

**VERFAHREN ZUM UNTERSUCHEN EINER FLÜSSIGEN PROBE UND EINE DISPENSIERVORRICHTUNG**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Untersuchen einer flüssigen Probe, die eine Flüssigkeit und wenigstens eine in der Flüssigkeit befindliche Zelle und/oder wenigstens ein in der Flüssigkeit  
5 befindliches Partikel aufweist, wobei bei dem Verfahren wenigstens ein Datenelement, das eine Information zu einem Probenbereich enthält, ermittelt wird. Darüber hinaus betrifft die Erfindung eine Dispensiervorrichtung, die Mittel zum Ausführen des Verfahrens umfasst.

Außerdem betrifft die Erfindung ein Computerprogramm, einen Datenträger, auf dem das  
10 Computerprogramm gespeichert ist und ein Datenträgersignal, das das Computerprogramm überträgt.

Aus dem Stand der Technik ist bekannt, dass Wirkstoffe, wie beispielsweise monoklonale Antikörper und andere Proteine mit Hilfe sogenannter monoklonaler Zelllinien hergestellt werden.  
15 Dies sind Populationen aus Zellen, die alle von einer einzelnen Mutterzelle abstammen. Das Herstellen von monoklonalen Zelllinien ist notwendig, da nur so sichergestellt werden kann, dass alle Zellen der Population ein annähernd gleiches Genom haben, um die Wirkstoffe zu erzeugen.

Um eine monoklonale Zelllinie zu erzeugen, werden Zellen einzeln in Behältnisse einer  
20 Mikrotiterplatte überführt. Die überführten Zellen werden hergestellt, indem eine Host-Zelllinie genetisch verändert wird und diese veränderten Zellen vereinzelt werden. Das Ablegen einzelner Zellen in die Mikrotiterplatten geschieht durch beispielsweise Freistrahldruckmethoden oder Pipettieren.

Zum Ablegen der einzelnen Zellen können Dispensiervorrichtungen eingesetzt werden. Aus dem  
25 Stand der Technik sind Dispensiervorrichtungen bekannt, mittels denen Flüssigkeitstropfen in das Behältnis ausgegeben werden können. Dabei ist bekannt, dass vor einem Ausgeben des Flüssigkeitstropfens untersucht wird, ob in dem Flüssigkeitstropfen keine oder eine einzige oder mehr Zellen vorhanden sind. Abhängig von dem Untersuchungsergebnis wird der  
30 Flüssigkeitstropfen in ein Behältnis oder ein Ausschussbehältnis ausgegeben. Nach dem Dispensiervorgang können sich die in die Behältnisse ausgegebenen Zellen in dem jeweiligen Behältnis vermehren.

Nachteilig an den bekannten Dispensiervorrichtungen ist, dass die Ausgabe der  
35 Flüssigkeitstropfen in die Behältnisse erfolgt, ohne dass die Qualität der Zelle geprüft wird. Daher kann es vorkommen, dass tote Zellen in die Behältnisse eingebracht werden. Dies ist nachteilig, weil in den entsprechenden Behältnissen keine Zellkultivierung erfolgt, was aufgrund der begrenzten Anzahl an Behältnissen und der begrenzten Prozessierzeit nachteilig ist. Eine Prüfung

der Zellen vor Abgabe in das Behältnis kann manuell erfolgen, was jedoch nicht wirtschaftlich ist und daher in der Praxis unterbleibt.

5 EP 2 042 853 A1 offenbart eine Analysevorrichtung, bei der eine zwischen zwei Glasplatten befindliche biologische Probe unter Verwendung von aufgenommenen Bildern analysiert wird.

Die Aufgabe der Erfindung besteht daher darin, den Dispensiervorgang zu verbessern.

10 Die Aufgabe wird durch ein Verfahren der eingangs genannten Art gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass das Datenelement einem trainierten Algorithmus zugeführt wird, der ein von dem Datenelement abhängiges Resultat erzeugt, und dass ein Dispensiervorgang, der ein Ausgeben wenigstens eines Teils der flüssigen Probe umfasst, von dem Resultat abhängt.

15 Außerdem wird die Aufgabe durch eine Dispensiervorrichtung gelöst, die Mittel zum Ausführen des Verfahrens aufweist.

20 Insbesondere wird die Aufgabe durch eine Dispensiervorrichtung gelöst, die ein Verfahren zum Untersuchen einer flüssigen Probe, die eine Flüssigkeit und wenigstens eine in der Flüssigkeit befindliche Zelle und/oder wenigstens ein in der Flüssigkeit befindliches Partikel aufweist, ausführt, mit einer optischen Erfassungseinrichtung zum Erzeugen wenigstens eines Datenelements, das eine Information zu einem Probenbereich enthält, dadurch gekennzeichnet, dass das Datenelement einem, insbesondere in einem Klassifikator der Dispensiervorrichtung hinterlegten, trainierten Algorithmus zuführbar ist, der ein von dem Datenelement abhängiges Resultat erzeugt, und dass ein Dispensiervorgang, der ein Ausgeben  
25 wenigstens eines Teils der flüssigen Probe umfasst, von dem Resultat abhängt.

30 Das erfindungsgemäße Verfahren weist den Vorteil auf, dass der trainierte Algorithmus automatisch, also ohne ein Mitwirken eines Labormitarbeiters, eine Vorhersage trifft oder einen Schätzwert ermittelt, die bzw. der den Dispensiervorgang beeinflusst. So kann durch den trainierten Algorithmus beispielsweise basierend auf dem zugeführten Datenelement vorhergesagt werden, ob die mit der Flüssigkeit ausgegebene Zelle demnächst abstirbt, oder es kann abgeschätzt werden, ob die auszugebende Zelle eine tote Zelle ist. Diese Kenntnis ist von Vorteil, weil dadurch auf einfache Weise verhindert werden kann, dass tote Zellen bzw. Zellen, bei denen die Sterbewahrscheinlichkeit hoch ist, in Behältnisse abgegeben werden. Vielmehr  
35 kann sichergestellt werden, dass derartige Zellen in ein Ausschussbehältnis ausgegeben werden. Im Ergebnis erhöht sich aufgrund des trainierten Algorithmus die Effizienz des Laborbetriebs. Dies ist möglich, weil die Zellqualität und/oder Partikelqualität beim Dispensiervorgang berücksichtigt wird.

Die mittels der Dispensiervorrichtung ausgegebene flüssige Probe kann ein, insbesondere frei fliegender, Tropfen sein. Alternativ kann die ausgegebene flüssige Probe ein Flüssigkeitsstrahl sein, der nach Ausgeben aus einem Dispenser der Dispensiervorrichtung in einzelne Flüssigkeitstropfen zerfällt. Die Dispensiervorrichtung kann ein Tropfengenerator sein. Der flüssige Tropfen kann ein Volumen in einem Bereich zwischen 1 pl (Pikoliter) bis 50 nl (Nanoliter) aufweisen.

Die ausgegebene flüssige Probe kann keine Zelle und/oder kein Partikel aufweisen. Alternativ kann die ausgegebene flüssige Probe eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel aufweisen. Die ausgegebene flüssige Probe kann alternativ mehr als eine einzige Zelle und/oder mehr als ein einziges Partikel aufweisen.

Die Flüssigkeit der flüssigen Probe kann eine Zusammensetzung aufweisen, die für ein Zellwachstum förderlich ist. Das Partikel kann ein Glas- oder Polymerkügelchen sein und im Wesentlichen das gleiche Volumen wie die Zelle aufweisen. Die Zelle ist eine biologische Zelle, insbesondere ist die Zelle die kleinste Einheit des Lebens, die autonom zur Reproduktion und Selbsterhaltung fähig ist.

Ein trainierter Algorithmus ist ein Algorithmus, der Daten, wie beispielsweise die zugeführten Datenelemente, anhand eines erlernten Wissens beurteilen kann. Um die Daten beurteilen zu können, muss der Algorithmus vorab einem nachstehend detailliert beschriebenen Training unterzogen werden. In dem Training lernt der Algorithmus anhand von Beispielen und kann diese nach Beendigung der Lernphase verallgemeinern. Dies bedeutet, dass der Algorithmus die Beispiele nicht auswendig lernt, sondern Muster und/oder Gesetzmäßigkeiten in den Trainingsdaten erkennt. Dies ermöglicht es dem Algorithmus auch unbekannte Daten, wie beispielsweise das Datenelement, zu beurteilen.

Bei einer besonderen Ausführung kann geprüft werden, ob in dem Probenbereich eine vorgegebene Anzahl an Zellen und/oder Partikeln angeordnet ist. Insbesondere kann mittels einer Auswerteeinrichtung der Dispensiervorrichtung ermittelt werden, ob in dem Probenbereich eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel angeordnet ist. Darüber hinaus kann mittels der Auswerteeinrichtung ermittelt werden, ob in dem Probenbereich keine Zelle und/oder kein Partikel angeordnet ist. Alternativ oder zusätzlich kann mittels der Auswerteeinrichtung ermittelt werden, ob in dem Probenbereich mehr als eine Zelle und/oder ein Partikel angeordnet ist.

Alternativ oder zusätzlich kann die Anzahl der in dem Probenbereich angeordneten Zellen und/oder Partikel durch den trainierten Algorithmus ermittelt werden. Zusätzlich kann durch den

Algorithmus geprüft werden, ob in dem Probenbereich die vorgegebene Anzahl an Zellen und/oder Partikel angeordnet ist.

- Alternativ kann die Anzahl der in dem Probenbereich angeordneten Zellen und/oder Partikel durch einen anderen trainierten Algorithmus ermittelt werden. Darüber hinaus kann durch den anderen trainierten Algorithmus geprüft werden, ob in dem Probenbereich die vorgegebene Anzahl an Zellen und/oder Partikel enthalten ist. Das Resultat der Ermittlung und/oder Prüfung durch den anderen trainierten Algorithmus kann dem trainierten Algorithmus übermittelt werden.
- 10 Durch die Prüfung, ob sich in dem Probenbereich wenigstens eine Zelle und/oder wenigstens ein Partikel befindet, ist bekannt, ob in der im nächsten Schritt auszugebende flüssige Probe oder in der in den nächsten Schritten auszugebenden Flüssigkeiten eine bestimmte Anzahl an Zellen und/oder Partikeln angeordnet ist. Insbesondere ist bekannt, ob in dem auszugebenden Tropfen oder in den auszugebenden Tropfen keine oder eine einzige oder mehrere Zellen und/oder kein
- 15 oder ein einziges oder mehrere Partikel angeordnet ist.

- Die Kenntnis der Anzahl der in dem Probenbereich befindlichen Zellen und/oder Partikel weist außerdem den Vorteil auf, dass anhand dieser Information entschieden wird, ob das Datenelement dem trainierten Algorithmus zugeführt wird. Insbesondere wird das Datenelement dem trainierten Algorithmus zugeführt, wenn sich in dem Probenbereich eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel befindet. Dies erfolgt, weil für die weitere Untersuchung es von Vorteil ist, wenn in dem Behältnis nur eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel enthalten ist. Daher kann dem Behältnis ausschließlich eine flüssige Probe, in der nur eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel angeordnet ist, zugeführt werden. Das Behältnis kann Bestandteil einer Mikrotiterplatte sein.
- 20
- 25

- Alternativ kann die Anzahl der in dem Probenbereich angeordneten Zellen und/oder Partikel durch einen nicht trainierbaren Algorithmus ermittelt werden. Dies bietet den Vorteil, dass für den Algorithmus zur Bestimmung der Anzahl an Zellen und/oder Partikeln keine aufwändige Trainingsphase notwendig ist.
- 30

- Das Datenelement kann dem trainierten Algorithmus nicht zugeführt werden oder der trainierte Algorithmus wird die weitere Verarbeitung des Datenelements zum Bestimmen des Resultats beenden, wenn in dem Probenbereich keine Zelle und/oder kein Partikel enthalten ist oder wenn in dem Probenbereich nicht die vorgegebene Anzahl an Zellen und/oder Partikeln enthalten ist. Dies bietet den Vorteil, dass der Rechenaufwand reduziert wird, weil der trainierte Algorithmus nur dann eingesetzt wird und/oder das Datenelement nur dann weiter verarbeitet wird, wenn in dem Probenbereich eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel in der
- 35

Flüssigkeit enthalten ist. Die flüssige Probe kann in diesem Fall in das Ausschussbehältnis ausgegeben werden.

- Das Datenelement kann eine einzige oder mehrere Informationen zu dem Probenbereich  
5 enthalten. Insbesondere kann das Datenelement ein Messsignal oder ein optisches Signal oder ein Bildsignal sein. Dabei kann das Datenelement wenigstens eine Information zu einer Zelleigenschaft der in der Flüssigkeit des Probenbereichs angeordneten Zelle und/oder eine Partikeleigenschaft des in der Flüssigkeit des Probenbereichs angeordneten Partikels enthalten.
- 10 Bei einer weiteren Ausführung kann eine Abbildung aus dem Bildsignal erzeugt werden. Dabei kann die Dispensiervorrichtung eine optische Erfassungseinrichtung, wie beispielsweise eine Kamera, aufweisen, die zum Erzeugen einer Abbildung des Probenbereichs dient. Bei einer, insbesondere zeitlich versetzten, Ermittlung von mehreren Datenelementen, insbesondere  
15 mehreren Bildsignalen, können mehrere Abbildungen erzeugt werden. Insbesondere kann die Abbildung einen den Probenbereich aufnehmenden Dispenser der Dispensiervorrichtung oder einen den Probenbereich aufnehmenden Teil des Dispensers zeigen. Insbesondere kann die Abbildung einen Ausgabekanal oder einen Teil des Ausgabekanals des Dispensers zeigen. Das Datenelement, insbesondere das Bildsignal, enthält alle notwendigen Informationen, die zum Erzeugen der Abbildung notwendig sind.  
20
- Der Dispenser kann zum Ausgeben der flüssigen Probe dienen. Insbesondere kann der Probenbereich durch den Dispenser ausgegeben werden oder ausgebbar sein.
- Die Abbildung kann eine Hellfeld- oder Fluoreszenz- oder Dunkelfeld- oder  
25 Phasenkontrastabbildung sein. Es ist möglich, dass mehrere Abbildungen die gleiche Zelle zeigen, jedoch aus verschiedenen Winkeln und/oder zu unterschiedlichen Zeitpunkten.
- Dem trainierten Algorithmus kann nur ein Teil des Datenelements zugeführt werden. Dabei kann ein Abbildungsabschnitt ermittelt werden, der die Zelle und/oder das Partikel aufweist. Dem  
30 trainierten Algorithmus kann nur der den Abbildungsabschnitt umfassende Teil des Bildsignals zugeführt werden. Dies bietet den Vorteil, dass der trainierte Algorithmus nicht das gesamte Bildsignal untersuchen muss, sondern nur den den Abbildungsabschnitt enthaltenen Teil des Bildsignals. Dadurch verringert sich der Rechenaufwand. Alternativ oder zusätzlich kann dem trainierten Algorithmus das Datenelement nur dann zugeführt werden, wenn in dem  
35 Probenbereich die vorgegebene Anzahl an Zellen und/oder Partikeln enthalten ist. Dabei kann das Datenelement dem trainierten Algorithmus zugeführt werden, wenn in dem Probenbereich eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel enthalten ist.

Die Position der Zelle und/oder des Partikels in dem Probenbereich und/oder der Abbildung kann ermittelt werden. Dies kann durch einen weiteren Algorithmus erfolgen. Dabei kann die Position der Zelle und/oder des Partikels durch Auswerten der erzeugten Abbildung auf einfache Weise ermittelt werden. Nachdem die Position der Zelle und/oder des Partikels in der Abbildung bekannt ist, kann der zuvor beschriebene Abbildungsabschnitt erzeugt werden. Der Abbildungsabschnitt kann die Zelle und/oder das Partikel vollständig enthalten. Dabei kann der Abbildungsabschnitt eine vorgegebene Größe aufweisen.

Bei einer besonderen Ausführung kann der Dispensiervorgang zusätzlich ein Bestimmen eines Ablageorts der auszugebenden flüssigen Probe, insbesondere des Tropfens, umfassen. Somit kann auf einfache Weise sichergestellt werden, dass beispielsweise tote Zellen in das Ausschussbehältnis ausgegeben werden, während hingegen lebende Zellen in unterschiedliche Behältnisse ausgegeben werden. Nachdem der Ablageort bestimmt wurde, kann die flüssige Probe in das Behältnis oder Ausschussbehältnis dispensiert werden.

Die Probenausgabe kann nach einer Drop-on-Demand Betriebsweise ausgeführt werden. Bei dieser erfolgt durch die Dispensiervorrichtung eine diskrete und keine kontinuierliche Probenausgabe. Zum Realisieren der Drop-on-Demand Betriebsweise kann die Dispensiervorrichtung ein Betätigungsmittel aufweisen, das beispielsweise ein piezoelektrisch betriebener Aktor sein kann. Der Dispenser kann einen Abschnitt, insbesondere eine mechanische Membran, aufweisen, die durch das Betätigungsmittel betätigbar ist. Bei einer Betätigung des Betätigungsmittels wird die flüssige Probe, insbesondere ein Tropfen, aus dem Dispenser ausgestoßen.

Der trainierte Algorithmus kann Bestandteil eines künstlichen neuronalen Netzes sein und/oder ein künstliches neuronales Netz kann Bestandteil des trainierten Algorithmus sein. Dadurch kann auf besonders einfache Weise bestimmt werden, ob die Zelle und/oder das Partikel in das Ausschussbehältnis oder das Behältnis abgegeben werden soll. Als ein künstlich neuronales Netz wird eine Ansammlung von einzelnen Informationsverarbeitungseinheiten verstanden, die als Neuronen bezeichnet werden und die schichtweise in einer Netzarchitektur angeordnet sind.

Bei einer besonderen Ausführung kann der Algorithmus ein faltendes neuronales Netzwerk zur Klassifikation von Abbildungen sein, welche aus dem Datenelement wie oben beschrieben wurde, erzeugt werden können. Das neuronale Netzwerk wird auch als convolutional neural network bezeichnet. Das faltende neuronale Netzwerk besteht aus mindestens einer Faltungsschicht, mindestens einer versteckten Schicht, und mindestens einer voll vernetzten Schicht.

Alternativ zu dem neuronalen Netzwerk kann auch ein anderer trainierbarer Algorithmus bereitgestellt werden. So kann der Algorithmus eine Support Vector Machine (z.B. eine 2-Norm-SVM), eine lineare Regression, ein Boosting-Netz, ein probabilistischer Boosting-Baum, eine lineare Diskriminanzanalyse, eine Relevance Vector Machine, ein Random Forest Verfahren, ein  
5 Nearest Neighbor-Verfahren, oder eine Kombination davon aufweisen.

Das Resultat des trainierten Algorithmus kann von einer Klassifizierung des Datenelements in eine von wenigstens zwei Klassen abhängen. Die Klassen können von einer Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft abhängen. Durch Klassifizieren des Datenelements in eine Klasse wird eine  
10 Vorhersage zu der Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft getätigt oder ein Schätzwert für eine Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft ermittelt. Der Schätzwert kann beispielsweise ein Wahrscheinlichkeitswert, ob die Zelle tot ist, oder eine Abschätzung eines Durchmessers der Zelle und/oder Partikels sein. Dementsprechend kann das Resultat eine Vorhersage der Zelleigenschaft und/oder der Partikeleigenschaft sein oder der Schätzwert für die Zelleigenschaft  
15 und/oder Partikeleigenschaft sein.

Die Zelleigenschaft kann der Zelltyp, die Produktivität der Zelle, ein Genotyp oder Phänotyp, ein Status eines Zellzyklus und/oder ein Zustand der Zelle sein. Die Klassen konkretisieren die jeweilige Zelleigenschaft. So kann bei dem Fall, bei dem die Zelleigenschaft der Zellzustand ist, eine Klasse  
20 „lebende Zellen“ und eine andere Klasse „tote Zellen“ betreffen. Alternativ oder zusätzlich sind Klassen denkbar, die davon abhängen, ob die Zelle angefärbt oder nicht angefärbt ist oder ob die Zelle intakt oder nicht intakt ist. Außerdem sind Klassen denkbar, die davon abhängen, ob eine hohe oder niedrige Genexpression oder Proteinproduktion, insbesondere bestimmter Proteine, möglich oder vorhanden ist oder ob die Zellen schnell oder langsam wachsen oder  
25 sich teilen. Darüber hinaus sind Klassen denkbar, bei denen eine Klassifizierung danach erfolgt, ob eine hohe oder niedrige Wahrscheinlichkeit besteht, dass in einer nachfolgenden Molekularanalyse qualitativ hochwertige Resultate erzielt werden. Eine solche Molekularanalyse kann beispielsweise das Sequenzieren des gesamten Genoms oder Teile des Genoms und/oder das gesamte Transkriptom oder Teile des Transkriptoms der einzelnen dispensierten Zellen sein.

Der trainierte Algorithmus kann durch Anwenden des erlernten Wissens an die erzeugte Abbildung eine Vorhersage zur Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft treffen und/oder die Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft abschätzen. So kann durch Verwenden des trainierten Algorithmus beispielsweise abgeschätzt werden, ob die in der Abbildung gezeigte  
35 Zelle tot oder lebendig ist. Dadurch kann der Algorithmus genutzt werden, um die Anzahl der lebenden Zellen, welche nach der Vereinzelung zu einer Kolonie wachsen, zu maximieren.

Die Klassifizierung des Datenelements in eine Klasse kann durch einen Klassifikator erfolgen. Der Klassifikator kann Bestandteil des künstlich neuronalen Netzes sein und/oder ein künstliches neuronales Netz ist Bestandteil des Klassifikators.

- 5 Bei einer besonderen Ausführung kann der Algorithmus in einem Trainingsvorgang trainiert werden, bevor das Datenelement dem Algorithmus zugeführt wird. Dabei kann der Algorithmus mittels eines maschinellen Lernens trainiert werden. Der Trainingsvorgang dient dazu, dass Wissen angeeignet wird, das eine Beurteilung der zugeführten Datenelemente ermöglicht. Beim maschinellen Lernen wird Wissen aus Erfahrung künstlich generiert. Dies erfolgt, wie nachfolgend  
10 beschrieben wird, indem dem Algorithmus eine Vielzahl von Trainingsdaten zugeführt wird.

- Den einzelnen Trainingsdatenelementen kann vor einem Zuführen zum Algorithmus jeweils wenigstens eine Klasse zugewiesen werden. Das Zuweisen der einzelnen Trainingsdatenelemente zu den jeweiligen Klassen kann auf Messdaten beruhen. Die Messdaten können auf aus der  
15 Dispensiervorrichtung ausgegebenen flüssigen Proben basieren, die eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel aufweisen.

- Beim Trainingsvorgang können zuerst eine Vielzahl von ersten Trainingsdatenelementen und eine Vielzahl von zweiten Trainingsdatenelementen ermittelt werden. Die ersten  
20 Trainingsdatenelemente können jeweils wenigstens eine Information zu dem Probenbereich enthalten. Die zweiten Trainingsdatenelemente können jeweils wenigstens eine Information zur Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft enthalten. Dabei kann jeweils einem ersten Trainingsdatenelement wenigstens ein zweites Trainingsdatenelement zugeordnet werden.

- 25 Die ersten Trainingsdatenelemente können ermittelt werden, wenn sich der Probenbereich und/oder die flüssige Probe in dem Dispenser befindet. Alternativ können die ersten Trainingsdatenelemente ermittelt werden, wenn der Dispenser den Probenbereich und/oder die flüssige Probe ausgegeben hat und sich der Probenbereich und/oder die flüssige Probe im Behältnis befindet.

- 30 Die zweiten Trainingsdatenelemente können zeitlich nach dem Ermitteln der ersten Trainingsdatenelemente ermittelt werden. Vorzugsweise werden die zweiten Trainingsdatenelemente ermittelt, nachdem die flüssige Probe und/oder der Probenbereich in das Behältnis ausgegeben wurde. Die Ermittlung der zweiten Trainingsdatenelemente, insbesondere das Messen der Zelleigenschaft und/oder der Partikeleigenschaft, kann nach einer  
35 vorgegebenen Zeitdauer, insbesondere mehreren Tagen, nach Ausgabe der flüssigen Proben in die Behältnisse durchgeführt werden. Nach dem Ermitteln der zweiten Trainingsdatenelemente kann jedem ersten Trainingsdatenelement wenigstens ein zweites Trainingsdatenelement

zugeordnet werden. Die Zuordnung kann automatisiert, beispielsweise über ein Computerprogramm, oder durch den Labormitarbeiter erfolgen.

Aus den ersten Trainingsdatenelementen kann eine Vielzahl von Abbildungen generiert werden.  
5 Jeder der Abbildungen kann wenigstens eine Zelleigenschaft, wie beispielsweise der Zellzustand, der Zelltyp, etc., zugewiesen werden.

Beim Trainingsvorgang können außerdem wenigstens zwei Klassen gebildet werden. Die Klassen können von den zweiten Trainingsdatenelementen abhängen. Insbesondere können die Klassen  
10 von den Zelleigenschaften und/oder Partikeleigenschaften abhängen. So ist es denkbar, dass unterschiedliche Klassen für unterschiedliche Zelltypen gebildet werden und/oder dass unterschiedliche Klassen abhängig vom Zellzustand gebildet werden. Das Bilden der Klassen kann manuell erfolgen. Alternativ können die Klassen auch automatisch gebildet werden. Nach dem Bilden der Klassen können die einzelnen zweiten Trainingsdatenelemente jeweils einer  
15 Klasse zugewiesen sein.

Die ersten Trainingsdatenelemente, die zweiten Trainingsdatenelemente und deren Zuordnung zu den ersten Trainingsdatenelementen und die gebildeten Klassen werden zum Trainieren des Algorithmus dem Algorithmus zugeführt. Ziel des Trainings ist es, dass der Algorithmus bestehende  
20 Muster und/oder Gesetzmäßigkeiten zwischen den ersten Trainingsdatenelementen und den zweiten Trainingsdatenelementen erkennt, und es ihm somit möglich ist, zukünftige zugeführte Datenelemente zu klassifizieren. Somit kann im Laborbetrieb anhand der Klassifikation des Datenelements in die entsprechende Klasse die Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft auf einfache Weise vorhergesagt oder abgeschätzt werden.

Der trainierte Algorithmus kann erneut trainiert werden. Zum einen ist dies sinnvoll, wenn ein Zelltyp verwendet wird, welcher abweichende Eigenschaften, wie beispielsweise eine abweichende Morphologie aufweist, als die Zelltypen mit welchen der Algorithmus bisher  
25 trainiert wurde. Zum anderen ist dies sinnvoll, wenn bei einem ersten Trainingsvorgang beispielsweise nur vom Zellzustand abhängige Klassen gebildet wurden und eine Klassifikation nach einer weiteren Zelleigenschaft gewünscht ist. Damit eine Klassifikation nach der zweiten Zelleigenschaft möglich ist, muss ein zweiter Trainingsvorgang durchgeführt werden, bei dem  
30 beispielsweise von Zelltypen abhängige Klassen gebildet werden. Nach Durchführen der beiden Trainingsvorgänge ist der Algorithmus in der Lage, Datenelemente nach Zelltypen und nach Zellen mit unterschiedlichem Zellwachstum zu klassifizieren.  
35

Die Dispensiervorrichtung kann eine Vorrichtung aufweisen, mittels der der Dispenser und/oder das Behältnis zum Aufnehmen der flüssigen Probe und/oder das Ausschussbehältnis

zum Aufnehmen der flüssigen Probe verfahrbar ist, wobei ein Verfahrensvorgang von dem Resultat, insbesondere von der Klassifizierung des Datenelements, abhängig ist. So wird die Verfahreinrichtung beispielsweise den Dispenser derart verfahren, dass die flüssige Probe in das Ausschussbehältnis ausgegeben wird, wenn das Datenelement in eine Klasse klassifiziert wurde,  
5 in der beispielsweise tote Zellen klassifiziert sind.

Darüber hinaus kann mittels der Verfahreinrichtung der Dispenser und/oder das Behältnis und/oder das Ausschussbehältnis derart verfahren werden, dass die flüssige Probe in das Ausschussbehältnis ausgegeben wird, wenn in der ausgegebenen flüssigen Probe keine Zelle  
10 und/oder keine vorgegebene Anzahl an Zellen und/oder Partikel enthalten ist. Dagegen kann die ausgegebene Flüssigkeit in das Behältnis ausgegeben werden, wenn in der Flüssigkeit eine einzige Zelle und/oder ein einziges Partikel angeordnet ist.

Die Dispensiervorrichtung kann eine Ablenk- und/oder Absaugeinrichtung aufweisen. Die Ablenkeinrichtung dient zum Ablenken der ausgegebenen flüssigen Probe, insbesondere des ausgegebenen Tropfens. Die Absaugeinrichtung dient zum Absaugen der ausgegebenen flüssigen Probe, insbesondere des ausgegebenen Tropfens. Die ausgegebene flüssige Probe kann in das Ausschussbehältnis abgelenkt und/oder abgesaugt werden. Alternativ kann die ausgegebene flüssige Probe in das Behältnis, insbesondere das Behältnis der Mikrotiterplatte,  
15 abgegeben werden.  
20

Das Ablenken und/oder Absaugen kann erfolgen, bevor die ausgegebene flüssige Probe in das Behältnis, insbesondere das Behältnis der Mikrotiterplatte, eintritt. Dabei kann die ausgegebene flüssige Probe abgelenkt und/oder abgesaugt werden, wenn in der ausgegebenen Flüssigkeit  
25 keine Zellen und/oder keine Partikel angeordnet sind. Alternativ kann die ausgegebene Flüssigkeit abgelenkt und/oder abgesaugt werden, wenn die Anzahl der in der Flüssigkeit angeordneten Zellen und/oder Partikel größer ist als ein vorgegebener Wert, insbesondere größer als 1, ist.

Darüber hinaus kann das Ablenken und/oder Absaugen von dem Resultat des trainierten Algorithmus abhängen. Insbesondere kann das Ablenken und/oder Absaugen davon abhängen, in welche Klasse das Datenelement klassifiziert wurde. Sofern das Datenelement in eine Klasse klassifiziert ist, in der beispielsweise tote Zellen klassifiziert sind, wird die Ablenk- und Absaugvorrichtung aktiviert, sodass die ausgegebene flüssige Probe abgelenkt und/oder  
30 abgesaugt wird.  
35

Von besonderem Vorteil ist ein Computerprogramm, das Befehle umfasst, die bei der Ausführung des Programms durch einen Computer diesen veranlassen, das erfindungsgemäße

Verfahren durchzuführen. Außerdem ist ein Datenträger vorteilhaft, auf dem das erfindungsgemäße Computerprogramm gespeichert ist. Darüber hinaus ist ein Datenträgersignal von Vorteil, das ein erfindungsgemäßes Computerprogramm überträgt.

- 5 In den Figuren ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt, wobei gleiche oder gleichwirkende Elemente zumeist mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigt:

Figur 1 eine erfindungsgemäße Dispensiervorrichtung,

- 10 Figur 2 eine vergrößerte Darstellung eines Teils eines Dispensers der erfindungsgemäßen Dispensiervorrichtung,

Figur 3 einen Ablauf bei einem Trainingsvorgang zum Trainieren eines Algorithmus,

- 15 Figur 4 einen Verfahrensablauf zum Untersuchen der flüssigen Probe mittels des trainierten Algorithmus.

Figur 1 zeigt eine erfindungsgemäße Dispensiervorrichtung 6, die einen Dispenser 7 zum Ausgeben einer flüssigen Probe 20 aufweist. Die flüssige Probe 20 weist eine Flüssigkeit 1 und  
20 wenigstens eine in der Flüssigkeit 1 angeordnete Zelle 3 und/oder wenigstens ein in der Flüssigkeit 1 angeordnetes Partikel auf. Darüber hinaus weist die Dispensiervorrichtung 6 eine optische Erfassungseinrichtung 8 zum optischen Erfassen wenigstens eines Teils eines Ausgabekanals 16 des Dispensers 7 auf. Der Dispenser 7 kann eine Fluidkammer 15 aufweisen, in der die flüssige Probe 20 angeordnet ist und/oder eingegeben wird. Die Fluidkammer 15 ist mit dem  
25 Ausgabekanal 16 fluidisch verbunden.

Die optische Erfassungseinrichtung 8 weist eine nicht dargestellte Abbildungseinrichtung, wie eine Kamera, zum Erzeugen einer Abbildung von dem wenigstens einen Teil des Ausgabekanals 16 und weitere nicht dargestellte optische Elemente zum Führen von Licht auf. Zum Erzeugen  
30 einer Abbildung wird der wenigstens eine Teil des Ausgabekanals 16 mittels eines Beleuchtungslichts 17 beleuchtet und ein daraufhin von dem wenigstens einen Teil des Ausgabekanals 16 ausgehendes Detektionslicht 18 von der optischen Erfassungseinrichtung 8 detektiert. Die Abbildungseinrichtung erzeugt basierend auf dem detektierten Detektionslicht 18 eine Abbildung des wenigstens einen Teils des Ausgabekanals 16.

35

Die optische Erfassungseinrichtung 8 ist mit einer Auswerteeinrichtung 9 eines Computers 12 elektrisch verbunden. Die Auswerteeinrichtung 9 kann basierend auf der erzeugten Abbildung die Anzahl der in dem wenigstens einen Teil des Ausgabekanals 16 enthaltenen Zellen 3

und/oder Partikel bestimmen.

Der Computer 12 weist einen Klassifikator 13 auf, der mit der Auswerteeinrichtung 9 elektrisch verbunden ist. Der Klassifikator 13 ist Bestandteil eines künstlich neuronalen Netzes und/oder  
5 weist ein künstlich neuronales Netz auf. In dem Klassifikator 13 ist ein trainierter Algorithmus hinterlegt, der nach Zuführen der von der optischen Erfassungseinrichtung 8 erzeugten Abbildung ein Resultat erzeugt.

Darüber hinaus weist der Computer 12 eine Steuervorrichtung 14 auf. Die Steuervorrichtung 14  
10 steuert basierend auf dem Resultat des Klassifikators 13 einen Dispensiervorgang des Dispensers 7. Dabei ist die Steuervorrichtung 14 mit einer Verfahrenseinrichtung 10 elektrisch verbunden. Die Verfahrenseinrichtung 10 kann den Dispenser 7 und/oder ein Behältnis 4 und/oder ein Ausschussbehältnis 5 derart verfahren, dass die flüssige Probe 20 in den gewünschten Ablageort abgegeben werden kann.

15 Darüber hinaus kann die Steuervorrichtung 14 eine Ablenk- und/oder Absaugeinrichtung 11 der Dispensiervorrichtung 6 steuern. Dabei kann die Steuervorrichtung 14 die Ablenk- und/oder Absaugeinrichtung 11 derart steuern, dass die ausgegebene flüssige Probe 20 abgelenkt und/oder abgesaugt wird, wenn in der Flüssigkeit 1 keine Zelle 3 und/oder kein Partikel  
20 angeordnet ist oder wenn in der Flüssigkeit 1 mehrere Zellen 3 und/oder mehrere Partikel angeordnet sind.

Dabei kann die Steuervorrichtung 14 abhängig von dem Resultat des Klassifikators 13 die  
25 Verfahrenseinrichtung 10 und/oder die Ablenk- und/oder Absaugeinrichtung 11 steuern.

In Figur 1 ist ein Zustand gezeigt, bei dem der Dispenser 7 die flüssige Probe 20, insbesondere einen Tropfen, ausgegeben hat, der eine tote Zelle 3 aufweist. Die ausgegebene flüssige Probe 20 wird in das Ausschussbehältnis 5 ausgegeben.

30 Die Dispensiervorrichtung 6 weist ein Betätigungsmittel 19 auf, das zum Betätigen des Dispensers 7 gegen einen Abschnitt des Dispensers 7 gedrückt wird. Dabei wird die flüssige Probe 20, insbesondere ein Tropfen, ausgegeben, wenn das Betätigungsmittel 19 gegen den Abschnitt des Dispensers 7 drückt. Das Betätigungsmittel 19 und die optische Erfassungseinrichtung 8 liegen sich bezüglich des Dispensers 7 gegenüber. Der Dispenser 7 besteht zumindest teilweise aus  
35 einem transparenten Material, sodass mittels der optischen Erfassungseinrichtung 8 wenigstens ein Teil des Ausgabekanals 16 erfasst werden kann.

Figur 2 zeigt eine vergrößerte Darstellung eines Teils des Dispensers 7. Insbesondere zeigt Figur 2

eine vergrößerte Darstellung des in Figur 1 gestrichelt dargestellten Bereichs A des Ausgabekanals 16.

Der Ausgabekanal 16 ist vollständig mit Flüssigkeit 1 der flüssigen Probe 20 befüllt. Dabei wird  
5 mittels der optischen Erfassungseinrichtung 8 nur der in Figur 2 gestrichelt dargestellte Teil des Ausgabekanals 16 betrachtet. In dem gestrichelt dargestellten Teil des Ausgabekanals 16 des Dispensers 7 ist der Probenbereich 2 der flüssigen Probe 20 angeordnet. Bei einem Dispenservorgang wird die flüssige Probe 20 entlang einer Ausbringrichtung R ausgegeben. Der Ausgabekanal 16 weist an seinem von der der Fluidkammer 15 entfernten Ende ein  
10 düsenförmiges Ende auf.

Die in dem Teil des Ausgabekanals 16 angeordnete Zellen 3 bewegt sich aufgrund der Gewichtskraft in Richtung zum von der Fluidkammer 15 abgewandten düsenförmigen Ende, auch wenn keine flüssige Probe 20 aus dem Dispenser 7 ausgegeben wird.  
15

Figur 3 zeigt einen Ablauf bei einem Trainingsvorgang zum Trainieren eines Algorithmus. Der Algorithmus ist im Klassifikator 13 hinterlegt. In einem ersten Trainingsschritt T1 wird ein erstes Trainingsdatenelement ermittelt. Das erste Trainingsdatenelement enthält eine Information zum Probenbereich 2. Die Ermittlung des ersten Trainingsdatenelements erfolgt durch die optische  
20 Erfassungseinrichtung 8, wobei in der optischen Erfassungseinrichtung 8 eine Abbildung aus dem ersten Trainingsdatenelement erzeugt wird. Dabei zeigt die Abbildung zumindest den Teil des Ausgabekanals 16, der den Probenbereich 2 aufnimmt.

Nach dem Ermitteln des ersten Trainingsdatenelements wird die flüssige Probe 20 mittels des  
25 Dispensers 7 in das Behältnis 4 der Mikrotiterplatte ausgegeben, wenn die auszugebende flüssige Probe 20 eine einzige Zelle 3 und/oder ein einziges Partikel aufweist. Anschließend wird erneut ein weiteres erstes Trainingsdatenelement ermittelt, eine weitere Abbildung erzeugt und die flüssige Probe 20 in ein weiteres Behältnis der Mikrotiterplatte ausgegeben. Dieser Vorgang wird mehrmals wiederholt. Am Ende des ersten Trainingsschritts T1 ist in jedem Behältnis 4 der  
30 Mikrotiterplatte eine Flüssigkeit 1 mit einer einzigen Zelle 3 und/oder einem einzigen Partikel angeordnet, wobei bekannt ist, in welchem Behältnis 4 welche Zelle 3 angeordnet ist.

Nach dem Ermitteln der ersten Trainingsdatenelemente werden in einem zweiten Trainingsschritt T2 zweite Trainingsdatenelemente ermittelt. Dazu wird wenigstens eine Zelleigenschaft und/oder  
35 Partikeleigenschaft der in dem Behältnis 4 befindlichen Zelle 3 gemessen. Insbesondere kann gemessen werden, wie schnell die Zellen 3 in den einzelnen Behältnissen 4 wachsen und somit ein Rückschluss auf den Zellzustand gezogen werden und/oder es kann ermittelt werden, welche Zelltypen in den Behältnissen 4 enthalten sind. Dies wird für alle Behältnisse wiederholt, in

denen eine flüssige Probe 20 und somit eine Zelle 3 enthalten ist. Das Ermitteln der zweiten Trainingsdatenelemente kann einige Tage nach der Ausgabe der flüssigen Proben 20 in die Behältnisse 4 erfolgen. Zum Messen der Zelleigenschaft und/oder der Partikeleigenschaft kann ein Mikroskop und/oder ein automatisierter Plattenleser eingesetzt werden.

5

In einem dritten Trainingsschritt T3 werden wenigstens zwei Klassen gebildet. Die Klassen hängen von den zweiten Trainingsdatenelementen, insbesondere von der Zelleigenschaft und/oder der Partikeleigenschaft, ab. Die Zelleigenschaft kann beispielsweise ein Zelltyp sein, sodass sich die einzelnen Klassen in den Zelltypen voneinander unterscheiden. Alternativ kann die Zelleigenschaft der Zellzustand sein, sodass sich die Klassen voneinander darin unterscheiden, ob die Zellen tot oder lebendig sind. Dabei sind nach dem Bilden der Klassen die zweiten Trainingsdatenelemente jeweils wenigstens einer Klasse zugewiesen. Der dritte Trainingsschritt T3 kann alternativ vor dem ersten und/oder zweiten Trainingsschritt T1, T2 durchgeführt werden.

15 In einem vierten Trainingsschritt T4 wird jedem ersten Trainingsdatenelement wenigstens ein zweites Trainingsdatenelement zugeordnet. Insbesondere wird jeder Abbildung des Probenbereichs 2 wenigstens eine Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft zugeordnet. Somit erfolgt in dem vierten Trainingsschritt T4 eine Verknüpfung des ersten Trainingsdatenelements mit dem zweiten Trainingsdatenelement. Diese Verknüpfung ist vorteilhaft, weil der Algorithmus somit erkennen kann welcher Zusammenhang zwischen den ersten Trainingsdatenelementen und den zweiten Trainingsdatenelementen besteht. So kann beispielsweise die Zelleigenschaft „lebende Zellen“ allen ersten Trainingsdatenelementen zugewiesen werden, bei denen die im zweiten Trainingsschritt T2 durchgeführte Messung ergeben hat, dass die in dem jeweiligen Behältnis befindliche Zelle nicht tot ist und somit ein Zellwachstum erfolgt.

In einem fünften Trainingsschritt T5 werden die gebildeten Klassen, die ersten Trainingsdatenelemente, die zweiten Trainingsdatenelemente und deren Zuordnung zu den ersten Trainingsdatenelementen genutzt um den Klassifikator mittels maschinellem Lernen zu trainieren. Der Algorithmus erkennt anhand der übermittelten Informationen wenigstens ein Muster und/oder Gesetzmäßigkeiten zwischen den ersten Trainingsdatenelementen und den zweiten Trainingsdatenelementen. Nach Abschluss des Trainingsvorgangs liegt ein trainierter Algorithmus vor. Dies bedeutet, dass der trainierte Algorithmus das erlernte Wissen an ein zugeführtes Datenelement anwenden kann, um allein anhand des Datenelements eine Vorhersage oder Abschätzung zu der Zelleigenschaft und/oder der Partikeleigenschaft zu treffen.

Dies wird anhand der Figur 4 näher erläutert. Figur 4 zeigt einen Verfahrensablauf zum

Untersuchen der flüssigen Probe 20 mittels des trainierten Algorithmus. In einem ersten Verfahrensschritt S1 wird ein Datenelement mittels der optischen Erfassungseinrichtung 8 ermittelt. Darüber hinaus erzeugt die optische Erfassungseinrichtung 8 im ersten Verfahrensschritt S1 aus dem ermittelten Datenelement eine Abbildung, die den Probenbereich 2 beinhaltet.

5

In einem zweiten Verfahrensschritt S2 werden Verunreinigungen aus der Abbildung entfernt.

10 In einem dritten Verfahrensschritt S3 wird durch die Auswerteeinrichtung 9 überprüft, ob in dem Probenbereich 2 eine vorgegebene Anzahl an Zellen 3 und/oder Partikeln enthalten ist. Dies erfolgt durch einen eigenen Algorithmus. Insbesondere wird durch die Auswerteeinrichtung 9 geprüft, ob in dem Probenbereich 2 genau eine einzige Zelle 3 und/oder ein einziges Partikel enthalten ist.

15 Sofern ermittelt wird, dass in dem Probenbereich 2 eine einzige Zelle 3 und/oder ein einziges Partikel enthalten ist, wird in einem vierten Verfahrensschritt S4 die Lage der Zelle 3 und/oder des Partikels in der Abbildung bestimmt. Anschließend wird einem fünften Verfahrensschritt S5 ein Abbildungsabschnitt erzeugt, der die Zelle 3 und/oder das Partikel vollständig enthält.

20 Das den Abbildungsabschnitt enthaltende Bildsignal wird in einem sechsten Verfahrensschritt S6 an den trainierten Algorithmus übermittelt. Der trainierte Algorithmus erzeugt in einem siebten Verfahrensschritt S7 ausgehend von dem zugeführten Abbildungsabschnitt ein Resultat. Das Resultat hängt von einer Klassifikation des Datenelements, insbesondere der Abbildung, in eine der in dem trainierten Algorithmus hinterlegten Klassen ab. Da die Klassen von der Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft abhängen, wird durch die Klassifikation der  
25 Abbildung in eine der Klassen eine Vorhersage zu der Zelleigenschaft und/oder Partikeleigenschaft getroffen. Dabei wird die Abbildung durch den Klassifikator 13 in eine der Klassen klassifiziert.

30 In einem siebten Verfahrensschritt S7 steuert die Steuervorrichtung 14 die Verfahreinrichtung 10 und/oder die Ablenk- und/oder Absaugvorrichtung 11 abhängig von dem Resultat, insbesondere von der Klassifizierung des Datenelements in eine Klasse.

35 Sofern in dem dritten Verfahrensschritt S3 ermittelt wurde, dass in der flüssigen Probe keine Zelle 3 und/oder kein Partikel vorhanden ist und/oder die Anzahl der Zellen 3 und/oder Partikel größer als 1 ist, werden die Verfahrensschritte S3 bis S6 übersprungen und die flüssige Probe 20 wird im siebten Verfahrensschritt S7 in das Ausschussbehältnis 5 ausgegeben.

**Bezugszeichenliste:**

|    |       |                                     |
|----|-------|-------------------------------------|
|    | 1     | Flüssigkeit                         |
|    | 2     | Probenbereich                       |
| 5  | 3     | Zelle                               |
|    | 4     | Behältnis                           |
|    | 5     | Ausschussbehältnis                  |
|    | 6     | Dispensiervorrichtung               |
|    | 7     | Dispenser                           |
| 10 | 8     | optische Erfassungseinrichtung      |
|    | 9     | Auswerteeinrichtung                 |
|    | 10    | Verfahreinrichtung                  |
|    | 11    | Ablenk- und/oder Absaugvorrichtung  |
|    | 12    | Computer                            |
| 15 | 13    | Klassifikator                       |
|    | 14    | Steuervorrichtung                   |
|    | 15    | Fluidkammer                         |
|    | 16    | Ausgabekanal                        |
|    | 17    | Beleuchtungslicht                   |
| 20 | 18    | Detektionslicht                     |
|    | 19    | Betätigungsmittel                   |
|    | 20    | flüssige Probe                      |
| 25 | R     | Ausbringrichtung                    |
|    | T1-T5 | erster bis fünfter Trainingsschritt |
|    | S1-S8 | erster bis achter Verfahrensschritt |