

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6761751号
(P6761751)

(45) 発行日 令和2年9月30日 (2020.9.30)

(24) 登録日 令和2年9月9日 (2020.9.9)

(51) Int. Cl.	F I
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 Z

請求項の数 3 (全 28 頁)

(21) 出願番号	特願2016-247361 (P2016-247361)	(73) 特許権者	504407000
(22) 出願日	平成28年12月21日 (2016.12.21)		パロ アルト リサーチ センター イン
(65) 公開番号	特開2017-118872 (P2017-118872A)		コーポレイテッド
(43) 公開日	平成29年7月6日 (2017.7.6)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
審査請求日	令和1年12月20日 (2019.12.20)		304 パロ アルト カイオーテ ヒル
(31) 優先権主張番号	14/984, 739		ロード 3333
(32) 優先日	平成27年12月30日 (2015.12.30)	(74) 代理人	100086771
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 西島 孝喜
早期審査対象出願		(74) 代理人	100088694
			弁理士 弟子丸 健
		(74) 代理人	100094569
			弁理士 田中 伸一郎
		(74) 代理人	100067013
			弁理士 大塚 文昭
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 サーモクロミックセンシングデバイス、システム、および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1) 1つ以上の試験物質、1つ以上の生体物質、および1つ以上の試験位置に配設された前記1つ以上の生体物質により生成される熱に応答して反応する1つ以上のサーモクロミック材料を有する試験容器を受容するように構成されるコンパートメントを含むインキュベーションチャンバと、

2) 測定光を発光するように構成された1つ以上の光エミッタを含む測定光源と、

3) 前記測定光に応答して前記サーモクロミック材料から放射される光をセンシングするように構成される1つ以上のフォトセンシング素子を含む検出器サブシステムであって、前記検出器サブシステムが、前記サーモクロミック材料から放出する光のスペクトルについての情報を含む電気シグナルを提供するように構成され、前記放出光のスペクトルが、前記サーモクロミック材料の温度変化を生じる前記1つ以上の生体物質の代謝の指標であるサブシステムと

を含むシステム。

【請求項 2】

前記試験容器が標準試験プレートを含み、前記1つ以上の位置が前記試験プレートの試験ウェルを含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項 3】

前記電気シグナルに基づいて各試験位置での前記サーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを決定するように構成される分析器をさらに含む、請求項1に記載

のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、一般に、サーモクロミックセンシングを用いて物質を分析するためのデバイスならびに関連するシステムおよび方法に関する。

【背景技術】

【0002】

感受性試験は、例えば細菌、菌類などの生体物質の増殖を阻害するまたは死滅させる物質の有効性を決定するために行われる。場合によって感受性試験の目的は、抗生物質または他の薬剤治療の成功または失敗を予測することである。試験は、種々の薬剤タイプ、薬剤の組み合わせ、および/または薬剤濃度に対する特定微生物の増殖または増殖不足を決定するために試験容器にて行われる。感受性試験は一般に、制御された条件下で行われ、例えば特定タイプの細菌によって生じる感染を処置するために最も有効な薬剤タイプ、組み合わせおよび/または投与量を同定するために使用され得る。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

抗生物質試験のための感受性試験は、患者から得られた初代培養液からの細菌の二次培養液を増殖させることを含み得る。現在のところ、細菌の培養は、試験されている薬剤の測定可能な作用が検出可能となる前に、多くの複製サイクルを含んでいる。適切な治療が迅速に患者に送達できるように、感受性試験に必要なとされる時間を短縮することが望ましい。

20

【課題を解決するための手段】

【0004】

一部の実施形態によれば、方法は、試験容器の複数の試験位置にて1つ以上の生体物質を培養することを含む。試験位置は、サーモクロミック材料および1つ以上の試験物質を含む。試験位置のサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する。スペクトルシフトは、生体物質によるエネルギー変換の増減にตอบสนองして生じる。生体物質に対する1つ以上の試験物質の作用は、検出されたスペクトルシフトに基づいて決定される。

30

【0005】

一部の実施形態は、1つ以上の試験物質、1つ以上の生体物質、および1つ以上の試験位置に配設された生体物質に熱的に結合した1つ以上のサーモクロミック材料を有する試験容器を受容するように構成されたコンパートメントを含むインキュベーションチャンバを含むシステムを対象とする。1つ以上の光エミッタを含む測定光源は測定光を発光するように構成される。検出器サブシステムは、測定光にตอบสนองして、サーモクロミック材料から放射される光をセンシングするように構成された1つ以上のフォトセンシング素子を含む。検出器サブシステムは、サーモクロミック材料から放射される光のスペクトルについての情報を含む電気シグナルを提供する。放射された光のスペクトルは、サーモクロミック材料の温度変化を生じる1つ以上の生体物質のエネルギー変換を示す。

40

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】図1は、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシング試験容器の平面図である。

【図2】図2は、図1の試験容器の断面図である。

【図3】図3は、一部の実施形態に従ういくつかの試験ウェルの底部付近においてxおよびy方向に試験プレートにわたって延びる層に堆積されたサーモクロミック材料を含む試験プレートの断面図である。

【図4】図4は、一部の実施形態に従う試験培地内に配設されたサーモクロミック材料と

50

共に、少なくとも1つの生体物質を培養するための培地を含有するように構成された多数の位置を含む試験容器の断面図である。

【図5】図5は、一部の実施形態に従う相対的に平坦な基材上の領域内に生体物質を培養するのに適した培地を含有する位置を含む試験容器の断面ダイアグラムを示す。

【図6】図6は、一部の実施形態に従って相対的に平坦な基材上の領域内に生体物質を培養するのに適した培地を含有する位置を含む試験容器の断面ダイアグラムを示す。

【図7】図7は、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシング試験容器を製造するためのプロセスを示すフローダイアグラムである。

【図8】図8は、生体物質の同定のために構成されたサーモクロミックセンシング試験容器の断面図である。

10

【図9A】図9Aは、一部の実施形態に従うサーモクロミック温度センシング試験システムのブロックダイアグラムを示す。

【図9B】図9Bは、一部の実施形態に従う2つのカラーチャンネルを含むサーモクロミック温度センシング試験システムの一部のダイアグラムを示す。

【図10A】図10Aは、一部の実施形態に従うサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルにおけるシフトの存在および/または量を決定するために使用できる波長シフト検出器を概念的に示す。

【図10B】図10Bは、一部の実施形態に従う反射光および透過光の両方を検出する波長シフト検出器を概念的に示す。

【図11A】図11Aは、一部の実施形態に従うサーモクロミック試験プロセスを示すフローダイアグラムである。

20

【図11B】図11Bは、一部の実施形態に従うサーモクロミック試験プロセスを示すフローダイアグラムである。

【図12A】図12Aは、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシングを用いる熱光学抗菌剤感受性試験(TOAST)のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。

【図12B】図12Bは、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシングを用いる熱光学抗菌剤感受性試験(TOAST)のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。

【図13A】図13Aは、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシングを用いる細菌同定および熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。

30

【図13B】図13Bは、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシングを用いる細菌同定および熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。

【図13C】図13Cは、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシングを用いる細菌同定および熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。

【図14A】図14Aは、図10Aにて議論された波長シフト検出器を用いて、熱イオンセンシングの範囲にわたって抗生物質を用いない場合と最小阻害濃度の抗生物質を用いる場合との増殖E. coliコロニーについての時間に対する温度T(K)のシミュレーションされた変化を示すグラフを示す。

40

【図14B】図14Bは、コロニー増殖の最初の20分に対応し、図10Aに議論された波長シフト検出器を用いて達成可能な測定解像度を示す図14Aのグラフの一部を示す。

【発明を実施するための形態】

【0007】

図は必ずしも正確な縮尺ではない。図で使用される同様の数字は、同様の構成要素を指す。しかし、所与の図においてある構成要素を指すためにある数字を使用することは、同じ数字で標識された別の図の構成要素を制限することを意図するものではないことが理解される。

50

【 0 0 0 8 】

サーモクロミズムは、温度に基づく材料の色変化である。サーモクロミック材料の色変化は、相対的に不連続で突然であり得るか、または温度範囲にわたって徐々に変動し得る。スペクトル変化は、サーモクロミック材料からの散乱光、反射光、吸収光および/または蛍光に顕著に現れ得る。サーモクロミック材料は、有機もしくは無機物質であってもよく、および/またはモノマーもしくはポリマーであってもよい。本開示の手法に関して特に興味深いものは、サーモクロミック液晶であり、これは光反射率に基づくサーモクロミズムを示す。

【 0 0 0 9 】

本明細書に記載される手法は、生体物質のエネルギー変換によって生じる温度変化を光学的に示すためにサーモクロミック材料を用いた温度センシングを含む。本明細書に記載されるサーモクロミックセンシング技術を用いてモニターできる生体物質の非限定リストは、細菌、古細菌、原生生物、菌類、植物細胞、動物細胞、適切な宿主細胞中のウイルス、適切な宿主細胞中のファージ、癌細胞培養液、および組織細胞培養液の1つ以上を含む。生体物質のエネルギー変換の割合は、生きた細胞のアンサンブル代謝に関連し得る。特に細胞有糸分裂により増大する細胞の数は、アンサンブル代謝の増大の形態である。結合した個々の細胞の代謝は、アンサンブル代謝を含む。代謝は、多くの場合、グルコースまたは他の炭水化物の酸化を含み、エネルギーおよび化学副生物を放出する。この文脈において、代謝は、化学エネルギーが他の形態のエネルギー（熱を含む）に変換される機構であることを意味する。従って熱は、代謝を行う物質または生体の温度変化を生じ得る。生体の温度変化は、細胞培養培地、緩衝材料、容器材料およびサーモクロミック材料を含む周囲材料の温度変化、通常は温度上昇をもたらす。1つの材料から隣の材料への熱移動の量は、材料の特性に依存する。故に、材料選択によって熱移動を制御できる。代謝によって発生する熱は、容器材料への移動から分離され、代わりにサーモクロミック材料に熱的に接続または結合されるのが望ましい。代謝によって発生する熱は、好ましくはサーモクロミック材料の温度変化をもたらす。アンサンブル代謝の増大は、生体物質の「増殖割合」としておよび/または生体物質の量の増減について記載できる。正の増殖割合は、細胞にとって健康的な生存条件を示し、多くの場合アンサンブル内での生きた細胞の数の増大に対応する。本明細書で開示されるサーモクロミックセンシングデバイス、システムおよび方法は、生体物質の増殖を検出および/またはモニターするために使用でき、種々の医薬品、例えば薬剤タイプ、薬剤投与量、および薬剤の組み合わせ、例えば抗菌薬、抗ウイルス薬、および/または抗真菌薬の有効性を決定するのに特に有用である。

【 0 0 1 0 】

スペクトルシフトは、いずれかの種類の発光、吸収、蛍光、反射もしくは透過または他のいずれかの光スペクトルで生じ得る。光スペクトルのスペクトルシフトは、2つの光のスペクトルの重心間の差異として記載できる。波長シフトは、例えば較正測定にて決定される間接的な重心位置または公称重心位置を用いて、測定された重心位置を決定することによって決定されてもよい。波長シフトは、参照される波長シフト測定を行うと同時に有効に2つの異なるスペクトルの2つの異なる重心を比較することによって決定されてもよい。光スペクトルまたは光強度スペクトルは、種々の測定ユニットにおいて測定されてもよい。一般に、スペクトルの変動するパラメータ（すなわち横座標）は、多くの場合波長で測定される光子エネルギーである。こうした測定において、波長シフトは、波長単位、例えばナノメートル（nm）単位で測定できる。特定の発光スペクトル、特に発光ピークまたはガウス型発光プロファイルに関して、ピーク波長は、重心位置の良好な近似であり、または互いに対するピーク位置の差異は波長シフトの良好な近似である。実際の測定において、重心決定は、波長シフト検出範囲にわたって変動し得る測定パラメータによって影響を受ける場合があり、結果として重心測定に寄与する追加の測定因子、例えば検出器の波長依存感受性が存在する。これらの測定影響は、測定のシステム誤差として考慮でき、較正によって補償されることが多い。いずれかのこうした誤差は、補償されない場合であっても、重心、波長または波長シフト測定の一部として考慮されるべきである。注目す

10

20

30

40

50

べきは、発光スペクトルが、2つの発光最大値を有する、例えば2つの相対的に区別可能な発光分布からなり得ることである。これらの合わせた発光スペクトルの重心はなおも計算および測定でき、波長シフトはなおもこうしたスペクトルについて計算できる。特に、2つの蛍光発光スペクトルは、発光スペクトルの1つが温度により発光強度を変化させるような方法で使用される場合、温度変化がスペクトル全体の波長シフトをもたらす。

【0011】

図1および図2は、一部の実施形態に従うサーモクロミックセンシング試験容器100のそれぞれ平面図および断面図である。実質的に平面の試験プレートであってもよい試験容器100は、少なくとも1つの生体物質150を培養するために培地140を含有するように構成される1つ以上の位置101を含む。一部の実施形態において、試験位置は、例えば試験プレート上の埋め込まれた位置にある試験ウェルであってもよい。試験容器100は培地を含有するように構成されたいずれかのタイプの容器または構造であってもよいが、一部の実施においては、試験容器100は、MICROTITER試験プレート、例えば標準24ウェルMICROTITERプレート、標準96-ウェルMICROTITERプレート、標準384-ウェルMICROTITERプレート、または標準1536-ウェルMICROTITERプレートなどである。試験容器100が試験プレートである実施において、試験プレートの試験ウェルは、生体物質150を培養するための培地を含有するように構成された位置101を提供する。各試験ウェルは、培地140を含有するために壁101Aおよび底部101Bを有する。一部の実施において、試験容器100は、試験ウェルを覆うおよび/または試験ウェル内の培地をシールするカバー102を含んでいてもよい。

【0012】

試験容器100は培地を含有するように構成されたいずれかのタイプの容器または構造であってもよいが、一部の実施において試験容器100は、流体の取扱いのために標準MICROTITERプレートピッチ距離、例えば標準24-ウェルMICROTITERプレートピッチ距離、標準96-ウェルMICROTITERプレートピッチ距離、標準384-ウェルMICROTITERプレートピッチ距離、または標準1536-ウェルMICROTITERプレートピッチ距離などを維持してもよい。これは、例えば、試験容器が、互換性のあるMICROTITER流体インターフェースを用いることによって、標準MICROTITER流体取扱いツール（例えばマルチプレックスピペット）で充填できるが、サンプルは、後に、MICROTITER標準と必ずしも互換性が必要ではないいずれかの他の適切な位置、例えば試験ウェルの単列、例えば24、96、384、または1536ウェルにルーティングされることを意味し得る。

【0013】

サーモクロミック材料110の少なくとも1つのタイプは、1つ以上の試験位置に熱的に結合される。種々の実施形態において、サーモクロミック材料は、試験位置、例えば試験ウェル101中、試験ウェル上および/または試験ウェルの周りに配設されてもよい。サーモクロミック材料110は、試験位置内に含有される培地140および/または生体物質150に熱的に結合される。サーモクロミック材料110は、生体物質150によるエネルギー変換により生体物質150および/または培地140の温度変化に応答したサーモクロミック材料110からの光、例えば散乱光、反射光または蛍光のスペクトルシフトを示すように構成および配列される。サーモクロミック材料110は、生体物質150のエネルギー変換による温度変化に感受性であるように、生体物質150に十分近いおよび/または熱的に結合されるように位置付けられる。

【0014】

少なくとも1つのタイプのサーモクロミック材料190は、サーモクロミック材料190が試験ウェル101の周囲環境に熱的に結合されるように、試験位置付近に配設される。一部の実施形態において、サーモクロミック材料190は、試験位置に熱的に結合されたサーモクロミック材料のコーティング、例えば試験ウェルの底部に配設されるサーモクロミックコーティングである。

10

20

30

40

50

【0015】

少なくとも1つのタイプのサーモクロミック材料191は、試験ウェルよりも大きい温度範囲をモニターするために、試験プレートに配設される。この温度センシング領域は、試験ウェルのいずれかにある生体物質のエネルギー変換の量によって大きくは影響を受けず、むしろプレートをインキュベータに移動させ、試験プレート温度が公称温度条件に近づいたら、試験プレートの温度進展を追跡する。加えて、機能する適切なインキュベータは、この読出しにより追跡または制御できる。

【0016】

個々の位置101または試験容器100の全体は、カバー102を含んでいてもよく、これが蓋および/またはシール、例えばシーリングフィルムを含んでいてもよい。1つのタイプのシーリングフィルムは、通気性の無菌膜（例えばC o r n i n g マイクロプレートシーリングテープホワイトレーヨン（アクリルを用いる）またはT h e r m o S c i e n t i f i c G a s P e r m e a b l e A d h e s i v e S e a l s）である。このシーリングフィルムを試験容器100に直接配置し、無菌バリアを提供して、次いでその上にカバー102（例えば無菌でないプラスチック）を配置できる。

【0017】

別の実施形態は、容器を覆う蓋102として無菌の非通気性接着剤シール（例えばE & K S c i e n t i f i c S e a l P l a t e A d h e s i v e M i c r o p l a t e S e a l s）を使用する。このタイプのフィルムは気密性シールを提供するので、シーリングフィルムの頂部上に別の蓋を必要としない。嫌気性細菌に関して、カバー102は、O₂を排除するためのバリアを提供するために使用できる。培地で試験位置を埋め、気密シールを用いることにより、嫌気性細菌の増殖を可能にする。

【0018】

図2の断面図に示されるように、サーモクロミック材料110は、それぞれ個々の試験ウェル101の壁101Aおよび/または底部101Bに沿って配設されたサーモクロミック材料110のコーティングであってもよい。サーモクロミック材料は、図3の断面図に示されるように、いくつかの試験ウェル101の底部101B付近においてxおよびy方向に試験プレートにわたって延びる層111、例えば連続層であってもよい。

【0019】

サーモクロミック材料110（図2を参照）、111（図3を参照）から放射される光のスペクトルシフト、例えば反射光、散乱光、透過光および/または蛍光のスペクトルシフトは、1つ以上の光学検出器を用いて検出できる。光学検出器は、試験容器に対して、サーモクロミック材料から放射される光を検出可能ないずれかの位置に位置してもよい。例えば、一部の実施形態において、検出器は、試験ウェル101の壁101Aの上方、下方および/または沿って位置付けられてもよい。

【0020】

一部の実施形態において、サーモクロミック材料110から放射される反射光、散乱光、透過光および/または蛍光は、適切な光学構成要素180、例えばレンズ、対物レンズ、レンズの組み合わせ、結像光学系、平面鏡、凹面鏡、凸面鏡、繊維、格子、プリズム、および他の要素によって光学検出器上に中継される。光学構成要素は、画像情報を維持してもよく、またはしなくてもよい。

【0021】

一部の実施形態において、サーモクロミック材料110から放射される反射光、散乱光、透過光および/または蛍光は、周囲光である測定光、例えば日光、室内灯から生じ、これがサーモクロミック材料110、111と遭遇し、サーモクロミック材料110、111によって散乱、透過、反射または吸収される。一部の実施形態において、少なくとも1つの光源195、196は、測定光195A、196Aを発光し、試験ウェル101に指向させ、こうして測定光195A、196Aは、サーモクロミック材料110、111と遭遇する。

【0022】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、サーモクロミック材料 110、111 は、測定光 195 A、196 A の一部を反射する。図 2 および図 3 は、試験ウェル 101 の底部の上方および / または下方に位置付けられた検出器 198、199 によって検出できる反射光 198 A、199 A を示す。一部の実施形態において、サーモクロミック材料 110、111 は、測定光 195 A、196 A の一部を吸収し、測定光 195 A、196 B の吸収により、サーモクロミック材料 110、111 は蛍光を発する。図 2 および図 3 は、試験ウェル 101 の上方および / または下方に位置付けられた 1 つ以上の検出器 198、199 によって検出できる蛍光 198 B、199 B を示す。一部の実施形態において、測定光 195 A、196 A の一部は、サーモクロミック材料 110、111 によって散乱される。散乱光 198 C、199 C は、試験ウェル 101 の上方および / または下方に位置付けられた 1 つ以上の検出器 198、199 によって検出できる。一部の実施形態において、測定光 195 A、196 A の一部は、サーモクロミック材料 110、111 によって透過される。透過光 198 D、199 D は、試験ウェル 101 の上方および / または下方に位置付けられた 1 つ以上の検出器 198、199 によって検出できる。一部の実施形態において、測定光は、導波管、例えば光ファイバーまたはポリマー導波管によってサーモクロミック材料に伝搬されてもよい。一部の実施形態において、サーモクロミック材料からの反射光、散乱光、透過光または蛍光は、導波管を通して検出器に伝搬されてもよい。一部の実施形態において、導波管は、測定光および / またはサーモクロミック材料から放射される光を伝搬するために試験容器に一体的に形成されてもよい。一部の実施形態において、サーモクロミック材料から放射される反射光、散乱光、透過光または蛍光は、ウェルプレート構造に一体化された、例えば試験プレートの射出成形の間に形成されたレンズを通して検出器に伝搬されてもよい。

【0023】

一部の実施形態において、試験ウェル 101 の領域において試験プレート 100 の少なくとも一部 100 A は、測定光 196 A の波長および / またはサーモクロミック材料 110 から放射される反射光 199 A、散乱光 199 B、透過光 199 D または蛍光 198 C の波長において実質的に光学的に透過性である。実質的に光学的に透過性とは、測定光および / またはサーモクロミック材料から放射される光の波長における光の透過率が 50 % を超えることを意味する。一部の実施形態において、サーモクロミック材料から放射される反射光、散乱光、透過光または蛍光は、平坦な透明底部、例えばガラス、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリカーボネートまたは石英を通して検出器に伝搬されてもよい。

【0024】

生体物質のエネルギー変換により、試験位置にてサーモクロミック材料の温度上昇をもたらす。これらの温度上昇は、サブケルビンであり、約 1 ミリケルビン (mK) 未満であってもよい。温度変化は、種々の因子、例えば試験体積、生きた細胞の数、周囲温度、試験体積の断熱、緩衝剤条件などに依存し得る。本明細書において議論されるように、サーモクロミック材料は、試験容器の温度を光学的に示すために使用できる。サーモクロミック材料は、種々の光学作用、例えば温度依存性蛍光強度または温度依存性反射または散乱スペクトルを示すことができる。特にサーモクロミック液晶は、非常に強い温度依存性反射スペクトルを示す。

【0025】

生体物質のサーモクロミック温度センシングのために使用されるサーモクロミック材料は、いずれかの好適なタイプのサーモクロミック材料、例えばサーモクロミック液晶、ロイコ染料、蛍光体、DPPC に結合したプロダン、および / または蛍光タンパク質を含んでいてもよい。サーモクロミック液晶において、スペクトル変化は、温度依存性分子間隔から生じる。例えば、サーモクロミック液晶表面から特定の選択された反射率をモニターすることにより、レシオメトリックカラー測定において K あたりの強度の 13,000 % までの変化または数百 nm / K から約 1000 nm / K までの波長シフトを示す。ジバルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) に結合した 6 - プロピオニル - 2 - (ジメチルアミノ) ナフタレン (プロダン) は、40 ~ 50 で、6 nm / K の蛍光発光シフト

10

20

30

40

50

を示す。約 0.3 nm/K の発光波長のシフトを示す緑色蛍光タンパク質は、サーモクロミック材料の例であり、これはサーモクロミック温度センシングのために遺伝的/生物学的に最適化でき、例えば医薬品感受性試験および/または生体物質の増殖/低下の他のモニタリングのために最適化できる。

【0026】

一部のサーモクロミック材料の蛍光強度の変化は、温度に対して特に感受性であることができる（場合によっては度あたり 100% を超える）。一部の状況において、サーモクロミック温度センシングはさらに、2つの異なるタイプのサーモクロミック材料の応答を異なる温度応答に関して比較し、2つのサーモクロミック材料からの2つの発光ピーク間の強度比変化をモニターすることによって向上させることができる。場合によって、2つのサーモクロミック材料は、一方の材料が、温度依存性蛍光強度変化を示し、他方が温度に独立するか、最初の材料とは反対の変化を有するように選択される。

【0027】

非限定例として、約 1000 nm/K の波長シフトを有するサーモクロミック液晶は、生体物質によるエネルギー変換による約 $10 \mu\text{K}$ の温度変化に供される場合に、約 10 pCoMETR (pm) の波長シフトを示し得る。一部の実施において、エネルギー変換による $1.6 \times 10^{-6} \text{ K} \sim 1.6 \times 10^{-5} \text{ K}$ の温度変化は、 $1.6 \sim 16 \text{ pCoMETR}$ (pm) の波長シフトをもたらし得る。一部の実施形態において、サーモクロミック材料は、約 $0.5 \text{ nm/K} \sim$ 約 1000 nm/K の範囲において、温度に関する蛍光、反射率または散乱スペクトルのスペクトルシフトを示すように構成されてもよい。

【0028】

一部の構成において、1つ以上の任意の追加層またはコーティングは、サーモクロミック材料層の1つまたは両方の主要面に沿って配設できる。一部の実施形態において、任意の追加の層は、試験ウェル101の底部101Bおよび/または壁101Aに沿って延びてもよい。例えば、1つ以上の任意の追加層120、121、130、131は、図2および図3に示されるように、各試験ウェル101内においてサーモクロミック材料コーティング110、111と培地140および/または生体物質150との間に位置付けできる。一部の実施において、任意の追加層130の少なくとも1つは、光吸収層であってもよい。サーモクロミック材料110、111と培地140および/または生体物質150との間に位置付けられた光吸収層の使用は、層の吸収特性によりサーモクロミックセンシングの感受性を向上できる。サーモクロミック材料コーティング110、111によって反射、散乱、吸収されない光は、ここで反射光、散乱光または蛍光検出に寄与しない。光ブロッキング層の使用は、検出器によって検出される、非シグナル光により生じた検出器シグナルの構成要素を低減することによってサーモクロミックセンシングのノイズに対するシグナル比を向上でき、ここで非シグナル光はサーモクロミック材料から放射される光以外の光である。

【0029】

一部の実施において、任意の追加層130、121の少なくとも1つは、熱伝導層であってもよい。サーモクロミック材料110、111と培地140および/または生体物質150との間に位置付けられた熱伝導層の使用により、培地140および/または生体物質150からサーモクロミック材料コーティング110、111への改善された熱伝導率によりサーモクロミックセンシングの感受性を向上できる。生体物質150によって変換されたエネルギーは、培地140内での熱発生をもたらす、それによって培地および/または生体物質150の温度上昇をもたらす。培地と周囲環境との間の温度差は、推移ゾーンにおいて温度勾配を生じる。サーモクロミック材料は推移ゾーンの一部であるので、熱伝導層が培地からサーモクロミック層への熱移動を確実にし、両方が理想的には同じ温度を有する場合が有益である。例えば熱伝導層は、インジウムスズオキシド (ITO)、金属、ダイヤモンド、酸化亜鉛、グラフェン、グラファイト、およびインジウムホスフィドからなってもよい。

【0030】

一部の実施において、任意の追加層 1 3 1、1 2 0 の少なくとも 1 つは、断熱層であってもよい。サーモクロミック材料 1 1 0、1 1 1 と試験容器構造のベース材料との間に位置付けされた断熱層の使用により、サーモクロミック材料 1 1 0、1 1 1 から周囲平衡温度までの低い熱伝導率によってサーモクロミックセンシングの感受性を向上できる。試験容器構造自体のベース材料は、低い熱伝導率材料から製造されるのが望ましい。

【0031】

一部の実施形態において、任意の追加層 1 2 1、1 3 0 の少なくとも 1 つは、サーモクロミック材料 1 1 0、1 1 1 を培地 1 4 0 から分離するように位置付けられた無菌コーティングであってもよい。例えば、サーモクロミックコーティング 1 1 0、1 1 1 は、試験ウェルの底部表面に沿って配設されてもよく、無菌生体適合性コーティングが、サーモクロミックコーティングにわたって配設され、結果としてサーモクロミックコーティングが、試験ウェルの底部と無菌コーティングとの間にある。例えば無菌コーティングは、バリレン、インジウムスズオキシド (ITO)、金属、ポリエチレングリコール (PEG)、ダイヤモンド、酸化亜鉛、グラフェン、グラファイト、およびインジウムホスフィドの 1 つ以上を含んでいてもよい。理想的には、これらのコーティングはまた生体適合性でもある。

10

【0032】

図 4 は、少なくとも 1 つの生体物質 1 5 0 を培養するための培地 1 4 0 を含有するように構成された多数の位置 4 0 1 を含む試験容器 4 0 0 を示す。一部の実施形態において、サーモクロミック材料、例えばサーモクロミック粒子または領域 4 1 0 は、図 4 の断面ダイアグラムに示されるように、試験培地 1 4 0 内に配設される。

20

【0033】

サーモクロミック材料 4 1 0 から放射される光のスペクトルシフト、例えば反射光、散乱光、透過光および / または蛍光のスペクトルシフトは、1 つ以上の光学検出器を用いて検出できる。光学検出器は、試験容器に対して、サーモクロミック材料から放射される光を検出可能ないずれかの位置に位置してもよい。例えば、一部の実施形態において、検出器 1 9 8、1 9 9 は、図 4 に示されるように、試験ウェル 4 0 1 の上方および / または下方に位置付けられてもよい。

【0034】

一部の実施形態において、サーモクロミック材料から放射される反射光、散乱光、透過光および / または蛍光は、サーモクロミック材料 4 1 0 と遭遇する周囲光である測定光から、例えば日光、室内灯から導かれる。一部の実施形態において、少なくとも 1 つの光源 1 9 5、1 9 6 は、測定光 1 9 5 A、1 9 6 A を発光し、試験ウェル 4 0 1 の方に指向させ、こうして測定光 1 9 5 A、1 9 6 A は、サーモクロミック材料 4 1 0 と遭遇する。

30

【0035】

一部の実施形態において、測定光 1 9 5 A、1 9 6 A の一部は、サーモクロミック材料 4 1 0 によって反射される。反射光 1 9 8 A、1 9 9 A は、試験ウェル 4 0 1 の底部の上方および / または下方に位置付けられたフォトセンシング素子 1 9 8、1 9 9 によって検出できる。

【0036】

一部の実施形態において、測定光 1 9 5 A、1 9 6 A の一部は、サーモクロミック材料 4 1 0 によって吸収され、サーモクロミック材料 4 1 0 が蛍光を発する。蛍光 1 9 8 B、1 9 9 B は、試験ウェル 4 0 1 の上方および / または下方に位置付けられた 1 つ以上のフォトセンシング素子 1 9 8、1 9 9 によって検出できる。

40

【0037】

一部の実施形態において、測定光 1 9 5 A、1 9 6 A の一部は、サーモクロミック材料 4 1 0 によって散乱される。散乱光 1 9 8 C、1 9 9 C は、試験ウェル 4 0 1 の上方および / または下方に位置付けられた 1 つ以上のフォトセンシング素子 1 9 8、1 9 9 によって検出できる。

【0038】

50

一部の実施形態において、試験ウェル401の領域において試験プレート400の少なくとも一部400Aは、測定光196Aの波長および反射光199A、散乱光199Bおよび/または蛍光198Cの波長において実質的に光学的に透過性である。

【0039】

一部の構成において、1つ以上の任意の追加層またはコーティング420は、試験ウェル401の底部または他の場所に沿って、例えば試験ウェル401の壁401Aに沿って配設できる。一部の実施形態において、任意の追加の層は、試験ウェル401の底部401Bおよび/または壁401Aの両方に沿って延びてもよい。一部の実施において、任意の追加層420の少なくとも1つは、断熱層であってもよい。断熱層は、試験位置401から試験容器400の犠牲材料または周囲への低い熱移動により、サーモクロミックセン

10

【0040】

一部の実施において、任意の追加層420の少なくとも1つは、光ブロッキング層であってもよい。光ブロッキング層の使用は、非シグナル光によって生じる検出器シグナルの構成要素を低減することによってサーモクロミックセンシングのノイズに対するシグナル比を向上でき、ここで非シグナル光はサーモクロミック材料から放射される光以外の光である。

【0041】

図5および図6は、1つ以上の生体物質560を培養するのに好適な培地540を含有するように構成された位置501、601を含む試験容器500、600の断面ダイアグラムを示す。これらの実施形態において、培地540は、相対的に平坦な基材500A上の領域内に含有されてもよい。一部の実施形態において、位置501、601は、位置501、601内に培地を含有するように構成された表面処理またはコーティング505、例えば疎水性表面処理によって規定されてもよい。図5に示されるように、サーモクロミック材料は、位置501にて基材500A上に配設される層510であってもよい。

20

【0042】

個々の位置501または試験容器500の全体は、カバー570、例えばシールおよび/または蓋を含むもので覆われてもよい。一部の実施形態において、試験容器は、追加の蓋を有するまたは有していないシーリングフィルムで覆われる。一部の実施形態は、シールを有するまたはシールを有していない保護蓋を使用する。カバー570は、蒸発による熱損失を低減し、試験位置501において試験容器500内の適切な環境を維持するために役立つ。例えば、一部の実施形態において、哺乳類の細胞を、試験位置に配設し、これは適切なガス雰囲気、例えば5%のCO₂を含有する特定のヘッド体積を必要とする。別の例として、嫌気性細菌が試験位置に配設され、このカバーは、これらの細菌にとって毒性であるO₂を排除するのに役立つバリアを提供する。故に、培地で試験位置を満たし、気密シールを用いて嫌気性細菌の増殖を可能にする。

30

【0043】

1つのタイプのシールは、通気性の無菌膜（例えばCorningマイクロプレートシーリングテープホワイトレーヨン（アクリルを用いる）またはThermo Scientific Gas Permeable Adhesive Seals）である。このシーリングフィルムを試験容器に直接配置し、無菌バリアを提供して、次いでその上に蓋（例えば無菌でないプラスチック）を配置できる。

40

【0044】

別の実施形態は、容器を覆う無菌の非通気性接着剤シール（例えばE & K Scientific Seal Plate Adhesive Microplate Seals）を使用する。このタイプのフィルムは気密性シールを提供するので、蓋が所望でないかまたは追加の保護が必要でない限り、シーリングフィルムの頂部上に別の蓋を必要としない。

【0045】

図6に示されるように、サーモクロミック材料は、培地540内のサーモクロミック領

50

域 6 1 0、例えば培地内に埋め込まれたサーモクロミック粒子であってもよい。

【 0 0 4 6 】

試験容器 5 0 0、6 0 0 は、上記で議論されるように、サーモクロミック材料の上方および / または下方に配設された 1 つ以上の任意の追加の層 5 2 0、5 3 0、6 2 0 を含んでいてもよい。例えば、追加の任意層 5 2 0、5 3 0、6 2 0 は、熱吸収層、光ブロッキング層および無菌生体適合層の 1 つ以上を含んでいてもよい。場合により、上記で議論されるように、試験容器は、カバー 5 7 0、例えばシールおよび / または蓋を含む。

【 0 0 4 7 】

図 7 は、一部の実施形態に従ってサーモクロミックセンシング試験容器を製造するためのプロセスを示すフローダイアグラムである。プロセスは、試験構造を提供する工程 7 1 0、試験構造の試験位置に熱的に結合されたサーモクロミック材料を配設する工程 7 2 0 を含む。例えば、試験構造が標準 MICRO TITER 試験プレートである一部の実施形態において、サーモクロミック材料は、1 つ以上のサーモクロミック材料を用いて標準試験プレートの試験ウェルをコーティングすることによって配設されてもよい。例えば、標準プレートの試験ウェルのすべての底部および / または壁はコーティングできる。一部の実施形態において、一部の試験ウェルの底部および / または壁はサーモクロミック材料でコーティングされてもよいが、他の試験ウェルはコーティングされないままである。一部の実施形態において、サーモクロミック材料は、試験ウェルによって含有される培地にサーモクロミック粒子を配置することによっておよび / または試験ウェル内にサーモクロミック材料を含有する培地を配置することによって試験位置に配設されてもよい。

【 0 0 4 8 】

一部の実施形態において、追加の機能材料層、例えば熱伝導層、光ブロッキング層、断熱層は、試験構造に配設されてもよい 7 3 0。追加の機能層は、サーモクロミック材料が試験位置に配設される前またはされた後に配設されてもよい。続いて、試験構造を無菌化すること 7 4 0 は、以下の方法：熱、化学物質または照射の 1 つ以上によって達成されてもよい。

【 0 0 4 9 】

熱無菌化は、湿熱（スチーム）または乾熱のいずれかを用いて達成されてもよい。化学物質は、多くのプラスチックを含む感熱性材料を無菌化するために使用されてもよい。ガスまたは液体のいずれかが使用されてもよい。化学無菌化のために使用されるガスは、エチレンオキシド（E t O）、二酸化窒素（N O₂）またはオゾンを含む。液体化学無菌化は、グルタルアルデヒド、ホルムアルデヒド、過酸化水素（H₂O₂）、または過酢酸を用いて達成されてもよい。放射線無菌化は、電子線、X 線、ガンマ線、または亜原子粒子による照射を用いて達成されてもよい。

【 0 0 5 0 】

一部の実施形態において、無菌化試験構造は、パッケージの機械的一体性が不注意にまたは意図的に損なわれるまで、パッケージの内容物が無菌状態であるようにパッケージされ、シールされる。通常の意図的な開口部は無菌試験プレートを維持し、意図されたサンプルからの生体のみで試験容器を満たすことができる。

【 0 0 5 1 】

1 つ以上の試験物質、例えば医薬、抗菌、抗真菌物質が、培地内に含有されてもよい。試験容器の異なる位置、例えば試験容器 1 0 0 の試験ウェル 1 0 1 は、異なるタイプ、組み合わせ、および / または濃度の試験物質 1 6 0 を含んでいてもよく、ここでこの生体物質 1 5 0 は各試験位置において同じである。設定されたこの試験は、異なるタイプ、組み合わせ、および濃度の試験物質の生体物質への作用をモニターするために使用できる。一部の実施形態において、試験物質 1 6 0 のタイプ、組み合わせおよび / または濃度は、多数の試験位置において実質的に同じであってもよく、生体物質は異なってもよい。設定されたこの試験は、同じタイプ、組み合わせおよび濃度の試験物質の、異なるタイプの生体物質への作用を試験するために使用できる。

【 0 0 5 2 】

一部の実施において、サーモクロミックセンシング試験容器は、医薬、例えば抗菌剤感受性試験（AST）のために使用される。試験物質160は、1つ以上のタイプの抗生物質を含み、試験位置は、異なるタイプ、異なる組み合わせおよび/または異なる濃度の抗生物質を含有する。ASTに使用するのに好適な抗生物質および抗生物質の組み合わせの例としては：アミカシン、アモキシシリン/クラバン酸、アンピシリン、アンピシリン/スルバクタム、アジスロマイシン、アズトレオナム、セファロチン、セファゾリン、セフェピム、セホキシチン、セフトジジム、セフトリアキソン、セフロキシム、セファロチン、クロラムフェニコール、シプロフロキサシン、クラリスロマイシン、クリンダマイシン、ダプトマイシン、ドリベナム、エルタベナム、エリスロマイシン、ガチフロキサシン、ゲンタマイシン、イミベナム、レボフロキサシン、メロペナム、モキシフロキサシン（Moxifloxacin）、ナリジクス酸、ニトロフラントイン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、オキサシリン、ペニシリン、ピペラシリン、ピペラシリン/タゾバクタム、リファンピシン、スルファメトキサゾール、シナシッド、テトラサイクリン、チカルシリン、チカルシリン/クラバン酸、チゲサイクリン、トブラマイシン、トリメトプリム、トリメトプリム/スルファメトキサゾールおよびバンコマイシンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0053】

図8に示される一部の実施において、サーモクロミックセンシング試験容器100は、生体物質150の同定のために使用される。試験物質860は、炭素源利用を測定するために1つ以上のタイプの基材（例えばマンニトール、グルコース、ラクトース、マルトース、シトレート、アセテート、アセトアミド）、酵素活性（例えばカタラーゼ、オキシダーゼ、コアグララーゼ、ピラーゼ（pyrase）、ウレアーゼ、デカルボキシラーゼ、ジヒドロラーゼ、フェニルアラニンデアミナーゼ、システインデスルフララーゼ（H₂S生成）、トリプトファナーゼ（インドール生成）、またはレジスタンス（例えばバシトラシン、ノボピオシン、オプトヒン）を含む。増殖培地は、試験物質860に加えて、指標物質（861）を含有してもよい。指標物質の例としては：プロモチモールブルー、クエン酸鉄アンモニウム、プロモクレゾールパープル、塩化第二鉄、硫酸鉄、4-ジメチルアミノベンズアルデヒドおよびメチルレッドが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態において、生体物質の同定のために使用される試験物質860は、適切な生体物質150の存在下でインキュベートされる場合に蛍光または発色性化合物を直接生成する。

【0054】

他の実施形態において、指標物質861は、試験物質860が適切な生体物質150の存在下でインキュベートされる場合に、蛍光または発色性化合物を生成する。試験化合物の存在下、生体物質の増殖に対するサーモクロミック材料の応答を測定することに加えて、試験化合物860の存在下、生体物質150のインキュベーションから得られる蛍光または吸光度は、光源195、196の一方または両方を用い、検出器198、199および/または追加の光源および/または試験位置の上方または下方に位置付けられる検出器を用いて測定できる。

【0055】

TOAST機構または他の光学手段によって測定される場合に酵素基材、増殖促進剤および増殖阻害剤の組み合わせは、代謝または他の生化学プロファイルを与え、これが生体の同定のために使用されてもよい。

【0056】

血流感染の場合、例えばASTは、陽性血液培養液からの生体物質の分離および同定の後に行われてもよい。同定工程は、上記で記載されるようにサーモクロミックセンシング試験容器を用いて行われてもよい。他の実施において、生体物質は、別の方法、例えば標準増殖および生化学特徴または迅速な同定方法、例えばマトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析（MALDI-TOF MS）を用いて同定されてもよい。別の実施において、ASTは、生体物質の同定の前に開始されてもよく、陽性血液培養液のグラム染色結果により、ASTに使用するための試験化合物の適切なパネルを選択する

。

【 0 0 5 7 】

一部の実施形態において、試験容器は1回使用の使い捨て構成要素として設計できる。一部の実施形態において、サーモクロミックセンシング試験容器は、例えば図1から図6と関連して議論されるように、無菌サーモクロミックセンシング試験容器を含むキットの一部であってもよい。一部の実施において、キットのサーモクロミックセンシング試験容器は、培地および試験物質でプレ充填できる。一部の実施において、試験物質は、試験容器の異なる試験位置にプレ充填される異なるタイプ、量および/または組み合わせの医薬品または他の試薬を含む。一部の状況において、キットを受容する試験室は、試験位置に生体物質を挿入し、試験位置それぞれにおいてプレ充填された試験物質のタイプ、量および/または組み合わせの効力を試験し、次いで試験完了後にキットを廃棄する。場合によって、一部の試験位置は、コントロール位置として使用されてもよく、ここで試験物質および/または生体物質は、コントロール試験位置では挿入されない。

10

【 0 0 5 8 】

試験容器は、サーモクロミックセンシングを用いる試験物質の自動試験を促進するシステムのコンパートメントに脱着可能に挿入されるように構成されてもよい。一部の実施において、試験容器は、このコンパートメントの適合性フィーチャと係合した機械的保持フィーチャを有するカートリッジとして構成されてもよい。図9Aは、一部の実施形態に従ってサーモクロミック温度センシング試験システム900のブロックダイアグラムを示す。一部の実施形態において、試験システム900は、周囲環境、例えば試験容器902の光、温度、湿度、ガス組成、CO₂濃度などおよび/または試験中のシステムの他の構成要素を自動的に制御するように構成されたインキュベータ905を含む。試験容器の環境が制御されない試験システムまたは追加の熱補償が必要とされるもしくは所望される試験システムにおいて、温度の変動を説明するように構成された回路網930を使用してもよい。温度補償回路網930は、温度作用ひいては生体物質によるエネルギー変換以外の因子によって生じるサーモクロミック材料のスペクトルシフトを補償するように構成された補償回路網に結合された温度センサを含んでいてもよい。これらの温度作用は、室温の変動によって生じる場合があり、個々の試験ウェル101のために使用される光学温度測定範囲の最大温度測定範囲より大きくてもよい。故に、個々の試験ウェル、個々の試験ウェルの群またはすべての試験ウェルの温度は、温度補償回路網930で調節できる。温度補償回路網930は、加熱器、冷却器、抵抗加熱器、放射加熱器、熱交換器、給水器、熱電冷却器、ペルチェ素子、蒸発冷却器、温度センサ、サーミスタ、サーモカップラ、およびサーモクロミック材料の波長シフト検出に基づく光学温度読出センサ（例えば191および190）を含有してもよい。

20

30

【 0 0 5 9 】

一部の実施形態において、試験容器902は、試験位置101に流体的に結合された流体チャンネル185B（図1に示す）を含み、結果としてホストインキュベーションおよび読出システム900からの熱平衡化液体、例えば主に水系の液体が、消毒剤の添加を潜在的に伴って、試験容器902に接続できる。流体チャンネル185Bは、流体を、試験位置および/またはコントロール位置付近の試験容器の熱交換領域に導入できる。試験容器902への熱平衡化液体のマスフローは、例えばガスを循環させることによる熱交換または純粋な放射熱交換よりも迅速でより安定な方法で、試験部位101の内容物を含むデバイス温度を熱平衡化する。

40

【 0 0 6 0 】

一部の実施形態において、試験容器902は、試験位置101に流体結合された流体チャンネル185A（図1に示す）を含み、結果として試験物質は、これらの流体チャンネルを通過していくつかのまたはすべての試験位置に満たされることができる。

【 0 0 6 1 】

図9Aによって示されるように、試験容器902は、試験システム900のコンパートメント901に着脱可能に挿入されてもよいカートリッジとして構成できる。試験容器9

50

02は、機械的フィーチャ902A、例えば突起を含み、これが機械的フィーチャ901A、例えばコンパートメントのスロットと係合して、コンパートメント901内に試験容器902を機械的に位置付け、保持する。加えて、試験容器902は、人（例えば英数字の組み合わせ、シリアル番号または名称）、あるいは適切な機械（例えばバーコードまたはQRコード（登録商標））によって読み取られることができる独自のマーキングまたは識別子を保持できる。試験容器902はまた、測定試験領域を規定する位置合わせマーキング、例えば各試験容器101について各サーモクロミック材料領域110（図2を参照）、111（図3を参照）の周りのブルーリング、座標系を形成するライン、試験容器上にいくつかの位置での位置合わせクロスで標識できる。特に、カメラシステム（RGB、差分照明、ハイパースペクトル、ダイクロイックミラーマルチプレックスカメラなど）は、サーモクロミック材料のマルチプレックス読出として作用する場合、試験容器上のマーキングは、自動読出のための関心領域（ROI）、すなわち試験位置101を示し得る。マーキングはまた、座標系を提供することによって関心領域を示し得る。この場合関心領域は、既知の予備規定された座標に位置し得る。

【0062】

システム900は、測定光を生じ、試験容器902の試験位置に対して測定光を指向させるように構成された測定光源910を含むことができる。光源910は、測定光を発光するように構成された光エミッタ、例えば発光ダイオード（LED）、ランプおよび/またはレーザーおよび試験容器の試験位置に測定光を指向させるように構成される構成要素を含む。一部の実施において、測定光は、試験容器の試験位置にわたって測定光を走査することによって、例えばミラーを走査することによってまたはミラーもしくはミラーアレイを回転させることによって（デジタルライトプロセッシング）、または音響工学モジュレータによってまたは位相アレイ光学系によって複数の試験位置に対して光学的にマルチプレックスまたは指向される。一部の実施において、測定光走査は、例えばレンズおよび/またはミラーアレイを用いて、複数の試験位置にわたって固定測定光エミッタにより実施されてもよい。一部の実施形態において、試験位置にわたって測定光を走査することは、光源および試験容器を互いに物理的に移動させることによって実施されてもよい。一部の実施形態において、測定光は、光学導波管を通して試験位置に指向されてもよい。一部の実施形態において、測定光は、試験関心領域のサブセットに到達してもよく、または測定光は、例えば試験容器のすべてのサーモクロミック材料領域の総面積を照明することによって同時に試験領域すべてに到達してもよい。

【0063】

一部の実施形態において、測定光は、個々に対処可能な2つ以上の区別可能な測定光源または測定光特徴を含んでもよい。例えば、異なるスペクトル発光特徴を示す2つ以上の個々に切替可能なLEDは、測定光源として作用できる。これらの光源は、異なるスペクトルレジームにおいてサーモクロミック液晶の反射率を交互にプローブできる。光強度検出器、例えばモノクロカメラは、この場合第1のLEDの光スペクトル、および次いで第2のLEDの光について空間的に分解された反射光の強度値を比較できる。故に、一部の実施形態において、非常に異なるスペクトル特徴を有するLEDは、波長シフトを測定するためにモノクロム光検出器で利用できる。あるいは、単一の広い光源（例えばランプ、蛍光体コーティングを有するLEDなど）が測定光を提供するために使用でき、反射光、透過光または散乱光の色識別は、RGBカメラを用いて行われることができる。RGBカメラのスペクトル選択性は、人の目の色選択性を表すことを目的とし、故に色選択性の選択は、RGBカメラが検出器として使用される場合に限定されてもよい。一部の実施形態において、光の異なるフィルタ（例えば誘電透過フィルタ、吸収透過フィルタ）を連続して利用する色感受性カメラシステムが使用でき、またはいくつかの画像センサを使用するカメラシステムが使用でき、進入光は図9Bを参照して以下に議論されるように、ダイクロイックミラーのような色選択性素子によって分割される。

【0064】

システム900は、試験容器のサーモクロミック材料から放射される光、例えば反射、

散乱および/または蛍光のスペクトルにおいて変化を検出するように構成された1つ以上の光学検出器を含む検出器サブシステム920を含む。センサは、フォトダイオード、フォトトランジスタ、光電子増倍管、アバランシェフォトダイオード、波長シフト検出器、RGBカメラ、ハイパースペクトルカメラ、スペクトロメータ、分光器、ダイクロイックミラー撮像面分割型画像センサ、フーリエ分光計、およびダイクロイックミラー撮像面分割型センサの1つ以上を含んでいてもよい。一部の実施形態において、センサと試験位置との間の1対1対応が存在してもよい。他の実施形態において、試験位置よりも少ないセンサが存在してもよく、複数の試験位置から放射される光が、単一のセンサに光学的にデマルチプレックスされる。一部の実施において、光学デマルチプレックスは、異なる期間の間に、複数の試験位置それぞれから放射される光をセンサに選択的に指向することによって達成されてもよい、例えば可動ミラー、例えば走査ミラーまたは回転ミラーまたはミラーアレイ(デジタルライトプロセッシング)を用いるデマルチプレックス、または音響工学モジュレータによるもしくは位相アレイ光学系によるデマルチプレックス。一部の実施において、光学マルチプレックスは、試験容器に対してセンサを物理的に移動させることによって、および/またはセンサに対して試験容器を物理的に移動させることによって達成されてもよい。検出器サブシステム920の出力は、放射光のスペクトル変化を検出、分析および/またはモニターするように構成されるプロセッサ940に提供できる。プロセッサ940は、試験結果を分析するようにおよび/または試験結果のレポートをフォーマットに作成するように構成されてもよく、このフォーマットはコンピュータ制御のユーザーインターフェース950を介して表示でき、送信でき、またはいずれかの方法でユーザーに伝搬できる。一部の実施形態において、プロセッサ940は、試験が行われているときに連続アップデートをユーザーインターフェース950に送信してもよく、ここでユーザーインターフェースは連続的にそのディスプレイをアップデートし、ユーザーは試験結果の通知を迅速に受けることができる。一部の実施において、プロセッサ940は、ユーザーインターフェース950に送信される警告シグナルを生じるように構成されてもよく、ここでユーザーインターフェース950は、プロセッサ940によって送信される警告シグナルに基づいて警告、例えば聴覚および/または視覚警告を生じる。

【0065】

図9Bは、一部の実施形態に従ってサーモクロミック温度センシング試験システム900の一部960を示す。図9Bに示されるシステムの一部は、一部の実施形態に従って試験物質の自動試験を促進する2つのカラーチャンネル971、972を含む。図9Bにおいて、試験位置962Aにて配設されるサーモクロミック材料を有する複数の試験位置962Aを含む試験容器962は、インキュベータ961内に配設されるように示される。インキュベータ961は、試験容器962の周囲環境を制御する。測定光は、例えば広いバンドの測定光を提供する1つ以上の発光デバイスを含む測定光源965によってシステム960に提供される。試験容器962の空間的な領域962Bからの光は、ダイクロイックミラー970によって2つのチャンネルに分離される。結像光学系、例えばレンズ981~983は、空間領域962B、例えば試験容器962とダイクロイックミラー970の間および/または2つのカラーチャンネル971、972の一方もしくは両方において光の経路に配設されてもよい。レンズ981は、ダイクロイックミラー970上にある空間領域962Bからの光を結像する。ダイクロイックミラー970は、2つの異なるカラーチャンネル971、972に光を分離し、各カラーチャンネルはカメラ991、992と関連する。各カラーチャンネル971、972は、異なる波長において、実質的に同じ空間領域962Bの画像962B-1、962B-2を提供する。ダイクロイックミラー970は、中心波長 λ_c を有し、こうして λ_c より大きい波長を有する光が第1のカラーチャンネル971においてカメラ991に指向され、 λ_c 未満の波長を有する光が第2のカラーチャンネル972においてカメラ992に向かって指向される。

【0066】

画像962B-1、962B-2が十分に同一ではない場合、画像962B-1、962B-2における転換、回転またはスケーリング変換が使用されて、画像をオーバーレイ

10

20

30

40

50

でき、結果としてそれらは、実質的に同じ空間領域 9 6 2 B を表す。画像 9 6 2 B - 1、9 6 2 B - 2 は、通常、1 つ、いくつかまたはすべての試験位置 9 6 2 A を含有し、試験位置 9 6 2 A に配設されるサーモクロミック材料を含んでいてもよい。一部の実施形態において、画像 9 6 2 B - 1、9 6 2 B - 2 は、マーキングのような追加情報を含む。追加のマーキングは、コンピュータビジョンおよび画像処理の周知の技術によって同定されてもよく、それらは校正データ、患者データ、機械的位置合わせなどのような操作パラメータを有するシステムを提供してもよい。マーキングに含有されるいずれかの関連情報は、システムのプロセッサ 9 4 0 において処理できる（図 9 A 参照）。画像 9 6 2 B - 1、9 6 2 B - 2 は、各画像ピクセルについて異なる波長領域において異なる光強度の表示を含む。

10

【 0 0 6 7 】

一部の実施形態において、空間領域 9 6 2 B におけるサーモクロミック材料から放射される光は、画像 9 6 2 B - 1、9 6 2 B - 2 に含まれる。これらの実施形態において、色画像 9 6 2 B - 1、9 6 2 B - 2 における各ピクセルについて波長シフトを計算することによって結像領域の温度マップを得ることができる。ピクセルの群は、所与の画像において関心領域（ROI）に組み合わせてもよい。ROI 内において、ピクセルの組み合わせは、例えば ROI の強度を表すために、ROI のピクセル値に基づいて ROI のピクセルの平均強度、ROI の合計強度、ROI の中央強度、またはいずれかの他の数学的操作を計算することによってプロセッサ 9 4 0 により行われてもよい。一部の実施形態において、画像上の ROI は、実質的には試験位置 9 6 2 A とオーバーラップする。複数の ROI は各画像において規定でき、特に画像の各試験位置 9 6 2 A は少なくとも 1 つの ROI と関連し得る。ROI は、それと関連する少なくとも 2 つの値を有する。これらの 2 つの値は、少なくとも 2 つのカラーチャンネルを起源とする光強度を表す。ROI の波長シフトは、例えば、2 つのカラーチャンネルにおける ROI の平均値を他方から差し引き、その値を 2 つの ROI 平均値の合計で除することによって計算されてもよい。一部の実施形態において、ハイパースペクトルカメラシステムは、ROI の波長シフトを決定するために使用される。こうしたシステムにおいて、波長に対するピーク強度は、ROI の最も高い強度を有する波長領域の画像を見出すことによって決定されてもよい。こうした状況において、カラーフレーム間の ROI の強度値を外挿することが可能となり得る。一部の実施形態において、RGB カメラシステムが使用される。ROI の波長シフトは、3 つのチャンネルの 1 つ、例えばブルーチャンネルを省略し、レッドおよびグリーンチャンネルを上記で記載される 2 つのチャンネルとして処理することによって計算されてもよい。レッドおよびグリーンチャンネルを付加し、この合計を第 1 のカラーチャンネルとして、上記で記載されるような第 2 のカラーチャンネルを提供するブルーチャンネルで処理することも可能となり得る。

20

30

【 0 0 6 8 】

カメラに基づく検出システムを用いて、上記で記載されるような ROI における波長シフトを決定するいくつかの方法がある。一部の実施形態において、ROI は試験位置 9 6 2 A を含有でき、サーモクロミック材料は試験位置に熱的に結合される。故に、ROI の波長シフトはその ROI の温度に関連でき、それによって試験容器の試験位置の温度に関連できる。理想的には、カメラシステムは、経時的に試験位置の温度進展を計算するためにすべての試験位置およびすべての陽性および陰性コントロール位置を結像し、それを陽性コントロール位置温度進展と経時的に比較することによって分析する。

40

【 0 0 6 9 】

上記で記載されたシステム実施形態のいずれかは、容器における局所波長シフトをトレースすることによって試験容器の多くの位置の温度進展をトレースするのに適している。少なくとも 1 つのサーモクロミック材料が少なくとも関連する試験位置およびコントロール位置において試験プレートにわたって分配されることを仮定すれば、局所的な波長シフトは、プレート上の局所的な温度を表す。

【 0 0 7 0 】

50

周囲温度変化は、個々の試験位置中／試験位置上の温度変化に独立して、試験プレート全体の波長シフトに影響する。これらの周囲温度変化は、試験プレートにわたって必ずしも均質ではない。試験位置の温度変化は、試験物質を含有しない隣接コントロール位置の温度変化によって参照されることができ、それによって周囲温度変動のコモンモード除去のための試験位置として作用する。コントロール位置は、試験位置を囲んでもよく、または試験位置とは異なるサイズまたは形状を有していてもよいことが注目になる。特に、コントロール位置は、生体物質を含有しなくてもよく、故にこのコントロール位置は、周囲温度変化をトレースする陰性コントロール位置として作用する。各測定時点において陰性コントロール位置の温度を試験位置の温度から差し引くことによって、周囲温度変化に独立して試験位置の温度変化を時間を通して一次までトレースする。陽性コントロール位置は、生体物質の代謝およびそのコロニー増殖を阻害できる薬剤を有していない生体物質を含有する。実際、システム条件、例えば公称周囲温度、周囲ガス組成などは生体物質の増殖を促進するように選択されるべきである。陽性コントロール位置は、他の試験位置が補正される同じ方法で、陰性のコントロール位置からの読取値を用いて周囲温度変化について補正されてもよい。

【0071】

図10Aは、スペクトル分布の中心を決定するために、図9Aにおいて議論される検出器サブシステム920として使用できる波長シフト検出器1000を概念的に示す。それによって、例えばサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルのシフトの存在および／または量は、スペクトル光分布の2つ以上の中心を比較することによって決定できる。サーモクロミック材料から放射され、中心波長 λ_i によって特徴付けられる光1010は、スペクトル変動する光透過構造1020に対するインプット光である。透過構造1020は、その出口表面1020Aの横軸1099に沿った位置の関数として透過関数が変動するように、横変透過関数を有する。透過関数の変動は、例えば勾配に従う波長に関する強度変動を含むことができ、この勾配は横軸1099に沿って継続して均一に変動する場合に、一定の透過勾配であり得る。透過関数の変動は、横軸1099に沿ったステップ様の様式において波長に関して強度が変動する場合に、スパイク様の透過勾配であり得る。より一般的には、光は、インプット光に応答して、透過光またはアウトプット光が波長の関数として横方向の位置で変動する場合に、横変を伴う透過光として本明細書に記載され、この横方向の位置での変動はインプット光には存在しなかった。横方向位置での変動を、領域1042および1044によって図10Aに示す。示されるように、透過構造1020の領域1042は、波長 λ_a 付近を中心とするサブ範囲にサブバンドの光を伝搬する。同様に、領域1044は、波長 λ_b 付近を中心とするサブ範囲においてサブバンドの光を伝搬する。結果として、線1046および1048によってそれぞれ表される領域1042および1044からの光は、異なる位置でフォトセンシング構成要素1060に入射する。中心波長 λ_a によって特徴付けられる光は、位置1062にてフォトセンシング構成要素1060の部分によって主に検出される。中心波長 λ_b によって特徴付けられる光は、位置1064にてフォトセンシング構成要素1060の部分によって主に検出される。インプット光1010を特徴とする中心波長が初期に λ_a である場合、インプット光の波長の λ_b への変化は透過構造1020を出る光の位置の変化を生じる。この位置変化は、フォトセンシング構成要素1060の位置1062および1064において検出される光の変化によって示される。より一般的には、波長 λ_a および λ_b での入射光の強度間の相違は、位置1062および1064の位置にて検出された光の差異によって示されることができる。波長 λ_a および λ_b 間の波長シフトまたは透過構造1020の表面1020Aでの波長分布の別の変化は、位置1062および1064にて提供される光子の関連する量を変化させることができ、2つの位置で提供される量が、それらの変化前とは異なる変化後の互いの関係を有することを意味する。例えば、量は、増大または低減し得るが、1つの位置での量が他方の位置での量より大きいまたはより小さい部分になるような量である；1つの位置での量は、他方の位置での量よりも小さいものから大きいものへ変化でき；または1つの量は増大し得るが、他方は低減し得る；など。これらのタイプの変

10

20

30

40

50

化すべてが経時的に生じ得る。

【0072】

図10Aは、ピークエネルギー値を有する光サブバンドを有する2つの異なる入射スペクトルパターンにตอบสนองしてフォトセンシング構成要素1060にわたって光強度と位置との間の関係を示す。波長 λ_a でのピーク強度を有する第1のパターンは、曲線1066によって表される強度分布を有するフォトセンシング構成要素1060上の光スポットをもたらす。波長 λ_b にピーク強度を有する第2の分布は、同様に、曲線1068によって表される強度分布を有する光スポットをもたらす。理解されるように、透過構造1020からのインプット光1010の狭い光バンドが λ_a から λ_b に連続的に推移する場合に、曲線1066によって表される第1の光スポットは、それが曲線1068によって表される第2の光スポットの位置に到達するまでに、経時的に連続する一連の位置をたどり得る。

【0073】

グラフはまた、第1および第2の光スポットにตอบสนองして、位置1062および1064によってセンシングされる光子の量を示す。第1のスポットがフォトセンシング構成要素1060に提供される場合、フォトセンシング構成要素1060の位置1062は、位置1062によってセンシングされる光子の量にほぼ比例した測定量 I_1 、すなわち I_{a1} を生じ、位置1064によってセンシングされる光子の量にほぼ比例した測定量 I_2 、すなわち I_{b1} を生じる。 I_1 および I_2 は、例えば位置感受性光検出器によって得られる光電流であることができる。第2スポットがフォトセンシング構成要素1060上にある場合、位置1062は、 I_{a2} に比例する量をセンシングし、位置1064は I_{b2} に比例する量をセンシングする。わかるように、位置1062および1064によってセンシングされる相対量は変化し、第1のスポットの相対的な量(I_{a1}/I_{b1})は1より大きく、第2のスポットの相対量(I_{a2}/I_{b2})は1より小さい。同様に、差異($I_{a1} - I_{b1}$)は正の量である一方で、差異($I_{a2} - I_{b2}$)は負の量である。さらに、同様の比較が他の隣接または付近の位置で行われる場合、各スポットのピーク強度位置は、最も高いセンシング量を有するフォトセンシング構成要素上の位置を見つけることによって、近似できる。

【0074】

一部の実施形態において、隣接またはオーバーラップスペクトル領域の強度は、積算され、分布における波長シフトを決定するために比較される。フォトセンシング構成要素1060は、2つの検出器を含んでいてもよく、スペクトル領域にわたる積算は、2つの検出器、例えばフォトダイオード、スプリットフォトダイオードまたは光電子倍增管(PMT)を用いて、2つの隣接領域1062、1064を測定することによって行われることができる。

【0075】

スペクトル変動する透過構造1020は、線形変動性フィルタまた空間分散素子(例えばプリズム、格子など)を含むことができる。フレキシブル測定のために、スタックされたまたは多極のPMTが分光器に使用できる。測定は、少なくとも約0.01Hzから少なくとも約1MHzまでまたはそれ以上の周波数で行われてもよい。横変透過構造1020および位置感受性フォトセンシング構成要素1060の組み合わせは、波長シフトを、10フェムトメートル(fm)より顕著に小さいまたはさらに5fmよりも小さい、例えば約3fmに分解し得る。フォトセンシング構成要素1060の個々のフォトダイオードは、トランスインピーダンスアンプ1080で増幅される光電流 I_1 および I_2 を生じることができる。シグナル減算および加算は、分析器によってサンプリングの前に優れたノイズ性能のためにアナログ回路を用いて行われてもよい。次いで波長分布の中心は、 $i \sim (I_1 - I_2) / (I_1 + I_2)$ によってコンピュータ計算できる。一部の実施形態において、波長シフト検出器1000の総サイズは、フォトセンシング構成要素1060のサイズに近づくことができ、これは載置および長期間の安定性に有益である。本明細書に開示されるサーモクロミック温度センシング手法と関連して使用できるインプット光の波長シフトの測定を含む追加の情報は、同一出願人の米国特許第7,701,590号に記

10

20

30

40

50

載されている。

【0076】

図10Bは、スペクトル検出器1070の別の実施形態を示す。測定光に応答するサーモクロミック材料(図10Bには図示せず)から放射される光1071のすべての波長は、ダイクロイックミラー1072を通して指向される。ダイクロイックミラー1072は、特定の波長領域を反射するが、他の波長領域は透過する。例えばダイクロイックミラー1072は、すべての波長 $\lambda_1 < \lambda_{\text{中心}}$ を透過し、すべての波長 $\lambda_2 \geq \lambda_{\text{中心}}$ を反射できる。2つの異なる検出器である第1の検出器1081および第2の検出器1082は、ダイクロイックミラー1072からの透過光および反射光を回収するように配設される。検出器1081は、ミラーの中心波長 $\lambda_{\text{中心}}$ よりも小さい波長領域に含有される総光強度を測定するために使用されてもよく、検出器1082は、ミラーの中心波長 $\lambda_{\text{中心}}$ よりも大きい波長領域に含有される総光強度を測定するために使用されてもよい。中心波長付近を中心とするスペクトル分布に関して、両方の測定された光強度は、同一である(曲線1071A)。より長い波長にシフトするスペクトル分布(曲線1071B)に関して、検出器1082は、検出器1081よりも高い光強度を測定する。故に上記で記載される方法を用いて使用されるこの検出器は、スペクトル光強度分布を検出する別の方法を示す。

【0077】

一部の実施形態において、追加の光学素子1075が光検出経路に導入されてもよい。例えば、検出器1081、1082の前の追加のバンドパスフィルタは、所与の温度変化に関して最大シフトを示すスペクトル領域に検出された光を制限するために使用されてもよい。一部の実施形態において、追加の光学素子1075は結像レンズを含んでいてもよい。結像は、光検出器が画像検出器、例えばカメラである場合に、特に興味深い場合がある。完全な試験容器の全領域が照明されてもよく、複数の試験部位からの測定光は、試験容器を少なくとも2つのカメラ上で結像させることによって、図10Bに示されるようなスキームにおいて同時にセンシングされてもよい。同時に撮影された2つの画像に関して、色分布、ひいてはすべての試験位置の温度は、ここで両方のカメラにおいて各試験位置に適切なピクセルの記録強度を測定することによって測定できる。試験容器における追加のマーキングは、画像中の試験位置を同定するために使用されてもよい。

【0078】

サーモクロミックセンシングは、種々の医薬品、例えば抗生物質、抗菌剤、抗真菌剤、癌薬剤などの効力試験するような種々の試験プロトコルのために使用されてもよい。図11のフローダイアグラムは、一部の実施形態に従うサーモクロミック試験プロセスを示す。生体物質を、サーモクロミック試験容器の試験位置に配設された培地に挿入する1101。一部の実施形態において、試験物質も培地に配設される。生体物質は、試験位置に位置するサーモクロミック材料に熱的に結合される。サーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する1102。スペクトルシフトは、生体物質によるエネルギー変換によって生じる温度変化に応答して生じる。生体物質によって変換されたエネルギーの量および/または割合は、スペクトルシフトに基づいて決定されてもよい1103。例えば、一部の実施において、生体物質は病原体であり、生体物質によって変換されたエネルギーの量および/または割合は、試験物質、例えば抗生物質に対する生体物質の感受性を示す。一部の実施において、生体物質は、細胞または組織培養液であり、生体物質によって変換されたエネルギーは、突然変異または細胞もしくは組織培養液に対する試験物質の他の作用に関連し得る。

【0079】

上記で議論されるように、サーモクロミックセンシングは、抗生物質または抗菌剤感受性試験に特に有用である。抗菌剤感受性試験の目的は、病原体の可能性としての薬剤耐性を検出すること、および特定の感染のために選択された薬剤に対する病原体の感受性を保証することである。抗菌剤感受性試験は、定量的な結果、例えば抗菌剤試験物質の最小阻害濃度を提供してもよく、および/または病原体に対して試験物質の効力の定性的評価を提供してもよい。多くの細菌によって示される耐性の新規および新興機構は、耐性を正確

10

20

30

40

50

に検出するためにA S Tの能力に関するビジランスが必要である。これらの耐性の新興機構の観点において特に、細菌分離株の抗菌剤に対する感受性レベルの表現型の測定が、今後数年間臨床に関連し続ける可能性がある。

【 0 0 8 0 】

A S Tは、微生物の複製における薬剤の作用を測定し、どの薬剤が細菌を死滅するのに最も適しているかを決定する。A S Tは、どの薬剤がインビボで最良に作用するかを予測するためにインビトロで平行して多くの薬剤を試験してもよい。故に、A S Tは、薬剤の広いサンプルを試験してもよく、結果として処置選択を、特定の細菌のために最も有効な抗菌薬剤に向けることができる。

【 0 0 8 1 】

図 1 1 B は、一部の実施形態に従って試験プロセスを示すフローダイアグラムである。サーモクロミックセンシング試験容器の試験位置は、サンプル 1 1 1 2 で満たされる。サンプルは、培地、生体物質、試験されるべき物質、例えば抗生物質、および一部の実施形態においてはサーモクロミック材料の 1 つ以上を含んでいてもよい。サンプルおよびサンプル付近の他の構造、例えば試験位置およびコントロール位置は、インキュベーションチャンバにおいて熱平衡化される 1 1 1 4。試験位置およびコントロール位置を含む試験容器の 1 つ以上の領域は、測定光で照明される 1 1 1 6。領域の画像は、カメラシステムによって検出される 1 1 1 8。一部の実施において、領域の複数の画像が検出され、画像の位置合わせフィーチャは、画像を位置合わせするためにレジストレーションされる 1 1 2 0。画像間の変換は、位置合わせに基づいて計算される。画像内の関心領域が同定される 1 1 2 2。例えば、関心領域は、試験位置ならびに / あるいは陽性および / または陰性参照コントロール位置を含んでいてもよい。画像の関心領域の光強度 1 1 2 4 および波長シフト 1 1 2 6 が決定される。関心領域の温度が決定され 1 1 2 8、これは試験位置ならびに陽性および / または陰性コントロール位置の温度を決定することを含む。工程 1 1 1 8 から 1 1 2 8 によって示されるプロセスは、試験の結論まで繰り返される。関心領域の温度変化を分析する 1 1 3 0。温度変化に基づくいずれかの重要な知見が報告される 1 1 3 2。一部の実施形態において、位置合わせフィーチャのレジストレーションおよび画像間の変換の計算は、それぞれの測定ループの間に行われるよりむしろ、一回行われて試験のために使用されてもよい。

【 0 0 8 2 】

相当量の細菌分離株の現在の試験は、共通の病原体における可能性としての薬剤耐性を検出するために 1 2 ~ 2 4 時間かかる。本明細書で議論されるサーモクロミックセンシング手法は、インキュベーション容器、例えばインキュベーション試験ウェルの温度をモニターするために光学熱量測定を使用し、それによって病原体培養液の増殖を決定する。開示された手法は、検出感度を顕著に増大させることによって A S T を加速でき、終点測定によるのではなくむしろ、実際の時間で細菌増殖（またはその不存在）をモニターする能力を提供する。一部の実施形態において、本明細書に記載されるサーモクロミックセンシング技術の使用は、現在の手法に比較した場合に、60%を超えて、70%を超えて、またはさらに80%を超えて、抗生物質の最小阻害濃度を得るために必要とされる時間を短縮できる。図 1 2 A は、一部の実施形態に従ってサーモクロミックセンシングを用いる熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。患者サンプルが血液培養機器による増殖に関して陽性としてフラッグされた後（1 2 1 0）、サンプルのアリコートはグラム染色に供され（1 2 2 0）、グラム陰性またはグラム陽性として細菌を同定する。血液培養培地から分離し、適切な濃度に懸濁した後、細菌を T O A S T 用の試験容器に導入する（1 2 3 0）。細菌は、試験容器の試験位置の培地中で培養し 1 2 4 0、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および / または組み合わせの抗生物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設され、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する 1 2 5 0。異なるタイプ、濃度および / または組み合わせの抗生物質に対する細菌の感受性はスペクトルシフトに基づいて決定される 1

10

20

30

40

50

260。

【0083】

図12Bは、一部の実施形態に従ってサーモクロミックセンシングを用いるためのプロセスを示すフローダイアグラムである。患者サンプルが血液培養機器による増殖に関して陽性としてフラッグされた後(1210B)、サンプルのアリコートはグラム染色に供され(1220B)、グラム陰性またはグラム陽性として細菌を同定する。培養液は、例えば標準生化学試験または迅速質量分析法を介して同定試験に供される(1230B)。細菌の同定の後、細菌をT O A S Tのために試験容器に導入する(1240B)。細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養し1250B、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設され、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する1260B。異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質に対する細菌の感受性はスペクトルシフトに基づいて決定される1270B。

【0084】

図13Aは、一部の実施形態に従ってサーモクロミックセンシングを用いる細菌同定および熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。患者サンプルが血液培養機器による増殖に関して陽性としてフラッグされた後(1310)、サンプルのアリコートはグラム染色に供され(1320)、グラム陰性またはグラム陽性として細菌を同定する。血液培養培地から分離し、適切な濃度に懸濁した後、細菌を同定(1330)用およびT O A S T(1350)用の試験容器に導入する。同定1330のために、細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養され1335、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの試験物質および指標物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設され、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する1370。細菌の同定は、例えば図8の記載において説明されるように、スペクトルシフトに基づいて決定される1375。加えて、試験物質および指標物質の存在下、細菌のインキュベーションから得られた増殖培地の色変化を検出する1340。細菌同定は、増殖培地の色変化に基づいて決定される1345。T O A S T 1350のために、細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養し1355、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設され、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する1360。異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質に対する細菌の感受性はスペクトルシフトに基づいて決定される1365。

【0085】

図13Bは、一部の実施形態に従ってサーモクロミックセンシングを用いる細菌同定および熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。患者サンプルが血液培養機器による増殖に関して陽性としてフラッグされた後(1310B)、サンプルのアリコートはグラム染色に供され(1320B)、グラム陰性またはグラム陽性として細菌を同定する。血液培養培地から分離し、適切な濃度に懸濁した後、細菌を同定(1330B)用および抗菌剤感受性試験T O A S T(1350B)用の試験容器に導入する。同定のために、細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養し1335B、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの試験物質および指標物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設され、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する1340B。細菌の同定は、スペクトルシフトに基づいて決定される1345B。T O A S Tのために、細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養し1355B、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設さ

れ、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する 1360 B。異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質に対する細菌の感受性はスペクトルシフトに基づいて決定される 1365 B。

【0086】

図13Cは、一部の実施形態に従ってサーモクロミックセンシングを用いる細菌同定および熱光学抗菌剤感受性試験のためのプロセスを示すフローダイアグラムである。患者サンプルが血液培養機器による増殖に関して陽性としてフラッグされた後(1310C)、サンプルのアリコートはグラム染色に供され(1320C)、グラム陰性またはグラム陽性として細菌を同定する。血液培養培地から分離し、適切な濃度に懸濁した後、細菌を同定(1330C)用およびT O A S T (1350C)用の試験容器に導入する。同定のために、細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養し1335C、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの試験物質および指標物質を含有する。試験物質および指標物質の存在下、細菌のインキュベーションから得られた増殖培地の色変化を検出する1340C。細菌同定は、増殖培地の色変化に基づいて決定される1345C。T O A S T のために、細菌は、試験容器の試験位置にて培地中で培養し1355C、ここで異なる試験位置は、異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質を含有する。サーモクロミック材料は試験位置に配設され、細菌のエネルギー変換をセンシングするために熱的に結合される。試験位置それぞれのサーモクロミック材料から放射される光のスペクトルシフトを検出する1360C。異なるタイプ、濃度および/または組み合わせの抗生物質に対する細菌の感受性はスペクトルシフトに基づいて決定される1365C。

【0087】

細菌は、生きている場合はセルあたり2 pWのオーダーで生じる。故に盛隆な病原体培養液は、有糸分裂または他の複製機構による培養増殖により、それらのエネルギー変換を経時的に増大させる。培養液の阻害されたまたは低下するエネルギー変換アウトプットは培養死を示す。抗菌剤感受性試験において、培養液の阻害または低下エネルギー変換アウトプットは、抗菌剤薬剤の効力に関連する。本明細書に記載される試験容器および/または波長シフト検出器と関連して記載されるサーモクロミックセンシング試験容器を用いるサーモクロミックセンシングは、約100 Hzのサンプリング割合にて 3 f mの波長変化を分解でき、これは約60ナノケルビン(nK)の温度変化についての解像度を提供する。14ビットの解像度でサンプリングされた50 nm/Kのスペクトルシフトを示すサーモクロミック材料を用いる場合に温度測定バンド幅は、約1ミリケルビン(mK)である。図14Aは、本明細書で議論された波長シフト検出器を用いて、サーモクロミックセンシングの1 mK(約290分)の範囲にわたって、抗生物質を用いない場合(グラフ1401)と最小阻害濃度(MIC)の抗生物質を用いる場合(グラフ1402)とに関して、増殖E . c o l i コロニーについての時間に対する温度 T (K)の変化を示すグラフを示す。総試験体積は0.1 mlであると仮定すると、初期細菌濃度は、mlあたり500000コロニー形成ユニットであることが仮定される。

【0088】

図14Bは、コロニー増殖の最初の20分に対応するグラフ1401、1402の一部を示す。図14Bの T 軸に沿った目盛線は、波長シフト検出器の60 nKの解像度を示す。故に、本明細書に開示される手法を用いて最初の約10~20分の試験は、抗菌剤試験のためのMICを同定するのに十分な増殖トレンドを示すことができることが、図14Bのグラフから理解される。特に、阻害されていないコロニー増殖は試験部位の温度の指数関数的増大をもたらす。故に試験部位の上昇温度は、隆盛な細菌コロニーを示し、阻害された増殖と比較するために温度参照として使用できる。阻害されたコロニー増殖は、増殖が全く起こらない場合に、より小さな温度増大をもたらすか、または一定温度になる。故に生体物質の阻害されたおよび阻害されていない増殖を伴う試験部位は、経時的にそれらの異なる温度進展によって同定できる。故に生体物質は伴うが、増殖阻害剤は伴わない

試験ウェルは、一部の実施形態において陽性のコントロール部位として作用する。抗菌剤感受性試験の間、異なる抗菌薬を有する異なる試験部位は、異なる時間での薬剤の作用を示し得る。1つの薬剤は、第2の薬剤よりも迅速に微生物に作用できるが、両方の薬剤は、対象とする細菌コロニーを阻害するのに有効であり得る。故に、異なる試験部位において温度の連続的な報告は、第2の薬剤の効力または第1の薬剤の第2の濃度の効力についてよりも早く特定薬剤の効力についての情報を与えてもよい。結果として、試験部位の差動温度の連続的な報告は、こうした試験部位の細胞生存率の連続的な表示を提供し得る。終点測定とは異なり、こうした報告システムは、現在のところ最良に機能する試験物質について連続的にすべてのユーザーにアップデートできる。臨床診療において、医師は、自動化様式、例えば電子メールまたはテキストメッセージによって、対応するウェル中のエネルギー変換が長期間連続して低かった場合に、特定の患者に有効な第1の薬剤が同定されていることをT O A S Tシステムにより知ることができる。同時に、インキュベータの温度制御された環境内であっても周囲温度は、試験部位の温度上昇に比べて顕著にドリフトし得る。一部の実施形態において、生体物質を有していない陰性のコントロール部位またはウェルは、周囲温度のドリフトを評価するために使用される。

【0089】

細菌増殖に限定されないが、これらを含む生体物質の増殖を阻害する試験物質の効力を評価するために、試験位置の温度進展を経時的にモニターする。試験プレートの完全なインキュベーションおよび読出システムへの初期挿入の後、温度は強く変動し、初期温度読取は無視されることが予測される。十分な温度安定化の後、陽性コントロール位置は、例えば1401に示されるように、温度変化を示す。生体物質の増殖を有効に阻害する試験物質を有する試験位置は、1402に示されるように温度進展を示す。増殖を阻害するだけでなく、細胞障害性または殺菌作用を生じ、結果としてネクロシスもしくはアポトーシスまたは生体物質の死もしくは代謝低減のいずれかの他の形態が誘導される試験物質は、陽性コントロール位置に比べて試験位置の温度低下をもたらす。経時的な温度変化は、一般に、陽性コントロール位置の1つと陰性コントロール位置の1つとの間にある。試験物質に対する生体の応答を決定するためにいくつかの計量を使用できる。単純な非限定例として、陽性コントロール位置と試験位置との間の温度差の絶対値は、試験位置での試験物質の阻害されない増殖を決定するために、実験期間の過程において、特定の閾値、例えば10 μ K未満を維持する。あるいは同じ閾値計算は、いくつかの陽性コントロール位置の温度を平均することによって行うことができる。阻害または非阻害増殖計量のための別の例は、コントロール位置の絶対温度によって規格化される温度差であってもよい。計量の別の例は、時間に対する温度導関数の考慮であってもよい。評価手順の別の例は、温度-時間進展データへの曲線適合、例えば指数関数的増殖適合であってもよい。次いでコントロールおよび試験位置の個々の適合パラメータは、試験位置の生体物質の増殖またはその欠失を評価するために使用されてもよい。これらは、T O A S Tシステムにおいて生じた基本的なデータから意味のある情報を抽出するために使用できる可能性としてのデータ評価概念の単なる例であることが理解される。生体および特定の試験の実際の意図に依存して、これらの概念またはその他が利用されてもよい。

【0090】

特に断らない限り、明細書および特許請求の範囲において使用されるフィーチャサイズ、量および物理的特性を表現するすべての数は、用語「約」によってすべての場合に修飾されることが理解されるべきである。従って、反対のことが示されない限り、前述の明細書および添付の特許請求の範囲に記載される数値パラメータは、本明細書に開示される教示を利用する当業者が得ようとする所望の特性に依存して変動し得る近似値である。終点によって数値範囲が使用されることは、この範囲内のすべての数字（例えば1～5は1、1.5、2、2.75、3、3.80、4および5を含む）およびこの範囲内のいずれかの範囲を含む。

【図 1】

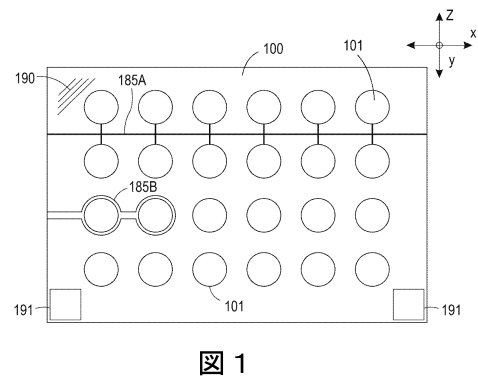


図 1

【図 2】

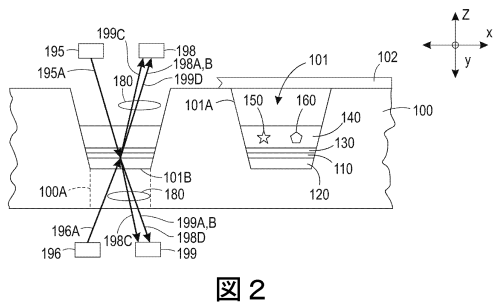


図 2

【図 4】

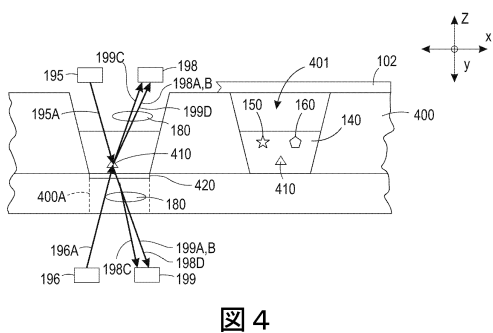


図 4

【図 5】

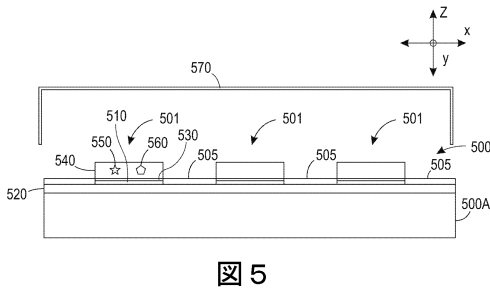


図 5

【図 3】

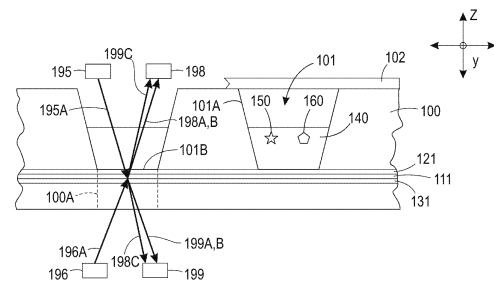


図 3

【図 6】

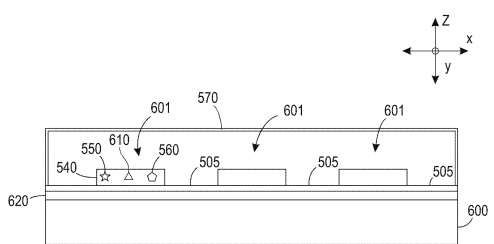


図 6

【図 7】

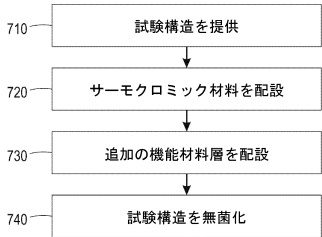


図 7

【図 8】

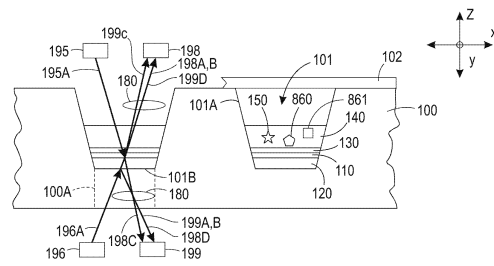


図 8

【図 9 A】

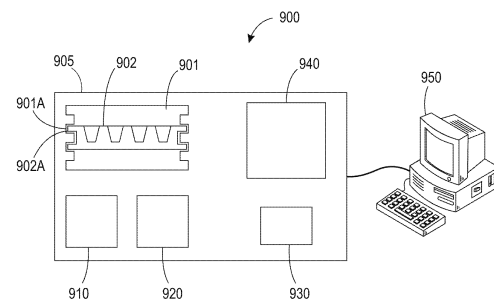


図 9 A

【図 9 B】

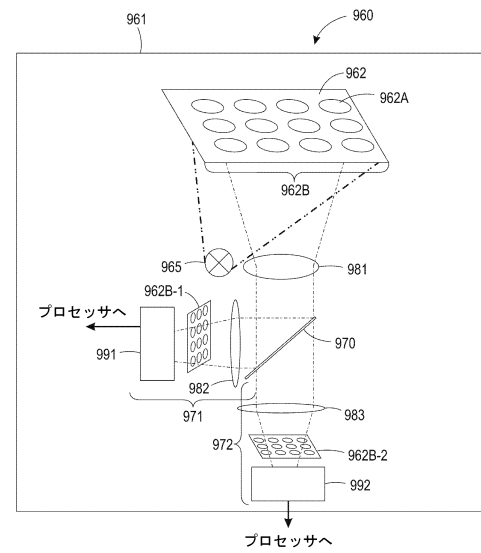


図 9 B

【図 10 A】

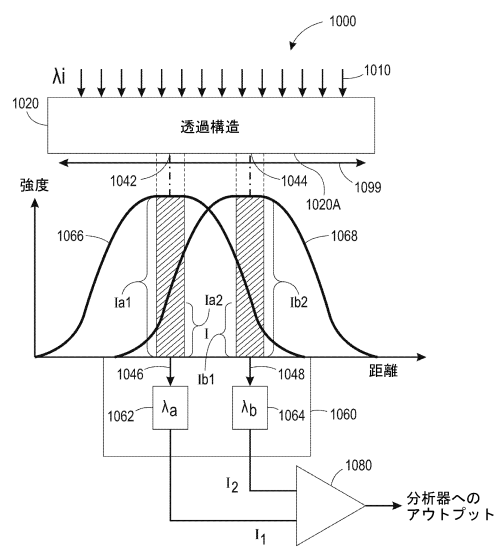


図 10 A

【図 10 B】

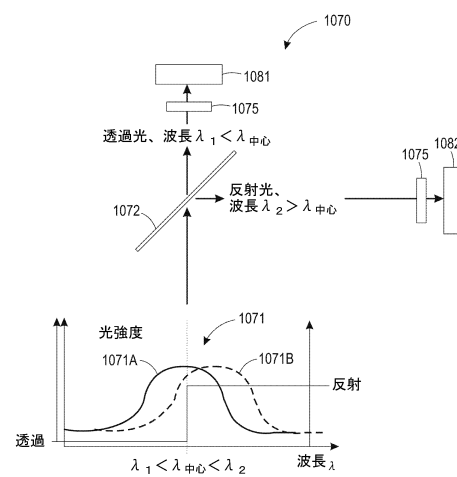


図 10 B

【図 1 1 A】

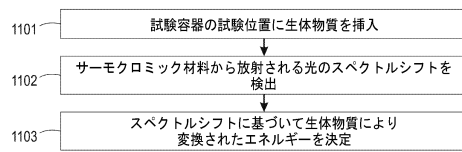


図 1 1 A

【図 1 1 B】

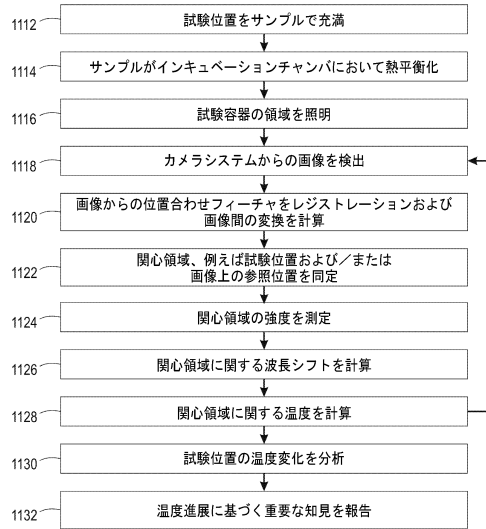


図 1 1 B

【図 1 3 A】

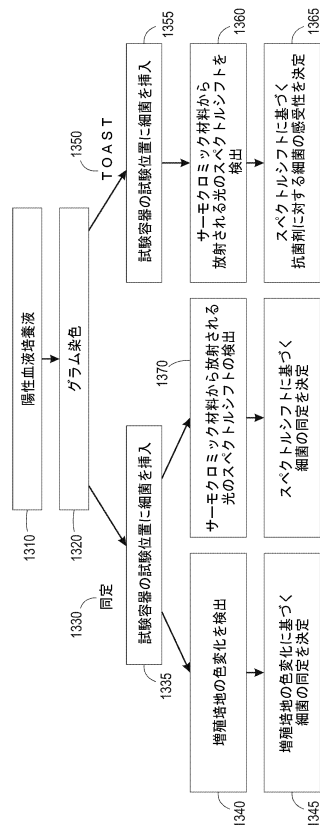


図 1 3 A

【図 1 2 A】

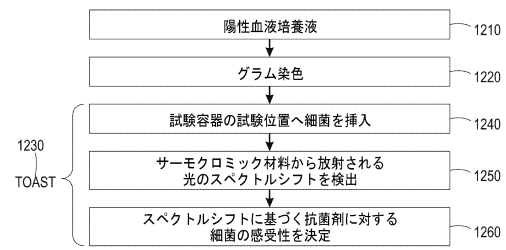


図 1 2 A

【図 1 2 B】

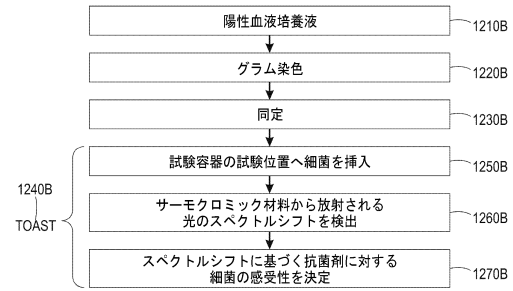


図 1 2 B

【図 1 3 B】

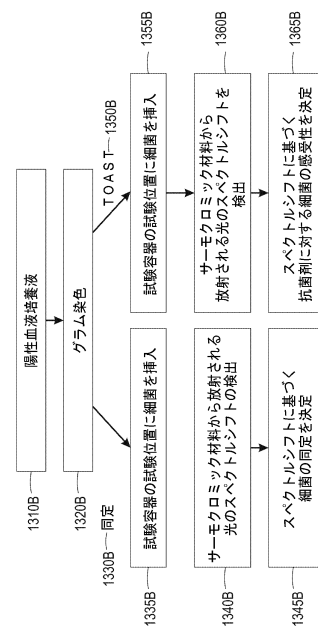


図 1 3 B

【図 1 3 C】

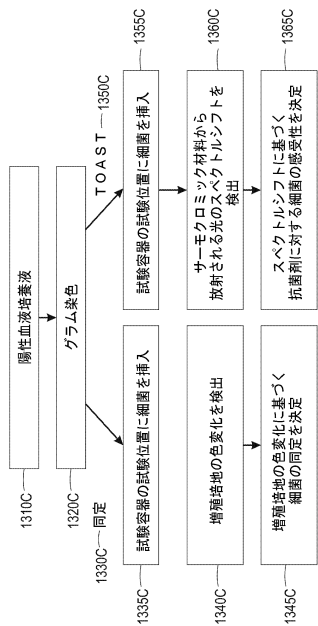


図 1 3 C

【図 1 4 A】

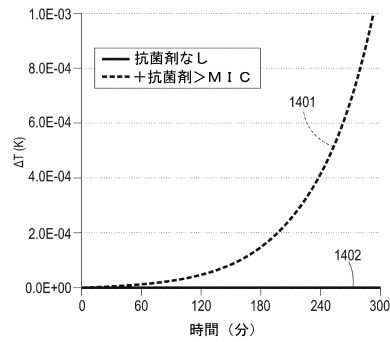


図 1 4 A

【図 1 4 B】

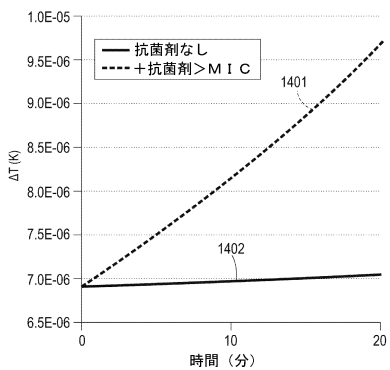


図 1 4 B

フロントページの続き

- (74)代理人 100109070
弁理士 須田 洋之
- (74)代理人 100109335
弁理士 上杉 浩
- (74)代理人 100120525
弁理士 近藤 直樹
- (72)発明者 ジョエル・マルティニ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94107 サンフランシスコ ミネソタ・ストリート 9
23
- (72)発明者 マイケル・アイ・レヒト
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94070 サン・カルロス ノール・ドライブ 688
- (72)発明者 ピーター・キーゼル
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94306 パロ・アルト エル・セントロ 3795

審査官 斉藤 貴子

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2013/0225441(US,A1)
国際公開第00/024438(WO,A1)
国際公開第2012/094426(WO,A1)
特表2010-505490(JP,A)
特開2006-058301(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)
C12Q C12M
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)