

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7127033号  
(P7127033)

(45)発行日 令和4年8月29日(2022.8.29)

(24)登録日 令和4年8月19日(2022.8.19)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 Q	1/06 (2006.01)	C 1 2 Q	1/06	
C 1 2 M	1/34 (2006.01)	C 1 2 M	1/34	D
G 0 1 N	33/483 (2006.01)	G 0 1 N	33/483	C
G 0 1 N	33/15 (2006.01)	G 0 1 N	33/15	Z

請求項の数 23 (全38頁)

(21)出願番号	特願2019-538232(P2019-538232)	(73)特許権者	510005889
(86)(22)出願日	平成30年1月22日(2018.1.22)		ベックマン コールター, インコーポレイテッド
(65)公表番号	特表2020-505027(P2020-505027 A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 8 2 1, プレア, エス・クレマー ブールバード 2 5 0
(43)公表日	令和2年2月20日(2020.2.20)	(74)代理人	100078282
(86)国際出願番号	PCT/US2018/014660		弁理士 山本 秀策
(87)国際公開番号	WO2018/136864	(74)代理人	100113413
(87)国際公開日	平成30年7月26日(2018.7.26)		弁理士 森下 夏樹
審査請求日	令和2年12月28日(2020.12.28)	(72)発明者	セイ, キャサリン
(31)優先権主張番号	62/574,795		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 6 2 3, エル ドラド, オーク リッジ サークル 6 1 7 0
(32)優先日	平成29年10月20日(2017.10.20)	(72)発明者	ルイス, デイビッド
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	62/449,373		
(32)優先日	平成29年1月23日(2017.1.23)		
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 デジタル顕微鏡を使用する抗菌剤感受性試験

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

方法であって、前記方法は、

( a ) 混合物の未加工画像を捕捉することであって、前記混合物は、複数の病原菌と、抗菌剤とを含む、ことと、

( b ) 前記未加工画像を向上画像に向上させることと、

( c ) 前記向上画像に関連付けられた病原菌総数を決定することとを含む、

前記病原菌総数は、前記向上画像内に描写された前記複数の病原菌における病原菌の数に基づいており、前記方法は、

( i ) 前記未加工画像を向上させることに先立って、前記未加工画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

( i i ) 前記病原菌の前記サイズからピクセル半径を導出することと、

( i i i ) 前記ピクセル半径に少なくとも部分的に基づいて、前記未加工画像の勾配画像を生成することと、

( i v ) 前記勾配画像に少なくとも部分的に基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向上させることと

をさらに含む、方法。

【請求項2】

( a ) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

(b) 前記閾値に少なくとも部分的に基づいて、前記向上画像をセグメント化することとをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記向上画像の前記セグメント化に先立って、前記向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

試験濃度において前記抗菌剤を前記複数の病原菌に添加することと、前記カウントされた病原菌の量に少なくとも部分的に基づいて、前記試験濃度が前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度であるかどうかを決定することとをさらに含む、請求項 1 ~ 3 のうちのいずれかに記載の方法。

10

【請求項 5】

方法であって、前記方法は、

(a) 混合物を試験アレイにおける各試験ウェルの中に堆積させることであって、各試験ウェル内の前記混合物は、複数の病原菌と、異なる濃度の抗菌剤とを含む、ことと、

(b) 各試験ウェル内の前記混合物の画像を捕捉することと、

(c) 各画像内に描写された前記複数の病原菌の特性を収集することと、

(d) 前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度を決定することと

を含み、

前記最小抑制濃度は、前記特性に少なくとも部分的に基づいており、前記最小抑制濃度は、各試験ウェルに関連付けられる前記抗菌剤の前記濃度に少なくとも部分的に基づいており、前記方法は、各画像内に描写された前記複数の病原菌の前記特性を収集することに先立って、前記画像を向上画像に向上させることと、

20

(i) 前記画像を向上させることに先立って、前記画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定すること、

(ii) 前記病原菌の前記サイズからピクセル半径を導出すること、

(iii) 前記ピクセル半径に少なくとも部分的に基づいて、前記画像の勾配画像を生成すること、および

(iv) 前記勾配画像に少なくとも部分的に基づいて、前記画像を前記向上画像に向上させることと

をさらに含む、方法。

30

【請求項 6】

各画像内に描写された前記複数の病原菌の前記特性を収集することに先立って、前記向上画像をセグメント化することをさらに含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記向上画像の前記セグメント化に先立って、前記向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

(a) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

(b) 前記閾値に少なくとも部分的に基づいて、前記向上画像をセグメント化することとをさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 9】

前記特性は、各画像内に描写された前記複数の病原菌における病原菌の量である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 10】

前記特性は、各画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズである、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 11】

前記特性は、比率であり、前記比率は、各画像内に描写された病原菌の量に少なくとも部分的に基づいており、前記比率は、各画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌の前記サイズに少なくとも部分的に基づいている、請求項 5 に記載の方法。

50

## 【請求項 1 2】

前記特性は、比率であり、前記比率は、各画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌に関連付けられたピクセルの量に少なくとも部分的に基づいている、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 3】

方法であって、前記方法は、

混合物を試験アレイにおける各試験ウェルの中に堆積させることであって、各試験ウェル内の前記混合物は、複数の病原菌と、異なる濃度の抗菌剤とを含む、ことと、

( b ) 各試験ウェル内の前記混合物の未加工画像を捕捉することと、

( c ) 前記未加工画像を最終画像に操作することと、

( d ) 各最終画像内の病原菌の量をカウントすることと、

( e ) 各最終画像内でカウントされた前記病原菌の量をデータセット内に記憶することであって、各最終画像内でカウントされた前記病原菌の量は、前記データセット内の前記試験ウェル内の前記抗菌剤の前記濃度に関連付けられている、ことと、

( f ) ある期間にわたって待つことと、

( g ) 前記期間後、( b )、( c )、( d )、および( e )を繰り返すことと、

( h ) 前記データセットに基づいて、前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度を決定することと

を含み、前記方法は、前記未加工画像を向上画像に向上させることをさらに含み、前記最終画像は、前記向上画像に少なくとも部分的に基づいている、ことと、

前記未加工画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

前記病原菌の前記サイズからピクセル半径を導出することと、

前記ピクセル半径に少なくとも部分的に基づいて、前記未加工画像の勾配画像を生成することと、

前記勾配画像に少なくとも部分的に基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向上させることと

をさらに含む、方法。

## 【請求項 1 4】

前記向上画像を前記最終画像にセグメント化することをさらに含む、請求項 1 3 に記載の方法。

## 【請求項 1 5】

前記向上画像を前記最終画像にセグメント化することに先立って、前記向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法。

## 【請求項 1 6】

( a ) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

( b ) 前記閾値に少なくとも部分的に基づいて、前記向上画像を前記最終画像にセグメント化することと

をさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法。

## 【請求項 1 7】

生物学的試験システムであって、前記生物学的試験システムは、

( a ) 培養器システムであって、前記培養器システムは、ある期間にわたって試験ウェル内に配置された混合物を培養するように構成され、前記混合物は、複数の病原菌と、抗菌剤とを含む、培養器システムと、

( b ) 光学システムであって、前記光学システムは、

( i ) ステージであって、前記ステージは、前記期間にわたって前記培養器システム内で培養した後、前記試験ウェルを選択的に受け取るように構成されている、ステージと、

( i i ) カメラであって、前記カメラは、前記ステージ上の前記試験ウェル内に配置された前記混合物の未加工画像を捕捉するように構成されている、カメラと

を備えている、光学システムと、

10

20

30

40

50

(c) 前記培養器システムと前記光学システムとの間で前記試験ウェルを移動させるように構成された移動システムと、

(d) データベースであって、前記未加工画像は、前記データベース内に記憶される、データベースと、

(e) プロセッサと

を備え、

前記プロセッサは、

(i) 前記未加工画像を最終画像に操作することと、

(ii) 前記最終画像から前記混合物の特性を収集することと、

(iii) 前記特性に基づいて、前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度を決定することと

10

を行うように構成されており、前記プロセッサは、前記未加工画像を向上画像に向上させるようにさらに構成されており、前記最終画像は、前記向上画像に少なくとも部分的に基づいており、前記プロセッサは、

前記未加工画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

前記病原菌の前記サイズからピクセル半径を導出することと、

前記ピクセル半径に少なくとも部分的に基づいて、前記未加工画像の勾配画像を生成することと、

前記勾配画像に少なくとも部分的に基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向上させることと

20

を行うようにさらに構成されている、生物学的試験システム。

【請求項 18】

前記ステージは、第1の方向および第2の方向に移動可能である、請求項17に記載の生物学的試験システム。

【請求項 19】

前記ステージは、第3の方向に移動可能である、請求項18に記載の生物学的試験システム。

【請求項 20】

前記特性は、前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における病原菌の量である、請求項17に記載の生物学的試験システム。

30

【請求項 21】

前記特性は、前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズである、請求項17に記載の生物学的試験システム

【請求項 22】

前記特性は、比率であり、前記比率は、前記最終画像内に描写された病原菌の量に少なくとも部分的に基づいており、前記比率は、前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌の前記サイズに少なくとも部分的に基づいている、請求項17に記載の生物学的試験システム

【請求項 23】

前記特性は、比率であり、前記比率は、前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌に関連付けられたピクセルの量に少なくとも部分的に基づいている、請求項17に記載の生物学的試験システム。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本願は、米国仮出願第62/574,795号(2017年10月20日出願)および米国仮出願第62/449,373号(2017年1月23日出願)の利益を主張する。

【背景技術】

50

## 【 0 0 0 2 】

患者診断および治療に関連する種々のタイプの試験が、患者の微生物または「病原菌」の分析によって実施されることができ、病原菌は、単細胞または多細胞であり得る細菌、菌類、またはウイルス等の微視的生命有機体である。患者の微生物を含む生物学的サンプルが、患者の感染部、体液、または膿瘍から採取され得、患者の処置を補助するために、試験パネルまたはアレイ内に設置され、種々の試薬と組み合わせられ、培養され、分析され得る。自動化生化学分析装置が、手動動作を使用する分析と比較したとき、患者サンプルの分析を促進し、アッセイ結果の正確度および信頼性を改良するための医療施設および他の機関の必要性を満たすために、かつ、種々の抗菌剤の有効性を決定することにおいて補助するために開発された。抗菌剤は、細菌に対して使用される抗生物質および菌類に対して使用される抗真菌剤等の微生物を死滅させる、またはそれらの成長を阻害する作用剤である。しかしながら、絶えず変化する細菌属および新しく発見される抗菌剤によって、生物学的試験に対する要求は、複雑性および量の両方において増加している。

10

## 【 0 0 0 3 】

ある重要な自動化微生物学的分析装置系は、感染している微生物の同定および微生物の成長を制御することにおいて効果的な抗菌剤の同定の両方を決定するための診断ツールとして機能する。病原菌成長は、細胞サイズではなく、細胞数の増加である。例えば、細菌における病原菌成長は、二分裂を通して提供され、細胞は、1つの細胞から2つの娘細胞に分裂する。二分裂が、温度または栄養素の欠如等のある環境要因を通して阻害されるとき、いかなる成長も、結果として生じない。

20

## 【 0 0 0 4 】

自動化微生物学的分析装置は、感染している微生物の同定および微生物の成長を制御することにおいて効果的な抗菌剤の同定の両方を決定するための診断ツールとして機能する。診断試験を実施することにおいて、生物学的サンプルから単離された微生物の同定および生体外抗菌剤感受性パターンが、確認される。そのような分析装置の従来のバージョンは、段階希釈において異なる酵素基質または抗菌剤を含むパネルもしくはアレイ内の複数の小サンプル試験ウェルの中に試験されるべき小サンプルを設置し得る。微生物の同定 ( I D ) 試験および微生物に対して効果的な抗菌剤の最小抑制濃度 ( M I C ) を決定するための抗菌剤感受性試験 ( A S T ) は、アレイにおいて作成されたサンプル試験ウェル内の色変化、蛍光変化、混濁の程度 ( 濁度 ) 、または試験から導出される他の情報を利用し得る。 A S T および I D 測定 of 両方ならびに後続分析は、再現性、処理時間の低減、転写エラーの回避、および実験室で実行される全ての試験に対する標準化における利点を提供するために、コンピュータ制御された微生物学的分析装置によって実施され得る。

30

## 【 0 0 0 5 】

微生物の I D 試験では、接種材料として公知の患者の微生物サンプルの標準化された希釈物が、所定の既知の濃度を有する細菌または細胞懸濁液を提供するために、最初に調製される。この接種材料は、所定の試験培地を含むか、またはその後それを供給され得る複数の試験ウェル内に設置される。存在する微生物の種に応じて、この培地は、培養後の色、濁度、蛍光、または他の特性の変化を促進するであろう。これらの変化は、 I D 試験において微生物を同定するために使用される。

40

## 【 0 0 0 6 】

A S T 試験では、複数の試験ウェルが、接種材料および増加する濃度のいくつかの異なる抗菌剤、例えば、抗生物質を充填される。異なる抗菌剤は、成長培地または液体培地中で臨床的に着目されるそれらを含む濃度まで希釈され得る。培養後、濁度は、成長がそれらの試験ウェル内の抗菌剤によって阻害されていない試験ウェル内で増加させられるか、または変化させられないであろう。各抗菌剤の M I C は、各濃度の抗菌剤に対する成長の欠如によって測定される。成長の欠如を示す抗菌剤の最低濃度が、 M I C ということになる。

## 【 発明の概要 】

## 【 課題を解決するための手段 】

50

## 【 0 0 0 7 】

本願明細書は、例えば、以下の項目も提供する。

## (項目 1)

方法であって、前記方法は、

( a ) 混合物の未加工画像を捕捉することであって、前記混合物は、複数の病原菌と、  
抗菌剤とを含む、ことと、

( b ) 前記未加工画像を向上画像に向上させることと、

( c ) 前記向上画像に関連付けられた病原菌総数を決定することと  
を含み、

前記病原菌総数は、前記向上画像内に描写された前記複数の病原菌における病原菌の数  
に基づく、方法。

10

## (項目 2)

( a ) 前記未加工画像を向上させることに先立って、前記未加工画像内に描写された前  
記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記サイズに基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向  
上させることと

をさらに含む、項目 1 に記載の方法。

## (項目 3)

( a ) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記閾値に基づいて、前記向上画像をセグメント化することと  
をさらに含む、項目 2 に記載の方法。

20

## (項目 4)

( a ) 前記サイズからピクセル半径を導出することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記ピクセル半径に基づいて、前記未加工画像の勾配画像を  
生成することと、

( c ) 少なくとも部分的に前記勾配画像に基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に  
向上させることと

をさらに含む、項目 3 に記載の方法。

## (項目 5)

方法であって、前記方法は、

( a ) 混合物の未加工画像を捕捉することであって、前記混合物は、複数の病原菌と、  
抗菌剤とを含む、ことと、

( b ) 前記未加工画像を向上画像に向上させることと、

( c ) 前記向上画像をセグメント化画像にセグメント化することと、

( d ) 前記セグメント化画像内に描写された病原菌の量をカウントすることと  
を含む、方法。

30

## (項目 6)

前記向上画像の前記セグメント化に先立って、前記向上画像に雑音低減フィルタを適用  
することをさらに含む、項目 5 に記載の方法。

## (項目 7)

( a ) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記閾値に基づいて、前記向上画像をセグメント化することと  
をさらに含む、項目 5 に記載の方法。

40

## (項目 8)

( a ) 前記未加工画像を向上させることに先立って、前記未加工画像内に描写された前  
記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記サイズに基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向  
上させることと

をさらに含む、項目 5 に記載の方法。

## (項目 9)

50

( a ) 前記サイズからピクセル半径を導出することと、  
( b ) 少なくとも部分的に前記ピクセル半径に基づいて、前記未加工画像の勾配画像を生成することと、  
( c ) 少なくとも部分的に前記勾配画像に基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向上させることと

をさらに含む、項目 8 に記載の方法。

( 項目 1 0 )

( a ) 試験濃度において前記抗菌剤を前記複数の病原菌に添加することと、  
( b ) 少なくとも部分的に前記カウントされた病原菌の量に基づいて、前記試験濃度が前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度であるかどうかを決定することと

10

をさらに含む、項目 5 に記載の方法。

( 項目 1 1 )

方法であって、前記方法は、

( a ) 混合物を試験アレイにおける各試験ウェルの中に堆積させることであって、各試験ウェル内の前記混合物は、複数の病原菌と、異なる濃度の抗菌剤とを含む、ことと、

( b ) 各試験ウェル内の前記混合物の画像を捕捉することと、

( c ) 各画像内に描写された前記複数の病原菌の特性を収集することと、

( d ) 前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度を決定することと

を含み、

前記最小抑制濃度は、少なくとも部分的に前記特性に基づき、前記最小抑制濃度は、少なくとも部分的に各試験ウェルに関連付けられる前記抗菌剤の前記濃度に基づく、方法。

20

( 項目 1 2 )

各画像内に描写された前記複数の病原菌の前記特性を収集することに先立って、前記画像を向上させることをさらに含む、項目 1 1 に記載の方法。

( 項目 1 3 )

( a ) 前記画像を向上させることに先立って、前記画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記病原菌の前記サイズに基づいて、前記画像を向上させることと

をさらに含む、項目 1 2 に記載の方法。

30

( 項目 1 4 )

( a ) 前記病原菌の前記サイズからピクセル半径を導出することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記ピクセル半径に基づいて、前記画像の勾配画像を生成することと、

( c ) 少なくとも部分的に前記勾配画像に基づいて、前記画像を向上画像に向上させることと

をさらに含む、項目 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 5 )

各画像内に描写された前記複数の病原菌の前記特性を収集することに先立って、前記向上画像をセグメント化することをさらに含む、項目 1 4 に記載の方法。

40

( 項目 1 6 )

前記向上画像の前記セグメント化に先立って、前記向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含む、項目 1 5 に記載の方法。

( 項目 1 7 )

( a ) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

( b ) 少なくとも部分的に前記閾値に基づいて、前記向上画像をセグメント化することと

をさらに含む、項目 1 6 に記載の方法。

( 項目 1 8 )

前記特性は、各画像内に描写された前記複数の病原菌における病原菌の量である、項目 1 1 に記載の方法。

50

(項目 19)

前記特性は、各画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズである、項目 11 に記載の方法。

(項目 20)

前記特性は、比率であり、前記比率は、少なくとも部分的に各画像内に描写された病原菌の量に基づき、前記比率は、少なくとも部分的に各画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌の前記サイズに基づく、項目 11 に記載の方法。

(項目 21)

前記特性は、比率であり、前記比率は、少なくとも部分的に各画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌に関連付けられたピクセルの量に基づく、項目 11 に記載の方法。

10

(項目 22)

方法であって、前記方法は、  
混合物を試験アレイにおける各試験ウェルの中に堆積させることであって、各試験ウェル内の前記混合物は、複数の病原菌と、異なる濃度の抗菌剤とを含む、ことと、

(b) 各試験ウェル内の前記混合物の未加工画像を捕捉することと、

(c) 前記未加工画像を最終画像に操作することと、

(d) 各最終画像内の病原菌の量をカウントすることと、

(e) 各最終画像内でカウントされた前記病原菌の量をデータセット内に記憶することであって、各最終画像内でカウントされた前記病原菌の量は、前記データセット内の前記試験ウェル内の前記抗菌剤の前記濃度に関連付けられている、ことと、

20

(f) ある期間にわたって待つことと、

(g) 前記期間後、(b)、(c)、(d)、および(e)を繰り返すことと、

(h) 前記データセットに基づいて、前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度を決定することと

を含む、方法。

(項目 23)

前記未加工画像を向上画像に向上させることをさらに含み、前記最終画像は、少なくとも部分的に前記向上画像に基づく、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

30

(a) 前記未加工画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズを決定することと、

(b) 少なくとも部分的に前記病原菌の前記サイズに基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向上させることと

をさらに含み、項目 23 に記載の方法。

(項目 25)

(a) 前記病原菌の前記サイズからピクセル半径を導出することと、

(b) 少なくとも部分的に前記ピクセル半径に基づいて、前記未加工画像の勾配画像を生成することと、

(c) 少なくとも部分的に前記勾配画像に基づいて、前記未加工画像を前記向上画像に向上させることと

40

をさらに含み、項目 23 に記載の方法。

(項目 26)

前記向上画像を前記最終画像にセグメント化することをさらに含み、項目 23 に記載の方法。

(項目 27)

前記向上画像を前記最終画像にセグメント化することに先立って、前記向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含み、項目 26 に記載の方法。

(項目 28)

(a) 前記向上画像のための閾値を決定することと、

50

( b ) 少なくとも部分的に前記閾値に基づいて、前記向上画像を前記最終画像にセグメント化することと

をさらに含む、項目 2 6 に記載の方法。

( 項目 2 9 )

生物学的試験システムであって、前記生物学的試験システムは、

( a ) 培養器システムであって、前記培養器システムは、ある期間にわたって試験ウェル内に配置された混合物を培養するように構成され、前記混合物は、複数の病原菌と、抗菌剤とを含む、培養器システムと、

( b ) 光学システムであって、前記光学システムは、

( i ) ステージであって、前記ステージは、前記期間にわたって前記培養器システム内で培養した後、前記試験ウェルを選択的に受け取るように構成されている、ステージと、

( i i ) カメラであって、前記カメラは、前記ステージ上の前記試験ウェル内に配置された前記混合物の未加工画像を捕捉するように構成されている、カメラと

を備えている、光学システムと、

( c ) 前記培養器システムと前記光学システムとの間で前記試験ウェルを移動させるように構成された移動システムと、

( d ) データベースであって、前記未加工画像は、前記データベース内に記憶される、データベースと、

( e ) プロセッサと

を備え、

前記プロセッサは、

( i ) 前記未加工画像を最終画像に操作することと、

( i i ) 前記最終画像から前記混合物の特性を収集することと、

( i i i ) 前記特性に基づいて、前記複数の病原菌に対する前記抗菌剤の最小抑制濃度を決定することと

を行うように構成されている、生物学的試験システム。

( 項目 3 0 )

前記ステージは、第 1 の方向および第 2 の方向に移動可能である、項目 2 9 に記載の生物学的試験システム。

( 項目 3 1 )

前記ステージは、第 3 の方向に移動可能である、項目 3 0 に記載の生物学的試験システム。

( 項目 3 2 )

前記特性は、前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における病原菌の量である、項目 2 9 に記載の生物学的試験システム。

( 項目 3 3 )

前記特性は、前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌のサイズである、項目 2 9 に記載の生物学的試験システム

( 項目 3 4 )

前記特性は、比率であり、前記比率は、少なくとも部分的に前記最終画像内に描写された病原菌の量に基づき、前記比率は、少なくとも部分的に前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌の前記サイズに基づく、項目 2 9 に記載の生物学的試験システム

( 項目 3 5 )

前記特性は、比率であり、前記比率は、少なくとも部分的に前記最終画像内に描写された前記複数の病原菌における前記病原菌に関連付けられたピクセルの量に基づく、項目 2 9 に記載の生物学的試験システム。

本明細書は、本発明を特に指示し、明確に請求する請求項で終了するが、本発明は、同様の参照番号が同一の要素を識別する付随の図面と併せて検討されるある実施例の以下の説明からより深く理解されるであろうと考えられる。

10

20

30

40

50

## 【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1A】図1Aは、例示的生物学的試験システムの図式的図の一部を描写する。

【0009】

【図1B】図1Bは、図1Aの生物学的試験システムの図式的図の別の部分を描写する。

【0010】

【図2】図2は、図1Bの生物学的試験システムの例示的培養器システムおよび例示的光学システムの斜視図を描写する。

【0011】

【図3】図3は、図2の光学システムの斜視図を描写する。

10

【0012】

【図4】図4は、光学システムのXYステージを示す図2の光学システムの別の斜視図を描写する。

【0013】

【図5】図5は、図2の光学システムの一部の図式的図を描写する。

【0014】

【図6】図6は、例示的コンピュータシステムの図式的図を描写する。

【0015】

【図7】図7は、病原菌に関する理論的成長曲線のチャートを描写する。

【0016】

20

【図8】図8は、図1Aおよび1Bの生物学的試験システムにおいて使用するための例示的成長試験ウェルの概略図を描写する。

【0017】

【図9】図9は、図1Aおよび1Bの生物学的試験システムにおいて使用するための例示的画像分析サイクルを描写する。

【0018】

【図10】図10は、図2の光学システムによって捕捉される例示的未加工画像を描写する。

【0019】

【図11】図11は、図10の未加工画像から導出される例示的向上画像を描写する。

30

【0020】

【図12】図12は、図10の未加工画像から導出される例示的勾配画像を描写する。

【0021】

【図13】図13は、例示的画像向上フローチャートを描写する。

【0022】

【図14】図14は、例示的動的画像向上フローチャートを描写する。

【0023】

【図15】図15は、図10の未加工画像から導出される例示的セグメント化画像を描写する。

【0024】

40

【図16】図16は、例示的画像セグメント化フローチャートを描写する。

【0025】

【図17】図17は、伸び要素を有する例示的病原菌を描写する。

【0026】

【図18】図18は、非伸び要素を有する例示的病原菌を描写する。

【0027】

【図19】図19は、本発明の例示的最適化抗菌剤感受性試験方法を描写する。

【0028】

【図20A】図20Aは、複数の異なる抗菌剤希釈物に関する連続的病原菌総数の例示的チャートを描写する。

50

【 0 0 2 9 】

【 図 2 0 B 】 図 2 0 B は、 図 2 0 A の 抗 菌 剤 希 釈 物 に 関 す る 連 続 的 面 積 総 和 の 例 示 的 チ ャ ー ト を 描 写 す る。

【 0 0 3 0 】

【 図 2 0 C 】 図 2 0 C は、 図 2 0 B の 面 積 総 和 と 図 2 0 A の 病 原 菌 総 数 と の 間 の 比 率 の 連 続 的 決 定 の 例 示 的 チ ャ ー ト を 描 写 す る。

【 0 0 3 1 】

【 図 2 1 】 図 2 1 は、 複 数 の 異 な る 抗 菌 剤 希 釈 物 に 関 す る 連 続 的 病 原 菌 総 数 の 例 示 的 チ ャ ー ト を 描 写 す る。

【 0 0 3 2 】

【 図 2 2 】 図 2 2 は、 図 2 1 の 病 原 菌 に 関 す る 面 積 総 和 と 図 2 1 の 病 原 菌 総 数 と の 間 の 比 率 の 連 続 的 決 定 の 例 示 的 チ ャ ー ト を 描 写 す る。

【 0 0 3 3 】

【 図 2 3 】 図 2 3 は、 図 1 9 と 同 様 に、 本 発 明 の 例 示 的 最 適 化 抗 菌 剤 感 受 性 試 験 方 法 を 描 写 す る。

【 0 0 3 4 】

【 図 2 4 】 図 2 4 は、 図 1 9 と 同 様 に、 本 発 明 の 例 示 的 最 適 化 抗 菌 剤 感 受 性 試 験 方 法 を 描 写 す る。

【 発 明 を 実 施 す る た め の 形 態 】

【 0 0 3 5 】

図 面 は、 い か よ う に も 限 定 で あ る よ う に 意 図 さ れ ず、 本 発 明 の 種 々 の 実 施 形 態 が、 必 ず し も 図 面 に 描 写 さ れ る わ け で は な い も の を 含 む 種 々 の 他 の 方 法 で 実 行 さ れ 得 る こ と が 考 慮 さ れ る。 本 明 細 書 に 組 み 込 ま れ、 そ の 一 部 を 形 成 す る 付 随 の 図 面 は、 本 発 明 の い く つ か の 側 面 を 図 示 し、 説 明 と と も に、 本 発 明 の 原 理 を 解 説 す る 役 割 を 果 た す が、 し か し な が ら、 本 発 明 は、 示 さ れ る 精 密 な 配 列 に 限 定 さ れ な い こ と を 理 解 さ れ た い。

【 0 0 3 6 】

本 発 明 の あ る 実 施 例 の 以 下 の 説 明 は、 本 発 明 の 範 囲 を 限 定 す る よ う に 使 用 さ れ る べ き で は な い。 本 発 明 の 他 の 実 施 例、 特 徴、 側 面、 実 施 形 態、 お よ び 利 点 が、 例 証 と し て、 本 発 明 を 実 行 す る た め に 考 慮 さ れ る 最 良 の 形 態 の う ち の 1 つ で あ る 以 下 の 説 明 か ら 当 業 者 に 明 白 と な る で あ ろ う。 認 識 さ れ る で あ ろ う よ う に、 本 発 明 は、 全 て 本 発 明 か ら 逸 脱 す る こ と なく、 他 の 異 な る 明 白 な 側 面 が 可 能 で あ る。 故 に、 図 面 お よ び 説 明 は、 制 限 で は な く、 本 質 的 に 例 証 と し て 見 な さ れ る べ き で あ る。

【 0 0 3 7 】

本 明 細 書 に 説 明 さ れ る 教 示、 表 現、 バ ー ジ ョ ン、 実 施 例 等 の う ち の い ず れ か 1 つ 以 上 の も の は、 本 明 細 書 に 説 明 さ れ る 他 の 教 示、 表 現、 バ ー ジ ョ ン、 実 施 例 等 の う ち の い ず れ か 1 つ 以 上 の も の と 組 み 合 わ せ ら れ 得 る こ と を 理 解 さ れ た い。 以 下 に 説 明 さ れ る 教 示、 表 現、 バ ー ジ ョ ン、 実 施 例 等 は、 し た が っ て、 互 い に 対 し て 孤 立 し て 見 な さ れ る べ き で は な い。 本 明 細 書 の 教 示 が 組 み 合 わ せ ら れ 得 る 種 々 の 好 適 な 方 法 が、 本 明 細 書 の 教 示 に 照 ら し て 当 業 者 に 容 易 に 明 白 と な る で あ ろ う。 そ の よ う な 修 正 お よ び 変 形 例 は、 請 求 項 の 範 囲 内 に 含 ま れ る こ と が 意 図 さ れ る。

【 0 0 3 8 】

( I . 生 物 学 的 試 験 シ ス テ ム ハ ー ド ウ ェ ア )

【 0 0 3 9 】

図 1 A お よ び 1 B は、 生 物 学 的 試 験 シ ス テ ム 1 に お い て 利 用 可 能 な 種 々 の ハ ー ド ウ ェ ア 構 成 要 素 の 図 式 的 実 施 例 を 描 写 す る。 生 物 学 的 試 験 シ ス テ ム 1 は、 最 適 化 抗 菌 剤 感 受 性 試 験 ( A S T ) 方 法 1 0 1 ( 図 1 9 ) を 促 進 す る。 生 物 学 的 試 験 シ ス テ ム 1 は、 大 ま か に は、 消 耗 品 調 製 シ ス テ ム 3 と、 接 種 シ ス テ ム 5 と、 培 養 器 シ ス テ ム 7 と、 光 学 シ ス テ ム 9 と を 含 む。 生 物 学 的 試 験 シ ス テ ム 1 内 の 種 々 の シ ス テ ム は、 互 い に 協 調 し、 ユ ー ザ に よ っ て 適 正 な 物 質 を 装 填 さ れ る と、 自 動 的 に 機 能 す る。

【 0 0 4 0 】

10

20

30

40

50

生物学的試験システム 1 を動作させるために、ユーザは、最初に、適切な病原菌サンプルを取得する。図 1 A に示されるように、病原菌サンプルは、寒天板 1 1 から取得され得るか、またはある状況下では、血液サンプルが、使用され得る。次に、ユーザは、好適な液体培地または培養液を含む管の中に病原菌を移送することによって接種材料懸濁液を調製する。1 つのそのような管が、接種材料 1 3 として図 1 A に示される。生物学的試験システム 1 のいくつかのバージョンでは、液体培地または培養液は、MIC 決定または他の関連付けられる試験に有害に干渉することなく、溶液中に導入される病原菌の生存能力を維持することを補助するための少量のナトリウムおよび塩化カリウムを伴う約 0.5 mM のリン酸緩衝液であり得る。リン酸緩衝液は、2 つのシステムにわたる異なる接種材料の必要性を最小化し、単一の培養液を有することの効率を活用するために、ID 試験および A S T 試験の両方において使用され得る。各接種材料 1 3 は、接種材料ラック 1 5 の中に設置され、接種材料ラック全体 1 5 が、接種システム 5 の中に設置される。接種システム 5 内に入ると、各接種材料 1 3 内の接種材料は、必要に応じて、接種材料 1 7 を生成するために 0.5 マクファーランドの標準濁度値まで調節される。生物学的試験システム 1 のいくつかのバージョンでは、1 マイクロリットルプラスチックループまたは綿棒が、寒天板からコロニーを容易に採集し、接種材料を所望の濁度値にするために必要とされる調節の量を最小化するために、ユーザに提供され得る。所望の濁度値まで調節されると、接種材料は、完成される。完成された接種材料は、以降では、図 1 B に描写されるように、接種材料 1 7 と称されるであろう。接種材料 1 7 は、1 : 250 希釈物にさらに希釈され、接種材料 1 8 に変換され得る。下でより詳細に議論されるであろうように、各接種材料 1 7 内に含まれる接種材料は、同定 (ID) アレイ保持器 2 1 に適用される一方、各接種材料 1 8 内に含まれる接種材料は、A S T アレイ保持器 2 3 に適用される。ID アレイ保持器 2 1 および A S T アレイ保持器 2 3 の両方は、消耗品調製システム 3 によって組み立てられ、接種材料 1 7 および接種材料 1 8 との使用のために接種システム 5 に提供される。

#### 【0041】

消耗品調製システム 3 は、試験アレイ 1 9 のマガジンを装填され、試験アレイ 1 9 は、一連の試験ウェル 2 0 内に配置される生物学的試験システム 1 によって要求される種々の抗菌剤または他の作用剤を含み得る。例えば、試験アレイ 1 9 は、抗菌剤希釈物アレイまたは同定アレイを備え得る。消耗品調製システム 3 は、バルク希釈液 (図示せず)、および / または、ID アレイ保持器 2 1、A S T アレイ保持器 2 3 およびそれらの中の接種材料を調製し、完成させるための種々の他の要素を装填され得る。主として、消耗品調製システム 3 は、要求に応じて試験アレイ 1 9 を回収し、各回収された試験アレイ 1 9 を ID アレイ保持器 2 1 または A S T アレイ保持器 2 3 のいずれかに組み合わせるように動作する。試験アレイ 1 9 は、ロボットグリッパ (図示せず) または規定された試験によって指示されるような他の機械的特徴によって選択され、組み立てられ得る。例えば、医師が、抗生物質アモキシシリンを使用する生物学的試験を指図し得る。アモキシシリン試験に関連する試験アレイ 1 9 が、したがって、回収され、適切な ID アレイ保持器 2 1 および A S T アレイ保持器 2 3 に組み立てられる。試験アレイ 1 9 の全てまたはいくつかの部分は、各試験ウェル 2 0 をデジタルで検査するとき、蛍光相互干渉、降下物、および / または気泡を低減させることを補助するために、スチレン材料から形成され得る。スチレン材料から形成された試験アレイ 1 9 は、再水和のために適正であり、接種材料または希釈液が試験ウェル 2 0 から剥がれ落ちることを防止するためのコロナ処理を要求しないことが見出されている。

#### 【0042】

接種材料 1 7、接種材料 1 8、ID アレイ保持器 2 1、および A S T アレイ保持器 2 3 が組み立てられると、接種システム 5 は、実質的に希釈されていない接種材料を接種材料 1 7 から ID アレイ保持器 2 1 の試験ウェル 2 0 の中に分注し、希釈された接種材料を接種材料 1 8 から A S T アレイ保持器 2 3 の試験ウェル 2 0 の中に分注する。接種材料 1 7 を ID アレイ保持器 2 1 に適用すること、または接種材料 1 8 を A S T アレイ保持器 2 3 に適用することと、その中に配置される病原菌の対数成長の開始との間の時間は、「遅延

時間」として公知である。遅延時間は、酵母抽出物、ビタミン、および/またはミネラルを伴う培養液等の強化培養液を使用することによって減少させられ得る。遅延時間は、接種材料を増加させることによって減少させられ得る。生物学的試験システム1のいくつかのバージョンでは、接種材料の量は、MIC決定の正確度に影響を及ぼすことなく、約30分だけ遅延時間を減少させるために、倍増され得る。分注は、必要に応じて、種々の回路、チャンネル、および管類とともに、グリッパ(図示せず)およびピペッタ(図示せず)を伴うXYロボットまたはXYZロボット(図示せず)を有するエレベータアセンブリ26を介して遂行され得る。XYZロボットは、接種材料ラック15から接種材料を回収し、接種材料をIDアレイ保持器21およびASTアレイ保持器23の試験ウェル20の中に分注することを任務とする。IDアレイ保持器21およびASTアレイ保持器23が接種材料を十分に装填されると、各IDアレイ保持器21およびASTアレイ保持器23は、エレベータアセンブリ26を用いて培養器システム7の中に移動させられる。

10

#### 【0043】

図2に示されるように、培養器システム7は、多数のIDアレイ保持器21およびASTアレイ保持器23を保持するためのスロット27を含む。各アレイ保持器は、XYZロボット29によってグリッパ31を使用して対応するスロット27の中に設置される。XYZロボット29は、XYZ平面の任意の部分において移動し、グリッパ31を所望のIDアレイ保持器21またはASTアレイ保持器23に近接して位置付けるように動作する。培養器システム7内にある間、各アレイ保持器は、具体的な所望の環境条件において培養される。例えば、培養器システム7は、摂氏35度においてアレイ保持器を培養するように設定され得る。培養中、ある時間間隔において、XYZロボット29は、特定のIDアレイ保持器21またはASTアレイ保持器23を回収し、選択されたアレイ保持器を光学システム9の中に移動させる。

20

#### 【0044】

図2-4に示されるように、光学システム9は、IDアレイ保持器21またはASTアレイ保持器23の各試験ウェル20のための画像を観察、監視、精査、および/または捕捉するように構成される特徴を含む。具体的には、各IDアレイ保持器21は、ID蛍光光度計33によって監視される一方、各ASTアレイ保持器23は、ASTカメラ35によって監視される。監視を遂行するために、XYZロボット29は、グリッパ31を用いて特定のアレイ保持器を回収し、選択されたアレイ保持器をXYステージ37上に設置する。XYステージ37は、関連付けられる監視要素の下にアレイ保持器を位置付けるようにXY平面において移動し、すなわち、光学システム9における監視および観察のために、IDアレイ保持器21は、ID蛍光光度計33の下に配置され、ASTアレイ保持器23は、ASTカメラ35の下に配置される。XYステージ37は、関連付けられるアレイ保持器の各試験ウェル20が、ID蛍光光度計33またはASTカメラ35のいずれかの観察フレーム内に正確に位置付けられることを可能にするために、微調整されたモータ制御を含む。

30

#### 【0045】

図5は、光学システム9のAST光学部分39のための例示的アーキテクチャを図示する。AST光学部分39は、照明源41と、対物レンズ43と、管レンズ45と、折り返しミラー47とを含む。照明源41は、ASTアレイ保持器23の各試験ウェル20の単色照明を提供するための集光LEDシステムを備え得る。対物レンズ43は、Nikon 20倍 0.45 NA ELWD対物レンズまたは任意の他の好適な種類のレンズを備え得る。対物レンズ43は、各ピクセルが約0.33ミクロンに及ぶ20倍対物レンズを備え得る。20倍対物レンズは、細胞成長の開始時に相当な数の細胞(約100~200個の細胞)を検出する能力と、下で説明されるような伸びから正常な成長を分離するための細胞形態を検出する能力との両方を提供する。対物レンズ43は、その中の病原菌をカウントするために十分な分解能を維持しながら、各試験ウェル20のより広いダイナミックレンジおよび/またはより大きいサンプルのための10倍対物レンズおよび/または5MPカメラを備え得る。光学システム9のいくつかの例示的实施形態では、1回の通過あたり

40

50

の試験ウェル 20 あたり 1 つのみの写真または画像が、対物レンズ 43 によって取得される。対物レンズ 43 は、試験ウェル 20 の底部からの背景雑音を排除するために、試験ウェル 20 の底部からわずかに外して焦点を合わせ得る。光学システム 9 のいくつかのバージョンでは、対物レンズ 43 は、試験ウェル 20 の底部から約 5 ~ 10 ミクロンに焦点を合わせるように構成される。光学システム 9 のいくつかのバージョンでは、対物レンズ 43 は、試験ウェル 20 の底部から 8 ミクロンに焦点を合わせるように構成される。対物レンズ 43 はまた、対物レンズ 43 が X Y ステージ 37 に対して Z 軸に移動することを可能にするための Z ステージ 44 を含み得る。したがって、A S T アレイ保持器 23 を X Y 平面において移動させる X Y ステージ 37 と、対物レンズ 43 を Z 軸において移動させる Z ステージ 44 との間で、アレイ保持器 23 の各試験ウェル 20 は、試験ウェル 20 を A S T カメラ 35 のフレームと精密に整列させるために、任意の 3 次元空間において移動させられ得る。管レンズ 45 は、色消管レンズにおいて具現化され得る。A S T カメラ 35 は、Sony IMX 253 カメラまたは任意の他の好適な種類のカメラを備え得る。光学システム 9 のいくつかのバージョンでは、X Y ステージ 37 および Z ステージ 44 は、試験ウェル 20 の 3 次元移動の全ての 3 つの軸を提供するために、X Y Z ステージと置換される。

10

#### 【0046】

ここで図 6 を参照すると、生物学的試験システム 1 の種々の構成要素は、例示的コンピュータシステム 49 等の 1 つ以上のコンピューティングデバイスまたはシステムを組み込み得る。例えば、消耗品調製システム 3、接種システム 5、培養器システム 7、および / または光学システム 9 のうちのいずれか 1 つは、例示的コンピュータシステム 49 等の 1 つ以上のコンピューティングシステムを組み込み得る。代替として、生物学的試験システム 1 のこれらのサブシステムの各々は、例示的コンピュータシステム 49 等の 1 つの全体的コンピューティングシステムからのコマンドを介して機能し得る。

20

#### 【0047】

コンピュータシステム 49 は、プロセッサ 51 と、メモリ 53 と、大容量記憶メモリデバイス 55 と、入力 / 出力 ( I / O ) インターフェース 57 と、ヒューマンマシンインターフェース ( H M I ) 59 とを含み得る。コンピュータシステム 49 は、ネットワーク 63 または I / O インターフェース 57 を介して 1 つ以上の外部リソース 61 にも動作可能に結合され得る。外部リソースは、限定ではないが、サーバ、データベース、大容量記憶デバイス、周辺デバイス、クラウドベースのネットワークサービス、またはコンピュータシステム 49 によって使用され得る任意の他の好適なコンピュータリソースを含み得る。

30

#### 【0048】

プロセッサ 51 は、マイクロプロセッサ、マイクロコントローラ、デジタル信号プロセッサ、マイクロコンピュータ、中央処理ユニット、フィールドプログラマブルゲートアレイ、プログラマブル論理デバイス、状態マシン、論理回路、アナログ回路、デジタル回路、またはメモリ 53 内に記憶される動作命令に基づいて信号 ( アナログもしくはデジタル ) を操作する任意の他のデバイスから選択される 1 つ以上のデバイスを含み得る。メモリ 53 は、限定ではないが、読み取り専用メモリ ( R O M )、ランダムアクセスメモリ ( R A M )、揮発性メモリ、不揮発性メモリ、スタティックランダムアクセスメモリ ( S R A M )、ダイナミックランダムアクセスメモリ ( D R A M )、フラッシュメモリ、キャッシュメモリ、または情報を記憶することが可能な任意の他のデバイスを含む単一のメモリデバイスもしくは複数のメモリデバイスを含み得る。大容量記憶メモリデバイス 55 は、ハードドライブ、光学ドライブ、テープドライブ、不揮発性ソリッドステートデバイス、または情報を記憶することが可能な任意の他のデバイス等のデータ記憶デバイスを含み得る。

40

#### 【0049】

プロセッサ 51 は、メモリ 53 内に常駐するオペレーティングシステム 65 の制御下で動作し得る。オペレーティングシステム 65 は、コンピュータリソースを管理し得、それによって、メモリ 53 内に常駐するアプリケーション 67 等の 1 つ以上のコンピュータソフトウェアアプリケーションとして具現化されるコンピュータプログラムコードは、プロ

50

セッサ 51 によって実行される命令を有し得る。代替実施形態では、プロセッサ 51 は、アプリケーション 67 を直接実行し得、その場合、オペレーティングシステム 65 は、省略され得る。1 つ以上のデータ構造 69 も、メモリ 53 内に常駐し得、データを記憶または操作するために、プロセッサ 51、オペレーティングシステム 65、またはアプリケーション 67 によって使用され得る。

【0050】

I/O インターフェース 57 は、プロセッサ 51 をネットワーク 63 または外部リソース 61 等の他のデバイスおよびシステムに動作可能に結合する機械インターフェースを提供し得る。アプリケーション 67 は、それによって、本発明の実施形態を構成する種々の特徴、機能、アプリケーション、プロセス、またはモジュールを提供するために、I/O インターフェース 57 を介して通信することによってネットワーク 63 または外部リソース 61 と協働的に機能し得る。アプリケーション 67 は、1 つ以上の外部リソース 61 によって実行されるプログラムコードも有するか、または別様に、コンピュータシステム 49 の外部の他のシステムもしくはネットワークコンポーネントによって提供される機能または信号に依拠し得る。実際に、ほぼ無限のハードウェアおよびソフトウェア構成が可能であることを所与として、当業者は、本発明の異なるバージョンが、コンピュータシステム 49 の外部に位置する複数のコンピュータまたは他の外部リソース 61 間に分散されるか、もしくはクラウドコンピューティングサービス等のネットワーク 63 を経由するサービスとして提供されるコンピューティングリソース（ハードウェアおよびソフトウェア）によって提供されるアプリケーションを含み得ることを理解するであろう。

【0051】

HMI 59 は、ユーザがコンピュータシステム 49 と直接相互作用することを可能にするために、公知の様式でコンピュータシステム 49 のプロセッサ 51 に動作可能に結合され得る。HMI 59 は、ビデオまたは英数字ディスプレイ、タッチスクリーン、スピーカ、およびデータをユーザに提供することが可能な任意の他の好適なオーディオならびに視覚インジケータを含み得る。HMI 59 は、ユーザからコマンドまたは入力を受け取り、入力された入力をプロセッサ 51 に伝送することが可能な英数字キーボード、ポインティングデバイス、キーパッド、プッシュボタン、制御ノブ、マイクロホン等の入力デバイスおよび制御装置も含み得る。

【0052】

データベース 71 は、大容量記憶メモリデバイス 55 上に常駐し得、本明細書に説明される種々のシステムおよびモジュールによって使用されるデータを収集ならびに編成するために使用され得る。データベース 71 は、データおよびデータを記憶ならびに編成する支援データ構造を含み得る。特に、データベース 71 は、限定ではないが、リレーショナルデータベース、階層化データベース、ネットワークデータベース、またはそれらの組み合わせを含む任意のデータベース編成もしくは構造で配列され得る。プロセッサ 51 上の命令として実行されるコンピュータソフトウェアアプリケーションの形態におけるデータベース管理システムが、クエリに回答して、データベース 71 の記録に記憶された情報またはデータにアクセスするために使用され得、クエリは、オペレーティングシステム 65、他のアプリケーション 67、または 1 つ以上のモジュールによって動的に決定および実行され得る。

【0053】

(II. 最適化 AST システムおよび方法)

【0054】

図 7-23 は、最適化 AST 方法 101 (図 19) の種々の特徴およびステップを図示する。いくつかのバージョンでは、上で議論されるようなシステム 1 は、最適化 AST 方法 101 において提供される特徴のうちのいくつかまたは全てを促進するために使用され得る。最適化 AST 方法 101 は、MIC が決定されるまで、画像分析サイクル 102 を繰り返し実行することを含む。

【0055】

10

20

30

40

50

いくつかの従来プロセスでは、MICは、病原菌が成長することを可能にするための期間を待った後、試験ウェルの手動目視検査を通して決定される。しかしながら、図7に示されるように、試験ウェル内の病原菌サンプル成長は、接種材料が試験ウェル内に配置された後の4～10時間まで裸眼で観察可能ではない。MICを決定する伝統的方法は、試験ウェル内の病原菌の成長に対して人間が視覚的に知覚し得るものによって限定される。さらに、MIC濃度を下回る抗菌剤希釈濃度の存在は、成長速度を緩慢にし、知覚するためにさらに長くかかり得る。図7に示されるように、病原菌サンプルの最初の6～7回の倍加は、人の眼によって視覚的に観察されることができない。しかしながら、これらの初期倍加を通して提供される情報は、多くの場合、MICを示す。図7-23に示されるように、最適化AST方法101は、試験ウェルにおける接種時点から成長速度を監視するためにデジタル顕微鏡検査を利用し、したがって、MICのより迅速かつ正確な検出を可能にする。加えて、病原菌のサイズおよび形状等の試料形態情報が、MIC決定の正確度を向上させるために使用されることができ、例えば、目視観察は、ペーテラクタム抗生物質によって引き起こされる伸び等の異常成長と正常成長との間を検出することができないので、伸び等の試料形態情報が、MIC決定の正確度を向上させるために使用され得る。

10

#### 【0056】

図8は、最適化AST方法101において使用するためのいくつかの例示的デジタル顕微鏡検査パラメータを提供する。試験ウェル20は、透明な視認底部を有する「384」式試験ウェルによって具現化される。試験ウェル20内の接種材料の体積は、AST方法101によって要求されるバルク希釈液等の材料の量を低減させ、および/または光アーチファクトを最小化し、0.5マクファーランドの接種材料の1:250希釈物から一貫した数の病原菌のサンプリングを提供するために、20マイクロリットルに設定され得る。試験ウェル20内の接種材料の体積を減少させることは、概して、光アーチファクトを増加させる。いくつかの事例では、ASTカメラ35が0.33ミクロン/ピクセルに設定される20倍対物レンズにおいて単一の垂直面103を捕捉することは、接種材料をサンプリングし、各個々の病原菌が認識可能であることを確実にするために十分であり得る。しかしながら、これらのパラメータは、構成可能であり、ユーザまたはシステムの根本的な必要性によって、所望に応じて変化し得る。単一の垂直面103内で約5ミクロン間隔を置かれた3つの焦点部位を捕捉することも、最適化AST方法101における使用のために、カウントするために十分な数のサンプル中の病原菌を提供し得る。これらの3つの焦点部位は、図8において部位105、部位107、および部位109と標識化される。最適化AST方法101の例示的バージョンでは、各焦点部位は、3つの異なる垂直面において3つの部位を捕捉するのではなく、単一の垂直面103内で約700×700ミクロンである。ASTカメラ35、光学システム9、およびコンピュータ49は、連続した期間において各焦点部位の画像を捕捉し、これらの画像の各々を操作し、その後、MIC決定を行うためにこれらの操作された画像から導出されるデータを使用するように構成される。

20

30

#### 【0057】

画像分析サイクル102は、概して、図9に描写され、画像捕捉ステップ111と、画像向上ステップ113と、画像セグメント化ステップ115と、物体カウントステップ117とを含む。最適化AST方法101は、MICが決定されるまで、画像分析サイクル102を繰り返し実施することを含む。画像分析サイクル102は、画像捕捉ステップ111、画像向上ステップ113、画像セグメント化ステップ115、および物体カウントステップ117、ならびにその中に提供される任意のサブステップを実施するために、コンピュータ49の1つ以上のインスタンスおよびその種々の要素を利用する。

40

#### 【0058】

画像分析サイクル102は、画像捕捉ステップ111から開始され、光学システム9のASTカメラ35を介して接種材料の未加工画像119(図10)を捕捉し、未加工画像119をメモリ53内に記憶する。未加工画像119は、単一の画像として描写されるが

50

、未加工画像 119 は、垂直面 103 内で取得されたいくつかの別個の画像の合成物、例えば、部位 105、部位 107、および部位 109 の合成物であり得る。未加工画像 119 は、接種材料サンプル内の異なる平面内で取得されたいくつかの画像の合成物でもあり得るか、または、単一の画像であり得る。図 10 に図示されるように、未加工画像 119 は、不均一な照明等の欠陥を含み得る。不均一な照明は、照明源 41 の経路に影響を及ぼし得る関連付けられる試験ウェル 20 の壁と組み合わせて接種材料によって生成されるメニスカスの結果であり得る。不均一な背景強度も、塑性変形等の環境問題によって、または種々の他の源から引き起こされ得る。未加工画像 119 が画像捕捉ステップ 111 において捕捉された後、画像捕捉ステップ 111 は、画像向上ステップ 113 に進む。

#### 【0059】

図 9 および 11 - 14 に示されるように、画像向上ステップ 113 は、向上画像 121 (図 11) を作成するために未加工画像 119 を処理し、それによって、向上画像 121 は、細菌等の病原菌をカウントおよび認識するプロセスのためにより好適である。画像向上ステップ 113 中、未加工画像 119 の 1 つ以上の属性が、修正される。これらの属性は、基本的グレーレベル変換、雑音フィルタリング、およびメディアンフィルタリングを含み得る。例えば、不均一な照明の問題を解決するために、メディアンフィルタが、勾配画像 123 (図 12) に到達するために未加工画像 119 に適用され得る。これは、未加工画像 119 の背景照明の勾配のみを含む結果として生じる画像を提供するために十分なピクセル半径を選択することによって遂行され得る。勾配画像 123 は、次いで、不均一な照明を補正し、不均一な照明のない向上画像 121 を生成するために、未加工画像 119 から減算される。

#### 【0060】

画像向上ステップ 113 は、静的に、動的に、または両方のいずれかで画像向上を適用し得る。例えば、メディアンフィルタのためのピクセル半径は、静的に設定された一定値であり得るか、または光学システム 9 を通して捕捉された各未加工画像 119 の特性から動的に適応的に導出され得る。図 13 に示されるように、画像向上ステップ 113 のいくつかのバージョンは、ステップ 125 を含み得、それによって、作業中の画像が向上を受けべきかどうかに関する決定が、行われる。ステップ 125 が、作業中の画像が向上させられるべきであると決定する場合、ステップ 125 は、ステップ 127 に進む。ステップ 127 において、静的向上が適用されるべきかどうかに関する決定が、行われる。ステップ 127 が、静的向上が適用されるべきであると決定する場合、ステップ 127 は、ステップ 129 に進む。ステップ 127 が、静的向上が適用されるべきではないと決定する場合、ステップ 127 は、ステップ 131 に進む。ステップ 127 において、静的向上が、作業中の画像に適用され、ステップ 127 は、ステップ 125 に戻る。ステップ 131 において、動的向上が、作業中の画像に適用され、ステップ 131 は、ステップ 125 に戻る。ステップ 125 が、作業中の画像がさらに向上させられるべきであると決定する場合、ステップ 125 は、終了に進む。

#### 【0061】

図 14 は、動的画像向上の方法 133 の例を図示する。動的画像向上の方法 133 は、メディアンフィルタ向上において使用するための適切なピクセル半径を動的に決定することを対象とする。動的画像向上の方法 133 は、ステップ 135 から開始され、それによって、未加工画像 119 内に描写される病原菌のサイズが、決定される。病原菌は、グラム陽性細菌、グラム陰性細菌、酵母、または任意の他の生元素もしくは微生物の形態であり得る。未加工画像 119 内の病原菌のサイズは、接種材料および全体的光学システム 9 に関連付けられる種々の状況ならびにパラメータに応じて変化し得る。したがって、試験されている特定の病原菌の文字通りのサイズは、概して、本質的に一定であるが、未加工画像 119 内に描写される微生物の相対的サイズは、レンズオブジェクト化等のパラメータの差異により、動的かつ可変である。ステップ 135 が未加工画像 119 内の病原菌のサイズを決定すると、ステップ 135 は、ステップ 137 に進む。ステップ 137 において、ピクセル半径が、病原菌の決定されたサイズから導出される。一般的例として、ステ

10

20

30

40

50

ステップ135が、未加工画像119内の任意の所与の病原菌の最大長が5ピクセルであると決定する場合、ピクセル半径は、フィルタ処理された画像が背景に含まれる勾配のみを表すように、5を上回るべきことが決定され得る。ステップ135が動的に決定された病原菌のサイズに基づいてピクセル半径を導出した後、ステップ135は、ステップ139に進む。ステップ139において、勾配画像123が、導出されたピクセル半径を用いて未加工画像119を処理することに基づいて生成される。勾配画像123が生成された後、ステップ139は、ステップ141に進む。ステップ141において、勾配画像123は、向上画像121を生成するために未加工画像119から減算される。その後、動的画像向上の方法133は、終了に進む。

#### 【0062】

図9、15、および16に示されるように、画像セグメント化ステップ115は、画像を、病原菌を前景または背景のいずれかとして表すピクセルを含む明確に異なる領域に区分化するために使用される。画像セグメント化ステップ115は、図15に示されるように、向上画像121をセグメント化画像143に変換する。画像セグメント化ステップ115は、向上画像121からバイナリ画像を生成し、全ピクセルは、0または1のいずれかの値に等しく、0は、背景を指し、1は、特定の病原菌の一部を指す。

#### 【0063】

雑音等の画像アーチファクトが、セグメント化アルゴリズムを適用することに先立って、雑音低減フィルタを適用することによって除去され得る。セグメント化は、静的閾値を使用して、またはOtsuクラスタベースの二値化アルゴリズム等の適応画像二値化方法を使用して取得されることができる。このアルゴリズムでは、グレーレベルサンプルは、背景および前景（物体）として2つの部分にクラスタ化されるか、または代替として、2つのガウス分布の混合物としてモデル化される。使用される特定の画像二値化アルゴリズムに関する閾値は、画像セグメント化ステップ115に提供される全体的画像および画像の相対的グレースケールレベルに応じて、動的に決定され得る。例えば、接種システム5またはシステム1の別の要素は、ニグロシンが細菌等のある病原菌に付着しないので、画像を向上させるために各試験ウェル20にニグロシンを適用するように構成され得る。これは、ニグロシンを伴わない未加工画像119と比較して、未加工画像119内の相対的グレースケールレベルを改変し、セグメント化アルゴリズムのための異なる閾値を要求し得る。最適化AST方法101のいくつかのバージョンでは、閾値は、画像のいくつかのエリア内のエッジを捜すことによって動的に決定され得る。これらのエッジは、背景と病原菌との間の遷移点である。したがって、閾値は、次いで、見つけられたエッジの各側のピクセルに対する平均グレースケール値として計算されることができる。

#### 【0064】

図16に示されるように、画像セグメント化ステップ115のいくつかのバージョンは、ステップ145から開始され得る。ステップ145において、雑音低減フィルタを向上画像121に適用すべきかどうかに関する決定が、行われる。ステップ145が、雑音低減フィルタが適用されるべきであると決定する場合、ステップ145は、ステップ147に進み、雑音低減フィルタが、適用される。ステップ147は、その後、ステップ149に進む。ステップ145が、雑音低減フィルタが適用されるべきではないと決定する場合、ステップ145は、直接、ステップ149に進む。ステップ149において、閾値を動的に決定すべきかどうかに関する決定が、行われる。ステップ149が、閾値が動的に決定されるべきであると決定する場合、ステップ149は、ステップ151に進み、閾値が、決定される。ステップ149は、その後、ステップ153に進む。ステップ149が、閾値を動的に決定しないと決定する場合、静的な所定の閾値が、使用され、ステップ149は、直接、ステップ153に進む。ステップ153において、向上画像121は、選択された閾値を使用してセグメント化され、ステップ153は、終了に進み、その後、画像セグメント化ステップ115は、終了に進む。

#### 【0065】

画像セグメント化ステップ115がセグメント化画像143を生成すると、画像セグメ

10

20

30

40

50

ント化ステップ 1 1 5 は、物体カウントステップ 1 1 7 に進む。物体カウントステップ 1 1 7 では、背景および前景ピクセルが、サンプル中の病原菌の数、サンプル中の病原菌によって占有される面積、および病原菌の数と病原菌によって占有される面積との間の比率に関する情報を導出するために考慮される。物体カウントステップ 1 1 7 のいくつかのバージョンでは、実際の病原菌総数が、平均病原菌総数と比較され、エラーが画像捕捉プロセス内で起こったかどうかを決定する。比較は、病原菌比較を一般化するために、平均病原菌総数とともに標準偏差を組み込み得る。

【 0 0 6 6 】

物体カウントステップ 1 1 7 は、画像内の病原菌の数に関する情報を導出するように構成され得る。物体カウントステップ 1 1 7 のいくつかの実施形態では、セグメント化画像 1 4 3 内の前景ピクセルの数が、接種材料の撮像された部分内の病原菌の数を決定するために、所定の幅および/または長さに従ってカウントされ得る。潜在的な病原菌の外形が、セグメント化画像 1 4 3 内の対応する異なる前景ピクセル形状を提供するので、カウントアルゴリズムは、2 つの別個のアルゴリズムに分割され得、1 つは、桿形病原菌をカウントするためのものであり、1 つは、球形病原菌をカウントするためのものである。例えば、カウントアルゴリズムは、球形病原菌のためのカウント目的のために 2 × 2 ピクセルの正方形を病原菌と見なすように構成され得るか、または桿形病原菌のためのカウント目的のために 1 × 4 ピクセルの長方形を病原菌と見なし得る。さらに、カウントアルゴリズムは、桿形病原菌の異なる 3 次元向きを捕捉するために、両方のアルゴリズムを処理するように構成され得る。例えば、細長い桿が A S T カメラ 3 5 に向かって端方向に位置付けられる場合、それは、A S T カメラ 3 5 を通して 2 次元において視認されると、非常に異なる外形を有するであろう。したがって、両方のカウントアルゴリズムが、画像分析サイクル 1 0 2 のカウント段階の間に使用され得る。代替として、カウントアルゴリズムは、背景ピクセルによって包囲される任意の前景ピクセルを病原菌として見なし、カウントするように構成され得る。

【 0 0 6 7 】

物体カウントステップ 1 1 7 は、画像内の病原菌の全てによって占有される合計面積に関する情報を導出するように構成され得る。物体カウントステップ 1 1 7 のいくつかのバージョンでは、セグメント化画像 1 4 3 内の前景ピクセルの合計数が、カウントされ、セグメント化画像 1 4 3 内の背景ピクセルの合計数と比較され得る。物体カウントステップ 1 1 7 は、3 0 % 等のパーセントとして、または「4 5 0 個の合計ピクセルのうち 1 3 8 個の前景ピクセル」もしくは「1 3 8 個の前景ピクセルおよび 3 1 2 個の背景ピクセル」等のピクセルの文字通りの数としてのものを含む任意のフォーマットで面積カウント情報を表し得る。

【 0 0 6 8 】

物体カウントステップ 1 1 7 は、画像内の病原菌の全てによって占有される合計面積と病原菌の合計数との間の比率に関する情報を導出するように構成され得る。この情報は、病原菌が経時的に伸びを受けているかどうかを決定することによって有用であり得る。伸びは、死滅の前兆であり、抗菌剤希釈物の濃度が病原菌に悪影響を及ぼしていることを示す。より具体的には、伸びは、細菌等の病原菌が効果的な量の抗生物質に遭遇すると起こり得る。

【 0 0 6 9 】

例えば、図 1 7 および 1 8 は、大腸菌によって具現化される病原菌を描写する。図 1 7 は、抗生物質アンピシリンの希釈物にさらされた後の大腸菌を描写する一方、図 1 8 は、どんなアンピシリン暴露もない大腸菌を描写する。図 1 7 は、アンピシリン暴露の結果としての伸びの形態における異常成長を図示する。この伸びは、細菌の死滅の前兆であり、アンピシリンの濃度が細菌を中和するために十分であることを例証する。図 1 8 は、正常成長を図示する。細菌の全てによって占有される合計面積と細菌総数との間の比率は、各細菌の伸びを表すために経時的に増加するということになる。例えば、特定の画像サンプルが、1 0 0 匹の細菌を含み、各細菌が、各々、約 4 ピクセルと測定される場合、画像内

10

20

30

40

50

で100匹の細菌によって占有される面積は、400ピクセルである。この画像サンプルでは、細菌総数に対する細菌面積の比率は、4.0である。経時的に、サンプル中の各細菌が、各々、約12ピクセルまで伸びる場合、後の画像内の100匹の細菌によって占有される面積は、1,200ピクセルであり、この後の画像内の細菌総数に対する細菌面積の比率は、12.0である。比率におけるこの増加は、細菌が伸びており、それが、次に、差し迫った死滅を示すので、アンピシリンの濃度が大腸菌を中和させることにおいて効果的であることを示す。

#### 【0070】

物体カウントステップ117がセグメント化画像143から所望の情報を導出すると、画像分析サイクル102は、終了する。最適化AST方法101は、各試験ウェル20内の病原菌が、特定の抗菌剤希釈物ペアリングに対して変化し、反応している様子を決定するために、設定された時間間隔において画像分析サイクル102を反復的に実施する。さらに、最適化AST方法101は、病原菌が抗菌剤希釈物の各濃度に対して反応している様子を決定するために、病原菌に関連付けられる各試験ウェル20に画像分析サイクル102を反復的に実施する。例えば、試験される病原菌が大腸菌であり、3つの試験ウェル20が試験され、各試験ウェル20がその中に20マイクロリットルの溶液を有すると仮定する。第1の試験ウェル20は、1ミリリットルあたり1マイクログラム(mcg/ml)の抗菌剤希釈物を含み得、第2の試験ウェル20は、2mcg/mlの抗菌剤希釈物を含み得、第3の試験ウェル20は、4mcg/mlの抗菌剤希釈物を含み得る。最適化AST方法101は、(a)各抗菌剤希釈物が病原菌に影響を及ぼしている様子、および、(b)各抗菌剤希釈物が他の抗菌剤希釈物に対して機能している様子を決定するために、各設定された時間間隔において3つの試験ウェルの各々に画像分析サイクル102を実施する。データが、1mcg/mlの抗菌剤希釈物が病原菌の中和において2および4mcg/mlの抗菌剤希釈物と同程度に効果的であることを示す場合、1mcg/mlの抗菌剤希釈物が、MICである。

#### 【0071】

最適化AST方法101の例示的バージョンが、図19に図示され、ステップ155から開始される。ステップ155において、システムは、選択された試験ウェル20内の病原菌に、特定の抗菌剤希釈物に対する成長速度または反応に関する新しい情報を提供するために十分な時間を可能にするために、設定された期間閾値にわたって待つ。最適化AST方法101は、任意の所与の静的または動的期間閾値を利用するように構成され得る。例えば、いくつかの細菌または酵母もしくは他の病原菌は、非常に迅速に反応し、1時間以内にMIC決定を行うことに関する情報を提供し得る。このシナリオでは、最適化AST方法101は、試験ウェル20内の急速に変化する環境に関するデータを捕捉するために、5分毎に画像分析サイクル102を実施するように構成され得る。他の病原菌は、比較的緩慢に抗菌剤希釈物に反応し得、したがって、1時間の期間閾値が、より適切であり得る。ステップ155が規定された期間閾値を待つと、ステップ155は、ステップ157に進む。

#### 【0072】

ステップ157において、画像分析サイクル102の1回の反復が、選択された試験ウェル20を用いて特定の病原菌に実施される。上で議論されるように、画像分析サイクル102の反復は、選択された試験ウェル20内の病原菌の成長速度に関するデータを導出する。画像分析サイクル102の反復が実施された後、ステップ157は、ステップ159に進む。ステップ159において、ステップ157において収集されたデータが、メモリ内に記憶および/または更新され、メモリは、データベース、単層ファイル、または任意の他の類似するメモリもしくは記憶デバイスの形態であり得る。最適化AST方法101のいくつかの実施形態では、ステップ159は、ステップ157において収集されたデータをデータベース71(図6)内に記憶する。ステップ159が収集されたデータを記憶/更新すると、ステップ159は、ステップ161に進む。

#### 【0073】

10

20

30

40

50

ステップ161において、最適化AST方法101は、MICを決定するために十分なデータが収集されたかどうかを決定する。より多くのデータがMICを正確に決定するために必要とされる場合、ステップ161は、ステップ155に戻り、将来の時間間隔においてより多くのデータを収集するために別の画像分析サイクル102を実施するために待つ。ステップ161が、十分な量のデータが収集されたらと決定する場合、ステップ161は、ステップ163に進む。他の試験ウェル20および抗菌剤希釈物に対する病原菌の相対的成長速度がMICを示すので、ステップ161は、病原菌および抗菌剤希釈物に関連付けられる特定の試験ウェル20に関して収集されたデータだけを考慮するのではなく、ステップ161は、試験ウェル20の全てに関して収集されたデータの全てを考慮する。

#### 【0074】

ステップ163において、MICが、決定される。決定は、病原菌サンプルのための抗菌剤希釈物の全てに関する画像分析サイクル102の各反復の間に収集されたデータに基づく。図20A、20B、および20Cに示されるように、決定は、各画像内の各細菌または他の病原菌の総数(図20A)、各画像内の病原菌によって占有される面積(図20B)、もしくは各画像内の病原菌の総数に対する占有面積に関する比率データ(図20C)に基づき得る。

#### 【0075】

図20Aは、「総数合計」情報を描写し、それによって、各濃度の抗生物質における細菌総数の合計が、経時的な相対的細菌総数を示すようにプロットされる。図20Aに示されるように、「Cax 0.12」希釈物は、細菌総数が、概して、成長培養液を含むが、抗生物質等のいずれの抗菌剤もない成長サンプルと同一の曲線に沿って増加するので、大腸菌サンプルにいかなる影響も及ぼさないと考えられる。大腸菌サンプルに影響を及ぼすための最小量の抗菌剤希釈物は、「Cax 0.25」希釈物であり、したがって、0.25希釈物において適用されたCax抗生物質が、MICであると決定されることができ

#### 【0076】

図20Bは、「面積合計」情報を描写し、それによって、各濃度の抗生物質における細菌の面積が、経時的な細菌集団の相対的集合体サイズを示すようにプロットされる。図20Bに提供される「面積合計」情報は、「Cax 0.25」が大腸菌によって占有された面積に所望の影響を及ぼすための最小量の抗生物質であるので、図20Aの決定を確認するために使用され得る。図20Bは、細菌が総数において増加していない(「成長」および「Cax 0.12」チャート線の間の比較によって示されるように)が、面積において増加していることを伝える。したがって、細菌は、抗菌剤希釈物中の抗生物質に起因する細菌の差し迫った死滅の結果として、伸び、異常成長を被っている。

#### 【0077】

図20Cは、「面積/総数比率」情報を描写し、それによって、「総数合計」データと「面積合計」データとの間の比率が、抗生物質の濃度毎の面積に対する細菌集団の相対的差異を示すようにプロットされる。伸びデータは、面積と総数との間の比率が描写される図20Cにおいてより顕著である。細菌が成長培養液を供給されない「成長なし」チャート線に見られるように、面積と総数との比率は、約4.0において平坦である。これは、各細菌がサイズにおいて約4ピクセルであり、細菌が総数において増加しておらず、伸びも被っていないことを示す。「成長」および「Cax 0.12」を反映するチャート線は、比率において増加するが、漸進的増加は、細菌の総数および面積の両方が増加していることを示す。8.0を上回る比率の急激なスパイクは、面積が増加するが、細菌の全体的総数が一定のままであるので、細菌の伸びを示す。この顕著な伸びスパイクを被る最小量の抗生物質は、「Cax 0.25」サンプルであり、したがって、図20Cの比率データも、図20Aおよび20Bにおけるデータによって提供される同一のMIC決定の確認においてMIC 0.25を提供する。

#### 【0078】

MIC決定は、データ収集フォーマットおよび経時的なデータの一般的傾向の種々の組

10

20

30

40

50

み合わせにも基づき得るか、または、データの1つの組が、MICを決定するために使用され得る一方、別の組が、決定されたMICを確認するために使用され得る。上で説明される「総数合計」、「面積合計」、および「面積/総数比率」機構の任意の組み合わせが、MICを決定または確認するために使用され得る。例えば、図21および22は、抗生物質セフェピムの種々の抗菌剤希釈物を用いて試験される大腸菌サンプルに関して15分毎に収集されたデータ点を図示する。200分マークの周囲において、図21に提供される細菌総数データは、「Cpe 0.06」希釈物がMICであることを示す。図22に提供される比率データは、「Cpe 0.03」を上回る抗菌剤希釈物の全てが120分マークの周囲において伸びスパイクを提供するので、「Cpe 0.06」が120分マークの周囲においてMICであることを示す。したがって、MICの予備決定が、120分における比率データ(図22)を使用して行われ得、決定されたMICの確認が、200分における総数データ(図21)を使用して行われ得る。最適化AST方法101の本実施形態は、したがって、120分において利用可能な予備MIC決定および200分において利用可能な確認MIC決定を用いて、データの二重試験を提供する。図9を参照すると、4時間または240分が、手動目視検査方法を使用してMIC決定を行うための最も早い可能な閾値であり、それは、より不正確であり、より人手がかかる。

10

【0079】

(III. 最小抑制濃度(MIC)を決定するためのデジタル顕微鏡検査アルゴリズム)

【0080】

図23は、同様の要素が同様の特徴を有する方法101Aと以降で称される例示的最適化AST方法101の別のバージョンを描写する。方法101Aは、方法201として図23に描写されるMICを決定するための例示的デジタル顕微鏡検査アルゴリズムを組み込む。方法201は、方法101のステップ161および163の代わりに実行され得る。

20

【0081】

図23に示されるように、画像データが更新および記憶された後、ステップ159は、方法201に進む。方法201は、ステップ203から開始され、それによって、成長ウェル内の病原菌の総数に関する決定が、行われる。図20A、20B、および20Cに示されるように、各AST試験アレイ23は、抗生物質等のどんな抗菌剤もない接種材料18がその中に配置される試験ウェル20を含み得る。成長ウェルは、したがって、試験を受ける特定の病原菌の阻害されない成長を例証する。ステップ203は、成長ウェル内の病原菌の総数が、第1の総数閾値を超えているかどうかを決定する。方法201のいくつかのバージョンでは、第1の総数閾値は、設定された静的総数量であり得る。例えば、第1の総数閾値は、15,000匹の病原菌であり得る。方法201の他のバージョンでは、第1の閾値量は、新しい試験または試験のバッチが開始される度に生物学的試験システム1のユーザによって構成され得る。方法201のさらにいくつかの他のバージョンでは、第1の総数閾値は、生物学的試験システム1およびID蛍光光度計によって病原菌に実施されたID試験の結果に基づいて、各試験のために動的に設定され得る。

30

【0082】

ステップ203が、成長ウェル内の病原菌の数が第1の総数閾値を超えていないと決定する場合、ステップ203は、期間待ちステップ(ステップ155)の別の反復を実施するためのステップ155、画像分析サイクルステップ(ステップ157)、およびデータ記憶/更新ステップ(ステップ159)に戻る。ステップ203が、成長ウェル内の病原菌の数が第1の総数閾値を超えていると決定する場合、ステップ203は、ステップ205に進む。

40

【0083】

ステップ205において、ASTアレイ保持器23内の各試験ウェル20のための病原菌総数のパーセンテージ変化が、過去の直近の期間にわたって計算される。ステップ205のいくつかのバージョンでは、期間は、前の1時間またはステップ155においてもたらされた期間であり得る。例えば、試験ウェル20A(図示せず)内の病原菌総数が、前の1時間にわたって1,000匹の病原菌から1,200匹の病原菌に増加する場合、ス

50

テップ 205 において計算されるパーセンテージ変化は、20%である。このように、ASTアレイ保持器 23 内の各試験ウェル 20 は、計算され、その後、ステップ 205 は、ステップ 207 に進む。

【0084】

ステップ 207 は、ステップ 205 において計算されたパーセンテージ変化と各試験ウェルのための現在の病原菌総数とを利用することによって、MIC を決定する。具体的には、ステップ 207 は、あるパーセント閾値未満のパーセンテージ変化と第 2 の総数閾値未満の病原菌総数との両方を含む試験ウェル 20 を決定する。これらの 2 つの必要条件を満たす最も低い抗菌薬希釈物が、MIC であると決定される。第 1 の総数閾値に関して上で特に言及されるように、パーセンテージ閾値および/または第 2 の総数閾値は、静的パラメータであるか、試験の開始時にユーザによって入力され得るか、または、特定の病原菌に対して ID 蛍光光度計 33 によって実施された ID 試験の結果を反映するように動的に変更され得る。例えば、ステップ 207 のいくつかのバージョンでは、パーセント閾値は、15% であり得、第 2 の総数閾値は、5,000 匹の病原菌であり得る。この例では、下記の表 1 に描写されるデータが、生物学的試験システム 1 によって収集される場合、MIC は、試験ウェル 20 c 内で見出される 0.5 希釈物であろう。なぜなら、これが、両方の基準を満たす最も低い抗菌薬希釈物であるからである。すなわち、試験ウェル 20 c の抗菌薬希釈物は、15% 未満のパーセンテージ変化と 5,000 未満の病原菌総数との両方を含む最も低い試験希釈物である。試験ウェル 20 b は、5,000 未満の病原菌総数を含むが、パーセンテージ変化は、17% である。同様に、試験ウェル 20 a のパーセンテージ変化は、12% であるが、病原菌総数は、6,500 である。試験ウェル 20 d は、両方の基準を満たすが、抗菌剤希釈は、試験ウェル 20 c を上回る。

10

20

【表 1】

試験ウェル	抗菌剤の希釈度	病原菌総数:時間1	病原菌総数:時間2	パーセント変化
成長	該当なし	12,000	15,600	30%
20a	0.12	5,800	6,500	12%
20b	0.25	4,100	4,800	17%
20c	0.5	3,800	4,100	7%
20d	1.0	3,400	3,700	8%

30

表1

【0085】

ステップ 207 が両方の基準を満たす最も低い抗菌剤希釈物を決定すると、ステップ 207 は、MIC をステップ 165 に供給し、方法 101A は、それに応じて、MIC 情報を記憶および報告するように進む。

40

【0086】

図 24 は、同様の要素が同様の特徴を有する方法 101b と以降で称される例示的最適化 AST 方法 101 の別のバージョンを描写する。方法 101A と同様に、方法 101B は、方法 301 として図 24 に描写される MIC を決定するための例示的デジタル顕微鏡検査アルゴリズムを組み込む。方法 301 は、方法 101 のステップ 161 および 163 の代わりに実行され得る。方法 301 は、特に、メタロベータラクタマーゼに起因するカルバペネム耐性を伴うもの等の病原菌における耐性機構の発現が緩慢である場合に有用であり得る。耐性の発現が緩慢であるいくつかの病原菌は、視覚的に、4 時間またはそれを上回るまで成長を開始するようには見えない。しかしながら、感受性 AST カメラ 35 は、存在する抗菌剤が導入された瞬間から成長におけるわずかな増加を評価することを可能に

50

する。

【 0 0 8 7 】

方法 3 0 1 は、ステップ 3 0 3 から開始され、それによって、成長ウェルの病原菌総数が第 1 の総数閾値を上回るかどうかに関する決定が、行われる。方法 2 0 1 の第 1 の総数閾値で説明されるように、第 1 の総数閾値は、静的パラメータ、ユーザ入力パラメータであり得るか、または、病原菌に関する I D 試験の結果に基づいて動的に変更され得る。例えば、第 1 の総数閾値は、2 0 , 0 0 0 であり得る。この例では、ステップ 3 0 3 は、成長ウェル総数が 2 0 , 0 0 0 未満であるという決定に応じて、ステップ 1 5 5 に戻るであろう。成長ウェル総数が 2 0 , 0 0 0 を上回る場合、ステップ 3 0 3 は、ステップ 3 0 5 に進む。

10

【 0 0 8 8 】

ステップ 3 0 5 は、各試験ウェルの病原菌総数を成長ウェルの病原菌総数と比較することによって、M I C を決定する。M I C は、成長ウェルの病原菌総数の総数パーセンテージ未満である病原菌総数に関連付けられる最も低い抗菌薬希釈物であると決定される。方法 2 0 1 の第 1 の総数閾値で説明されるように、総数パーセンテージパラメータは、静的パラメータ、ユーザ入力パラメータであり得るか、または、病原菌に関する I D 試験の結果に基づいて動的に変更され得る。例えば、総数パーセンテージは、成長ウェル総数の 4 % であり得、方法 1 0 1 B は、下記の表 2 に描写されるデータを含み得る。このシナリオでは、試験ウェル 2 0 c が、M I C である。なぜなら、これが、成長ウェル総数の 4 % 未満である病原菌総数に関連付けられる最も低い抗菌薬希釈物であるからである。試験ウェル 2 0 d も、基準を満たすが、試験ウェル 2 0 c よりも高い希釈を有する。

20

【表 2】

試験ウェル	抗菌剤の希釈度	現在の病原菌総数	成長ウェル総数のパーセント
成長	該当なし	22, 000	該当なし
20a	0. 12	5, 800	26%
20b	0. 25	4, 100	18%
20c	0. 5	440	2%
20d	1. 0	220	1%

30

表2

【 0 0 8 9 】

ステップ 3 0 5 が基準を満たす最も低い抗菌薬希釈物を決定すると、ステップ 3 0 5 は、M I C をステップ 1 6 5 に供給し、方法 1 0 1 B は、それに応じて、M I C 情報を記憶および報告するように進む。

【 0 0 9 0 】

方法 2 0 1 および / または方法 3 0 1 のいくつかのバージョンは、所与の抗菌剤に対する M I C を決定することを補助するために、「面積合計」情報 ( 図 2 0 B ) および「面積 / 総数比率」情報 ( 図 2 0 C ) 等の前述で議論された概念を組み込み得る。

40

【 0 0 9 1 】

( I V . 結果のマッピング )

【 0 0 9 2 】

方法 2 0 1 および / または方法 3 0 1 のいくつかのバージョンは、所与の抗菌剤のための具体的 M I C を提供することなく抗菌剤治療を推奨することを可能にするために、結果のマッピングを組み込み得る。方法 2 0 1 および / または方法 3 0 1 のいくつかのバージョンでは、抗菌剤の希釈範囲は、切り捨てられる。例えば、1 6 または 3 2 の M I C は

50

、「 $\geq 8$ 」または（8以上）の結果にマッピングされ得る。この情報は、抗菌剤治療が具体的MICを提供することなく進行することを可能にするであろう。

【0093】

（V．病原菌耐性システムおよび方法の決定）

【0094】

光学システム9から導出される成長パターン情報は、試験されている病原菌における耐性のいくつかの機構を検出するために、pHの変化を測定する蛍光試験とも組み合わせられ得る。例として、蛍光試験基材のうちの1つは、抗菌剤であり得る。抗菌剤の分解は、接種後2時間以内に培地のpHの変化につながり、pH変化は、pHの変化とともに蛍光を変化させる指示薬を用いて検出されることができ、抗菌剤が分解したという指示とともに、上で説明されるような成長パターン（細胞総数、面積、および面積/総数）に関する情報を組み合わせることは、病原菌に耐性があるかどうかを迅速に確認する方法を提供し、有機体のMICを決定することに役立つ。

10

【0095】

例えば、抗生物質メロペネムは、クレブシエラ肺炎カルバペネマーゼ（KPC）耐性機構を持つグラム陰性細菌等の病原菌によって酵素的に分解される。メロペネムが分解される場合、培地は、pHにおいて低下する。蛍光pH指示薬であるMEU（メチルウンベリフェロン）は、その変化とともに蛍光において変化（減少）するであろう。この変化は、1～2時間以内に起こる。特定の病原菌がID試験を通して2時間以内に同定され、メロペネムを含む試験ウェルにののためのpHが1～2時間以内に変化し、成長パターンが上で説明される面積カウント方法を通して同定される場合、MICは、1mcg/mlを上回り、微生物は、いくつかの抗生物質に耐性があると予測することができる。

20

【0096】

（VI．例示的組み合わせ）

【0097】

以下の実施例は、本明細書の教示が組み合わせられる、または適用され得る種々の非包括的方法に関する。以下の実施例は、本願の任意の時点で、または本願の後続出願において提示され得る任意の請求項の範囲を制限するように意図されないことを理解されたい。いかなる放棄も、意図されない。以下の実施例は、単に、例証目的としてしか提供されていない。本明細書の種々の教示は、多数の他の方法で配列および適用され得ることが考慮される。いくつかの変形例が下記の実施例において言及されるある特徴を省略し得ることも考慮される。したがって、下で言及される側面または特徴のいずれも、別様に明示的にそのように示されない限り、後日、本発明者によって、または本発明者の権利相続人によって、不可欠と見なされるべきではない。下で言及されるものを超える追加の特徴を含む任意の請求項が、本願に、または本願に関連する後続出願に提示される場合、それらの追加の特徴は、特許性に関連するいずれかの理由から追加されたと見なされないものとする。

30

【0098】

実施例1

【0099】

（a）混合物の未加工画像を捕捉することであって、混合物は、複数の病原菌と、抗菌剤とを含む、ことと、（b）未加工画像を向上画像に向上させることと、（c）向上画像に関連付けられた病原菌総数を決定することであって、病原菌総数は、向上画像内に描写された複数の病原菌における病原菌の数に基づく、こととを含む、方法。

40

【0100】

実施例2

【0101】

（a）未加工画像を向上させることに先立って、未加工画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズを決定することと、（b）少なくとも部分的にサイズに基づいて、未加工画像を向上画像に向上させることとをさらに含む、実施例1または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

50

## 【 0 1 0 2 】

## 実施例 3

## 【 0 1 0 3 】

( a ) 向上画像のための閾値を決定することと、( b ) 少なくとも部分的に閾値に基づいて、向上画像をセグメント化することとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 0 4 】

## 実施例 4

## 【 0 1 0 5 】

( a ) サイズからピクセル半径を導出することと、( b ) 少なくとも部分的にピクセル半径に基づいて、未加工画像の勾配画像を生成することと、( c ) 少なくとも部分的に勾配画像に基づいて、未加工画像を向上画像に向上させることとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

10

## 【 0 1 0 6 】

## 実施例 5

## 【 0 1 0 7 】

( a ) 混合物の未加工画像を捕捉することとあって、混合物は、複数の病原菌と、抗菌剤とを含む、ことと、( b ) 未加工画像を向上画像に向上させることと、( c ) 向上画像をセグメント化画像にセグメント化することと、( d ) セグメント化画像内に描写された病原菌の量をカウントすることとを含む、方法。

20

## 【 0 1 0 8 】

## 実施例 6

## 【 0 1 0 9 】

向上画像のセグメント化に先立って、向上画像に雑音低減フィルタを適用することとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 1 0 】

## 実施例 7

## 【 0 1 1 1 】

( a ) 向上画像のための閾値を決定することと、( b ) 少なくとも部分的に閾値に基づいて、向上画像をセグメント化することとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

30

## 【 0 1 1 2 】

## 実施例 8

## 【 0 1 1 3 】

( a ) 未加工画像を向上させることに先立って、未加工画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズを決定することと、( b ) 少なくとも部分的にサイズに基づいて、未加工画像を向上画像に向上させることとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 1 4 】

## 実施例 9

## 【 0 1 1 5 】

( a ) サイズからピクセル半径を導出することと、( b ) 少なくとも部分的にピクセル半径に基づいて、未加工画像の勾配画像を生成することと、( c ) 少なくとも部分的に勾配画像に基づいて、未加工画像を向上画像に向上させることとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

40

## 【 0 1 1 6 】

## 実施例 10

## 【 0 1 1 7 】

( a ) 試験濃度において抗菌剤を複数の病原菌に添加することと、( b ) 少なくとも部分的にカウントされた病原菌の量に基づいて、試験濃度が複数の病原菌に対する抗菌剤の

50

最小抑制濃度であるかどうかを決定することとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0118】

実施例11

【0119】

(a) 混合物を試験アレイにおける各試験ウェルの中に堆積させることであって、各試験ウェル内の混合物は、複数の病原菌と、異なる濃度の抗菌剤とを含む、ことと、(b) 各試験ウェル内の混合物の画像を捕捉することと、(c) 各画像内に描写された複数の病原菌の特性を収集することと、(d) 複数の病原菌に対する抗菌剤の最小抑制濃度を決定することであって、最小抑制濃度は、少なくとも部分的に特性に基づき、最小抑制濃度は、少なくとも部分的に各試験ウェルに関連付けられる抗菌剤の濃度に基づく、こととを含む、方法。

10

【0120】

実施例12

【0121】

各画像内に描写された複数の病原菌の特性を収集することに先立って、画像を向上させることをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0122】

実施例13

【0123】

(a) 画像を向上させることに先立って、画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズを決定することと、(b) 少なくとも部分的に病原菌のサイズに基づいて、画像を向上させることをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

20

【0124】

実施例14

【0125】

(a) 病原菌のサイズからピクセル半径を導出することと、(b) 少なくとも部分的にピクセル半径に基づいて、画像の勾配画像を生成することと、(c) 少なくとも部分的に勾配画像に基づいて、画像を向上画像に向上させることをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

30

【0126】

実施例15

【0127】

各画像内に描写された複数の病原菌の特性を収集することに先立って、向上画像をセグメント化することをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0128】

実施例16

【0129】

向上画像のセグメント化に先立って、向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

40

【0130】

実施例17

【0131】

(a) 向上画像のための閾値を決定することと、(b) 少なくとも部分的に閾値に基づいて、向上画像をセグメント化することとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0132】

実施例18

【0133】

特性は、各画像内に描写された複数の病原菌における病原菌の量である、前述または後

50

述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0134】

実施例19

【0135】

特性は、各画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズである、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0136】

実施例20

【0137】

特性は、比率であり、比率は、少なくとも部分的に各画像内に描写された病原菌の量に基づき、比率は、少なくとも部分的に各画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズに基づく、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

10

【0138】

実施例21

【0139】

特性は、比率であり、比率は、少なくとも部分的に各画像内に描写された複数の病原菌における病原菌に関連付けられたピクセルの量に基づく、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0140】

実施例22

【0141】

(a) 混合物を試験アレイにおける各試験ウェルの中に堆積させることであって、各試験ウェル内の混合物は、複数の病原菌と、異なる濃度の抗菌剤とを含む、ことと、(b) 各試験ウェル内の混合物の未加工画像を捕捉することと、(c) 未加工画像を最終画像に操作することと、(d) 各最終画像内の病原菌の量をカウントすることと、(e) 各最終画像内でカウントされた病原菌の量をデータセット内に記憶することであって、各最終画像内でカウントされた病原菌の量は、データセット内の試験ウェル内の抗菌剤の濃度に関連付けられている、ことと、(f) ある期間にわたって待つことと、(g) その期間後、(b)、(c)、(d)、および(e)を繰り返すことと、(h) データセットに基づいて、複数の病原菌に対する抗菌剤の最小抑制濃度を決定することを含む、方法。

30

【0142】

実施例23

【0143】

未加工画像を向上画像に向上させることをさらに含み、最終画像は、少なくとも部分的に向上画像に基づく、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0144】

実施例24

【0145】

(a) 未加工画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズを決定することと、(b) 少なくとも部分的に病原菌のサイズに基づいて、未加工画像を向上画像に向上させることをさらに含み、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

40

【0146】

実施例25

【0147】

(a) 病原菌のサイズからピクセル半径を導出することと、(b) 少なくとも部分的にピクセル半径に基づいて、未加工画像の勾配画像を生成することと、(c) 少なくとも部分的に勾配画像に基づいて、未加工画像を向上画像に向上させることをさらに含み、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【0148】

実施例26

50

## 【 0 1 4 9 】

向上画像を最終画像にセグメント化することをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 5 0 】

実施例 2 7

## 【 0 1 5 1 】

向上画像を最終画像にセグメント化することに先立って、向上画像に雑音低減フィルタを適用することをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 5 2 】

実施例 2 8

10

## 【 0 1 5 3 】

( a ) 向上画像のための閾値を決定することと、( b ) 少なくとも部分的に閾値に基づいて、向上画像を最終画像にセグメント化することとをさらに含む、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 5 4 】

実施例 2 9

## 【 0 1 5 5 】

( a ) 培養器システムであって、培養器システムは、ある期間にわたって試験ウェル内に配置された混合物を培養するように構成され、混合物は、複数の病原菌と、抗菌剤とを含む、培養器システムと、( b ) 光学システムであって、光学システムは、( i ) ステージであって、ステージは、その期間にわたって培養器システム内で培養した後、試験ウェルを選択的に受け取るように構成されている、ステージと、( i i ) カメラであって、カメラは、ステージ上の試験ウェル内に配置された混合物の未加工画像を捕捉するように構成されている、カメラとを備えている、光学システムと、( c ) 培養器システムと光学システムとの間で試験ウェルを移動させるように構成された移動システムと、( d ) データベースであって、未加工画像は、データベース内に記憶される、データベースと、( e ) プロセッサであって、( i ) 未加工画像を最終画像に操作することと、( i i ) 最終画像から混合物の特性を収集することと、( i i i ) 特性に基づいて、複数の病原菌に対する抗菌剤の最小抑制濃度を決定することとを行うように構成されている、プロセッサとを備えている、生物学的試験システム。

20

30

## 【 0 1 5 6 】

実施例 3 0

## 【 0 1 5 7 】

ステージは、第 1 の方向および第 2 の方向に移動可能である、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 5 8 】

実施例 3 1

## 【 0 1 5 9 】

ステージは、第 3 の方向に移動可能である、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

40

## 【 0 1 6 0 】

実施例 3 2

## 【 0 1 6 1 】

特性は、最終画像内に描写された複数の病原菌における病原菌の量である、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

## 【 0 1 6 2 】

実施例 3 3

## 【 0 1 6 3 】

特性は、最終画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズである、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

50

【 0 1 6 4 】

実施例 3 4

【 0 1 6 5 】

特性は、比率であり、比率は、少なくとも部分的に最終画像内に描写された病原菌の量に基づき、比率は、少なくとも部分的に最終画像内に描写された複数の病原菌における病原菌のサイズに基づく、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

【 0 1 6 6 】

実施例 3 5

【 0 1 6 7 】

特性は、比率であり、比率は、少なくとも部分的に最終画像内に描写された複数の病原菌における病原菌に関連付けられたピクセルの量に基づく、前述または後述の実施例のいずれかに記載の方法。

10

【 0 1 6 8 】

( V I I . 雑則 )

【 0 1 6 9 】

本明細書に説明される実施例のうちのいずれかは、上で説明されるものに加えて、またはその代わりに、種々の他の特徴を含み得ることを理解されたい。実施例にすぎないが、本明細書に説明される実施例のうちのいずれかは、参照することによって本明細書に組み込まれる種々の参考文献のうちのいずれかに開示される種々の特徴のうちの 1 つ以上のも

20

【 0 1 7 0 】

本明細書に説明される教示、表現、実施形態、実施例等のうちのいずれか 1 つ以上のもは、本明細書に説明される他の教示、表現、実施形態、実施例等のうちのいずれか 1 つ以上のもとの組み合わせられ得ることを理解されたい。上で説明される教示、表現、実施形態、実施例等は、したがって、互いに対して孤立して見なされるべきではない。本明細書の教示が組み合わせられ得る種々の好適な方法が、本明細書の教示に照らして当業者に容易に明白となるであろう。そのような修正および変形例は、請求項の範囲内に含まれることが意図される。

【 0 1 7 1 】

参照することによって本明細書に組み込まれると考えられる任意の特許、刊行物、または他の開示資料が、全体または部分的に、組み込まれる資料が本開示に記載される既存の定義、文言、または他の開示資料と矛盾しない範囲においてのみ本明細書に組み込まれることを理解されたい。したがって、必要な範囲で、本明細書に明示的に記載されるような開示は、参照することによって本明細書に組み込まれる任意の矛盾する資料に優先する。参照することによって本明細書に組み込まれると考えられるが、本明細書に記載される既存の定義、文言、または他の開示資料と矛盾する任意の資料もしくはその一部は、その組み込まれる資料と既存の開示資料との間にいかなる矛盾も生じない範囲においてのみ組み込まれるであろう。

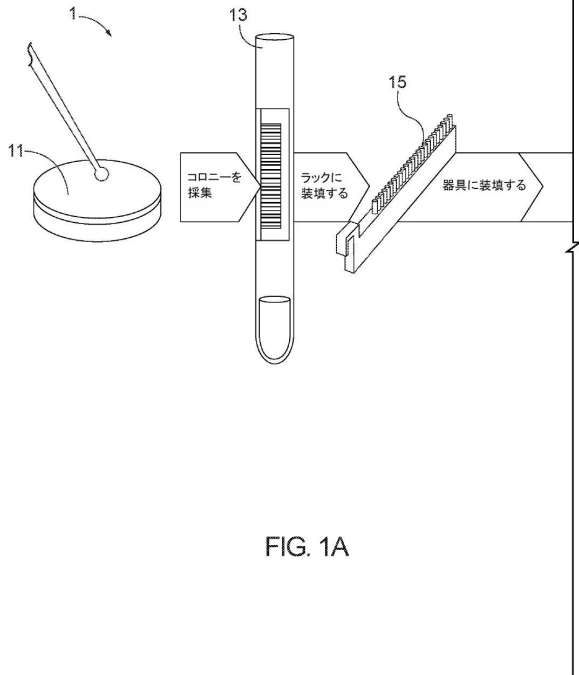
30

【 0 1 7 2 】

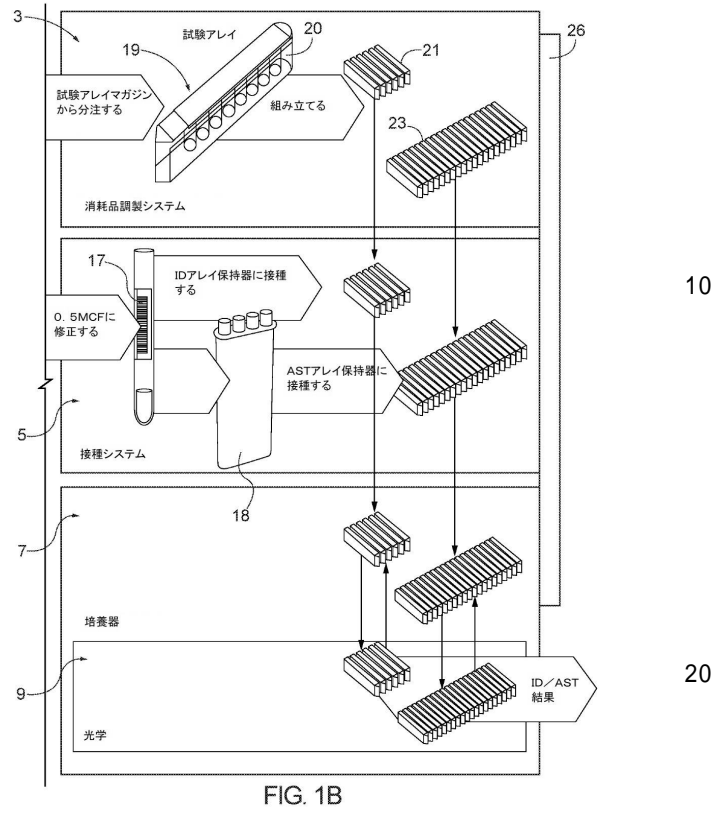
本発明の種々のバージョンを示し、説明したが、本明細書に説明される方法およびシステムのさらなる適合が、本発明の範囲から逸脱することなく、当業者による適切な修正によって遂行され得る。そのような潜在的修正のうちのいくつかは、言及され、その他は、当業者に明白となるであろう。例えば、上で議論される実施例、バージョン、幾何学形状、材料、寸法、比率、ステップ等は、例証的であり、要求されない。故に、本発明の範囲は、以下の請求項の観点から考慮されるべきであり、本明細書および図面に示され、説明される構造ならびに動作の詳細に限定されないように理解される。

40

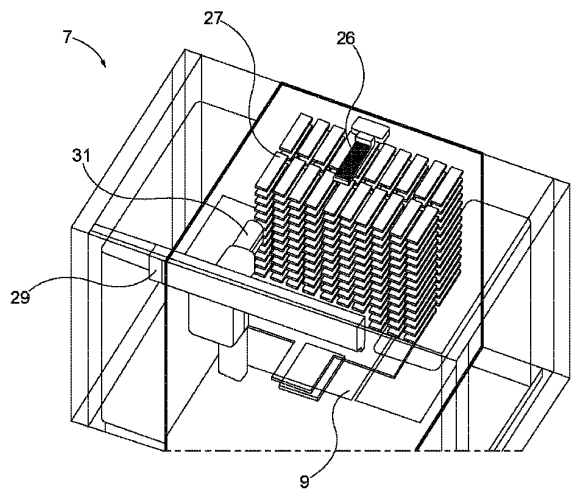
【図面】  
【図 1 A】



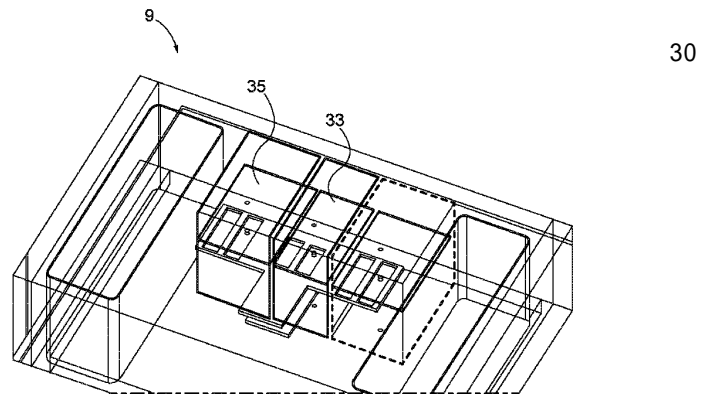
【図 1 B】



【図 2】



【図 3】



10

20

30

40

50

【 図 4 】

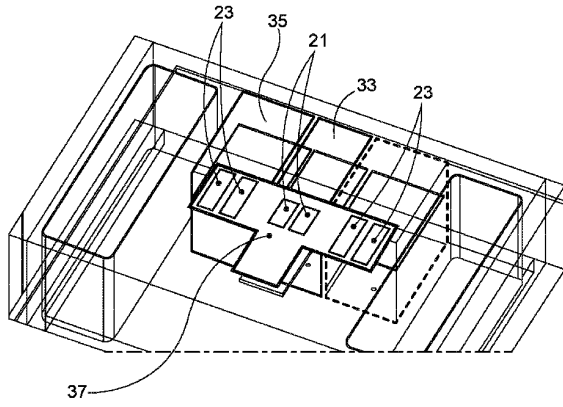


FIG. 4

【 図 5 】

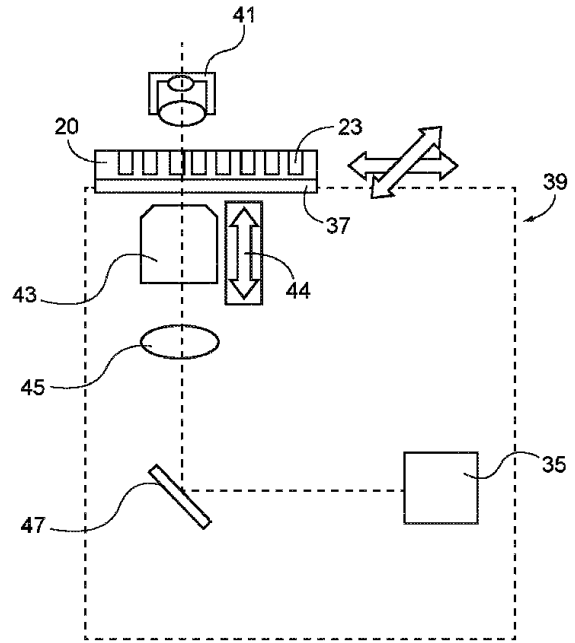


FIG. 5

【 図 6 】

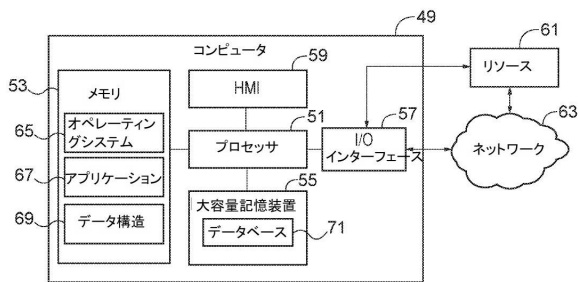


FIG. 6

【 図 7 】

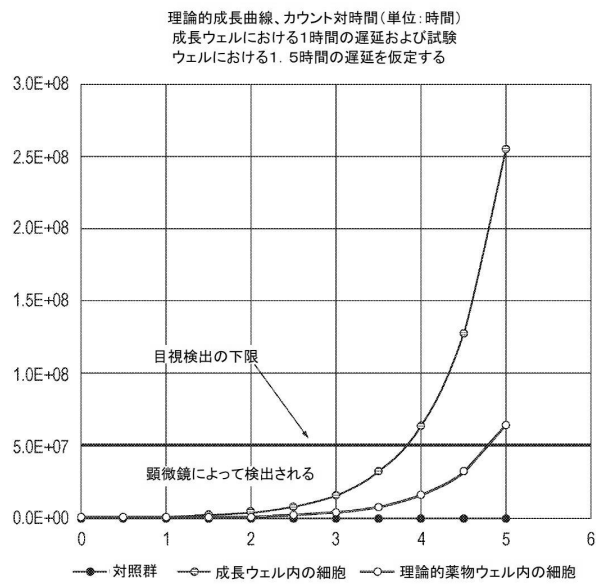


FIG. 7

10

20

30

40

50

【図8】

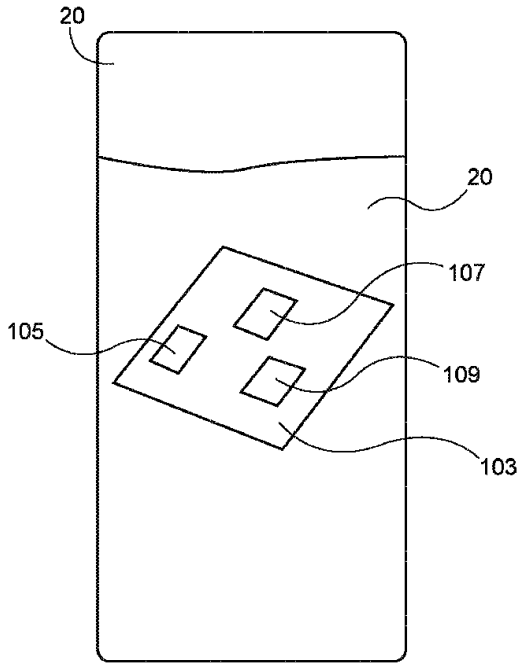


FIG. 8

【図9】

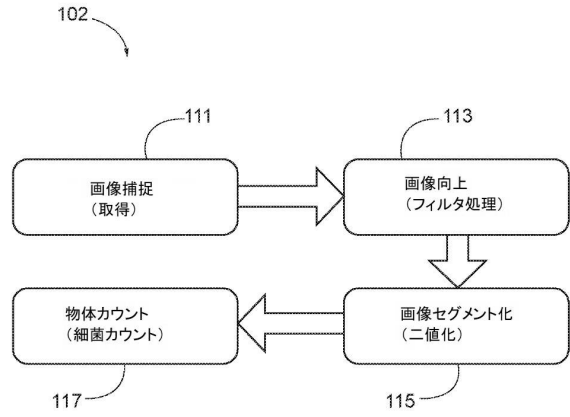


FIG. 9

【図10】

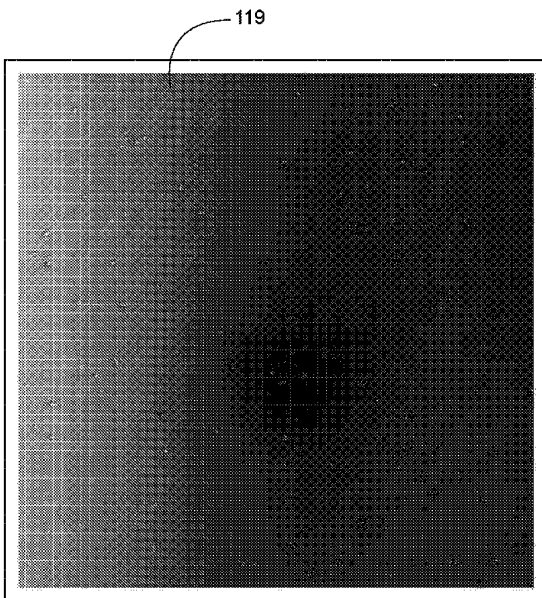


FIG. 10

【図11】

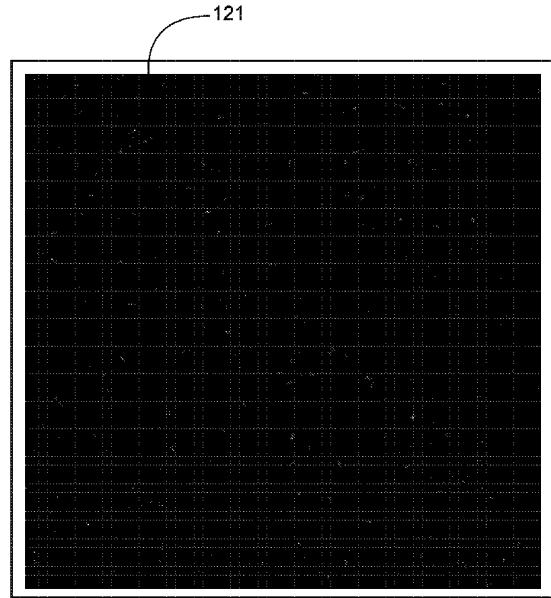


FIG. 11

10

20

30

40

50

【図 1 2】

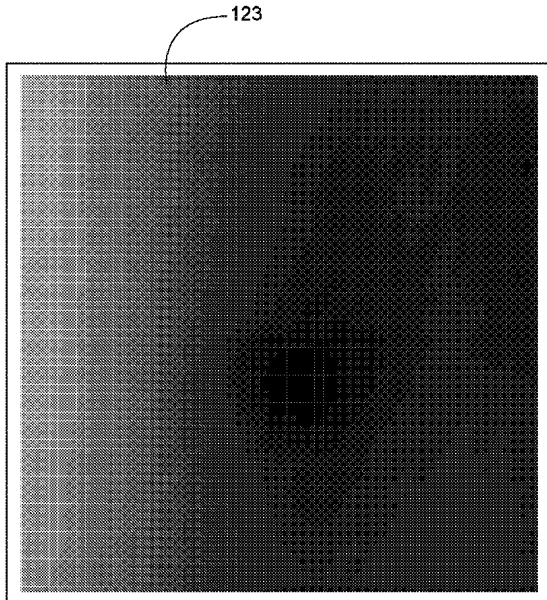


FIG. 12

【図 1 3】

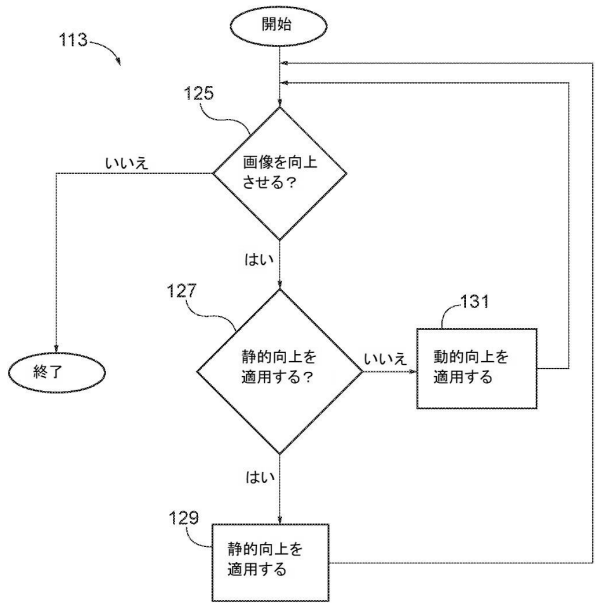


FIG. 13

【図 1 4】

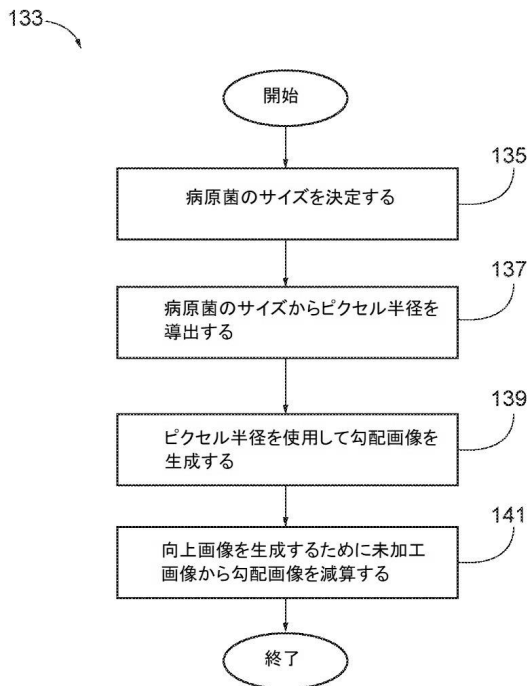


FIG. 14

【図 1 5】

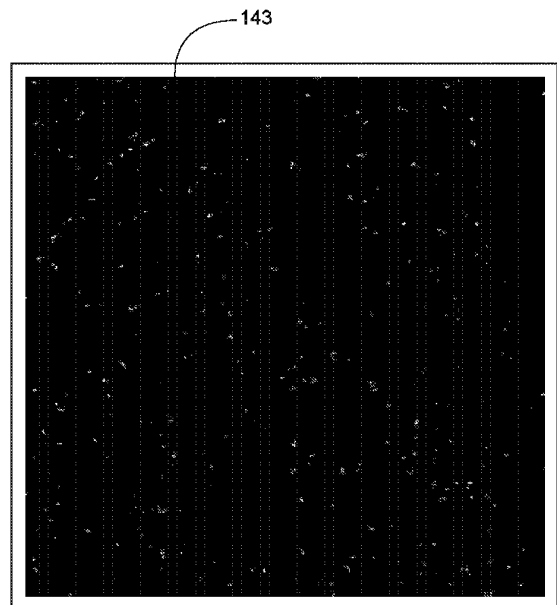


FIG. 15

10

20

30

40

50

【図 16】

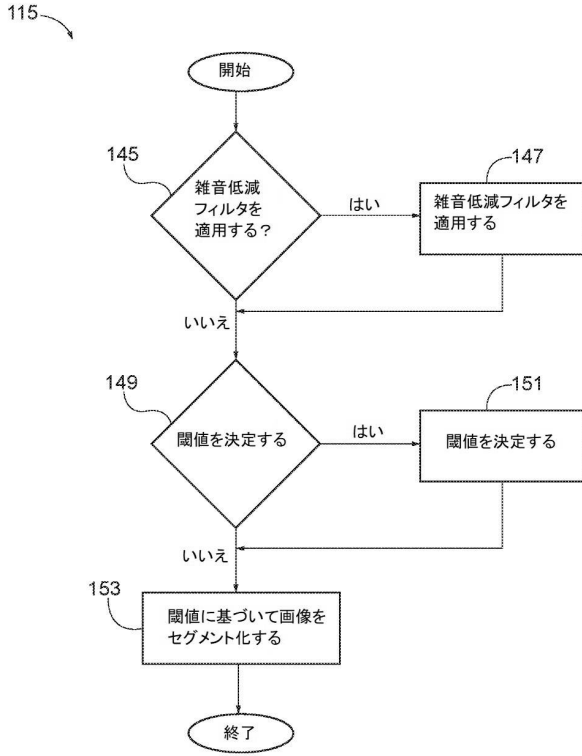


FIG. 16

【図 17】

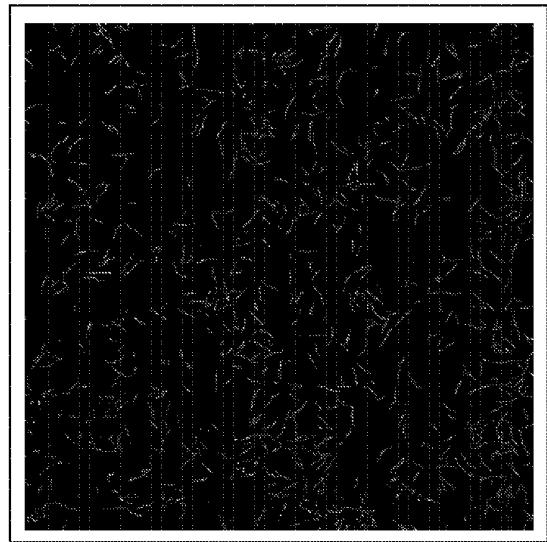


FIG. 17

【図 18】

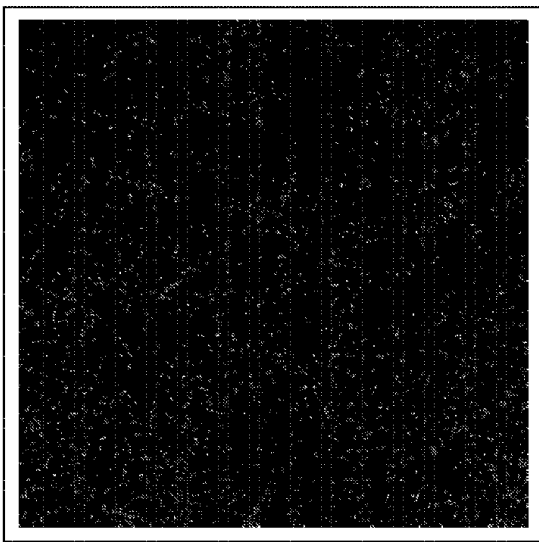


FIG. 18

【図 19】

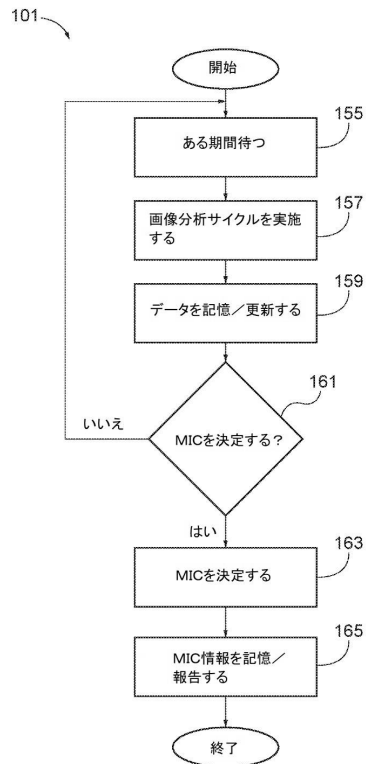


FIG. 19

10

20

30

40

50

【図 20A】

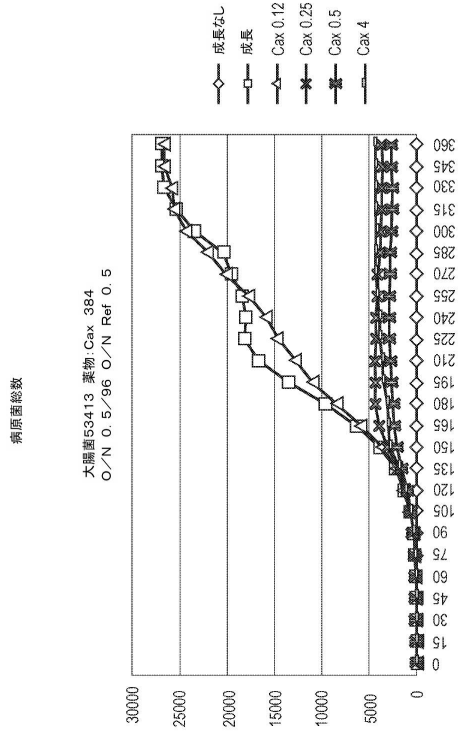


FIG. 20A

【図 20B】

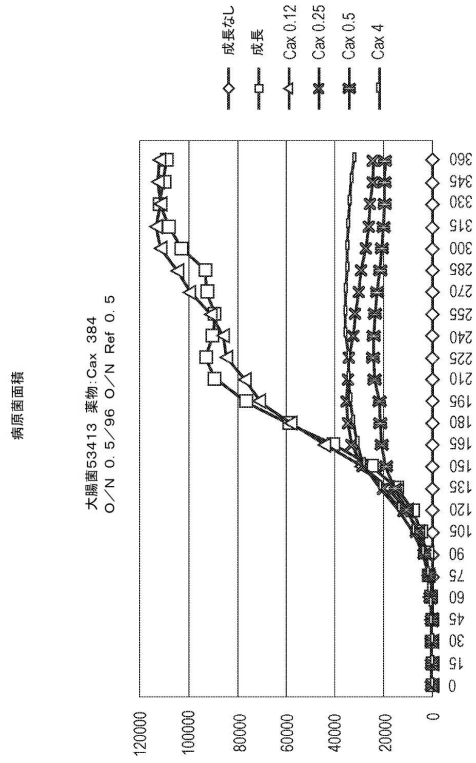


FIG. 20B

【図 20C】

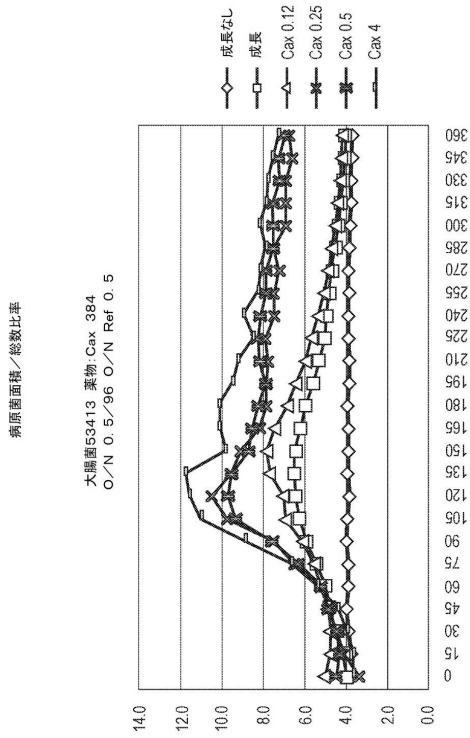


FIG. 20C

【図 21】

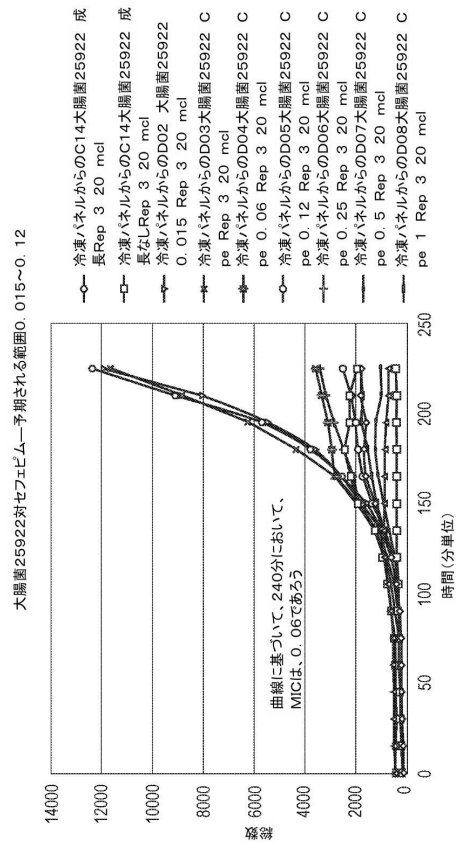
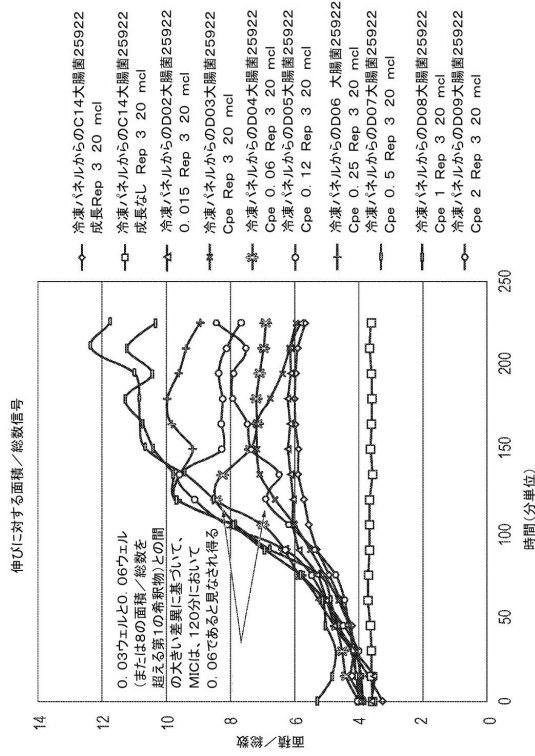


FIG. 21

【 図 2 2 】



【 図 2 3 】

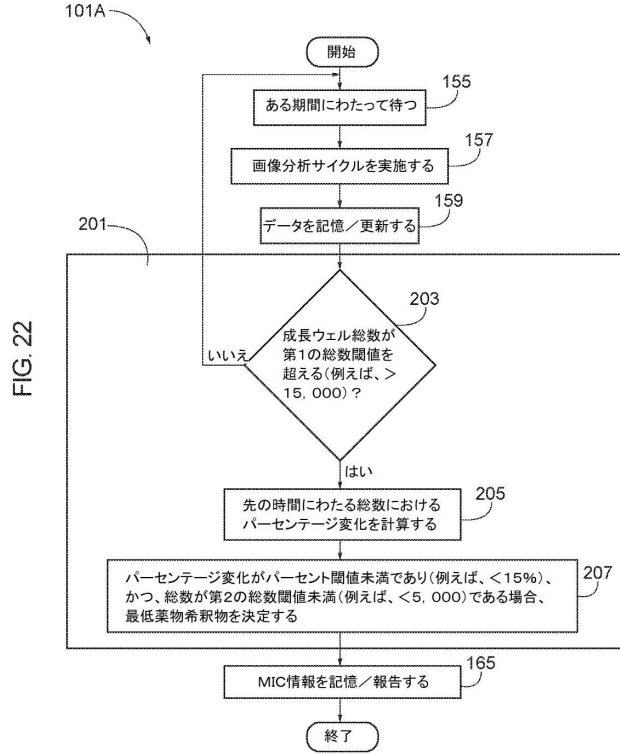


FIG. 22

FIG. 23

【 図 2 4 】

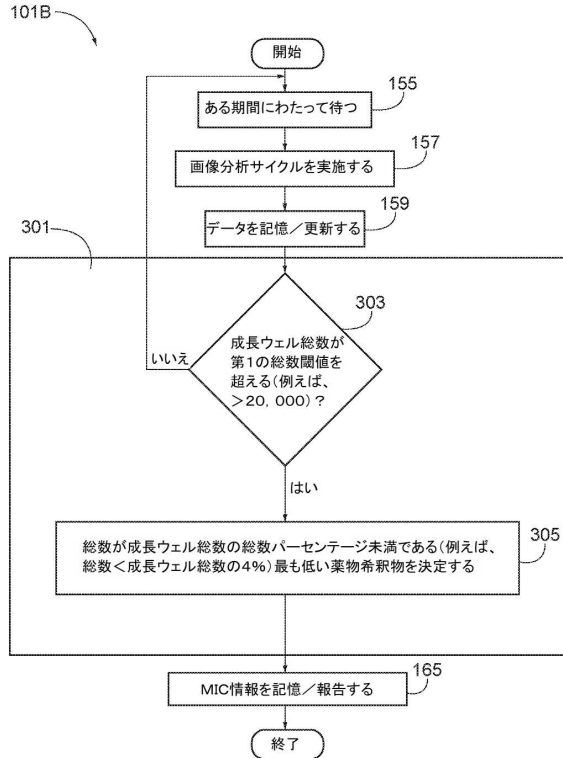


FIG. 24

---

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94533, フェアフィールド, ストーン パイン コート 974

審査官 北村 悠美子

(56)参考文献 特表2002-538833(JP, A)

Molecular BioSystems, 2013年, Vol.9, pp.1837-1848

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12Q 1/00-3/00

C12M 1/00-3/10

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)