1
160A
190A
D1
G1
180A
C1
185A
H1
泡沫 1
B1
A1
130A H2O
170A
170B
H2O
出
传感器
进
150B
底
167A
167B
120A
150A
140B
真空
140A
真空

图 1 1A

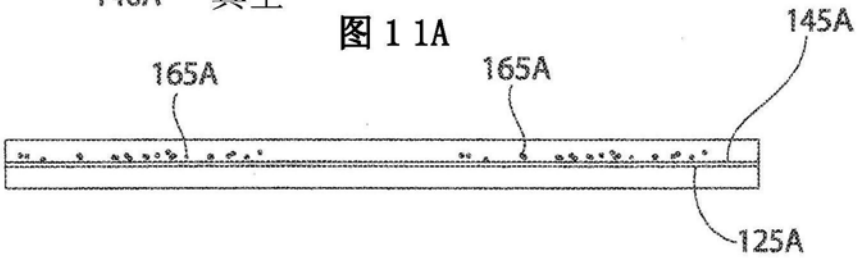

165A
165A
145A
125A

图 1 1B

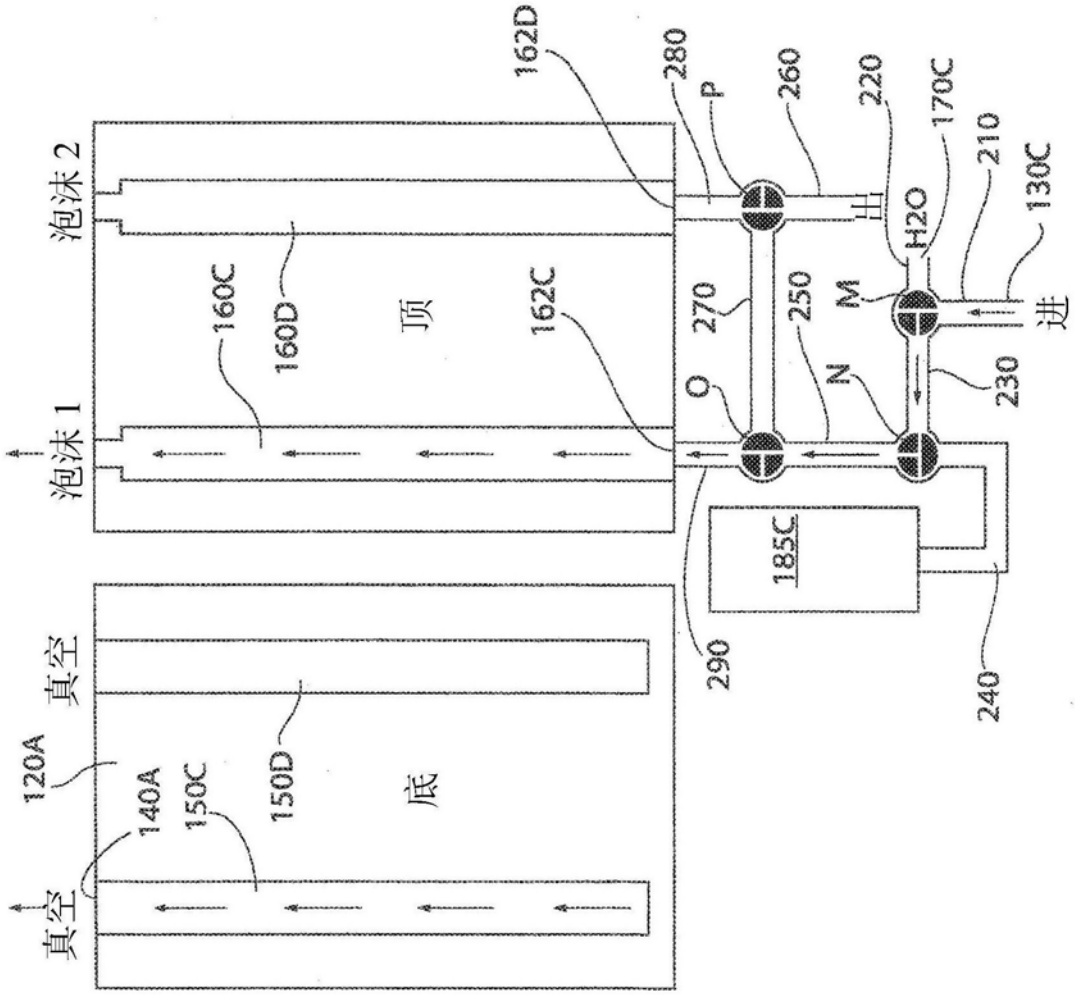

泡沫 2
泡沫 1
真空
真空
120A
140A
150C
150D
底
160C
160D
顶
162C
162D
280
P
260
220
170C
210
130C
出
H2O
M
进
270
250
N
O
230
185C
290
240

图12A

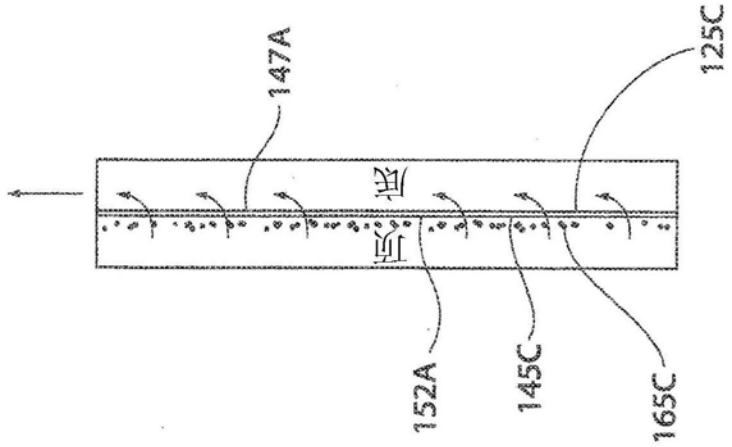

147A
125C
底
顶
152A
145C
165C

图12B

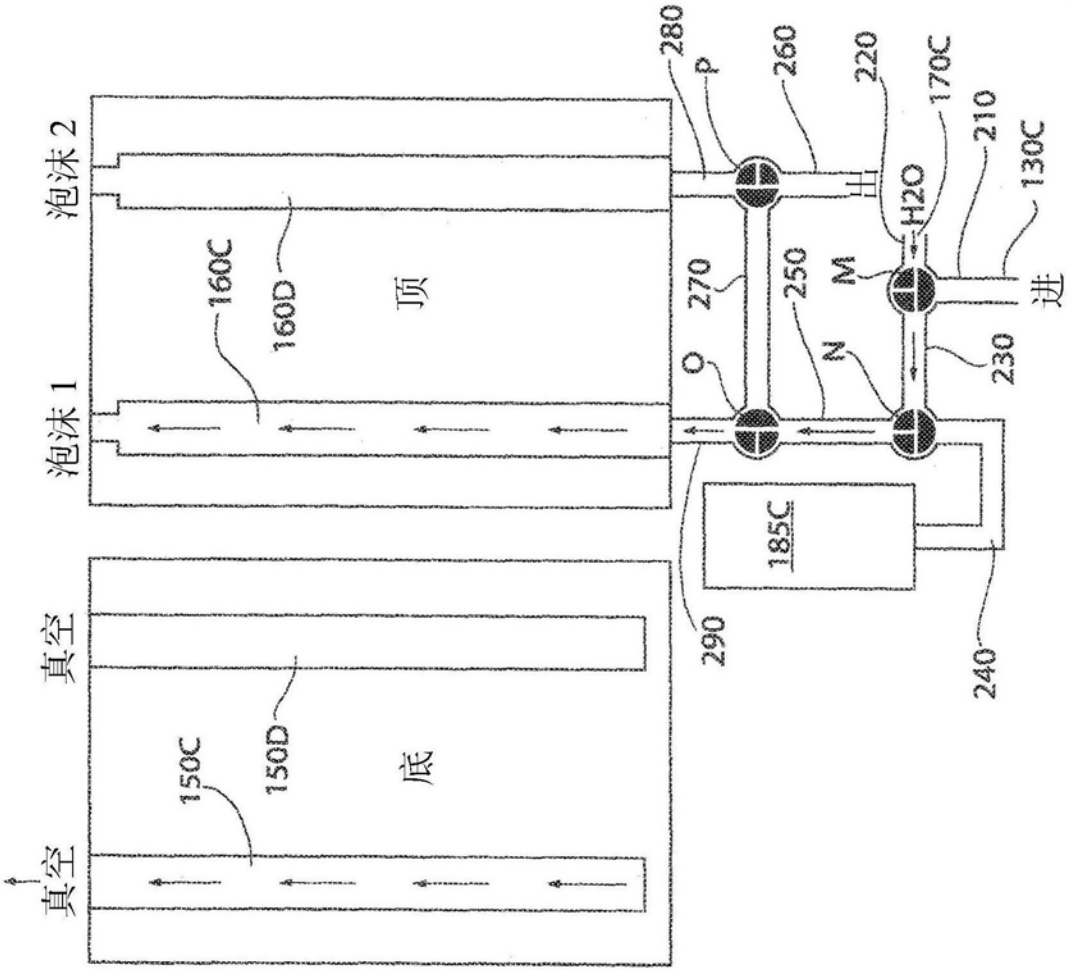

泡沫 2
泡沫 1
真空
真空
160C
160D
150C
150D
顶
底
280
P
260
220
170C
210
130C
H2O
M
N
O
270
250
230
290
240
185C
出
进

图13A

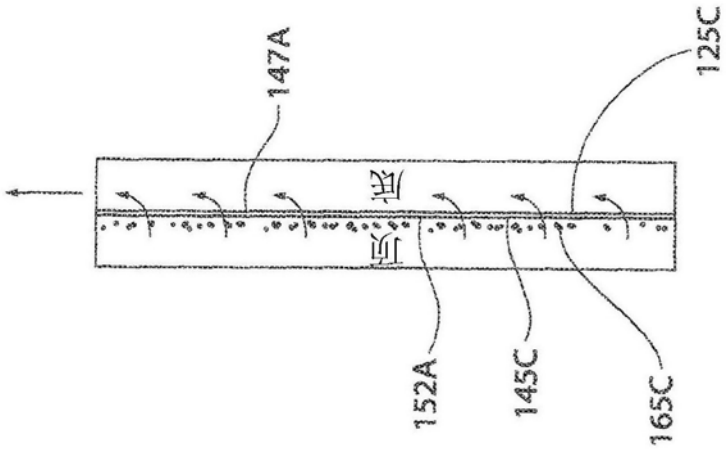

147A
125C
顶
底
152A
145C
165C

图13B

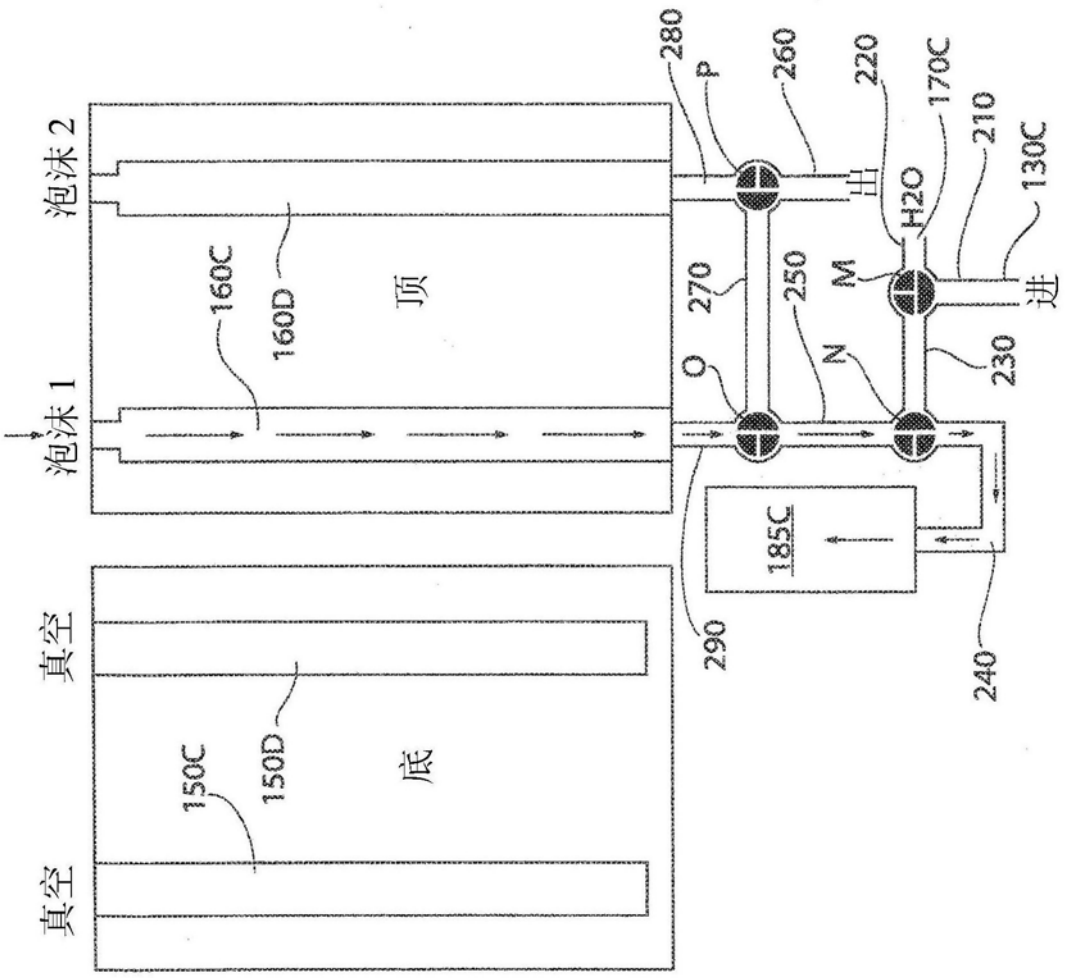

泡沫 2
泡沫 1
真空
真空
160C
160D
顶
150C
150D
底
280
P
260
220
170C
210
130C
出
H2O
M
进
270
250
230
O
N
185C
290
240

图14A

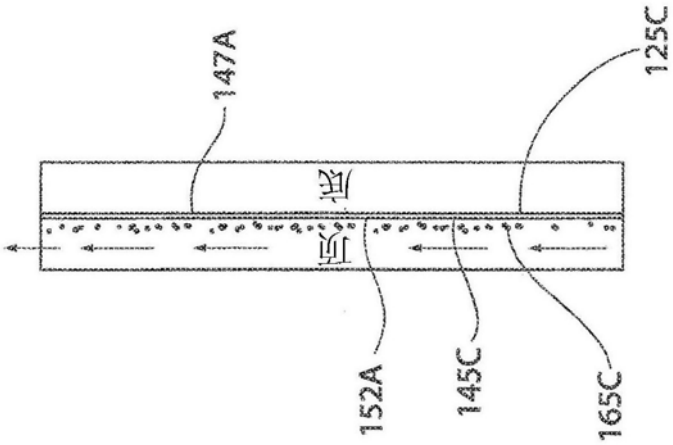

147A
125C
底
顶
152A
145C
165C

图14B

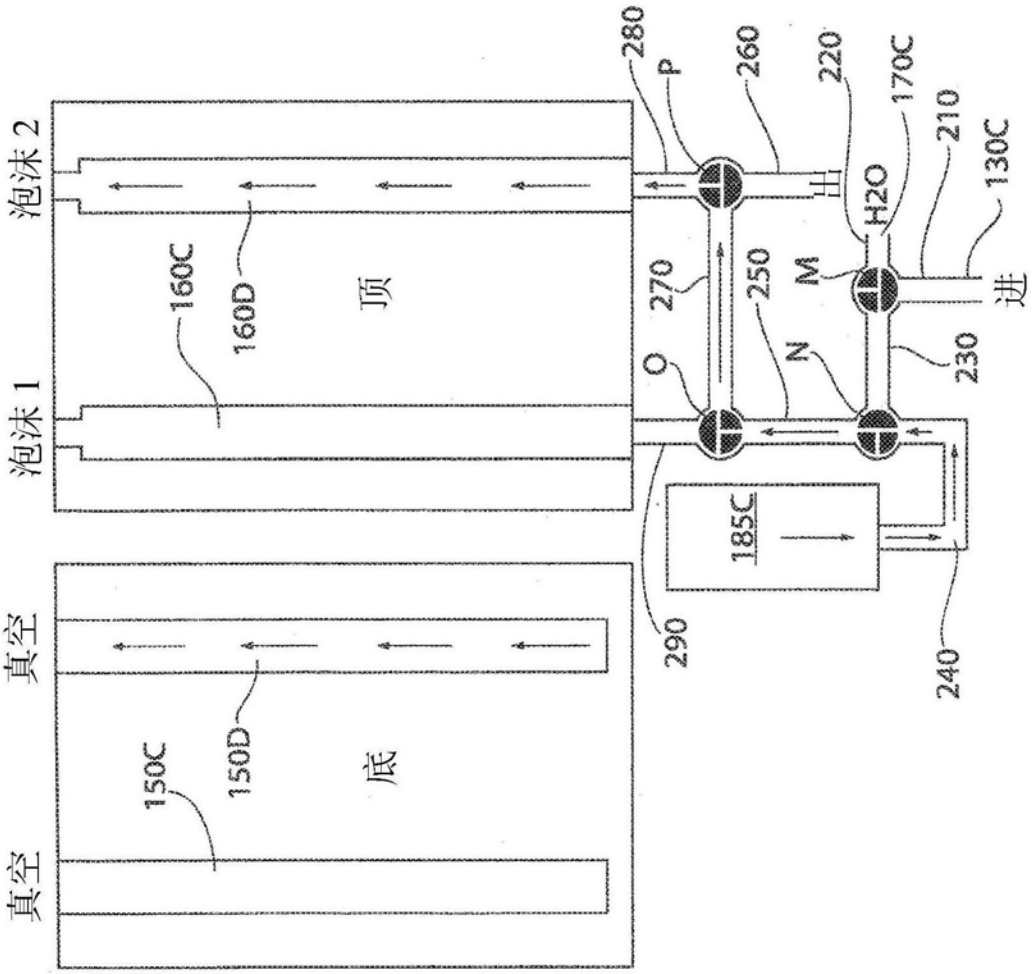

泡沫 2
泡沫 1
真空
真空
160C
160D
顶
150C
150D
底
280
P
260
220
170C
210
130C
出
H2O
M
进
270
250
230
O
N
185C
290
240

图15A

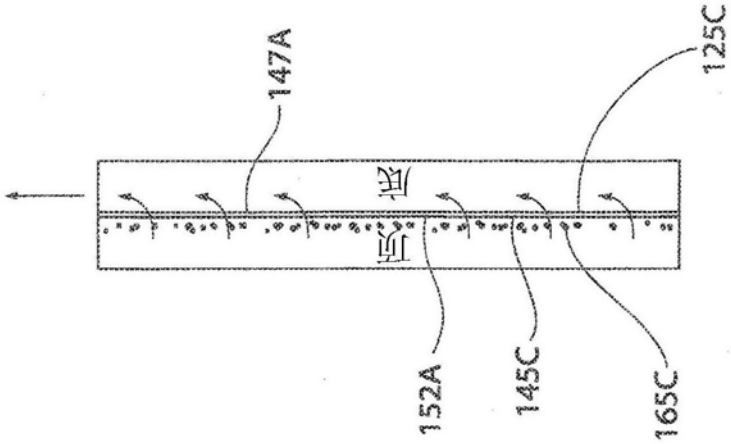

147A
125C
顶
底
152A
145C
165C

图15B

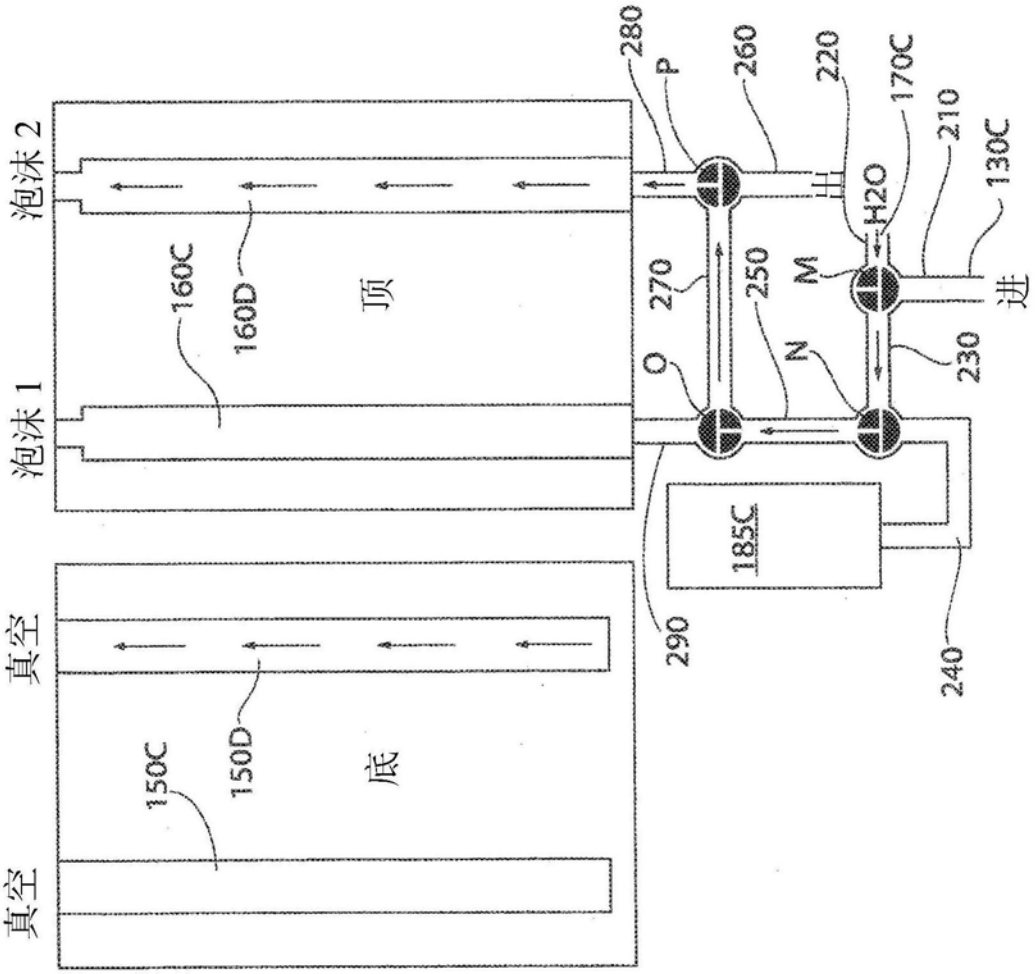

泡沫 2
泡沫 1
真空
真空
160C
160D
顶
150C
150D
底
280
P
260
220
170C
210
130C
H2O
M
N
O
270
250
230
进
185C
290
240

图16A

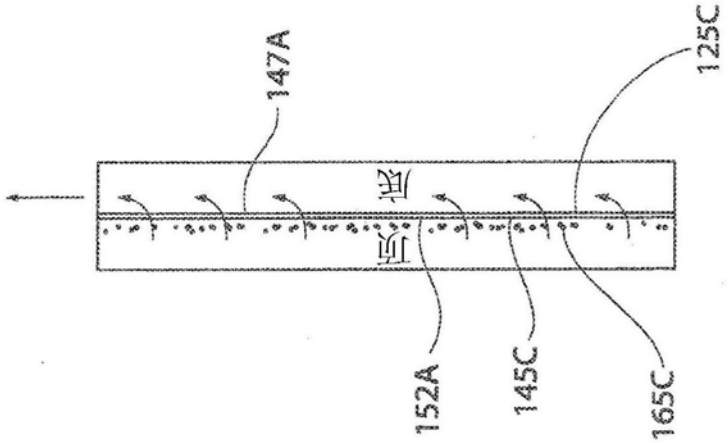

147A
125C
顶
底
152A
145C
165C

图16B

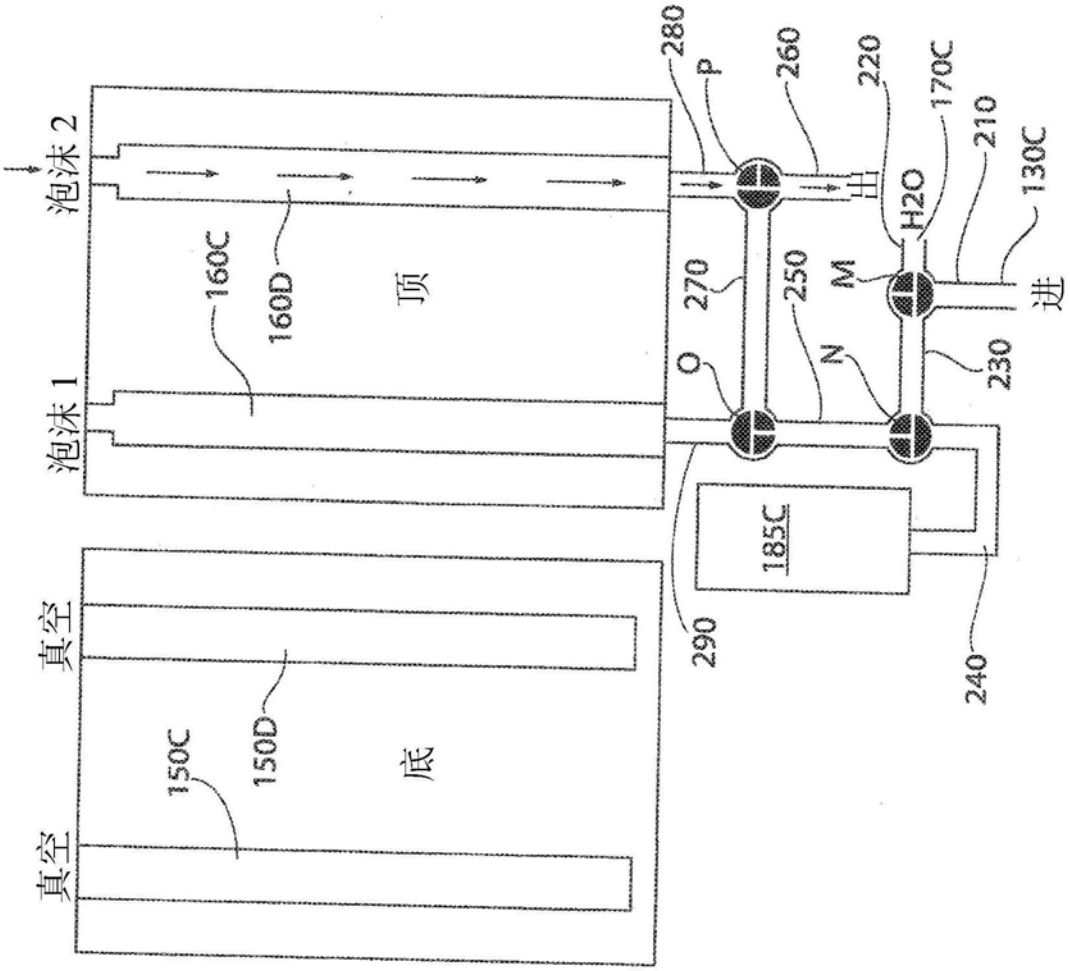

泡沫 2
泡沫 1
160C
160D
顶
真空
真空
150C
150D
底
280
P
260
220
170C
210
130C
出
H2O
M
进
270
250
O
N
230
185C
290
240

图17A

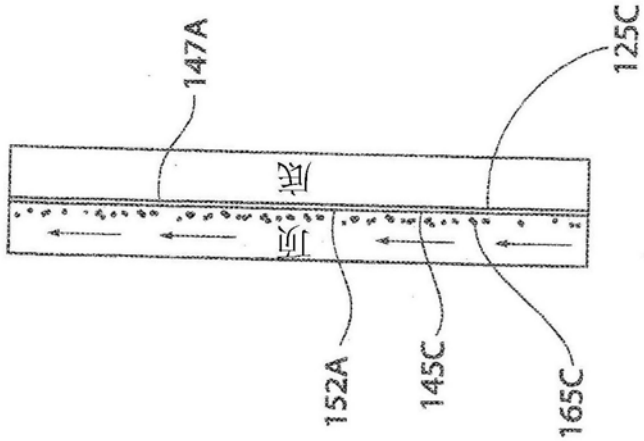

147A
125C
底
顶
152A
145C
165C

图17B

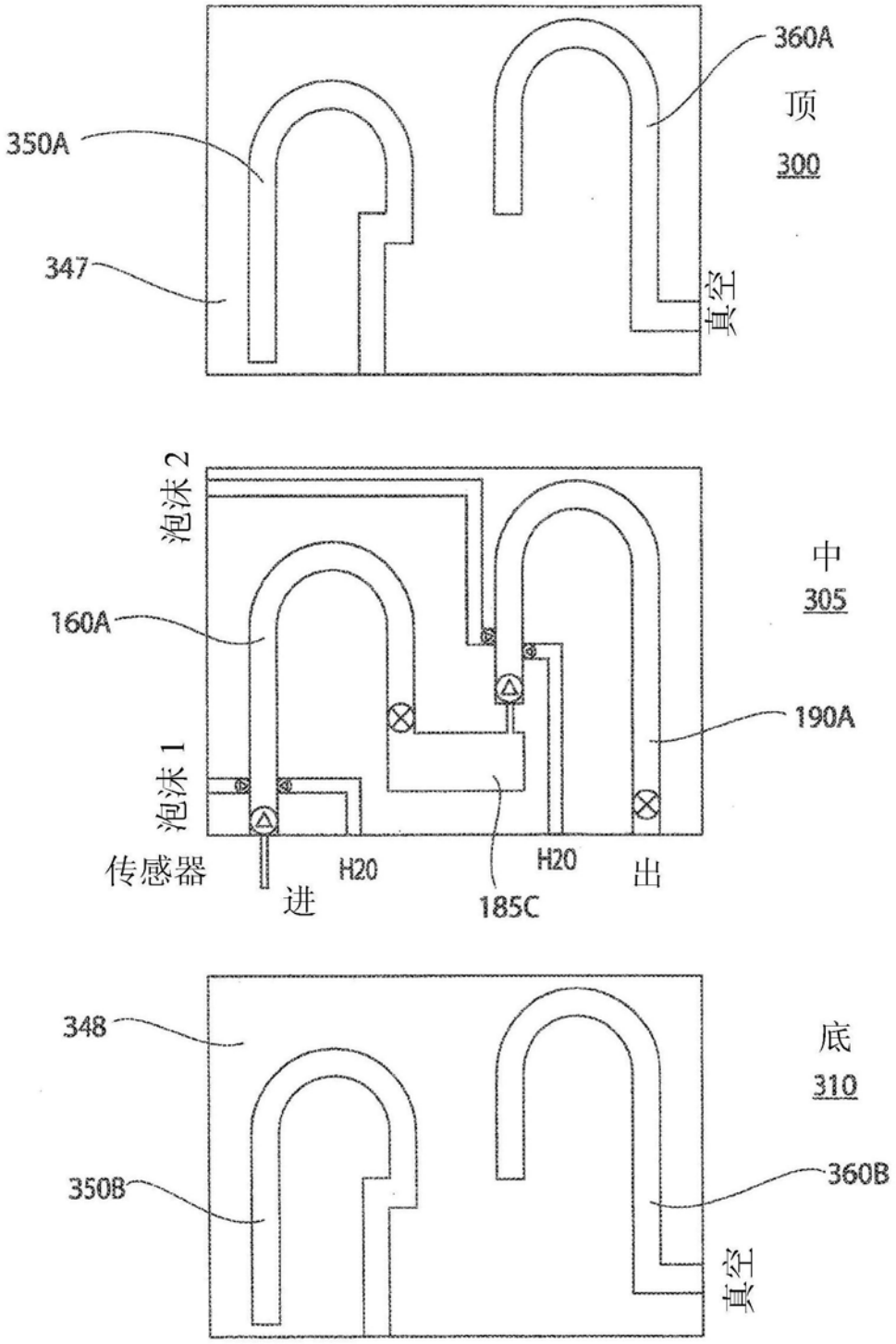

360A
顶
300
350A
347
真空
泡沫 2
中
305
160A
190A
泡沫 1
传感器
H20
H20
出
进
185C
348
底
310
350B
360B
真空

图18A

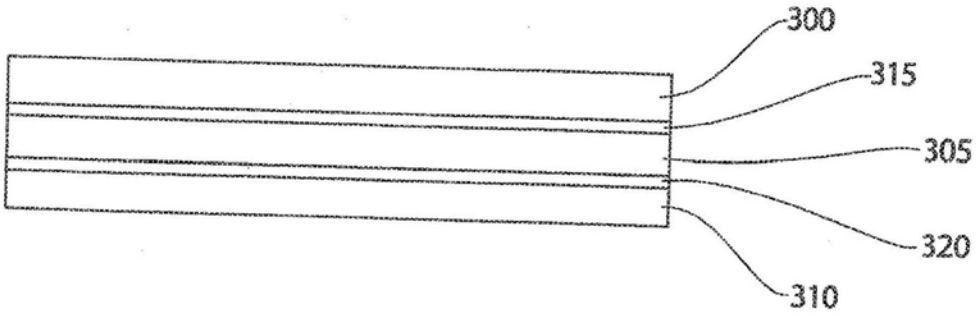


图18B

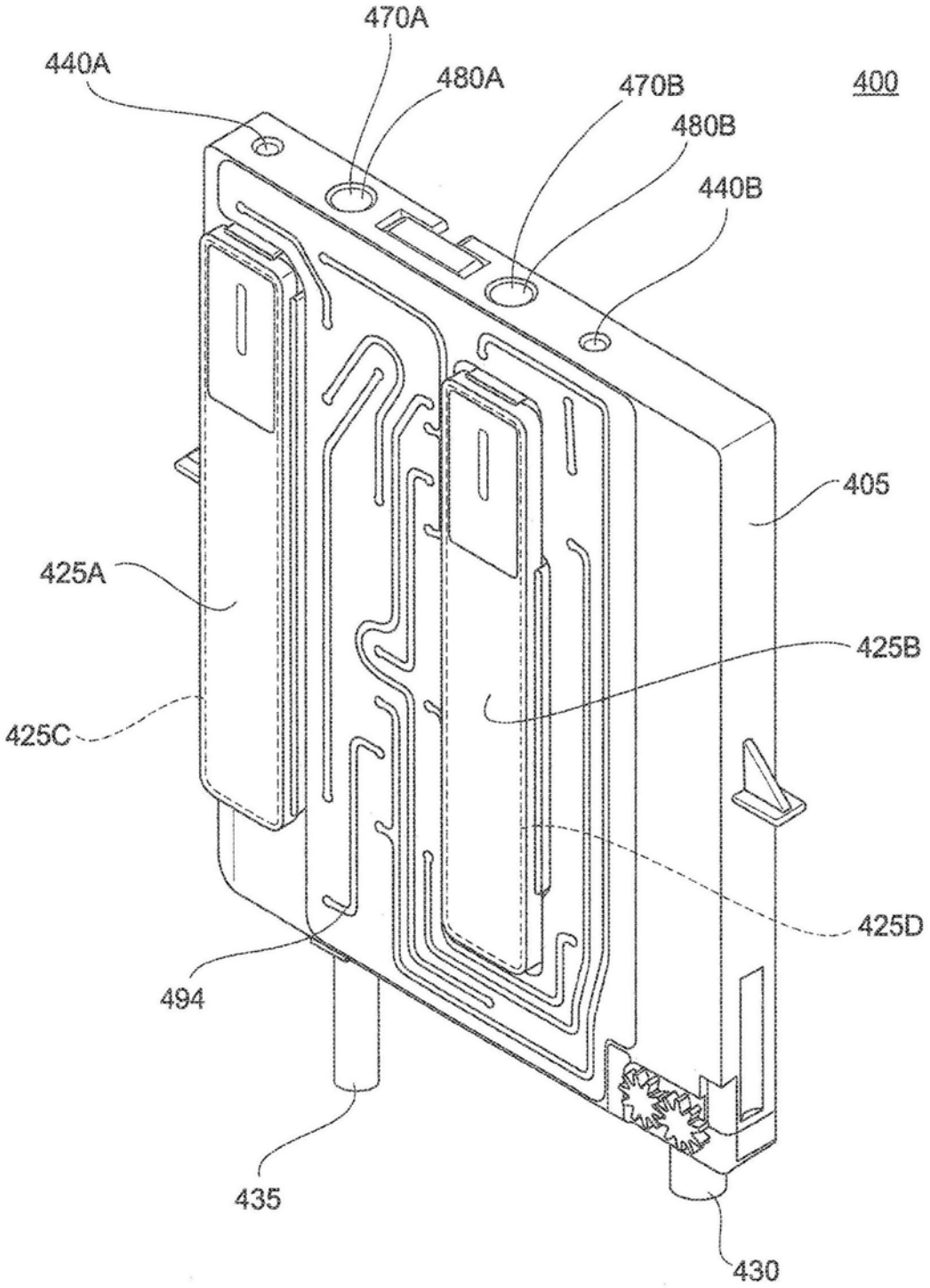

470A
440A
480A
470B
400
480B
440B
405
425A
425B
425C
425D
494
435
430

图19

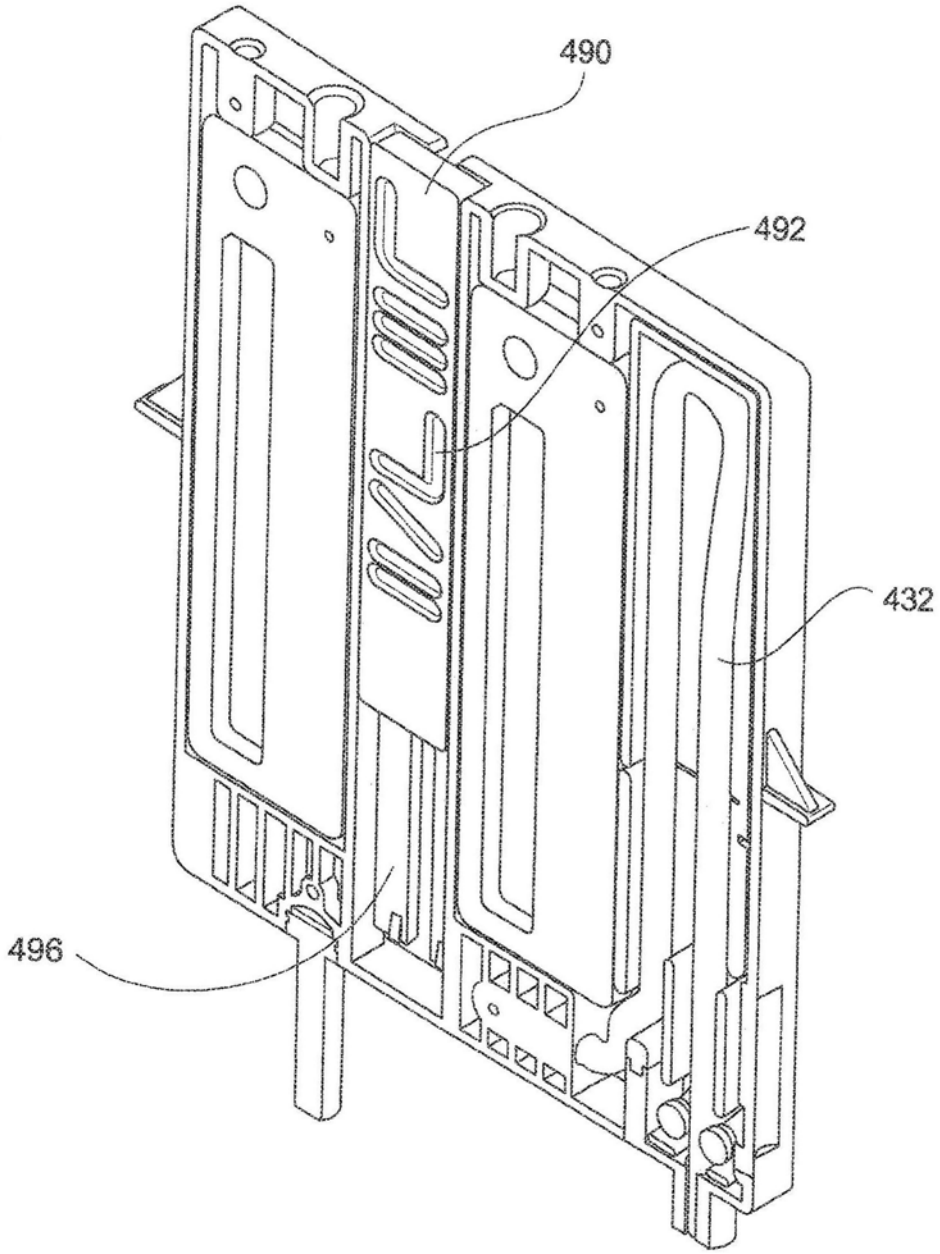


图20

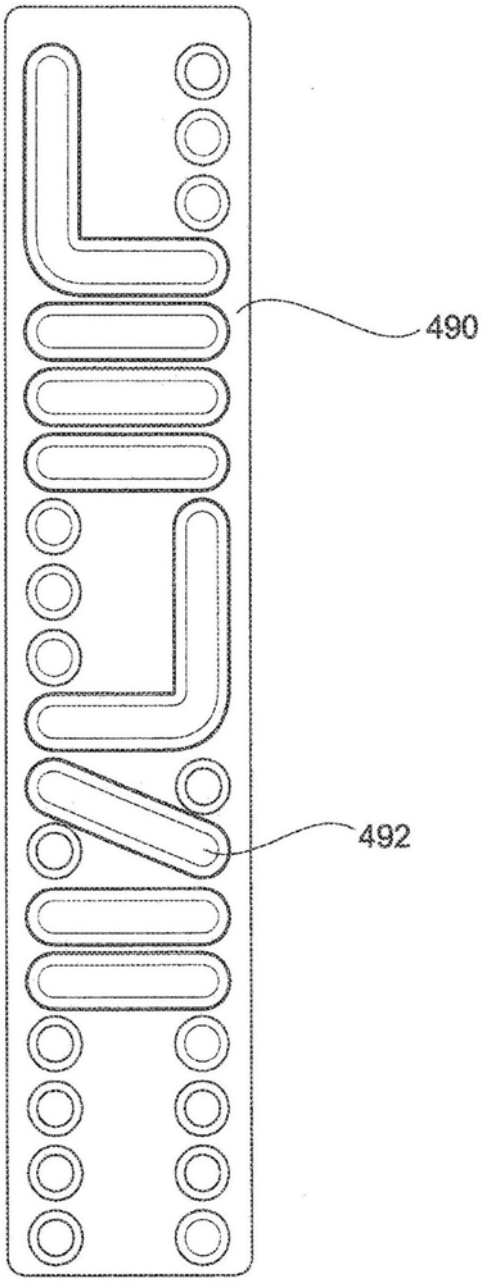


图21

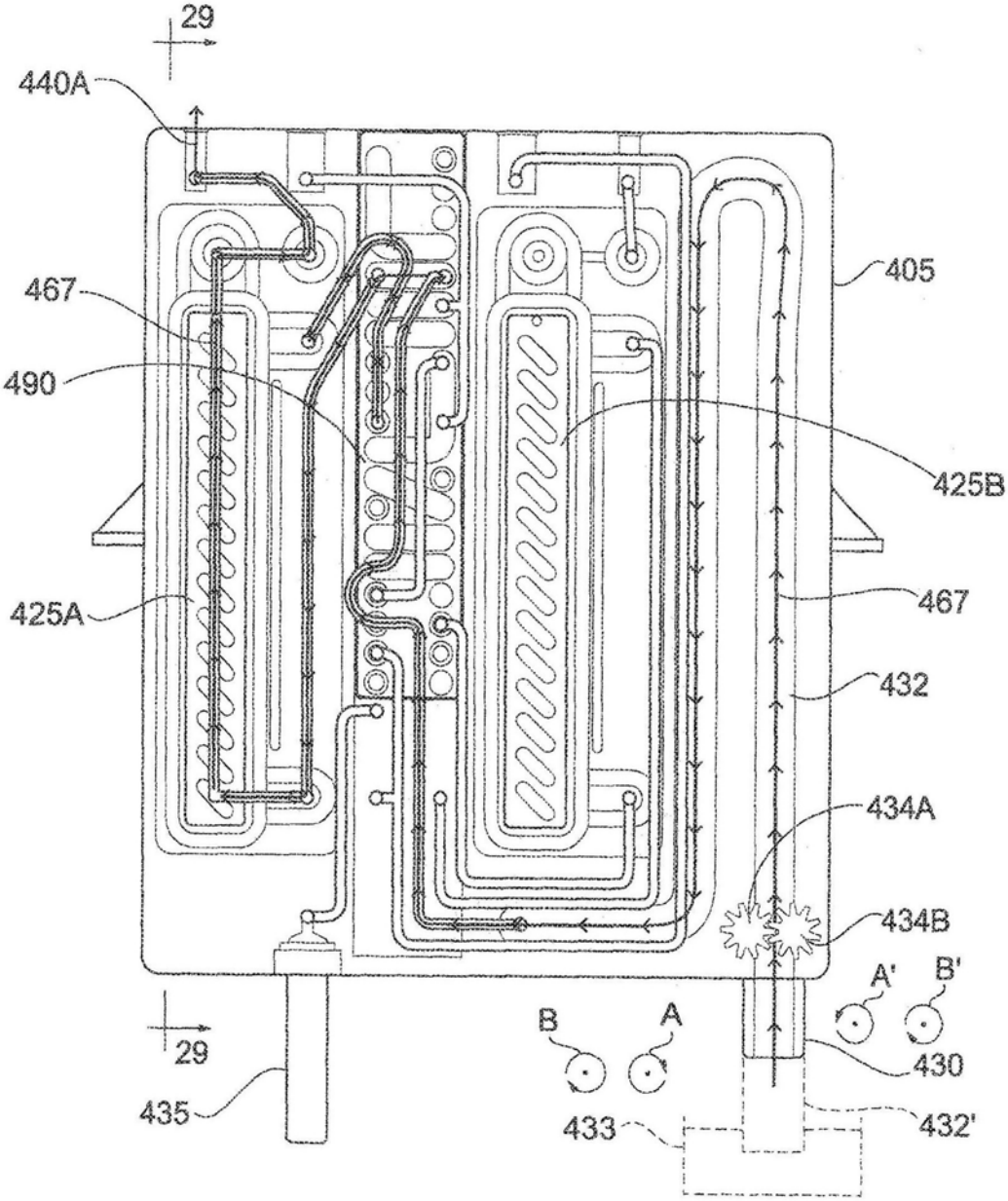

29
440A
467
490
425A
405
425B
467
432
434A
434B
A'
B'
B
A
430
29
435
433
432'

图22

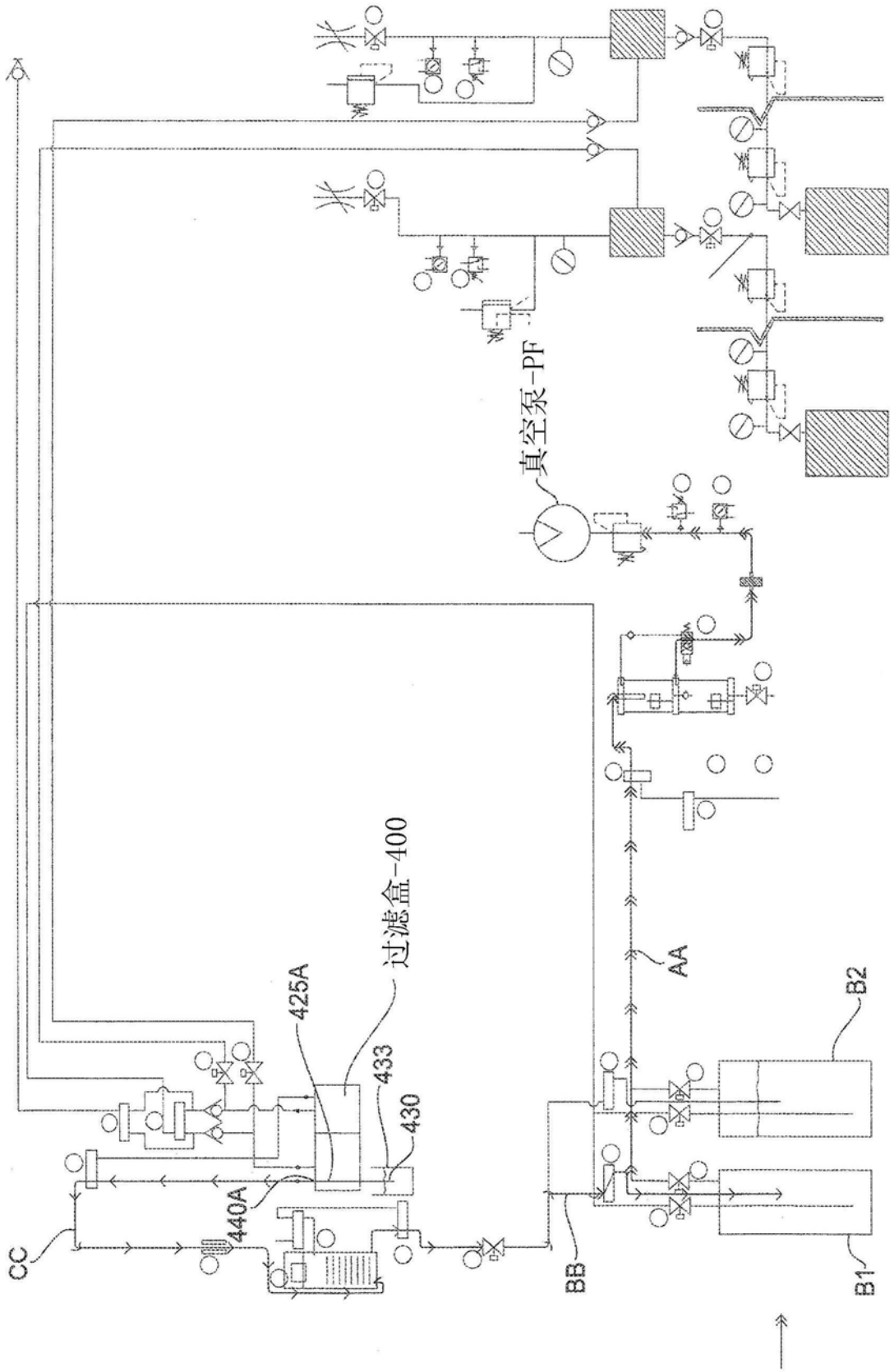


图22A

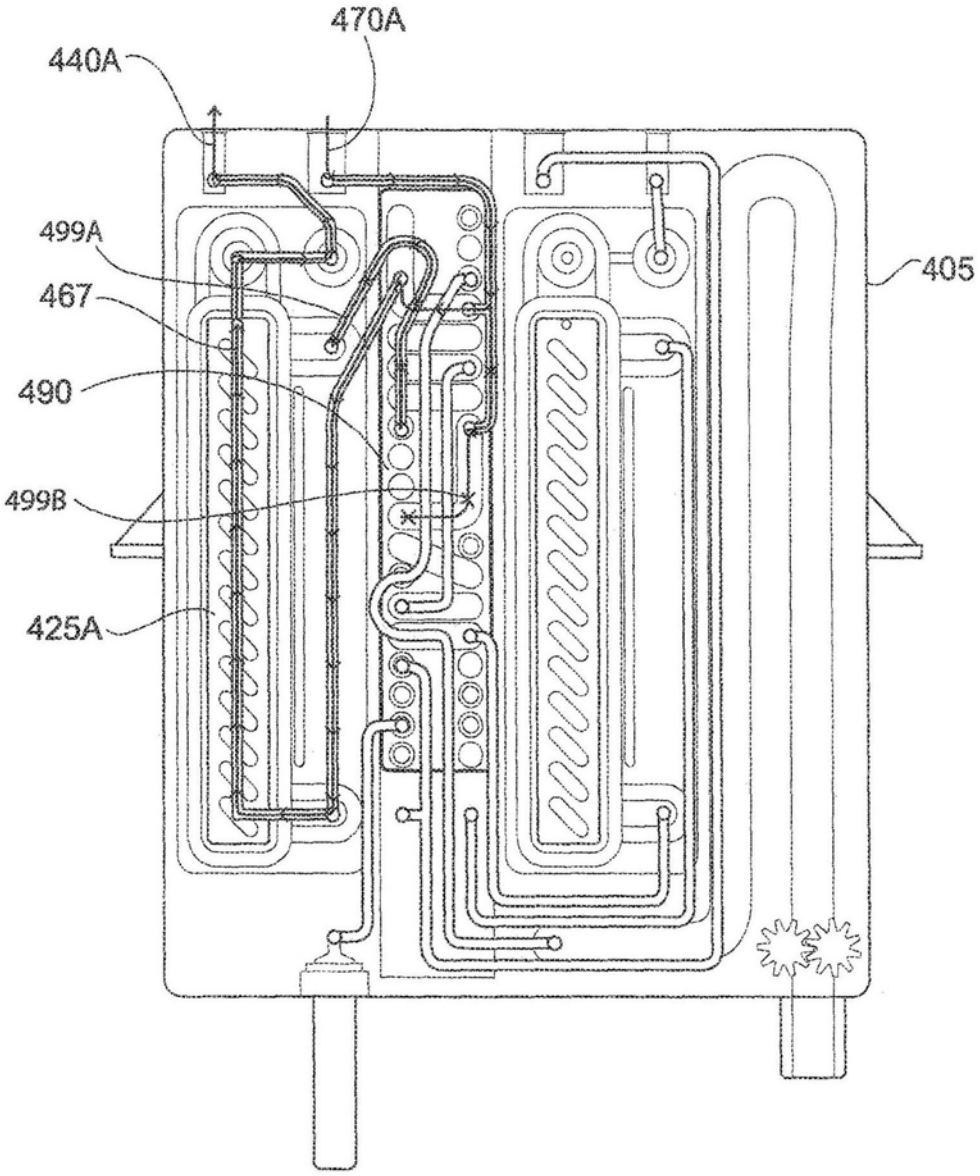


图23

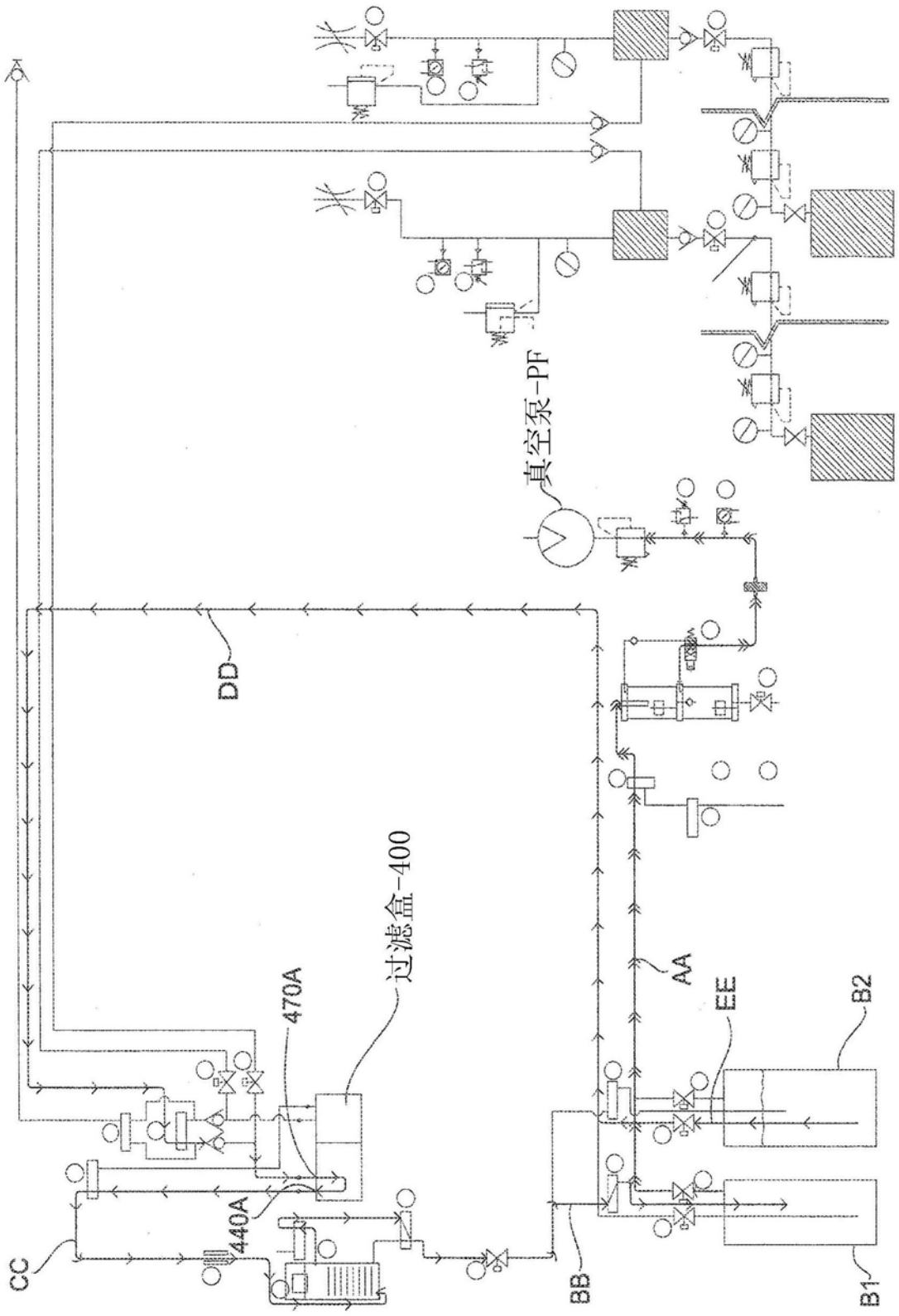


图23A

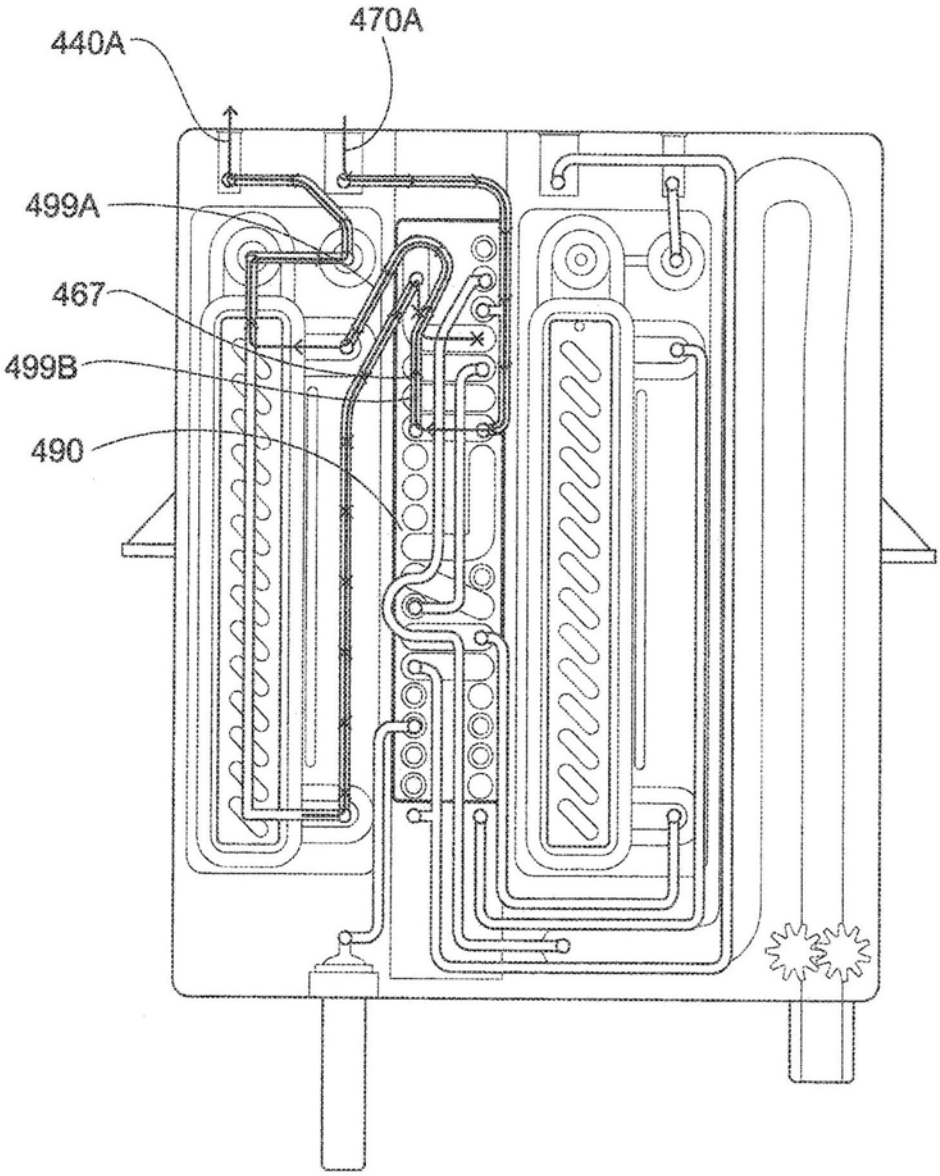


图24

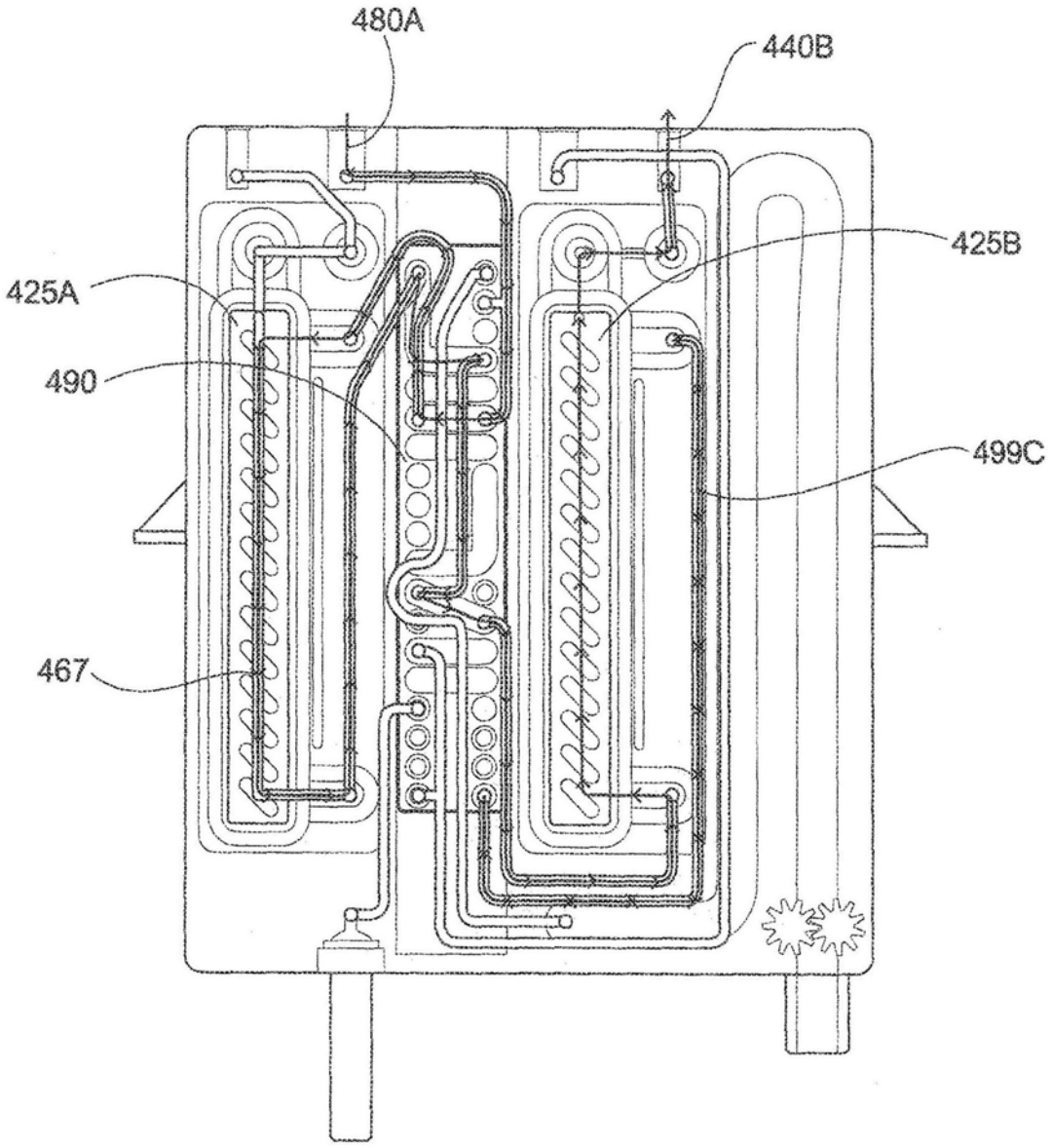


图25

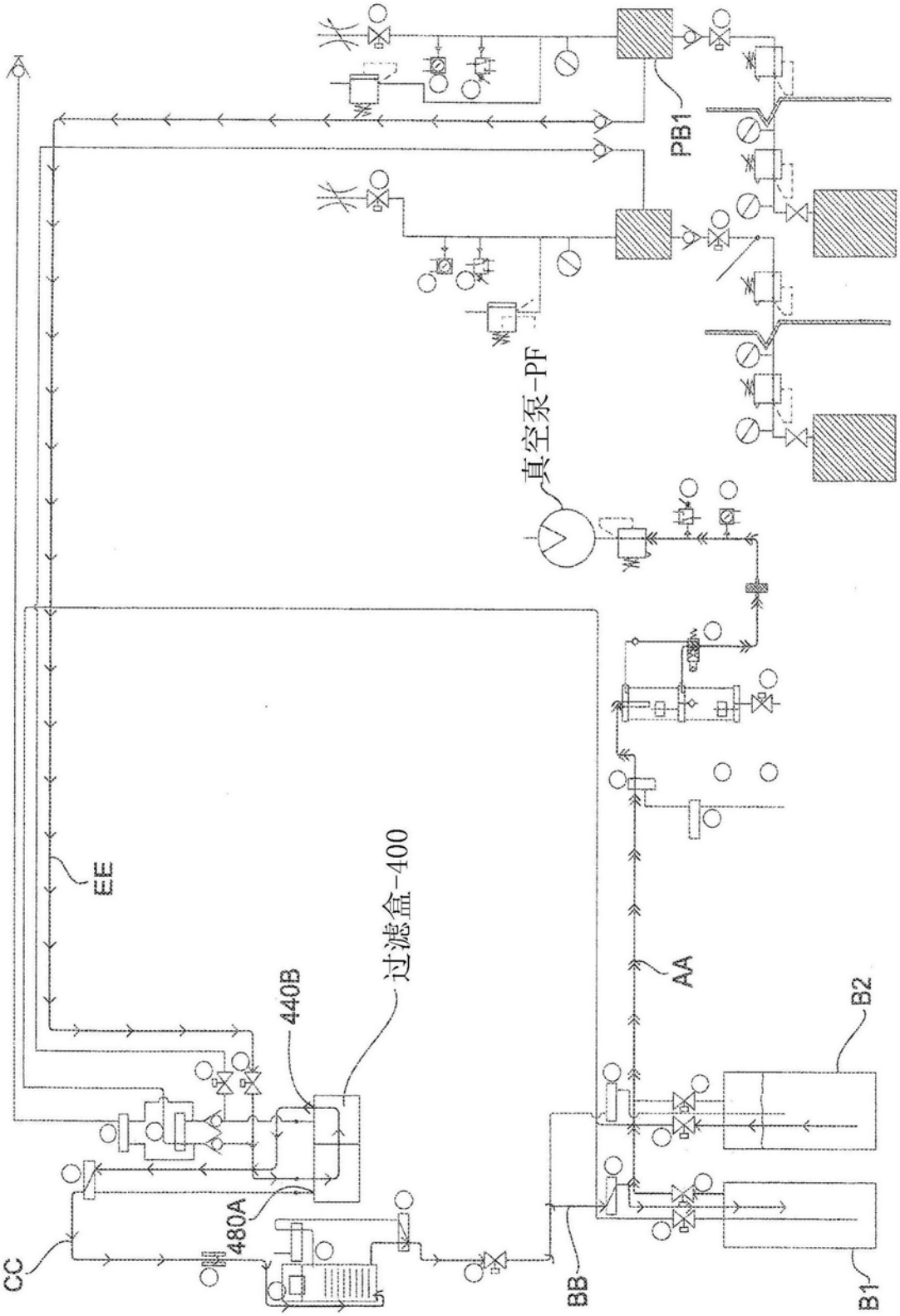


图25A

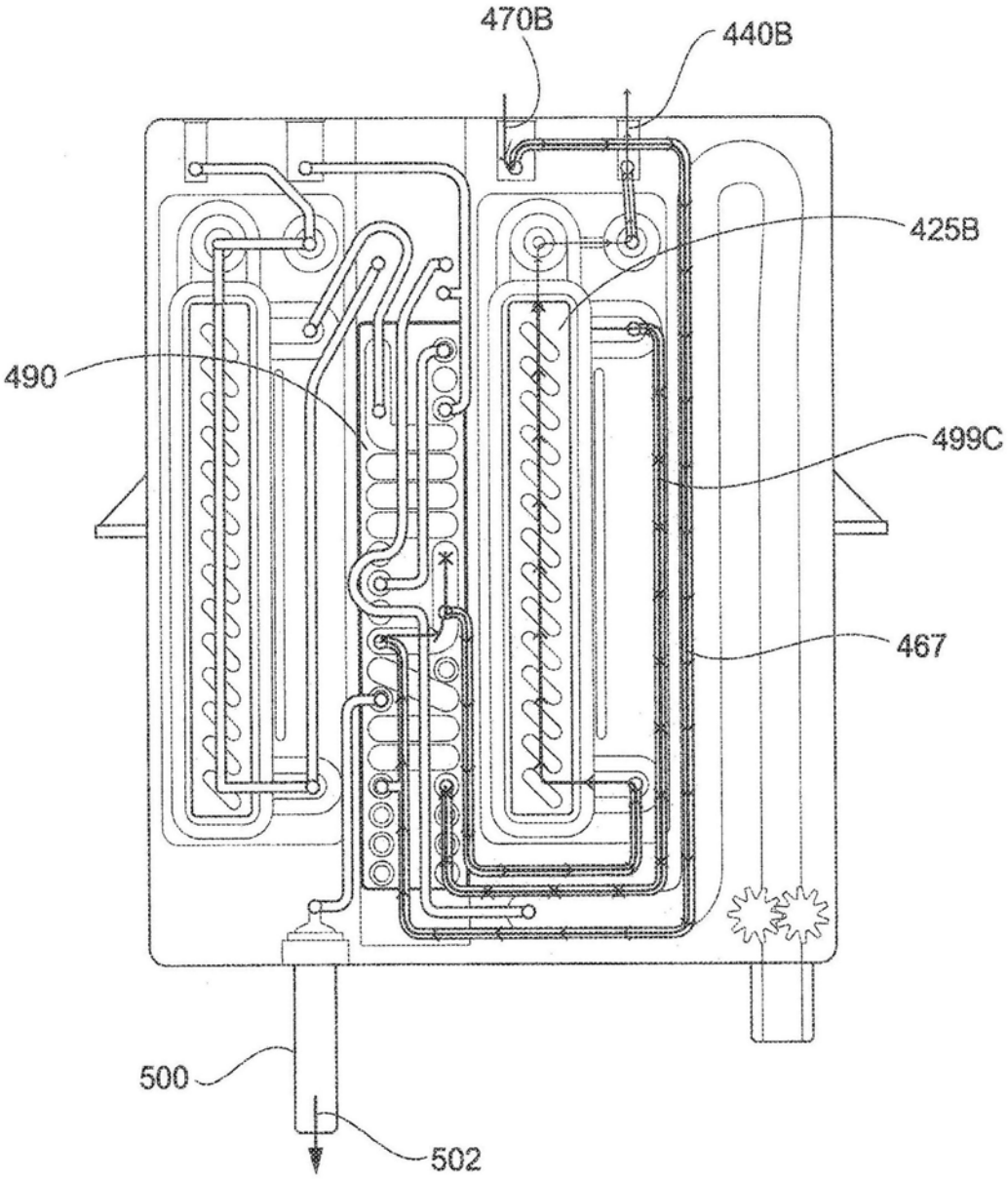


图26

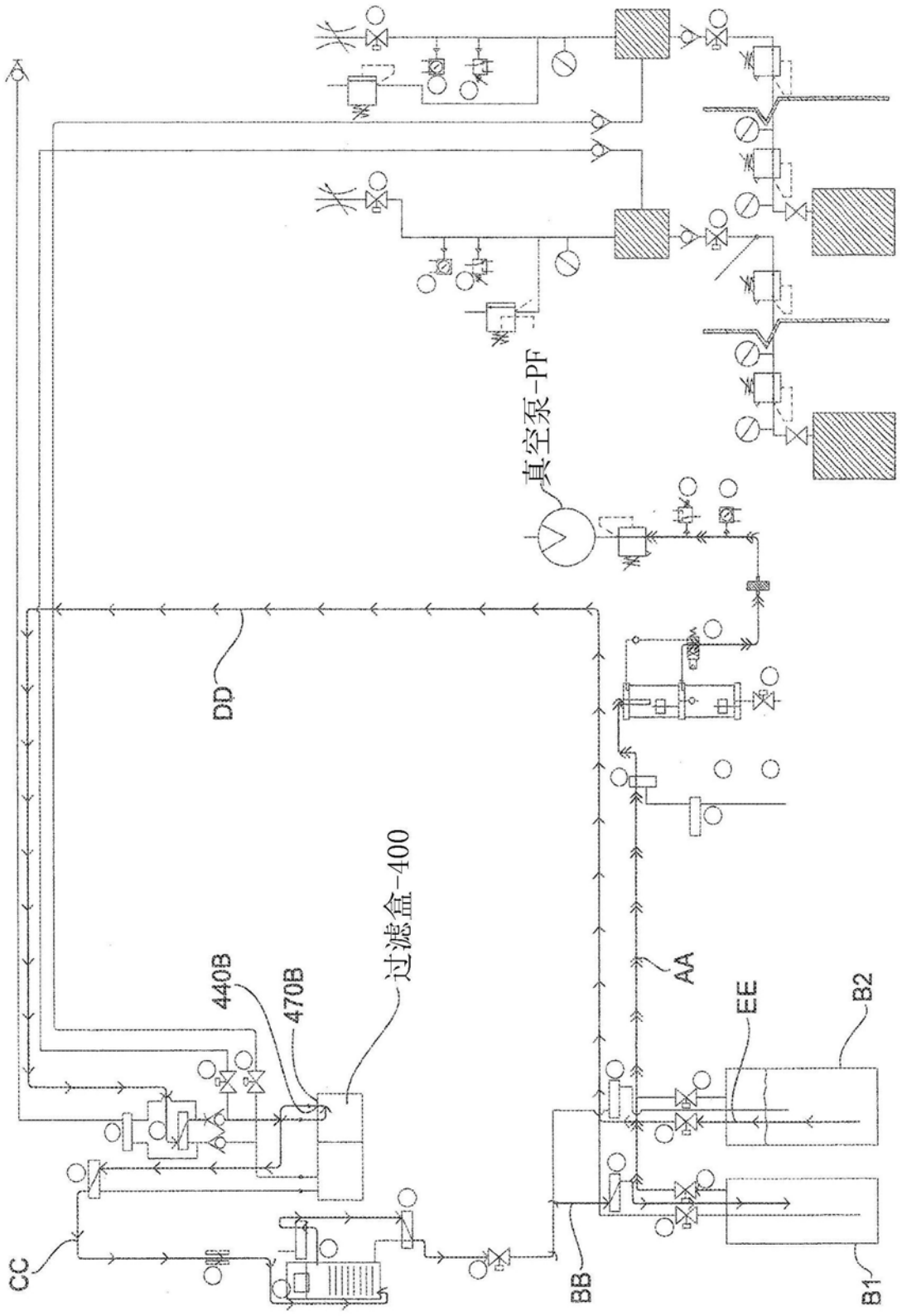


图26A

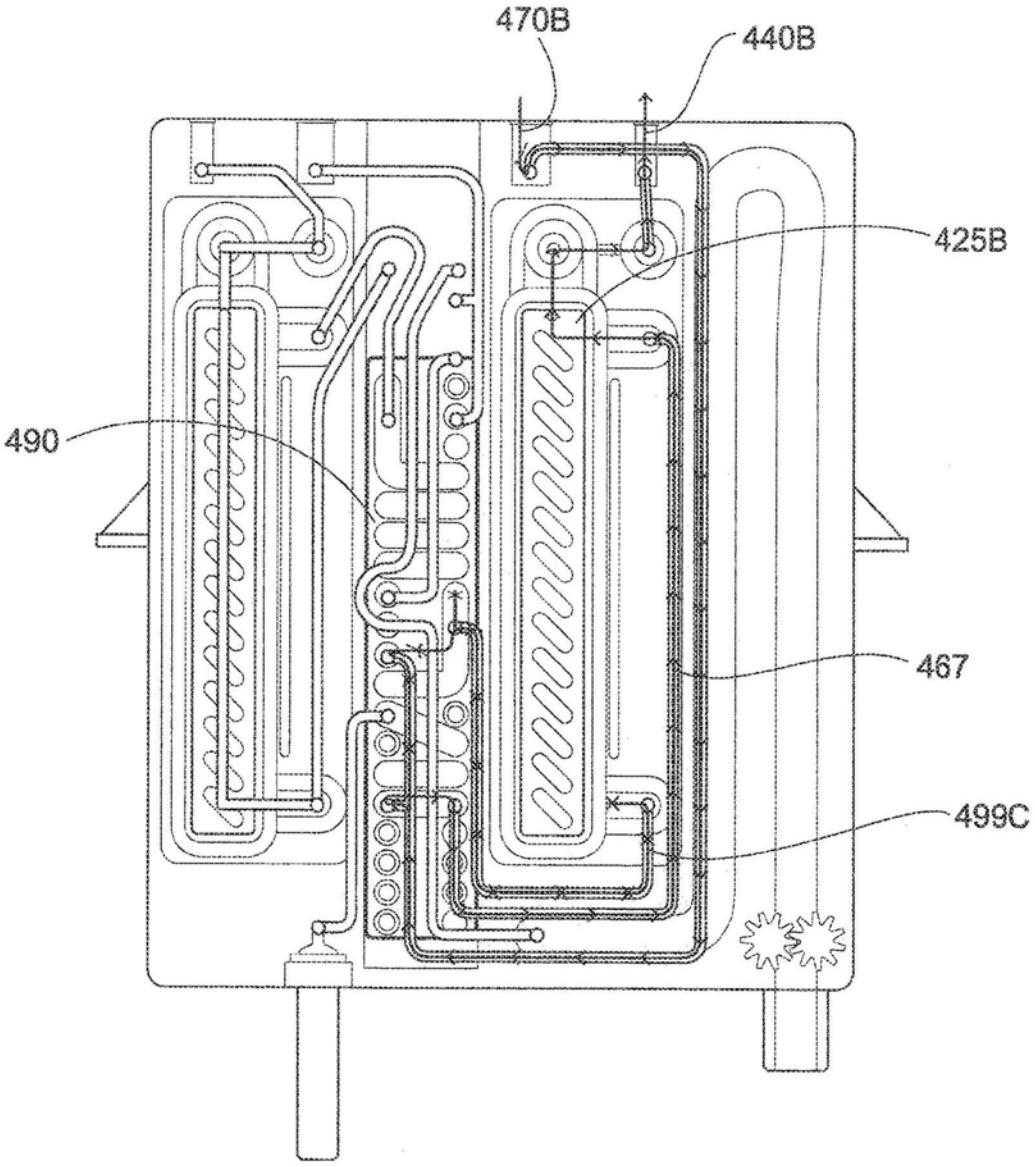


图27

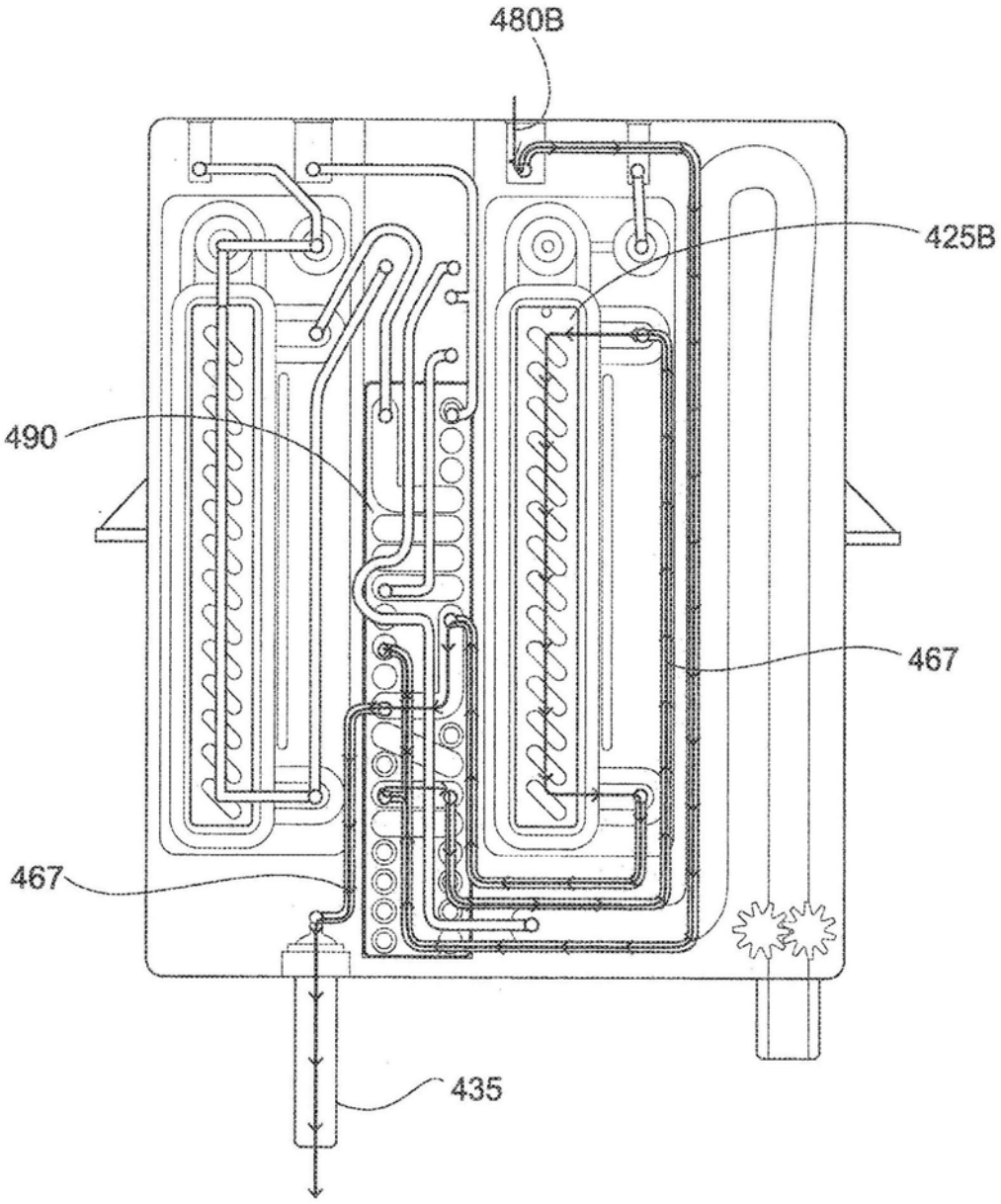


图28

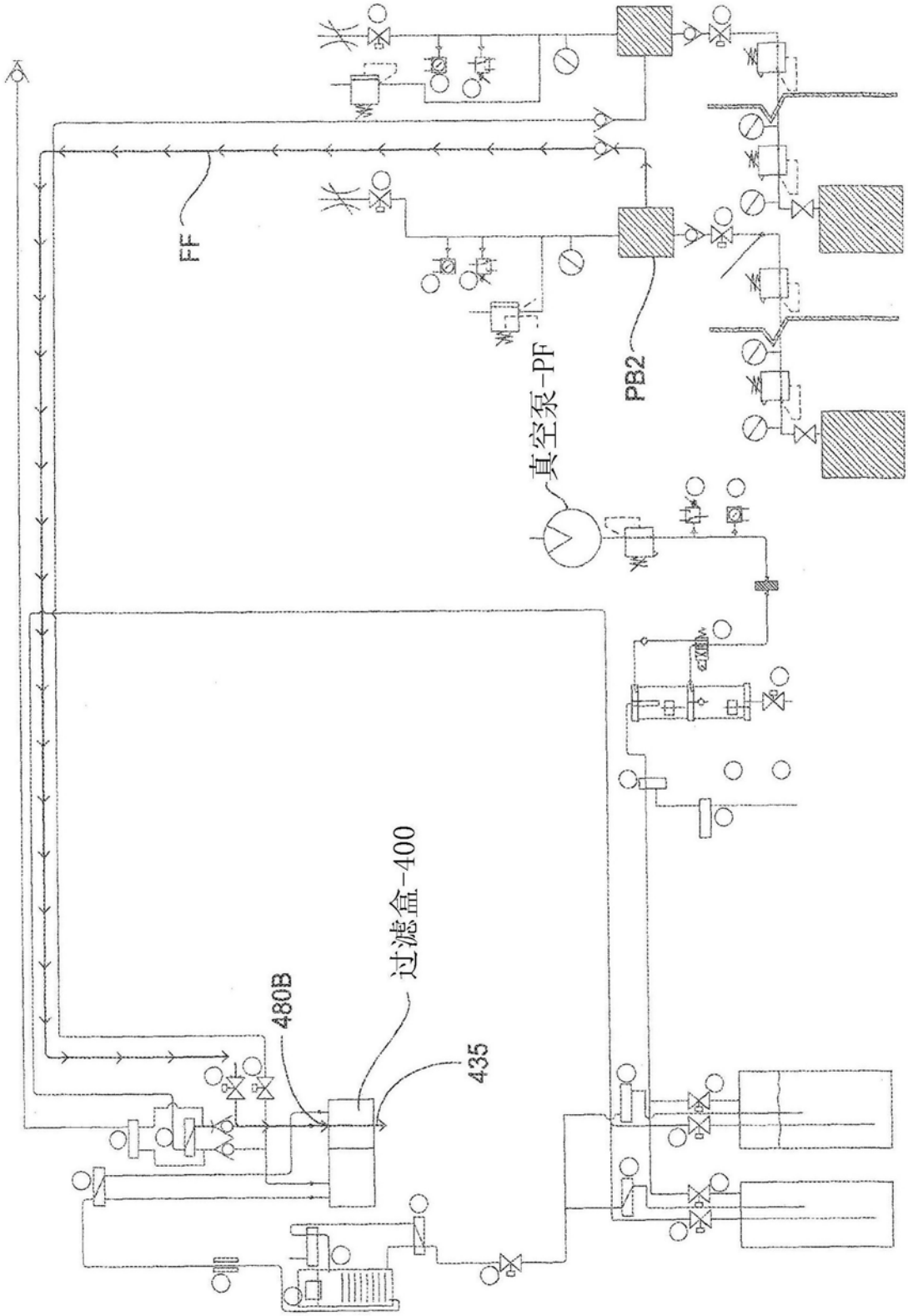


图28A

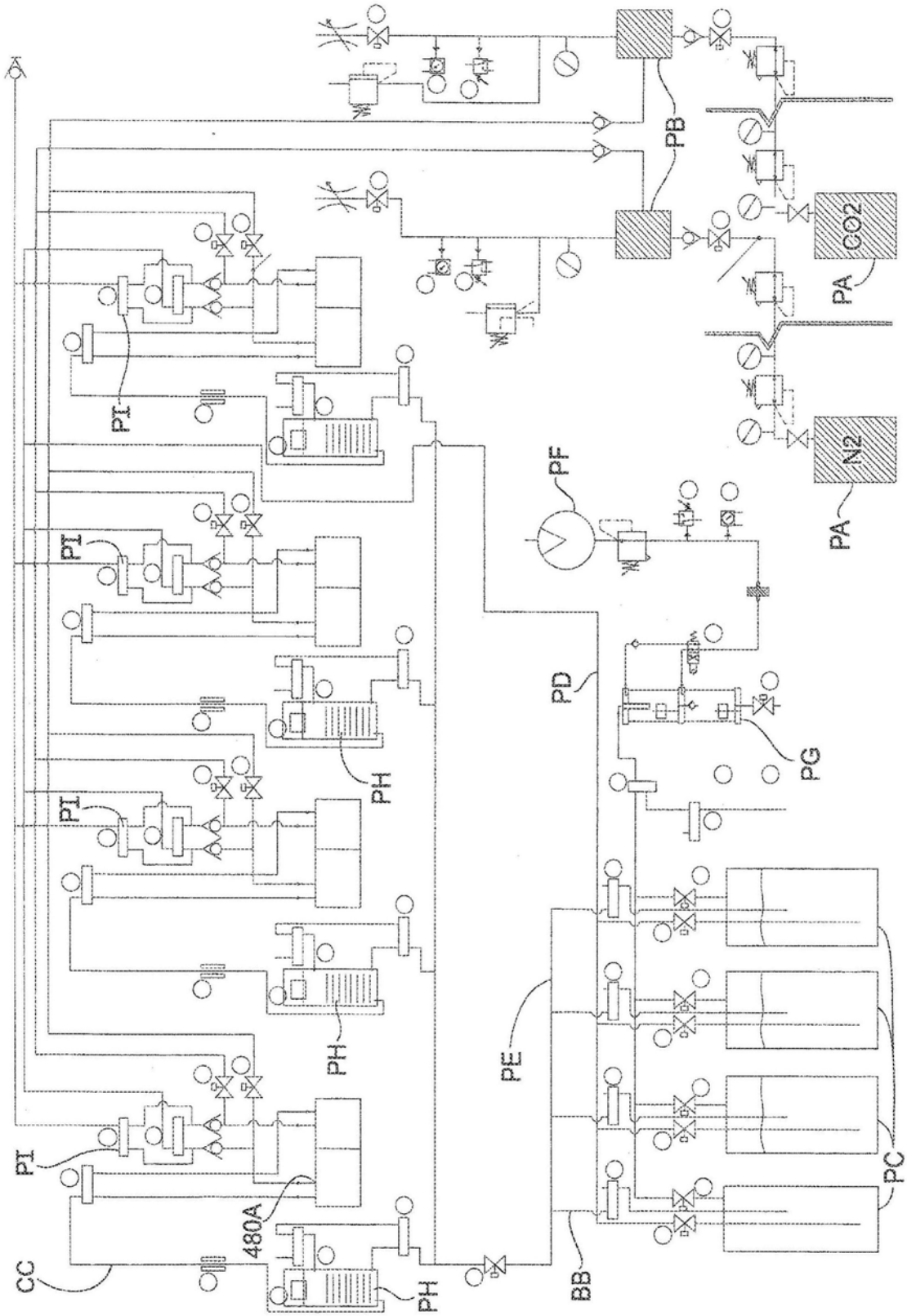


图29

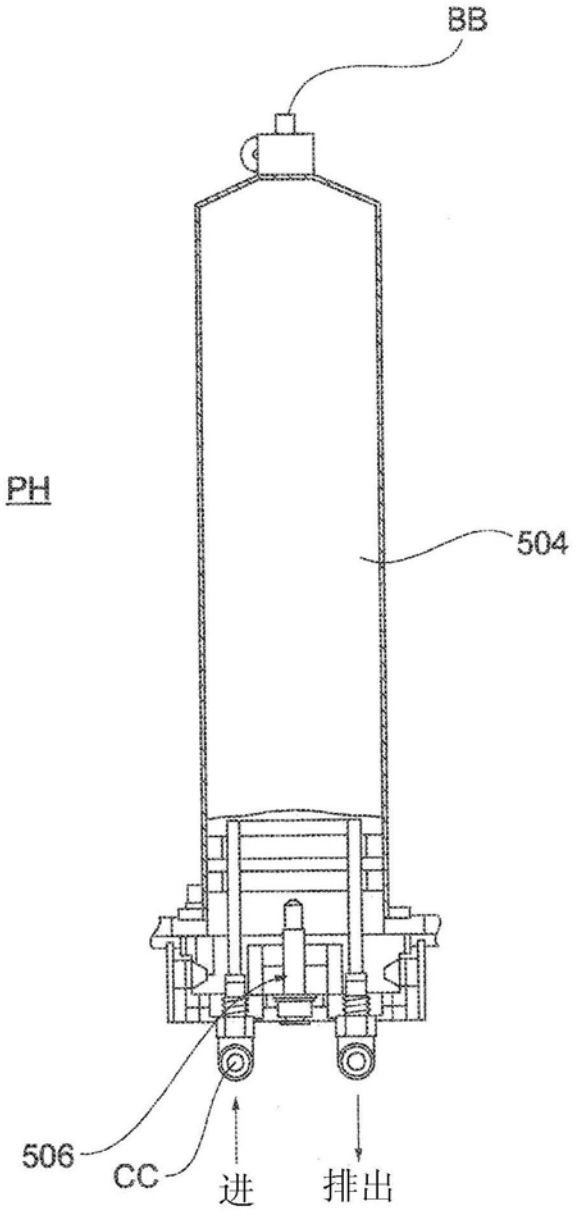


图30

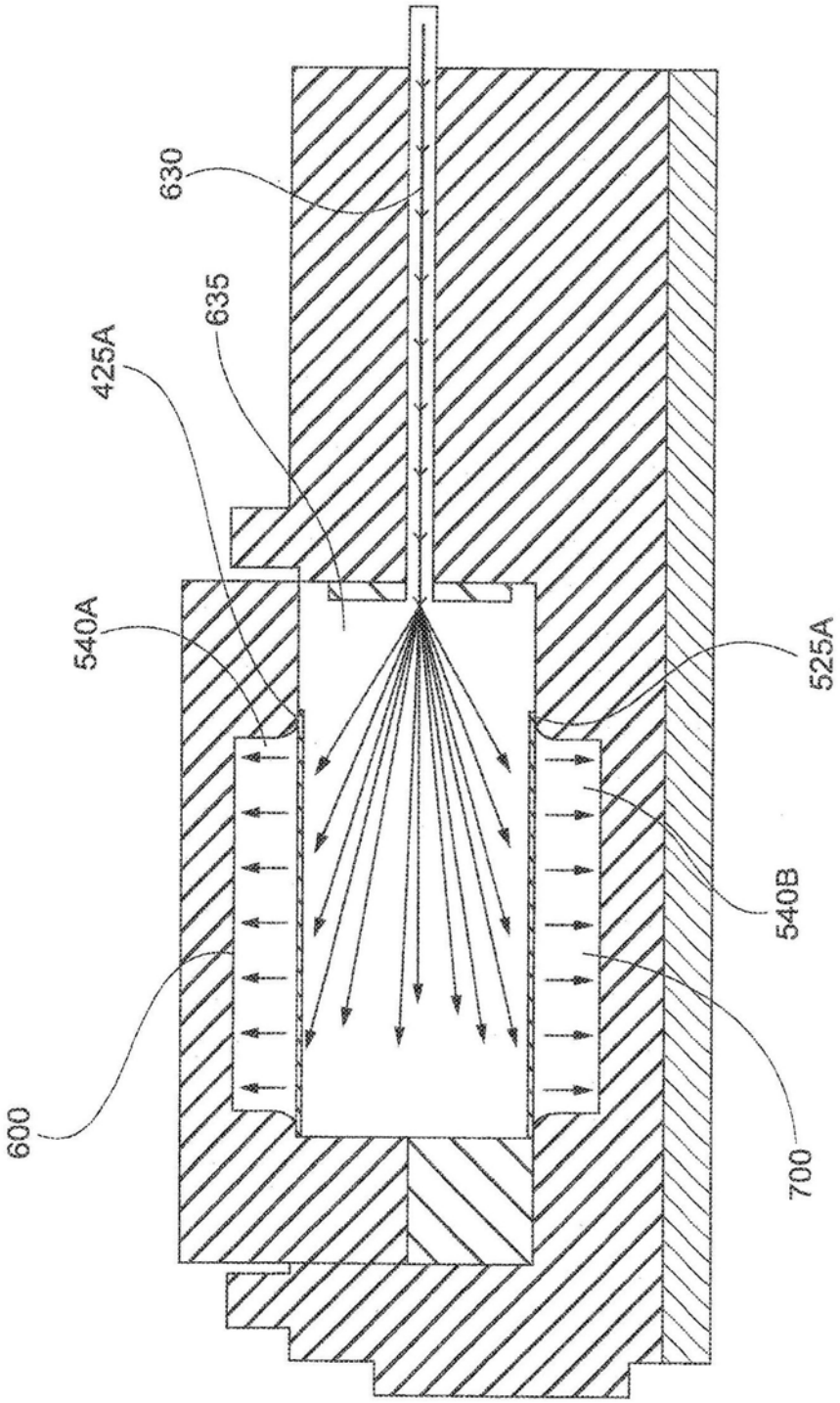
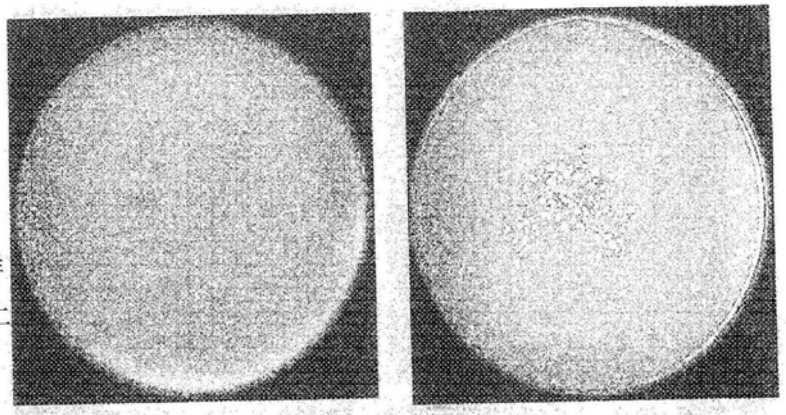


图31

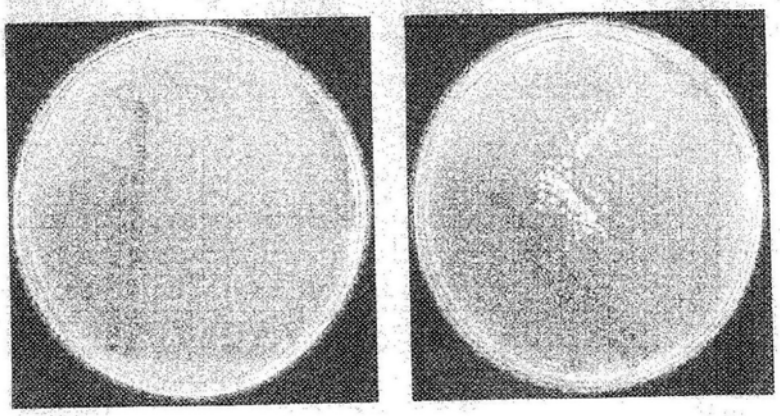
图32



采用 WASP
将 1μl 临床尿液试样
接种在血琼脂培养基上

图 3 3A

图 3 3B



采用 WASP
将 1μl 临床尿液试样
接种在科马嘉培养基上

图 3 3C

图 3 3D

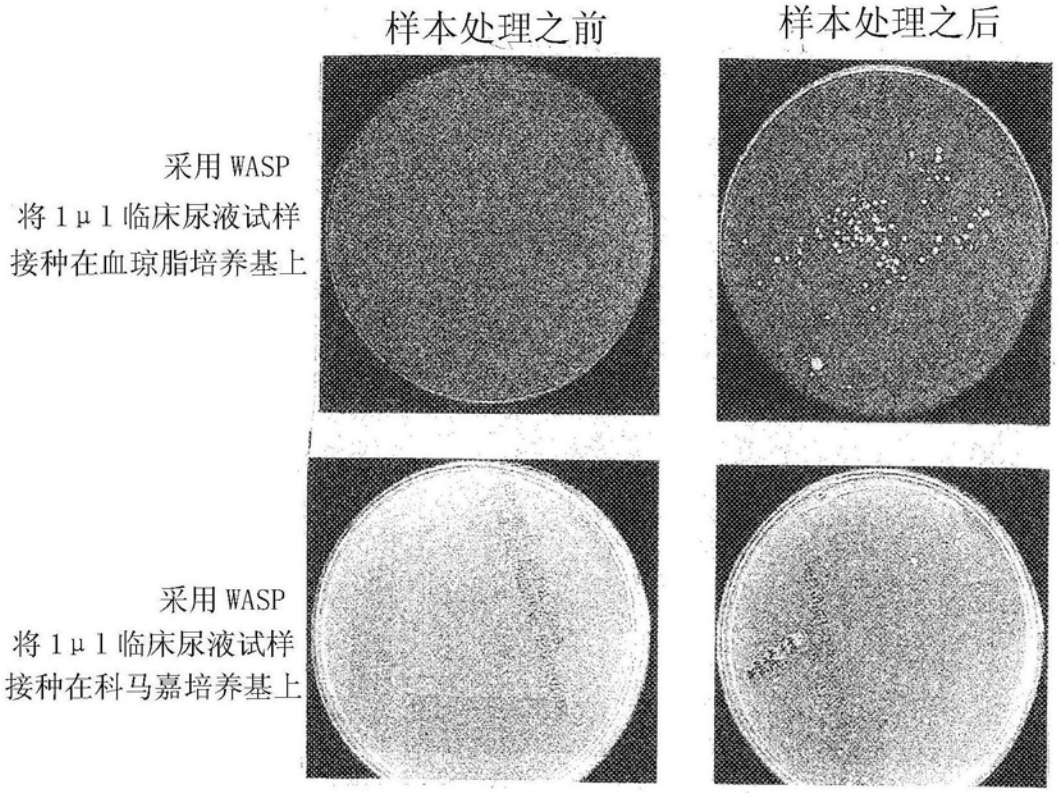
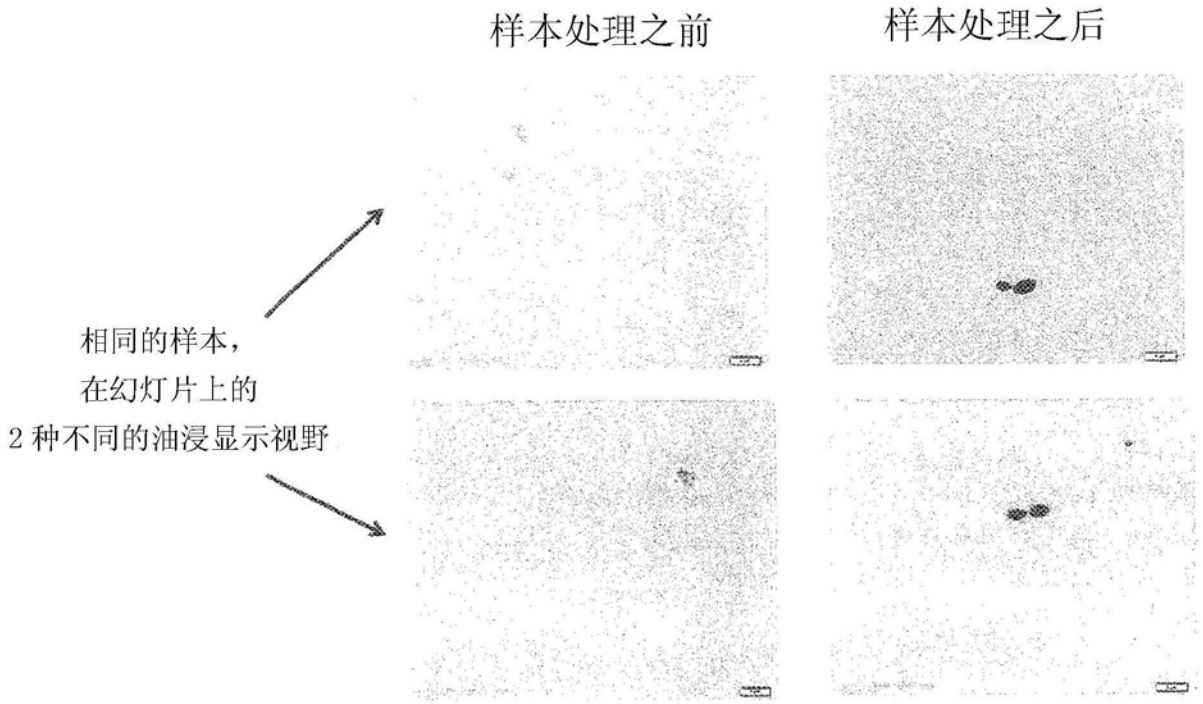
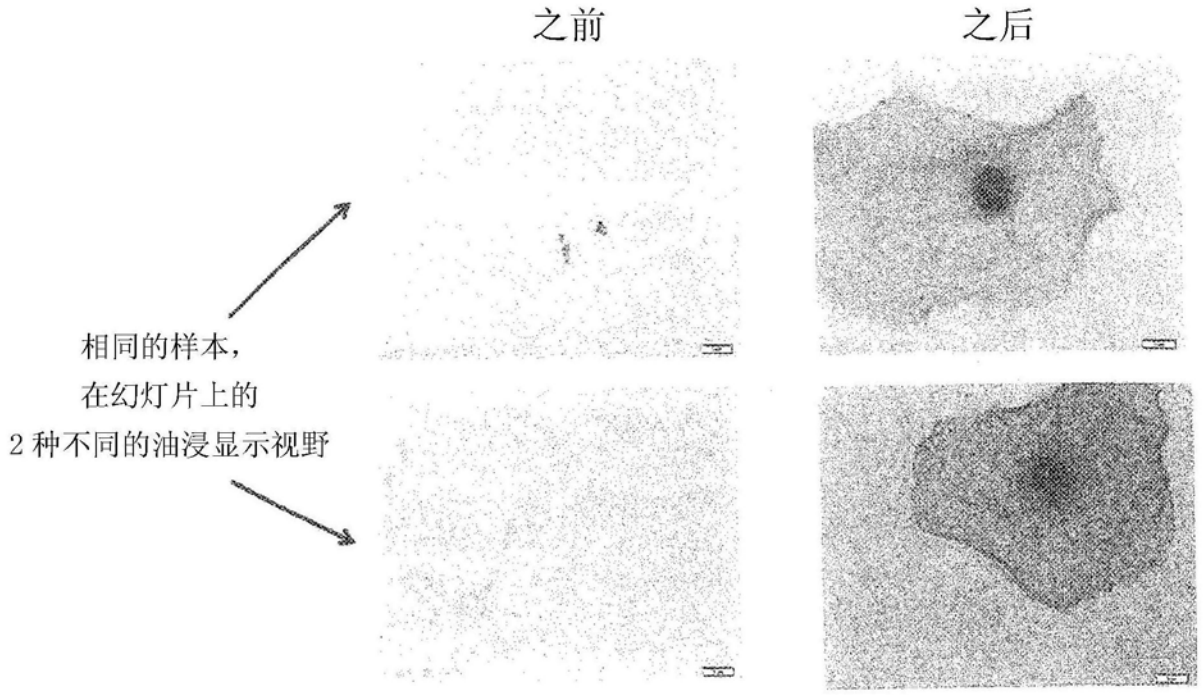

样本处理之前
样本处理之后
采用 WASP
将 1μl 临床尿液试样
接种在血琼脂培养基上
采用 WASP
将 1μl 临床尿液试样
接种在科马嘉培养基上

图34



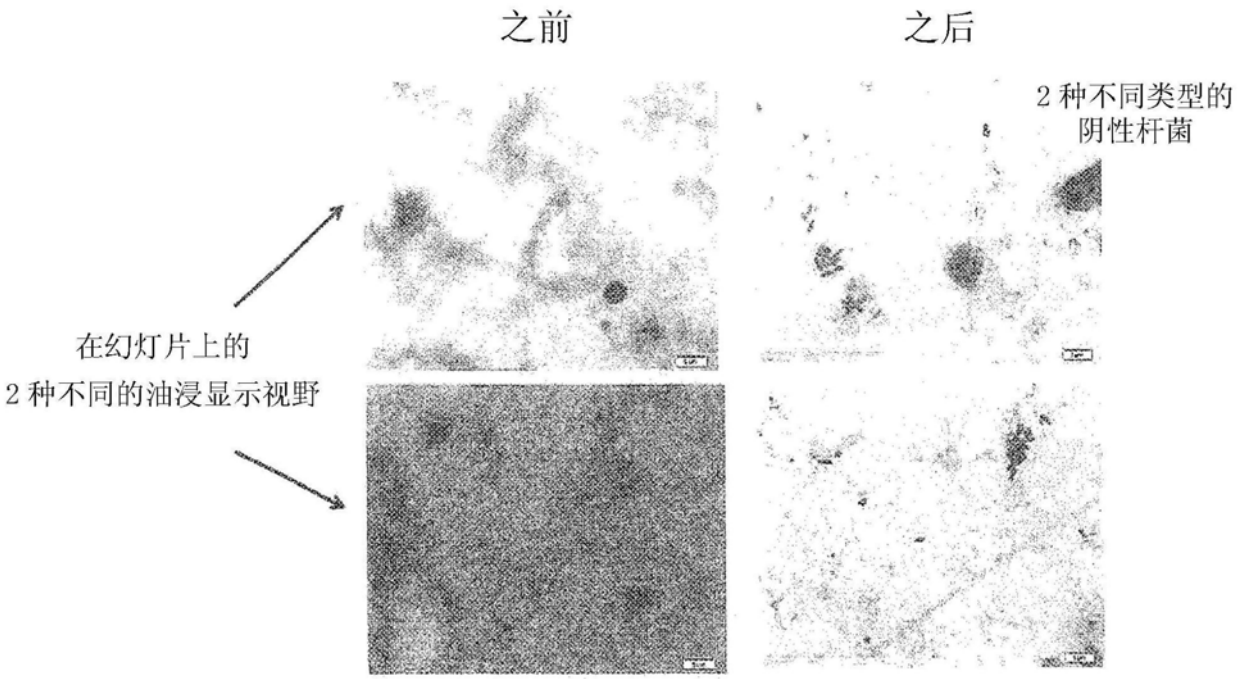
10μl临床尿液试样涂布在幻灯片上。
之前：蛋白质、细胞和废物。未探测到念珠菌属。
之后：可见念珠菌属细胞。

图35



10μl 临床尿液试样涂布在幻灯片上。
之前：蛋白质和废物。未探测到细胞。
之后：可见上皮细胞。细胞是完整的。

图36



10μl 临床尿液试样涂布在幻灯片上。
之前：蛋白质和废物。未探测到微生物。
之后：至少探测到 2 种不同类型的微生物。

图37