



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년08월27일
 (11) 등록번호 10-1432975
 (24) 등록일자 2014년08월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C12Q 1/04 (2006.01) G01N 33/52 (2006.01)
 G01N 33/569 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2009-7003025
 (22) 출원일자(국제) 2007년07월18일
 심사청구일자 2012년07월18일
 (85) 번역문제출일자 2009년02월13일
 (65) 공개번호 10-2009-0045245
 (43) 공개일자 2009년05월07일
 (86) 국제출원번호 PCT/IB2007/052871
 (87) 국제공개번호 WO 2008/026104
 국제공개일자 2008년03월06일
 (30) 우선권주장
 11/513,501 2006년08월31일 미국(US)
 (56) 선행기술조사문헌
 US06387651 B1
 EP1527888 A
 전체 청구항 수 : 총 27 항

(73) 특허권자
 킴벌리-클라크 월드와이드, 인크.
 미국 위스콘신주 (우편번호: 54957-0349) 니나 노스
 레이크 스트리트 401
 (72) 발명자
 마틴 스테파니 엠.
 미국, 조지아 30188, 우드스타크, 노르만디 드라이브 113
 맥도널드 제이. 게빈
 미국, 조지아 30033, 데카투르, 놀우드 테러스 1472
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
 특허법인씨엔에스

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 **신속한 미생물 검출을 위한 어레이**

(57) 요약

미생물 또는 미생물 부류의 검출 방법이 제공된다. 보다 상세하게, 상기 방법은 상기 방법은 미리 정해진 패턴으로 고정 지지체상에 일정한 간격으로 떨어져 있는 복수의 개별적인 리전("어드레스"라 칭함)을 함유하는 어레이를 사용한다. 상기 어드레스는 어레이가 특정 미생물 또는 미생물 부류에 대하여 구별되는 분광 반응(예, 색 패턴) 또는 "핑거프린트"를 제공하도록 선택된다. 예를 들어, 상기 어레이는 하나의 미생물 또는 미생물 부류(예, 그람 음성 박테리아)의 존재하에서 특정 분광 반응을 제공하나, 다른 미생물 또는 미생물 부류(예, 그람 양성 박테리아)의 존재하에서 완전히 다른 분광 반응을 제공할 수 있다. 상기 어레이에 의해 제공되는 분광 반응의 검출은 이에 따라 미생물간의 차별화를 이루게 한다.

(72) 발명자

라이 제이슨

미국, 조지아 30316, 애틀란타, 커크우드 에비뉴
799

셰이어 커티스

미국, 조지아 30306, 애틀란타, 인버니스 에비뉴
1728

탐슨 김벌리

미국, 테네시 37421, 채터누가, 팜브루크 레인 134

특허청구의 범위

청구항 1

시료에서 미생물을 검출하는 방법으로서,

상기 시료를, 고형 지지체상에 미리 정해진 패턴으로 일정한 간격으로 떨어져 있는 복수의 개개의 어레이 어드레스를 포함하는 어레이와 접촉시키는 단계로서,

상기 어드레스 중 적어도 하나는 광범위한 범위의 미생물의 존재하에서 검출가능한 색 변화를 나타내는 용제착색(solvatochromatic) 착색제를 함유하고,

상기 어드레스 중 적어도 일부는 식별화(differentiating) 착색제를 함유하여서, 상기 어레이가 하나 이상의 미생물에 대해 구별되는 시각적으로 관찰가능한 분광 반응을 생성하는 접촉 단계;

상기 분광 반응을 검출하는 단계; 및

상기 검출된 분광 반응을 하나 이상의 미생물의 존재와 서로 관련시키는(correlating) 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 식별화 착색제는 pH-민감성 착색제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 pH-민감성 착색제는 프탈레인, 히드록시안트라퀴논, 아틸메탄, 방향족 아조 또는 이의 유도체인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 식별화 착색제는 금속 착물 착색제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 어레이는 2-50의 개개의 어레이 어드레스를 함유하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 두개의 어드레스는 0.01-100 밀리미터의 간격으로 떨어져 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분광 반응은 시료 밀리리터당 1×10^3 이상의 콜로니 형성 유닛의 농도에서 하나 이상의 미생물의 존재와 서로 관련되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 착색제는 캐리어를 포함하는 조성물의 형태로 고형 지지체에 적용되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 착색제는 캐리어 밀리리터당 0.1-100밀리그램으로 포함되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 어레이는 상기 지지체상에 인쇄되는 것을 특징으로 하는 방

법.

청구항 11

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분광 반응은 검출되고 컨트롤 어레이와 비교되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분광 반응은 시각적으로 검출되는 것으로 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분광 반응은 어레이가 시료와 접촉된 후 30분 이하에 생성되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 미생물은 균류인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 14항에 있어서, 상기 균류는 씨. 알비칸스(*C. albicans*), 에이. 플루란스(*A. pullulans*), 피. 잔티넬럼(*P. janthinellum*) 또는 이의 혼합물인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 미생물은 박테리아인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 16항에 있어서, 상기 박테리아는 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 엘. 아시도필러스(*L. acidophilus*), 에스. 에피더미디스(*S. epidermidis*), 비. 서브틸리스(*B. subtilis*), 이. 페칼리스(*E. faecalis*), 에스. 피오게네스(*S. pyogenes*), 에스. 뉴모니아에(*S. pneumoniae*) 및 이의 혼합물로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 그람-양성 박테리아인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 16항에 있어서, 상기 박테리아는 이. 콜라이(*E. coli*), 피. 에루지노사(*P. aeruginosa*), 케이. 뉴모니아에(*K. pneumoniae*), 피. 미라빌리스(*P. mirabilis*), 엠. 라쿠나타(*M. lacunata*), 에이치. 인플루엔자에(*H. influenzae*) 및 이의 혼합물로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 그람-음성 박테리아인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

시료에서 미생물을 검출하기 위한 어레이로서,

상기 어레이는 고정 지지체상에 미리 정해진 패턴으로 일정한 간격으로 떨어져 있는 복수의 개개의 어레이 어드레스를 포함하며,

상기 어드레스 중 적어도 하나는 광범위한 범위의 미생물의 존재하에서 검출가능한 색 변화를 나타내는 용제착색(solvatochromatic) 착색제를 함유하고,

상기 어드레스 중 적어도 일부는 식별화(differentiating) 착색제를 함유하여서, 상기 어레이가 하나 이상의 미생물에 대해 구별되는 시각적으로 관찰가능한 분광 반응을 생성하는

어레이.

청구항 20

제 19항에 있어서, 상기 식별화 착색제는 pH-민감성 착색제인 것을 특징으로 하는 어레이.

청구항 21

제 20항에 있어서, 상기 pH-민감성 착색제는 프탈레인, 히드록시안트라퀴논, 아틸메탄, 방향족 아조 또는 이의 유도체인 것을 특징으로 하는 어레이.

청구항 22

제 19항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식별화 착색제는 금속 착물 착색제인 것을 특징으로 하는 어레이.

청구항 23

제 19항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 어레이는 2-50의 개개의 어레이 어드레스를 함유하는 것을 특징으로 하는 어레이.

청구항 24

제 19항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 용제착색 착색제는 N-페놀레이트 베타인인 것을 특징으로 하는 어레이.

청구항 25

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 용제착색 착색제는 N-페놀레이트 베타인인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

제 24항에 있어서, 상기 N-페놀레이트 베타인이 라이하르트 염료인 것을 특징으로 하는 어레이.

청구항 27

제 25항에 있어서, 상기 N-페놀레이트 베타인이 라이하르트 염료인 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 미생물을 신속히 검출하는 능력은 의학 및 식품 산업을 포함하는 광범위한 범위의 산업에서 문제가 증가하고 있다. 예를 들어, 의학 분야에서 미생물의 신속한 검출은 적절한 진단 및 질병의 치료에 결정적일 수 있다.

배경기술

[0002] 불행히도, 다수의 병인학적 체계가 특정 조건에 영향을 미칠 수 있어, 이는 상기 조건의 원인을 신속히 밝히기 어렵게 만든다. 미생물의 타입의 선별적 확인의 요구는 여러 가지 이유로 중요하다. 예를 들어, 어떤 타입의 미생물이 존재하는지 아는 것은 특정 오염 공급원을 밝혀낼 수 있게 하고, 적절한 처리를 선택할 수 있게 한다. 대부분의 현재 진단 방법은 동정을 위한 미생물 배양을 포함하며, 이 방법은 일반적으로 수일이 필요하고 종종 부정적인 결과를 제공한다. 배양은 오랜 공정일 뿐만 아니라, 특정 병원체(예, 미코박테리아)는 숙주 바깥에서 성장시키는 것이 어렵다는 것은 주지의 사실이다. "무-배양" 기술이 발달되었으나, 이는 전형적으로 특정 병원체에 대해서만 디자인되어있다. 따라서, 여러 가지 시험이 정확한 분류를 얻는데 요구되며, 이는 비용 및 시간 소모적이다.

[0003] 따라서, 미생물의 존재를 신속하고 간단하게 검출하고, 검출된 미생물의 특정 타입을 동정하는 기술이 현재 요구된다.

발명의 상세한 설명

[0004] 본 발명의 일 구현에 따르면, 시료에서 미생물을 검출하는 방법이 개시된다. 상기 방법은 고형 지지체상에 미리 정해진 패턴으로 일정한 간격으로 떨어져 있는 복수의 개개의 어레이 어드레스를 포함하는 어레이와 시료를 접촉시키는 것을 포함한다. 상기 어드레스는 상기 어레이가 시각적으로 관찰가능한 분광 반응을 생성하도록 각각 착색제를 함유한다. 상기 분광 반응은 검출되고(예, 시각적으로) 하나 이상의 미생물의 존재와 서로 관련된다.

[0005] 본 발명의 다른 구현에 따르면, 시료에서 미생물 검출을 위한 어레이가 개시된다. 상기 어레이는 고형 지지체상에 미리 정해진 패턴으로 일정한 간격으로 떨어져 있는 복수의 개개의 어레이 어드레스를 포함한다. 상기 어드레스는 상기 어레이가 하나 이상의 미생물에 대해 구별되는 시각적으로 관찰가능한 분광 반응을 생성하도록 각각 착색제를 함유한다.

[0006] 본 발명의 다른 특징 및 견지는 이하 보다 상세히 설명된다.

[0007] 본 발명의 다양한 구현에 대해 상세하게 참조가 이루어질 것이며, 이의 하나 이상의 예를 하기에 나타내었다. 각 실시예는 본 발명을 이에 한정하는 것은 아니나 본 발명을 설명하기 위해 제공된다. 실제로, 다양한 개조 및 변형이 본 발명의 범위 및 정신을 벗어나지 않고 본 발명에서 이루어질 수 있다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 예를 들어, 일 구현의 일부로서 예시되거나 설명된 특징들은 또한 다른 구현을 수득하기 위해 다른 구현에 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 첨부된 청구범위 및 이의 동등물 범위내에 있는 변형 및 변화를 포함하는 것으로 의도된다.

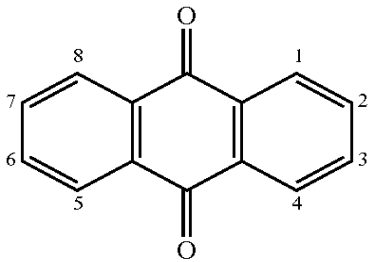
[0008] 일반적으로 말하면, 본 발명은 미생물 또는 미생물 부류를 검출하는 방법에 관한 것이다. 보다 상세하게, 상기 방법은 미리 정해진 패턴으로 고형 지지체상에 일정한 간격으로 떨어져 있는 복수의 개별적인 리전("어드레스"라 칭함)을 함유하는 어레이를 사용한다. 상기 어드레스는 어레이가 특정 미생물 또는 미생물 부류에 대하여 구별되는 분광 반응(예, 색 패턴) 또는 "핑거프린트"를 제공하도록 선택된다. 예를 들어, 상기 어레이는 하나의 미생물 또는 미생물 부류(예, 그람 음성 박테리아)의 존재하에서 특정 분광 반응을 제공하나, 다른 미생물 또는 미생물 부류(예, 그람 양성 박테리아)의 존재하에서 완전히 다른 분광 반응을 제공할 수 있다. 상기 어레이에 의해 제공되는 분광 반응의 검출은 이에 따라 미생물간의 차별화를 이루게 한다.

[0009] 상기 어레이 어드레스는 하나 이상의 미생물의 존재하에서 색 변화를 나타낼 수 있는 착색제를 함유한다. 즉, 상기 착색제는 제 1 색에서 제 2 색으로, 무색에서 유색으로, 또는 유색에서 무색으로 변할 수 있다. 다양한 착색제(예, 염료, 안료 등)가 본 발명의 어레이에 이용될 수 있다. 일 구현으로, 예를 들어, 특정 타입의 미생물간에 차별화가 가능한 pH-민감성 착색제가 이용된다. 즉, pH-민감성 착색제는 미생물의 성장 배지의 pH 변화를 검출할 수 있다. 박테리아는 예를 들어, 성장 배지를 물질대사시켜 산성 화합물(예, CO₂) 또는 염기성 화합물(예, 암모니아)을 생성할 수 있으며, 이는 pH 변화를 일으킨다. 마찬가지로, 특정 미생물(예, 박테리아)은 이의 세포벽상에 고 유기산부를 함유한다. 산성/염기성 변환은 다른 미생물에 따라 달라질 수 있으므로, 본 발명에서 원하는 pH 변화를 위해 조절되는 pH-민감성 착색제가 선택될 수 있다. 이러한 방식으로, 어레이 어드레스는 특정 산성/염기성 변환을 나타내는 미생물의 존재하에서만 검출가능한 색 변화를 겪는 것으로 형성되는 pH-민감성 착색제와 함께 제공될 수 있다.

[0010] 프탈레인 착색제는 본 발명의 어레이에 사용될 수 있는 적절한 한 부류의 pH-민감성 착색제를 구성한다. 페놀 레드(즉, 페놀설포프탈레인)는 예를 들어, pH 6.6-8.0 범위에 걸쳐 노랑에서 빨강으로 변화를 나타낸다. 약 8.1 이상의 pH에서, 페놀 레드(즉, 페놀설포프탈레인)는 연한 분홍(푸치아) 색으로 변한다. 염소, 브롬, 메틸, 소듐 카르복실레이트, 카르복실산, 히드록실 및 아민 작용기로 치환된 것들과 같은 페놀 레드의 유도체 또한 본 발명에 사용하기에 적절할 수 있다. 예시적인 치환된 페놀 레드 화합물은 예를 들어, 클로로페놀 레드, 메타크레졸 퍼플(메타-크레졸설포프탈레인), 크레졸 레드(오르소-크레졸설포프탈레인), 피로카테콜 바이올렛(피로카테콜설포프탈레인), 클로로페놀 레드(3,3'-디클로로페놀설포프탈레인), 자일레놀 블루(파라-자일레놀설포프탈레인의 소듐 염), 자일레놀 오렌지, 모단트 블루 3(C.I. 43820), 3,4,5,6-테트라브로모페놀설포프탈레인, 브로모자일레놀 블루, 브로모페놀 블루(3',3',5',5'-테트라브로모페놀설포프탈레인), 브로모클로로페놀 블루(디브로모-5',5"-디클로로페놀설포프

탈레인의 소듐 염), 브로모크레졸 퍼플(5',5"-디브로모-오르소-크레졸설포프탈레인), 브로모크레졸 그린(3',3",5',5"-테트라브로모-오르소-크레졸설포프탈레인) 등을 포함한다. 다른 적절한 프탈레인 착색제는 당 업계에 잘 알려져 있으며, 브로모티몰 블루, 티몰 블루, 브로모크레졸 퍼플, 티몰프탈레인, 및 페놀프탈레인(보편적인 인디케이터의 공통 성분)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 클로로페놀 레드는 약 4.8-6.4의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 빨강으로 변환을 나타내며; 브로모티몰 블루는 약 6.0-7.6의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 파랑으로 변환을 나타내며; 티몰프탈레인은 약 9.4-10.6의 pH 범위에 걸쳐 무색에서 파랑으로 변환을 나타내며; 페놀프탈레인은 약 8.2-10.0의 pH 범위에 걸쳐 무색에서 분홍으로 변환을 나타내며; 티몰 블루는 약 1.2-2.8의 pH 범위에 걸쳐 빨강에서 노랑으로 제 1 변환을 나타내며, 8.0-9.6의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 파랑으로 제 2 변환을 나타내며; 브로모페놀 블루는 약 3.0-4.6의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 보라색으로 변환을 나타내며; 브로모크레졸 그린은 약 3.8-5.4의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 파랑으로 변환을 나타내며; 그리고 브로모크레졸 퍼플은 약 5.2-6.8의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 보라색으로 변환을 나타낸다.

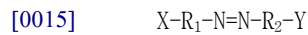
[0011] 히드록시안트라퀴논은 본 발명에 사용하기에 적절한 또 다른 부류의 pH-민감성 착색제를 구성한다. 히드록시안트라퀴논은 하기 일반 구조를 갖는다:



[0012]

[0013] 상기 일반 화학식에 나타난 수 1-8은 작용기의 치환이 일어날 수 있는 융합 고리 구조상의 위치를 나타낸다. 히드록시안트라퀴논에 있어서, 적어도 하나의 작용기는 히드록시(-OH) 기이거나 이를 함유한다. 상기 융합 고리 구조상에 치환될 수 있는 작용기의 다른 예는 할로겐기(예, 염소, 브롬기), 설포닐기(예, 설포산염), 알킬기, 벤질기, 아미노기(예, 1차, 2차, 3차 또는 4차 아민), 카르복시기, 시아노기, 포스포러스기 등을 포함한다. 본 발명에 사용될 수 있는 일부 적절한 히드록시안트라퀴논은 모단트 레드 11(알리자린), 모단트 레드 3(알리자린 레드 S), 알리자린 옐로우 R, 알리자린 콤플렉손, 모단트 블랙 13(알리자린 블루 블랙 B), 모단트 바이올렛 5(알리자린 바이올렛 3R), 알리자린 옐로우 GG, 내츄럴 레드 4(카미닉산), 아미노-4-히드록시안트라퀴논, 에모딘, 뉴클리어 팩스트 레드, 내츄럴 레드 16(피퍼린), 퀴날리자린 등을 포함한다. 예를 들어, 카미닉산은 약 3.0-5.5의 pH 범위에 걸쳐 오렌지에서 빨강으로 제 1 변환을 나타내고, 약 5.5-7.0의 pH 범위에 걸쳐 빨강에서 자주색으로 제 2 변환을 나타낸다. 다른 한편, 알리자린 옐로우 R은 약 10.1-12.0의 pH 범위에 걸쳐 노랑에서 오렌지-레드로 변환을 나타낸다.

[0014] 상기 어레이에 사용될 수 있는 적절한 또 다른 부류의 pH-민감성 착색제는 하기 일반 구조를 갖는 방향족 아조 화합물이다:



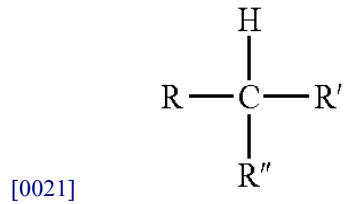
[0016] 상기 식에서,

[0017] R_1 은 방향족기이며;

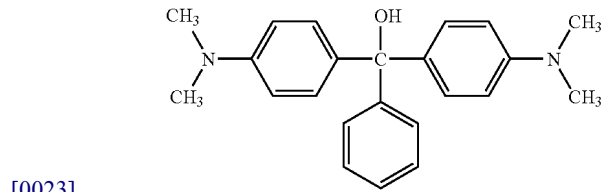
[0018] R_2 는 지방족 및 방향족 기로 구성되는 그룹으로부터 선택되며; 그리고

[0019] X 및 Y는 수소, 할라이드, $-NO_2$, $-NH_2$, 아릴기, 알킬기, 알콕시기, 설포네이트기, $-SO_3H$, $-OH$, $-COH$, $-COOH$, 할라이드 등으로 구성되는 그룹으로부터 독립적으로 선택된다. 또한, 아조옥시 화합물($X-R_1-N=NO-R_2-Y$) 또는 히드라조 화합물($X-R_1-NH-NH-R_2-Y$)와 같은 아조 유도체가 적절하다. 이러한 아조 화합물(또는 이의 유도체)의 특정 예는 메틸 바이올렛, 메틸 옐로우, 메틸 오렌지, 메틸 레드, 및 메틸 그린을 포함한다. 예를 들어, 메틸 바이올렛은 약 0-1.6의 pH 범위에서 노랑에서 청보라 변환을 나타내며, 메틸 옐로우는 약 2.9-4.0의 pH 범위에서 빨강에서 노랑으로 변환을 나타내며, 메틸 오렌지는 약 3.1-4.4의 pH 범위에서 빨강에서 노랑으로 변환을 나타내며, 그리고 메틸 레드는 약 4.2-6.3의 pH 범위에서 빨강에서 노랑으로 변환을 나타낸다.

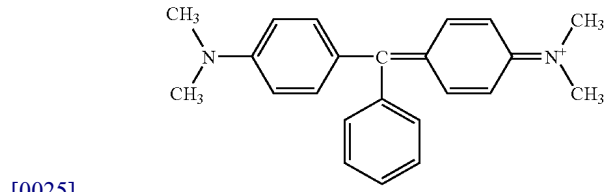
[0020] 아릴메탄(예, 디아릴메탄 및 트리아릴메탄)은 또한 본 발명에 사용하기에 적절한 또 다른 부류의 pH-민감성 착색제를 구성한다. 트리아릴메탄 루코 염기들은 예를 들어, 하기 일반 구조를 갖는다:



[0022] 상기 식에서, R, R', 및 R''는 페닐, 나프틸, 안트라세닐 등과 같은 치환 및 비치환 아릴기로부터 독립적으로 선택된다. 상기 아릴기는 아미노, 히드록실, 카르보닐, 카르복실, 설포닉, 알킬, 및/또는 다른 알려진 작용기와 같은 작용기로 치환될 수 있다. 이러한 트리아릴메탄 루코 염기의 예는 루코말라키트 그린, 파라로사닐린 베이스, 크리스탈 바이올렛 락톤, 크리스탈 바이올렛 루코, 크리스탈 바이올렛, CI 베이직 바이올렛 1, CI 베이직 바이올렛 2, CI 베이직 블루, CI 빅토리아 블루, N-벤조일 루코-메틸렌 등을 포함한다. 마찬가지로 적절한 디아릴메탄 루코 염기는 4,4'-비스(디메틸아미노) 벤즈히드롤("미힐러 히드롤"로도 알려짐), 미힐러 히드롤 루코벤조트리아졸, 미힐러 히드롤 루코모폴린, 미힐러 히드롤 루코벤젠설포나미드 등을 포함할 수 있다. 일 특정 구현으로, 상기 착색제는 루코말라키트 그린 카비놀(솔벤트 그린 1) 또는 이의 유사체이며, 이는 일반적으로 무색이며 하기 구조를 갖는다:



[0024] 산성 조건하에서, 루코말라키트 그린 카비놀 형태의 하나 이상의 자유 아미노기는 양자화되어 말라키트 그린(아닐린 그린, 베이직 그린 4, 다이아몬드 그린 B 또는 빅토리아 그린 B로도 알려짐)을 형성할 수 있으며, 이는 하기 구조를 갖는다:



[0026] 말라키트 그린은 전형적으로 0.2-1.8의 pH 범위에서 노랑에서 청녹색으로의 변환을 나타낸다. 약 1.8이상의 pH에서, 말라키트 그린은 진한 녹색으로 변한다.

[0027] 상기 어레이에 사용될 수 있는 다른 적절한 pH-민감성 착색제는 콩고 레드, 리트머스(아졸리트민), 메틸렌 블루, 뉴트랄 레드, 엑시드 푸신, 인디고 카민, 브릴리언트 그린, 피크릭산, 메타닐 옐로우, m-크레졸 퍼플, 퀴날딘 레드, 트로페올린 00, 2,6-디니트로페놀, 플록신 B, 2,4-디니트로페놀, 4-디메틸아미노아조벤젠, 2,5-디니트로페놀, 1-나프틸 레드, 클로로페놀 레드, 헤마톡실린, 4-니트로페놀, 니트라진 옐로우, 3-니트로페놀, 알칼리 블루, 엡실론 블루, 나일 블루 A, 유니버설 인디케이터 등을 포함한다. 예를 들어, 콩고 레드는 약 3.0-5.2의 pH 범위에서 파랑에서 빨강으로 변환을 나타내며, 리트머스는 약 4.5-8.3의 pH 범위에서 빨강에서 파랑으로 변환을 나타내며, 그리고 뉴트랄 레드는 약 11.4-13.0의 pH 범위에서 빨강에서 노랑으로 변환을 나타낸다.

[0028] pH에 부가적으로, 다른 메커니즘이 착색제에서 색 변화를 유도하는데 전체적으로 혹은 부분적으로 영향을 줄 수 있다. 예를 들어, 다수의 미생물(예, 박테리아 및 균류)은 성장 배지에서 저분자량 철-착화합물을 생성하며, 이는 "사이드로포어"로 알려져 있다. 금속 착물 착색제는 이에 따라 본 발명의 일부 구현에서 사이드로포어의 존재하에 색 변화를 나타내는 것으로 사용될 수 있다. 특히 바람직한 부류의 금속 착물 착색제는 에리오크롬 블랙 T, 에리오크롬 블루 SE, 에리오크롬 블루 블랙 B, 에리오크롬 시아닌 R, 자일레놀 오렌지, 크롬 아주롤 S, 카미닉산 등과 같은 방향족 아조 화합물이다. 다른 적절한 금속 착물 착색제는 알리자린 킴플렉손, 알리자린 S, 아르세나조 III, 오리트리카르복실산, 2,2'-비피딘, 브로모피로갈롤 레드, 칼콘(에리오크롬 블루 블랙 R), 칼콘카

르복실산, 크로모트로픽산, 디소디움염, 쿠프리존, 5-(4-디메틸아미노-벤질리덴)로다닌, 디메틸글리옥심, 1,5-디페닐카바자이드, 디티존, 플로레신 콤플렉손, 헤마톡실린, 8-히드록시퀴놀린, 2-머캅토벤조티아졸, 메틸티몰 블루, 무랙시드, 1-니트로소-2-나프톨, 2-니트로소-1-나프톨, 니트로소-R-염, 1,10-페난트롤린, 페닐플루오론, 프탈레인 퍼플, 1-(2-피리딜아조)-나프톨, 4-(2-피리딜아조)레조시놀, 피로갈롤 레드, 설펜아조 III, 5-설포살 리시클릭산, 4-(2-티아졸릴아조)레조시놀, 토린, 티몰탈렉손, 티론, 툴루느르-3,4-디티올, 진콘 등을 포함할 수 있다. 상기 인용된 pH-민감성 착색제중 하나 이상이 또한 금속 착물 착색제로 분류될 수 있음이 유의되어야 한다.

[0029] 물론, 상기 착색제는 아래에 의해 제공되는 전체적인 분광 반응이 구별되는 한, 독립적으로 특정 미생물간의 식별화가 가능해야 하는 것은 아니다. 이와 관련하여, 착색제는 또한 광범위한 범위의 미생물의 존재하에서 검출가능한 색 변화를 나타내는데 사용될 수 있다. 용제착색(solvatochromatic) 착색제는 예를 들어, 광범위한 범위의 미생물의 존재하에서 검출가능한 색 변화를 나타내는 것으로 여겨진다. 보다 상세하게, 용제착색 착색제는 용매 극성 및/또는 수소 결합 성향에 기초한 특정 분자 환경에서 색 변화를 나타낼 수 있다. 예를 들어, 용제착색 착색제는 극성 환경(예, 물)에서 파란색이나 비극성 환경(예, 지질이 풍부한 용액)에서 노란색 또는 빨간색 일 수 있다. 용제착색 착색제 의해 생성되는 색은 착색제의 기저 상태 및 여기 상태간의 분자 극성 차이에 따라 달라진다.

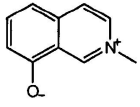
[0030] 메로시아닌 착색제(예, 모노-, 디-, 및 트리-메로시아닌)는 본 발명에 사용될 수 있는 용제착색 착색제 타입의 일 예이다. 메로시아닌 540과 같은 메로시아닌 착색제는 "Colour and Constitution of Organic Molecules"(Academic Press, London(1976))에 기재된 바와 같은 그리피스의 도너 - 심플 억셉터 착색제 분류에 포함된다. 보다 상세하게, 메로시아닌 착색제는 짝수의 메틴 탄소를 갖는 집합 사슬에 의해 분리되는 염기성 핵과 산성 핵을 갖는다. 이러한 착색제는 전자 수용체부로 작용하는 카보닐기를 갖는다. 전자 수용체는 히드록실 또는 아미노기와 같은 전자 공여기에 접합된다. 메로시아닌 착색제는 시클릭 또는 아시클릭(예, 시클릭 메로시아닌 착색제의 비닐알로거스 아미드)일 수 있다. 예를 들어, 시클릭 메로시아닌 착색제는 일반적으로 하기 구조를 갖는다:



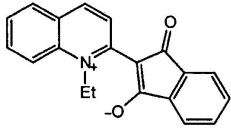
[0032] 상기 식에서, n은 0을 포함하는 어느 정수이다. 상기에서 일반 구조 1 및 1'로 나타낸 바와 같이, 메로시아닌 착색제는 전형적으로 전하 분리된(즉, "양성 이온") 공명 형태를 갖는다. 양성 이온 착색제는 양성 및 음성 전하 모두를 함유하는 것들이며 넷 뉴트럴이나, 고 하전되어있다. 이론으로 한정하려는 것은 아니나, 양성 이온 형태는 착색제의 기저 상태에 현저히 기여하는 것으로 사료된다. 이러한 착색제에 의해 생성되는 색은 이에 따라 착색제의 기저 상태 및 여기 상태사이의 분자 극성 차이에 따라 달라진다. 여기 상태보다 극성인 기저 상태를 갖는 메로시아닌의 일 특정 예는 하기 구조 2와 같이 나타낸다.



[0034] 전하-분리된 왼손 카노니컬 2는 기저 상태에 대한 주 기여자이며, 한편 오른손 카노니컬 2'는 첫번째 여기 상태에 대한 주 기여자이다. 적절한 메로시아닌 착색제의 다른 예는 하기 구조 3-13에 나타낸 바와 같다.

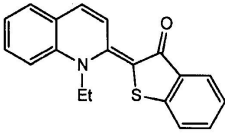


3

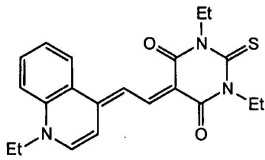


4

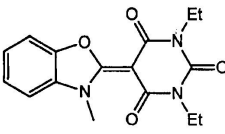
[0035]



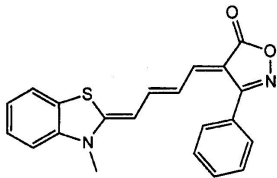
5



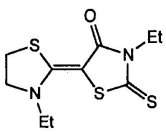
6



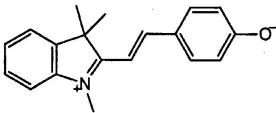
7



8

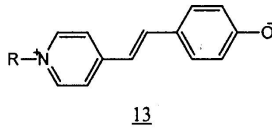
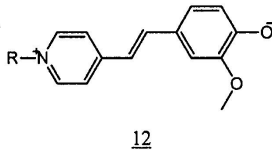
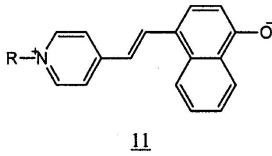


9



10

[0036]



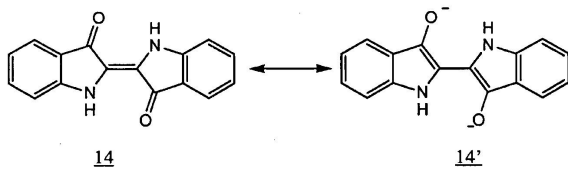
[0037]

[0038]

상기 식에서, "R"는 메틸, 알킬, 아릴, 페닐 등과 같은 기이다.

[0039]

인디고는 본 발명에 사용하기에 적절한 용제착색 착색제의 다른 예이다. 인디고는 여기 상태보다 현저히 덜 극성인 기저 상태를 갖는다. 예를 들어, 인디고는 일반적으로 하기 구조 14를 갖는다:



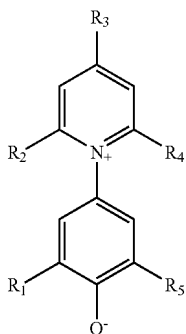
[0040]

[0041]

왼손 카노니컬 형태 14는 착색제의 기저 상태에 대한 주 기여자이며, 한편 오른손 카노니컬 14'는 여기 상태의 주 기여자이다.

[0042]

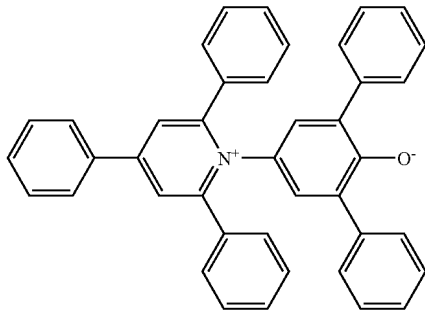
다른 적절한 용제착색 착색제는 영구 양성 이온 형태를 갖는 것들을 포함한다. 즉, 이러한 착색제는 인접하는 π -전자 시스템내에 함유된 형식적 양성 및 음성 전하를 갖는다. 상기 인용된 메로시아닌 착색제와 대조적으로, 중성 공명 구조는 이러한 영구적 양성 이온 착색제에 대해 도식화될 수 없다. 이러한 부류의 예시적인 착색제는 하기 일반 구조를 갖는 것들과 같은 N-페놀레이트 베타인 착색제를 포함한다:



[0043]

[0044]

상기 식에서, R₁-R₅는 독립적으로 수소, 니트로기(예, 질소), 할로젠, 또는 선형, 분지형 또는 원형 C₁-C₂₀ 기(예, 알킬, 페닐, 아릴, 피리디닐 등)로 구성되는 그룹으로부터 독립적으로 선택되며, 이는 포화 또는 불포화 될 수 있으며, 그리고 비치환되거나 또는 임의로 동일하거나 다른 탄소 원자에서 하나, 둘 또는 그 이상의 할로젠, 니트로, 시아노, 히드록시, 알콕시, 아미노, 페닐, 아릴, 피리디닐 또는 알킬아미노기로 치환될 수 있다. 예를 들어, N-페놀레이트 베타인 착색제는 하기 일반 구조 15를 갖는 4-(2,4,6-트리페닐피리디니움-1-일)-2,6-디페닐페놀레이트(라이하르트 염료)일 수 있다.



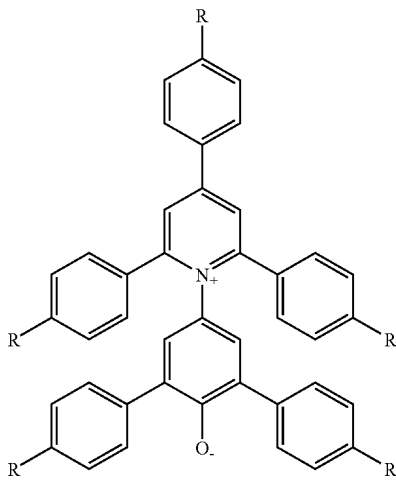
[0045]

[0046]

15

[0047]

라이하르트 염료는 강한 음성 용제변색성을 나타내어, 박테리아의 존재하에서 파란색에서 무색으로 현저한 색 변화를 나타낼 수 있다. 즉, 라이하르트 염료는 보다 짧은 파장에 대해 흡수 변환을 나타내어 용매 용리액 강도 (극성)가 증가함에 따라 가시적인 색 변화를 갖는다. 음성 용제착색 피리디니움 N-페놀레이트 베타인 착색제의 다른 적절한 예는 구조 16-23으로 하기에 나타낸 바와 같다:



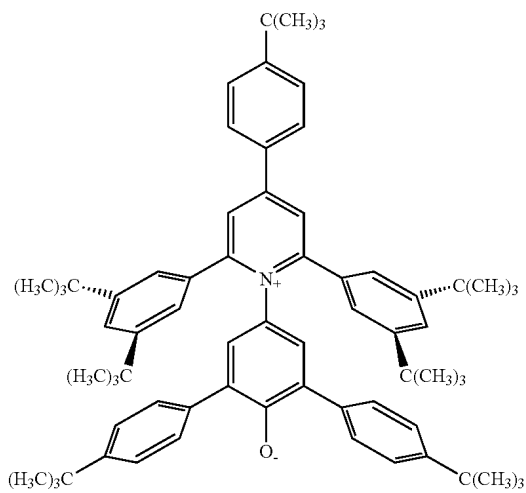
[0048]

[0049]

16

[0050]

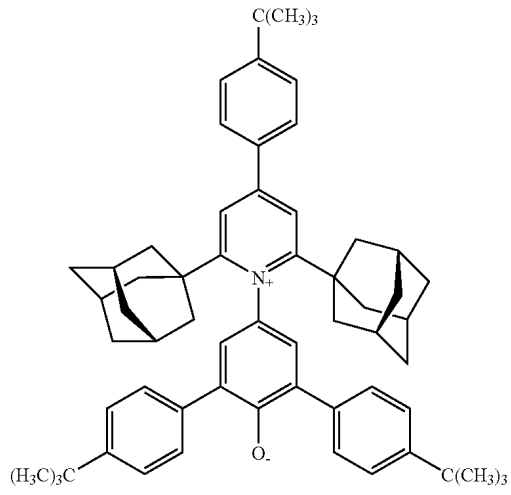
상기 식에서, R은 예를 들어, 수소, $-C(CH_3)_3$, $-CF_3$, 또는 C_6F_{13} 일 수 있다.



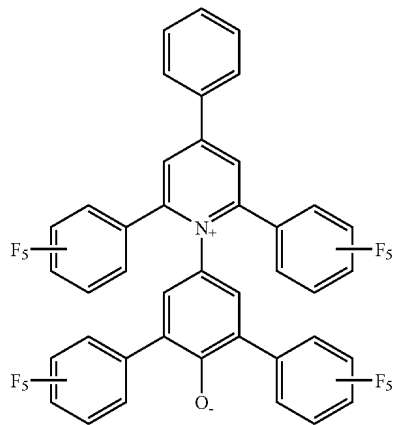
[0051]

[0052]

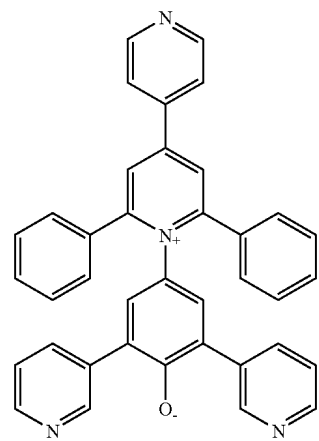
17



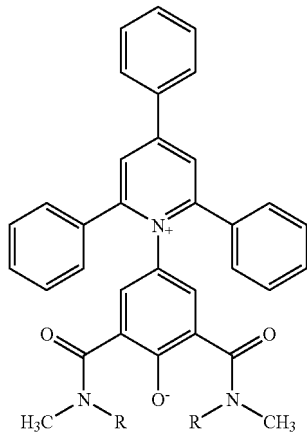
18



19



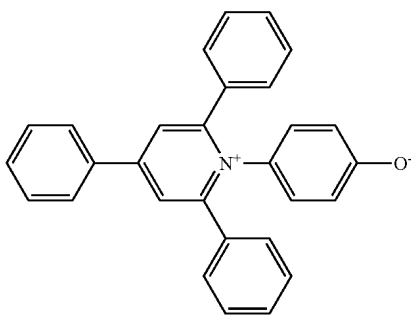
20



[0059]

[0060]

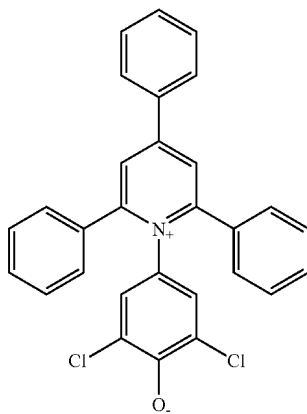
21



[0061]

[0062]

22

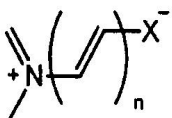


[0063]

[0064]

23

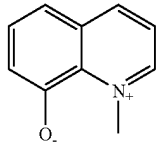
[0065] 영구적인 양성이온 형태를 갖는 착색제의 추가적인 예는 하기 일반 구조 24를 갖는 착색제들을 포함한다:



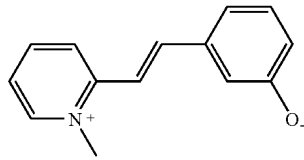
[0066]

[0067] 24

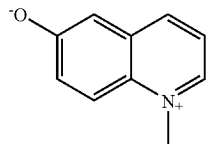
[0068] 상기 식에서, n은 0이상이며, 그리고 X는 산소, 탄소, 질소, 황 등이다. 구조 24로 나타낸 영구 양성이온 염료의 특정 예는 하기 구조 25-33을 포함한다:



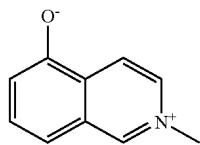
[0069]
[0070] 25



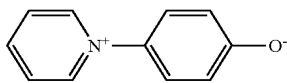
[0071]
[0072] 26



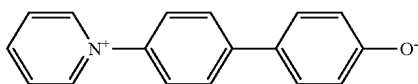
[0073]
[0074] 27



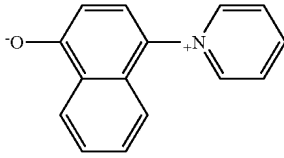
[0075]
[0076] 28



[0077]
[0078] 29



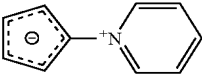
[0079]
[0080] 30



31

[0081]

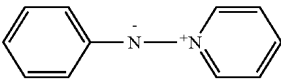
[0082]



32

[0083]

[0084]



33

[0085]

[0086]

[0087]

다른 적절한 용제착색 착색제는 이에 한정하는 것은 아니나, 4-디시안메틸렌-2-메틸-6-(p-디메틸아미노스티릴)-4H-피란(DCM); 6-프로피오닐-2-(디메틸아미노)나프탈렌(PRODAN); 9-(디에틸아미노)-5H-벤조[a]페녹스-아진-5-온(나일 레드); 4-(디시아노비닐)줄로리덴(DCVJ); 페놀 블루; 스틸바줄리움 착색제; 쿠마린 착색제; 케토시아닌 착색제; N,N-디메틸-4-니트로아닐린(NDMNA) 및 N-메틸-2-니트로아닐린(NM2NA); 나일 블루; 1-아닐리노나프탈렌-8-설폰산(1,8-ANS), 및 다폭실부틸설폰아미드(DBS) 및 다른 다폭실 유사체를 포함할 수 있다. 상기 언급한 염료들 외에, 마스킹 그래픽에 사용될 수 있는 다른 적절한 염료는 이에 한정하는 것은 아니나 4-[2-N-치환-1,4-히드로피리딘-4-일리딘]에틸리텐]시클로헥사-2,5-디엔-1-온, 레드 피라졸론 착색제, 아조메틴 착색제, 인도아닐린 착색제, 및 이의 혼합물을 포함한다.

[0088]

상기 인용된 착색제들은 이의 색 변화 메카니즘(예, pH-민감성, 금속 착화 또는 용제변색성)에 기초하여 분류되나, 본 발명은 어느 특정 색 변화 메카니즘으로 반드시 제한되는 것은 아닌 것으로 이해되어야 한다. pH-민감성 착색제가 사용되는 경우일지라도, 예를 들어, 다른 메카니즘이 실제로 착색제의 색 변화에 전체적으로 혹은 부분적으로 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 착색제와 미생물간의 레독스 반응이 색 변화에 기여할 수 있다.

[0089]

상술한 바와 같이, 어레이가 명확히 다른 분광 반응을 생성하는 한, 착색제의 특정 선택은 본 발명에 중요하지 않다. 각각의 어레이 어드레스는 이러한 목적을 완수하기 위해 다양한 방식으로 형성될 수 있다. 일 특정 구현으로, 각각의 어레이 어드레스는 미생물의 존재하에서 분광 반응을 각각 나타내는 착색제를 함유할 수 있다. 예를 들어, 하나의 어레이 어드레스는 산성 pH 수준에서 색 변화를 나타내는 pH-민감성 착색제를 사용할 수 있으며, 한편 또 다른 어레이는 중성 또는 염기성 수준에서 색 변화를 나타내는 pH-민감성 착색제를 함유할 수 있다. 택일적으로, 상기 어레이 어드레스는 이들이 색을 변화시키는 메카니즘에 상관없이 단순히 다른 화학 부류의 착색제를 함유할 수 있다. 예를 들어, 제 1 어레이 어드레스는 프탈레인 착색제를 함유하며, 제 2 어레이 어드레스는 방향족 아조 착색제를 함유하며, 제 3 어레이 어드레스는 안트라퀴논 착색제를 함유하며, 그리고 제 4 어레이 어드레스는 아릴메탄 착색제를 함유할 수 있다. 물론, 각각의 어레이 어드레스간에 분광 구별은 항상 다른 착색제의 사용에 의해 제공될 필요는 없다. 예를 들어, 동일한 착색제가 각각의 어레이 어드레스에 사용될 수 있으나, 다른 분광 반응을 생성하도록 하기 위해 다른 농도로 사용된다. 상기 어레이가 전체로서 명확히 구별되는 분광 반응을 생성할 수 있는 한, 특정 어드레스는 또한 동일한 농도로 동일한 착색제를 함유할 수 있다.

[0090]

상기 각 어레이 어드레스의 조성물외에, 독특한 분광 반응을 제공하는 능력을 증강시키기 위해 다양한 다른 견지의 어레이가 선택적으로 조절될 수 있다. 독특한 분광 반응을 생성하는 어레이의 능력에 영향을 주는 한 요인은 사용되는 어레이 어드레스의 수이다. 즉, 보다 많은 수의 각 어레이 어드레스는 분광 반응이 다른 미생물에 대해 달라지는 정도를 증가시킬 수 있다. 그러나, 지나치게 많은 수의 어드레스는 분광 반응들을 시각적으로

구별하는데 어렵게 만들 수도 있다. 따라서, 본 발명의 다수의 구현에서, 상기 어레이는 2-50 어레이 어드레스를 함유하며, 일부 구현에서 3 내지 약 40 어레이 어드레스를 함유하며, 그리고 일부 구현에서 4-20 어레이 어드레스를 함유한다. 어레이에 사용되는 어드레스의 수는 궁극적으로, 선택된 착색제의 특성에 적어도 일부 의존한다. 즉, 선택된 착색제가 미생물의 존재하에서 유사한 색 변화를 갖는 경우에, 다수의 어드레스는 원하는 분광 반응을 제공할 필요가 있을 수 있다.

[0091] 구별되는 분광 반응을 제공하는 능력에 영향을 미칠 수 있는 다른 견지의 어레이는 각 어레이 어드레스의 패턴(예, 크기, 공간적 배치, 정렬 등)이다. 각각의 어레이 어드레스는 고휘도 지지체의 크기를 과도하게 증가시키지 않고 시각적 관찰이 가능하기에 효과적인 크기를 가질 수 있다. 어드레스의 폭(또는 직경)은 예를 들어, 약 0.01-100밀리미터의 범위, 일부 구현에서 약 0.1-50밀리미터, 그리고 일부 구현에서 약 1-20밀리미터의 범위일 수 있다. 상기 어드레스의 형상이 또한 분광 반응의 시각적 관찰을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 상기 어드레스는 줄무늬, 밴드, 점 또는 어느 다른 기하학적 형상의 형태일 수 있다. 상기 어드레스는 또한 보다 가시적인 분광 반응을 제공하기 위해 특정 거리로 떨어져 공간 배치될 수 있다. 둘 이상의 각 어레이 어드레스간의 공간은 예를 들어, 약 0.01-100밀리미터, 일부 구현으로 약 0.1-50밀리미터, 그리고 일부 구현으로 약 1-20밀리미터 범위일 수 있다. 상기 어레이의 전체 패턴은 실질적으로 어느 원하여지는 외관상에 취할 수 있다.

[0092] 본 발명의 어레이의 일 특정 구현은 도 1에 나타내어진다. 도 1A에 묘사된 바와 같이, 예를 들어, 4개의 분리된 횡렬 및 종렬로 떨어져 공간 배치된 도트 형태로 16개의 각 어드레스 83을 함유하는 어레이 81이 제공된다. 이러한 구현에서, 각각의 어드레스 83은 착색제를 포함한다. 예를 들어, 일 세트의 제 1 어드레스 83a는 이. 콜라이(*E. coli*)의 존재하에서 색 변화를 나타내는 착색제를 포함하며, 일 세트의 제 2 어드레스 83b는 S. 아우레우스(*S. Aureus*)의 존재하에서 색 변화를 나타내는 착색제를 포함할 수 있다. *E. coli*로 감염된 시료가 어레이에 접촉되는 경우에, 제 1 세트의 어드레스 83a는 색 변화를 나타내며, 한편 제 2 세트의 어드레스 83b는 실질적으로 동일하게 유지하거나 단지 얇은 색 변화를 나타낸다(도 1B). *S. aureus*로 감염된 피부 시료가 어레이 81에 접촉되는 경우에, 제 2 세트의 어드레스 83b는 색 변화를 나타내며, 한편 제 1 세트의 어드레스 83a는 실질적으로 동일하게 유지하거나 단지 얇은 색 변화를 나타낸다(도 1C).

[0093] 본 발명의 어레이는 고휘도 지지체상에 형성되며, 이는 실질적으로 관심있는 시료와 접촉된다. 상기 고휘도 지지체는 필름, 종이, 부직 웹, 편물, 직물, 포유, 유리 등과 같은 어느 다양한 물질로부터 형성될 수 있다. 예를 들어, 상기 고휘도 지지체를 형성하는데 사용되는 물질은 이에 한정하는 것은 아니나, 폴리스카라이드(예, 종지와 같은 셀룰로오스 물질 및 셀룰로오스 아세테이트 및 니트로셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 유도체); 폴리에테르설폰; 폴리에틸렌; 나일론; 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF); 폴리에스테르; 폴리프로필렌; 실리카; 비활성화 알루미늄, 규조토, MgSO₄ 또는 비닐 클로라이드, 비닐 클로라이드-프로필렌 코폴리머 및 비닐 클로라이드-비닐 아세테이트 코폴리머와 같은 폴리머와 함께 다공성 폴리머 매트릭스에 균일하게 분산된 다른 무기 미세 분할 물질과 같은 무기물; 천연 발생(예, 면) 및 합성(예, 나일론 또는 레이온) 천; 실리카 겔, 아가로즈, 텍스트란, 및 젤라틴과 같은 다공성 겔; 폴리아크릴아미드와 같은 폴리머 필름 등과 같은 천연, 합성, 또는 합성적으로 변형된 천연 발생 물질을 포함할 수 있다.

[0094] 요구되는 것은 아니나, 상기 착색제는 이동 캐리어를 함유하는 조성물의 형태로 고휘도 지지체에 적용될 수 있다. 상기 캐리어는 액체, 가스, 겔 등일 수 있으며, 착색제의 원하는 실행(색 변화 시간, 다른 영역간의 대비, 및 민감도)을 제공하도록 선택될 수 있다. 일부 구현으로, 예를 들어, 상기 캐리어는 물과 같은 수성 용매 뿐만 아니라 글리콜(예, 프로필렌 글리콜, 부틸렌 글리콜, 트리에틸렌 글리콜, 헥실렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 에톡시디글리콜, 및 디프로필렌글리콜); 알코올(예, 메탄올, 에탄올, n-프로판올 및 이소프로판올); 트리글리세라이드; 에틸 아세테이트; 아세톤; 트리아세틴; 아세토니트릴, 테트라하이드라퓨란; 자일렌; 포름알데히드(예, 디메틸포름아미드, "DMF") 등과 같은 비수성 용매일 수 있다.

[0095] 다른 첨가제가 또한 상기 착색제 조성물과 별도로 또는 함께 어레이 어드레스내에 편입될 수 있다. 일 구현으로, 예를 들어, 시클로텍스트린I이 사용되며, 이는 착색제의 민감도 및 각 어레이 어드레스간의 대비를 증대시킨다. 이론으로 한정하려는 것은 아니나, 본 발명자들은 이러한 첨가제가 착색제의 결정화를 저해하고 이에 따라 보다 선명한 색을 제공하고 또한 검출 감도를 증가시킬 수 있는 것으로 여긴다. 즉, 각 착색제 분자는 미생물막과 상호작용하는데 자유롭기때문에 단일 착색제 분자는 미생물에 대해 보다 우수한 민감도를 갖는다. 이와 대조적으로, 작은 결정의 착색제는 우선 용해된 다음 막에 침투해야 한다. 적절한 시클로텍스트린의 예는 이에 한정하는 것은 아니나 히드록시프로필-β-시클로텍스트린, 히드록시에틸-β-시클로텍스트린, γ-시클로텍스트린, 히드록시프로필-γ-시클로텍스트린, 및 히드록시에틸-γ-시클로텍스트린(모두 Cerestar International of

Hammond, Indiana로부터 구입가능)을 포함할 수 있다.

[0096] 계면활성제가 또한 착색제의 민감도 및 다른 어드레스간의 대비를 증가시키는데 도움이 될 수 있다. 특히 바람직한 계면활성제는 에톡실레이티드 알킬페놀, 에톡실레이티드 및 프로폭실레이티드 지방 알코올, 에틸렌 옥시드-프로필렌 옥시드 블록 코폴리머, 지방(C₈-C₁₈)산의 에톡실레이티드 에스테르, 에틸렌 옥시드와 긴사슬 아민 또는 아미드의 축합 산물, 에틸렌 옥시드와 알코올의 축합 산물, 아세틸레닉 디올, 및 이들의 혼합물과 같은 비이온성 계면활성제들이다. 적절한 비이온성 계면활성제의 여러 가지 특정 예는 이에 한정하는 것은 아니나, 메틸 글루세쓰-10, PEG-20 메틸 글루코즈 디스테아레이트, PEG-20 메틸 글루코즈 세스퀴스테아레이트, C₁₁₋₁₅ 파레쓰-20, 세테쓰-8, 세테쓰-12, 도독시놀-12, 라우레쓰-15, PEG-20 캐스터 오일, 폴리소르베이트 20, 스테아레스-20, 폴리옥시에틸렌-10 세틸 에테르, 폴리옥시에틸렌-10 스테아릴 에테르, 폴리옥시에틸렌-20 세틸 에테르, 폴리옥시에틸렌-10 올레일 에테르, 폴리옥시에틸렌-20 올레일 에테르, 에톡실레이티드 노닐페놀, 에톡실레이티드 옥틸페놀, 에톡실레이티드 도데실페놀, 또는 3-20 에틸렌 옥시드부를 포함하는 에톡실레이티드 지방(C₆-C₂₂) 알코올, 폴리옥시에틸렌-20 이소헥사데실 에테르, 폴리옥시에틸렌-23 글리세롤 라우레이트, 폴리옥시에틸렌-20 글리세릴 스테아레이트, PPG-10 메틸 글루코즈 에테르, PPG-20 메틸 글루코즈 에테르, 폴리옥시에틸렌-20 소르비탄 모노에스테르, 폴리옥시에틸렌-80 캐스터 오일, 폴리옥시에틸렌-15 트리데실 에테르, 폴리옥시-에틸렌-6 트리데실 에테르, 라우레쓰-2, 라우레쓰-3, 라우레쓰-4, PEG-3 캐스터 오일, PEG 600 디올레이트, PEG 400 디올레이트, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 상업적으로 구입가능한 비이온성 계면활성제는 Air Products and Chemicals of Allentown, Pennsylvania로부터 구입가능한 SURFYNOL® 범위의 아세틸레닉 디올 계면활성제 및 Fischer Scientific of Pittsburgh, Pennsylvania로부터 구입가능한 TWEEN® 범위의 폴리옥시에틸렌 계면활성제를 포함할 수 있다.

[0097] 바인더가 또한 고형 지지체상의 착색제의 고정화를 촉진하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 수용성 유기 폴리머가 폴리사카라이드 및 이의 유도체와 같은 바인더로서 사용될 수 있다. 폴리사카라이드는 반복된 탄수화물 유닛을 함유하는 폴리머이며, 이는 양이온, 음이온, 비이온성이거나 그리고/또는 양쪽이온성일 수 있다. 일 특정 구현으로, 상기 폴리사카라이드는 비이온성, 양이온성, 음이온성, 및/또는 양쪽이온성 셀룰로오스 에테르이다. 적절한 비이온성 셀룰로오스 에테르는 이에 한정하는 것은 아니나, 메틸 셀룰로오스 및 에틸 셀룰로오스와 같은 알킬 셀룰로오스 에테르; 히드록시에틸 셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시프로필 히드록시부틸 셀룰로오스, 히드록시에틸 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시에틸 히드록시부틸 셀룰로오스 및 히드록시에틸 히드록시프로필 히드록시부틸 셀룰로오스와 같은 히드록시알킬 셀룰로오스 에테르; 메틸 히드록시에틸 셀룰로오스, 메틸 히드록시프로필 셀룰로오스, 에틸 히드록시에틸 셀룰로오스, 에틸 히드록시프로필 셀룰로오스, 메틸 에틸 히드록시에틸 셀룰로오스 및 메틸 에틸 히드록시프로필 셀룰로오스와 같은 알킬 히드록시알킬 셀룰로오스 등을 포함할 수 있다.

[0098] 상기 착색제 조성물을 개개의 어레이 어드레스의 형태로 고형 지지체에 적용하는 적절한 기술은 인쇄, 디핑, 분무, 용융 압출, 코팅(예, 용매 코팅, 분말 코팅, 브러쉬 코팅 등), 분무 등을 포함한다. 인쇄 기술은 예를 들어, 그라비아 인쇄, 플렉소그래픽 인쇄, 스크린 인쇄, 레이저 인쇄, 열 리본 인쇄, 피스톤 인쇄 등을 포함할 수 있다. 일 특정 구현으로, 잉크-젯 인쇄 기술은 지지체상에 어레이를 형성하기 위해 사용된다. 잉크-젯 인쇄는 작은 노즐 (또는 일련의 노즐)을 통해 잉크를 포싱하여 지지체를 향하여 지시되는 소적을 형성하는 것을 포함한다. 두 기술이 일반적으로 사용된다. 즉, "DOD"(드롭-온-디맨드) 또는 "연속" 잉크-젯 인쇄가 사용된다. 연속 시스템에서, 잉크는 적어도 하나의 오리피스 또는 노즐을 통해 압력하에 연속 스트림으로 방출된다. 상기 스트림은 가압 작동장치에 의해 섭동되어(perturbed) 오리피스로부터 고정된 거리에서 스트림이 소적으로 부서진다. 다른 한편, DOD 시스템은 각 오리피스에서 가압 작동장치를 사용하여 잉크를 소적으로 부순다. 각 시스템에서 가압 작동장치는 압전 크리스탈, 음향 장치, 가온 장치 등일 수 있다. 잉크 젯트 시스템의 타입 선택은 인쇄 헤드로부터 인쇄되는 물질의 타입에 따라 달라진다. 예를 들어, 소적이 정전기적으로 편향되기때문에 전도성 물질이 가끔 요구된다. 따라서, 시료 채널이 유전 물질로부터 형성되는 경우에, DOD 인쇄 기술이 보다 바람직할 수 있다.

[0099] 착색제 조성물은 다양한 어느 공지 성분 및/또는 방법을 이용하는 인쇄 잉크로서 형성될 수 있다. 예를 들어, 인쇄 잉크는 캐리어로서 물, 특히 탈이온수를 함유할 수 있다. 락탐, N-메틸 피롤리돈, N-메틸아세트아미드, N-메틸모폴린-N-옥시드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸 포름아미드, 프로필렌글리콜-모노메틸에테르, 테트라메틸렌 설펜, 트리프로필렌글리콜모노메틸에테르, 프로필렌 글리콜 및 트리에탄올아민(TEA)과 같은 다양한 코캐리어가 잉크에 포함될 수 있다. 에틸렌 글리콜; 디에틸렌 글리콜; 글리세린; 폴리에틸렌 글리콜 200, 300, 400 및

600; 프로판 1,3 디올; Dowanol PM(Gallade Chemical Inc., Santa Ana, CA)와 같은 프로필렌-글리콜모노메틸 에테르; 폴리히드릭 알코올; 또는 이들의 혼합물과 같은 습윤제가 또한 사용될 수 있다. 화학 반응 시간 초과시 포함될 수 있는 금속 이온을 격리시키기 위한 킬레이트제, 프린터 또는 잉크 운반 시스템의 금속 성분을 보호하는데 돕기 위한 부식 억제제 및 잉크 표면 장력을 조정하기 위한 계면활성제와 같은 다른 첨가제가 또한 잉크 성능 개선을 위해 포함될 수 있다. 착색제 안정화제, 광개시제, 바인더, 계면활성제, 전해질염, pH 조절제 등과 같이 잉크에 사용되는 다양한 다른 성분들이 미국 특허 제 5,681,380(Nohr, et al.) 및 6,542,379(Nohr, et al.)에 기술된 바와 같이 사용될 수 있으며, 이들은 모두 참고문헌으로 본 명세서에 편입된다.

[0100] 어레이 어드레스에 사용되는 착색제의 정확한 양은 착색제의 민감도, 다른 첨가제의 존재, 검출능의 원하는 정도(예, 육안으로), 추측되는 미생물의 농도 등을 포함하는 다양한 인자에 따라 달라질 수 있다. 일부 경우에, 단지 특정 한계치 농도(예, 병원성)인 농도로 미생물의 존재를 검출하는 것이 원하여질 수 있다. 예를 들어, 시험 시료 밀리리터당 약 1×10^3 콜로니 형성 유닛("CFU") 이상의 농도, 일부 구현으로 약 1×10^5 CFU/ml 이상, 일부 구현으로 약 1×10^6 CFU/ml 이상, 그리고 일부 구현으로 약 1×10^7 CFU/ml 이상의 미생물이 본 발명에서 검출될 수 있다. 따라서, 착색제는 시험 시료 밀리리터당 적어도 약 1×10^3 CFU의 농도로 미생물의 존재 하에 검출가능한 색 변화를 일으키기에 충분한 양으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 상기 착색제는 캐리어 밀리리터당 약 0.1-100밀리그램의 농도로, 일부 구현으로 캐리어 밀리리터당 약 0.5-60밀리그램의 농도로, 그리고 일부 구현으로 캐리어 밀리리터당 약 1-40밀리그램의 농도로 적용될 수 있다.

[0101] 본 발명의 어레이의 분광 반응은 노출되어지는 미생물의 존재와 관련된 정보를 제공한다. 필요에 따라, 반응되어지는 어레이의 반응은 컨트롤 어레이에 비교될 수 있으며(예, 시각적으로 혹은 기구의 보조로), 이는 미생물에 대한 대응성과 관련된 시험 어레이와 동일하거나 유사한 방식으로 형성된다. 마찬가지로 특정 농도에서 다른 타입의 미생물에 상응하는 다중 컨트롤 어레이가 사용될 수 있다. 비교시, 미생물은 반응되는 시험 어레이의 반응과 동일하거나 실질적으로 유사한 분광 반응을 갖는 컨트롤 어레이를 선택하고, 그 다음 선택된 컨트롤 어레이를 특정 미생물 또는 미생물 부류와 서로 관련시킴으로써(correlating) 동정될 수 있다. 또한, 어레이 자체는 미생물의 존재하에서 검출가능한 색 변화를 일반적으로 나타내지 않는 하나 이상의 착색제를 함유할 수 있어, 이러한 착색제(들)는 비교 또는 컨트롤용으로 사용될 수 있다.

[0102] 어레이의 분광 반응은 시각적으로 혹은 계측 사용으로 검출될 수 있다. 일 구현으로, 색 강도는 광학 판독기를 이용하여 측정된다. 광학 판독기의 실제 형태 및 구조는 당업자에게 쉽게 이해되는 바와 같이 일반적으로 다양할 것이다. 전형적으로, 광학 판독기는 전자기 방사선을 방출할 수 있는 광원 및 신호(예, 전달 혹은 반사된 빛)를 기록할 수 있는 검출기를 함유한다. 광원은 가시 범위 또는 가시부근 범위내의 빛(예, 적외선 또는 자외선)과 같은 전자기 방사선을 제공할 수 있는 당업자에게 알려진 어느 장치일 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 사용될 수 있는 적절한 광원은 이에 한정하는 것은 아니나, 발광 다이오드(LED), 플래쉬램프, 냉음극 형광램프, 전계발광램프 등을 포함한다. 광 조사는 다중일 수 있으며 그리고/또는 시준될 수 있다. 일부 경우에, 광 조사는 어느 배경 간섭을 감소시키기 위해 펄싱될 수 있다. 또한, 광 조사는 연속적이거나 연속 파장(CW)과 조합될 수 있으며, 다중 광 조사 빔이 다중 송신되는 펄스 광 조사(예, 펄스 빔이 CW 빔과 다중 송신됨)일 수 있으며, 이는 CW 공급원에 의해 유도된 신호와 펄스 공급원에 의해 유도된 신호간의 신호 식별을 이루게 한다. 예를 들어, 일부 구현으로, LEDs(예, 알루미늄 갈륨 아르세나이드 레드 다이오드, 갈륨 포스피드 그린 다이오드, 갈륨 아르세나이드 포스피드 그린 다이오드, 또는 인듐 갈륨 니트ريد 바이올렛/블루/울트라바이올렛(UV) 다이오드)가 펄스 광원으로 사용된다. 본 발명에 사용하기에 적절한 UV LED 여기 다이오드의 상업적으로 구입가능한 일 예는 모델 NSHU550E(Nichia Corporation)이며, 이는 10밀리엠프(3.5-3.9볼트)의 포워드 전류에서 10도의 반치폭(full width at half maximum), 370-375나노미터의 피크 파장 및 12나노미터의 스펙트럼 반폭(spectral half width)으로 750-1000 마이크로와트의 광 파워를 빔내로 방출한다.

[0103] 일부 경우에, 광원은 착색제에 확산 광 조사를 제공할 수 있다. 예를 들어, 다점 광원의 어레이(예, LEDs)가 간단하게 상대적으로 확산 광 조사를 제공하는데 사용될 수 있다. 비교적 저렴한 방식으로 확산 광 조사를 제공할 수 있는 또 다른 특히 바람직한 광원은 전계 발광(EL) 소자이다. EL 소자는 일반적으로 전극들 사이에 샌드위치되고, 이중 적어도 하나는 빛이 탈출할 수 있도록 투명한 발광 물질(예, 포스포 입자)을 이용하는 캐피시터 구조이다. 전극을 지나는 볼트의 적용은 광 방출이 일어나게 하는 발광 물질내에서 변하는 전계를 생성한다.

[0104] 검출기는 일반적으로 신호를 감지할 수 있는 당업자에게 알려진 어느 장치일 수 있다. 예를 들어, 상기 검출기는 공간적 식별을 위해 배열된 전자 이미지 검출기일 수 있다. 이러한 전자 이미지 센서의 일부 예는 고속, 선형 전하 결합 소자(CCD), 전하 주입 소자(CID), 상보형 금속 산화막 반도체(CMOS, complementary-metal-oxide-

semiconductor) 소자 등을 포함한다. 이러한 이미지 검출기는 예를 들어, 일반적으로 전자 광 센서의 2차원적 배열이지만, 예를 들어, 이미지 스캔을 위해 사용되는 것들과 같은 단선의 검출기 픽셀 또는 광 센서를 포함하는 선형 이미지 검출기(예, 선형 CCD 검출기)가 사용될 수 있다. 각 어레이는 "어드레스"라 칭하여질 수 있는 일련의 공지된, 독특한 포지션을 포함한다. 이미지 검출기내의 각 어드레스는 일 영역(예, 전형적으로 박스 또는 직사각형과 같은 형태의 영역)을 덮는 센서에 의해 차지된다. 이러한 영역은 일반적으로 "픽셀" 또는 픽셀 영역으로 칭하여진다. 검출기 픽셀은 예를 들어, CCD, CID, 또는 CMOS 센서이거나 또는 빛을 검출하거나 측정하는 어느 다른 장치나 센서일 수 있다. 검출기 픽셀의 크기는 광범위하게 달라질 수 있으며, 일부 구현으로 0.2 마이크로미터 정도로 작은 직경이나 길이를 가질 수 있다.

[0105] 다른 구현으로, 상기 검출기는 공간적 식별능이 결여된 광 센서일 수 있다. 예를 들어, 이러한 광 센서의 예는 광전자 배증관 소자, 어벌런치 포토다이오드 또는 실리콘 포토다이오드와 같은 포토다이오드 등을 포함할 수 있다. 실리콘 포토다이오드가 저렴하고, 민감하고, 고속 작동가능하며(짧은 라이즈 타임/높은 대역폭), 그리고 대부분의 다른 반도체 기술 및 모놀리식 집적회로에 쉽게 집적될 수 있는 점에서 종종 유용하다. 또한, 실리콘 포토다이오드는 물리적으로 작으며, 이는 다양한 타입의 검출 시스템내로 쉽게 편입되는 것을 가능케한다. 단일 실리콘 포토다이오드가 사용되는 경우에, 방출되는 신호의 파장 범위는 400-1100나노미터의 민감성 범위내일 수 있다.

[0106] 광학 판독기는 예를 들어, 발광(예, 형광, 인광 등), 흡광도(예, 형광 또는 비형광), 회절 등을 포함하는 일반적으로 어느 공지된 검출 기술을 이용할 수 있다. 본 발명의 특정 구현으로, 상기 광학 판독기는 흡광도에 비례하여 색 강도를 측정한다. 일 구현으로, 흡광도 판독은 Dynex Technologies of Chantilly, Virginia(Model # MRX)로부터 마이크로플레이트 리더를 이용하여 측정된다. 다른 구현으로, 흡광도 판독은 "CIELAB"으로 알려진 통상적인 시험을 이용하여 측정되며, 이는 Pocket Guide to Digital Printing(F. Cost, Delmar Publisher, Albany, NY. ISBN 0-8273-7592-1, p144-145)에 기술되어 있다. 이 방법은 3가지 변수, L*, a* 및 b*를 정의하며, 이는 색 인식의 상대 이론에 기초하여 인식된 색의 세가지 특성에 해당된다. 이러한 세가지 변수는 하기의 미를 갖는다:

[0107] L* = 밝기(또는 광도), 0-100 범위, 0 = 어두움, 100 = 밝음;

[0108] a* = 레드/그린 축, 약 -100 내지 100 범위; 양성 값은 레드, 음성 값은 그린을 나타냄; 그리고

[0109] b* = 옐로우/블루 축, 약 -100 내지 100 범위; 양성 값은 옐로우, 음성 값은 블루를 나타냄.

[0110] CIELAB 색 공간은 다소 시각적으로 균일하기때문에, 사람에 의해 인식된 두 색간의 차이를 나타내는 단일 수가 계산될 수 있다. 이러한 차이는 ΔE로 칭하여지며, 두 색간의 세가지 차이(ΔL*, Δa* 및 Δb*)의 제곱의 합의 제곱근을 취함으로써 계산된다. CIELAB 색 공간에서, 각 ΔE 유닛트는 두 색간의 "바로 인식가능한" 차이와 대략 동일하다. 따라서, CIELAB은 목표 디바이스-독립적 색 표시 시스템에 우수한 수단이며, 이는 색 관리 및 색 변화의 표현 목적으로 기준 색 공간으로 사용될 수 있다. 이러한 시험을 사용하는 경우, 이에 따라 색 강도(L*, a* 및 b*)는 예를 들어, 핸드헬드 스펙트로포토미터(Minolta Co. Ltd. of Osaka, Japan(Model# CM2600d))를 이용하여 측정될 수 있다. 이러한 기구는 CIE No. 15, ISO 7724/1, ASTM E1164 및 JIS Z8722-1982(확산 광 조사/8-도 측정 기구)에 따른 D/8 기하학을 이용한다. 정상 표면에 대해 8도의 각에서 시편 표면에 의해 반사된 D65 광은 시편-측정 광학 시스템에 의해 받아들인다. 다른 적절한 광학 판독기는 본 명세서에 참고문헌으로 편입된 미국 특허 출원 공개 제 2003/0119202(Kaylor, et al.)에 기술된 반사율 스펙트로포토미터이다. 마찬가지로, 트랜스미션-모드 검출 시스템이 본 발명에 사용될 수 있다.

[0111] 본 발명의 결과로서, 미생물 오염은 미생물 또는 미생물 부류에 대한 독특한 분광 반응을 생성하는 어레이의 사용을 통해 검출될 수 있음이 발견되었다. 본 발명에 따라 검출될 수 있는 미생물은 특별히 한정되지 않으며, 박테리아, 이스트, 균류, 곰팡이, 프로토조아, 바이러스 등을 포함할 수 있다. 본 발명에서 검출될 수 있는 여러 관련 박테리아 그룹은 예를 들어, 그람 음성 간균(예, 엔테로박테리아); 그람 음성 만곡형 간균(예, 비비오스, 헬리코박터, 캄필로박터 등); 그람 음성 구균(예, 나이세리아); 그람 양성 간균(바실러스, 클로스트리디움 등); 그람 양성 구균(예, 스타필로코커스, 스트렙토코커스 등); 오플리케이트 세포내 기생체(예, 리케차 및 클라미디아); 항산성 간균(예, 미오박테리움, 노카디아 등); 스피로케테스(예, 트레포네마, 보렐리아 등); 및 미코플라즈마(즉, 세포벽이 결여된 작은 박테리아)를 포함한다. 특히 관련 박테리아는 이. 콜라이(*E. coli*)(그람 음성 간균), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*)(그람 음성 간균), 스트렙토코커스(*Streptococcus*)(그람 양성 구균), 살모넬라 콜레라에서이스(*Salmonella choleraesuis*)(그람 음성 간균), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(그람 양성 구균), 및 피.에루지노사(*P. aeruginosa*)(그람 음성 간균)를 포함한다.

- [0112] 박테리아에 부가적으로, 관심있는 다른 미생물은 곰팡이 및 이스트(예, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*))를 포함하며, 이는 균류 영역에 속한다. 지고미코타(*Zygomycota*)는 예를 들어, 균류의 부류이며, 이는 흑갈색 곰팡이 및 식물과 동물과 공생관계를 나타내는 다른 곰팡이들을 포함한다. 이러한 곰팡이는 강인한 "접합 포자(zygospores)"를 융합 및 형성할 수 있다. 아스코미코타(*Ascomycota*)는 또 다른 부류의 균류이며, 이는 이스트, 분말성 흰곰팡이, 흑 및 흑-갈색 곰팡이와 그리고 네덜란드 느릅나무 마름병(Dutch elm disease), 사과나무 검은 별무늬병(apple scab) 및 맥간병과 같은 질병을 일으키는 일부 종들을 포함한다. 이러한 균류의 생활사는 유성 및 무성 번식 모두를 겸비하며, 균사는 핵 및 세포질의 통과가 이루어지도록 다공성 벽으로 다시 나누어진다. 불완전균문(*Deuteromycota*)은 또 다른 부류의 균류이며, 이는 상기 언급한 부류들 또는 담자균문류(*Basidiomycota*)(대부분의 버섯, 포어 균류 및 퍼프볼 균류를 포함함)에 쉽게 일치하지 않는 균류의 갖가지 모음을 포함한다. 불완전균류(*Deuteromycetes*)는 치즈 및 페니실린을 생성하는 종을 포함할 뿐만 아니라 무좀 및 백선을 일으키는 것들과 같은 질병을 일으키는 멤버들을 포함한다.
- [0113] 여하튼, 본 발명의 어레이의 분광 반응은 신속하고 상대적으로 단 기간내에 검출될 수 있다. 예를 들어, 분광 반응은 약 20분이하, 일부 구현으로 약 10분이하, 일부 구현으로 약 5분이하, 일부 구현으로 약 3분이하, 그리고 일부 구현으로 약 10초 내지 약 2분이하내에 일어날 수 있다. 이러한 방식으로, 상기 어레이는 미생물 또는 미생물 부류의 유무의 "실시간" 표시를 제공할 수 있다.

실시예

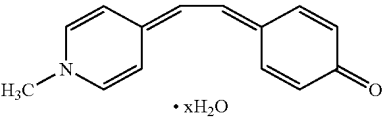
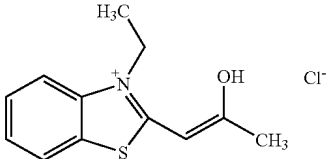
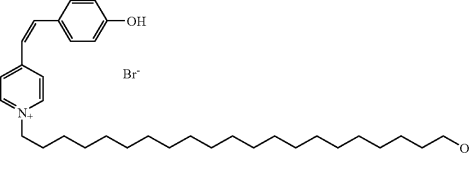
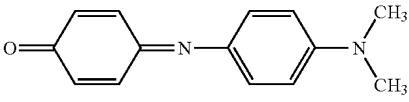
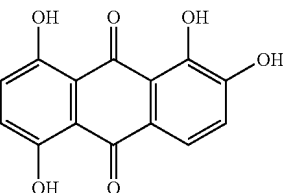
- [0117] 본 발명은 하기 실시예를 참고로 보다 잘 이해될 수 있다.
- [0118] 사용된 재료
- [0119] 모든 시약 및 용매는 달리 표기하지 않는 한 Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc. of St. Louis, Missouri로부터 얻어졌으며, 추가 정제없이 사용되었다. 본 시험에 사용된 미생물은:
- [0120] 1. 그람 음성(생육가능)
- [0121] - 에스케리차 콜라이(ATCC #8739)(*E. coli*)
- [0122] - 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)(ATCC #9027)(*P. aeruginosa*)
- [0123] - 클렙시엘라 뉴모니아에(*Klebsiella pneumoniae*)(ATCC #4352)(*K. pneumoniae*)
- [0124] - 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*)(ATCC #7002)(*P. mirabilis*)
- [0125] - 헤모필러스 인플루엔자에(*Haemophilus influenzae*)(ATCC #49247)(*H. influenzae*)
- [0126] - 모라셀라 라쿠나타(*Moraxella lacunata*)(ATCC #17972)(*M. lacunata*)
- [0127] 2. 그람 양성(생육가능)
- [0128] - 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(ATCC #6538)(*S. aureus*)
- [0129] - 락토바실러스 아시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*)(ATCC #11975)(*L. acidophilus*)
- [0130] - 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*)(ATCC #12228)(*S. epidermidis*)
- [0131] - 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)(ATCC #19659)(*B. subtilis*)
- [0132] - 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*)(ATCC #29212)(*E. faecalis*)
- [0133] - 스트렙토코커스 피오케네스(*Streptococcus pyogenes*)(ATCC #10782)(*S. pyogenes*)
- [0134] - 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*)(ATCC #10015)(*S. pneumoniae*)

- [0135] 3. 이스트(생육가능)
 [0136] - 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)(ATCC #10231)(*C. albicans*)

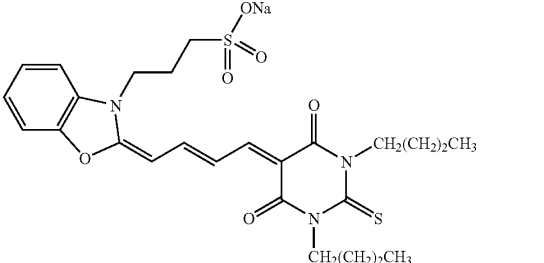
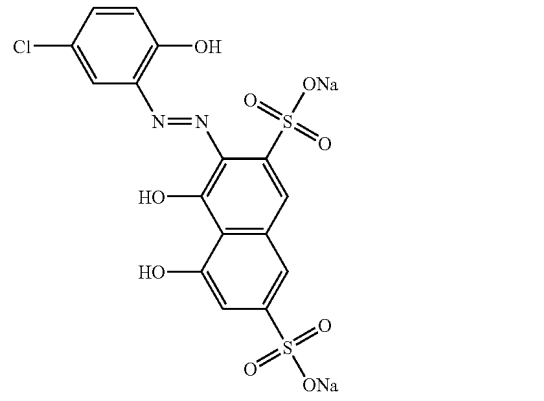
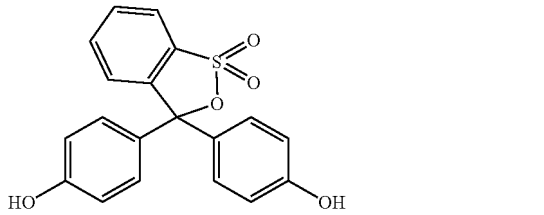
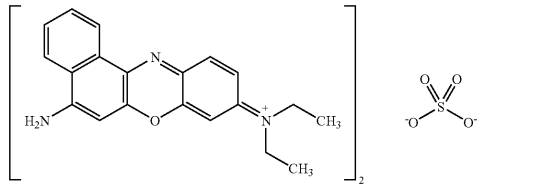
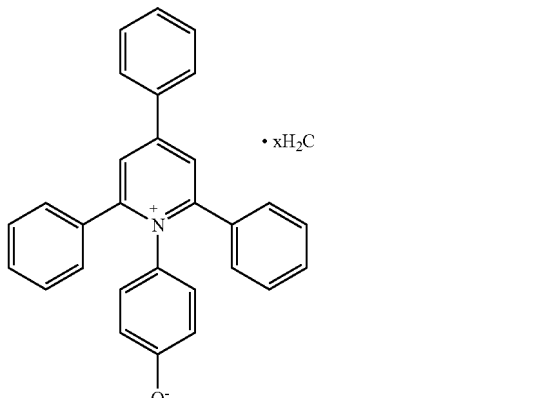
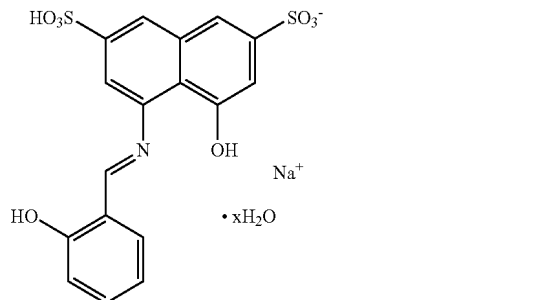
- [0137] 4. 곰팡이(생육가능)
 [0138] - 아우레오바시디움 플루란스(*Aureobasidium pullulans*)(ATCC #16622)(*A. pullulans*)
 [0139] - 페니실리움 잔티넬럼(*Penisilium janthinellum*)(ATCC #10069)(*P. janthinellum*)

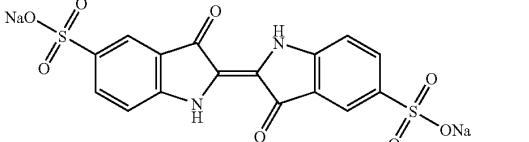
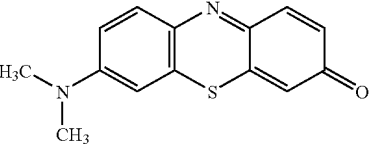
[0140] 본 시험에 사용된 착색제들을 표 1에 이들의 분자 구조와 함께 열거하였다:

[0141] 표 1: 예시적인 착색제들 및 이에 상응하는 구조

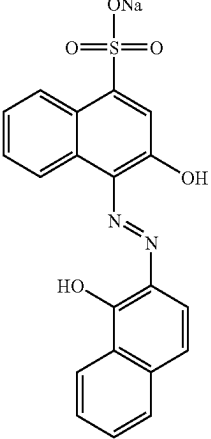
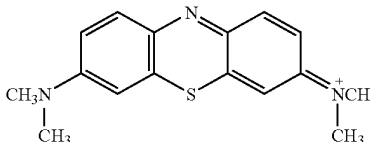
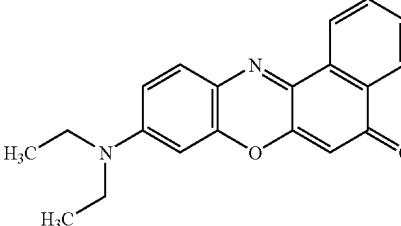
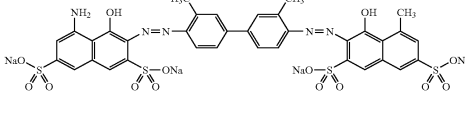
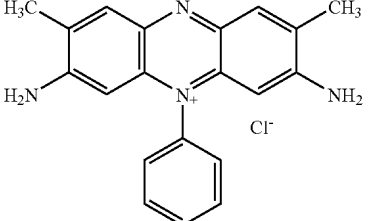
착색제	구조
4-[(1-메틸-4(1H)-피리디닐리덴)에틸리덴]-2,5-시클로헥사디엔-1-온 하이드레이트	
3-에틸-2-(2-히드록시-1-프로페닐)벤조티아졸리움 클로라이드	
1-도코실-4-(4-히드록스티릴)피리디니움 브로마이드	
N,N-디메틸인도아닐린	
퀴날리자린	

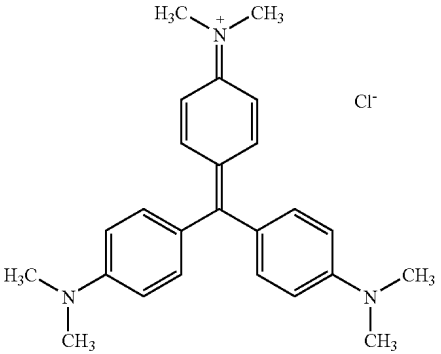
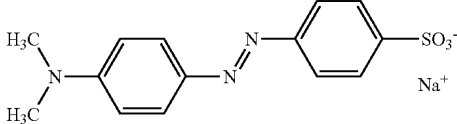
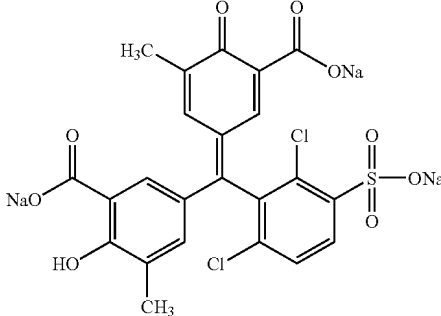
[0143]

착색제	구조
메로시아닌 540	
에리오크롬 블루 SE	
페놀 레드	
나일 블루 A	
1-(4-히드록시페닐)-2,4,6-트리페닐피리디니움 히드록시드 분자내염 하이드레이트	
아조메탄-II 모노소듐염 하이드레이트	

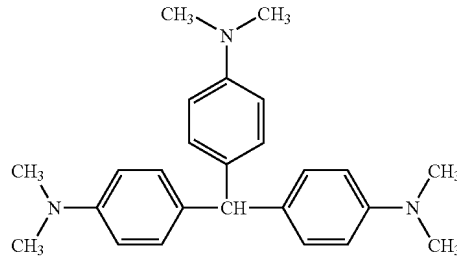
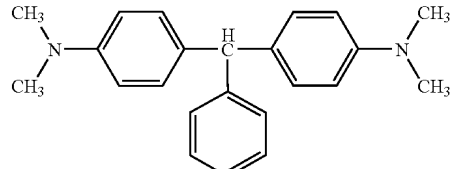
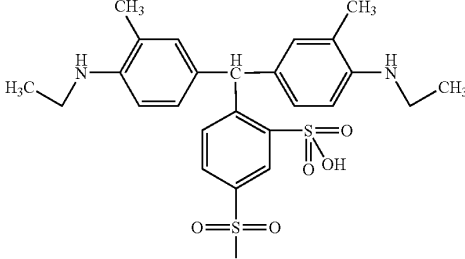
인디고 카민	
메틸렌 바이올렛	

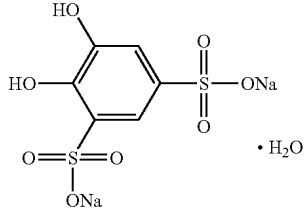
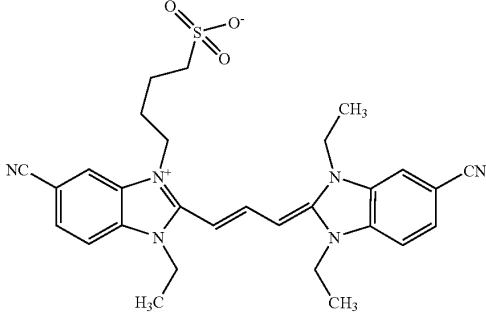
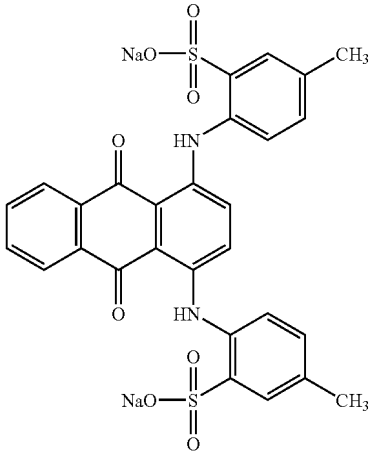
[0144]

착색제	구조
에리오크롬 블루 블랙 B	
메틸렌 블루	 <p style="text-align: right;">Cl⁻ • 3H₂O</p>
나일 레드	
트립판 블루	
사프라닌 0	 <p style="text-align: right;">Cl⁻</p>

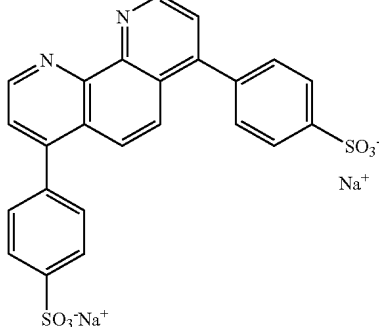
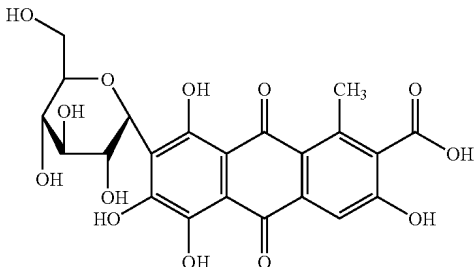
<p>크리스탈 바이올렛</p>	
<p>메틸 오렌지</p>	
<p>크롬 아주롤 S</p>	

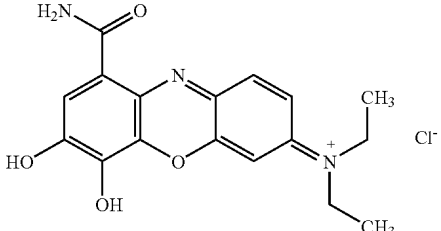
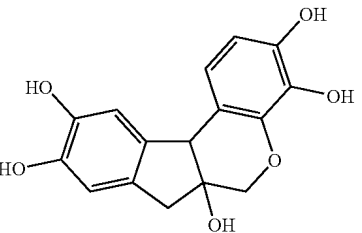
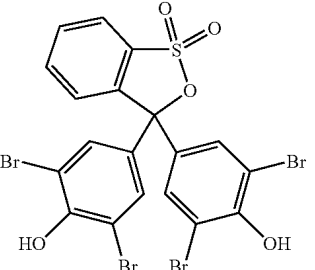
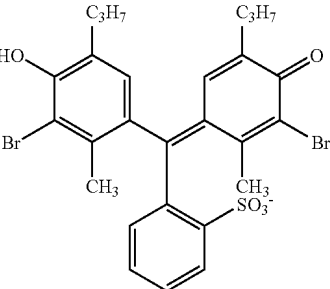
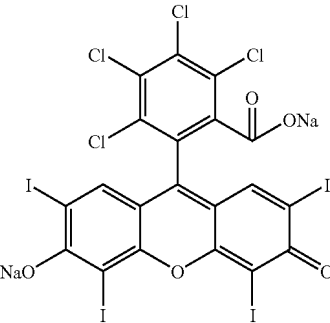
[0145]

<p>착색제</p>	<p>구조</p>
<p>루코크리스탈 바이올렛</p>	
<p>루코말라키트 그린</p>	
<p>루코 자일렌 시아놀 FF</p>	

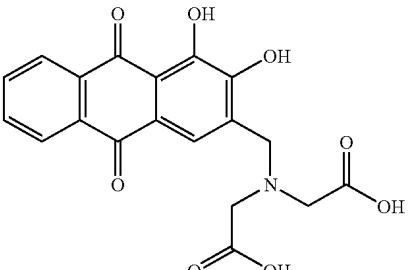
<p>4,5-디히드록시-1,3-벤젠디설포산 디소듐염 모노하이드레이트</p>	
<p>5-시아노-2-[3-(5-시아노-1,3-디에틸-1,3-디히드로-2H-벤즈이미다졸-2-일리덴)-1-프로페닐]-1-에틸-3-(4-설포부틸)-1H-벤즈이미다졸리움 히드록시 분자내염</p>	
<p>액시드 그린 25</p>	

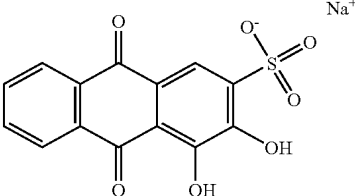
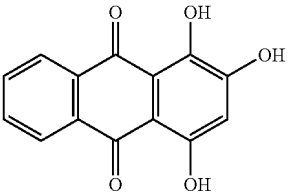
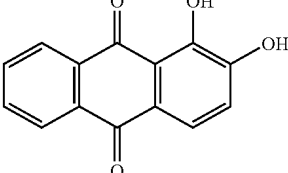
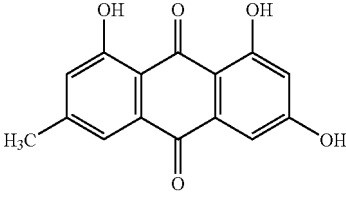
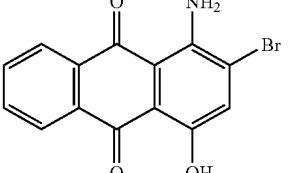
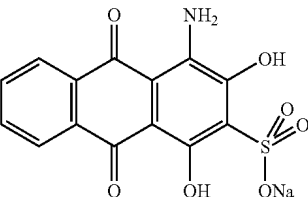
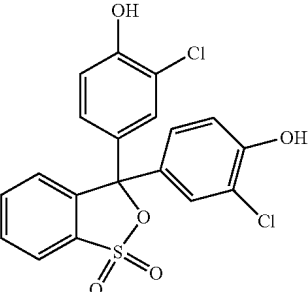
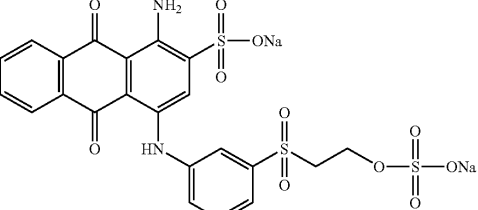
[0146]

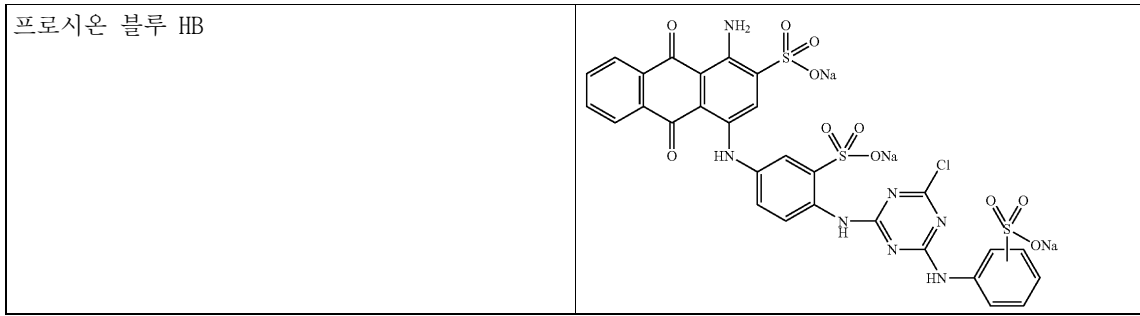
<p>착색제</p>	<p>구조</p>
<p>베쓰페난트롤린디설포산 디소듐염 트리하이드레이트</p>	
<p>카믹닉산</p>	

셀레스틴 블루	
헤마톡실린	
브로모페놀 블루	
브로모티몰 블루	
로즈 벵갈	
유니버설 인디케이터 0-5	입수 불가
유니버설 인디케이터 3-10	입수 불가

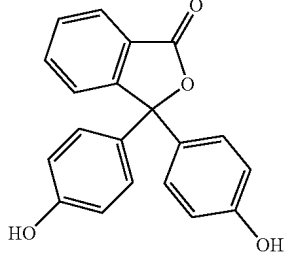
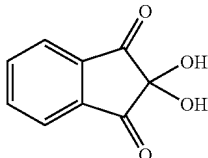
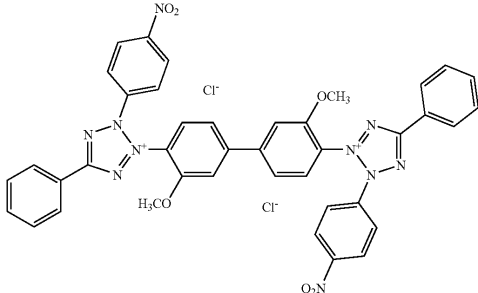
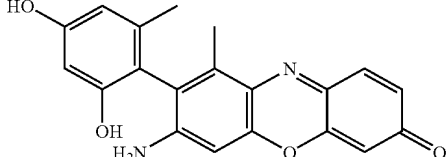
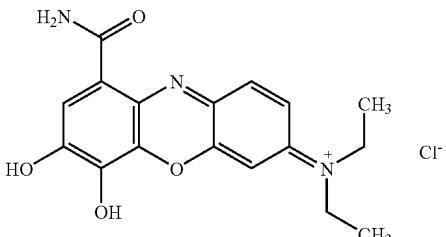
[0147]

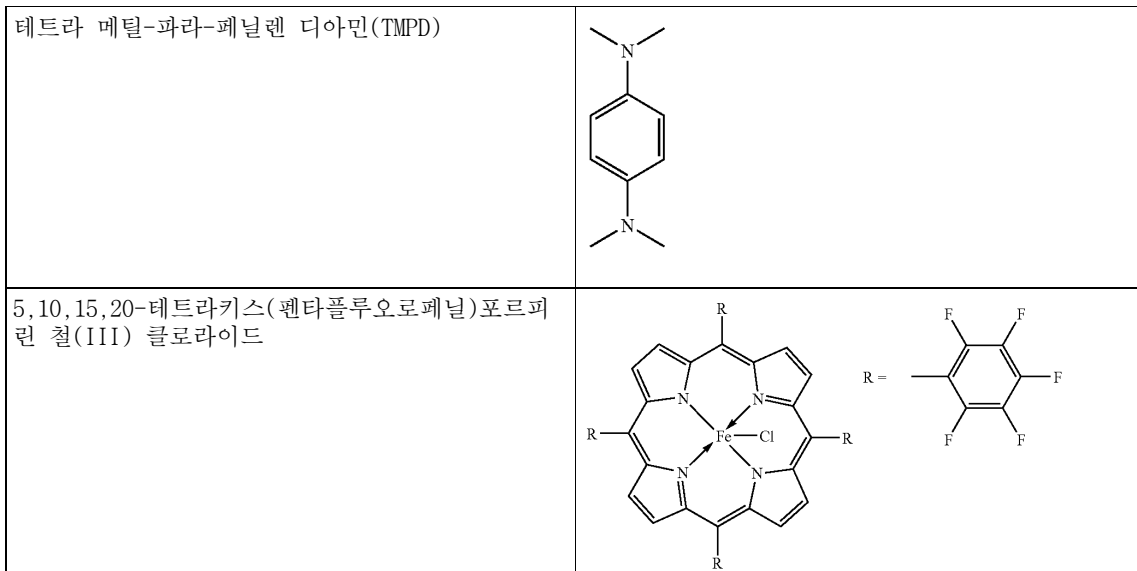
착색제	구조
알리자린 콤플렉손	

<p>알자린 레드 S</p>	
<p>피푸린</p>	
<p>알리자린</p>	
<p>에모딘</p>	
<p>아미노-4-히드록시안트라퀴논</p>	
<p>뉴클리어 패스트 레드</p>	
<p>클로로페놀 레드</p>	
<p>레마졸 브릴리언트 블루 R</p>	



[0148]

착색제	구조
<p>페놀프탈레인</p>	
<p>닌히드린</p>	
<p>니트로 블루 테트라졸리움</p>	
<p>오르세인</p>	
<p>셀레스틴 블루</p>	



[0149] 실시예 1

[0150] 여러 가지 착색제들을 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 이.콜라이(*E. coli*) 및 씨.알비칸스(*C. albicans*) 미생물의 존재하에 색 변화를 일으키는 능력에 대해 시험하였다. 시험된 착색제들은 라이하르트 염료, 1-도코실-4-(4-히드록시스티릴)피리디니움 브로마이드, 3-에틸-2-(2-히드록시-1-프로페닐)-벤조티아졸리움 클로라이드, 4-[(1-메틸-4(1H)-피리디닐리덴)에틸리덴]-2,5-시클로헥사디엔-1-온 하이드레이트, N,N-디메틸인도아닐린, 퀴날리자린, 메로시아닌 540, 에리오크롬® 블루 SE(플라스모코린스 B), 페놀 레드, 나일 블루 A, 1-(4-히드록시페닐)-2,4,6-트리페닐피리디니움 히드록시드 분자내염 하이드레이트, 아조메틴-H 모노소듐염 하이드레이트, 인디고 카민, 메틸렌 바이올렛, 에리오크롬® 블루 블랙 B, 비에브리치 스칼렛산 폭신 용액, 메틸렌 블루, 나일 레드, 트립판 블루, 사프라닌 O, 크리스탈 바이올렛, 메틸 오렌지 및 크롬 아주를 S이었다.

[0151] 달리 명시하지 않는 한, 착색제들은 디메틸포름아미드(DMF)에 용해되었다. 그 다음 착색제 용액을 15cm 필터 페이퍼(VWR International - Catalog No. 28306-153)상에서 파이펫팅하고 건조하였다. 상기 필터 페이퍼를 4등분으로 나누어 4개의 시료, 즉, 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 이.콜라이(*E. coli*), 씨.알비칸스(*C. albicans*) 및 멸균수를 시험하였다. 100마이크로리터의 *S. aureus* 10⁷ CFU/mL을 첫번째 4분면의 필터 페이퍼상에서 파이펫팅하고, 100마이크로리터의 *E. coli* 10⁷ CFU/mL을 두번째 4분면의 필터 페이퍼상에서 파이펫팅하고, 100마이크로리터의 *C. albicans* 10⁶ CFU/mL을 세번째 4분면의 필터 페이퍼상에서 파이펫팅하고, 그리고 멸균수를 마지막 4분면에서 파이펫팅하였다. 착색제의 색 변화를 관찰하고, 시험된 각 시료에 대해 기록하였다. 시료가 건조됨에 따라 색이 바래지는 것(또는 농도의 감소)을 억제하기 위해 색 변화 직후 색을 기록하였다. 표 2는 실험 관찰 결과를 나타낸다.

[0152] 표 2. 착색제 색 변화의 관찰(그룹 1)

[0153]

착색제	초기 색	색 변화 (<i>S. aureus</i>)	색 변화 (<i>E. coli</i>)	색 변화 (<i>C. albicans</i>)	색 변화 (멸균수)
라이하르트 염료	파란색	무색	무색	무색	무변화
1-도코실-4-(4-히드록시스티릴)피리디니움 브로마이드	노란색	매우 옅은 오렌지	옅은 오렌지	옅은 오렌지	매우 옅은 오렌지
3-에틸-2-(2-히드록시-1-프로페닐)-벤조티아졸리움 클로라이드	백색.크림	무변화	무변화	무변화	무변화

4-[(1-메틸-4(1H)-피리디닐리덴)에틸리덴]-2,5-시클로헥사디엔-1-온 하이드레이트	연한 노란색	무변화	무변화	무변화	무변화
N,N-디메틸인도아닐린	회색	엷은 분홍색	매우 엷은 분홍색	매우 엷은 분홍색	무변화
퀴날리자린	복숭아빛	노란색	엷은 자주색	자주색	무변화
메로시아닌 540	강한 분홍색	연한 자주색	노란빛을 띤 분홍색	보다 진한 노란빛을 띤 분홍색	빨간빛을 띤 분홍색
에리오크롬® 블루 SE (플라스모코린스 B)	진한 분홍색	매우 엷은 자주색	자주색	진한 자주색	진한 분홍색 가장 자리를 가진 보다 연한 분홍색(용해)
페놀 레드	노란색	오렌지 가장 자리를 가진 노란색	오렌지	진한 빨강/오렌지	오렌지 가장 자리를 가진 녹색

[0154]

착색제	초기 색	색 변화 (<i>S. aureus</i>)	색 변화 (<i>E. coli</i>)	색 변화 (<i>C. albicans</i>)	색 변화 (멸균수)
나일 블루 A	파란색	분홍색	분홍색	분홍색	무변화
1-(4-히드록시페닐)-2,4,6-트리페닐피리디니움 히드록시드 분자 내염 하이드레이트	노란색	무변화	무변화	무변화	무변화
아조메틴-H 모노소디움염 하이드레이트	노랑/복숭아빛	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)
인디고 카민	연한 파란색	보다 진한 밝은 파란색	보다 진한 밝은 파란색	보다 진한 밝은 파란색	보다 진한 가장 자리를 가진 연한 파란색(용해)
메틸렌 바이올렛	진한 청/보라색	보다 진한 파란색	보다 진한 파란색	보다 진한 파란색	무변화
에리오크롬® 블루 블랙 B	어두운 탁한 자줏빛	보다 연한 탁한 자줏빛	진한 자줏빛	진한 파란색	보다 어두운 탁한 자줏빛
비에브리치 스칼렛 산 쪽신 용액	밝은 빨간색	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)	보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)
메틸렌 블루*	밝은 파란색	무변화	무변화	무변화	무변화
나일 레드	밝은 자줏빛	연한 분홍색	연한 분홍색	연한 분홍색	엷은 분홍색
트립판 블루*	진한 파란색	무변화	무변화	무변화	희미하게 보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)
사프란인 0	밝은 연어살빛	연어살빛 가장 자리를 가진 노란색	연어살빛 가장 자리를 가진 노란색	연어살빛 가장 자리를 가진 노란색	연어살빛 가장 자리를 가진 분홍색
크리스탈 바이올렛	진한 파란색	무변화	무변화	무변화	희미하게 보다 연하며, 가장 자리는 보다 진함(용해)
메틸 오렌지	밝은 오렌지	노란색	노란색	노란색	진한 오렌지 가장 자리를 가진 보다 연한 오렌지(용해)
크롬 아주롤 S	분홍색	진한 오렌지 가장 자리를 가진 연한 오렌지	진한 분홍색 가장 자리를 가진 연한 노란색	진한 분홍색 가장 자리를 가진 보다 밝은 노란색	진한 분홍색 가장 자리를 가진 연한 분홍색

[0155]

* 물에 용해됨

[0156] 메틸 오렌지, 나일 레드 및 메로시아닌 540을 제외하고, 관찰된 색 변화는 거의 즉시 일어났다(1-2분).

[0157] **실시예 2**

[0158] 여러 가지 착색제들을 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 이.콜라이(*E. coli*) 및 씨.알비칸스(*C. albicans*) 미생물의 존재하에 색 변화를 일으키는 능력에 대해 시험하였다. 시험된 착색제들은 루코크리스탈 바이올렛, 루코말라키트 그린, 루코 자일렌 시아놀 FF, 4,5-디히드록시-1,3-벤젠디설포산 디소듐염 모노하이드레이트, 5-시아노-2-[3-(5-시아노-1,3-디에틸-1,3-디히드로-2H-벤즈이미다졸-2-일리덴)-1-프로페닐]-1-에틸-3-(4-설포부틸)-1H-벤즈이미다졸리움 히드록시드 분자내염, 액시드 그린 25, 배쏘페난트롤린디설포산 디소듐염 트리하이드레이트, 카미닉산, 셀레스틴 블루, 헤마톡실린, 브로모페놀 블루, 브로모티몰 블루, 로즈 벵갈, 유니버설 인디케이터(0-5), 및 유니버설 인디케이터(3-10)이었다. 달리 명시하지 않는 한, 착색제들은 디메틸포름아미드(DMF)에 용해되었다. 실시예 1에 기술된 바와 같이 VWR 필터 페이퍼 및 착색제들을 준비하였다. 표 3은 실험 관찰 결과를 나타낸다.

[0159] 표 3. 착색제 색 변화의 관찰(그룹 2)

[0160]

착색제	초기 색	색 변화 (<i>S. aureus</i>)	색 변화 (<i>E. coli</i>)	색 변화(<i>C. albicans</i>)	색 변화 (평균수)
루코크리스탈 바이올렛	백색	파란색	파란색	파란색	무변화
루코말라키트 그린	백색	녹색	녹색	녹색	무변화
루코 자일렌 시아놀 FF	백색	무변화	무변화	무변화	무변화
4,5-디히드록시-1,3-벤젠디설포산 디소듐염 모노하이드레이트*	백색	무변화	무변화	무변화	무변화
5-시아노-2-[3-(5-시아노-1,3-디에틸-1,3-디히드로-2H-벤즈이미다졸-2-일리덴)-1-프로페닐]-1-에틸-3-(4-설포부틸)-1H-벤즈이미다졸리움 히드록시드 분자내염	밝은 빨강 분홍색	어두운 분홍색	어두운 자줏빛을 띤 분홍색	어두운 녹색빛을 띤 분홍색	어두운 분홍색 가장자리를 가진 보다 연한 분홍색(용해)
액시드 그린 25	녹색	보다 연한 녹색이며, 가장자리는 보다 어두운 녹색(용해)	보다 연한 녹색이며, 가장자리는 보다 어두운 녹색(용해)	보다 연한 녹색이며, 가장자리는 보다 어두운 녹색(용해)	보다 연한 녹색이며, 가장자리는 보다 어두운 녹색(용해)
배쏘페난트롤린디설포산 디소듐염 트리하이드레이트**	백색	무변화	무변화	무변화	무변화
카미닉산*	빨강 아빛	얇은 자줏빛	자줏빛	진한 자줏빛	보다 연한 복숭아빛을 가지며, 가장자리는 보다 진한 복숭아빛(용해)
셀레스틴 블루	진한 라벤더	파란색	파란색	파란색	파란색
헤마톡실린	연한 노랑색	무변화	연한 자줏빛	진한 자줏빛	연한 노랑색이며, 가장자리는 보다 진한 노랑색(용해)
브로모페놀 블루	밝은 노랑색	진한 파란색	진한 파란색	진한 파란색	오렌지빛 가장자리를 가진 보다 연한 노랑색(용해)
브로모티몰 블루	노랑색	보다 연한 노랑색이며, 가장자리는 보다 진한 노랑색	밝은 녹색	보다 진한 녹색	매우 연한 노랑/백색이며, 가장자리는 보다 진한 노랑색
로즈 벵갈	핫 핑크	보다 진한 분홍색	자줏빛 분홍색	빨간빛 분홍색	진한 분홍색 가장자리를 가진 백색(용해)
유니버설 인디케이터(0-5)	노란빛 녹색	노란빛 파란색	노란빛 파란색	노란빛 파란색	진한 녹색 가장자리를 가진 보다 연한 녹색(용해)

유니버설 인디케이터(3-10)	복숭아색	분홍빛 색	복숭아	오렌지빛 색	노란	노란색	진한 분홍색
------------------	------	----------	-----	-----------	----	-----	--------

[0161] * 물에 용해됨

[0162] ** DMF 및 물에 용해됨

[0163] 루코크리스탈 바이올렛, 루코말라키트 그린 및 루코 자일렌 시아놀 FF를 제외하고 관찰된 색 변화는 거의 즉시 일어났다(1-2분).

[0164] **실시예 3**

[0165] 여러 가지 착색제들을 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 이.콜라이(*E. coli*) 및 씨.알비칸스(*C. albicans*) 미생물의 존재하에 색 변화를 일으키는 능력에 대해 시험하였다. 시험된 착색제들은 알리자린 킴플렉손, 알리자린 레드 S, 퍼퓨린, 알리자린, 에모딘, 아미노-4-히드록시안트라퀴논, 뉴클리어 페스트 레드, 클로로페놀 레드, 레마졸 브릴리언트 블루 R, 프로시온 블루 HB, 페놀프탈레인, 테트라페닐포핀, 테트라-*o*-설펜산 및 닌히드린이었다. 달리 명시하지 않는 한, 착색제들은 디메틸포름아미드(DMF)에 용해되었다. 실시예 1에 기술된 바와 같이 VWR 필터 페이퍼 및 착색제들을 준비하였다. 표 4는 실험 관찰 결과를 나타낸다.

[0166] 표 4. 착색제 색 변화의 관찰(그룹 3)

[0167]

착색제	초기 색	색 변화 (<i>S. aureus</i>)	색 변화 (<i>E. coli</i>)	색 변화(<i>C. albicans</i>)	색 변화 (평균수)
알리자린 킴플렉손	노란색	갈색	빨간빛 자주색	자주색	무변화
알리자린 레드 S	노란색	오렌지빛 갈색	분홍빛 자주색	자주색	보다 연한 노란색이며, 가장자리는 보다 진한 노란색(용해)
퍼퓨린	복숭아빛 오렌지	보다 진한 복숭아빛 오렌지	빨간빛 분홍색	보다 진한 빨간빛 분홍색	노란빛 복숭아색
알리자린	버터 옐로우	무변화	연한 갈색	자주빛 갈색	녹색빛 버터 옐로우
에모딘	노란색	무변화	얇은 녹색빛 오렌지	보다 진한 녹색빛 오렌지	녹색빛 노란색
아미노-4-히드록시안트라퀴논	분홍색	보다 연한 분홍색	약간 보다 연한 분홍색	희미하게 보다 얇은 분홍색	보다 진한 분홍색
뉴클리어 페스트 레드	빨간빛 분홍색	보다 진한 빨간빛 분홍색	노란빛 분홍색	노란빛 분홍색	진한 분홍색
클로로페놀 레드	오렌지빛 노란색	갈색	진한 빨간빛 자주색	진한 빨간빛 자주색	보다 연한 오렌지빛 노란색이며, 가장자리는 보다 진함(용해)
레마졸 브릴리언트 블루 R	밝은 파란색	보다 연한 파란색이며, 가장자리는 진한 파란색(용해)	보다 연한 파란색이며, 가장자리는 진한 파란색(용해)	보다 연한 파란색이며, 가장자리는 진한 파란색(용해)	보다 연한 파란색이며, 가장자리는 진한 파란색(용해)
프로시온 블루 HB	암회색을 띤 녹색	무변화	무변화	희미하게 보다 진한 암회색	보다 연한 암회색이며, 가장자리는 보다 진함(용해)
페놀프탈레인	백색	무변화	무변화	무변화	무변화
테트라페닐포핀, 테트라- <i>o</i> -설펜산	검은색	보다 진한 가장자리를 가진 회색(용해)	보다 진한 가장자리를 가진 회색(용해)	보다 진한 가장자리를 가진 회색(용해)	보다 진한 가장자리를 가진 회색(용해)
닌히드린	백색	진한 자주색	진한 자주색	약간 보다 밝은 자주색	무변화

[0168] 관찰된 색 변화는 거의 즉시 일어났다(1-2분).

[0169] **실시예 4**

[0170] 실시예 1-3의 착색제를 이용하여 여러 가지 그람-양성 및 그람-음성 미생물을 신속히 검출하는 능력이 입증되었다. 플라스모코린트 B, 니트로 블루, 알리자린 컴플렉손, 오르세인, 테트라 메틸-파라-페닐렌 디아민(TMPD), 나일 레드, 에리오크롬 블루 블랙 B, 페놀 레드, 알리자린 레드 S, 카믹닉산, Fe(III)C₃, 셀레스틴 블루, 코박 시약, 크롬 아주롤 S, 유니버설 인디케이터 3-10, 메틸 오렌지, 메로시아닌 540 및 철 III 클로라이드 포피린을 포함하는 부가적인 착색제가 또한 시험되었다. 시험된 그람-양성 미생물은 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 엘. 액시도필러스(*L. acidophilus*), 에스. 에피더미디스(*S. epidermidis*), 비. 서브틸리스(*B. subtilis*) 및 이. 페칼리스(*E. faecalis*)이었다. 시험된 그람-음성 미생물은 이. 콜라이(*E. coli*), 피. 에루지노사(*P. aeruginosa*), 케이. 뉴모니아에(*K. pneumoniae*) 및 피. 미라빌리스(*P. mirabilis*)이었다.

[0171] 착색제 시료는 실시예 1과 동일한 방식으로 제조하였다. 달리 명시하지 않는 한, 착색제들은 디메틸포름아미드(DMF)에 용해되었다. 각 착색제 용액을 두개의 분리된 조각의 VWR 필터 페이지상에서 파이펫팅하고 건조하였다. 건조된 착색제를 함유하는 하나의 필터 페이지 시료를 대략 5개의 균등 분할로 나누어 상기 5가지 그람-양성 미생물에 대해 시험하였다. 다른 하나의 필터 페이지 시료는 4등분으로 나누어 상기 4가지 그람-음성 미생물에 대해 시험하였다. 100마이크로리터의 각 미생물 시료 10⁷ CFU/mL을 이들의 각 필터 페이지 시료의 각 분할에 파이펫팅하였다. 표 5는 그람 양성 미생물로부터의 관찰 결과를 나타내며, 그리고 표 6은 그람 음성 미생물로부터의 관찰 결과를 나타낸다.

[0172] 표 5. 그람 양성 미생물에 대한 색 변화 관찰

[0173]

착색제	초기 색	색 변화(<i>B. subtilis</i>)	색 변화(<i>S. aureus</i>)	색 변화(<i>S. epidermidis</i>)	색 변화(<i>E. faecalis</i>)	색 변화(<i>L. acidophilus</i>)
플라스모코린트 B	진한 분홍색	자줏빛을 띤 분홍색	매우 연한 자줏빛을 띤 분홍색	보다 진한 분홍색	빨간 빛을 띤 분홍색	보다 진한 빨간 색을 띤 분홍색
니트로 블루 테트라졸리움	노란색을 띤 백색	무변화	무변화	무변화	무변화	무변화
알리자린 컴플렉손	노란색	갈색빛을 띤 빨간색	보다 연한 갈색빛을 띤 간색	보다 연한 갈색빛을 띤 간색	보다 연한 갈색빛을 띤 빨간색	갈색빛을 띤 노란색
오르세인	흐린 자주색	연한 자주색	보다 연한 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색
테트라 메틸-파라-페닐렌 디아민(TMPD)*	밝은 라벤더	무색	무색	시험되지 않음	시험되지 않음	무색
나일 레드	밝은 자주색	연한 분홍색	연한 분홍색	연한 분홍색	연한 분홍색	연한 분홍색
에리오크롬 블루 블랙 B	진한 흐린 자주색	푸른빛을 띤 자주색	보다 연한 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색
페놀 레드	노란색	노란 중심을 가진 오렌지 색	오렌지 가장 자리를 가진 노란색	오렌지 가장 자리를 가진 노란색	오렌지 가장 자리를 가진 노란색	오렌지 가장 자리를 가진 녹색빛을 띤 노란색

[0174]

착색제	초기 색	색 변화(<i>B. subtilis</i>)	색 변화(<i>S. aureus</i>)	색 변화(<i>S. epidermidis</i>)	색 변화(<i>E. faecalis</i>)	색 변화(<i>L. acidophilus</i>)
-----	------	----------------------------	--------------------------	-------------------------------	----------------------------	-------------------------------

알리자린 레드 S	노란색	갈색빛을 띤 분홍색	연한 갈색	연한 갈색	연한 갈색	연한 녹색빛을 띤 갈색
카믹닉산*	빨간빛을 띤 복숭아색	엷은 자주색	보다 엷은 자주색	보다 엷은 자주색	자줏빛 복숭아색	노란빛을 띤 복숭아색
Fe(III)C ₃	백색	무변화	무변화	시험되지 않음	시험되지 않음	무변화
셀레스틴 블루	진한 라벤더색	파란색	파란색	파란색	파란색	파란색
코박 시약	엷은 노란색	백색이며, 가운데는 녹색 빛을 띠고 가장자리는 노란빛을 띤	백색이며, 가운데는 녹색 빛을 띠고 가장자리는 노란빛을 띤	백색이며, 가운데는 녹색 빛을 띠고 가장자리는 노란빛을 띤	백색이며, 가운데는 녹색 빛을 띠고 가장자리는 노란빛을 띤	백색이며, 가운데는 녹색 빛을 띠고 가장자리는 노란빛을 띤
크롬 아주롤 S	분홍색	엷은 노란색이며, 가장자리는 빨간빛을 띤	연한 오렌지색이며, 가장자리는 진한 오렌지색을 띤	연한 노란빛을 띤 오렌지색이며, 가장자리는 진한 오렌지색을 띤	연한 오렌지색이며, 가장자리는 진한 오렌지색을 띤	연한 빨간색이며, 가장자리는 진한 빨간색을 띤
유니버설 인디케이터 3-10	복숭아색	보다 연한 복숭아색이며, 가운데는 노란색임	보다 연한 복숭아색이며, 가운데는 노란색임	보다 연한 복숭아색이며, 가운데는 노란색임	보다 연한 복숭아색	빨간색
메틸 오렌지	밝은 오렌지	노란색	노란색	노란색	노란색	노란색
메로시아닌 540	핫 핑크	연한 자주색	연한 자주색	연한 자주색	연한 자주색	연한 자주색
철 III 클로라이드 포피린*	연한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색

[0175] * 물에 용해됨

[0176] 표 6. 그람 음성 미생물에 대한 색 변화 관찰

착색제	초기 색	색 변화(<i>E. coli</i>)	색 변화(<i>P. aeruginosa</i>)	색 변화(<i>K. pneumoniae</i>)	색 변화(<i>P. mirabilis</i>)
플라스모코린트 B	진한 분홍색	연한 자주색	진한 파란색	진한 빨간빛을 띤 분홍색	진한 빨간빛을 띤 분홍색
니트로 블루 테트라졸리움	노란빛을 띤 백색	무변화	무변화	무변화	무변화
알리자린 컴플렉손	노란색	자주색	진한 자주색	갈색빛을 띤 자주색	자주색
오르세인	흐린 자주색	연한 자주색	진한 분홍색	갈색빛을 띤 자주색	보다 진한 갈색 빛을 띤 자주색
테트라 메틸-파라-페닐렌 디아민(TMPD)*	밝은 라벤더색	무색	진한 자주색	무색	무색
나일 레드	밝은 자주색	연한 분홍색	연한 분홍색	연한 분홍색	연한 분홍색
에리오크롬 블루 블랙 B	어두운 흐린 자주색	푸른빛을 띤 자주색	진한 파란색	보다 진한 자주색	보다 진한 자주색
페놀 레드	노란색	오렌지	진한 레드/오렌지	오렌지색 가장자리를 가진 노란색	오렌지
알리자린 레드 S	노란색	갈색빛을 띤 자주색	진한 빨간빛을 띤 자주색	연한 갈색빛을 띤 자주색	진한 빨간빛을 띤 자주색
카믹닉산*	빨간빛을 띤 복숭아색	파란빛을 띤 자주색	진한 자주색	보다 엷은 파란 빛을 띤 자주색	자주색
Fe(III)C ₃	백색	무변화	무변화	시험되지 않음	무변화
셀레스틴 블루	진한 라벤더색	파란색	파란색	파란색	파란색

[0178]

착색제	초기 색	색 변화(<i>E. coli</i>)	색 변화(<i>P. aeruginosa</i>)	색 변화(<i>K. pneumoniae</i>)	색 변화(<i>P. mirabilis</i>)
코박 시약	옅은 노란색	백색이며, 가운데는 녹색빛을 띠고 가장자리는 노란색을 띤다	백색이며, 가운데는 녹색빛을 띠고 가장자리는 노란색을 띤다	백색이며, 가운데는 녹색빛을 띠고 가장자리는 노란색을 띤다	백색이며, 가운데는 녹색빛을 띠고 가장자리는 노란색을 띤다
크롬 아주롤 S	분홍색	녹색빛을 띤 노란색이며, 가장자리는 진한 분홍색	밝은 노란색이며, 가장자리는 진한 분홍색	녹색빛을 띤 노란색이며, 가장자리는 진한 분홍색	녹색빛을 띤 노란색이며, 가장자리는 진한 분홍색
유니버설 인디케이터 3-10	복숭아색	보다 연한 복숭아색이며, 가운데는 노란색	연한 녹색	보다 진한 복숭아색이며, 가운데는 노란색	보다 연한 복숭아색이며, 가운데는 노란색
메틸 오렌지	밝은 오렌지	노란색	노란색	노란색	오렌지/노란색
메로시아닌 540	핫 핑크	노란빛을 띤 분홍색	노란빛을 띤 분홍색	노란빛을 띤 분홍색	노란빛을 띤 분홍색
철 III 클로라이드 포피린*	겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색	보다 진한 겨자빛을 띤 노란색

[0179] * 물에 용해됨

[0180] 메틸 오렌지, 나일 레드, 테트라 메틸-파라-페닐렌 디아민(TMPD) 및 메로시아닌 540을 제외하고, 관찰된 색 변화는 역시 거의 즉시 일어났다(1-2분).

[0181] **실시예 5**

[0182] 일 그룹의 착색제를 이용하여 보다 상위의 호흡기 병원균을 신속히 검출하는 능력이 입증되었다. 시험된 착색제들은 알리자린 레드 S, 유니버설 인디케이터 3-10, 나일 레드, 플라스모코린스 B, 철 III 포피린, 에리오크롬 블루 블랙 B, 크롬 아주롤 S, 오르세인, 알리자린 컴플렉손, 페놀 레드, 카미닉산, 메틸 오렌지 및 TMPD이었다. 시험된 보다 상위의 호흡기 감염 병원균은 에이치. 인플루엔자에(*H. influenzae*), 엠. 라쿠나타(*M. lacunata*), 에스. 피오제네스(*S. pyogenes*), 에스. 뉴모니아에(*S. pneumoniae*), 에이. 풀루란스(*A. pullulans*) 및 피. 잔티넬럼(*P. janthinellum*)이었다. 착색제 시료는 실시예 1과 동일한 방식으로 제조되었다. 달리 언급하지 않는한, 착색제는 디메틸포름아미드(DMF)에 용해되었다. 시험된 각 시료에 대해 착색제 색 변화를 관찰하고 기록하였다. 표 7은 상위 호흡기 감염 병원균에 대한 관찰 결과를 나타낸다.

[0183] 표 7. 상위 호흡기 감염 병원균에 대한 색 변화

[0184]

착색제	초기 색	색 변화(<i>H. influenzae</i>)	색 변화(<i>M. lacunata</i>)	색 변화(<i>S. pyogenes</i>)	색 변화(<i>S. pneumoniae</i>)	색 변화(<i>A. pullulans</i>)	색 변화(<i>P. janthinellum</i>)
알리자린 레드 S	진한 겨자 노란색	빨간색	갈색빛을 띤 빨간색	연한 갈색	연한 갈색	밝은 갈색빛을 띤 노란색	밝은 갈색빛을 띤 노란색
유니버설 인디케이터 3-10	진한 복숭아색	녹색빛을 띤 노란색	녹색빛을 띤 노란색	녹색빛을 띤 노란색	녹색빛을 띤 노란색	보다 진한 복숭아색	보다 진한 복숭아색
나일 레드	밝은 자주색	분홍색	분홍색	분홍색	분홍색	진한 분홍색	진한 분홍색
플라스모코린스 B	밝은 분홍색	파란빛을 띤 자주색	보다 진한 파란빛을 띤 자주색	진한 분홍색	진한 분홍색	보다 연한 밝은 분홍색	보다 연한 밝은 분홍색
철 III 포피린*	겨자 노란색	보다 진한 겨자 노란색	보다 진한 겨자 노란색	보다 진한 겨자 노란색	보다 진한 겨자 노란색	보다 진한 겨자 노란색	보다 진한 겨자 노란색

에리오크롬 블루 블랙 B	포도색	진한 파란색	진한 파란색	진한 포도빛을 띤 분홍색	진한 포도빛을 띤 분홍색	진한 포도색	진한 포도색
크롬 아주롤 S	연한 오렌지색	진한 빨간색 가장자리를 가진 연한 녹색	진한 빨간색 가장자리를 가진 연한 녹색	갈색빛을 띤 빨간색이며, 가장자리는 진한 빨간색	갈색빛을 띤 빨간색이며, 가장자리는 진한 빨간색	연한 분홍색이며, 가장자리는 진한 빨간색	연한 분홍색이며, 가장자리는 진한 빨간색
오르세인	흐린 자주색	밝은 자주색	밝은 자주색	파란빛을 띤 흐린 자주색	보다 진한 흐린 자주색	보다 연한 흐린 자주색	보다 연한 흐린 자주색
알리자린 컵 플렉손	노란색	빨간빛을 띤 자주색	자주색	갈색	갈색	노란색	노란색
페놀 레드	오렌지빛을 띤 노란색	오렌지빛을 띤 빨간색	밝은 빨간색	녹색빛을 띤 노란색	녹색빛을 띤 노란색	밝은 노란색	밝은 노란색
카미닌산*	밝은 복숭아색	자주색	진한 자주색	갈색빛/자줏빛을 띤 복숭아색	갈색빛/자줏빛을 띤 복숭아색	보다 밝은 복숭아색	보다 밝은 복숭아색
메틸 오렌지	진한 오렌지색	노란색	노란색	노란색	노란색	갈색빛을 띤 노란색	갈색빛을 띤 노란색
TMPD*	노란색	백색	자주색	시험되지 않음	분홍색	시험되지 않음	시험되지 않음

[0185] * 물에 용해됨

[0186] 메틸 오렌지, 나일 레드 및 테트라메틸-파라-페닐렌 디아민(TMPD)을 제외하고, 관찰된 색 변화는 거의 즉시 일어났다(1-2분).

[0187] **실시예 6**

[0188] 필터 페이퍼(VWR International에서 구입가능)에 크롬 아주롤, 알리자린 컵플렉손, 플라스모코린스 B, 및 페놀 레드(모두 DMF에 용해됨)를 처리하였다. 시료들이 겹쳐서 건조하여 용매를 증발시켰다. 씨. 알비칸스(*C. albicans*), 이. 콜라이(*E. coli*), 및 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 용액을 트립티케이즈 소이빈 브로쓰(TSB) 배지를 이용하여, 일부 경우에는 멸균수를 이용하여 10배로 희석하였다. *E. coli* 및 *S. aureus*에 대해 농도를 10⁸ CFU/mL(스톡 용액)에서 10¹ CFU/mL 범위로 낮추고, *C. albicans*에 대해서는 10⁷ CFU/mL(스톡 용액)에서 10¹ CFU/mL 범위로 낮추었다. TSB 및 물은 컨트롤 용액으로 사용되었다. 각 용액의 100 µL 분액을 상기 시료에 적용하였다. 색 변화를 표 8-12에 요약하였다.

[0189] 표 8. TSB 배지에서 씨. 알비칸스(*C. albicans*)의 희석에 대한 반응

[0190]

염료	초기 색	10 ⁶ CFU/ml	10 ⁵ CFU/ml	10 ⁴ CFU/ml	10 ³ CFU/ml	10 ² CFU/ml	10 ¹ CFU/ml	TSB 컨트롤
페놀 레드	밝은 노란색	오렌지색	약간 진한 보라색	보다 진한 보라색	약간 진한 보라색	보다 진한 보라색	약간 진한 보라색	진한 오렌지색
플라스모코린스 B	밝은 분홍색	자줏빛을 띤 파란색	약간 진한 자줏빛을 띤 파란색	보다 진한 자줏빛을 띤 파란색	약간 진한 자줏빛을 띤 파란색	보다 진한 자줏빛을 띤 파란색	약간 진한 자줏빛을 띤 파란색	진한 오렌지빛을 띤 파란색
알리자린 컵플렉손	밝은 노란색	갈색빛을 띤 자주색	약간 진한 갈색빛을 띤 자주색	보다 진한 갈색빛을 띤 자주색	약간 진한 갈색빛을 띤 자주색	보다 진한 갈색빛을 띤 자주색	약간 진한 갈색빛을 띤 자주색	진한 갈색빛을 띤 자주색
크롬 아주롤	장미색	녹색빛을 띤 노란색	약간 진한 보라색	보다 진한 보라색	약간 진한 보라색	보다 진한 보라색	약간 진한 보라색	노란빛을 띤 녹색

[0191] 표 9. TSB 배지에서 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 회석에 대한 반응

[0192]

염료	초기 색	10 ⁸ CFU/ml (무회석)	10 ⁷ CFU/ml	10 ⁶ CFU/ml	10 ⁵ CFU/ml	10 ⁴ CFU/ml	10 ³ CFU/ml	10 ² CFU/ml	TSB 컨트롤
페놀 레드	밝은 노란색	밝은 노란색	오렌지색	약간 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	진한 오렌지색
플라스모코린스 B	밝은 분홍색	밝은 자주빛을 띤 분홍색	자주빛을 띤 파란색	약간 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	진한 자주빛을 띤 파란색
알리자린 킴플렉손	밝은 노란색	연한 갈색	갈색빛을 띤 자주색	약간 진한 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	진한 갈색 띤 자주색
크롬 아주롤	장미색	갈색빛을 띤 노란색	녹색빛을 띤 노란색	약간 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	노란빛을 띤 녹색

[0193] 표 10. 물에서 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 회석에 대한 반응

[0194]

염료	초기 색	10 ⁷ CFU/ml (H ₂ O내에서)	물 컨트롤
페놀 레드	밝은 노란색	N/A	연한 노란색
플라스모코린스 B	밝은 분홍색	밝은 분홍색	연한 분홍색
알리자린 킴플렉손	밝은 노란색	엷은 노란색	엷은 노란색
크롬 아주롤	장미색	녹색빛을 띤 빨강-분홍색	연한 빨강-분홍색

[0195] 표 11. TSB 배지에서 이. 콜라이(*E. coli*)의 회석에 대한 반응

[0196]

염료	초기 색	10 ⁸ CFU/ml (무회석)	10 ⁷ CFU/ml	10 ⁶ CFU/ml	10 ⁵ CFU/ml	10 ⁴ CFU/ml	10 ³ CFU/ml	10 ² CFU/ml	TSB 컨트롤
페놀 레드	밝은 노란색	연한 오렌지색	오렌지색	약간 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	약간 보다 진한 오렌지색	진한 오렌지색
플라스모코린스 B	밝은 분홍색	분홍빛을 띤 자주색	자주빛을 띤 파란색	약간 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	약간 보다 진한 자주빛을 띤 파란색	진한 자주빛을 띤 파란색
알리자린 킴플렉손	밝은 노란색	자줏빛을 띤 갈색	갈색빛을 띤 자주색	약간 진한 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	약간 보다 진한 갈색 띤 자주색	진한 갈색 띤 자주색
크롬 아주롤	장미색	연한 녹색	녹색빛을 띤 노란색	약간 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	약간 보다 진한 녹색 띤 노란색	노란빛을 띤 녹색

[0197] 표 12. 물에서 이. 콜라이(*E. coli*)의 회석에 대한 반응

[0198]

염료	초기 색	10 ⁷ CFU/ml(H ₂ O내에서)	물 컨트롤
페놀 레드	밝은 노란색	오렌지빛을 띤 노란색	연한 노란색
플라스모코린스 B	밝은 분홍색	밝은 분홍색	연한 분홍색
알리자린 킴플렉손	밝은 노란색	갈색빛을 띤 노란색	얇은 노란색
크롬 아주롤	장미색	진한 녹색	연한 빨강-분홍색

[0199]

따라서, 배지 단독과는 다른 색 변화가 미생물에 대해 관찰되었으나, 그 차이는 회석액에 대해서 다소 보다 미세하였다. 이론으로 한정하려는 것은 아니나, 회석액에 대한 보다 미세한 차이는 미생물이 배지를 컨디셔닝하는데 주어진 시간의 부족에 일부 기인한 것으로 사료된다(실험은 회석 직후에 수행되었다). 이와 대조적으로, 스탁용액은 배지내에 24시간동안 미생물을 함유하였다.

[0200]

본 발명은 이의 특정 구현과 관련하여 설명되었으나, 당업자는 상기 설명을 이해하는 경우에 이러한 구현의 변형, 변화 및 등가물을 쉽게 알 수 있을 것으로 인식될 것이다. 따라서, 본 발명의 범위는 첨부된 청구항 및 이의 어느 등가물인 것으로 평가되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0114]

당업자에게 본 발명의 최적 방식을 포함하는 본 발명의 전체적인 그리고 권능을 부여하는 명세는 하기 첨부된 도면을 레퍼런스로 포함하는 명세서의 나머지에 보다 특히 진술된다.

[0115]

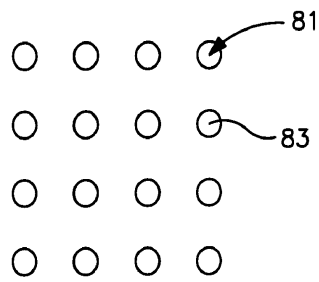
도 1은 이. 콜라이(*E. coli*)로 감염된 시료와 접촉하기 전(도 1A), 접촉한 후(도 1B), 그리고 S. 아루레우스(*S. aureus*)로 감염된 시료와 접촉한 후의 본 발명의 예시적인 어레이의 투시도이다.

[0116]

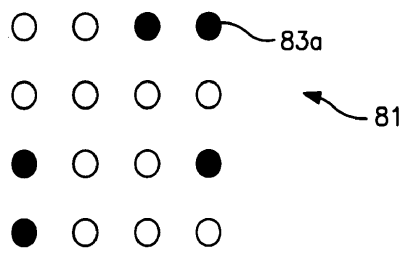
본 명세서 및 도면에서 참조기호의 반복 사용은 본 발명의 동일하거나 유사한 특징 또는 요소를 대표하는 것으로 의도된다.

도면

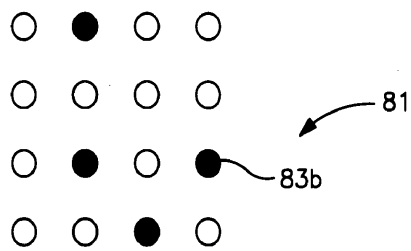
도면1



1A



1B



1C