

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6850340号
(P6850340)

(45) 発行日 令和3年3月31日(2021.3.31)

(24) 登録日 令和3年3月9日(2021.3.9)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 35/04 (2006.01) GO 1 N 35/04 G

請求項の数 21 (全 44 頁)

| | | | |
|--------------------|-------------------------------|-----------|---------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2019-506610 (P2019-506610) | (73) 特許権者 | 518371548 |
| (86) (22) 出願日 | 平成29年4月21日 (2017.4.21) | | セルックス・ダイアグノスティクス・イン |
| (65) 公表番号 | 特表2019-515311 (P2019-515311A) | | コーポレイテッド |
| (43) 公表日 | 令和1年6月6日 (2019.6.6) | | アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US2017/028906 | | 129、チャールズタウン、ローランド・ |
| (87) 国際公開番号 | W02017/185012 | (74) 代理人 | 110001173 |
| (87) 国際公開日 | 平成29年10月26日 (2017.10.26) | | 特許業務法人川口国際特許事務所 |
| 審査請求日 | 令和2年4月20日 (2020.4.20) | (72) 発明者 | ベーシック、アレクサンダー |
| (31) 優先権主張番号 | 62/326,525 | | アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02 |
| (32) 優先日 | 平成28年4月22日 (2016.4.22) | | 472、ウォータータウン、アーセナル・ |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | 米国 (US) | | ウェイ・480、フロア・2 |
| (31) 優先権主張番号 | 62/393,936 | | |
| (32) 優先日 | 平成28年9月13日 (2016.9.13) | | |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | 米国 (US) | | |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌薬感受性試験を実施すること、ならびに関係するシステムおよび方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

マルチアッセイ試験シーケンスを実施するための自動迅速抗菌薬感受性試験システムであって、自動迅速抗菌薬感受性試験システムは、

入れ子組立体を備える1つまたは複数の自動培養組立体であって、i) 微生物を含むサンプルを受容するための複数のウェルを含む少なくとも1つの試験パネルを収容し、ii) マルチアッセイ試験シーケンスを受けるために1つまたは複数の試験パネルの培養を円滑化するように構成された1つまたは複数の自動培養組立体と、

入れ子組立体の反復運動を生成するように構成されている1つまたは複数の揺動システムと、

約2,000gから約5,000gの相対遠心力を試験パネルに加え、それによって試験パネルの複数のウェルのそれぞれの中に微生物のペレットを形成することによって、試験パネルの複数のウェル内の1つまたは複数のサンプルまたは希釈剤の残りの部分から微生物を分離するように構成されている遠心分離システムと、

1つまたは複数の入来する試験パネルを受け入れるように構成され、ならびに、それらをシステムの2つの組立体の間で、および/または組立体と遠心分離システムとの間で、マルチアッセイ試験シーケンスのステップの間で移動させるように構成されている、ロボットハンドリング組立体と、

試験パネルの複数のウェルにおける1つまたは複数の流体を交換するように構成されている自動流体ハンドリング組立体であって、流体ハンドリング組立体は、少なくとも1つ

10

20

の液体添加システムおよび吸引システムを含み、吸引システムは、遠心分離システムによって形成されたペレットから離れた試験パネルのウェルの一部分から流体を除去するように構成されている、自動流体ハンドリング組立体と、

複数のウェルにおいて実施されるマルチアッセイ試験シーケンスの各アッセイの調査および読み取りのための光学組立体と、
を備える、システム。

【請求項 2】

少なくとも 1 つの入れ子組立体は、1 つまたは複数のフロアを備える階層フレームを備え、各フロアは、

試験パネルを受けるためのステージと、

ステージから延びた 1 つまたは複数のカートリッジ位置決め機能部と、

試験パネルハンドリングデバイスを受ける窪みのセットと、

を備え、

揺動システムは、階層フレームの反復運動を生成するように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 3】

階層フレームが、複数のフロアを備え、各フロアが、少なくとも 1 つの試験パネルを受ける少なくとも 1 つの面を備える、請求項 2 に記載のシステム。

【請求項 4】

各フロアは、ステージ内に、またはステージに沿って配置された加熱要素を備える、請求項 2 に記載のシステム。

【請求項 5】

培養システム組立体が、強制空気を使用して加熱される、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 6】

揺動システムが、回転揺動コンポーネントを備える回転揺動システムを備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 7】

揺動システムが、1 つまたは複数の直線ベアリング面を備える、請求項 6 に記載のシステム。

【請求項 8】

揺動システムが、互いに実質的に直交して位置する 2 つの直線ベアリング面を備え、揺動システムが、ベアリングレールに沿って滑動するように構成されている 2 つの滑動ステージを備える、請求項 7 に記載のシステム。

【請求項 9】

揺動システムが、約 1 mm から約 12 mm の半径をもつ軌道経路に沿って入れ子組立体を揺動するように構成されている、請求項 8 に記載のシステム。

【請求項 10】

揺動システムが、入れ子組立体を軌道経路に沿って揺動し、かつ揺動の軌道経路の半径を変化させるように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 11】

揺動システムが、毎分約 50 回転から毎分約 650 回転のレートで軌道経路に沿って入れ子組立体を攪拌するように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 12】

ロボットハンドリング組立体が、1 つまたは複数の自動培養組立体の少なくとも 1 つと光学組立体との間で試験パネルを移動させるように構成される、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 13】

ロボットハンドリング組立体は、1 つまたは複数の自動培養組立体のうちの少なくとも 1 つと、自動流体ハンドリング組立体によってアクセス可能な領域との間で試験パネルを移動させるように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

試薬が、使い捨てコンテナに貯蔵された、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 15】

光学組立体が、吸光度、蛍光、ルミネセンス、時間分解蛍光、またはマルチアッセイ試験シーケンス中にサンプルから放射される時間ゲートルミネセンスのうちの少なくとも 1 つを測定するように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 16】

蛍光放射を生成する励起波長が、約 545 nm から約 575 nm であり、放射の波長が、約 570 nm から約 610 nm である、請求項 15 に記載のシステム。

【請求項 17】

時間ゲートルミネセンス放射を生成する励起波長が、約 280 nm から約 360 nm であり、放射の波長が、約 545 nm、約 565 nm、約 608 nm から約 623 nm、または約 645 nm のうちの 1 または複数 である、請求項 15 に記載のシステム。

【請求項 18】

システムが、時間当たり少なくとも 2 個、少なくとも 4 個、少なくとも 6 個、少なくとも 8 個、少なくとも 10 個、少なくとも 12 個、少なくとも 16 個、または少なくとも 20 個の試験パネルの試験シーケンススループットをもたらしように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 19】

システムへの試験パネルの挿入から結果を取得するまでの試験シーケンスを通した試験パネルを処理するための期間が、8 時間未満、6 時間未満、5 時間未満、4 時間未満、3 時間未満、または 2 時間未満 である、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 20】

流体ハンドリング組立体は、液体添加システムまたは吸引システムのうちの少なくとも 1 つに流体接続されたマニホールドを備え、

マニホールドは、少なくとも 8 つの先端を使用して流体を分配および / または吸引するように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 21】

試験パネルが、ウェルの第 1 のセットおよびウェルの第 2 のセットを備え、

ウェルの第 1 のセットは、栄養ブロスおよびサンプルを受容する成長ウェルと、栄養ブロスを受容するがサンプルを受容しない非成長ウェルとを含み、

ウェルの第 2 のセットは、各抗菌薬が希釈系列の複数のウェルに適用される複数の抗菌薬を含む、請求項 1 に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、「Device for Rapid Antibiotic Susceptibility Testing」という名称の 2016 年 4 月 22 日に
出願された米国仮特許出願番号第 62/326,525 号に基づく優先権および利益、および「Device for Rapid Antibiotic Susceptibility Testing」という名称の 2016 年 9 月 13 日に
出願された米国仮特許出願番号第 62/393,936 号の利益を主張し、両出願の内容は、引用によりその全体が本明細書に組み込まれている。

【0002】

本開示は概して抗菌薬感受性試験に関し、より詳細には、自動迅速抗菌薬感受性試験を実施すること、ならびに関係するシステムおよび方法に関する。

【背景技術】

【0003】

抗菌薬は医療活動を変え、かつては致命的とされてきた感染症をより簡単に処置可能な

10

20

30

40

50

ものとし、何百万もの命を救ってきた。抗菌薬の迅速な投与は、特に敗血症などの深刻な症例において死亡率を下げる事が証明されている。これらの深刻な症例では、微生物に関する情報(例えば種)が典型的には知られていないので、最も効き目の強い抗菌薬が使用される。これらの広域抗菌薬は、重大な副作用をもたらし、臓器障害をもたらし、回復および入院を引き延ばし、および場合によっては死亡率を高め得る。さらに、抗菌薬の過度の使用が抗菌薬耐性微生物の増加をもたらしており、この増加が公衆衛生にとって重大でますます大きな脅威となっている。抗生物質適正使用支援プログラムは、感染症の処置を最適化して、抗菌薬の使用および誤用に関係する悪影響を減らすとともに、治癒率を高めながら処置ミスが減らし、適正な治療の割合を増やし得ることを、ますます増えている一連の証拠が実証している。対象を定めた抗菌薬治療を使用することにより、患者の死亡率が低減(例えば最小化)され得、回復が早くなり得、病院は患者の入院と高価な抗菌薬の使用を最小化することの両方においてコストを削減し得る。

10

【0004】

しかし、対象を定めた抗菌薬治療のために典型的に必要とされる完全な情報は、典型的にはサンプルが採取された後、2-3日で届けられる。現在の抗菌薬感受性試験(AST: antimicrobial susceptibility test)は、関連する、および有用な情報を特定する、および届けるために8時間を上回る時間を必要とし得、このことは、典型的には即日の結果を提供するのに十分ではない。多くの最良の場合のシナリオでは、このことは、抗菌薬治療が翌日に調節されることをもたらし得る。

【0005】

20

いくつかのシステムは、抗菌薬希釈系列のセットにそれらをさらすこと、および、経時的にそれらの成長を測定することにより病原性微生物の表現型試験を実施する。成長は、微生物の代謝により引き起こされる溶液の濁度または染料の蛍光を測定することにより、間接的に、および最も多くの場合に光学的に測定され得る。光信号の定量比較により、これらのシステムは、試験される微生物の成長を首尾よく阻止する各抗菌薬の希釈系列における最低濃度を特定する。最小発育阻止濃度(MIC: minimum inhibitory concentration)として知られるこの値が多くの場合、最も効果的な抗菌薬および投与量を決定するために、すなわち、対象を定めた抗菌薬治療を届けるために、臨床医により使用される。加えて、感受性(S: susceptible)、中間(I: intermediate)、および耐性(R: resistant)の形態の定性的感受性結果(QSR: qualitative susceptibility result)が、MICと共に、またはMICの代わりに報告され得る。

30

【0006】

歴史的には、自動化および新しいアッセイの発展がサンプルから結果までの期間を短くしてきた臨床化学および血液学の領域と比較すると、微生物学臨床検査室における自動化は低速である。過去30年間に3つの一般的に使用されるシステムが開発されており、典型的には高度に訓練された専門技術者により行われる作業を自動化するように設計された。

【0007】

表現型試験を実施するために、標準化された栄養ブロス(例えばミューラーヒントンブロス)において、および、抗菌薬の存在下において、所与の微生物の成長依存性を測定する。抗菌薬は、2倍希釈系列として用意され得る。手作業の場合、成長は、臨床検査標準協会(CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute)により規定されたとおり、16-24時間後に典型的には一度だけ測定される。いくつかの自動システムは、上述のように、定期的(例えば20分)に各試験ウェルにおいて微生物の成長を調査することにより、この時間を短くする。この工程は、退屈であり得、典型的には専門技術者により実施されない。次に、成長曲線が、成長曲線のウェル、レート、積分などの間における絶対、相対値の分析を含む独自アルゴリズムを使用して分析される。

40

【発明の概要】

50

【課題を解決するための手段】

【0008】

いくつかの態様において、本明細書において説明されるシステムおよび方法は、成長のわずかな違いの検出を可能にする、および、光学密度、比濁分析、または蛍光光度分析を伴うものなどの従来の方法より速く抗菌薬の効果を測定する微生物の存在の増幅に基づくエンドポイントアッセイを使用することにより、高感度で迅速な（例えば同シフトの）抗菌薬感受性試験結果を達成するための解決策を提供することに役立ち得る。さらに、本明細書におけるシステムおよび方法は、代謝染料または光の散乱および吸収を伴うアプローチではなく、微生物の成長のための代用として表面を使用することにより、フィラメント状の成長の検出を可能にし得る。さらに、本明細書におけるシステムおよび方法は、正確な結果が観測されるための十分な微生物の成長までエンドポイント成長アッセイの開始を遅らせることにより、成長の遅い種および株のためのAST結果が取得されることを可能にし得る。

10

【0009】

典型的には、それらのアッセイに必要な化学作用は通常、対象微生物を破壊するので、（例えば触媒的な）増幅に基づく高感度アッセイは一度だけ実施され得る。従って、本明細書において説明されるシステムおよび方法は、典型的にはこの問題に対処するために2種類のアッセイを使用する。いくつかの場合において、予備的な（例えばチェックポイント）アッセイが、まず実施され得、阻止されない微生物の成長を調査するために（すなわち抗生物質の存在しない状態で）定期的に反復され得る。これらのチェックポイントアッセイは、本明細書において対照ウェルと呼ばれるウェル内において実施され得る。典型的な対照ウェルの例は、栄養プロス内に微生物を含有する成長ウェル、および栄養プロスのみを含有する汚染対照ウェルである。システムは（例えば、吸光度、蛍光代謝染料など）光学的に成長/非成長を調査し、対照ウェル間において特定の比および/または動態変化が達成および検出された後、試験パネルの他の部分（例えば、試験パネルの残りの部分、または試験パネルの全体）に配置されたサンプルに対して1つまたは複数のエンドポイントアッセイ（例えば、増幅アッセイまたは成長アッセイ）が開始され得る。サンプルは、例えば、臨床サンプルを起源とする微生物を含み得る。（すなわち、栄養物の欠如に起因して）微生物の成長を促進しない生理食塩水または他の培地内に微生物を含有するウェルなどの追加的なウェルが、成長チェックおよびMIC判定のために使用され得る。これらのウェルは、出発サンプルと同様の微生物濃度をもち得、「時間的に凍結された」（例えばFIT: frozen in time）対照と呼ばれる。

20

30

【0010】

いくつかの場合において、本明細書において説明されるシステムおよび方法は、いくつかの従来のシステムより速い試験を提供するように実現され得る。例えば、いくつかの自動システムは結果を取得する時間を早め得るが、多くの臨床検査室において「同シフト」の結果の定義とされ得る5時間以内に結果を出すことは、いずれも現時点で解決されていない。この低速な結果までの時間を理由として、および、AST結果が複雑であり、臨床行動のために専門家の解釈を使用し得るので、このような従来のシステムは、感受性試験の開始と臨床行動との間に1日の遅れをもたらし得る。

40

【0011】

いくつかの実施形態において、試験下にある微生物のための最適な成長温度を維持するために、培養器チャンバが含まれ得る。他の従来のシステムと異なり、いくつかの例では、本明細書におけるシステムおよび方法は、試験パネルの揺動を提供するか、または別様に試験パネルの揺動を可能にする培養器を含み得る。いくつかの場合において、軌道振動が酸素化を改善し得、成長培地内の栄養物への微生物の連続的でより均一な露出を可能にし得る。揺動は、抗菌薬化合物への微生物の露出の均一さをさらに高め得る。これらは、いくつかの場合において成長を進め、MICおよび/またはQSRを定量化するために必要な時間を短くし得る。

【0012】

50

いくつかの実施形態において、本明細書のシステムは、光励起源（例えば、キセノンランプ、発光ダイオード（LED：light emitting diode））、所望の特性（例えば、バンドパス、バンドストップ、中心波長、半値全幅（FWHM：full width half max））をもつ光学フィルタ（例えば、独立したフィルタ、モノクロメーター）のセット、および光ディテクタ（例えば光電子増倍管）を含み得る光学システムを含み得る。光学システムは、データを収集および処理するために使用されるデータ獲得および処理電子機器をさらに含み得る。いくつかの場合において、光学システムは、システムにわたってカートリッジを動かすために使用されるロボットアーム内に入れ子にされた、またはそのようなロボットアーム内に、またはそのようなロボットアーム上に別様に配置された、光ファイバおよび集光光学素子などの1つまたは複数のコンポーネントを含み得る。このような構成は、より速いサンプル処理および結果の読み取りのための期間を達成するために役立つ。これらの光学素子は、カートリッジからディテクタおよびデータ処理電子機器に信号を伝え得る。

10

【0013】

さらに異なる別の態様において、液体ハンドリングシステムが含まれ得、カートリッジにおける試験ウェルに、およびカートリッジにおける試験ウェルから試薬を送達および/または除去（例えば吸引）するために使用され得る。

【0014】

別の態様において、実施される様々なアッセイと干渉し得る試験ウェルからの過剰な流体を除去するために使用され得る分離方法が含まれ得る。このステップは、洗浄処理ステップの一部であり得、遠心分離、磁気分離、または真空ろ過などの様々な手順のうちの1つまたは複数を含み得る。例えば、いくつかの実施形態において、遠心分離は、（例えばペレット状の）微生物を分離するために使用され得る。いくつかの場合において、分離の後に、上澄み流体を除去する吸引処理ステップが続き得る。いくつかの実施形態において、洗浄シーケンスという用語は、遠心分離、吸引、および追加的な液体緩衝剤（例えば、アッセイまたは洗浄緩衝剤）を表し得る。

20

【0015】

いくつかの態様において、マルチアッセイ試験シーケンスを実施するための自動迅速抗菌薬感受性試験システムは、臨床サンプルを起源とする微生物を含むサンプルを受容するための複数のウェルを含む少なくとも1つの試験パネル（例えばカートリッジ）を収容するようになされた入れ子組立体を備える自動培養組立体であって、培養組立体が、マルチアッセイ試験シーケンスを受けるために1つまたは複数の試験パネルの培養を円滑化する、自動培養組立体と、1つまたは複数の入来する試験パネルを受け入れるように、および、マルチアッセイ試験シーケンスの各アッセイ間に培養のための培養組立体まで、および培養組立体から1つまたは複数の入来する試験パネルを動かすように構成された、ロボットハンドリング組立体と、試験パネルの複数のウェルにおける1つまたは複数の流体を交換するように構成された自動液体ハンドリング組立体と、複数のウェルにおいて実施されるマルチアッセイ試験シーケンスの各アッセイの調査および読み取りのための光学組立体とを含み得る。

30

【0016】

実施形態は、以下の特徴の1つまたは複数を含み得る。

40

【0017】

いくつかの実施形態において、システムは、試験パネルのウェル内におけるサンプルの残部から微生物を分離するように構成されたサンプル分離組立体を含み得る。例えば、サンプル分離組立体は、試験パネルのウェル内において微生物のペレットを形成し得る。分離組立体は、遠心分離システムであり得る。分離組立体は、磁気捕捉分離システムを含み得る。分離組立体は、真空ろ過システムを含み得る。

【0018】

培養組立体は、培養中に試験パネルを揺動するように構成され得る。培養組立体は、少なくとも1つの試験パネルを運ぶ入れ子組立体を揺動する駆動システムを含み得る。駆動

50

システムは、入れ子組立体に可変の軌道速度を伝えるように構成され得る。速度は、100から650RPMの間であり得る。揺動軌道の半径は、調節可能であり得る。揺動軌道の半径は、約1mmから約10mmであり得る。

【0019】

光学組立体は、ロボットハンドリング組立体のロボットアームに搭載されるか、またはロボットアーム内に一体的に形成され得る。光学組立体は、吸光度、蛍光、ルミネセンス、時間分解蛍光、またはマルチアッセイ試験シーケンス中にサンプルから放射される時間ゲートルミネセンスのうちの少なくとも1つを測定するように構成され得る。蛍光放射を生成する励起波長は約560nmであり得、放射の波長は約590nmであり得る。時間ゲートルミネセンス放射を生成する励起波長は、約280nmから約360nmであり得、放射の波長は、約608nmから約623nmであり得る。光学組立体は、複数のウェルにおいて実施されるマルチアッセイ試験シーケンスの各アッセイの調査および読み取りのための2つ以上の光学フィルタを含み得る。2つの光学フィルタは、励起源と一列に並んだ第1の光学フィルタと、光ディテクタと一列に並んだ第2の光学フィルタとを選択的に位置決めするように構成された割り出しコンポーネントに配置され得る。割り出しコンポーネントは、2つのフィルタの第2のセットを含み得、割り出しコンポーネントの割り出し運動が、励起源と一列に並んだ光学フィルタと光ディテクタと一列に並んだ光学フィルタとを置換する。

10

【0020】

流体ハンドリング組立体は、液体添加システムと吸引システムとを含み得る。試薬は、使い捨てコンテナに貯蔵され得る。コンテナは、少なくともシフトごと、少なくとも1日ごと、少なくとも5日ごと、または少なくとも週ごとに、その後に配置および置換され得る。コンテナは、少なくとも試験シーケンスごと、10試験シーケンスごと、20試験シーケンスごと、50試験シーケンスごと、または100試験シーケンスごとに、その後に配置および置換され得る。

20

【0021】

システムは、少なくとも2個、少なくとも4個、少なくとも6個、少なくとも8個、少なくとも10個、または少なくとも12個の試験パネルを同時に処理するように構成され得る。システムは、時間当たり少なくとも2個、少なくとも4個、少なくとも6個、少なくとも8個、少なくとも10個、少なくとも12個、少なくとも16個、少なくとも20個の試験パネルの試験シーケンススループットをもたらすように構成され得る。システムへの試験パネルの挿入から結果を取得するまでの試験シーケンスを通した試験パネルを処理するための期間は、8時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、3時間未満、または2時間未満であり得る。

30

【0022】

いくつかの態様において、マルチアッセイ迅速抗菌薬感受性試験シーケンスを実施する方法は、試験パネル(例えばカートリッジ)の複数のウェルに臨床サンプルに由来する微生物を含むサンプルを接種することであって、複数のウェルのうちの少なくとも一部が、サンプルの接種のための複数の抗菌薬のうちの1つまたは複数の抗菌薬を含有する、接種することと、マルチアッセイ試験シーケンスを実施するために自動迅速抗菌薬感受性試験システムに試験パネルを装填することと、試験システムを稼働させることであって、装填された試験パネルを培養組立体まで動かすことと、培養組立体に接種されたサンプルを培養および揺動することと、少なくとも1回、複数のウェルのうちの複数の対照ウェルにおけるサンプル成長量を定期的に測定することと、対照ウェルにおける成長レベルが閾値成長レベルを満たすか、または閾値成長レベルを上回ったことを特定したことに応答して、培養を停止することと、試験パネルにおける培養されたサンプルに1つまたは複数のエンドポイントアッセイを実施することと、試験パネルの複数のウェルにおけるサンプルからの光出力を測定することであって、光出力が、複数のウェルの各々に残る微生物の量に対応した、光出力を測定することと、複数のウェルおよび複数の抗菌薬の各々に残る微生物の最小発育阻止濃度、および/または、複数のウェルおよび複数の抗菌薬の各々に残る微

40

50

生物に対する定性的な感受性解釈のうちの少なくとも1つを報告することとを行うように、試験システムを稼働させることとを含み得る。

【0023】

実施形態は、以下の特徴の1つまたは複数を含み得る。

【0024】

エンドポイントアッセイを実施することは、サンプルの液体ハンドリング、遠心分離、培養、または振動のうちの1つまたは複数を含み得る。液体ハンドリングは、1つまたは複数の吸引液体添加ステップを実施することを含み得る。

【0025】

エンドポイントアッセイを実施することは、複数の結合ステップを含み得る。結合ステップの増幅種は、触媒を含み得る。結合ステップの増幅種は、ユウロピウムキレートを含み得る。

10

【0026】

本方法および試験システムは、少なくとも2個、少なくとも4個、少なくとも6個、少なくとも8個、少なくとも10個、または少なくとも12個の試験パネルを同時に処理するように構成され得る。本方法および試験システムは、時間当たり少なくとも2個、少なくとも4個、少なくとも6個、少なくとも8個、少なくとも10個、少なくとも12個、少なくとも16個、少なくとも20個の試験パネルの試験シーケンススループットをもたらすように構成され得る。本方法を使用した試験システムへの試験パネルの挿入から結果を取得するまでの試験シーケンスを通した試験パネルを処理するための期間は、8時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、3時間未満、または2時間未満であり得る。

20

【0027】

いくつかの態様において、抗菌薬感受性試験システムサンプルカートリッジハンドリングデバイスは、ロボットアームの把持機構によりつながれるように構成された接続部を含むロボット把持部と、サンプルカートリッジを支持するように寸法決めおよび構成されたリフティングフィンガーのセットとを含み得、リフティングフィンガーは、カートリッジプラットフォームを規定する。

【0028】

実施形態は、以下の特徴の1つまたは複数を含み得る。

【0029】

フィンガーのセットは、カートリッジプラットフォームを規定する、および、フィンガーに対してカートリッジが滑動することを制限する1つまたは複数のカートリッジ位置決め機能部を含み得る。カートリッジ位置決め機能部は、縦隆起部を含み得る。フィンガーは、少なくとも約3インチぶん横方向に離隔され得る。フィンガーのうちの少なくとも1つの遠位端は、テーパ付であり得る。

30

【0030】

ロボット把持部の接続部は、横方向に延びてロボットアームの把持機構につなぐ突出部のセットを含み得る。把持部の遠位端は、少なくとも約3インチから約4インチまで幅を調節可能であり得る。把持機構は、リニアアクチュエータと、1つまたは複数の把持アームを関節運動させる連結部材とにより少なくとも部分的に稼働され得る。把持機構は、1つまたは複数の把持アームを関節運動させる連結部材に関連して、直線ばね機構により少なくとも部分的に稼働され得る。

40

【0031】

いくつかの態様において、サンプル試験システムのための培養システムは、1つまたは複数のフロアを備えるように構成された階層フレームであって、各フロアが、サンプル試験カートリッジを受けるためのステージと、ステージから延びた1つまたは複数のカートリッジ位置決め機能部と、試験カートリッジハンドリングデバイスを受ける窪みのセットとを備える、階層フレームと、階層フレームの反復運動を生成するように構成された揺動システムと、を含み得る。

【0032】

50

実施形態は、以下の特徴の1つまたは複数を含み得る。

【0033】

階層フレームは複数のフロアを含み得、各フロアは、2つのサンプル試験カートリッジを受けるために2つの面を備える。1つまたは複数のカートリッジ位置決め機能部は、試験カートリッジを受けるためにステージの前端部または後端部に沿った縦隆起部を含み得る。フロアは、ステージ内に、またはステージに沿って配置された加熱要素を含み得る。

【0034】

揺動システムは、軸方向に、または軌道を描いてフレームを揺動するように構成され得る。揺動システムは、回転揺動コンポーネントを含む回転揺動システムを含み得る。揺動システムはベアリング面を含み得、ベアリング面に沿って回転揺動コンポーネントが回転中に接続する。ベアリング面は、ローラーベアリングを含み得る。回転揺動コンポーネントは、釣り合い錘を含み得る。揺動システムは、1つまたは複数のリニアアクチュエータを含み得る。揺動システムは、1つまたは複数の直線ベアリング面を含み得る。揺動システムは、互いに実質的に直交して位置する2つの直線ベアリング面を含み得る。揺動システムは、2つの直線ベアリングレールと、ベアリングレールに沿って滑動するように構成された滑動ステージとを含み得る。

【0035】

揺動システムは、約25mm未満の半径をもつ軌道経路に沿ってフレームを揺動するように構成され得る。揺動システムは、約1mmから約12mmの半径をもつ軌道経路に沿ってフレームを揺動するように構成され得る。揺動システムは、揺動の軌道経路の半径を変化させるように構成され得る。揺動システムは、毎分約75回転より大きいレートで軌道経路に沿ってフレームを揺動するように構成され得る。揺動システムは、毎分約150回転から毎分約650回転のレートで軌道経路に沿ってフレームを揺動するように構成され得る。揺動システムは、揺動の軌道経路に沿ってフレームが移動するレートを変化させるように構成され得る。

【0036】

培養システムは、フレームの前面に沿ったカバーを含み得る。フレームは、前面に沿った前開口と後面に沿った後開口とを規定し得る。フレームは、前開口を通してユーザーからカートリッジを受容するように構成され得、カートリッジは、後開口を通して自動システムのハンドリングデバイスにより除去され得る。

【0037】

いくつかの態様において、カートリッジ内における1つまたは複数のチャンバから流体を吸引する方法は、遠心力を使用してチャンバ内において流体中に懸濁された1つまたは複数の微生物を移動させることと、第1のチャンバの中央領域に対して移動された微生物の実質的に反対側の場所から、第1のチャンバから第1の流体を吸引することとを含み得る。

【0038】

実施形態は、以下の特徴の1つまたは複数を含み得る。

【0039】

流体中に懸濁された1つまたは複数の微生物を移動させることは、遠心分離システムを通してカートリッジを走らせることを含み得る。第1のチャンバから第1の流体を吸引することは、第1のチャンバ内にロボットアームにつながれた流体処理システムの吸引ノズルを配置することを含み得る。

【0040】

方法は、第2のチャンバの中央領域に対して移動された微生物の第2のセットの実質的に反対側の場所から、第2のチャンバから第2の流体を吸引することを含み得る。第2のチャンバから第2の流体を吸引することは、第1および第2のチャンバのそれぞれの中央領域内において、第1の流体が第1のチャンバから吸引される場所とは異なる第2のチャンバ内の場所において起こり得る。第2のチャンバから第2の流体を吸引することは、カートリッジの中央領域に対して第1の流体が第1のチャンバから吸引される場所の実質的

10

20

30

40

50

に反対側の第2のチャンバ内の場所において起こり得る。

【0041】

本明細書において説明されるシステムおよび方法の様々な態様は、以下の利点の1つまたは複数をもち得る。

【0042】

いくつかの態様において、本明細書におけるシステムおよび方法は、迅速抗菌薬感受性試験(AST)および抗菌薬パネルに対する最小発育阻止濃度(MIC)の特定を提供する。これらのMICは、微生物の種および抗菌薬と共に、臨床検査標準協会(CLSI)のブレイクポイント解釈を判定して、微生物の種と抗菌薬との各組み合わせに対する臨床AST結果を提供するために使用される。このような結果は、CLSIパブリケーションM-100Sに従った感受性(S)、中間(I)、または耐性(R)の形態をとる。特定の抗生物質に対して、非感受性(NS: Not Susceptible)、および解釈無し(NI: No Interpretation)が使用され得る。

10

【0043】

CLSI微生物学規格によると、微生物の所与の種および株に対する所与の抗菌薬のMICは、微生物の成長を阻止する2倍希釈系列における抗菌薬の最低濃度として規定される。自動ASTシステムのためのCLSIマニュアルおよびFDAガイダンス文書によると、典型的には、この手順のための好ましい規格は、96ウェル丸底マイクロウェルプレートカートリッジの培養の16-20時間後、およびミューラーヒントンブロスにおけるサンプルの接種後、手作業で実施されることである。標準的なマイクロプレート寸法要件を満たすカートリッジは、ハンドリングのために有益であり得る。読み取りは、熟練専門技術者により(例えば目により)手作業で行われ得る。この手順は、非常に煩わしく、多くの場合に高価であり、典型的には専門技術者の時間および作業計画において多くの手数を必要とする。いくつかの自動システムは、過去30年にわたって導入されている。多くの自動システムは、光学プローブの使用を通して微生物の成長の判定を迅速にする。これらのシステムは成長判定を加速し得るが、それらは多くの場合、微生物学検査室により所望または要求される5時間の「同シフト」の締め切り内に正確なAST結果を提供することができない。このようなシステムでは、アルゴリズムが高信頼度レベルでMICを特定し得るように(例えば、成長量、レートなどに関する)十分な量の情報が収集された後、アルゴリズムがMICを特定する。これを理由として、結果は決定論的な(例えば既定の)時点において報告されず、むしろ、24時間の期間にわたって分散される。一貫した予定で、および(例えば医師または看護師に対して)同じ作業シフト内にAST結果を届けることができないということは、多くの場合、対象を定めた抗菌薬治療の提供を遅らせ、回復を遅くし、場合によっては死亡率を高め得る。

20

30

【0044】

本明細書において説明されるシステムおよび方法は、工程を2つ以上のステップに分離することにより、従来のシステムに関連した上述の欠点のうちのいくつかを解決および低減する。例えば、まず、培養が開始した後、予備試験シーケンス(例えばチェックポイントアッセイ)がある期間(例えば2-4時間)にわたって実行される。チェックポイントアッセイ中に測定された成長が十分であることが観測された場合、システムは、分析シーケンス(例えばエンドポイントアッセイ(例えば最後の成長/生死判別アッセイ(例えば増幅アッセイ)))を開始し得る。チェックポイントアッセイ中に測定された成長が十分であることが観測されなかった場合、システムは、成長の遅い生物が(すなわち、チェックポイントアッセイ当たりの十分な成長がみられないことを理由として)検出されてから追加的な期間(例えば8時間)にわたって培養し得、エンドポイントアッセイが実施される前に追加的な成長期間を使用し得る。このような成長の遅い生物は、試験されるすべての事例の5%未満を占めることが想定される。代替的に、システムは、エンドポイントアッセイの開始のための十分な成長が達成されるまで、定期的に対照ウェルにおける成長を調査するようにプログラムされ得る。

40

【図面の簡単な説明】

50

【 0 0 4 5 】

【図 1 A】試験ウェルから過剰な流体を除去する遠心分離システムを含み得る、例示的な抗菌薬感受性試験システムの斜視図である。

【図 1 B】試験ウェルから過剰な流体を除去する磁気捕捉システムを含み得る例示的な抗菌薬感受性試験システムの上面図である。

【図 1 C】例示的な磁気捕捉システムの斜視図である。

【図 2 A】例えば 9 6 個の試験ウェルを含む例示的なカートリッジの斜視図である。

【図 2 B】例えば 3 8 4 個の試験ウェルを含む例示的なカートリッジの斜視図である。

【図 3】使い捨ての先端および試薬を収容する例示的な消耗品の組立体トレイの斜視図である。

10

【図 4】カートリッジおよび消耗品の組立体トレイを装填することを円滑化する例示的な装填組立体の斜視図である。

【図 5 A】例示的な液体ハンドリングシステムの斜視図である。

【図 5 B】2 セットの流体ハンドリングコンポーネントを示す液体ハンドリングシステムの下側の斜視図である。

【図 5 C】微生物ペレットからウェルの反対側に配置された吸引ノズルの側面概略図である。

【図 6 A】振動培養システムの斜視図である。

【図 6 B】振動機構に支持されたカートリッジを示す振動培養システムの下側の斜視図である。

20

【図 7 A】カートリッジを覆うように閉じつつあるカバーを示す斜視図である。

【図 7 B】カートリッジを覆うように閉じつつあるカバーを示す斜視図である。

【図 7 C】カートリッジを覆うように閉じつつあるカバーを示す斜視図である。

【図 8 A】2 つのカートリッジを保持するトレイを含む培養システムの斜視図である。

【図 8 B】各々が 2 つのカートリッジを保持する 3 つのスタックされたトレイを含む培養システムの斜視図である。

【図 8 C】4 つのカートリッジを保持するトレイを含む培養システムの斜視図である。

【図 8 D】各々が 4 つのカートリッジを保持する 3 つのスタックされたトレイを含む培養システムの斜視図である。

【図 9 A】光を送達および検出するファイバ束およびミラーにより形成された例示的な光学システムの概略図である。

30

【図 9 B】光を送達および検出する複数のレンズおよび複数のミラーにより形成された例示的な光学システムの概略図である。

【図 1 0】例示的な抗菌薬感受性試験システムの斜視図である。

【図 1 1】例示的なカートリッジハンドリングコンポーネントの上にあるカートリッジの切り欠き図を示す、例示的なカートリッジハンドリングコンポーネントの斜視図である。

【図 1 2】抗菌薬感受性試験システムにおいて使用するための例示的な培養サブシステムの斜視図である。

【図 1 3】回転揺動コンポーネントを含む例示的なサンプル振動サブシステムの斜視図である。

40

【図 1 4】多方向リニアアクチュエータのセットを含む例示的なサンプル振動サブシステムの斜視図である。

【図 1 5】回転揺動コンポーネントと多方向直線ベアリング面のセットとを含む例示的なサンプル振動サブシステムの斜視図である。

【図 1 6 A】サンプルに提供される光を励起するために、およびサンプルから放射された光を調査するために使用される光学フィルタを割り出すコンポーネントを含む光学システムの斜視図である。

【図 1 6 B】サンプルに提供される光を励起するために、およびサンプルから放射された光を調査するために使用される光学フィルタを割り出すコンポーネントを含む光学システムの上面図である。

50

【図17】カートリッジをハンドリングするためのロボット把持器デバイス、および試験システムの他のカートリッジハンドリングコンポーネントの斜視図である。

【図18】チェックポイントアッセイおよび1つまたは複数のエンドポイントアッセイを実施するためのウェルの例示的な構成を示すカートリッジの概略図である。

【図19】例示的な抗菌薬感受性試験シーケンスを実施する例示的な方法の流れ図である。

【発明を実施するための形態】

【0046】

いくつかの態様において、本明細書において説明されるシステムおよび方法は、マルチアッセイ試験シーケンスを実施するための自動迅速抗菌薬感受性試験システムに係り得、試験システムは、装填された試験パネルを受容することと、装填された試験パネルを培養組立体まで動かすことと、培養組立体における試験パネル内において接種されたサンプルを培養および揺動することと、少なくとも1回、試験パネルの複数の対照ウェルにおけるサンプル成長量を定期的に測定することと、対照ウェルにおける成長レベルが閾値成長レベルを満たすか、または閾値成長レベルを上回ったことを特定したことに応答して、培養を停止することと、試験パネルにおける培養されたサンプルに1つまたは複数のエンドポイントアッセイを実施することと、試験パネルの複数のウェルにおけるサンプルからの光出力を測定することと、光出力が、複数のウェルの各々に残る微生物の量に対応した、光出力を測定することと、複数のウェルおよび複数の抗菌薬の各々に残る微生物の最小発育阻止濃度、および/または、複数のウェルおよび複数の抗菌薬の各々に残る微生物に対する定性的な感受性解釈のうちの少なくとも1つを報告することとを少なくとも行うように構成され得る。

【0047】

例えば、いくつかの実施形態において、試験されるサンプルは、試験パネル（例えばカートリッジ（例えば試験トレイ（例えばウェルプレート（例えばマイクロウェルプレート（例えば96または384個のマイクロウェルプレート（例えばマイクロタイタープレート））））））に接種され得る。いくつかの場合において、カートリッジは、システムに装填され、次に、工程の終了まで（例えばロボット工学を利用して）ヒトとの対話無しで実質的に自動的にハンドリングされ得る。工程の結果は、例えばディスプレイスクリーンに報告され得、および検査室情報管理システム（LIMS: laboratory information management system）に通信され得る。さらに、各カートリッジは、カートリッジおよびカートリッジの中で試験されるサンプルを識別するために、装填する前にユーザーにより、またはシステムにより自動的に走査され得るバーコードまたは他の一意的なマーキング（例えばレーザー彫刻、直接パーツマーキング、RFID、または他のマーキング/識別法）により一意的に規定され得る。

【0048】

いくつかの実施形態において、カートリッジは、液体または乾燥形態の抗菌薬を各々が含有する複数の試験カートリッジチャンバ（例えばウェル）を含み得る。いくつかの場合において、各ウェルは、異なる抗菌薬の種類および/または濃度を含有し得る。いくつかの場合において、カートリッジは、カートリッジがシステムに装填される前にウェルに乾燥した抗菌薬を含み得る。いくつかの場合において、カートリッジは、培地（例えば栄養ブロス、例えばミューラーヒントンブロスなどの流体）に懸濁された抗菌薬を含み得る。いくつかの場合において、カートリッジは、抗菌薬フィルムの形態で抗菌薬を含み得る。いくつかの場合において、カートリッジは、固体の形態で抗菌薬を含み得る。カートリッジは、微生物を含有するサンプルを接種されて、迅速AST診断装置内に装填され得る。本明細書において説明される微生物は、生体サンプルに由来し得る。いくつかの実施形態において、生体サンプルは、（例えば患者サンプルを起源とし得る）臨床サンプルに由来する。例示的な生体サンプルとして、全血、血漿、血清、痰、尿、便、白血球、赤血球、軟膜、涙、粘液、唾液、精液、膣液、リンパ液、羊水、髄液または脳脊髄液、腹水、胸水、滲出液、穿刺液、上皮塗抹標本、生検、骨髓サンプル、嚢胞または膿瘍からの流体、髄

10

20

30

40

50

液、硝子体液または房水、洗眼薬または眼吸引液、気管支肺胞洗浄、気管支洗浄、もしくは肺洗浄、肺吸引液、ならびに、限定はされないが、肝臓、脾臓、腎臓、肺、腸、脳、心臓、筋肉、膵臓などを含む臓器および組織、スワブ（限定されないが、創傷スワブ、頬側スワブ、喉スワブ、鼻スワブ、膣スワブ、尿道スワブ、子宮頸部スワブ、直腸スワブ、損傷スワブ、膿瘍スワブ、鼻咽頭スワブなどを含む）、ならびに、それらの任意の組み合わせが挙げられ得る。細菌培養または細菌分離、菌類培養または菌類分離がさらに含まれる。いくつかの場合において、1つまたは複数の希釈、分離、および/または培養ステップは、微生物の接種前に実施され得る。

【0049】

いくつかの実施形態において、自動ASTシステムに装填する前に、カートリッジが、
10 所望の培養温度に対応した温度まで予熱され得る。標準的な空気対流培養器は、試験パネルを所望の動作温度にするために典型的には30分から60分かかるので、いくつかの場合において予熱が有用であり得る。典型的な所望の培養時間は8時間未満であり、多くの場合において、7時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、または3時間未満であるので、予熱は、迅速なASTを実施するための本明細書において説明されるシステムおよび方法とあわせた使用に対して特に有用であり得る。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の抗菌薬の存在下における微生物の培養は、カートリッジを予熱した後、30分以内に起こる。

【0050】

いくつかの実施形態において、カートリッジ内における複数の液体が、約30 から約
20 45 の温度まで予熱され得る。いくつかの場合において、予熱は、カートリッジのウェルを実質的に一様に加熱し得る。いくつかの実施形態において、ウェルの実質的に一様な加熱は、カートリッジにおける最高温度ウェルとカートリッジにおける最低温度ウェルとの間におけるパーセント温度差が約5%未満であるようにカートリッジを加熱することを含み得る。すなわち、いくつかの実施形態において、カートリッジにわたる（例えばウェルごとの）温度の変動は、約5%未満である。いくつかの場合において、カートリッジは、カートリッジに対する少なくとも約25 の温度の少なくとも1つの流体の添加により予熱される。

【0051】

いくつかの実施形態において、カートリッジは、約15分未満の間、予熱され得る。い
30 くつかの場合において、カートリッジは、約1分、約2分、約5分、約10分、または約15分の間、予熱される。いくつかの実施形態において、カートリッジは放射加熱、伝導加熱、および/または対流加熱のうちの少なくとも1つにより予熱される。例えば放射加熱は、赤外線放射加熱を含み得る。いくつかの例において、カートリッジは、伝導および対流加熱により予熱され得る。例えば、少なくとも1つの加熱面が、伝導および対流加熱を実施し得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、放射加熱と伝導および対流加熱との両方により予熱され得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、対流加熱のみによっては予熱されない。

【0052】

いくつかの実施形態において、本明細書におけるシステムおよび方法は、専門技術者による
40 接種されたカートリッジの装填から結果（例えば最小発育阻止濃度およびCLSIブレイクポイント解釈）まで、迅速なASTの自動化を提供する。いくつかの場合において、カートリッジが専門技術者により装填され、黄色ブドウ球菌などの生物識別（ID: identification）情報（例えば種）が入力され得るか、または、システムのソフトウェアインターフェースにより自動的に取得され得る。このように、質量分析（例えばMALDI-TOF）または多重ポリメラーゼ連鎖反応（PCR: polymerase chain reaction）試験などの他の方法を使用して取得されたID情報が使用され得る。いくつかの場合において、生化学検査として当業者に知られた、比色および蛍光分析染料を含むカートリッジが、微生物IDのために使用され得る。

【0053】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本明細書において説明されるシステムは、カートリッジを培養し得、カートリッジがシステムに装填された後、規定された期間（例えば少なくとも2時間）後、単一の時点において、または定期的に成長チェックウェルを調査して、チェックポイントアッセイを実施し得る。成長チェックウェルにおけるサンプルの十分な成長が検出された後、本明細書において説明されるシステムが、エンドポイントアッセイを開始し得る。チェックポイントアッセイは典型的には、（栄養ブロス内の微生物を使用した）成長、（栄養ブロスの中に微生物を含まない栄養ブロスを使用した）非成長、および、（生理食塩水などの非栄養培地内に微生物を含む別の対照ウェルに対して成長または非成長対照ウェルを測定する）FIT対照の直接的な（例えば吸光度、比濁分析）または間接的な光学測定（例えば代謝染料のフロレッセンス読み取り）を伴う。間接測定は、リポーターが（例えばレザズリンといった）微生物の代謝を介して蛍光性の形態に変換される酸化還元染料であり得るウェルの蛍光分析測定を含み得る。このような場合において、ウェルに存在する微生物が多いほど、蛍光性の形態に変換される染料の量が多くなるので、より高いレベルの蛍光が測定される。すなわち、ウェルに存在する微生物が多いほど、蛍光性の形態への変換が速くなり、より高い濃度の蛍光性の生成物をもたらす、従って、より高いレベルの蛍光が測定され得る。いくつかの実施形態において、pH感応染料（例えばフェノールレッド）が使用され得る。

10

【0054】

成長ウェルにおけるサンプルの十分な成長を特定した後、本明細書において説明されるシステムおよび方法は、1つまたは複数のエンドポイントアッセイを開始し得る。エンドポイントアッセイは、1つまたは複数の液体ハンドリング、サンプル分離（例えば遠心分離、磁気分離、または真空ろ過）、および吸引ステップを含み得、その間に、増幅器が微生物の表面に結合され、結合されない試薬は洗い流され得、最後に光信号が測定されて抗菌薬の希釈に関連付けられ得、MICおよび/またはQSRが特定され得る。複数のエンドポイントアッセイが、同じウェルにおいて、および/または異なるウェルにおいて実施され得る。複数のエンドポイントアッセイが、正確なMICおよび/またはQSRデータを取得するために有益であり得る。

20

【0055】

最終ステップにおいて、時間ゲートルミネセンス（例えば時間分解蛍光）が増幅器からの光信号を測定するために使用され得る。いくつかの場合において、方法は、増幅器分子の励起および放射された光の検出を可能にし得、放射された光は、時間的に（例えば、検出が遅延されて、励起後、すべての自己蛍光が消えたときに起こり得る）およびスペクトル的に（例えば励起波長は100ナノメートル（nm）を上回るぶん放射光から離れ得、このことが、より低価格のバンドパスフィルタの使用を可能にする）の両方の面で分離され得る。いくつかの実施形態において、結合された分子により触媒作用的に変更された基質の付与により増幅が達成され得、光出力が測定され得る。この光信号は、吸光度信号、蛍光信号、および/または化学ルミネセンス信号を含み得る。いくつかの実施形態において、信号は、電気化学ルミネセンス（ECL: electrochemiluminescence）を含み得る。いくつかの実施形態において、アップコンバーティングナノ粒子がリポーター分子として使用され得る。

30

40

【0056】

システムにより実施され得るエンドポイントアッセイは、限定されないが、以下、すなわち、代謝アッセイ、表面結合プローブアッセイ、化学プローブアッセイ、生化学プローブアッセイ、ATPアッセイ、核酸プローブアッセイ、二本鎖核酸プローブアッセイ、光学密度アッセイ、視覚アッセイ、およびpH分子プローブアッセイを含む。

【0057】

図1Aおよび図1Bは、本明細書において説明される抗菌薬感受性試験シーケンスを実施するための2つの例示的な試験システムを示す。後述のように、両方のシステムがカートリッジに適合するように構成され、典型的には、96マイクロウェルプレートカートリッジおよび384マイクロウェルプレートカートリッジ構成をサポートし得る。図1Aの

50

例は、遠心分離器 100 を使用する分離システムを含む試験システム 50 を示す。これに対し、図 1 B に示す例は、後述のように、磁気学を使用して、分析のために所望の成分にサンプルを分離する分離システム 101 を含む試験システム 75 を示す。

【0058】

試験システムは典型的には、120 / 240 V、50 / 60 Hz の AC 電源で稼働するように構成され得る。試験システムの寸法および形状は、試験システムの中に配置された特定のコンポーネント、および試験システムが使用される環境に基づいて様々であり得る。例えば、いくつかの実施形態において、試験システムは、容積が（例えば任意の外部流体容器を含む総容積が）1 m³ 未満であり得る。いくつかの実施形態において、試験システムは、約 1 . 0 m² 未満の占有領域（例えば任意の外部流体容器を含む 1 . 0 m² 未満の占有領域）をもち得る。

10

【0059】

試験システムは、様々な稼働および保管条件のもとで稼働するように構成され得る。試験システムは、摂氏約 15 度から摂氏約 35 度の範囲にわたって稼働するように構成され得る。試験システムは、約 80 から約 110 kPa の環境圧範囲にわたって稼働するように構成され得る。試験システムは、結露無しで約 25 % から約 85 % の相対湿度の範囲にわたって稼働するように構成され得る。試験システムは、海拔最大約 2 , 000 m の高度までの稼働用として格付けされるように構成され得る。試験システムは、IP20 の防塵および防水等級をもつように構成され得る。例えば、これは、指以上の大きさの物体によるデバイスの危険な部分へのアクセスを制限し得る。

20

【0060】

試験システムは、装填された後、オペレーターによるハンドリングがほとんど必要とされないか、または全く必要とされないでカートリッジが自動的にシステムにわたって動かされるように構成される。これは、作業者の時間および間違いを減らしながら、スループットを高め得る。例えば、システム 50 は、把持器および集光サブ組立体 501 を含むロボット搬送システム（例えば 3 軸ロボットアーム）200 を含み得る。把持器は、カートリッジを露出させ（例えば蓋を除去し）、サンプルを処理するためにシステム内においてサブ組立体間でカートリッジを動かすために使用され得る。集光サブ組立体 501 は、集光サブ組立体 501 から光学読み取りサブシステム 500 に 1 つまたは複数の光信号（例えば光）を伝えるために使用され得る光ネットワーク（例えば光ファイバ）を含み得るか、またはそのような光ネットワークに別様に接続され得る。いくつかの実施形態において、試験されるサンプルからの集光、読み取り、および測定は、ロボットアーム 200 によりサービス提供を受ける単一のサブシステムに統合され得、そのような単一のサブシステムを使用して処理され得る。サブシステムは、カートリッジおよび / または光学システムを動かして、カートリッジ内における試験パネルの各ウェルをアドレス指定する x - y 移動ステージを含み得る。

30

【0061】

装填デバイス（例えば引き出し）300 が、システムにカートリッジ（例えばカートリッジ 700、701）を装填するために使用され得る。装填された後、ロボット搬送システム 200 は、培養サブ組立体 400 までカートリッジを動かして処理を始め得る。培養サブ組立体 400 は、サンプルおよびカートリッジの制御下の加熱および振動を提供して様々なアッセイを実施するように構成される。いくつかの実施形態において、培養サブ組立体 400 は、サンプルの周辺における空気の湿気を制御または変更するように構成された湿気制御システムを含み得る。

40

【0062】

集光サブシステム 501 は、対照ウェルをチェックすることと、エンドポイントアッセイを開始するための十分な成長が達成されたか否かを判定することとを含み得る、1 つまたは複数のチェックポイントアッセイを定期的実施するように構成され得る。エンドポイントアッセイが開始された後、プレートは、ロボットシステム 600 により液体ハンドリングサブ組立体 601 に搬送され得る。代替的に、液体ハンドリングは、分離システム

50

(例えば遠心分離システム)または培養サブ組立体内などの他のサブ組立体内を含む試験システム50内の別の場所において実施され得る。液体ハンドリングサブ組立体601は、カートリッジにおける個々のウェルに対して、およびカートリッジにおける個々のウェルから吸引、洗浄、および溶液の添加をさらに実施し得る。例えば、カートリッジが遠心分離されたとき、結果として得られる微生物のペレットが、プレートのウェルごとに様に分散しない場合がある。例えば、これは、遠心分離器の回転半径に接して、およびその回転軸に平行に置かれた平面カートリッジにより発生し得る。このような配置は、軌道運動により生成された遠心力と組み合わせられて、カートリッジウェルにわたって非均一にペレットを分散させ得る。いくつかの場合において、遠心分離は、振動運動の軌道の中心に対して、最も外側の位置にペレットを分散させ得る。いくつかの場合において、U字形またはV字形の底部をもつ、ウェルを含むプレートなどの特定の種類のカートリッジは、平らな底部をもつウェルより良好に、遠心分離中のペレットのこのような半径方向の広がりを防ぎ得る。従って、吸引について、各カートリッジウェルにおいてペレットから離れるように吸引ノズルを置くことにより様々なペレット位置を考慮に入れることが典型的には有益である。図5Cは、ペレットの反対側に配置された例示的な吸引ノズル604を示す。

10

【0063】

従って、流体は、ペレットの想定される場所に基づいて、各カートリッジウェル内における異なる位置または領域から吸引され得る。いくつかの場合において、カートリッジの左側に沿ったペレットは、個々のウェルの各々の左側に向けて(例えば6時から12時の位置に(例えば9時から12時の位置に))分散され得、およびカートリッジの右側に沿ったペレットは、個々のウェルの各々の右側に向けて(例えば12時から6時の位置に(例えば12時から3時の位置に))分散され得る。従って、流体は、(例えば12時から6時の位置における(例えば3時から6時の位置における))ウェルの右側に沿った位置の反対側においてカートリッジの左側に沿ってウェルから吸引され得、流体は、(例えば6時から12時の位置における(例えば6時から9時の位置における))ウェルの左側に沿った位置の反対側においてカートリッジの右側に沿ってウェルから吸引され得る。もちろん、本例における特定の場所または領域は例示として提供され、他の構成が可能である。

20

【0064】

遠心分離サブ組立体100は、ウェル内における他の流体または成分からサンプル内の微生物(例えば微生物起源の微生物、(例えば細菌、真菌細胞、古細菌、および原生動物))を分離するように構成される。例えば、遠心分離は、密度勾配に基づいて、サンプル内の微生物をペレット化し得、成長栄養プロスまたは代謝染料リポーター分子を備える結合されない分子から、結合された増幅リポーター分子を含む微生物を分離するために使用され得る。

30

【0065】

図1Bは、磁気捕捉分離システム101を使用する装置を含む試験システム75の別の例示的な一実施形態を示す。磁気分離システム101は、スタンド110の上に配置された磁気分離デバイス111を含む、スタンド110を含み得る。いくつかの場合において、スタンド110は、スタンド110上に位置するカートリッジに軌道または軸方向揺動を伝える振動サブシステム112を含み得る。磁気捕捉スタンド110は、その上に配置されたサンプル内に磁場を生成する1つまたは複数の磁場生成コンポーネントを含み得る。例えば、磁気捕捉スタンド110は、カートリッジのウェルに対応した構成で磁気要素1110の二次元アレイを含み得る。いくつかの実施形態において、磁気要素1110は、試験パネルがスタンド内に配置されたときに試験パネルと嵌合するスタンドにわたって実質的に様に分散され得る。例えば、96個の(または、カートリッジにおける多くのウェルに対応した別の個数の)磁気要素(例えば磁石(例えば円筒磁石))が、各々、96ウェルカートリッジのウェルの下方に置かれ得、24個の円筒磁石が、96ウェルカートリッジのウェル間の隙間空間に置かれ、96個の開放円柱形磁石が各々、96ウェルカ

40

50

ートリッジのウェルの下方に置かれ、ウェル中心の周りにおいて環形状パターンで磁性材料を捕捉する。磁気要素の同様の分布が、384ウェルカートリッジのために使用され得るが、384個の磁気要素を使用する。

【0066】

いくつかの例において、磁気分離デバイス111は、例えば、液体ハンドリングおよび磁気粒子の再懸濁をインサイチュ(in situ)で可能にするために、試験パネルにおけるサンプルに印加される磁場を変更または除去するために退避可能であるように構成され得る。いくつかの例において、磁気スタンド110は、軌道または軸方向振動器ステーション112につながれ(例えば実質的に固定され)得る。例えば、軌道振動器は、中心から外れた回転コンポーネント(例えば偏心カムシステム)を含み得る。軌道振動器は、さらに、複数の軸方向アクチュエータ(例えばx-yテーブル)により形成され得る。いくつかの場合において、培養反応を起こすために、および、揺動を介したエンドポイントアッセイ反応の結合レートを増やすために、追加的な振動器ステーションが含まれ得る。述べられない限り、試験システム75は、本明細書において説明される試験システム50の1つまたは複数の他のコンポーネントまたは機能部を含み得る。

【0067】

図2Aおよび図2Bは、本明細書において説明される試験システム50、75と共に使用され得る例示的なカートリッジを示す。例えば、図2Aは、各々がサンプルを含有し、試験を受け得る96個の個々の器(例えばチャンバ(例えばウェル))を規定する例示的な96ウェルプレート700を示す。いくつかの場合において、プレートは、規格ANSI96ウェルプレートカートリッジであり得る。さらに、図2Bは、試験を受けるためのサンプルを各々が含有し得る384個の個々の器(例えばチャンバ(例えばウェル))を規定する例示的な384ウェルプレートカートリッジ701を示す。いくつかの場合において、プレートは、規格ANSI384ウェルプレートであり得る。いくつかの実施形態において、ウェルプレートカートリッジは、平底カートリッジ、V底カートリッジ、および/またはU底カートリッジを含み得る。いくつかの場合において、カートリッジは、透光性または非透光性であり得るポリスチレンから作られ得る。96ウェルおよび384ウェルカートリッジが本明細書において主に説明されるが、他の例が可能である。例えば、カートリッジは、少なくとも2個、4個、6個、8個、12個、24個、48個、96個、192個、384個、1536個以上のウェルなどの任意の数のウェルを含み得る。

【0068】

本明細書において説明されるように、カートリッジは、チェックポイントアッセイ、代謝アッセイ、および1つまたは複数のエンドポイントアッセイなどの複数の試験シーケンスを行うために、様々な組み合わせの流体を含有するために使用され得る。いくつかの場合において、カートリッジは、チェックポイントアッセイを円滑化するために使用されるウェルのセット、およびエンドポイントアッセイを円滑化するために使用されるウェルのセットを含み得る。例示として、いくつかの実施形態において、一時的に図18を参照すると、カートリッジ1700が行および列に構成されたウェルのアレイを含み得る。カートリッジ1700は、対照ウェル1710cのセットと抗菌薬試験ウェル1710tのセットとを含み得る。図18に示す例において、対照ウェル1710cのセットは、2つのウェルを含み、試験ウェル1710tのセットは、プレートに沿ったウェルの残部を含み得る。いくつかの実施形態において、対照ウェル1710cのセットは、1つのウェルが成長ウェル1710gであり、別のウェルが非成長ウェル1710ngである少なくとも2つのウェルを含み得る。以下で詳細に説明されるように、いくつかの実施形態において、サンプル内の微生物が培養期間中にプロス内で成長し得るように、成長ウェルは、プロスとサンプルとの組み合わせを含むか、またはプロスとサンプルとの組み合わせを含むように接種され得る。典型的には、抗菌薬は、成長ウェルに添加されない。これに対し、いくつかの実施形態において、非成長ウェル1710ngは、サンプルを含まないプロス(すなわち、サンプルからの微生物の存在しないプロス)を含むか、またはサンプルを含まないプロス(すなわち、サンプルからの微生物の存在しないプロス)を含むように接種さ

10

20

30

40

50

れ得る。典型的には、抗菌薬はまた、非成長ウェルに添加されない。従って、培養期間中、非成長ウェルは、微生物が中で成長し得る成長ウェルと比べてベースラインとして機能し得る。

【0069】

試験ウェル1710tは、様々な組み合わせのサンプル、および感受性が分析され得る対象となる様々な種類および濃度の抗菌薬のうちの任意のものを含み得る。いくつかの場合において、ウェルの行が特定の抗菌薬に割り当てられ得、その抗菌薬の濃度は列間で変化し得る。例えば、カートリッジは、各ウェルが左から右により高い濃度のペニシリンを含有する、ペニシリンを含有するウェルの行を含み得る。

【0070】

もちろん、他の例が可能である。例えば、異なるウェルおよびウェルのセットが、カートリッジに沿った様々な場所のうちの任意の位置に配置され得る。さらに、ウェルの異なるセット（例えば対照ウェルおよび試験ウェル）は、カートリッジに沿ったより多くの、またはより少ない個々のウェルを含み得る。さらに、いくつかの場合において、試験中にすべてのウェルが使用/占有されるわけではない。

【0071】

抗菌薬希釈系列は、サンプルのプレート接種前に、凍結され、乾燥され、または新たに用意され得る。いくつかの場合において、カートリッジの接種は、手作業により、または自動システムを使用することにより実施され得る。新たな抗菌薬プレートの場合などのいくつかの例において、自動液体ハンドリングシステムが抗菌薬希釈系列を含むカートリッジを用意するために使用され得る。接種工程は、当技術分野における従来技術であり得る様々な工程のうちの任意の工程を含み得る。

【0072】

消耗品コンポーネント

図3に示されるように、システム50内における液体処理のために使用される1つまたは複数の試薬が、消耗品トレイ750内に貯蔵され得る。消耗品750は典型的には、トレイ751とカバー752とを含む。消耗品の内部は、環境から、例えば水分から、光から、および蒸発から消耗品の内容物を保護する封止層（例えばホイル）753により封止され得る。ホイル753は、液体ハンドリングシステムにより穿孔されるか、またはユーザーにより除去され得る。トレイ751は、1つまたは複数の試薬トラフ754、1つまたは複数の洗浄トラフ755、および1つまたは複数のピペット先端保持器756を含む。消耗品750は、適切な量（例えば容量）の流体、および複数の試験シーケンスを実行するために必要とされる他の消耗品（例えばピペット先端/ノズル）を提供するように構成され得る。いくつかの実施形態において、消耗品750は、システム当たり1日当たり少なくとも10（例えば少なくとも約20 - 100）個のカートリッジに十分な、十分な試薬および消耗品を含み得る。いくつかの実施形態において、試薬は追加的に、または代替的に、より大きい容量でボトルに貯蔵され得る。試薬を保持するための消耗品750および/またはボトルの両方が冷却され得る。いくつかの場合において、冷却は、試験システム内において実施され得る。いくつかの場合において、新たに装填された試薬消耗品750またはボトルの各々が、システム内への装填前またはシステム内への装填中に読み取られる（例えば走査される）識別情報（例えばバーコード）を含み得る。いくつかの例において、システムは、消耗品が空である（すなわち、試験シーケンスを実施するための十分な容量の試薬が不足している）場合、または内容物が期限切れとなった場合、ユーザー（例えばオペレーター）に通知し得る。このような場合において、システムは、新たな消耗品750を装填するようにユーザーを促し得る。

【0073】

消耗品750は、アッセイ性能に実質的に影響を与えずに、保管寿命（例えば最大約6月）にわたってある温度範囲（例えば約0 から約10 の間（例えば公称約4 ））にわたる保管に耐えるように設計および構成され得る。いくつかの実施形態において、消耗品は、（例えば消耗品に入らないように光を遮蔽するために）光からの十分な保護を提供

10

20

30

40

50

し得る。例えば、いくつかの場合において、消耗品は、非透光性であり得る。これは、感光性で、長期間にわたって露出されたとき劣化し得るいくつかの試薬を保存するために役立つ。いくつかの実施形態において、消耗品は、アッセイ性能に実質的に影響を与えずに最大約12時間にわたって35環境で使用可能であり得る。いくつかの場合において、12時間は、典型的な10時間のシフトと2時間の余裕に対応し得る。

【0074】

いくつかの実施形態において、図4に示される例などにおいて、装填引き出し300は、システムにカートリッジ700および/または消耗品トレイ750を装填するために使用され得る。装填された後、ロボットシステム200は、様々なサブシステム間においてプレート700を動かす。試薬消耗品トレイ750が使用される場合、消耗品750は、カートリッジ700と共に引き出し300に装填されて、システム内の適切な地点までロボット把持器により動かされ得る。いくつかの例において、消耗品750は、カートリッジ700と実質的に同様の寸法となる(例えば占有領域をもつ)ように構成され、このことが、装填および取出しシステム、ならびにロボット把持器システムを簡略化し得る。

10

【0075】

流体ハンドリングシステム

図5Aおよび図5Bを参照すると、試験システムは、個々にまたは組み合わされて、カートリッジに対しておよびカートリッジから流体を送達および引き抜くようにされ得る様々なコンポーネントを含む流体処理組立体601を含み得る。いくつかの実施形態において、流体処理組立体は、(図1Aおよび図1Bに示される)独立した多軸ロボットシステム600に搭載され、試薬送達コンポーネント(例えばノズル)602、サンプル洗浄コンポーネント(例えばノズル)603、およびサンプル吸引コンポーネント(例えばノズル)604を含む。流体ハンドリングコンポーネントおよびノズルは、ピペットデバイス(例えば単一チャンネルおよび/または多チャンネルピペットヘッド)、または様々な他の種類のマニホールドのうちの任意のものを含み得る。いくつかの実施形態において、流体処理組立体は、試薬に割り当てられた4つと、緩衝剤に割り当てられた3つとを含む、供給される液体の各々(例えば試薬、洗浄緩衝剤など)に対して独立した(例えば非多重)流体経路を含む。

20

【0076】

各試薬および緩衝剤流体の移送のために、流体処理組立体601が対象最大期間内にウェル当たり特定の対象容量を供給するように構成される。例えば、96ウェルカートリッジの場合、流体は、約20秒未満で供給され得る。いくつかの場合において、この期間は、液体が第1のウェルを充填し始めた時点から液体がカートリッジの最後のウェルを充填し終えた時点までと規定され得る。いくつかの例において、流体の供給は、8チャンネルマニホールドを含む5マイクロリットルの蠕動ポンプカセットを使用して約10秒未満で完了され得る。384ウェルカートリッジの場合、流体は、約80秒未満で供給され得る。

30

【0077】

単なる例示として、いくつかの実施形態において、流体処理組立体601は、カートリッジにわたって一様に以下の公称容量の各アッセイ液を供給し得る。

40

【0078】

【表 1】

| 液体 | 容量(μl) —96ウェル マイクロウェル プレート | 容量(μl) —384ウェル マイクロウェル プレート |
|---------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 試薬 C | 10 | 5 |
| 試薬 A | 10 | 5 |
| 試薬 B | 10 | 5 |
| アッセイ緩衝剤 | 100 | 50 |
| 洗浄緩衝剤 | 200 | 100 |
| ブラスト緩衝剤 | 100 | 50 |

10

【0079】

様々な流体処理公差のうちの任意のものが達成され得る。例えば、いくつかの実施形態において、流体処理組立体601は例えば、公称の+/-3%の正確さで、および変動係数(CV: coefficient of variation)3%の精度で緩衝液を供給し得る。流体処理組立体はさらに、例えば公称の+/-2%の正確さで、およびCV2.5%の精度で試薬液体を供給し得る。流体処理組立体は、いくつかの実施形態において、正確さおよび精度を達成するために異なる供給技術を使用して試薬および緩衝液を供給し得る。例えば、供給は、1つの共通入口を含む多チャンネルマニホールド、または並列に供給される個々のチャンネルを含む多チャンネル流体移送(例えば空気、水、または油)ヘッド(例えばピペット)を使用して実施され得る。

20

【0080】

流体処理組立体601は、使用中にディスペンサーノズルによりカートリッジウェル内の液体に触れないようにさらに構成され得る。いくつかの実施形態において、システムは、ディスペンサーノズルにおける詰まりまたは残留物の蓄積を防ぐために必要とされる定期クリーニングを実質的に自動的に(例えば自動的に)実施するように構成される。

【0081】

様々なハンドリングコンポーネントを通した流体の送達は、1つまたは複数のポンプ搬送デバイス(例えば容積移送式ポンプ、排気ポンプ、シリンジデバイス、蠕動ポンプ、および/またはダイヤフラムポンプ)により駆動され得る。ポンプ出口から、流体が、(ポンプからの)1つまたは複数の流体入口と、1つまたは複数(例えば1、8、12、16、96、または384個)の流体出口とからなるマニホールドを通して供給され得る。1つまたは複数のポンプ(例えば1、2、8、12、16、96、384)と組み合わせられたこのようなマニホールドは、同時にまたは「ストリップ」(例えば連続したまたは交互配置されたマイクロプレートの行または列)で、1つまたは複数(例えば1、8、12、16、96、384個)のマイクロプレートウェルに流体を供給し得る。適切な流体システムは、Accel Biotech of Los Gatos, California, US; Hamilton Robotics of Reno, Nevada, US; Tecan of Maennedorf, Switzerland; または Beckman-Coulter of Brea, California, USなどの企業により製造され得る。

30

40

【0082】

把持器およびロボットシステム

様々なサブ組立体間においてカートリッジを動かすこと、または処理するためにカートリッジにカバーをすること、および本明細書において蓋の除去と呼ばれるカバーを外すことなどのカートリッジハンドリングは、3軸ロボット把持器などのロボットハンドリングコンポーネントを使用して行われ得る。後述のように、把持器は、遠心分離器100、振動培養器400、光学読み取り体500、および液体ハンドリング601サブシステムに対する、および、遠心分離器100、振動培養器400、光学読み取り体500、および液体ハンドリング601サブシステムからの、実質的に自動化された装填および取出しを

50

可能にする。より速い光学的分析および読み取りのために、光学システムのコンポーネントは、例えば、より良好な集光を可能にするために、光ファイバおよび適切な光学要素を使用して把持器ヘッド501につながれ得る。

【0083】

一時的に図17を参照すると、把持器（例えば把持機構）201は、把持コンポーネント（例えば角度制御アーム）203のペアを含み得る。アーム203は、連結部材205によりアームを関節運動させる伝達棒207に接続され得る。伝達棒207は、リニアアクチュエータ（例えば親ねじ機構を駆動するステッピングモーター）209により駆動されて、回転軸211を使用して閉じる（例えば挟み込む（例えばクランプする））運動により把持器アームの自由端（例えば遠位端）を動かし得る。例えば、いくつかの実施形態において、アクチュエータは、アクチュエータに向けて伝達棒207を引き、回転軸211の周りでアーム203を回転させてアームを閉じ得る。アクチュエータはさらに、アクチュエータから離れるように伝達棒207を押し、回転軸211の周りでアーム203を回転させてアームを開き得る。他の種類の連結構成が可能である。閉じる運動は、アームを関節運動させて、実質的に平行な配向（例えば閉じたまたは把持された位置）でアームの自由端を置き得、把持器が物体をつかむこと、および保持することを可能にする。いくつかの実施形態において、アーム203は、保持されるコンポーネントの様々な面を把持および保持して、保持されるコンポーネントが把持器から滑り落ちる可能性を減らすことに役立つ1つまたは複数の保持要素215を含み得る。例えば、保持要素は、凹凸のあるまたはゴムの面（例えばゴム脚）を含み得る。いくつかの場合において、アームおよび保持要素の位置およびクランプ力は、調節可能であり得る。

【0084】

この把持器機構は、この把持器機構が接続され得るロボットハンドリングコンポーネントから独立した、またはこの把持器機構が接続され得るロボットハンドリングコンポーネントの一部として、縦方向（例えばz軸）の移動を円滑化するように構成されたシステムを追加的に含み得る。把持器アーム203は、（例えば開いた、または閉じた）特定の開始位置まで（例えば直線ばね機構（例えば、ばね）を使用して）受動的にバイアスされ得る。

【0085】

把持器201は、1つまたは複数のツールまたはシステムのための搭載場所213をさらに含み得る。例えば、いくつかの例において、光学システムは、光ファイバ光学読み取り器がウェルを精査し得るように搭載場所に搭載され得る。搭載場所213は、把持器に、またはロボットアームに直接接続された1つまたは複数のガイドロッド217を使用して把持器201につながれ得る。

【0086】

把持される物体は、カートリッジ蓋、把持器アクセサリ（例えば他の把持器、例えばカートリッジリフティングデバイス（例えば後述の搬送システム1200およびリフティングフィンガー1202））、またはカートリッジ自体を含み得る。いくつかの場合において、カートリッジが遠心分離システム内に下げられ得るように、把持器アーム203がカートリッジを把持する、およびハンドリングするように構成され得る。

【0087】

培養システム

カートリッジにおける試験されるサンプルの培養は、本明細書において説明される表現型抗菌薬感受性試験システムの重要な側面であり得る。いくつかの例において、培養器温度は、例えば摂氏約45度以下（例えば摂氏約35度未満（例えば摂氏約33度から摂氏約35度まで（例えば摂氏35度）））において一定の温度に保持され得る。培養器温度は、加熱器、空気循環システム、および適切な空気指向機能部（例えば配管）により制御され得る。熱は、これらの加熱器から、または、対流、伝導、放射、または移流などの他の技術の組み合わせを使用してカートリッジに伝搬され得る。摂氏約35度より高い温度が、成長速度を上げ得るが、オキサシリンなどのいくつかの抗菌薬を妨げるか、または負

10

20

30

40

50

の影響を与え得ることが想定される。しかし、これらの抗菌薬が存在しない試験パネルを含む場合などのいくつかの実施形態において、培養は、より高い温度において実施される。さらに、ガスおよび周辺のガスの存在などの他の状態が、培養のために制御され得る。例えば、いくつかの実施形態において、培養システムは、周辺空気、嫌気状態、または最大10%のCO₂などの、微生物の成長を促進する培養のための所望の状態を生成するように構成される。

【0088】

さらに、軌道または軸方向振動などのカートリッジおよびカートリッジ内のサンプルの揺動が、微生物のより良好な酸素供給、および成長培地（例えば液体、固体、または半固体培地）内の栄養物への一様な露出を促進するために、培養中に使用され得る。揺動は、1 - 100%の特定の規定のデューティサイクルで定期的実施される1つまたは複数の（例えば1、2、3、4、5、6）軸方向に直線の、軌道（例えば円形、楕円形など）を描く、または半軌道の運動からなり得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは機械的揺動、音響的揺動、および/または磁氣的揺動により揺動される。いくつかの場合において、機械的揺動は軌道振動である。揺動の速度および変位量は、追加的な性能のために試験パネル構成に対して特に最適化されるように調節（例えば最適化）され得る。例えば、384ウェルカートリッジなどのより小さいウェル寸法（例えば直径）をもつ試験パネルは、96ウェルカートリッジの場合などのより大きいウェルと比べて、（軌道揺動の場合には）より高い振動数、およびより小さい直径の軌道で実施される揺動により利益を受け得る。揺動におけるこの変更は、プレート形状が変わったときにカートリッジウェル内の液体をウェル内において滑らかに渦を巻くように維持するために有用であり得る。

【0089】

揺動は、本明細書において使用される場合、当業者が混合すると理解することをもたらすには概して不十分な程度の生成された運動を表し得ることに留意されたい。すなわち、溶液の混合は溶液の空気混和を促進することにより、大きい容量の成長溶液（例えば > 10 mL）において微生物の成長レートを高めることが当業者によりよく理解される。横寸法 < 12 mm のウェルを備えるカートリッジにおいて、ブロス微量希釈ASTアッセイが一般的に実施される。例えば、一例において、横寸法 < 12 mm のウェルにおいて適切な混合を達成するためには、軌道振動の振動数は少なくとも毎分500回転（rpm）である。しかし、これらの振動数は、微生物における大きい歪みおよび剪断に起因して、横寸法 < 12 mm のウェルにおける微生物の成長を阻止し得る。

【0090】

いくつかの実施形態において、本方法は、溶液の混合を達成するには不十分な振動数または半径でカートリッジを揺動することにより微生物の成長を促進することを提供する。軌道または軸方向振動などのカートリッジおよびカートリッジ内のサンプルの攪拌が、微生物のより良好な酸素供給および成長培地内の栄養物への一様な露出を促進するために、培養中に使用され得る。驚くことに、混合を誘起するに満たない振動の振動数および半径が、微生物の成長レートを高めることが見出された。

【0091】

いくつかの実施形態において、溶液の混合を達成するには不十分な振動数または半径でカートリッジを揺動することは、カートリッジの揺動を伴わない微生物の成長と比較して、カートリッジの揺動を伴う微生物の成長との間により大きい成長比をもたらし得る。

【0092】

様々な培養器の設計が、本明細書において説明される試験システムにおいて実現される。例えば、図6Aおよび図6Bに示される、複数のカートリッジがスタックされて一度に処理され得る大容量小型システムを可能にする小型の入れ子形式の培養器の設計である。いくつかの実施形態において、入れ子構成は、個々のカートリッジ貯蔵チャンバ（例えば入れ子部）414を形成する1つまたは複数の側壁412を含むフレーム410を含み得る。いくつかの場合において、貯蔵チャンバは、カートリッジに対応する（例えばカートリッジを収容するためにわずかに大きい）占有領域をもつように構成され得る。いくつ

10

20

30

40

50

かの例において、フレーム 4 1 0 および / または個々の貯蔵チャンバ 4 1 4 は、その中に配置されたカートリッジのより一定の（例えば一様な）より速い加熱を提供するために加熱され得る。いくつかの例において、入れ子部 4 1 4 の各々は、互いに重なってスタックされた 4 つのプレートを受容するように寸法決めされ、および構成される。しかし、入れ子部の寸法に応じて他の数のプレートが収容され得る。いくつかの実施形態において、培養器は、少なくとも 10 カートリッジの容量をもち得る。カートリッジは、カートリッジ間に配置された分離コンポーネント（例えばセパレータ（例えば熱伝導性セパレータ））を含んで、または含まずにスタックされ得る。例えば、いくつかの場合において、1 つまたは複数の熱伝導性材料から形成された分離コンポーネントが、より均一でより速い加熱のためにカートリッジ間に配置され得る。いくつかの場合において、本明細書において説明されるシステムおよび方法は、いくつかの従来システムより速い試験およびより多くのカートリッジの試験をもたらす得る。例えば、いくつかの実施形態において、試験システムは、約 1 時間に少なくとも 4 カートリッジ、約 1 時間に少なくとも 6 カートリッジ、約 1 時間に少なくとも 8 カートリッジ、および / または約 1 時間に少なくとも 10 カートリッジのスループットをもたらす得る。いくつかの実施形態において、試験システムは、同日シフト当たり少なくとも約 50 カートリッジ、および / または同日シフト当たり少なくとも約 100 カートリッジのスループットをもたらす得る。

10

【 0 0 9 3 】

いくつかの実施形態において、カートリッジはシステム内に装填する前に、例えば、培養器の動作温度にあたる温度、または培養器の動作温度付近の温度まで予熱される。例えば、いくつかの場合において、予熱は、プレートとのより良好な熱的接触を可能にする表面構造をもつ熱伝導性材料（例えば金属プレート）を使用して急速に実施され得る。いくつかの場合において、予熱は、加熱器（例えば赤外線加熱器、電磁加熱器（例えば電磁放射（例えばマイクロ波）））を使用して実施され得る。いくつかの実施形態において、加熱は、試験システム内において、例えば、装填ステーションにおいて実施され得る。

20

【 0 0 9 4 】

上述のように、培養中のより良好な（例えばより迅速で安定した）成長は、カートリッジウェルにわたる酸素供給および成長培地栄養物のより良好な分散を可能にする手法でサンプルを揺動することにより達成され得る。様々な揺動システムのうちの任意のものが、サンプルに運動を伝えるように実現され得る。例えば、図 6 A および図 6 B において、ドライバシステム 4 2 0 が、軌道運動を伝えて円運動でサンプルを振動させるために使用され得る。いくつかの場合において、ドライバシステム 4 2 0 は、フレーム 4 1 0 の運動の軌道速度および半径を制御し得る。いくつかの場合において、軌道速度および半径は、様々な異なる速度および半径を達成するために可変（例えば調節可能）であり得る。さらに、いくつかの場合において、軌道速度および / または半径は、稼働中に可変であり得る。例えば、サンプルの軌道揺動の半径（例えば軌道半径）は、約 25 mm 未満（例えば約 1 mm から約 12 mm（例えば約 1 mm から約 10 mm（例えば約 1 mm から約 8 mm（例えば約 1 mm から約 3 mm（例えば約 2 mm から約 3 mm）））））であり得る。ドライバシステム 4 2 0 は、モーター、ベルト、ギア、カム、または他の電気機械コンポーネントの様々な組み合わせのうちの任意のものにより駆動され得る。いくつかの場合において、運動の軌道速度および半径は、異なるパネルの形式および試験されるサンプルに対して、ユーザーにより調節可能および調節（例えば最適化）され得る。例えば、いくつかの例において、384 ウェルプレートは約 4 ミリメートルの直径をもつ軌道に沿って揺動され得、96 ウェルプレートは約 8 ミリメートルの直径をもつ軌道に沿って揺動され得る。

30

40

【 0 0 9 5 】

軌道の直径に加えて、軌道回転速度がさらに微生物の成長レートに影響を与え得る。例えば、軌道振動は、毎分約 50 回転より大きい振動数で起こる。いくつかの例において、軌道振動は、毎分約 350 回転（rpm）より大きい振動数で起こる。いくつかの例において、軌道振動は、毎分約 750 回転未満の振動数で起こる。いくつかの例において、軌道振動は、毎分約 150 回転の振動数で起こる。例えば、約 150 rpm から約 650 r

50

p mの間の速度が、許容可能なレートの微生物の成長を促進することが示される。

【0096】

いくつかの実施形態において、軌道振動は、毎分約50回転より大きい振動数で起こる。いくつかの例において、軌道振動は、毎分約350回転より大きい振動数で起こる。いくつかの例において、軌道振動は、毎分約750回転未満の振動数で起こる。いくつかの例において、軌道振動は、毎分約150回転の振動数で起こる。いくつかの実施形態において、半径（例えば軌道半径）は、約2mmより大きいものであり得る。いくつかの実施形態において、半径は、約25mmであり得る。

【0097】

いくつかの場合において、培養時間にわたって連続的に実施されることはカートリッジの揺動に必要でない場合があるが、少なくとも10%のデューティサイクルが有益であり得る。

10

【0098】

培養器入れ子部414は、上部または側部などの様々な異なる場所からアクセスされ得る。いくつかの場合において、図7A - 図7Cを参照すると、アクチュエータ（例えばリニアアクチュエータ）440が、上部から、側部から、または貝殻構成で入れ子部を開けるために使用され得る。例えば、アクチュエータ440は、カートリッジをカバーする（例えば貯蔵チャンバ414内においてカートリッジを囲む）ために使用される蓋450を駆動するように構成され得る。

【0099】

20

カートリッジは、さらに他の構成で収容され得る。例えば、いくつかの実施形態において、マルチレベル培養器（例えば多フロア（例えばホテル形式）の培養器）が使用される。図8A - 図8Dを参照すると、ホテル形式の培養器760A、760B、760C、760Dは、1つまたは複数のカートリッジ保持トレイ（例えばフロア）765を含み得、カートリッジ保持トレイ765により異なるカートリッジ700がアクセスされ得る。フロア765は、任意の様々な異なる数のカートリッジ700を保持するように構成され得る。例えば、各フロアは、1つから4つ（以上の）プレート700を収容し得る。

【0100】

描かれるように、培養器は、様々なフロア上のカートリッジがアクセスされ得るように様々なフロアの動きを駆動する移送機構（例えばアクチュエータ）を含み得る。例えば、カートリッジがサンプル分離または光学的分析などのシステムによる処理のために除去され得るように、アクチュエータがフロアのうちの1つまたは複数を選択的に押し、ホテルを開いてフロアを滑り出させ得る。図8Aおよび図8Bを参照すると、培養器は、フロア765のためのリニアアクチュエータ770Aを含み得る。図8Cおよび図8Dを参照すると、培養器は、培養器の扉またはカバーを開き、および閉じるための相補的なねじ山付ナットに係合されたねじ山付ロッドに接続されたサーボまたはステッピングモーターなどの、回転をベースとしたアクチュエータ770Bを含み得る。アクチュエータ770Bがねじ山付ロッドを回転させるとき、ナットがアクチュエータに向けて、およびアクチュエータから離れるようにロッドに沿って軸方向に移動し得る。いくつかの場合において、システムは、フロアが概して固定されたまま留まるように構成され得、ロボット把持器は、培養器内に達するように、およびカートリッジを回収するように構成される。

30

40

【0101】

システムは、概して、培養器に関係してサンプルの揺動（例えば振動）を実現すると説明されるが、他の例が可能である。例えば、いくつかの実施形態において、試験システムは、1つまたは複数の独立型の揺動サブ組立体を含み得る。そうではないと述べられない限り、独立型の揺動サブ組立体は、培養器に関係した本明細書において説明される揺動システム（例えばアクチュエータ770Aまたはアクチュエータ770B）を含み得る。

【0102】

いくつかの実施形態において、各フロアは、独立した温度制御および温度フィードバックを含む。温度監視システム（例えば熱電対、サーミスター、または半導体ベースの温度

50

センサー)が、温度フィードバックのために使用され得る。いくつかの場合において、比例-積分-微分(PID: proportional-integrative-derivative)制御装置が、温度を制御するために使用され得る。特定の抗菌薬が摂氏35度より高い温度で安定ではないので、典型的には適切な加熱レートを達成するために、および温度変動(例えば目標温度付近での振動)を減らすために、比例(P)、積分(I)、および微分(D)の利得が最適化される。いくつかの実施形態において、温度制御は、高温の空気を循環させることにより対流により達成され得る。いくつかの場合において、対流と伝導加熱との両方が使用され得る。追加的に、または代替的に、カートリッジからの液体蒸気を低減(例えば最小化)するために、相対湿度が制御され得る。例えば、システムは、カートリッジにおけるウェルからの蒸発を、3時間などのある期間にわたって、初期液体容量に等しい値か、または初期液体容量の約2%未満に制限するように構成され得る。いくつかの実施形態において、システムは、培養器内の湿気を約80%の約+/-10%内に制御し得る。

10

【0103】

サンプル分離

いくつかの実施形態において、例えば上述の遠心分離サブシステム100または磁気分離サブシステム101を使用して微生物の表面から結合されない増幅器を分離するために、分離(例えば遠心分離)ステップが使用される。遠心分離は、微生物および周辺の流体の密度の差を利用して、微生物ペレットを生成する。当業者が理解するように、これらの分離方法は、100から20,000gの相対遠心力(RCF: relative centrifugal force)を使用し得る(式中、gは地球の重力加速度)。RCFがより大きいほど、分離のために典型的に必要とされる時間が短い。カートリッジが物理的に劣化する、例えばチップングまたは破壊を起こす可能性を減らすために、96または384マイクロウェルプレートなどのカートリッジに対する典型的な天井値(例えば最も高い想定される妥当な値)は約5,000gである。いくつかの実施形態において、遠心分離サブシステムは、約2,000gから約5,000g(例えば約2,500gから約4,000g(例えば約2,500g))であり得る遠心分離システムにおいて生成される所望の相対遠心力を生成し得る。いくつかの実施形態において、遠心分離は、少なくとも2.5分にわたって実施され得る。いくつかの場合において、2.5分は、例えば約45秒であり得る所望の遠心分離速度を達成するまでの期間(例えば上昇期間)を含み得る。遠心分離システム設計となるように分離システムを構成することは、カートリッジを装填しおよび取出すためにロボット把持器により、より簡単にサンプル(例えばカートリッジ)がアクセスされることを可能にし得る。これは、サンプル処理の完全自動化を可能にするために役立つ。いくつかの実施形態において、遠心分離システムは、(例えば互いに重ねてプレートをスタックすることにより)遠心分離器回転子の位置当たり複数のプレートを収容するように構成され得る。このようにスタックすることは、4位置遠心分離器において少なくとも4カートリッジの、および最大16カートリッジの同時の遠心分離を可能にする。いくつかの場合において、奇数個のカートリッジが処理される場合、1つまたは複数のバラストプレートが、遠心分離器の平衡をとるために使用され得る。本明細書において説明される試験システムに適合するように変更され得る、および本明細書において説明される試験システムと共に実現され得る、ロボット装填機に適合し得る市販の遠心分離器は、Hettich Lab Technology of Beverly, Massachusetts and Tuttlingen, Germany, US; Bionex Solutions, Inc. of San Jose, California, US、およびAgilent Technologies of Santa Clara, California, USにより作製される。

20

30

40

【0104】

代替的に、または追加的に、本明細書において説明されるように、いくつかの実施形態において、微生物のペレット化は、磁気分離を使用して実現され得る。例えば、適切な表面機能化を施したナノメートルおよび/またはマイクロメートルの寸法であり得る磁気粒

50

子が、微生物の表面に結合するように添加され得る。エンドポイントアッセイの結合は、磁気粒子の結合（競合アッセイ）と同時に、または磁気捕捉後（ペレットに結合しているとき、または溶液内における再懸濁後）に行われ得る。いくつかの場合において、磁気捕捉は、再懸濁を可能にするために退避可能であり得、軌道または軸方向揺動を可能にするスタンド内に組み込まれ得る。代替的に、または追加的に、いくつかの場合において、分離は、真空ろ過を使用して行われ得る。代替的に、または追加的に、いくつかの場合において、分離は、結合されないプローブを分離するために必要でない場合がある。

【0105】

光学システム

本明細書における試験システムは、カートリッジにおける微生物の成長を調査する光学システムを含む。例えば、光学システムは典型的には、励起光源、1つまたは複数のフィルタ、集光光学素子、および1つまたは複数のディテクタを含む。いくつかの実施形態において、光信号は、光電子増倍管（PMT: photomultiplier tube）の形態のディテクタを使用して測定され得る。PMTの利得は、広いダイナミックレンジを可能にするために、カートリッジ内の対照ウェルから検出された光信号に基づいて調節される。

10

【0106】

励起光源は、様々な発光コンポーネントのうちの任意のものを含み得る。例えば、いくつかの実施形態において、励起光源は、キセノンランプを含み得る。可能な励起光源の他の例は、タングステンハロゲンランプ、発光ダイオード（LED）、およびレーザーなどの広帯域光源を含み得る。

20

【0107】

励起および放射のためのフィルタ処理またはモノクロメーター（例えば回折格子）のセットは、試験において使用される試薬、および適用される増幅のための化学的要素に従って設計および構成され得る。例えば、レザズリンが使用されるいくつかの場合において、励起フィルタは、約560nmの波長の光を使用してサンプルを励起するために使用され得る。およびエミッションフィルタは、（例えばレゾルフィンへの還元後）約590nmにおいてサンプルから放射された光を検出するために使用され得る。別の一例において、ランタニドベースの増幅器が使用される場合、時間分解蛍光（TRF: time-resolved fluorescence）または時間ゲートルミネセンス（TGL: time-gated luminescence）が使用され得る。別の一例において、ユウロピウム（例えばユウロピウムクリプタート）が使用される場合、励起フィルタは、約330nmの波長の（例えば80nmの波長帯域をもつ）光を使用してサンプルを励起するために使用され得、エミッションフィルタは、約615nm（例えば10nmの帯域幅）においてサンプルから放射された光を検出するために使用され得る。TGLは、ランタニドリポーター分子の長い寿命を理由として、測定のために短パルスと遅延した時間窓とを使用するので、典型的には励起とディテクタとが同期される。例えば、ユウロピウムの場合、励起光源の減光とサンプルにより放射された光を測定することの開始との間に100-200マイクロ秒（ μs ）の遅延が使用され得る。例えば、サンプルにより放射された光を測定する200-600 μs の期間（すなわち、積分窓）が使用され得る。

30

40

【0108】

光ディテクタ（例えばPMT）のための読み取り電子機器が、アナログ出力とデジタル出力との両方を可能にし得る。両方のモードにおいて、PMTの電流出力は、可変増幅を可能にし得るトランスインピーダンス増幅器を使用して変換される。デジタルモードにおいて、増幅器の出力は、可変閾値をもつ比較器（例えば弁別器）と、入力信号を後で計数され得るデジタルパルスの信号（例えば矩形波）に変換するパルス整形器とに送られ得る。このデジタル信号は、様々なデジタル電圧レベルの慣例に従い得る（例えばTTL、CMOS）。生成されたデジタルパルスの数は、従って、ディテクタに到達する光子の数に対応する。独立したフォトダイオードが入射光エネルギーに対して光子カウント数を正規化して、（例えばダイクロイックミラーを使用して入射光を分割することによる）励起パ

50

ルス間における変動を最小化するために使用され得る。代替的に、または追加的に、いくつかの実施形態において、光ディテクタはCCDセンサー、CMOSセンサー、アバランシェフォトダイオード、もしくはシリコン光電子増倍管、または複数のウェルの同時読み取りのためのそれらのアレイである。いくつかの実施形態において、PMTからの電流出力は、後にデジタルイザラが続くゲート制御された電荷積分器に送られ得る。積分窓中に積分された信号は、サンプルから放射された入射光エネルギーに対応する。代替的に、または追加的に、電荷積分器からの出力信号のピーク検出が、サンプルからの放射された光のエネルギーの代用として使用され得る。

【0109】

いくつかの場合において、光ディテクタは、励起時における蛍光と、適切な溶媒に溶解された後、代謝的に還元されてレゾルフィン形成した(すなわち代謝アッセイ)ときの、レザズリンおよび/またはThermo Fisher Alamar Blue (R) 細胞生死判別試薬などの、1つまたは複数の市販の試薬に適合する放射波長および帯域幅とを測定し得る。後述のように、本明細書のシステムは、15 nmの帯域幅をもつ560 nmの励起フィルタと、20 nm帯域幅をもつ590 nmのエミッションフィルタとを含み得る。いくつかの実施形態において、10 pMから100 μMのレゾルフィンの蛍光ディテクタ感度範囲をもつ。いくつかの実施形態において、光ディテクタは、例えば結合アッセイのために40 fMから600 nMのユウロピウムの感度範囲をもち得る。

【0110】

いくつかの実施形態において、光ディテクタは、TGLディテクタのソフトウェア調節可能な利得を特徴とし得る。これは、測定された信号を最適化するために低および高校正器ウェルから離れて位置する各カートリッジのための利得を光ディテクタが自動的に調節することを可能にする。いくつかの場合において、光ディテクタは、低校正器信号がディテクタ範囲の約5 - 10%にあり、高校正器信号がディテクタ範囲の約90 - 95%であるように、高および低校正器ウェルの各々において測定された信号に基づいて、TGLディテクタの利得およびスケールを動的に設定する。これらの2つのウェルは、測定された信号の最小および最大の広がりを表す。校正器の信号範囲のわずかに外部にあり得るウェルの測定を可能にするために、5%および95%が使用され得る。光ディテクタは、約40 fMから約600 nMのユウロピウムの蛍光ディテクタ感度範囲をもち得る。現在、アッセイの化学的要素のための最小の適切な感度は、365 nMのユウロピウムである。しかし、継続したアッセイ最適化と将来におけるAST処理期間の短縮とをサポートするために、365 nMユウロピウム未満の感度が望ましい。

【0111】

ディテクタは、100 μs + / - 10 μsの励起フラッシュ持続期間を使用してTGLを測定するように構成され得る。いくつかの場合において、ディテクタは、励起後、放射を測定する前に200 μs + / - 20 μsの遅延を使用してTGLを測定し得る。いくつかの場合において、ディテクタは、ディテクタにおける放射信号の積分のために300 μs + / - 30 μsの時間を使用してTGLを測定し得る。いくつかの場合において、ディテクタは、励起時のTGLと、水に溶解されたときのCisbioユウロピウムクリプターNH₂に適合する放射波長とを測定し得る。例えば、CisbioユウロピウムクリプターNH₂試薬は、Cisbioパート番号65EU2ABBとして入手可能であり得る。いくつかの例において、光学システムは、80 nmの帯域幅をもつ330 nmの励起フィルタと8 nm帯域幅をもつ615 nmのエミッションフィルタとを使用し得る。いくつかの場合において、ディテクタは、約1.5分未満で96ウェルカートリッジにおけるすべてのウェルのTGLを測定し得る。この期間は、校正器ウェルを測定する、および利得調節を実施する期間を含み得る。いくつかの場合において、ディテクタは、約6.0分未満で384ウェルカートリッジにおけるすべてのウェルのTGLを測定し得る。この期間は、校正器ウェルを測定する、および利得調節を実施する期間を含み得る。いくつかの場合において、ディテクタは、TGL励起と、カートリッジの上部からの放射とを実施し得る。上述のように、これは、非透光性カートリッジの使用を可能にし得る。

10

20

30

40

50

【 0 1 1 2 】

いくつかの実施形態において、本明細書において説明される光学システムは、約 1 . 0 分未満で 9 6 ウェルカートリッジにおけるすべてのウェルの蛍光を測定するように構成され得る。いくつかの場合において、光学システムは、約 4 . 0 分未満で 3 8 4 ウェルカートリッジにおけるすべてのウェルの蛍光を測定するように構成され得る。本明細書において提示および説明される例に示されるように、光学システムは、典型的には、カートリッジの上部（例えばウェルの上方）からの蛍光励起および放射を実施するように構成される。これは、非透光性カートリッジの使用を可能にするために役立つ。いくつかの実施形態において、システムは、同時に複数のウェルからの光を励起および測定するように構成され得る。（例えば 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または 24 個のウェル）。いくつかの実施形態において、システムは、同時に複数のウェルの行の 2 つ以上のセットからの光を励起および測定するように構成され得る。例えば、光学システムは、ウェルの上方に位置する 2 つの行のコンポーネントを含む光学ヘッドを含み得る。いくつかの実施形態において、隣接したウェルの励起および測定が、クロストークを低減（例えば最小化）するために遅延され得る。いくつかの実施形態において、ウェルは、隣接したウェルのクロストークを低減または除去するために非透光性材料から作られ得る。このような場合において、隣接したウェルの励起と放射の測定とが、同時に行われ得る。

10

【 0 1 1 3 】

光学システムは、光の伝達および送信の様々な構成を含み得る。いくつかの実施形態において、図 9 A を参照すると、光学システム 9 0 0 は、放射部 9 1 0 A と励起部 9 1 0 B とを含むファイバ束組立体（例えば分岐したファイバ束）9 1 0 につながれた励起源を含む。分岐したファイバ束は、共通端部に配置された 2 つのファイバ束を含み、他端部において 2 つの足（例えば放射部 9 1 0 A および励起部 9 1 0 B ）に分離し得る。各足において使用されるファイバの種類は、同じであり得るか、または異なり得、用途に基づいてファイバコア径または波長範囲の最適化を可能にする。2 つの独立した光路を含む 2 経路ファイバ組立体 9 1 0 は、リポーター分子の所望の励起および放射波長に応じて、異なる光学フィルタを使用することを可能にする。励起源 9 2 0 からの光は、カートリッジのウェル 7 1 0 内に方向付けされ、適切な光学要素（例えばレンズ）9 7 0 を使用して合焦される。同じ光学システムが、ウェル 7 1 0 から光を集めて、ディテクタ 9 3 0 まで光を案内するために使用され得る。いくつかの実施形態において、光学システムは、カートリッジの複数のウェルを調査する複数のファイバ束を含む光学ヘッドを含む。例えば、光学ヘッドはファイバ束のアレイを含み得、ファイバ束の遠位端は互いに離隔しており、カートリッジのウェルと位置をあわせるように構成される。例えば、光学ヘッドは、ウェルの上方に位置するファイバ束遠位端の 1 つまたは複数の行（例えば 8 つのファイバ束の 2 つの行）を含み得る。適切なエミッションフィルタ 9 4 0 は、ディテクタ 9 3 0 により受信および測定された光の波長を選択またはフィルタ処理するために使用され得る。さらに、適切な励起フィルタ 9 4 1 が、サンプルに向けられた光の波長を選択またはフィルタ処理するために使用され得る。

20

30

【 0 1 1 4 】

一時的に図 1 6 A および図 1 6 B を参照すると、光学システム 9 7 5 は、放射部 9 1 0 A と励起部 9 1 0 B とを含むファイバ束組立体（例えば分岐したファイバ束）9 1 0 につながれた励起源を含み得、光学システム 9 7 5 は、図 9 A において説明および提示されるシステム 9 0 0 と同様であり得る。しかし、いくつかの実施形態において、光学システムは、サンプルの励起またはサンプルからの光の放射のために異なる光の波長を使用する 1 つまたは複数のアッセイを実施するために、光学フィルタを調節または変更するシステムを含む。例えば、システムは、（例えば同時に）励起フィルタとエミッションフィルタとの両方を変更するように構成された割り出しコンポーネント（例えば割り出しホイール）9 7 7 を含み得る。いくつかの実施形態において、ホイール 9 7 7 は、所望の光学フィルタを提供するように実施される 2 つの異なるアッセイ間において割り出しされ得る。いく

40

50

つかの場合において、システムは、励起源 9 2 0 と一列に並んだ第 1 の光学フィルタ（例えば第 1 の励起フィルタ 9 4 1 A）と、光ディテクタ 9 3 0 と一列に並んだ第 2 の光学フィルタ（例えば第 1 のエミッションフィルタ 9 4 0 A）とを選択的に位置決めするように構成された割り出しホイール 9 7 7 に配置された 2 つの光学フィルタ（例えば第 1 の励起フィルタ 9 4 1 A および第 1 のエミッションフィルタ 9 4 0 A）のセットを含み得る。割り出しホイール 9 7 7 は、2 つのフィルタ（例えば第 2 の励起フィルタ 9 4 1 B および第 2 のエミッションフィルタ 9 4 0 B）の他のセットを含み得、割り出しホイール 9 7 7 の割り出し運動が、励起源と一列に並んだ光学フィルタと、光ディテクタと一列に並んだ光学フィルタとを置換する。いくつかの場合において、セットの個々のフィルタは、ホイール 9 7 7 の両側に位置し得る。いくつかの実施形態において、ホイール 9 7 7 は、光学フィルタのセットの最大 6 つの組み合わせを位置決めするための 6 位置割り出しホイールであり得る。割り出しコンポーネントは、様々な速度のうちの任意の速度で、および様々な技術のうちの任意の技術により割り出すように構成され得る。例えば、システム 9 7 5 は、ホイール 9 7 7 を回転させてフィルタを変更するために、例えばベルトによりホイール 9 7 7 につながれたモーター 9 7 9 を含み得る。

【 0 1 1 5 】

他の実施形態が可能である。例えば、図 9 B を参照すると、光学検出システム 9 5 0 は、ロボット把持器を使用してカートリッジが装填され得る同じサブ組立体内において励起、検出、およびデータ処理が実施されるように構成され得る。光学検出システム 9 5 0 は、ウェル 7 1 0 内のサンプルに対する光信号を生成および放射するように構成された光励起源 9 2 0 と、サンプルから光信号を受信するディテクタ 9 3 0 とを含み得る。システム 9 5 0 は、サンプルウェル 7 1 0 に光を方向付けするための反射体（例えばミラー）9 6 0 およびレンズ 9 7 0 のシステムを含み得る。

【 0 1 1 6 】

いくつかの実施形態において、光学サブシステムは、ディテクタが試験パネルの各ウェルを調査することを可能にする x - y ステージ（例えばロボットガントリーまたは平行移動テーブル）を含む。例えば、ディテクタがサンプルの各々を処理するためにカートリッジの異なるウェルのすべての上方に位置し得るように、x - y ステージがディテクタに対してカートリッジを動かし得る。代替的に、または追加的に、ディテクタがカートリッジに対して動く間に、カートリッジは（例えば静的な）定位置に留まるように構成され得る。

【 0 1 1 7 】

各カートリッジは、抗菌薬と、各抗菌薬の規定の 2 倍希釈系列との組み合わせを含有し得る。加えて、各カートリッジは、成長対照ウェル、非成長（汚染物）対照ウェルおよび生理食塩水対照ウェルなどの対照ウェルを含み得る。生理食塩水対照ウェルは、接種材料内の初期微生物濃度に概ね等しい F I T 対照を表し得る。カートリッジは、カバー（例えば取り外し可能な蓋）および識別子（例えばバーコード）と共に、複数のウェル（例えば 9 6 ウェルカートリッジまたは 3 8 4 ウェルカートリッジ）を含み得、識別子は、抗菌薬構成と固有コードを規定し、固有コードは、プレートを規定し、H I P A A に適合する固有のサンプルに関係付けられ得る。M I C および C L S I ブレイクポイントが観測された後、システムは、グラフィカルユーザーインターフェースと、L I M S との通信とを使用してこの結果の可視化を可能にし得る。

【 0 1 1 8 】

いくつかの実施形態において、試験システム 5 0 は、処理されたカートリッジが捨てられ得る独立した廃棄トレイを含む。例えば、エンドポイントアッセイが完了された後、試験パネルが分析（例えば測定）され得る。処理されたカートリッジは、分析後に捨てられ得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、例えば、ロボット搬送システム 2 0 0 を使用して自動的に捨てられ得る。いくつかの実施形態において、処理されたカートリッジは、装填ステーション 3 0 0 に戻すように装填されることにより捨てられ得、装填ステーション 3 0 0 においてユーザーがシステムから処理されたカートリッジを除去して

10

20

30

40

50

、処理されたカートリッジを適切に捨て得る。

【0119】

例示的なシステム

図10は、例示的な抗菌薬感受性試験システム1050の斜視図である。試験システム1050は、システムにおいてサンプルカートリッジ700をハンドリングする(例えばロボット搬送システム1200の)ロボット把持器、1つまたは複数の培養サブ組立体1400、ロボットシステム1600により制御される液体ハンドリングサブ組立体1601、遠心分離サブ組立体1100、および、他の例示的な試験システムに関連して上で説明された様々なサブ組立体およびコンポーネントのうちの任意のものを含み得る。いくつかの実施形態において、システム1050は、カートリッジ配置または保持エリアとなるプラットフォーム(例えばステージングエリア(例えばステージ))1800を含む。例えば、ステージ1800は、培養サブ組立体1400と揺動システム1300との間に配置され得る。いくつかの場合において、ステージ1800は、培養サブ組立体1400などの他のコンポーネントに対して上昇および下降するように構成され得る。例えば、ステージは、1つまたは複数のアクチュエータに搭載され得る。そうではないと述べられない限り、試験システム1050のコンポーネントとサブ組立体とは、他の例示的な試験システムに関連して説明されるコンポーネントと同じまたは同様であり得る。

10

【0120】

図11は、例示的なカートリッジハンドリングコンポーネント1200の斜視図である。上述のように、ロボット搬送システム(例えば3軸ロボットアーム)1200は、1つまたは複数のカートリッジ把持または運搬コンポーネントを含み得る。例えば、いくつかの実施形態において、カートリッジロボット搬送システム1200は、(一部を切り取って示される)カートリッジ700を支持するように寸法決めおよび構成されたリフティングフィンガー1202のセットを含む。フィンガーのセット1202は、カートリッジの動き中に搬送システム1200から意図せず滑り落ちないようにカートリッジを制限する1つまたは複数の横方向カートリッジ位置決め機能部(例えば縦隆起部)1204を規定し得る。フィンガーは、互いに実質的に平行に位置し、カートリッジが上に置かれる1つまたは複数の面を提供するように離され得る。いくつかの場合において、フィンガーは、少なくとも約2インチ(例えば少なくとも約3インチ)ぶん離され得る。いくつかの場合において、位置決め機能部1204は、カートリッジの占有領域に対応する占有領域をもつ開口(例えばプラットフォームの窪み)1208を規定するように位置し得る。例えば、各フィンガー1202は、その最も外側の側縁部に沿った位置決め機能部1204を含み得る。

20

30

【0121】

実際には、搬送システム1200およびリフティングフィンガー1202は、システム内においてカートリッジを把持およびハンドリングするフォークリフトとして機能し得る。いくつかの実施形態において、リフティングフィンガー1202は、カートリッジの下方における滑動に寄与する先端からの斜め部または傾斜部を含む。いくつかの実施形態において、リフティングフィンガー1202は、リフティングフィンガー1202がカートリッジの下方に逸れて、カートリッジが開口1208に完全に配置された後にリフティングフィンガー1202の初期位置に戻り得るように、弾性的に形成される。リフティングフィンガー1202は、カートリッジを回収するために培養サブ組体内などの狭い空間内に達するために、薄い(例えば薄型である)ようにさらに構成され得る。搬送システム1200は、1つまたは複数の搭載機能部(例えば接続部)1210をさらに規定し得、搭載機能部によりロボットアームが搬送システム1200につながり得る。例えば、アーム203が関節運動されて閉じてシステム1200を把持したときに、把持器アーム203の保持要素215が接続部1210につながり得る。いくつかの実施形態において、カートリッジが後述の培養サブシステム1400などの低いクリアランス高さのエリアに挿入されるとき、および低いクリアランス高さのエリアから除去されるときにフォークリフト形式の搬送システム1200およびリフティングフィンガー1202が把持機構201

40

50

と組み合わせて使用され得る。いくつかの実施形態において、カートリッジが遠心分離器内などの深いエリアに送達されるとき、または深いエリアから回収されるとき、把持機構 201 自体（例えばアーム 203）がカートリッジを直接把持するために使用される。

【0122】

図 12 は、抗菌薬感受性試験システム 1050 において使用するための例示的な培養サブシステム 1400 の斜視図である。いくつかの場合において、試験システム 1050 は、1 つを上回る（例えば 2 つの）培養サブシステム 1400 を含み得る。示されるように、培養サブシステム 1400 は、複数のカートリッジ（例えば 12 カートリッジ）を収容するように構成され得る。例えば、培養サブシステム 1400 は、複数のフロア 1402 を含むタワー 1401 を含む階層構造物を含み得、各フロア 1402 が培養のための 1 つまたは複数のカートリッジを収容し得る。フロア 1402 は、ロボットカートリッジキャリア（例えばリフティングフィンガー）1202 と相互接続するように構成され得る。例えば、収容される各カートリッジに対して、フロア 1402 は、載置または培養器からのカートリッジの除去中にリフティングフィンガーを受け入れるように寸法決めおよび構成された 1 つまたは複数の（例えばペアの）窪み 1404 を規定し得る。例えば、窪み 1404 は、フィンガーの幅および高さより大きい幅および高さをもち得る。いくつかの場合において、フィンガーがフロア 1402 のステージ 1406 にカートリッジを置いたときに、カートリッジの邪魔にならずにフィンガー 1202 が除去され（例えば滑り出され）得るように、フィンガー 1202 が適切なクリアランスを伴って窪み 1404 内に下げられ得るように、窪み 1404 が十分に満足のいくほど大きな高さをもち得る。いくつかの実施形態において、フロア 1402 は、意図せずフロア 1402 から滑り出る、またはフロア 1402 の外に落ちるといったカートリッジの可能性を制限するために、フロア 1402 の前端部または後端部に沿った、例えばステージ 1406 に沿った位置決め要素（例えば縦隆起部）1408 を規定する。従って、フィンガー 1202 は、隆起部 1408 の上方において培養器内にカートリッジを挿入し、カートリッジが隆起部 1408 を越えた後にステージ 1406 上にカートリッジを下げ、カートリッジが位置決め機能部 1204 から外れるようにフィンガー 1202 から十分遠くに離れるように、窪み 1404 内においてフィンガー 1202 が十分に深くに達するまで、フィンガー 1202 を下げ、次に、フィンガー 1202 が培養器から取り外され得る。

【0123】

培養器 1400 は、培養中にカートリッジを包含するために開かれ得る、および閉じられ得るカバー（例えば扉）1410 を含み得る。いくつかの場合において、培養器の扉 1410 および / またはフレームは、所望の停止点を越えて扉 1410 が移動しないように、または開かないように制限する 1 つまたは複数の回転停止部を含み得る。いくつかの場合において、停止部は、扉 1410 がカートリッジの前における柵として機能することをもたらし得る。いくつかの例において、ユーザーは、扉 1410 を開き、培養サブシステム 1400 内に試験されるカートリッジを手で置いて、および扉を閉め得る。さらに、培養サブシステムは、様々な加熱システムおよび / または揺動サブシステムのうちの任意のものを含み得る。例えば、いくつかの実施形態において、フロア 1402 は、ステージ 1406 内の、またはステージ 1406 に沿った加熱要素を含み得、カートリッジは培養中にこれに沿って配置される。ある場合には、次々に上部に重ねてフロア 1402 をスタックすることによりカートリッジは、2 つのフロア間に挟まれ得、従って、上部および底部から加熱され得る。

【0124】

カートリッジは、様々な手法のうちの任意の手法により挿入され、および培養器 1400 から除去され得る。例えば、いくつかの例において、ユーザーは、（例えば扉 1410 を開くことにより）前を通してカートリッジを装填し得、試験システムは、反対側（例えば後側）から培養器 1400 からカートリッジを除去し得る。追加的に、または代替的に、試験システムは、培養器の前からカートリッジを除去し得る。

【0125】

10

20

30

40

50

図13は、回転揺動コンポーネントを含む例示的なサンプル振動サブシステム（例えば回転揺動システム）1300の斜視図である。振動サブシステムは、培養サブシステムと共に、またはスタンドアロンサブ組立体として使用され得る。図10に示す例において、揺動サブシステムは、1つまたは複数の培養サブシステム1400のためにと、1つまたは複数の独立型システム1300としてとの両方で使用され得る。回転揺動サブシステム1300は、上述の様々な揺動方法に従ってモーター1302が回転するときカートリッジに回転揺動運動を伝えるカムデバイスなどの中心から外れた（例えば偏心した）接続部1306を含む回転子1304を回転させるモーター（例えばサーボ）1302を含み得る。いくつかの場合において、回転子1304は、揺動中にバイブレーションを低減または制限する釣り合い錘を含み得る。回転子1304は、接続部1306と共に揺動経路に沿って動くプラットフォーム1310と相互接続し得る。いくつかの例において、プラットフォーム1310は、その揺動経路に沿った滑らかで妨害のない平行移動を提供する1つまたは複数のベアリング面に沿って配置され得る。例えば、いくつかの場合において、プラットフォーム1310は、1つまたは複数の軸受（例えばローラー）1312上に配置され得る。

10

【0126】

追加的に、または代替的に、試験システム1050は、直線運動を利用してサンプル振動を生成する振動サブシステムを含み得る。例えば、図14を参照すると、サンプル振動サブシステム（例えば多方向揺動器）1400は、複数の方向にプラットフォーム1412を駆動し得る1つまたは複数の多方向リニアアクチュエータ1403（例えば2つの多方向リニアアクチュエータ1403のセット）を含み得る。アクチュエータ1403のセットは、様々な構成で位置し得る。例えば、アクチュエータ1403は互いに実質的に直交して位置する。円形または軌道揺動が所望される場合、2つのアクチュエータが所望の半径および速度に従ってカートリッジが移動することをもたらすように、互いに順次動き得る。

20

【0127】

追加的に、または代替的に、試験システム1050は、回転運動と直線運動との組み合わせを使用してサンプル振動を生成する振動サブシステムを含み得る。例えば、図15を参照すると、サンプル振動サブシステム（例えば多方向揺動器）1500は、2つ以上の多方向直線摩擦低減コンポーネント（例えば直線ベアリング面）1502（例えば2つの多方向直線摩擦低減コンポーネント1502の2つのセット）を含み得、複数の方向にプラットフォーム1512を駆動し得る軌道経路に沿ってタワー1401とタワー1401内のカートリッジとが移動することを可能にするために、異なるプラットフォーム1512が多方向直線摩擦低減コンポーネント1502に沿って連携しながら滑動し得る。いくつかの場合において、ベアリング面は、直線ベアリングレールと、ベアリングレールに沿って滑動するように構成された滑動ステージとを含み得る。例えば、第1のプラットフォーム1512Aは、ベアリング面1503Aの第1のセットに沿って、例えばx軸に沿って基体に対して滑動するように構成され得る。第2のプラットフォーム1512Bは、ベアリング面1503Bの第2のセットに沿って、例えば実質的に直交するy軸に沿って第1のプラットフォーム1512Aに対して滑動するように構成され得る。異なる軸に沿った組み合わせられた直線運動が、実質的な軌道運動を生成するために使用される。タワー1401を駆動するために振動サブシステム1500は、上述の様々な揺動方法に従ってモーター1302が回転するときカートリッジに回転揺動運動を伝えるカムデバイスなどの、中心から外れた（例えば偏心した）接続部を含む回転子を回転させるモーター（例えばサーボ）1302を含み得る。いくつかの場合において、回転子1304は、揺動中にバイブレーションを低減または制限する釣り合い錘を含み得る。回転運動がモーター1302により伝え得る一方で、直線ベアリング面は、タワー1401の運動を制約または案内するために使用され得る。

30

40

【0128】

本明細書において説明される例示的なシステムおよびコンポーネントは、様々な抗菌薬

50

感受性試験工程のうちの任意の工程を行うために使用され得る。上述のように、本明細書において説明されるシステムは、サンプルを装填し得る試験工程を円滑化し得、システムは、サンプルと試験のために必要とされる流体とを自動的にハンドリングし得る。例示的な方法シーケンスが図 19 に示され、以下で説明される。

【0129】

システム内に装填する前に、（例えば感受性試験が実施される含有微生物（例えば微生物））各サンプルが、CLSI規格に従った所望の適切な開始濃度（例えば $3 - 7 \times 10^5$ CFU/ml（CFU = コロニー形成単位（colony forming unit）））まで希釈および調節され得る。いくつかの実施形態において、希釈剤はミューラー-ヒントンブロスなどの成長培地である。サンプルと希釈剤とが、カートリッジに添加され得る。上述のように、いくつかの場合において、サンプルと希釈剤とが、試験ウェル（例えばウェル1710t）と、対照ウェルのうちのいくつか（例えば成長ウェル1710g）に添加され得る。いくつかの場合において、希釈剤が単独で（すなわち、添加されるサンプル無しで）、対照ウェルのうちの1つ（例えば非成長ウェル）に添加され得る。カートリッジが接種され、カートリッジ識別子が読み取られてサンプルに関係付けられた後、カートリッジ（例えばカートリッジ700、701）が装填引き出し（例えば引き出し300）上に置かれ、システムに装填され得る。上述のように、装填引き出し300は、複数の試験パネルを収容し得る。代替的に、カートリッジは、培養システム（例えば培養システム1400）内に直接装填され得る。上述のように、カートリッジが培養システム内に装填される前に、予熱が実施され得る。

【0130】

代謝染料がチェックポイントアッセイのために使用される場合、染料がカートリッジパッケージング工程中にカートリッジ内に貯蔵され得、サンプルによるカートリッジの接種の前または後に添加され得るか、または装填後にシステムにより添加され得る。システムに装填された後、いくつかの例において、（例えばロボット搬送システム200の）ロボット把持器が培養器（例えば培養器400）までカートリッジを動かし得る。他の例において、カートリッジは、培養器内に直接装填される（例えば培養器1400）。培養器の温度は、約33 から約39 の間で（例えば典型的には約33 から約35 の間で）調節され得る。特定の温度感受性抗菌薬がカートリッジ上に存在しない場合、より速い成長を促進するために、培養温度が上げられ得る。上述のように、温度センサー（例えば熱電対、サーミスター、またはシリコンベースのもの）が、温度制御装置にフィードバックを提供するために使用され得、続いて温度制御装置が加熱器を制御する。各培養器入れ子部（例えば入れ子部414）が、底部および側部から加熱することを可能にし得る。いくつかの場合において、各培養器入れ子部が、側部および底部からの一様な加熱を可能にし得る。例えば空気循環が、より一様な加熱を可能にするために提供され得る。さらに湿気が、流体の蒸発を低減または制限するために制御され得る。培養中、サンプルの振動が起こり得、軌道振動速度は、例えば、直接的に、または間接的に接続されたモーター、ベルト、ギア、カムなどを含むドライバシステム420を使用して調節され得る。

【0131】

培養中、十分な成長が検出されたとアルゴリズムが判定するまで、対照ウェル（例えば成長対照、非成長対照、およびFIT対照）が定期的に（例えば所定の期間後に）調査され得る。代替的に、システムは、培養の開始後、特定の期間（例えば3時間）後に一度だけこれらのウェルを調査するようにプログラムされ得る。例えば、システムは、対照ウェル（例えば非成長ウェル1710ngに対する成長ウェル1710g）における成長を調査（例えば光学的に精査）し得る。いくつかの実施形態において、これは、ロボット把持器を使用して培養器からカートリッジを除去することと、光学システムを使用して成長ウェル内における成長を観察することとを含み得る。いくつかの実施形態において、カートリッジは、搬送システム1200とリフティングフィンガー1202とを使用して培養器1400から取り外され得、カートリッジが除去されるとすぐに、ロボットアーム搭載光学システム（例えばシステム900）が対照ウェルを調査し得る。

【0132】

この調査後、システムは、エンドポイントアッセイを開始する前に、またはエンドポイントアッセイを開始するために、微生物の追加的な成長を促進するために培養を続けるか否かを判定する。例えば、成長ウェルおよび非成長ウェルからの信号、および、成長の時間発展を比較することによりシステムがエンドポイントアッセイをいつ開始するかを決定し得る。

【0133】

対照ウェル内における微生物の十分な成長がみられるとシステムが判定し、エンドポイントアッセイが進行し得るとき、微生物をペレット化するために分離（例えば遠心分離）が実施され得る。例えば、システムは、図1Aに示す例における遠心分離器100、図10に示す例における遠心分離器1100、または図1Bおよび図1Cに示す例における磁気捕捉分離システム101内にカートリッジを置き得る。いくつかの場合において、搬送システムおよびリフティングフィンガー1202は、例えば培養器1400内に戻すようにカートリッジを置かずに対照ウェルを調査した後、遠心分離器1100内の開口を通してカートリッジを送達し得る。

【0134】

微生物が、例えば遠心分離器を使用して希釈剤から分離された後、サンプルは、吸引を受け得る。吸引は希釈剤を除去するために有用であり、このことがエンドポイントアッセイの背景信号を改善し得る。例えば、流体ハンドリングシステムが希釈剤の一部またはすべてを除去し得るように、ロボットアームが分離システムからカートリッジを回収し得る。いくつかの場合において、搬送システムおよびリフティングフィンガー1202は、遠心分離器1100の開口を通してカートリッジを回収し、液体ハンドリングサブ組立体1601によりアクセス可能な場所にカートリッジを配置する。いくつかの例において、液体の送達または除去中（および/または光学的分析中）、把持器が、システム内における様々な場所のうちの任意の位置にカートリッジを置き得る。例えば、カートリッジは、正確な液体の添加および吸引（例えば平坦さ、安定性）を可能にする特に専用とされる場所である既存のサブ組立体またはサブ組立体に置き得る。いくつかの場合において、カートリッジは、培養器1400上に、独立型揺動システム1300上に、または上昇/下降ステージ1800上に置かれ得る。液体ハンドリングサブ組立体1601は、次に、カートリッジの上方の場所まで動き、過剰な流体が除去され得るように吸引ノズル604がウェルに入るように下降し得る。図5Cを参照して説明されるように、吸引ノズル604は、ペレットの想定される場所に基づいて、異なる場所に配置され得る。

【0135】

次に、1つまたは複数の溶液が、微生物の表面にリポーター分子を結合するために添加され得る。いくつかの場合において、溶液は、同時にまたは連続して添加され得る。溶液は、様々な緩衝剤のうちの任意の緩衝剤、リンカー、および/またはリポーター分子（例えば触媒、増幅器など）を含み得る。いくつかの実施形態において、追加的な分離、吸引、および洗浄ステップが、結合されない試薬を除去し、非特異性の結合を減らし、信号対ノイズ比を高めるために実施され得る。使用されるリポーター分子に応じて、試験方法は、増幅された信号を生成する基質試薬の添加をさらに含み得る。（例えば軌道または軸方向）振動などの揺動が、結合反応を高速化するために適用され得る。例えば、流体ハンドリングサブ組立体1601が例えば試薬送達ノズル602を使用してリポーター分子を送達した後、搬送システムおよびリフティングフィンガー1202が、培養器1400内に戻すように、または独立型揺動システム1300上にカートリッジを置き得る。

【0136】

いくつかの実施形態において、カートリッジおよびサンプルは、さらなる揺動または培養のために1つまたは複数の組立体に戻される。例えば、カートリッジは、培養器1400内に戻すように、または揺動システム1300上に置かれ得る。いくつかの実施形態において、代謝プローブを含むカートリッジおよびサンプルが、約1時間にわたって培養器内に戻されて置かれ得る。

10

20

30

40

50

【0137】

次に、光信号が測定され得る。光信号は、吸光度、蛍光、時間分解蛍光、化学ルミネッセンス、電気化学ルミネッセンス、または光子アップコンバージョンアッセイなどの様々な発生源のうちの任意の発生源から生成され得る。いくつかの実施形態において、この光信号を測定することは、ロボット把持器を使用して培養器または揺動システムからカートリッジを除去することと、光学システムを使用してウェルを精査することとを含み得る。本明細書において説明されるように、いくつかの場合において、光学システムは、サンプルを励起するために特定の波長の光（例えば約560nm）を伝達し得、および、異なる波長（例えば約590nm）でサンプルから放射された光を検出し得る。サンプルから放射される光の強さのレベルに基づいて、ウェル内における様々な抗菌薬 - 微生物ペアに対して微生物の成長の存在または欠如が判定され得る。

10

【0138】

従って、分析される各抗菌薬 - 微生物ペアに対して、システムは、試験される各ウェルからの光信号を読み取り、処理されるアルゴリズムにデータのアレイを送信し得る。いくつかの実施形態において、アレイは、2倍希釈系列内におけるウェルと、3つの対照ウェル（例えば陽性、非成長、およびFIT）との各々からの信号を含む。所与の抗菌薬に対するアレイは、代謝酸化還元とエンドポイントアッセイとの両方を含み得る。アルゴリズムは、対照ウェルを使用して各データセットをさらに修正および正規化して、規定のコスト関数を減らす少なくとも1つの抗菌薬に対する相対最小発育阻止濃度（MIC）および/または定性的感受性結果（QSR）を特定し得る。報告されたMIC値は、次に、CLSIブレイクポイント参照テーブルに変換される。変換値は毎年更新され、CLSIにより公開されるM100文書において確認され得る。

20

【0139】

代替的に、または追加的に、いくつかの実施形態において、1つまたは複数のエンドポイントアッセイが実施され得る。これらは、表面結合増幅（例えば時間分解蛍光のためのインジケータ）を使用するアッセイを含み得る。いくつかの場合において、インジケータは、ユウロピウム、ストロンチウム、テルビウム、サマリウム、およびジスプロシウム、またはそれらの任意の組み合わせなどの、1つまたは複数のランタニドであり得る。例えば、流体ハンドリングシステムは、カートリッジの試験ウェル内に別の試薬を供給し得る。いくつかの場合において、流体ハンドリングシステムは、化学部分（例えばグルタルアルデヒド）の量、およびユウロピウムクリプタートの量を試薬送達ノズル602を使用して試験される各ウェルに送達し得る。追加的なエンドポイントアッセイの例として以下のもの、すなわち、代謝アッセイ、表面結合プローブアッセイ、化学プローブアッセイ、生化学プローブアッセイ、ATPアッセイ、核酸プローブアッセイ、二本鎖核酸プローブアッセイ、光学密度アッセイ、視覚アッセイ、およびpH分子プローブアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0140】

結合増幅器が添加された後、カートリッジが再度揺動されて、対象微生物に対する増幅器の結合を促進し得る。例えば、カートリッジは、培養器1400内に戻すように、または揺動システム1300上に置かれ得る。

40

【0141】

追加的な振動の後、サンプルは追加的な分離を受け得る。例えば、搬送システムおよびリフティングフィンガー1202が培養器1400または揺動1300からカートリッジを除去し、微生物のペレットを形成するために遠心分離器1100内にカートリッジを戻すように置き得る。次に、ウェルから流体を除去するために、ウェルが吸引され得る。いくつかの場合において、ウェル内に洗浄流体を供給および吸引することにより、1つまたは複数の洗浄シーケンスが実施され得る。例えば、洗浄流体は、サンプル洗浄コンポーネントノズル603を使用してウェル内に供給され得、吸引ノズル604を使用してウェルから吸引され得る。洗浄および吸引シーケンスは、ウェルから結合されない試薬、および他の流体または粒子を除去するために、および非特異性の結合を減らすために役立ち得、

50

このことは、信号対ノイズ比を高めるために、および光学システムによる調査中により良好な光学的結果を生成するために有用であり得る。

【0142】

様々な実施形態が本明細書において説明されるが、それらが単なる例示としてのみ提示および説明されること、および、本明細書と共に提示される特許請求の範囲を特定の構成または構造上のコンポーネントのいずれにも限定しないことが理解されなければならない。従って、好ましい実施形態の広さおよび範囲は、上述の例示的な構造物または実施形態のうちいずれかにより限定されてはならず、後述の特許請求の範囲およびそれらの均等なものに従ってのみ定義されなければならない。

【図1A】

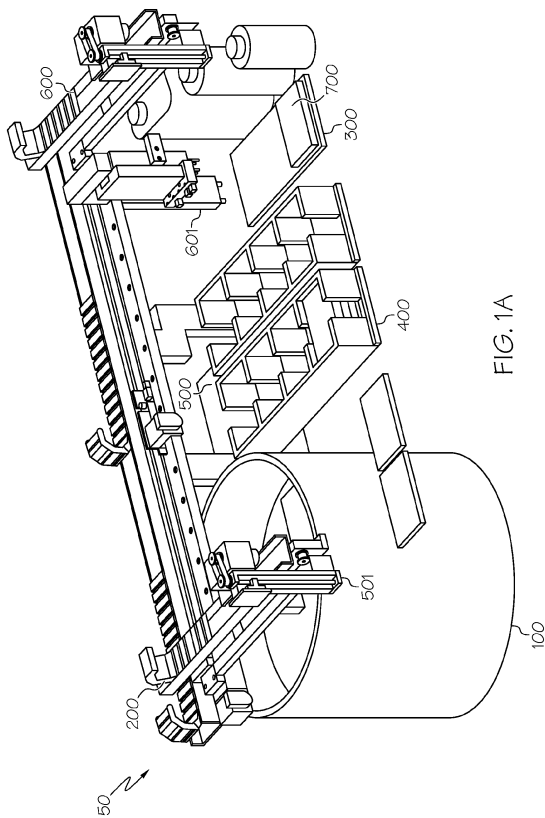


FIG. 1A

【図1B】

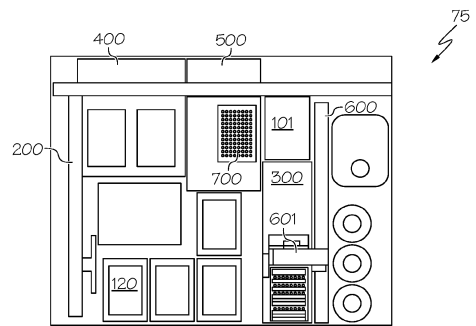


FIG. 1B

【図 1 C】

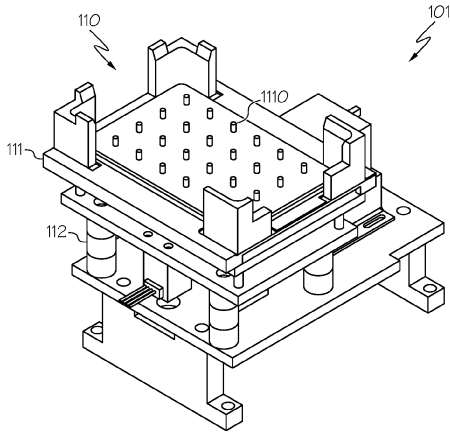


FIG. 1C

【図 2 A】

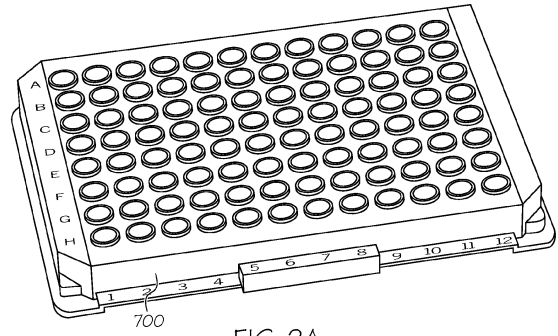


FIG. 2A

【図 2 B】

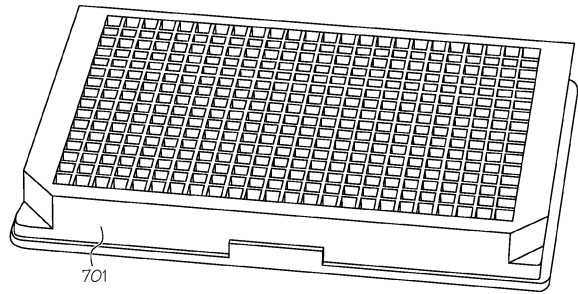


FIG. 2B

【図 3】

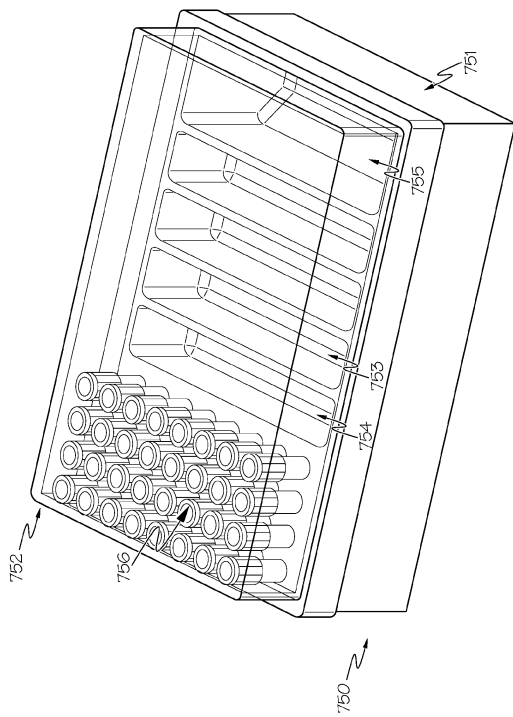


FIG. 3

【図 4】

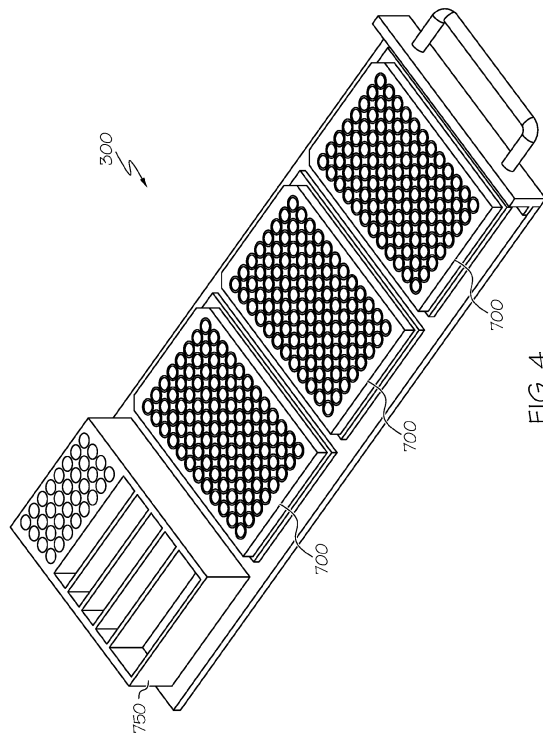


FIG. 4

【図 5 A】

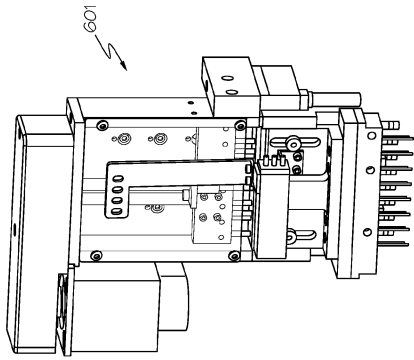


FIG. 5A

【図 5 C】

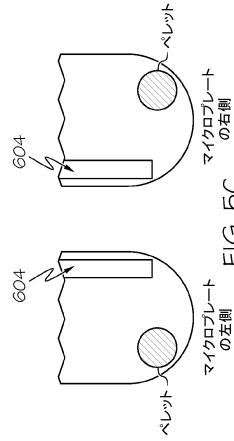


FIG. 5C

【図 5 B】

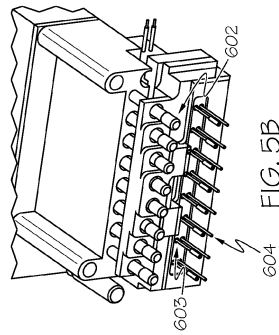


FIG. 5B

【図 6 A】

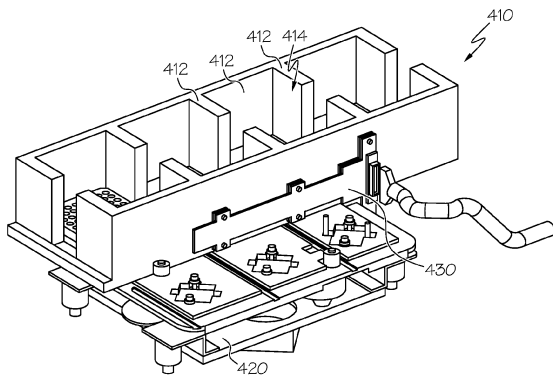


FIG. 6A

【図 7 A】

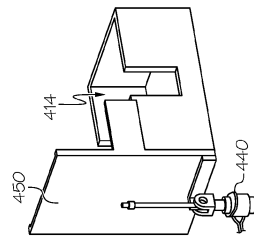


FIG. 7A

【図 6 B】

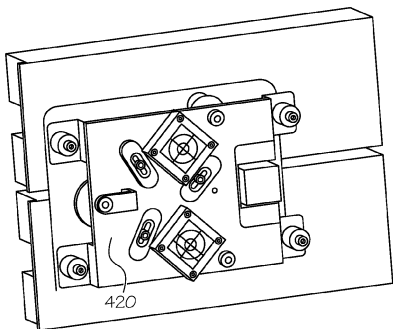


FIG. 6B

【図 7 B】

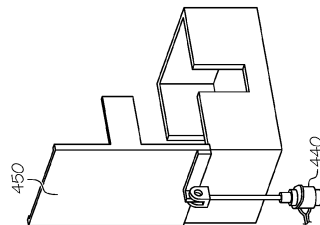


FIG. 7B

【図9B】

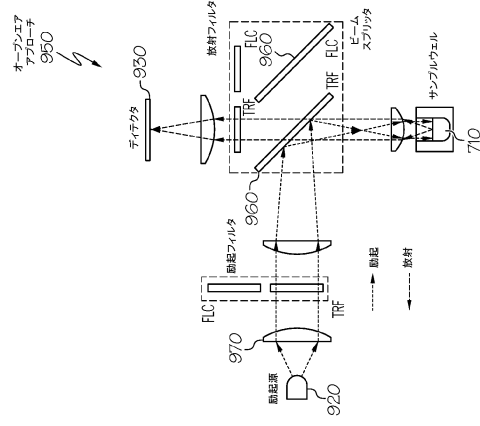


FIG. 9B

【図10】

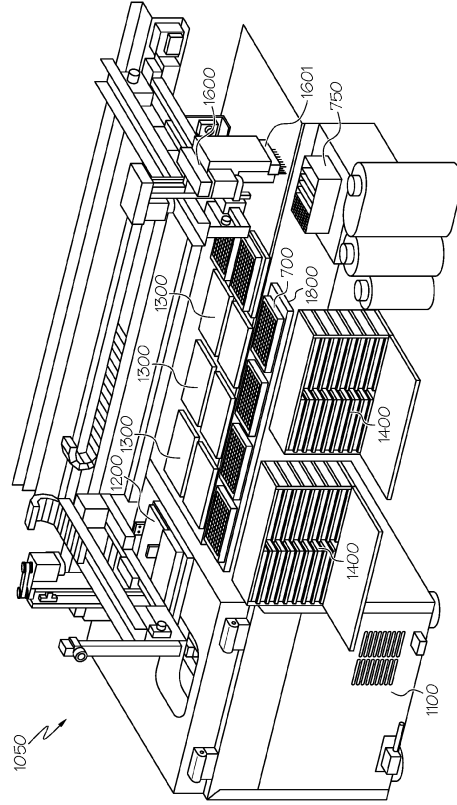


FIG. 10

【図11】

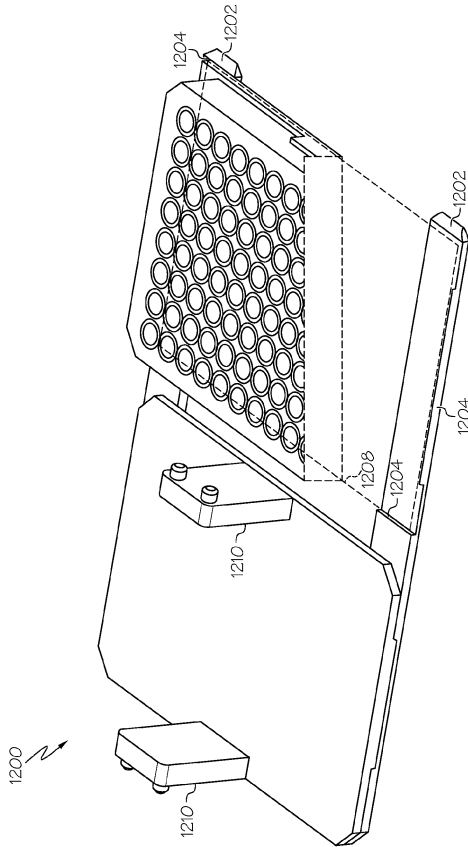


FIG. 11

【図12】

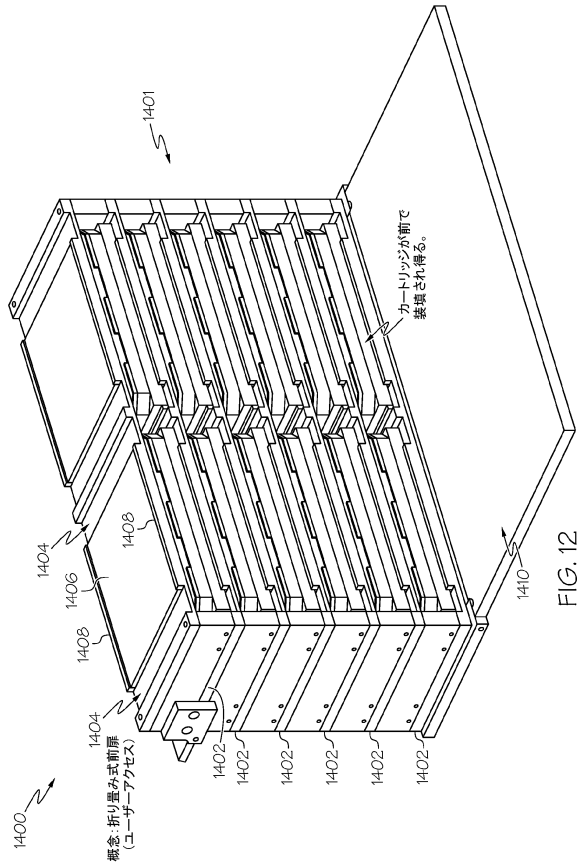


FIG. 12

【図13】

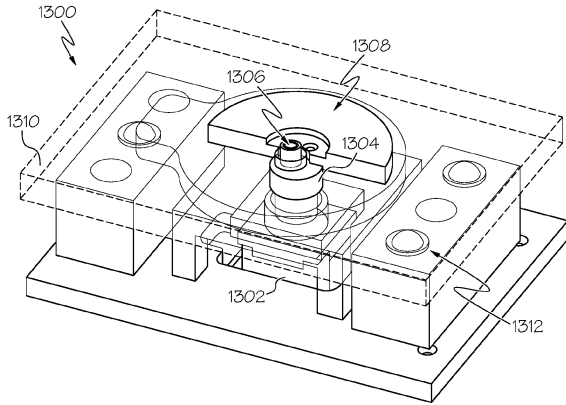


FIG. 13

【図14】

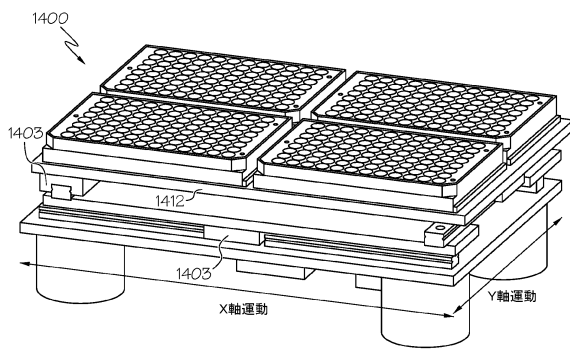


FIG. 14

【図15】

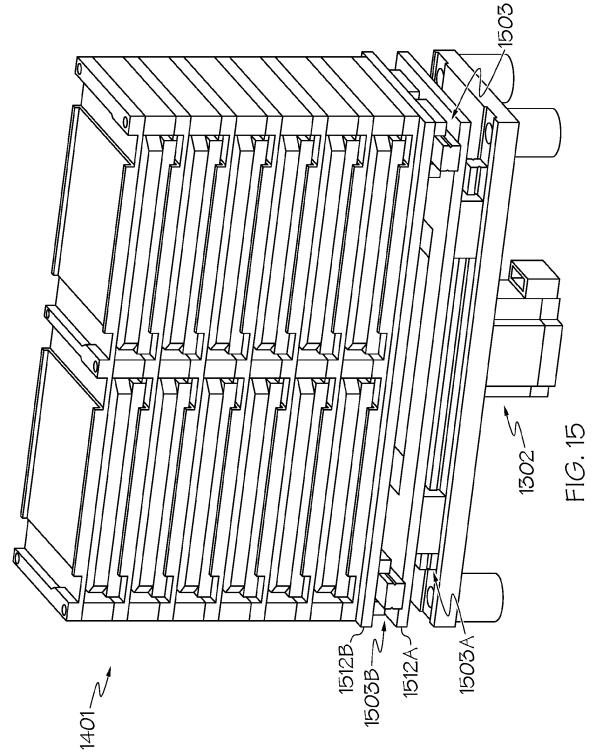


FIG. 15

【図16A】

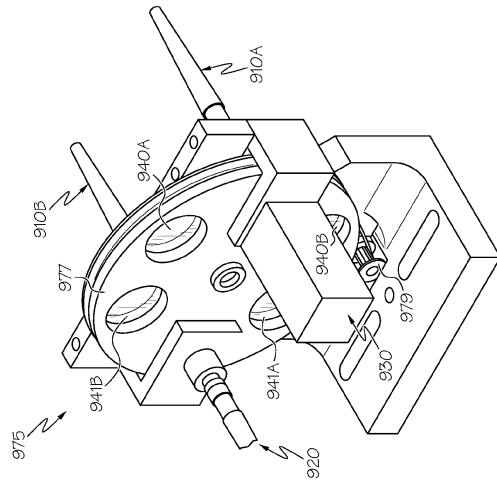


FIG. 16A

【図16B】

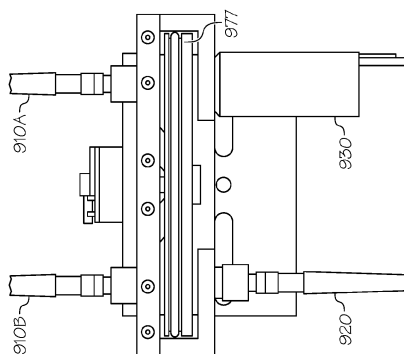


FIG. 16B

【図17】

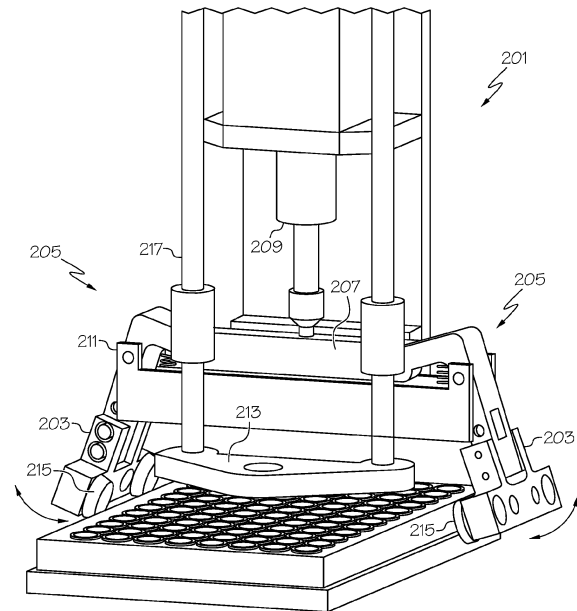


FIG. 17

【図18】

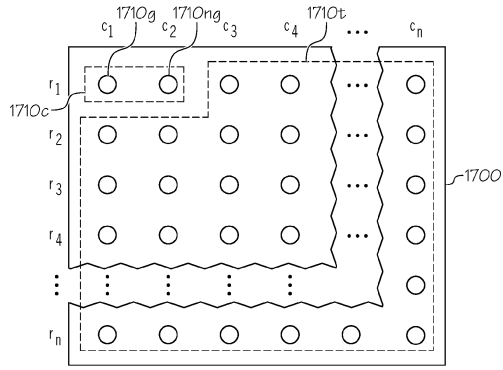


FIG. 18

【図19】

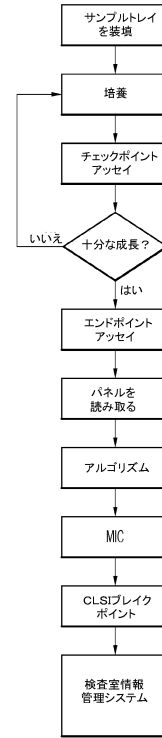


FIG. 19

フロントページの続き

- (72)発明者 パーモート, ネイサン
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02472、ウォータータウン、アーセナル・ウェイ・480、フロア・2
- (72)発明者 スターン, エリック
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02472、ウォータータウン、アーセナル・ウェイ・480、フロア・2
- (72)発明者 パッセニグ, アンナ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・95032、ロス・ガトス、クーパー・コート・103、アクセル・ピオテック・エル・エル・シー気付
- (72)発明者 オッテン, ボール
アメリカ合衆国、カリフォルニア・95032、ロス・ガトス、クーパー・コート・103、アクセル・ピオテック・エル・エル・シー気付
- (72)発明者 トラーニ, ランドル
アメリカ合衆国、カリフォルニア・95032、ロス・ガトス、クーパー・コート・103、アクセル・ピオテック・エル・エル・シー気付
- (72)発明者 ヘイズ, ローナン
アメリカ合衆国、カリフォルニア・95032、ロス・ガトス、クーパー・コート・103、アクセル・ピオテック・エル・エル・シー気付
- (72)発明者 ツプリク, アンドリー
アメリカ合衆国、カリフォルニア・95032、ロス・ガトス、クーパー・コート・103、アクセル・ピオテック・エル・エル・シー気付
- (72)発明者 リチャードソン, ブルース
アメリカ合衆国、カリフォルニア・95032、ロス・ガトス、クーパー・コート・103、アクセル・ピオテック・エル・エル・シー気付

審査官 長谷 潮

- (56)参考文献 特開2015-177768(JP, A)
特表2010-505116(JP, A)
特表2002-543434(JP, A)
特表2002-510387(JP, A)
特表2000-500340(JP, A)
特開2005-261260(JP, A)
特表平04-502707(JP, A)
特表2012-507284(JP, A)
特開平09-325151(JP, A)
米国特許第4448534(US, A)
国際公開第01/60519(WO, A1)
米国特許第5346303(US, A)
米国特許出願公開第2005/0054083(US, A1)
米国特許出願公開第2003/0082551(US, A1)
米国特許出願公開第2010/0203573(US, A1)
米国特許出願公開第2015/0299639(US, A1)
米国特許出願公開第2015/0064703(US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 35/00 - 37/00
C12M 1/00 - 3/04

C 1 2 Q 1 / 0 0 - 3 / 0 0