



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0137608  
(43) 공개일자 2024년09월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 35/10 (2006.01) G01N 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
G01N 35/10 (2013.01)  
G01N 2035/00495 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7027133
- (22) 출원일자(국제) 2023년01월13일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년08월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2023/050337
- (87) 국제공개번호 WO 2023/135574  
국제공개일자 2023년07월20일
- (30) 우선권주장  
63/299,555 2022년01월14일 미국(US)

- (71) 출원인  
디폴 다이어그노스틱스 에스.엘.  
스페인 08028 바르셀로나 바르셀로나 발디리 레익  
사크 4-8
- (72) 발명자  
브루 지페르트 라파엘  
스페인 08028 바르셀로나 바르셀로나 발디리 레익  
사크 4-8 디폴 다이어그노스틱스 에스.엘. 내  
카레라 파브라 조르디  
스페인 08028 바르셀로나 바르셀로나 발디리 레익  
사크 4-8 디폴 다이어그노스틱스 에스.엘. 내  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 김윤기

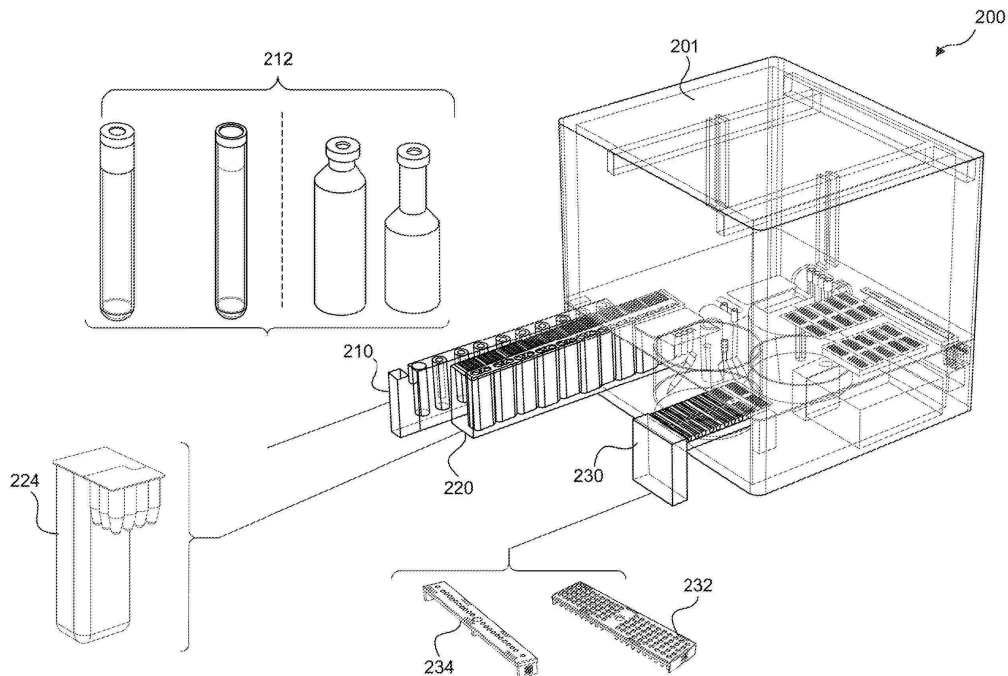
전체 청구항 수 : 총 99 항

(54) 발명의 명칭 **항균제 감수성 테스트를 위한 시스템들, 방법들, 및 디바이스들**

**(57) 요약**

혈액 샘플들로부터 직접 항균제 감수성 테스트(AST)를 하기 위한 시스템들, 방법들, 및 디바이스들이 본 명세서에 설명되어 있다. 샘플들을 강화하기 위한 시스템은 하나 이상의 원심 분리기를 이용하여 샘플들을 처리 및 테스트하기 위해, 샘플 용기들을 수용하도록 구성된 하우징, 샘플 준비 카트리지들, 및 AST 카트리지들, 피펫팅 시 (뒷면에 계속)

**대표도**



스텝들, 제어기, AST 서브시스템, 자석 스테이션, 현미경, 및 하우스징 내부에 배치된 가열기를 포함한다. 시스템은 격막 및 바늘 기반 피펫팅 시스템을 이용하여 샘플을 혈액 샘플 용기로부터 샘플 준비 카트리지에서 처리 튜브 내로 이송하도록 구성된다. 샘플의 이송 시에, 시스템은 신속한 검출을 위해 샘플에서의 병원체들을 분리, 강화, 및 농축하는 단계들을 수행한다. 그 후 시스템은 강화된 샘플의 분취액들을 AST 카트리지에서 항균제 포함 반응 웰들 내로 분배하고, 인큐베이션 후에 각각의 반응 웰의 이미지들을 획득하고, 획득된 이미지들을 분석하는 것에 기초하여 항균제들에 대한 병원체 감수성을 결정한다.

(52) CPC특허분류

G01N 2035/103 (2013.01)

(72) 발명자

**마리 알미랄 마르타**

스페인 08028 바르셀로나 바르셀로나 발디리 레익  
사크 4-8 디폴 다이어그노스틱스 에스.엘. 내

**산글라스 바울레나스 아리아드나**

스페인 08028 바르셀로나 바르셀로나 발디리 레익  
사크 4-8 디폴 다이어그노스틱스 에스.엘. 내

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

방법으로서,

분석기 디바이스에 의해, 샘플 준비 카트리지와 및 샘플 용기를 수용하는 단계 - 상기 샘플 용기는 병원체들을 포함하는 샘플을 포함함 -;

상기 분석기 디바이스에서의 피펫터 시스템에 상기 샘플 준비 카트리지로부터의 제1 바늘을 설치하는 단계;

상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 샘플 용기 내로 상기 제1 바늘을 삽입하는 단계;

상기 샘플의 적어도 일부를 상기 샘플 용기로부터 상기 제1 바늘을 통해 상기 샘플 준비 카트리지에서 처리 튜브로 이송하는 단계;

상기 분석기 디바이스를 이용하여 상기 처리 튜브에서의 상기 이송된 샘플의 상기 병원체들을 농축 및 강화하여, 상기 처리 튜브에 강화된 샘플을 초래하는 단계;

상기 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 상기 분석기 디바이스에서의 항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지에서 복수의 반응 웰들에 분배하는 단계 - 각각의 분취액은 각각의 반응 웰에 대응하고, 각각의 반응 웰은 미리 결정된 농도의 항균제를 포함함 -;

상기 분취액들에서의 상기 병원체들과 각각의 반응 웰에서의 항균제 사이에 반응이 발생하기 위한 미리 결정된 시간 기간 동안 상기 AST 카트리지의 상기 반응 웰들에서의 상기 분취액들을 인큐베이팅하는 단계;

상기 분석기 디바이스에서의 현미경을 이용하여 상기 AST 카트리지에서 각각의 반응 웰의 이미지를 획득하는 단계; 및

상기 분석기 디바이스에서의 상기 현미경에 결합된 프로세서에 의해, 상기 이미지를 분석함으로써 각각의 반응 웰에서의 상기 항균제에 대한 상기 병원체들의 감수성을 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 샘플 용기는 상기 병원체들이 성장하지만 성장 플래토에 도달하지 않는 것을 허용하기 위해 일정 양의 시간 동안 상기 샘플이 인큐베이팅되는 혈액 배양 병인, 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 샘플 용기는 혈액 샘플 튜브인, 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 병원체들을 라벨링 및 카운팅하기 위해 형광 염료 및 상기 분석기 디바이스에서의 상기 현미경을 이용하여 상기 이송된 샘플에서의 상기 병원체들의 수를 식별하는 단계; 및

상기 식별에 응답하여, 상기 이송된 샘플을 강화 또는 희석하여 상기 강화된 샘플에서의 미리 결정된 수의 병원체들을 획득하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 분석기 디바이스를 이용하여 상기 이송된 샘플의 상기 병원체들을 농축하는 것은,

상기 처리 튜브를 상기 분석기 디바이스에서의 원심 분리기로 이동하는 것;

상기 원심 분리기에서 상기 처리 튜브를 원심 분리하여 상기 이송된 샘플에서의 상기 병원체들을 농축하는 것;  
및

상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 처리 튜브로부터 유체를 제거하여, 상기 처리 튜브에 상기 농축된 병원체들을 남기는 것을 포함하는, 방법.

#### **청구항 6**

제5항에 있어서,

상기 샘플은 혈액 샘플이고, 상기 방법은, 상기 처리 튜브의 원심 분리 전에,

하나 이상의 용해 시약을 상기 처리 튜브에 추가하는 단계; 및

상기 혈액 샘플에서의 혈액 세포들을 용해하기 위해 상기 처리 튜브에서 상기 하나 이상의 용해 시약을 상기 혈액 샘플과 혼합하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### **청구항 7**

제6항에 있어서,

상기 하나 이상의 용해 시약은 하나 이상의 사포닌 기반 완충제를 포함하는, 방법.

#### **청구항 8**

제6항에 있어서,

상기 하나 이상의 용해 시약은 하나 이상의 세제, 계면활성제, 또는 프로테아제를 포함하는, 방법.

#### **청구항 9**

제5항에 있어서,

상기 강화된 샘플을 획득하기 위해 상기 처리 튜브를 원심 분리하고 상기 처리 튜브로부터 상청액을 제거함으로써 추가적인 미리 결정된 시간 기간 후에 상기 농축된 병원체들을 세정하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### **청구항 10**

제5항에 있어서,

상기 처리 튜브는 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들에 부착하도록 구성된 자기 비드들을 더 포함하고, 상기 방법은,

상기 분석기 디바이스에서의 자석 스테이션을 이용함으로써 상기 처리 튜브에서의 상기 자기 비드들에 부착된 상기 농축된 병원체들을 보유하는 단계; 및

상기 처리 튜브로부터 이물질 액체를 제거하여, 상기 농축된 병원체들을 갖는 상기 강화된 샘플을 초래하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### **청구항 11**

제10항에 있어서,

상기 자기 비드들은 비특정 리간드들로 코팅되는, 방법.

#### **청구항 12**

제10항에 있어서,

상기 자기 비드들은 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들 중 특정 병원체에 특정한 특정 리간드들로 코팅되는, 방법.

**청구항 13**

제10항에 있어서,

상기 자기 비드들에 상기 농축된 병원체들을 부착한 후에 그러나 자석으로 상기 자기 비드들에 부착된 상기 농축된 병원체들을 보유하기 전에 프로테아제들 및/또는 DNase들로 처리하는 것을 추가하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 14**

제5항에 있어서,

상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들에 하나 이상의 위시 물질을 추가하여, 상기 농축된 병원체들로부터 임의의 혈액 성분들 또는 잔해물을 세정 및 제거하여, 상기 처리 튜브에 상기 강화된 샘플을 남기는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 15**

제14항에 있어서,

상기 하나 이상의 위시 물질은 하나 이상의 완충제, 세제, 계면활성제, 및 프로테아제의 조합을 포함하는, 방법.

**청구항 16**

제1항에 있어서,

상기 강화된 샘플의 상기 복수의 분취액들을 상기 반응 웰들에 분배하기 전에 액체 형태로 상기 AST 카트리지에 서의 각각의 반응 웰에 상기 항균제를 추가하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 17**

제1항에 있어서,

상기 AST 카트리지에서의 각각의 반응 웰에서의 상기 항균제는 상기 강화된 샘플의 상기 복수의 분취액들을 상기 반응 웰들에 분배하기 전에 건조 또는 동결 건조 형태인, 방법.

**청구항 18**

제1항에 있어서,

상기 복수의 분취액들을 상기 복수의 반응 웰들에 분배하는 단계는 상기 샘플 준비 카트리지에서의 제2 바늘이 상기 반응 웰들의 각각의 격막들을 관통하는 것에 의해 그리고 상기 제2 바늘이 각각의 반응 웰의 바닥 벽과 접촉하지 않고서 상기 분취액들의 비접촉 분배를 수행하기 위해 제트 분배를 이용하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 19**

제18항에 있어서,

상기 제2 바늘은 상기 제1 바늘과 동일한, 방법.

**청구항 20**

제18항에 있어서,

상기 제2 바늘에 의해 분배된 각각의 분취액의 용량은 약 0.5 마이크로리터 내지 약 10 마이크로리터의 범위에 있는, 방법.

**청구항 21**

제1항에 있어서,

상기 샘플에서의 상기 병원체들의 수는 200 미만인, 방법.

**청구항 22**

제1항에 있어서,

상기 강화된 샘플에서의 상기 병원체들의 수는 약 1,000 내지 약 100,000의 범위에 있는, 방법.

**청구항 23**

제1항에 있어서,

상기 강화된 샘플에서의 상기 병원체들의 수는 약 10,000인, 방법.

**청구항 24**

제1항에 있어서,

각각의 반응 웰은 내측 표면 및 외측 표면을 갖는 바닥 벽을 포함하고, 상기 분취액들에서의 상기 병원체들과 각각의 반응 웰에서의 상기 항균제 사이의 반응은 상기 AST 카트리지에서 각각의 반응 웰의 상기 바닥 벽의 상기 내측 표면 위에서 발생하고, 상기 AST 카트리지의 상기 이미지는 상기 AST 카트리지에서 각각의 반응 웰의 상기 바닥 벽의 상기 외측 표면에서 획득되는, 방법.

**청구항 25**

제1항에 있어서,

상기 분취액들의 인큐베이션을 위한 상기 미리 결정된 시간 기간은 약 2시간 이하인, 방법.

**청구항 26**

제1항에 있어서,

각각의 반응 웰에서의 상기 분취액들의 상기 인큐베이션 후에, 상기 AST 카트리지의 상기 이미지를 획득하기 위해 상기 AST 카트리지를 상기 분석기 디바이스에서의 원심 분리기로 이동하여, 각각의 분취액에서의 상기 병원체들을 각각의 반응 웰의 바닥 벽으로 이동하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 27**

제1항에 있어서,

각각의 반응 웰에서의 상기 분취액들의 상기 인큐베이션 후에, 상기 AST 카트리지의 상기 이미지를 획득하기 위해 상기 분석기 디바이스에서의 자석을 이용하여 각각의 분취액에서의 상기 병원체들을 각각의 반응 웰의 바닥 벽으로 이동하는 단계 - 상기 병원체들은 각각의 분취액에서의 자기 비드들에 부착됨 - 를 더 포함하는, 방법.

**청구항 28**

제1항에 있어서,

상기 이미지를 획득하기 전에 상기 반응 웰들의 상기 분취액들에서의 상기 병원체들을 염색하기 위해 각각의 반응 웰에 제1 형광 염료를 추가하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 29**

제28항에 있어서,

각각의 반응 웰에 상기 제1 형광 염료를 추가하는 것은 상기 샘플 준비 카트리지에서 제2 바늘이 상기 반응 웰들의 각각의 격막들을 관통하는 것에 의해 그리고 상기 제2 바늘이 각각의 반응 웰의 바닥 벽과 접촉하지 않고서 상기 제1 형광 염료의 비접촉 분배를 수행하기 위해 제트 분배를 이용하는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 30**

제29항에 있어서,

상기 제2 바늘에 의해 각각의 반응 웰에 분배되는 상기 제1 형광 염료의 용량은 약 0.5 마이크로리터 내지 10

마이크로리터의 범위에 있는, 방법.

**청구항 31**

제30항에 있어서,

상기 제2 바늘은 상기 제1 바늘과 동일한, 방법.

**청구항 32**

제28항에 있어서,

상기 이미지를 획득하는 단계는 상기 AST 카트리지의 각각의 반응 웰에서 상기 제1 형광 염료를 검출하기 위해 하나 이상의 형광 이미지를 획득하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 33**

제32항에 있어서,

상기 이미지를 분석하는 것은 상기 AST 카트리지에서의 각각의 반응 웰에서의 형광 병원체들의 수를 계산하는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 34**

제28항에 있어서,

상기 이미지를 획득하는 단계 전에 각각의 반응 웰에 제2 형광 염료를 추가하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 35**

제34항에 있어서,

상기 제1 형광 염료는 상기 반응 웰들의 상기 분취액들에서의 살아있는 세포들을 라벨링하는 DNA-결합 염료를 포함하고, 상기 제2 형광 염료는 상기 반응 웰들의 상기 분취액들에서의 죽은 세포들을 라벨링하거나 온전한 세포 멤브레인에 투과적이지 않은 형광 삼입제를 포함하는, 방법.

**청구항 36**

제35항에 있어서,

상기 병원체들의 감수성을 결정하는 단계는 상기 제1 형광 염료 및/또는 상기 제2 형광 염료에 의한 상기 분취액들에서의 상기 세포들의 염색에 기초하여 상기 세포들의 염색에 기초하여 상기 병원체들 중 하나 이상이 각각의 반응 웰에서의 상기 항균제에 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 37**

제36항에 있어서,

특정 병원체가 반응 웰에서의 특정 항균제에 내성이 있다고 결정하는 것은,

상기 제1 형광 염료 및/또는 상기 제2 형광 염료에 의한 상기 분취액들에서의 상기 세포들의 염색에 기초하여 상기 살아있는 세포들의 수에 대한 상기 죽은 세포들의 수의 비율이 미리 결정된 농도의 상기 특정 항균제에 대한 미리 정의된 임계값 미만이라고 결정하는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 38**

제1항에 있어서,

상기 병원체들의 상기 감수성을 결정하는 단계는 제1 형광 염료에 의한 상기 분취액들에서의 세포들의 염색에 기초하여 상기 병원체들 중 하나 이상이 각각의 반응 웰에서의 항균제에 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 39**

제1항에 있어서,

상기 복수의 반응 웰들 중 제1 반응 웰은 제1 농도의 항균제를 포함하고, 상기 제1 농도는 상기 항균제 및 상기 병원체에 대한 임상 중단점보다 더 높은 고투여량인, 방법.

#### 청구항 40

제39항에 있어서,

상기 병원체들의 상기 감수성을 결정하는 단계는 상기 제1 반응 웰의 이미지들을 약 1시간 내에 고도로 내성인 병원체들을 결정하기 위해 제어와 비교하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 41

제1항에 있어서,

상기 프로세서에 의해, 상기 AST 카트리지의 상기 이미지에 기초하여 하나 이상의 병원체에서의 특정 병원체의 성장을 억제하기 위한 특정 항균제의 최소 억제 농도(MIC)를 결정하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 42

제41항에 있어서,

상기 프로세서에 의해, 상기 프로세서에 통신가능하게 결합된 데이터베이스에서 규칙들의 세트를 파싱함으로써 상기 특정 항균제의 MIC의 값에 기초하여 상기 특정 병원체가 상기 특정 항균제에 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 43

항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지로써,

복수의 반응 웰들을 포함하는 베이스 - 각각의 반응 웰은 바닥 벽을 포함하고, 상기 바닥 벽은 광학적으로 투명함 -;

상기 베이스 위에 배치된 격막 - 상기 격막은 상기 복수의 반응 웰들에서의 각각의 반응 웰을 밀봉함 -; 및

상기 격막 위에 배치된 커버를 포함하고,

상기 복수의 반응 웰들에서의 각각의 반응 웰은 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 각각의 분취액과 반응하기 위한 미리 결정된 농도의 항균제를 포함하고, 상기 항균제는 각각의 반응 웰 내에 배치되는, AST 카트리지.

#### 청구항 44

제43항에 있어서,

각각의 반응 웰에서의 상기 항균제는 액체 형태인, AST 카트리지.

#### 청구항 45

제43항에 있어서,

각각의 반응 웰에서의 상기 항균제는 건조 또는 동결 건조 형태인, AST 카트리지.

#### 청구항 46

제43항에 있어서,

상기 복수의 반응 웰들에서의 각각의 반응 웰의 상기 바닥 벽은 광학 조사를 위해 구성되는, AST 카트리지.

#### 청구항 47

제43항에 있어서,

상기 복수의 반응 웰들에서의 각각의 반응 웰의 상기 바닥 벽은 형광 현미경 검사를 위해 구성되는, AST 카트리지.

지.

**청구항 48**

제43항에 있어서,  
각각의 반응 웰의 상기 바닥 벽의 직경은 약 2 mm 미만인, AST 카트리지.

**청구항 49**

제43항에 있어서,  
각각의 반응 웰은 원뿔 형상을 포함하는, AST 카트리지.

**청구항 50**

제43항에 있어서,  
각각의 반응 웰은 각각의 반응 웰의 상기 바닥 표면과 접촉하지 않고 상기 반응 웰의 상기 격막을 관통하는 바늘에 의한 상기 분취액의 비접촉 분배에 의해 병원체들을 포함하는 상기 강화된 샘플의 상기 분취액을 수용하도록 구성되는, AST 카트리지.

**청구항 51**

제43항에 있어서,  
상기 커버는 복수의 개구들을 포함하고, 각각의 개구는 상기 베이스에서의 상기 복수의 반응 웰들의 각각의 반응 웰과 정렬되는, AST 카트리지.

**청구항 52**

제43항에 있어서,  
상기 복수의 반응 웰들은 온도 제어 블록에서의 대응하는 웰들에 피팅되도록 구성되고, 상기 온도 제어 블록은 상기 복수의 반응 웰들을 가열하는, AST 카트리지.

**청구항 53**

제43항에 있어서,  
상기 베이스, 상기 격막, 및 상기 커버 각각은 상기 AST 카트리지의 중심에 개구를 포함하고, 상기 개구는 상기 AST 카트리지를 이동하기 위한 피펫터에 의한 삽입을 위해 호환가능한, AST 카트리지.

**청구항 54**

제43항에 있어서,  
상기 격막은 결합된 구성요소를 형성하기 위해 상기 커버 내로 오버몰딩되고, 상기 결합된 구성요소는 스냅-핏 조인트 또는 기계적 패스너 중 적어도 하나에 의해 상기 베이스 위에 조립되는, AST 카트리지.

**청구항 55**

제43항에 있어서,  
상기 격막은 상기 복수의 반응 웰들을 가로질러 연장되는 단일체인, AST 카트리지.

**청구항 56**

제43항에 있어서,  
상기 격막은 함께 조립된 다수의 부분들을 포함하고, 각각의 부분은 각각의 반응 웰을 커버하는, AST 카트리지.

**청구항 57**

제43항에 있어서,

상기 격막은 고무, 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE), 열가소성 엘라스토머(TPE), 실리콘, 부틸 고무, 또는 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함하는, AST 카트리지.

**청구항 58**

제43항에 있어서,

상기 격막은 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)과, 실리콘, 고무, 및 부틸 고무로 구성된 그룹으로부터 선택된 다른 물질의 이중 층을 포함하는, AST 카트리지.

**청구항 59**

제43항에 있어서,

상기 격막은 약 1 내지 2 mm의 두께를 포함하는, AST 카트리지.

**청구항 60**

제43항에 있어서,

상기 복수의 반응 웰들은 약 100개의 반응 웰들을 포함하고, 각각의 반응 웰은 약 30 마이크로리터의 용량을 보유하는, AST 카트리지.

**청구항 61**

제43항에 있어서,

상기 커버는 폴리프로필렌(PP) 또는 폴리카보네이트(PC) 물질로 제조되는, AST 카트리지.

**청구항 62**

제43항에 있어서,

상기 베이스는 폴리스티렌(PS) 물질로 제조되는, AST 카트리지.

**청구항 63**

제43항에 있어서,

상기 커버는 항균제 감수성 테스트를 수행하기 위해 분석기 디바이스에 의해 스캐닝되는 식별자를 포함하는, AST 카트리지.

**청구항 64**

제63항에 있어서,

상기 식별자는 데이터 매트릭스 또는 바코드인, AST 카트리지.

**청구항 65**

샘플들을 강화하기 위한 시스템으로서,

병원체들을 포함하는 샘플을 포함하는 샘플 용기를 수용하도록 구성된 하우징;

상기 하우징 내부에 배치된 피펫터 시스템;

상기 하우징 내부에 배치된 하나 이상의 원심 분리기; 및

제어기를 포함하고,

상기 제어기는,

상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 샘플의 적어도 일부를 상기 샘플 용기로부터 처리 튜브로 이송하고;

상기 하나 이상의 원심 분리기를 이용하여 상기 처리 튜브를 원심 분리하여 상기 이송된 샘플에서 상기 병원체들을 농축하고;

상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 처리 튜브로부터 유체를 제거하여, 상기 처리 튜브에 상기 농축된 병원체들을 남겨두고;

상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들에 성장 배지를 추가하여 미리 결정된 시간 기간 동안 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들을 성장시키고;

상기 미리 결정된 시간 기간 후에 상기 농축된 병원체들을 세정하여 상기 처리 튜브에서 강화된 샘플을 획득하도록 구성되는, 시스템.

#### 청구항 66

제65항에 있어서,

상기 샘플 용기는 상기 병원체들이 성장하지만 성장 플래토에 도달하지 않는 것을 허용하기 위해 일정 양의 시간 동안 상기 샘플이 인큐베이션되는 혈액 배양 병인, 시스템.

#### 청구항 67

제65항에 있어서,

상기 샘플 용기는 혈액 샘플 튜브인, 시스템.

#### 청구항 68

제65항에 있어서,

상기 하우징에 배치된 혼합기를 더 포함하고, 상기 샘플은 혈액 샘플이고, 상기 제어기는, 상기 처리 튜브의 원심 분리 전에,

상기 피펫터 시스템을 이용함으로써, 하나 이상의 용해 시약을 상기 처리 튜브에 추가하고;

상기 혈액 샘플에서의 혈액 세포들을 용해하기 위해 상기 혼합기를 이용하여 상기 처리 튜브에서 상기 하나 이상의 용해 시약을 상기 혈액 샘플과 혼합하도록 더 구성되는, 시스템.

#### 청구항 69

제68항에 있어서,

상기 하나 이상의 용해 시약은 하나 이상의 사포닌계 완충제, 세제, 계면활성제, 또는 프로테아제를 포함하는, 시스템.

#### 청구항 70

제65항에 있어서,

상기 농축된 병원체들을 세정하는 것은 상기 하나 이상의 원심 분리기를 이용하여 상기 처리 튜브를 원심 분리하는 것 및 상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 처리 튜브로부터 상청액을 제거하여 상기 처리 튜브에 상기 강화된 샘플을 남기는 것을 포함하는, 시스템.

#### 청구항 71

제65항에 있어서,

항균제 감수성 테스트(AST) 서브시스템을 더 포함하고, 상기 처리 튜브는 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들에 부착하도록 구성된 자기 비드들을 더 포함하고, 상기 AST 서브시스템은,

상기 처리 튜브에 자기력을 적용하여 상기 처리 튜브에서의 상기 자기 비드들에 부착된 상기 농축된 병원체들을 보유하도록 구성되고,

상기 제어기는 상기 피펫터 시스템을 이용하여 상기 처리 튜브로부터 이물질 액체를 제거하여, 상기 농축된 병

원체들을 갖는 상기 강화된 샘플을 초래하도록 더 구성되는, 시스템.

#### 청구항 72

제71항에 있어서,

상기 자기 비드들은 비특정 리간드들로 코팅되는, 시스템.

#### 청구항 73

제71항에 있어서,

상기 자기 비드들은 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들 중 특정 병원체에 특정한 특정 리간드들로 코팅되는, 시스템.

#### 청구항 74

제65항에 있어서,

상기 제어기는,

상기 피펫터 시스템을 이용하여, 상기 처리 튜브에서의 상기 농축된 병원체들에 하나 이상의 위시 물질을 추가하여, 상기 농축된 병원체들로부터 임의의 혈액 성분들 또는 잔해물을 세정 및 제거하여, 상기 처리 튜브에 상기 강화된 샘플을 남기도록 더 구성되는, 시스템.

#### 청구항 75

제74항에 있어서,

상기 하나 이상의 위시 물질은 하나 이상의 완충제, 세제, 계면활성제, 및 프로테아제의 조합을 포함하는, 시스템.

#### 청구항 76

제65항에 있어서,

상기 샘플 용기 및 상기 처리 튜브 각각은 상기 피펫터 시스템에서 제1 피펫터에 결합된 제1 바늘에 의한 삽입을 허용하는 격막을 포함하는, 시스템.

#### 청구항 77

제76항에 있어서,

상기 샘플의 적어도 일부를 상기 샘플 용기로부터 상기 처리 튜브로 이송하는 것은 상기 처리 튜브의 상기 격막을 통해 상기 제1 바늘을 삽입하는 것 및 상기 제1 바늘을 통해 상기 샘플의 적어도 일부를 상기 처리 튜브 내로 분배하는 것을 포함하는, 시스템.

#### 청구항 78

제65항에 있어서,

복수의 반응 웰들을 포함하는 항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지를 수용하도록 구성된 리셉터클; 및

상기 강화된 샘플을 상기 복수의 반응 웰들로 이송한 후에 상기 강화된 샘플에서의 상기 농축된 병원체들의 하나 이상의 이미지를 획득하도록 구성된 현미경을 더 포함하는, 시스템.

#### 청구항 79

제78항에 있어서,

하나 이상의 원심 분리기는,

상기 처리 튜브를 보유 및 원심 분리하도록 구성된 제1 원심 분리기; 및

상기 AST 카트리지를 수직 배향으로 보유 및 원심 분리하도록 구성된 제2 원심 분리를 포함하는, 시스템.

**청구항 80**

제78항에 있어서,

상기 농축된 병원체들을 상기 AST 카트리지에서 상기 반응 웰들의 바닥 표면으로 이동하기 위해 자기력을 적용하도록 구성된 자석 스테이션 - 상기 농축된 병원체들은 자기 비드들에 부착됨 - 을 더 포함하는, 시스템.

**청구항 81**

샘플들을 분석하기 위한 시스템으로서,

처리 튜브 및 항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지를 수용하도록 구성된 하우징 - 상기 AST 카트리는 복수의 반응 웰들을 포함하고, 각각의 반응 웰은 바닥 벽을 포함하고, 상기 바닥 벽은 광학적으로 투명함 -;

상기 하우징 내부에 배치된 가열기;

상기 하우징 내부에 배치된 피펫터 시스템;

상기 하우징 내부에 배치된 현미경; 및

제어기를 포함하고,

상기 제어기는,

상기 피펫터 시스템을 이용하여, 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 상기 처리 튜브로부터 상기 AST 카트리지에서 상기 복수의 반응 웰들로 분배하고 - 각각의 분취액은 각각의 반응 웰에 대응하고, 각각의 반응 웰은 미리 결정된 농도의 항균제를 포함함 - ;

상기 가열기를 이용하여, 상기 AST 카트리의 상기 반응 웰들에서의 상기 분취액들을, 반응이 각각의 반응 웰에서의 상기 병원체들과 상기 항균제 사이에 발생하기 위한 미리 결정된 시간 기간 동안 인큐베이팅하고;

상기 현미경을 이용하여, 상기 AST 카트리지에서 각각의 반응 웰의 바닥 벽의 하나 이상의 이미지를 획득하고;

상기 현미경에 결합된 프로세서에 의해, 상기 하나 이상의 이미지를 분석함으로써 각각의 각자의 반응 웰에서의 상기 항균제에 대한 상기 병원체들의 감수성을 결정하도록 구성되는, 시스템.

**청구항 82**

제81항에 있어서,

상기 제어기는,

상기 피펫터 시스템을 이용하여, 상기 하나 이상의 이미지를 획득하기 전에 상기 반응 웰들의 상기 분취액들에서의 병원체들을 염색하기 위해 각각의 반응 웰에 제1 형광 염료를 추가하도록 더 구성되는, 시스템.

**청구항 83**

제82항에 있어서,

상기 하나 이상의 이미지를 획득하는 것은 상기 AST 카트리의 각각의 반응 웰에서 상기 제1 형광 염료를 검출하기 위해 하나 이상의 형광 이미지를 획득하는 것을 포함하는, 시스템.

**청구항 84**

제83항에 있어서,

상기 하나 이상의 이미지를 분석하는 것은 상기 AST 카트리지에서 각각의 반응 웰에서의 형광 병원체들의 수를 계산하는 것을 포함하는, 시스템.

**청구항 85**

제82항에 있어서,

상기 제어기는,

상기 피펫터 시스템을 이용하여, 상기 하나 이상의 이미지를 획득하기 전에 각각의 반응 웰에 제2 형광 염료를 추가하도록 더 구성되는, 시스템.

#### 청구항 86

제85항에 있어서,

상기 제1 형광 염료는 상기 반응 웰들의 상기 분취액들에서의 살아있는 세포들을 라벨링하는 DNA-결합 염료를 포함하고, 상기 제2 형광 염료는 상기 반응 웰들의 상기 분취액들에서의 죽은 세포들을 라벨링하는 형광 삽입제를 포함하는, 시스템.

#### 청구항 87

항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지를 제조하는 방법으로서,

복수의 개구들을 포함하는 커버를 제조하는 단계;

상기 커버 내에 격막을 오버몰딩하는 단계 - 상기 격막의 제1 측면은 상기 복수의 개구들에 걸쳐 연장됨 -;

복수의 반응 웰들을 포함하는 베이스를 생성하는 단계; 및

상기 격막의 제2 측면에 상기 베이스를 부착하는 단계 - 상기 격막의 상기 제2 측면은 상기 베이스에서의 상기 복수의 반응 웰들에 걸쳐 연장되어 이들을 밀봉함 - 를 포함하는, 방법.

#### 청구항 88

제87항에 있어서,

상기 커버는 폴리프로필렌(PP) 또는 폴리카보네이트(PC)를 포함하는, 방법.

#### 청구항 89

제87항에 있어서,

상기 베이스는 폴리스티렌(PS)을 포함하는, 방법.

#### 청구항 90

제87항에 있어서,

상기 베이스를 상기 격막의 상기 제2 측면에 부착하기 전에, 미리 결정된 농도의 항균제를 각각의 반응 웰에 액체 형태로 추가하는 단계; 및

강제 공기를 이용하여 각각의 반응 웰에서의 상기 항균제를 건조 또는 동결 건조 형태로 건조하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 91

제90항에 있어서,

각각의 반응 웰에서의 상기 항균제의 추가 및 상기 항균제의 건조는 상기 항균제의 저하를 방지하기 위해 미리 결정된 시간 기간 내에 완료되는, 방법.

#### 청구항 92

제91항에 있어서,

상기 미리 결정된 시간 기간은 약 15분을 포함하는, 방법.

#### 청구항 93

제91항에 있어서,  
상기 미리 결정된 시간 기간은 약 10분을 포함하는, 방법.

**청구항 94**

제87항에 있어서,  
상기 커버를 제조하는 단계는 사출 성형을 이용하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 95**

제87항에 있어서,  
상기 격막의 상기 제2 측면에 상기 베이스를 부착하는 단계는 스냅-핏 조인트 또는 기계적 패스너 중 적어도 하나를 이용하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 96**

제87항에 있어서,  
상기 격막의 상기 제2 측면에 상기 베이스를 부착하는 동안 상기 커버에서의 각각의 개구를 상기 베이스에서의 상기 복수의 반응 웰들 중의 각각의 반응 웰과 정렬하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 97**

제87항에 있어서,  
상기 베이스를 생성하는 단계는 단일 구성요소로서 함께 접속된 상기 복수의 반응 웰들을 생성하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 98**

제87항에 있어서,  
상기 격막은 고무, 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE), 열가소성 엘라스토머(TPE), 실리콘, 부틸 고무, 또는 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함하는, 방법.

**청구항 99**

제87항에 있어서,  
상기 격막은 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)과, 실리콘, 고무, 및 부틸 고무로 구성된 그룹으로부터 선택된 다른 물질의 이중 층을 포함하는, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **관련 출원들에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2022년 1월 14일자로 출원된 미국 가출원 제63/299,555호의 이익을 주장하며, 이 가출원은 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다. 본 출원은 2023년 1월 13일자로 출원된 "Systems, Methods, and Devices for Pathogen Identification"이라는 제목의 Bru Gibert 등에 의한 동시 계류중인 미국 특허 출원 제\_\_\_\_\_호 (대리인 문서 번호 4518.003PC01), 및 2022년 8월 3일자로 출원된 PCT 출원 제PCT/US2022/039290호와 관련되며, 이 출원들의 개시내용들은 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0003] **분야**

[0004] 본 개시내용의 실시예들은 환자들에 대한 치료를 결정하기 위해 전혈(whole blood) 또는 다른 샘플들로부터 항균제 감수성 테스트(antimicrobial susceptibility testing)(AST)를 수행하기 위한 시스템들, 방법들, 및 디바이스들에 관한 것이다.

## 배경 기술

- [0005] 패혈증(sepsis)은 감염에 대한 조절되지 않은 숙주 반응(dysregulated host response)에 의해 유발된 생명을 위협하는 기관 기능장애(life-threatening organ dysfunction)로서 정의된다. 패혈증을 경험하거나 겪고 있는 환자는 폐렴(pneumonia)과 같은 국소 감염으로 시작할 수 있고, 그 결과 환자의 면역계(immune system)가 과도하게 작동하여 신체의 염증(inflammation)을 일으킨다. 염증은 궁극적으로 치료되지 않은 채로 남아 있는 경우 기관 부전(organ failure) 및 환자의 사망으로 이어질 수 있다. 패혈증은 매년 1100만 명의 사망을 초래하며, 이러한 사례들 중 다수는 조기 진단, 적절한 임상 관리, 및 치료에 의해 예방될 수 있다.
- [0006] 패혈증 진단은 감염을 식별하기 위한 혈액 샘플을 배양하기 위해 실험실 테스트를 실행함으로써 수행될 수 있다. 현재의 테스트 시간들은 패혈증-유발 박테리아(sepsis-causing bacteria)에 대한 혈액 배양물들(blood cultures)을 획득하고 처리하여 궁극적으로 치료를 위한 효과적인 항균제들에 대한 그 감수성을 결정하는데 필요한 시간의 결과로서 실험실로부터의 결과들을 획득하는데 수일이 걸릴 수 있다. 그러나, 패혈증 검출은 병원에 있는 환자들에 대해 시간에 민감할 수 있는데, 왜냐하면 패혈증은 제시간에 적절히 식별되고 치료되지 않으면 수시간 내에 패혈성 쇼크(septic shock) 및 사망으로 이어질 수 있기 때문이다. 또한, 혈액 배양 테스트는 느리고, 특히 이미 항생제 치료(antibiotic therapy)를 받고 있는 환자에 대해, 임상적으로 패혈증을 갖는 것으로 의심되는 환자에서의 박테리아 또는 균류 검출(fungi detection)의 신뢰성 있는 결과를 일관되게 제공하지 못할 수 있다. 환자에 대한 양성 혈액 배양물을 획득하기 위한 낮은 수율이 종종 존재하며, 환자는 양성 혈액 배양물의 식별 없이도 패혈증을 경험하고 있을 수 있다.
- [0007] 항균제의 감수성 테스트를 수행하기 위한 전통적이고 자동화된 방법들은 유기체(organism)의 성장을 위한 장기간(예를 들어, 6-24시간)의 인큐베이션(incubation)과 함께 박테리아 단리물(bacterial isolate)의 "순수한 배양(pure culture)"을 필요로 한다. 그러한 종래의 시스템은 성장 기반이고, 느리고, 값비싸고, 수동 조작을 필요로 하고, 통합되지 않기 때문에 제한될 수 있다. 개선된 솔루션이 없다면, 환자들은 감염에 대한 하나 이상의 원인 작용제(causative agent)(예를 들어, 병원체들(pathogens)) 및 감염을 겪고 있는 환자 내의 고도로 내성인 병원체들을 치료하는 항균제에 관한 실험실로부터의 더 많은 작용가능 정보를 기다리면서, 의사가 경험적 항생제(empiric antibiotics)로 치료함에 따라 계속 고통받을 수 있고 종종 더 악화될 수 있다.

## 발명의 내용

- [0008] 본 개시내용의 실시예들은 더 나은 환자 결과들을 위해 환자들에게 적절한 치료들을 제공하기 위한 항균제 감수성 테스트를 위한 개선된 진단 방법들, 시스템들, 및 디바이스들을 위한 비용 효율적인 솔루션들을 제공한다.
- [0009] 본 명세서에는 혈액 샘플들, 또는 소변(urine), 무균 체액(sterile body fluids) 등과 같은 다른 샘플들로부터 직접 항균제 감수성 테스트(AST)를 수행하기 위한 시스템들, 방법들, 및 디바이스들이 설명된다. 본 명세서에 제시된 실시예들에서, AST 시스템들, 분석기 디바이스들, AST 카트리지들, 샘플 준비 카트리지들, 및 처리 튜브들은 샘플들의 시료 품질(specimen quality)을 보존하면서, 혈액 배양 없이 샘플들로부터 신속한 AST를 수행하기 위해 제공된다. 일부 실시예들에서, 단일 세포 현미경 검사가 병원체의 표현형 감수성(phenotypical susceptibility)을 식별하기 위해 활용될 수 있어, 신속하고 효과적인 항균제 치료들을 위한 진단 경로에 이르게 한다. 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 AST를 위한 시스템들, 방법들, 및 디바이스들은 패혈증 및/또는 다른 근원적인 질병들을 갖는 환자들을 치료하기 위해 이용될 수 있다.
- [0010] 실시예에서, 감수성 테스트를 수행하기 위한 예시적인 방법이 설명된다. 방법은 분석기 디바이스에 의해, 샘플 준비 카트리지 및 샘플 용기를 수용하는 단계 - 샘플 용기는 병원체들을 포함하는 샘플을 포함함 -, 분석기 디바이스에서의 피펫터 시스템(pipettor system)에 샘플 준비 카트리지로부터의 제1 바늘(needle)을 설치하는 단계, 피펫터 시스템을 이용하여 샘플 용기 내로 제1 바늘을 삽입하는 단계, 샘플을 샘플 용기로부터 제1 바늘을 통해 샘플 준비 카트리지에서 처리 튜브로 이송(transferring)하는 단계, 분석기 디바이스를 이용하여 처리 튜브에서의 샘플의 병원체들을 농축(concentrating) 및 강화(enriching)하여, 처리 튜브에 강화된 샘플을 초래하는 단계, 및 강화된 샘플의 복수의 분취액들(aliquots)을 분석기 디바이스에서의 항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지에서 복수의 반응 웰들(reaction wells)에 분배(dispensing)하는 단계 - 각각의 분취액은 각각의 반응 웰에 대응하고, 각각의 반응 웰은 미리 결정된 농도의 항균제를 포함함 - 를 포함한다. 방법은 분취액들에서의 병원체들과 각각의 반응 웰에서의 항균제 사이에 반응이 발생하기 위한 미리 결정된 시간 기간 동안 AST 카트리지의 반응 웰들에서의 분취액들을 인큐베이팅(incubating)하는 단계, 분석기 디바이스에서의 현미경을 이용하여 AST 카트리지에서 각각의 반응 웰의 이미지를 획득하는 단계, 및 분석기 디바이스에서의 현미경에 걸

합된 프로세서에 의해, 이미지를 분석함으로써 각각의 반응 웰에서의 항균제에 대한 병원체들의 감수성을 결정하는 단계를 더 포함한다.

[0011] 다른 실시예에서, 예시적인 항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지가 설명된다. AST 카트리는 복수의 반응 웰들을 포함하는 베이스(base) - 각각의 반응 웰은 바닥 벽(bottom wall)을 포함하고, 바닥 벽은 광학적으로 투명함 - 를 포함한다. AST 카트리는 베이스 위에 배치된 격막(septum) - 격막은 복수의 반응 웰들에서의 각각의 반응 웰을 밀봉함 -, 및 격막 위에 배치된 커버를 더 포함한다. 복수의 반응 웰들에서의 각각의 반응 웰은 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 각각의 분취액과 반응하기 위한 미리 결정된 농도의 항균제를 포함하고, 항균제는 각각의 반응 웰 내에 배치된다.

[0012] 다른 실시예에서, 샘플들을 강화하기 위한 예시적인 시스템이 설명된다. 시스템은 병원체들을 포함하는 샘플을 포함하는 샘플 용기를 수용하도록 구성된 하우징, 하우징 내부에 배치된 피펫터 시스템, 하우징 내부에 배치된 하나 이상의 원심 분리기(centrifuge), 및 제어기를 포함한다. 제어기는 피펫터 시스템을 이용하여 샘플을 샘플 용기로부터 처리 튜브로 이송하고, 하나 이상의 원심 분리를 이용하여 처리 튜브를 원심 분리하여 샘플에서 병원체들을 농축하고, 피펫터 시스템을 이용하여 처리 튜브로부터 유체를 제거하여, 처리 튜브에 농축된 병원체들을 남겨두고, 피펫터 시스템을 이용하여 처리 튜브에서의 농축된 병원체들에 성장 배지(growth media)를 추가하여 미리 결정된 시간 기간 동안 처리 튜브에서의 농축된 병원체들을 성장시키고, 미리 결정된 시간 기간 후에 농축된 병원체들을 세정하여 처리 튜브에서 강화된 샘플을 획득하도록 구성된다.

[0013] 다른 실시예에서, 샘플들을 분석하기 위한 예시적인 시스템이 설명된다. 시스템은 처리 튜브 및 항균제 감수성 테스트(AST) 카트리지를 수용하도록 구성된 하우징을 포함한다. AST 카트리는 복수의 반응 웰들을 포함하고, 각각의 반응 웰은 바닥 벽을 포함하고, 바닥 벽은 광학적으로 투명하다. 시스템은 하우징 내부에 배치된 가열기, 하우징 내부에 배치된 피펫터 시스템, 하우징 내부에 배치된 현미경, 및 제어기를 더 포함한다. 제어기는 피펫터 시스템을 이용하여, 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 처리 튜브로부터 AST 카트리지에서의 복수의 반응 웰들로 분배 - 각각의 분취액은 각각의 반응 웰에 대응하고, 각각의 반응 웰은 미리 결정된 농도의 항균제를 포함함 - 하도록 구성된다. 제어기는 가열기를 이용하여, AST 카트리지의 반응 웰들에서의 분취액들을, 반응이 각각의 반응 웰에서의 병원체들과 항균제 사이에 발생하기 위한 미리 결정된 시간 기간 동안 인큐베이팅하고, 현미경을 이용하여, AST 카트리지에서의 각각의 반응 웰의 바닥 벽의 하나 이상의 이미지를 획득하고, 현미경에 결합된 프로세서에 의해, 하나 이상의 이미지를 분석함으로써 각각의 각각의 반응 웰에서의 항균제에 대한 병원체들의 감수성을 결정하도록 더 구성된다.

[0014] 다른 실시예에서, AST 카트리지를 제조하기 위한 예시적인 방법이 설명된다. 방법은 복수의 개구들(openings)을 포함하는 커버를 제조하는 단계, 커버 내에 격막을 오버몰딩(overmolding)하는 단계 - 격막의 제1 측면은 복수의 개구들에 걸쳐 연장됨 -, 복수의 반응 웰들을 포함하는 베이스를 생성하는 단계, 및 격막의 제2 측면에 베이스를 부착하는 단계 - 격막의 제2 측면은 베이스에서의 복수의 반응 웰들에 걸쳐 연장되어 이들을 밀봉함 - 를 포함한다.

[0015] 다양한 실시예들의 구조 및 동작뿐만 아니라 추가의 특징들 및 이점들이 첨부 도면들을 참조하여 아래에 상세히 설명된다. 본 명세서에 설명된 특정 실시예들은 제한적인 것으로 의도되지 않는다는 점에 유의한다. 이러한 실시예들은 단지 예시의 목적으로 본 명세서에 제시된다. 관련 기술분야(들)의 통상의 기술자에게는 본 명세서에 포함된 교시에 기반하여 추가적인 실시예들이 명백할 것이다.

### 도면의 간단한 설명

[0016] 본 명세서에 포함되고 본 명세서의 일부를 형성하는 첨부 도면들은 본 개시내용의 실시예들을 예시하고, 설명과 함께, 본 개시내용의 원리들을 설명하고 관련 기술분야의 통상의 기술자가 본 개시내용을 제조하고 이용할 수 있게 하는 역할을 추가로 한다.

도 1은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 항균제 감수성 테스트(AST)를 수행하기 위한 시스템의 도면을 도시한다.

도 2는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스의 도면을 도시한다.

도 3a는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스의 정면도를 도시한다.

도 3b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스의 평면도를 도시한다.

도 4는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 3개의 개방 구획(opening compartment)을 갖는 분석기 디바이스의 도면을 도시한다.

도 5는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플 준비 카트리지의 도면을 도시한다.

도 6a는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플 준비 카트리지 내의 처리 튜브 및 다른 구성요소들의 도면을 도시한다.

도 6b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 선형 샘플 준비 카트리지 내의 처리 튜브 및 다른 구성요소들의 도면을 도시한다.

도 7a 및 도 7b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 처리 튜브의 도면들을 도시한다.

도 8a, 도 8b 및 도 8c는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 처리 튜브 내로 삽입되도록 구성된 바늘의 도면을 도시한다.

도 9a 및 도 9b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 고용량 바늘(high volume needle) 및 저용량 바늘(low volume needle)의 도면들을 각각 도시한다.

도 10은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 고용량 바늘의 예들의 도면을 도시한다.

도 11은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플 준비 카트리지와 인터페이싱하는 저용량 바늘의 도면을 도시한다.

도 12a 및 도 12b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, AST 카트리지의 도면들을 도시한다.

도 13은 본 개시내용의 실시예들에 따른, AST 카트리지 내에 삽입되는 저용량 바늘의 도면을 도시한다.

도 14a 및 도 14b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기에서 이용된 예시적인 원심 분리기들의 도면들을 도시한다.

도 15a, 도 15b, 도 15c 및 도 15d는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기에서 이용된 예시적인 강화 서브시스템(enrichment subsystem)의 도면들을 도시한다.

도 16a, 도 16b 및 도 16c는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기에서 이용된 예시적인 기계 장치의 도면들을 도시한다.

도 17a 및 도 17b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기에서의 이미징 서브시스템(imaging subsystem)과 인터페이싱하는 AST 카트리지의 도면들을 도시한다.

도 18은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플의 AST를 수행하기 위한 방법의 흐름도를 도시한다.

도 19는 본 개시내용의 실시예들에 따른, AST 카트리지를 제조 또는 조립하기 위한 방법의 흐름도를 도시한다.

도 20은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 컴퓨터 시스템의 예시적인 구성요소들의 블록도를 도시한다.

도 21 내지 도 27은 본 개시내용의 실시예들에 기초한 테스트들로부터의 실험 결과들을 도시한다.

본 개시내용의 실시예들은 첨부 도면들을 참조하여 설명될 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 특정 구성들 및 배열들이 논의되지만, 이것은 단지 예시의 목적으로 행해진다는 것을 이해해야 한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본 개시내용의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다른 구성들 및 배열들이 이용될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 본 개시내용은 또한 다양한 다른 애플리케이션들에서 이용될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0018] 단위들, 접두사들, 및 심볼들은 그들의 SI(Système International de Unites) 수락된 형태로 표기된다. 수치 범위들은 범위를 정의하는 수들을 포함한다. 값들의 범위가 인용되는 경우, 그 범위의 인용된 상한과 하한 사이의, 각각의 중간 정수 값, 및 그 각각의 분수가, 그러한 값들 사이의 각각의 하위 범위와 함께, 또한 구체적으로 개시된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 본 명세서에 인용된 범위들은, 인용된 중점들을 포함한, 범위 내의 모든 값들에 대한 약칭인 것으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 10의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,

및 10으로 구성된 그룹으로부터의 임의의 수, 수들의 조합, 또는 하위 범위를 포함하는 것으로 이해된다.

- [0019] 값이 명시적으로 인용되는 경우, 인용된 값과 대략 동일한 수량(quantity) 또는 양(amount)인 값들이 또한 본 개시내용의 범위 내에 있다는 것이 이해되어야 한다. 조합이 개시되는 경우, 그 조합의 요소들의 각각의 하위 조합이 또한 구체적으로 개시되고 본 개시내용의 범위 내에 있다. 반대로, 상이한 요소들 또는 요소들의 그룹들이 개별적으로 개시되는 경우, 이들의 조합들이 또한 개시된다.
- [0020] 대안(예를 들어, "또는")의 이용은 대안들 중 하나, 둘 다, 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 단수 표현(부정 관사들 "a" 또는 "an")은 임의의 인용되거나 열거된 구성요소의 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0021] 용어 "약(about)"은 본 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 바와 같은 특정 값 또는 조성에 대한 허용가능한 오차 범위 내에 있는 값 또는 조성을 지칭하며, 이는 값 또는 조성이 어떻게 측정 또는 결정되는지, 즉, 측정 시스템의 한계에 부분적으로 의존할 것이다. 예를 들어, "약"은 본 기술분야의 실시 당 1 또는 1 초과의 표준 편차 이내를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약"은 최대 10%의 범위를 의미할 수 있다. 또한, 특히 생물학적 시스템들 또는 프로세스들에 대해, 용어들은 최대 한 자릿수 크기(an order of magnitude) 또는 최대 5배의 값을 의미할 수 있다. 특정 값들 또는 조성들이 출원 및 청구항들에서 제공되는 경우, 달리 언급되지 않는 한, "약"의 의미는 그 특정 값 또는 조성에 대한 허용가능한 오차 범위 내에 있는 것으로 가정되어야 한다.
- [0022] 본 명세서에 설명된 바와 같이, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는 달리 지시되지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수의 값, 및 적절한 경우, 그의 분수들(예컨대, 정수의 1/10 및 1/100)을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0023] **서론:**
- [0024] 패혈증을 검출하고 치료하기 위한 현재의 치료 표준은 검출까지의 평균 시간이 약 13시간인 혈액 배양에 의존한다. 혈액 배양 테스트는 병원체의 식별(ID) 없이 유기체를 제공하고, 이어서 페트리 접시 상에 양성자를 플레이트이팅한다. 종래의 혈액 배양 프로세스에서, 성인 환자마다 2개의 혈액 배양 세트를 취하는데, 각각의 세트는 패혈증 유발 박테리아의 전체 스펙트럼이 배양 이벤트 동안 포착되는 것을 보장하기 위해 호기성 병 및 혐기성 병으로 구성된다. 일반적으로, 각각의 배양은 별개의 정맥천자(venipuncture)(예를 들어, 환자의 좌측 팔 및 우측 팔)로부터 획득된다. 이는 박테리아가 하류 테스트(예를 들어, ID 및 AST)를 위해 "복구"될 수 있도록 박테리아 웨딩 이벤트가 배양물에 의해 포획되는 것을 보장하기 위한 것이다. 배양 후에, 호기성 병 및 혐기성 병을 혈액 배양 기구에서 인큐베이팅하고, 여기서 박테리아는 성장을 위해 실시간으로 모니터링된다. 호기성 병 및 혐기성 병은 임의의 박테리아가 전자적으로 검출되는 지연-로그 성장 전이를 거치도록 허용될 때까지 인큐베이팅되고 교반된다. 이어서, 실험실 작업자는 환자에 대한 양성 배양이 존재한다는 것을 경고받을 수 있다. 전형적으로, 혈액 배양은 대부분의 박테리아에 대해 평균 약 13시간 내에 양성으로 될 것인 반면, 일부 효모 및 균류는 훨씬 더 오래(예를 들어, 최대 5일까지) 걸릴 수 있다. 그러나, 많은 배양들은 수집 오류, 수집 동안 취해진 불충분한 혈액량, 실험실로의 수송 지연, 불충분한 민감도 등으로 인해 음성이다.
- [0025] 패혈증의 긴급한 성질로 인해, 양성 후에, 실험실은 즉시 박테리아 그램 염색(예를 들어, 그램 양성 또는 그램 음성)을 식별하고, 중대한 유기체, 오염물질, 단일 미생물, 또는 다균성 감염을 결정하고, 중간 정보를 간병인에게 보고하기 위해 정밀 검사를 시작할 수 있다. 또한, 실험실은 분자 진단 시스템과 같은 신속한 방법을 이용하여 박테리아를 식별하기 위해 즉각적인 단계를 취할 수 있고, 이는 결과를 제공하는데 1.5시간이 걸릴 수 있다. 이들 시스템은 이들 프로파일을 나타내는 특정의 박테리아의 유전적 약물 내성 정보에 관한 제한된 분자 정보를 제공할 수 있다. 대안적으로, 실험실은 약 1시간 내에 ID를 보고하기 위해 매트릭스 지원 레이저 탈착/이온화 비행 시간(MALDI-TOF) 질량 분광측정 시스템으로 양성 혈액 배양(PBC) 분취액을 처리할 수 있다. ID를 이용하여, 간병인은 환자에게 예방적으로 투여되었을 수 있는 항생제를 확인하거나 잠재적으로 조절할 수 있다. 그러나, 박테리아가 식별될 때까지는, 환자가 처음 배양된 후 (기껏해야) 최대 20-24시간이 이미 경과했을 수 있다.
- [0026] 식별된 병원체를 획득하고 보고하는 것과 병행하여, 병원체의 항생제 감수성 프로파일을 결정하기 위해 항균제 감수성 테스트(AST)도 수행될 수 있다. 일부 경우들에, AST는 마이크로브로스 희석 방법 또는 배양-기반 어세이(assay)(예를 들어, 디스크-확산 항생제 감수성 테스트 또는 플레이트이팅된 페트리 접시 배지를 이용함)을 포함한 수동 방법을 이용하여 단리된 박테리아 병원체에 대해 시험관내에서 수행될 수 있다. 다른 경우에, AST는 항균제의 최소 억제 농도(MIC) 또는 약물 내성을 테스트하기 위해 항균제 내성 패널을 갖는 자동화된 디바이스

를 이용하여 수행될 수 있다.

[0027] 그러나, 이러한 시스템들은 단리된 박테리아 콜로니들을 필요로 할 수 있다. 예를 들어, AST를 위한 현재의 방법들은 적절하게 동작하기 위해 깨끗한 박테리아의 상당한 바이오매스를 필요로 할 수 있다. 양성 혈액 배양물로부터의 하위 배양은 먼저 플레이팅된 배지 페트리 접시 상에서 성장시켜야 한다. 이 프로세스는 24시간 운영되는 실험실에서는 6-12시간이 걸릴 수 있지만, 밤새 문을 닫는 실험실에서는 때때로 최대 24시간까지 걸릴 수 있다. 이어서, AST 시스템 내로 접종되기 전에 균일성을 위해 배양물을 조정할 필요가 있을 수 있다(예를 들어, 입력을 위해 10,000개의 세포를 취한다). 로딩 후에, AST 분석은 모든 유기체 부류들에 대한 항균제 감수성 또는 내성 정보를 보고하는데 8 내지 16시간이 걸릴 수 있다. 또한, AST는 적어도 환자가 병원에 입원한 지 2일째까지 시작하지 않을 수 있다. 즉, AST 분석으로부터의 결과(예컨대, 박테리아가 특정한 항생제, MIC, 또는 내성 정보에 대해 감수성인지, 중간인지, 또는 내성인지(SIR)를 포함함)는 환자로부터의 원래의 혈액 배양 샘플의 최초 수집 약 2.5-3일 후에 간병인에게 보고될 수 있다.

[0028] 전체 프로세스는 패혈증 환자들에 대한 중대한 항생제 정보를 보고하는데 몇 일이 걸릴 수 있다. 예를 들어, 감염이 의심되는 경우, 혈액, 소변, 객담 등의 샘플이 환자로부터 수집되고, 감염원이 존재하는지를 먼저 결정하기 위해 임상 실험실에 제공된다. 이는 대부분의 병원성 박테리아 종이 충분히 성장하기 위해서는 18-24시간(예를 들어, 1일)을 필요로 할 수 있다. 박테리아가 단리되는 경우, 이는 단리물을 배양하기 위해 추가의 18-24시간(예를 들어, 2일) 및 박테리아 단리물을 식별하고 AST를 수행하기 위해 또 다른 2-48시간(예를 들어, 3일 이상)을 추가로 필요로 한다. 전통적이고 자동화된 AST 방법은 유기체의 성장을 위해 장기간(예를 들어, 6-24시간)의 인큐베이션과 함께 박테리아 단리물의 "순수한 배양"을 필요로 한다. 종래의 시스템들은 성장 기반이고, 느리고, 비싸고, 수동 조작을 필요로 하고, 통합되지 않기 때문에 제한될 수 있다. 개선된 솔루션들이 없다면, 환자들은, 의사들이 하나 이상의 원인 감염원(예를 들어, 병원체들)에 관한 실험실들로부터의 더 많은 액션가능한 정보를 기다리면서 경험적 항생제들로 치료함에 따라 계속 고통받을 수 있고 종종 더 악화될 수 있다.

[0029] 현재의 기술은 숙주 반응 검출, 병원체 식별, 및 항균제 또는 항생제 감수성 테스트(AST)의 전체 작업흐름에 대한 통합되고 포괄적인 솔루션을 제공하지 않는다. 일부 경우들에서, 일부 시스템들은, 숙주 반응의 검출 또는 병원체의 검출과 같은, 패혈증 캐스케이드의 단일 양태를 식별하는 것에만 중점을 둔다. 예를 들어, 시스템은 (유전자 발현을 검출하기 위한 역전사(RT)-PCR을 통해) 분자 백혈구 RNA 마커들을 검출함으로써 패혈증의 조기 징후에 대한 숙주 반응을 찾을 수 있지만, 병원체 식별 또는 감수성에 대한 답변들은 제공하지 않을 것이다. 면역 반응 결과는 환자가 패혈증 캐스케이드에 진입하고 있거나 패혈증 캐스케이드에 진입했고, 비가역적 이환율의 추가 확률을 방지하기 위해 긴급한 치료 또는 개입의 필요가 있다는 것을 간병인들에게 경고할 수 있다. 간병인들은 전통적인 방법들을 이용하여 감염 부위 및 감염원을 찾음으로써, 예를 들어 감염 부위로부터 혈액 배양물을 획득하여 감염원을 식별함으로써 즉시 반응할 수 있다.

[0030] 병원체 검출 측에서, 현재의 기술들은 혈액 샘플들로부터의 PCR 및 그에 뒤이은 검출을 이용하여 혈액 검출 및 식별 방법들로부터 직접 제공할 수 있다. 그러나, 이러한 시스템들은 제한된 분자 유전 내성 패널을 제공하는 대신에, 신속한 AST 결과들에 대한 솔루션을 제공하지 않고 고가이고, 메뉴 옵션들이 제한되고, 서비스하기 어려울 수 있다. 다른 시스템들은 병원체 식별을 위해 직접 혈액 병원체 rRNA RT-PCR을 이용할 수 있지만, 또한 제한된 메뉴(예를 들어, 15개 이하의 표적)에 의해 제약될 수 있다. 궁극적으로, 현재의 기술들은 자동화된 직접 혈액 신속 AST 솔루션을 제공하지 않고, 대신에 액션가능한 임의의 것을 보고하는데 13-20시간이 걸릴 수 있는 테스트를 위해 양성 혈액 배양에 의존한다. 예를 들어, 일부 시스템은 양성 혈액 배양(PBC) 병으로부터 분취액을 획득할 수 있고, 따라서 PBC 병으로부터 박테리아 단리물을 성장시키는데 필요한 시간(예를 들어, 6-24시간)을 절약할 수 있다. 그러나, 이러한 시스템들은 그들이 보고할 수 있는 약물들 및 유기체들의 수에 관해 제한되며, 따라서 헬스케어 제공자들에 대한 제한된 유용성을 갖는다. 이환율 및 사망률을 크게 감소시키기 위해, 단세포 또는 낮은 복제수 레벨에서 감염성 패혈증-유발 박테리아에 대한 항생제 민감성 및 항생제 내성을 신속하게 결정하기 위한 새로운 진단 방법, 디바이스 및 시스템이 필요하며, 이는 치료 표준 방법에 의해 현재 필요한 다수의 배양 단계(예를 들어, 생물학적 증폭)를 위한 상당한 시간 지연 없이 혈액 샘플로부터 직접 검출된다.

[0031] 패혈성 상태가 종종 환자에서 검출되지 않고 생명을 위협하는 상태로 빠르게 진행될 수 있기 때문에, 생명을 구하고 항균제 내성(AMR)을 감소시키기 위해 환자 샘플들에 대한 신속한 테스트를 수행하고 적절한 항균제들에 대한 안내를 제공하기 위한 새롭고 포괄적인 시스템들, 디바이스들 및 방법들에 대한 명확한 요구 및 수요가 존재한다. 본 명세서에 설명된 시스템들, 디바이스들 및 방법들은 환자들에게 효과적이고 적절한 치료들을 추천하

기 위해 병원체들에 대한 항생제 민감성 및 내성을 결정하기 위한 전체론적 및 체계적 접근법을 제공한다.

**[0032] AST 시스템 개요:**

**[0033]** 도 1은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 항균제 감수성 테스트(AST)를 수행하기 위한 시스템(101)의 도면을 도시한다. 일부 실시예들에서, 시스템(101)은 본 명세서에서 AST 시스템(101)이라고 지칭될 수 있다. 시스템(101)은 네트워크(112)를 통해 통신가능하게 결합된 분석기(108), 샘플 용기(111), 샘플 준비 카트리지(114), AST 카트리지(115), 처리 디바이스(116), 및 복수의 데이터베이스들(110)을 포함할 수 있다.

**[0034]** 분석기(108)는 샘플 용기(111)에 저장될 수 있는, 환자의 샘플에서의 병원체들의 표현형 AST를 수행하는 POC(point-of-care) 테스트 디바이스일 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기(108)는 본 명세서에서 분석기 디바이스라고 지칭될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 용기(111)에서의 샘플은 환자로부터 획득된 전혈, 소변, 무균 체액, 또는 다른 샘플들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기(108)는 샘플 용기(111)를 수용할 수 있고, 이는 분석기(108)의 사용자 또는 조작자에 의해 분석기(108)의 하우징에서의 대응하는 서랍(drawer) 내에 배치된다.

**[0035]** 샘플 용기(111)를 수용하는 것에 부가하여, 분석기(108)는 또한 샘플 준비 카트리지(114) 및 AST 카트리지(115)를 수용할 수 있고, 이들은 유사하게 분석기(108)의 사용자 또는 조작자에 의해 분석기(108)의 하우징의 대응하는 서랍들 내에 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기(108)에서의 다양한 구성요소들 및 서브시스템들은 샘플 준비 및 처리, 샘플들에서의 병원체들의 강화 및 그에 뒤이은 강화 및 세정, 그리고 현미경 및/또는 형광을 이용하는 AST를 수행하기 위해 샘플 용기(111), 샘플 준비 카트리지(114), AST 카트리지(115), 처리 디바이스(116), 및/또는 데이터베이스들(110)과 인터페이스할 수 있다.

**[0036]** 일부 실시예들에서, 샘플 용기(111)를 수용한 후에, 분석기(108)에서의 피펫팅 시스템(pipetting system)은 샘플을 샘플 용기(111)로부터 샘플 준비 카트리지(114)로 이송할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(114)는 샘플 및 샘플 처리를 수행하기 위한 요소들을 보유하도록 구성된 리셉터클들(receptacles)을 갖는 특수 소모품(specialized consumable)일 수 있다. 샘플 준비 카트리지(114)는 그 안의 내용물들을 보호하기 위해 튜브 위에 또는 그 안에 배치된 격막을 갖는 처리 튜브(113)를 포함할 수 있다. 처리 튜브(113)는 샘플을 이송하기 위해 샘플 준비 카트리지(114)의 바늘을 이용하여, 격막을 통해 샘플 용기(111)로부터 샘플을 수용하도록 구성될 수 있다. 샘플이 처리 튜브(113)로 이송되면, 샘플은 샘플 농축, 용해(lysis), 강화, 세정, 및/또는 다른 처리 단계들을 거칠 수 있다.

**[0037]** 일부 실시예들에서, 샘플 용기(111)는 혈액 수집 튜브(blood collection tube)이다. 혈액 수집 튜브들은 상이한 벤더들로부터 이용가능하고, 혈액을 보존하기 위해 다양한 시약들(reagents)을 포함할 수 있다.

**[0038]** 일부 실시예들에서, 샘플 용기(111)는 혈액 배양 병(blood culture bottle)이다. 혈액 배양 병들은 상이한 벤더들로부터 이용가능하고, 미생물들이 증식하도록 조장하는 성장 배지를 포함한다. 혈액 배양 병들은 또한 샘플에서의 미생물들에 대한 그들의 작용을 감소시키기 위해 항생제들을 흡수하는 수지들(resins)을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 혈액 배양 병에서의 샘플은 병원체들이 성장하지만 성장 플레이트(growth plateau)(양성)에 도달하지 않는 것을 허용하기 위해 일정 양의 시간 동안 인큐베이팅된다.

**[0039]** 샘플 준비 카트리지(114)의 요소들 및 구성요소들을 이용하는 샘플 준비 및 처리(예를 들어, 샘플의 농축, 강화, 및 세정을 포함함) 이후에, 샘플은 분석기(108)에서의 피펫팅 시스템에 의해 샘플 준비 카트리지(114)에서의 처리 튜브(113)로부터 AST 카트리지(115)로 이송된다. 일부 실시예들에서, AST 카트리지(115)는 AST를 수행하기 위해 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 보유하도록 구성된 복수의 반응 웰들을 갖는 특수 소모품일 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기(108)는 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 AST 카트리지(115)에서의 미리 결정된 농도의 항균제들에 노출시키는 것에 의해 현미경(예를 들어, 단일 세포 현미경, 형광 현미경 등)을 이용할 수 있다.

**[0040]** 일부 실시예들에서, 분석기(108)는, 폴리머라제 연쇄 반응(polymerase chain reaction)(PCR) 카트리지와 같은, 추가적인 카트리지들과 추가로 인터페이스할 수 있다. 일부 실시예들에서, PCR 카트리지는 병원체 식별을 위한 핵산 증폭 단계들을 수행하기 위해 샘플의 복수의 분취액들을 보유하도록 구성된 복수의 반응 챔버들을 갖는 특수 소모품일 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기(108)는 샘플 준비/처리, 병원체 식별, 및/또는 감수성 테스트를 동시에 또는 연속적으로 수행하기 위해 하나 이상의 샘플 준비 카트리지(114), PCR 카트리지, 및/또는 AST 카트리지(115)를 한 번에 보유하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(114), AST 카트리지(115), 및/또는 PCR 카트리지는 본 명세서에서 분석기(108) 내에 삽입하도록 구성된 소모품들 또는 용기들

이라고 지칭될 수 있다.

- [0041] 일부 실시예들에서, 분석기(108)는 분석기(108)의 하우징 내부에 배치되는 제어기(109)를 포함할 수 있다. 제어기(109)는 분석기(108)에서의 하나 이상의 샘플 용기, 처리 튜브, 카트리지, 및 피펫팅 시스템의 이동들을 포함하는, 분석기(108) 내의 상이한 구성요소들의 이동들 및 동작들을 제어할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제어기(109)는 또한 샘플 준비, 병원체 식별, 감수성 테스트, 및/또는 다른 기능들을 수행하기 위해 분석기(108)에서의 하나 이상의 원심 분리기, 서브시스템, 및 모듈의 동작들을 제어할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제어기(109)는 턴 온/오프가 프로그래밍 되는 분석기(108)에서의 집적 회로(IC) 칩 상에 마이크로제어를 포함할 수 있고, 분석기(108)에서의 하나 이상의 원심 분리기, 서브시스템, 및 모듈을 동작시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 제어기(109)는 하나 이상의 스텝퍼 모터(stepper motor), 액추에이터(actuator), 또는 분석기(108)에서의 다른 움직임 제어 구성요소들에 결합될 수 있고, 이동들을 제어하도록 프로그래밍될 수 있다.
- [0042] 일부 실시예들에서, 제어기(109)는 처리 디바이스(116)에 의해 프로그래밍될 수 있다. 처리 디바이스(116)는 데이터 처리를 수행하고 제어기(109) 및/또는 분석기(108)에서의 다른 구성요소들에 명령어들을 제공하기 위해 분석기(108)에 결합된 컴퓨팅 디바이스일 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 개인 휴대 정보 단말기(personal digital assistant), 데스크톱 워크스테이션, 랩톱 또는 노트북 컴퓨터, 넷북, 태블릿, 스마트폰, 모바일 폰, 스마트 시계, 또는 이들의 임의 조합일 수 있다.
- [0043] 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 분석기(108)와 통신하여, AST 카트리지(115)에서 발생하는 반응들의 결과들을 수신하고, 추가 처리 및 데이터 분석을 수행하여 샘플의 하나 이상의 병원체의 감수성을 결정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 분석기(108)로부터 AST 카트리지(115)의 하나 이상의 이미지를 수신하고, 이미지들을 제어(control)와 비교하여, 특정 병원체가 특정 항균제에 대해 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정할 수 있다.
- [0044] 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 또한 복수의 데이터베이스들(110)과 통신할 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 데이터베이스들(110) 중 하나 이상은 임의의 수의 데이터베이스를 나타낼 수 있고, 복수의 병원체들에 대한 임상 파라미터 데이터, 역학 정보(epidemiology information) 또는 항생제 내성 정보 등을 저장한 다양한 데이터베이스들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 데이터베이스들(110) 중 하나 이상은 (예를 들어, 분석기(108)에 의해 수행된) 이전의 병원체 식별 작업흐름들로부터의 병원체 분류 데이터(pathogen taxonomy data) 및/또는 결과들을 저장하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 데이터베이스(110)로부터의 정보는 AST 카트리지(115) 및 분석기(108)를 이용하여 테스트할 항균제들을 선택하기 위해 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 데이터베이스(110)로부터의 정보는, AST 시스템(101)에 의한 테스트의 결과로부터, 테스트된 병원체가 약물에 내성이 있는지, 중간인지, 또는 감수성인지를 결정하기 위해 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 데이터베이스들(110) 중 하나 이상은 다양한 병원체들에 대한 항균제들에 대한 감수성을 호출하기 위한 미리 정의된 규칙들을 저장하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 감수성 정보를 분석기(108)의 사용자에게 보고하기 위해 데이터베이스들(110)에서의 병원체 분류 데이터, 결과들, 및/또는 미리 정의된 규칙들 중 적어도 하나를 이용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 병원체가 미리 정의된 규칙들을 파싱(parsing)하는 것으로부터 특정 약물에 감수성이 아니라는 것을 식별하는 것에 기초하여 병원체에 대한 특정 약물의 감수성을 보고하지 않을 수 있다. 예를 들어, 클레브시엘라(Klebsiella)는 암피실린(ampicillin)에 대해 자연스럽게 내성이 있으므로, 처리 디바이스(116)는 이 감수성 정보를 사용자에게 보고하지 않을 수 있다.
- [0045] 일부 실시예들에서, 복수의 데이터베이스들(110) 중 하나 이상은 병원들, 임상 관리 시설들, 실험실들, 방사선학 제공자들, 및 약국들과 같은 다양한 건강관리 서비스들 및 건강관리 제공자들로부터 획득된 환자 건강관리 정보를 포함하는 전자 건강 기록(electronic health record)(EHR) 데이터를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 데이터베이스들(110)에 저장된 EHR 데이터는 인구 통계, 병력(medical history), 약물 및 알레르기, 면역 상태, 실험실 테스트 결과들, 방사선 이미지들, 활력 징후들, 연령 및 체중과 같은 개인 통계, 및 각각의 환자에 대한 청구 정보(billing information)를 포함하는, 환자들의 건강 및 치료에 관한 환자 데이터 및 병력 데이터를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)는 환자들에 대한 치료 추천들을 결정하기 위해, 복수의 데이터베이스들(110)에 저장된 데이터(예를 들어, 임상 파라미터 데이터, 역학 정보 또는 항생제 내성 정보, EHR 데이터 등)와 함께, 분석기(108)에 의해 수행된 병원체 식별 및/또는 AST로부터의 결과들을 이용할 수 있다.
- [0046] 일부 실시예들에서, 시스템(101)에서의 구성요소들은 네트워크(112)를 통해 통신가능하게 결합될 수 있다. 특

히, 네트워크(112)는 분석기(108), 복수의 데이터베이스들(110), 처리 디바이스(116), 및/또는 시스템(101)에서의 임의의 다른 디바이스들 또는 구성요소들 사이의 정보 및 통신의 송신을 허용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 시스템(101)은 라만 분광 디바이스(Raman spectroscopy device) 및/또는 전자 건강 기록(EHR) 시스템(도시되지 않음)과 같은 추가적인 구성요소들을 포함할 수 있다.

[0047] 일부 실시예들에서, 네트워크(112)는 LAN(local area network), WAN(wide area network), 전화 네트워크, 무선 네트워크, 포인트-투-포인트 네트워크, 스타 네트워크, 토큰 링 네트워크, 허브 네트워크, 또는 다른 적절한 구성 중 임의의 하나 또는 임의의 조합일 수 있다. 네트워크는 전기 전자 기술자 협회(Institute of Electrical and Electronics Engineers)(IEEE) 프로토콜, 3세대 파트너십 프로젝트(3GPP) 프로토콜, 4세대 무선 프로토콜(4G)(예를 들어, 롱 텀 에볼루션(LTE) 표준, LTE 어드밴스드, LTE 어드밴스드 프로), 5세대 무선 프로토콜(5G), 및/또는 유사한 유선 및/또는 무선 프로토콜들을 포함하는 하나 이상의 네트워크 프로토콜을 따를 수 있고, 분석기(108), 복수의 데이터베이스들(110), 처리 디바이스(116), 및/또는 시스템(101)에서의 임의의 다른 디바이스들 또는 구성요소들 사이에서 데이터를 라우팅하기 위한 하나 이상의 중간 디바이스를 포함할 수 있다.

[0048] **분석기 디바이스 실시예들:**

[0049] 도 2는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스(200)의 도면을 도시한다. 분석기 디바이스(200)는 도 1에 도시된 분석기(108)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 본 명세서에서 분석기(200)라고 지칭될 수 있다. 분석기 디바이스(200)는 샘플 준비, 처리, 및 테스트를 수행하기 위한 다양한 구성요소들 및 모듈들이 하우징되는 하우징(201)을 갖는 벤치톱 디바이스(bench-top device)이다. 일부 실시예들에서, 하우징(201)은 분석기 디바이스(200)의 본체(body) 및/또는 그 안의 모듈들 및 구성요소들을 보호하는 분석기 디바이스(200)의 외부 케이스를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 분석기 디바이스(200)의 사용자에게 의한 액세스 및 동작을 위한 다양한 구획들을 갖는 입방체, 직육면체, 또는 직사각형 형상을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 약 1 m<sup>3</sup> 미만, 예를 들어, 약 750 mm(길이) x 650 mm(폭) x 650 mm(높이)의 치수들을 갖는 컴팩트한 크기를 가질 수 있다.

[0050] 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 개인 휴대 정보 단말기, 데스크톱 워크스테이션, 랩톱 또는 노트북 컴퓨터, 넷북, 태블릿, 스마트폰, 모바일 폰, 스마트 시계, 또는 이들의 임의의 조합과 같은, 컴퓨팅 디바이스(예를 들어, 처리 디바이스(116))에 결합될 수 있다. 분석기 디바이스(200)의 사용자 또는 조작자는 컴퓨팅 디바이스를 이용하여 분석기 디바이스(200)를 제어하고, 분석기 디바이스(200)로부터 샘플 정보, 환자 정보, 병원체 정보, 항균제 정보 등을 전송/수신하고, 분석기 디바이스(200)로부터의 감수성 테스트의 결과들에 액세스/편집할 수 있다.

[0051] 도 3a는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스(200)의 정면도를 도시한다. 도 3a는 제1 피펫터(202), 제2 피펫터(204), 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)을 포함하는, 분석기 디바이스(200)의 하우징(201) 내에 배열된 내부 특징들을 도시한다.

[0052] 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202) 및 제2 피펫터(204)는 분석기 디바이스(200)의 하우징(201) 내의 구성요소들 사이의 액체 이송을 핸들링하도록 구성된 피펫터 디바이스들일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 분석기 디바이스(200)에서의 제어기(109)에 의해 제어되는 자동화된 디바이스들일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제어기(109)는 분석기 디바이스(200) 내의 상이한 구성요소들로의 및/또는 상이한 구성요소들로부터의 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)의 수직 및/또는 수평 이동들을 포함하여, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)의 이동들을 제어할 수 있다. 일부 실시예들에서, 더 많거나 더 적은 피펫터들이 분석기 디바이스(200)에 존재할 수 있다.

[0053] 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202) 및 제2 피펫터(204)는 각각 고용량 피펫터 및 저용량 피펫터로 지칭될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 약 50 μL(microliter) 내지 5 mL(milliliter) 범위의 용량을 핸들링하도록 구성될 수 있는 반면, 제2 피펫터(204)는 약 1 내지 200 μL 범위의 용량을 핸들링하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 50 μL의 5% 변동 계수(coefficient of variation)(CV) 및 5 mL의 1% CV를 가질 수 있고, 제2 피펫터(204)는 1 내지 200 μL의 5% CV를 가질 수 있다.

[0054] 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 본 명세서에서 피펫들(pipettes) 및/또는 피펫터 시스템들로 지칭될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 각각 이동식(removable) 및 일회용(disposable)인 바늘들에 부착되도록 구성될 수 있다. 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)에 의해 필요에 따라 상이한 용량 범위를 핸들링하도록 구성된 두 개의 상이한 바늘들에 부착될 수

있다.

- [0055] 액체 이송에 더하여, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 분석기 디바이스(200)의 하우징(201) 내에서, 튜브들, 카트리지를 등과 같은 요소들을 이동시키도록 구성될 수 있다. 특히, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204) 각각은 분석기 디바이스(200)에서 이용되는 다양한 구성요소들에 부착할 수 있는 피펫 팁 홀더(pipette tip holder)를 포함할 수 있다. 특히, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)의 피펫 팁은 다양한 구성요소들을 픽업(pick up)하고 그것들을 분석기 디바이스(200)에서의 상이한 모듈들 또는 영역들에 배치하기 위해, 바늘들, 튜브들, 카트리지들, 스핀 컬럼 바스켓들(spin column baskets) 등의 핸들링 특징부들(handling features)을 누르고 그들에 피팅할 수 있다.
- [0056] 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)의 치수들은 약 325 mm(폭) x 575 mm(깊이) x 435 mm(높이)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 하우징(201)의 최상부 섹션에 배열될 수 있어, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 하우징(201)의 최하부 섹션에서의 샘플들, 튜브들, 카트리지들, 및 상이한 모듈들과 상호작용할 수 있다. 특히, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)은 도 3a에 도시된 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)에서의 구성요소들의 액체 이송 및 이동을 핸들링할 수 있다.
- [0057] 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)은 분석기 디바이스(200)의 하우징(201)에서의 3개의 대응하는 리셉터클들 내에 피팅되도록 설계되는 슬라이딩 수평 구획들을 포함한다. 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)은 샘플 처리 및 테스트를 위해 분석기 디바이스(200) 내로 삽입되는 특수화된 요소들을 수용하도록 구성될 수 있다. 특히, 샘플 서랍(210)은 환자로부터 획득된 샘플을 포함하는 샘플 용기(예를 들어, 샘플 용기(111))를 수용할 수 있다. 샘플 카트리지 서랍(220)은 샘플 준비 카트리지(예를 들어, 샘플 준비 카트리지(114))를 수용할 수 있고, 이 샘플 준비 카트리지로 샘플이 분석기 디바이스(200)에서의 구성요소들에 의해 이송된다.
- [0058] 일부 실시예들에서, 처리 카트리지 서랍(230)은 샘플 준비 카트리지에서 샘플의 처리 및 강화 후에 강화된 샘플의 분취액들을 수용하도록 구성되는 AST 카트리지(예를 들어, AST 카트리지(115))를 수용할 수 있다. 추가적인 또는 대안적인 실시예들에서, 처리 카트리지 서랍(230)은 AST 카트리지 및/또는 PCR 카트리지 서랍으로서 이용될 수 있다. 예를 들어, 분석기 디바이스(200)가 샘플의 병원체 식별 또는 항균제 감수성 테스트를 수행하기 위해 이용되고 있는지에 따라 PCR 카트리지 또는 AST 카트리지가 처리 카트리지 서랍(230)에 삽입될 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 AST 및 병원체 식별을 위해 특수 카트리지들 또는 소모품들과 인터페이싱하도록 구성되는 이 중 처리 카트리지 서랍(230)을 이용하여 병원체 식별 및 항균제 감수성 테스트의 기능들 둘 다를 수행하도록 구성될 수 있다.
- [0059] 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)은 각각 샘플 용기, 샘플 준비 카트리지, 및 AST 카트리지(또는 PCR 카트리지)의 식별자를 각각 스캐닝하도록 구성된 판독기를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 서랍들에서의 판독기들은 분석기 디바이스(200)의 하우징(201) 내로의 각각의 서랍의 삽입 동안 샘플 용기들 및/또는 카트리지들의 식별자들을 스캐닝할 수 있다. 일부 실시예들에서, 서랍들(210, 220, 및 230)에서의 판독기들은 대응하는 샘플 용기들 및/또는 카트리지들의 식별 코드들, 바코드들, 또는 데이터 매트릭스들을 스캐닝하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 서랍들(210, 220, 및 230)에서의 판독기들은 바코드 판독기들, QR(quick response) 코드 판독기들 등일 수 있다.
- [0060] 일부 실시예들에서, 도 3a는 하우징(201) 내에 배치되고 샘플 처리를 위해 튜브들 및 카트리지들을 핸들링하도록 구성되는 하나 이상의 원심 분리기를 포함하는 추가적인 구성요소들을 도시한다.
- [0061] 도 3b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스(200)의 평면도를 도시한다. 도 3b는 분석기 디바이스(200)의 하우징(201) 내의 제1 및 제2 피펫터들(202, 204) 아래에 배열된 다양한 구성요소들, 모듈들, 및/또는 서브시스템들을 도시하는, 평면도로부터의 분석기 디바이스(200)의 단면을 도시한다.
- [0062] 도 3b에서의 하우징(201)은 복수의 샘플 용기들(212)을 포함하는 샘플 서랍(210), 복수의 샘플 준비 카트리지들(224)을 포함하는 샘플 카트리지 서랍(220), 및 AST 카트리지들(232) 및 PCR 카트리지들(234) 둘 다를 포함하는 처리 카트리지 서랍(230)을 포함한다. 샘플 용기들(212), 샘플 준비 카트리지들(224), 및 AST 카트리지들(232)은, 각각, 도 1에 도시된 샘플 용기(111), 샘플 준비 카트리지(114), 및 AST 카트리지(115)의 예시적인 실시예들을 나타낸다.
- [0063] 일부 실시예들에서, 처리 카트리지 서랍(230)은 병원체 식별 및 항균제 감수성 테스트를 수행하기 위해 AST 카

트리지들(232) 및 PCR 카트리지들(234) 둘 다를 보유하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 한 번에 하우징(201)에서의 그 각자의 서랍들에 보유되는 미리 정의된 수의 샘플 용기들(212), 샘플 준비 카트리지들(224), AST 카트리지들(232), 및/또는 PCR 카트리지들(234)이 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지들(224), AST 카트리지들(232), 및/또는 PCR 카트리지들(234)은 1회 이용 후에 폐기될 수 있거나 추가적인 샘플들의 테스트를 위해 재이용가능할 수 있다.

[0064] 도 3b는 또한 하우징(201) 내에 배열된 제1 원심 분리기(240), 제2 원심 분리기(242), PCR 서브시스템(244), 강화 서브시스템(246), 기계 장치(248) 및 AST 서브시스템(250)을 도시한다.

[0065] 일부 실시예들에서, 제1 원심 분리기(240)는 제1 피펫터(202)에 의해 제1 원심 분리기(240)에 배치된 처리 튜브들(예를 들어, 처리 튜브들(113)) 및/또는 스핀 컬럼 바스켓들을 원심 분리하도록 구성되는 고속 원심 분리기일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제2 원심 분리기(242)는 제2 피펫터(204)에 의해 제2 원심 분리기(242)에 배치되는 AST 카트리지들(232)을 원심 분리하도록 구성되는 저속 원심 분리기일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 원심 분리기들(240, 242)은 처리 튜브들, 스핀 컬럼 바스켓들, 및/또는 AST 카트리지들(232)을 스윙 버킷 구성(swing-bucket configuration)으로 원심 분리할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 원심 분리기들(240, 242)은 약 250 mm의 직경 및 약 175 mm의 높이를 갖는 원통 형상을 포함할 수 있다.

[0066] 일부 실시예들에서, PCR 서브시스템(244)은 정량적(quantitative) PCR(qPCR)을 수행할 때 온도들을 제어하도록 구성된 열 순환기(thermal cycler) 및 형광에 의한 PCR 카트리지에서 반응 챔버들의 광학 조사(optical interrogation)를 위한 광학 시스템을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, PCR 서브시스템(244)의 열 순환기는 온도들을 약 35 °C 내지 100 °C 범위로 제어할 수 있다. 일부 실시예들에서, PCR 서브시스템(244)의 광학 시스템은 하우징(201)에서의 PCR 카트리지의 바닥으로부터 형광 판독들을 수행할 수 있다. 일부 실시예들에서, PCR 카트리지들은 PCR 서브시스템(244)에 배치되고, 제2 피펫터(204)에 의해 PCR 서브시스템(244)으로부터 제거될 수 있다. 일부 실시예들에서, PCR 서브시스템(244)은 한 번에 2개까지의 PCR 카트리지를 보유할 수 있으며, PCR 카트리지들은 PCR 서브시스템(244)에서 독립적으로 열 순환을 겪는다. 일부 실시예들에서, PCR 서브시스템(244)의 치수들은 약 70 mm(폭) x 125 mm(깊이) x 250 mm(높이)일 수 있다.

[0067] 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(246)은 샘플들의 진동, 및 병원체들의 성장 및 강화를 위해 샘플들에서의 병원체들과 성장 배지의 혼합을 허용하기 위해 처리 튜브들에 스윙 이동을 적용하기 위한 슬롯들에 복수의 처리 튜브들을 보유하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 강화 서브시스템(246)에서의 슬롯들 내에 튜브들을 수직으로 로딩하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(246)은 튜브들의 배향을 수직 위치로부터 수평 위치로 변경하고, 1 Hz의 주파수로 수평 위치 주위에서 ±15°의 스윙 이동을 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(246)은 한 번에 약 4개의 15 mL 처리 튜브까지 보유할 수 있으며, 여기서 각각의 처리 튜브는 상이한 샘플을 나타낸다.

[0068] 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(246)은 이동가능 자석을 구비할 수 있다. 이동가능 자석은 강화 서브시스템(246)에서의 수직 위치에 있을 때 처리 튜브들과 맞물릴 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(246)은 강화 서브시스템(246)에 보유되는 처리 튜브들의 37 °C 온도 제어를 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(246)의 치수들은 약 150 mm(폭) x 175 mm(깊이) x 115 mm(높이)일 수 있다.

[0069] 일부 실시예들에서, 기계 장치(248)는 샘플들에서 미생물들의 용해를 수행하기 위해 처리 튜브를 교반(agitates)하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 기계 장치(248)에서의 슬롯들 내로 튜브들을 수직으로 로딩하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기계 장치(248)는 처리 튜브에 빠른 진동 이동을 적용하도록 구성되는 교반기 디바이스(agitator device) 또는 세포 파괴 디바이스(cell disrupting device)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 기계 장치(248)는 처리 튜브가 수직 위치에 있는 동안 교반기에 의해 미리 결정된 축을 따라 왕복 이동을 적용함으로써 빠른 진동 이동을 적용할 수 있다.

[0070] 일부 실시예들에서, 기계 장치(248)는 한 번에 최대 2개의 처리 튜브를 보유하고, 처리 튜브들에 ±2° 각도 이동을 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 기계 장치(248)는 약 5,000-30,000 사이클/분(cycles/minute)으로 처리 튜브들을 진동시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 기계 장치(248)의 치수들은 약 75 mm(폭) x 175 mm(깊이) x 100 mm(높이)일 수 있다.

[0071] 추가적인 또는 대안적인 실시예들에서, 기계 장치(248)는 샘플을 교반하기 위해 처리 튜브를 초음파 처리하도록 구성되는 초음파 처리기(sonicator)를 포함할 수 있다.

[0072] 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)은 하우징(201)에서의 AST 카트리지(232)에서의 샘플들의 인큐베이션을

위해 구성된 가열기 및 AST 카트리지(232)의 반응 웰들을 이미징하기 위한 이미징 서브시스템을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)의 가열기는 AST 카트리지(232)에서의 샘플들의 인큐베이션을 위한 온도들을 제어하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)의 이미징 서브시스템은 전동 XYZ 변환 스테이지(motorized XYZ-translation stage)를 이용하여 AST 카트리지(232)의 각각의 반응 웰의 바닥을 스캐닝하는 것에 의해 이미지들을 획득하도록 구성된 현미경을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)의 이미징 서브시스템은, 상이한 형광 신호들(예를 들어, 녹색 및 적색)을 검출하기 위한 2개의 광학 채널과 함께, 형광 센서를 포함할 수 있다.

[0073] 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)은 획득된 이미지들 및/또는 신호들에 기초하여 미생물들(예를 들어, 병원체들)의 항균제 표현형 내성(antimicrobial phenotypical resistance)을 식별할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 카트리지들(232)은 AST 서브시스템(250)에 배치되고, 제2 피켓터(204)에 의해 AST 서브시스템(250)으로부터 제거될 수 있다.

[0074] 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)은 한 번에 최대 5개의 AST 카트리지(232)를 보유할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)은, 예컨대, 열 차단을 이용하여, AST 서브시스템(250)에 보유되는 AST 카트리지들(232)에 대해 온도 제어를 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)은 약 37 °C 온도 제어를 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(250)의 치수들은 약 200 mm(폭) x 185 mm(깊이) x 285 mm(높이)일 수 있다.

[0075] 도 4는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 3개의 개방 구획을 갖는 분석기 디바이스(200)의 도면을 도시한다. 일부 실시예들에서, 도 4의 분석기 디바이스(200)는 샘플들 및/또는 카트리지들의 로딩 및/또는 언로딩을 위한 개방 위치에서 하우징(201)으로부터 연장되는 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)을 도시한다. 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)은, 구획들이 하우징(201)에서의 3개의 대응하는 리셉터클에 피팅되는, 폐쇄 위치에서 하우징(201) 내로 푸시될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)의 개방 및 폐쇄는 분석기 디바이스(200)의 제어기(예를 들어, 제어기(109))에 의해 및/또는 처리 디바이스(116)에 의해 제어될 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(116)의 사용자는 처리 디바이스(116) 상에 설치된 소프트웨어를 이용하여 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)의 개방 및 폐쇄를 제어할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210), 샘플 카트리지 서랍(220), 및 처리 카트리지 서랍(230)은 샘플 용기들, 카트리지들, 및/또는 다른 요소들을 분석기 디바이스(200) 내로 로딩 및/또는 언로딩하기 위해 사용자에게 의해 하우징(202)에 대해 수동으로 당겨지고 푸시될 수 있다.

[0076] 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210)은 다수의 샘플을 보유할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210)은 샘플 용기들(212)에 저장된 샘플들을 포함하여, 한 번에 10개까지의 샘플을 보유할 수 있다. 일부 실시예들에서, 도 4에 도시된 샘플 용기들(212)은 하나 이상의 혈액 샘플 튜브, 소변 샘플 튜브, 및/또는 혈액 배양 병을 나타낼 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 카트리지 서랍(220)은 한 번에 10개까지의 샘플 준비 카트리지와 같은 다수의 샘플 준비 카트리지를 보유할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 카트리지 서랍(230)은 한 번에 12개까지의 PCR 카트리지, 6개의 AST 카트리지, 또는 이들의 조합과 같은 다수의 처리 카트리지를 보유할 수 있다.

[0077] 일부 실시예들에서, 샘플 서랍(210)의 치수들은 약 40 mm(폭) x 155 mm(깊이) x 600 mm(높이)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 카트리지 서랍(220)의 치수들은 약 85 mm(폭) x 150 mm(깊이) x 615 mm(높이)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 카트리지 서랍(230)의 치수들은 약 140 mm(폭) x 155 mm(높이) x 270 mm(깊이)일 수 있다.

[0078] **분석기 디바이스에서의 샘플 처리, 농축, 강화 및 세정의 실시예들:**

[0079] 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200) 내에 배치된 구성요소들은 AST 어세이를 실행하고 AST 카트리지(232)에서의 샘플들의 이미지들을 획득하기 전에 처리 튜브(113)에서 샘플 처리, 농축, 강화 및 세정 단계들을 수행할 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)의 제1 피켓터(202)는 샘플을 샘플 용기(111)로부터 처리 튜브(113) 내로 이송하고, 신속한 검출을 위해 샘플에서의 병원체들을 처리, 분리, 농축, 및 강화하는 단계들을 수행할 수 있다.

[0080] 일부 실시예들에서, 샘플 처리는 혈액 세포 용해의 단계를 포함할 수 있다. 샘플이 혈액 샘플인 실시예들에서, 제1 피켓터(202)는 혈액 샘플의 혈액 세포 용해를 수행하도록 구성될 수 있다. 제1 피켓터(202)는 처리 튜브

(113)에 하나 이상의 용해 시약을 추가할 수 있다. 하나 이상의 용해 시약은 혈액 샘플 내의 혈액 세포들을 용해하기 위해 분석기 디바이스(200)의 하우징(201)에 배치된 (예를 들어, 강화 서브시스템(246)에서와 같은) 혼합기를 이용하여 처리 튜브(117)에서의 혈액 샘플과 혼합될 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 용해 시약은 하나 이상의 사포닌 기반 완충제(saponin-based buffer)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 용해 시약은 하나 이상의 세제(detergent), 계면활성제(surfactant), 또는 프로테아제(protease)를 포함할 수 있다.

[0081] 혈액 샘플 내의 혈액 세포들의 용해 후에, 제1 피펫터(202)는 용해된 샘플의 농축 및 강화를 위해 처리 튜브(117)를 원심 분리기(240)(또는 도 14a의 1402)로 이송할 수 있다. 샘플의 농축 및 강화는 원심 분리를 포함하는 분석기 디바이스(200)에서의 구성요소들을 이용하는 일련의 단계들을 수반할 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)에서의 제1 피펫터(202)는 처리 튜브(117)를 제1 원심 분리기(240 또는 1402)와 같은 원심 분리기로 이동시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 원심 분리기(240 또는 1402)는, 예컨대, 샘플에서의 다른 구성요소들로부터 병원체들을 분리함으로써 샘플에서의 병원체들을 농축하기 위해 처리 튜브(117)에 원심력을 적용할 수 있다.

[0082] 원심 분리 후에, 제1 피펫터(202)는 처리 튜브(117)로부터 유체를 제거하고, 처리 튜브(117)에 농축된 병원체들을 남기기 위해 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 이어서 성장 배지를 처리 튜브(117)에서의 농축된 병원체들에 추가하여, 미리 결정된 시간 기간 동안 처리 튜브(117)에 농축된 병원체들을 성장시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 미리 결정된 시간 기간은 농축된 병원체들의 성장을 허용하는 시간 기간, 예컨대, 약 4 시간 이상일 수 있다. 일부 실시예들에서, 미리 결정된 시간 기간은 대부분의 병원체들의 강화를 위해 3-4 시간일 수 있는 반면, 다른 병원체들은 성장/강화를 위해 더 긴 시간 기간들이 걸릴 수 있다. 일부 실시예들에서, 성장 배지는 샘플 준비 카트리지(224)의 하나 이상의 저장소(reservoir)에 저장될 수 있다. 일부 실시예들에서, 성장 배지는 필러 힌톤 브로스(Mueller Hinton broth), 양이온 조정된 필러 힌톤 브로스(cation-adjusted Mueller Hinton broth), 트립틱 소이 브로스(Tryptic Soy broth), 리소게니 브로스(Lysogeny broth), BHI(Brain Heart Infusion) 브로스 등을 포함할 수 있다.

[0083] 농축 및 강화 후에, 분석기 디바이스(200)는 샘플의 세정(cleaning) 또는 세정(clean-up) 단계를 수행하여 강화된 샘플에서의 병원체들을 획득할 수 있다. 일부 실시예들에서, 농축된 병원체들을 세정하기 위해, 제1 피펫터(202)는 성장을 위한 미리 결정된 시간 기간이 경과한 후에(성장 배지를 추가한 후에) 처리 튜브(117)를 원심 분리기(240 또는 1402)로 이동시키고, 처리 튜브(117)로부터 상청액(supernatant)을 제거하여 강화된 샘플을 획득할 수 있다.

[0084] 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 자기 비드들(magnetic beads)을 이용하는 것과 같은 면역자기 분리(immunomagnetic separation)(IMS) 기술들에 의해 샘플의 세정 단계를 구현할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브(117)는 처리 튜브(117) 내의 농축된 병원체들에 부착하도록 구성된 복수의 자기 비드들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 자기 비드들은 비특정 리간드들(ligands)로 코팅될 수 있다. 일부 실시예들에서, 자기 비드들은 처리 튜브(117)에서의 농축된 병원체들의 특정 병원체 또는 병원체들의 그룹들에 특정한 특정 리간드들로 코팅된다. 일부 실시예들에서, 병원체들은 인큐베이션 기간 후에 자기 비드들의 표면 상에 고정될 수 있고, 자기장을 이용하여 펠릿(pellet)으로 농축될 수 있다.

[0085] 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 자기 비드들에 부착된 농축된 병원체들을 보유하기 위해 처리 튜브(117)에 자기력을 적용하기 위해 처리 튜브(117)를 강화 서브시스템(246)에서와 같은 자석 스테이션으로 이동시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 처리 튜브(117)에서의 자기 비드들에 부착된 농축된 병원체들의 보유 후에 처리 튜브(117)로부터 이물질 액체를 제거할 수 있다. 이물질 액체의 제거는 농축된 병원체들을 갖는 강화된 샘플을 초래할 수 있다.

[0086] 일부 실시예들에서, 농축된 병원체들은 워시 단계(wash step)에서 임의의 잔해물(debris) 또는 다른 물질들을 제거하기 위해 재현탁(re-suspended)되고 워시될 수 있다. 특히, 제1 피펫터(202)는 처리 튜브(117)에서의 농축된 병원체들에 하나 이상의 워시 물질을 추가하여, 농축된 병원체들로부터 임의의 혈액 성분들 또는 잔해물을 세정하고 제거하여, 처리 튜브(117) 내에 강화된 샘플을 남길 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 워시 물질은 하나 이상의 완충제, 세제, 계면활성제, 및 프로테아제의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 워시 물질은 샘플 준비 카트리지(224)에 저장될 수 있다.

[0087] 일부 실시예들에서, 분석기(200)는 샘플에서의 병원체들의 수를 식별하도록 구성될 수 있다. 특히, 분석기(200)는 샘플에서의 세포들을 라벨링하고 병원체들의 수를 카운팅하기 위해 (예를 들어, AST 서브시스템(250)에

서의) 하나 이상의 형광 염료 및 현미경을 이용할 수 있다. 일부 실시예들에서, (예를 들어, 농축 및 강화 전의) 초기 샘플에서의 병원체들의 수는 200 미만일 수 있다. 농축 및 강화 단계들을 수행함으로써, 강화된 샘플에서의 병원체들의 수는 약 1,000 내지 약 100,000의 범위로 증가될 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화된 샘플에서의 병원체들의 수는 약 10,000일 수 있다. 샘플에서의 병원체들의 수의 식별에 응답하여, 분석기(200)는 강화된 샘플에서의 미리 결정된 수의 병원체들을 획득하기 위해 샘플을 추가로 강화 또는 희석하도록 구성될 수 있다.

[0088] 일부 실시예들에서, 샘플을 농축 이전 또는 이후에 프로테아제 및/또는 DNase로 처리할 수 있다. 예를 들어, 프로테아제 및/또는 DNase를 농축 이후이지만 강화 이전에 샘플에 추가할 수 있다. 다른 예에서, 프로테아제 및/또는 DNase를 용해 시약과 동시에 샘플에 추가할 수 있다.

[0089] 일부 실시예들에서, 샘플은 세정 프로세스 동안 프로테아제 및/또는 DNase로 처리될 수 있다. 예를 들어, 프로테아제들 및/또는 DNase는 샘플에서의 잔해물을 분해하고 그 양을 감소시키기 위해 면역자기 캡처 프로세스 동안 추가될 수 있다. 다른 예에서, 프로테아제들 및/또는 DNase는 면역자기 캡처 프로세스 이후에 추가될 수 있고, 이는 IMS 프로세스로의 프로테아제들/DNase 시약들의 임의의 간섭을 피하는 이점을 갖는다. 이것은 비드들에 의한 박테리아의 캡처가 프로테아제들에 의해 저하되어 그들의 효과를 방해할 수 있는 단백질들에 기초할 때 특히 중요하다.

[0090] 농축, 강화, 및 세정 후에, 처리 튜브(117)에서의 강화된 샘플은, 후속하여, 강화된 샘플에서의 농축된 병원체들의 감수성을 결정하기 위한 AST 어세이 및 이미지 획득을 수행하기 위해 분석기(200)에서의 피펫팅 시스템에 의해 AST 카트리지(232)로 이송할 준비가 될 수 있다.

[0091] **샘플 준비 카트리지 실시예들:**

[0092] 도 5는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플 준비 카트리지(500)의 도면을 도시한다. 샘플 준비 카트리지(500)는 도 3b에 도시된 샘플 준비 카트리지(224)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 샘플 준비 카트리지(500)는 샘플 용기에서의 샘플을 준비하고 처리하기 위해 분석기 디바이스(200)의 샘플 서랍(210) 내에 삽입되는 소모품일 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(500)는 폴리프로필렌(polypropylene)(PP) 물질로부터 사출 성형(injection molding)함으로써 제조될 수 있다. 샘플 준비 카트리지(500)는 하우징(502), 복수의 저장소들(504), 덮개(lid)(506), 및 식별자(508)를 포함할 수 있다.

[0093] 일부 실시예들에서, 하우징(502)은 둥근 예지들을 갖는 가늘고 긴 직사각형 형상을 가질 수 있다. 하우징(502)은 도 6a에 도시한 것과 같은 샘플 준비를 위해 이용된 추가 요소들을 보유하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 저장소들(504)은 함께 물딩된 별개의 저장소들 또는 튜브들일 수 있다. 복수의 저장소들(504)은 샘플 농축, 용해, 및/또는 핵산 증폭을 수행하기 위해 이용된 물질들을 저장하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 저장소들(504)에 저장된 물질들은 하나 이상의 완충제(예를 들어, NaCl-기반 완충제들, 인산염-완충된 식염수(phosphate-buffered saline)(PBS) 등), 세제, 계면활성제, 프로테아제, 성장 배지 등을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 저장소들(504)은 혈액 샘플의 세포 용해를 수행하기 위해, 하나 이상의 사포닌-기반 완충제, 세제, 계면활성제, 또는 프로테아제와 같은 하나 이상의 용해 시약을 저장할 수 있다. 일부 실시예들에서, 저장소들(504)은 하나 이상의 완충제, 세제, 계면활성제, 및 프로테아제의 조합을 포함할 수 있는 하나 이상의 위시 물질을 저장할 수 있다.

[0094] 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(500)의 덮개(506)는 하우징(502) 및 복수의 저장소들(504)에 걸쳐 연장되고 이들을 커버하고 있는 보호 덮개이다. 일부 실시예들에서, 식별자(508)는 항균제 감수성 테스트를 위한 샘플 준비를 수행하기 위해 분석기 디바이스(200)에 의해 스캐닝될 수 있는 샘플 준비 카트리지(500)의 식별자이다. 일부 실시예들에서, 식별자(508)는 식별 코드, 바코드, 또는 데이터 매트릭스, 예컨대, QR 코드 중 적어도 하나일 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(500)의 치수들은 도 5에 도시된 바와 같이 약 80 mm(폭) x 55 mm(깊이) x 155 mm(높이)일 수 있다.

[0095] 도 6a는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 처리 튜브(510) 및 그 안에 삽입될 다른 구성요소들을 갖는 샘플 준비 카트리지(500)의 분해도를 도시한다. 샘플 준비 카트리지(500)는 샘플 준비 카트리지(500)의 하우징(502) 내의 대응하는 리셉터클들에 저장되어 있는 처리 튜브(510), 제1 이동식 바늘(512), 및 2개의 제2 이동식 바늘(514)을 포함할 수 있다. 처리 튜브(510)는 도 1에 도시된 처리 튜브(113)의 예시적인 실시예를 나타낸다.

[0096] 일부 실시예들에서, 처리 튜브(510)는, 예를 들어, 원추형 바닥을 갖는 15 ml 튜브를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브(510)는 분석기 디바이스(200)에서의 다른 모듈들에서의 처리를 위해 샘플 준비 카트리지

(500)로부터 이동시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브(510)는 샘플 용기 및 샘플 준비 카트리지(500)를 분석기 디바이스(200)의 샘플 서랍(210) 및 샘플 카트리지 서랍(220)에 각각 로딩한 후에 샘플이 이송되는 튜브일 수 있다.

[0097] 일부 실시예들에서, 샘플은 제1 이동식 바늘(512)에 의해 샘플 서랍(210)에서의 샘플 용기로부터 샘플 카트리지 서랍(220)에서의 샘플 준비 카트리지(500)의 처리 튜브(510)로 이송될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 처리 튜브(510)의 격막을 통한 제1 이동식 바늘(512)의 삽입에 의해 샘플을 처리 튜브(510)로 및/또는 처리 튜브로부터 이송하도록 구성되는 제1 이동식 바늘(512)에 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 2개의 제2 이동식 바늘(514)은 저용량들을 핸들링하기 위해 이용될 수 있고, 제2 피펫터(204)는 2개의 제2 이동식 바늘(514)에 부착되도록 구성될 수 있다.

[0098] 도 6a는 또한 샘플 준비 카트리지(500)의 복수의 저장소들(504)의 개구들(520)을 도시한다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(500)에 12개의 저장소들(504)이 있을 수 있고, 여기서 각각의 저장소(504)는 약 2.5 mL의 용량을 보유한다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(500)는 하우징(502)의 리셉터클들을 커버하는 관통가능 막(pierceable film)(516), 및/또는 복수의 저장소들(504)의 개구들(520)을 커버하는 포일 시일(foil seal)(518)을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 관통가능 막(516)은 폴리에스터 막(polyester film)일 수 있고, 포일 시일(518)은 알루미늄 포일을 포함할 수 있으며, 여기서 관통가능 막(516) 및 포일 시일(518) 둘 다는 제1 및/또는 제2 이동식 바늘들(512, 514)에 의해 관통가능하다.

[0099] 도 6b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 처리 튜브(510) 및 그 안에 삽입될 다른 구성요소들을 갖는 샘플 준비 카트리지(500')의 분해도 도면을 도시한다. 샘플 준비 카트리지(500')는 샘플 준비 카트리지(500)와 유사하지만, 덮개(506) 대신에 보다 선형인 폼 팩터(form factor) 및 박리가능 막(peelable film)(506')을 갖는다.

[0100] **처리 튜브 및 바늘 실시예들:**

[0101] 도 7a 및 도 7b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 처리 튜브(700)의 도면들을 도시한다. 처리 튜브(700)는 도 6a에 도시된 처리 튜브(510)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 특히, 도 7a는 조립 후의 처리 튜브(700)를 도시하는 한편, 도 7b는 처리 튜브(700)에서의 구성요소들의 분해도를 도시한다. 처리 튜브(700)는 캡(cap)(702), 격막(704) 및 튜브(706)를 포함한다.

[0102] 일부 실시예들에서, 격막(704)은 캡(702)이 처리 튜브(700)의 격막(704) 위에 피팅된 상태로 튜브(706) 내부에 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(704)은 튜브(706)로부터의 캡(702)의 제거를 필요로 하지 않고서 처리 튜브(700)로의 그리고 처리 튜브로부터의 액체들의 이송을 위한 바늘들(예를 들어, 바늘들(512 및 514))의 삽입 및 제거를 위해 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(704)은 처리 튜브(700) 내에 기밀 밀봉을 제공하고 처리 튜브(700)의 내용물들의 오염을 방지할 수 있다.

[0103] 일부 실시예들에서, 처리 튜브(700)는 피펫터(예를 들어, 제1 및/또는 제2 피펫터들(202, 204))에 의한 핸들링을 위해 호환가능한 처리 튜브(700)의 상단부에 핸들링 특징부를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브(700)의 핸들링 특징부는 피펫터의 팁에 의한 삽입을 위해 호환가능한 캡(702)에서의 원통형 공동(cavity)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및 제2 피펫터들(202, 204)의 피펫 팁은 캡(702)에서의 원통형 공동 내로 눌러져 피팅되어 분석기 디바이스(200) 내에서 처리 튜브를 픽업하여 이동시킬 수 있다.

[0104] 일부 실시예들에서, 캡(702)은 고밀도 폴리에틸렌(HDPE) 물질로 제조될 수 있고, 튜브(706)는 폴리프로필렌(PP) 물질로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(704)은 고무, 폴리테트라플루오로에틸렌(polytetrafluoroethylene)(PTFE), 열가소성 엘라스토머(thermoplastic elastomer)(TPE), 실리콘, 부틸 고무(butyl rubber), 또는 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(704)은 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)과, 실리콘, 고무 및 부틸 고무로 구성된 그룹으로부터 선택된 다른 물질의 이중 층을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 조립 후의 처리 튜브(700)의 치수들은, 예를 들어, 약 110 mm의 높이 및 약 20 mm의 직경을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(704)은 약 1 내지 2 mm 범위의 두께를 가질 수 있다.

[0105] 일부 실시예들에서, 처리 튜브(700)는 처리 튜브(700)에서의 농축된 병원체들에 부착하도록 구성된 복수의 자기 비드들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 자기 비드들은 비특정 리간드들로 코팅될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 자기 비드들은 처리 튜브(700)에서의 농축된 병원체들 중 특정 병원체에 특유한 특정 리간드들로 코팅될 수 있다. 추가적인 또는 대안적인 실시예들에서, 복수의 자기 비드들은 샘플 준비 카트리지(500)의 하나 이상의 저장소(504)에 저장될 수 있다.

- [0106] 일부 실시예들에서, 처리 튜브(700)는 도 8a, 도 8b 및 도 8c에 도시된 바와 같이 바늘들을 수용하도록 구성될 수 있다. 도 8a, 도 8b 및 도 8c는 본 개시내용의 일부 실시예에 따른, 처리 튜브(700) 내로 삽입되도록 구성된 바늘(800)의 도면을 도시한다.
- [0107] 특히, 도 8a는 플라스틱 본체(810), 캐놀라(cannula)(820) 및 복수의 슬롯들(825)을 포함하는 바늘(800)을 도시한다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(810)는 접합에 의해 캐놀라(820)에 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스에서의 피펫터(들)(예를 들어, 제1 피펫터(202))는 바늘(800)의 플라스틱 본체(810)의 근위 단부(proximal end)에 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘(800)의 플라스틱 본체(810)는 분석기 디바이스에서의 피펫터들의 오염을 방지하도록 구성된 에어로졸 필터(aerosol filter)를 포함한다. 일부 실시예들에서, 바늘(800)은 바늘의 삽입 시에 처리 튜브(700)를 배기하도록 구성된 배기 바늘(venting needle)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘(800)의 배기는 밀봉된 처리 튜브(700) 내의 압력을 완화시키는 것을 용이하게 할 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘(800)의 플라스틱 본체(810)는, 바늘(800)이 격막(704)을 통해 튜브(706) 내로 삽입될 때 처리 튜브(700)의 내부와 외부 사이에 공기 연결을 제공하도록 구성된 미리 결정된 수의 슬롯들(825)을 포함한다. 예를 들어, 캐놀라(820)를 유지하는 4개의 슬롯들(825)이 바늘(800)의 주입된 부분에 존재할 수 있다. 일부 실시예들에서, 슬롯들(825)은 사출 성형에 의해 생성될 수 있다.
- [0108] 도 8b는 처리 튜브(700) 내로의 삽입 동안의 바늘(800)을 도시하고, 도 8c는 처리 튜브(700) 내로의 완전한 삽입 후의 바늘(800)을 도시한다. 일부 실시예들에서, 바늘(800)의 캐놀라(820)는 캡(702) 내로, 격막(704)을 통해, 처리 튜브(700)의 튜브(706) 내로 삽입될 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(810)의 원위 단부(distal end)는 튜브(706) 내로의 캐놀라(820)의 완전한 삽입 시에 처리 튜브(700)의 캡(702) 내로 피딩될 수 있다.
- [0109] 도 9a 및 도 9b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 대용량 바늘(900) 및 저용량 바늘(910)의 도면들을 각각 도시한다. 일부 실시예들에서, 대용량 바늘(900) 및 저용량 바늘(910)은 분석기 디바이스(200)에서 제1 피펫터(202) 및 제2 피펫터(204)에 각각 결합될 수 있다.
- [0110] 도 9a에 도시된 바와 같이, 대용량 바늘(900)은 플라스틱 본체(902) 및 캐놀라(904)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(902)는 분석기 디바이스에서의 액체 이송 동안 약 50  $\mu$ L 내지 5 mL의 용량을 보유하도록 구성된 저장소일 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(902)는 대용량 바늘(900)에 결합된 피펫터의 오염을 방지하기 위해 그 안에 배열된 필터(903)를 포함할 수 있다.
- [0111] 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(902)는 폴리프로필렌(PP) 물질로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘(900)의 플라스틱 본체(902)는 약 16 mm의 직경 및 약 50 mm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 캐놀라(904)는 스테인리스 스틸로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 캐놀라(904)는 약 100 mm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(902) 및 캐놀라(904)는 함께 조립될 때 약 150 mm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 고용량 바늘(900)은 약 1.05 mm의 내경(ID), 약 1.60 mm의 외경(OD), 및 약 2.50 mm의 캐놀라 직경(CD)을 갖는 17 게이지 바늘일 수 있다.
- [0112] 일부 실시예들에서, 캐놀라(904)는 바늘(900)의 내부 코어 주위에 배열된 보조 캐놀라를 더 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 캐놀라(904)는 하나 이상의 배기 홀(906)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 바늘(900)의 캐놀라(904)는 배기 홀(906)과 유체 연통할 수 있다. 일부 실시예들에서, 캐놀라(904)는 바늘 주위에 슬롯들을 갖는 슬롯형(slotted) 캐놀라일 수 있다.
- [0113] 도 9b에 도시된 바와 같이, 저용량 바늘(910)은 플라스틱 본체(912) 및 바늘 샤프트(914)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(912)는 분석기 디바이스에서의 액체 이송 동안 약 1 내지 200  $\mu$ L의 용량을 보유하도록 구성된 저장소일 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(912)는 저용량 바늘(910)에 결합된 피펫터의 오염을 방지하기 위해 그 내에 배열된 필터(913)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 플라스틱 본체(912)는 폴리프로필렌(PP) 물질로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘(910)의 플라스틱 본체(912)는 약 7.25 mm의 직경 및 약 45 mm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘 샤프트(914)는 약 10 mm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘 샤프트(914)는 스테인리스 스틸로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 저용량 바늘(910)은 약 0.20 mm의 내경(ID) 및 약 0.30 mm의 외경(OD)을 갖는 29 게이지 바늘일 수 있다.
- [0114] 도 10은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 고용량 바늘(900)의 예들의 도면을 도시한다. 특히, 도 10은 배기 홀들, 슬롯들 등을 갖는 고용량 바늘(900)의 캐놀라의 다양한 예들을 도시한다. 일부 실시예들에서, 도 10에 도

시된 제1 바늘은 바늘의 캐놀라 내에 2개의 접속된 오리피스들 또는 배기 홀들을 가짐으로써 배기될 수 있다. 일부 실시예들에서, 도 10에 도시된 제2 및 제4 바늘들은 각각의 바늘의 팁이 처리 튜브의 격막(예를 들어, 격막(704))에 삽입될 때 배기될 수 있다.

[0115] 도 11은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플 준비 카트리리지(500)와 인터페이싱하는 저용량 바늘(910)의 도면을 도시한다. 특히, 도 11은, 예컨대, 샘플 농축 및/또는 용해를 위해 이용되는 물질들을 저장소들(504)로부터 처리 튜브 내의 샘플로 이송하기 위해, 샘플 준비 카트리리지(500)의 복수의 저장소들(504) 중 하나에 배치된 저용량 바늘(910)의 예를 도시한다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리리지(500)는 저용량 바늘(910)과 같은 하나의 바늘을 수용하도록 구성될 수 있다. 다른 실시예들에서, 샘플 준비 카트리리지(500)는 고용량 바늘(900) 및 저용량 바늘(910) 둘 다와 같은 2개의 바늘들을 수용하도록 구성될 수 있다.

[0116] **AST 카트리리지 실시예들:**

[0117] 도 12a 및 도 12b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, AST 카트리리지(1200)의 도면들을 도시한다. AST 카트리리지(1200)는 AST 카트리리지(232)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 특히, 도 12a는 조립 후의 AST 카트리리지(1200)를 도시한 것인 반면, 도 12b는 AST 카트리리지(1200)에서의 구성요소들의 분해도 도면을 도시한다. AST 카트리리지(1200)는 커버(1202), 격막(1208), 및 베이스(1212)를 포함한다. 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 격막(1208) 위에 배열되고, 격막은 베이스(1212) 위에 배열된다.

[0118] 일부 실시예들에서, 베이스(1212)는 복수의 반응 웰들(1214)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212)에서의 반응 웰들(1214)의 수는 약 50 내지 200의 범위, 예를 들어, 100개의 반응 웰일 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)은 약 20 내지 50  $\mu\text{L}$ 의 범위, 예를 들어, 30  $\mu\text{L}$ 의 용량을 보유할 수 있다. 복수의 반응 웰들(1214)에서의 각각의 반응 웰(1214)은 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 각각의 분취액과 반응하기 위한 미리 결정된 농도의 항균제를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214) 내에 배치된 항균제는 액체 형태이거나, 건조 또는 동결 건조 형태일 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214) 내에 배치된 항균제는 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 반응 웰들(1214)에 분배하기 전에 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)에 의해 베이스(1212)에서의 각각의 반응 웰(1214)에 추가될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214) 내에 배치된 항균제는 AST 카트리리지(1200)의 제조 및/또는 조립 동안 각각의 반응 웰(1214)에 추가될 수 있다.

[0119] 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)에서의 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 처리 튜브(700)에서의 샘플에서의 병원체들의 농축 및 강화 후에 AST 카트리리지(1200)에서의 반응 웰들(1214)에 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 분배할 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)은 바늘(예를 들어, 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)에 결합된 바늘(900 또는 910))에 의한 분취액의 비접촉 분배에 의해 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 분취액을 수용하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘은 각각의 반응 웰(1214)의 격막(1208)을 관통하여 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 표면에 접촉하는 바늘 없이 각각의 분취액을 분배할 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘(900 또는 910)에 의해 분배된 각각의 분취액의 용량은 약 0.5  $\mu\text{L}$  내지 약 10  $\mu\text{L}$ 의 범위에 있을 수 있다.

[0120] 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)은 원뿔 형상 및 바닥 벽을 포함한다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽은 약 2 mm 미만인 직경을 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)로의 복수의 분취액들의 비접촉 분배는 샘플 준비 카트리리지(500)에서의 바늘(900 또는 910)이 반응 웰들(1214)의 각각의 격막들을 관통하는 것에 의해 그리고 바늘(900 또는 910)이 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽과 접촉하지 않고서 분취액들의 비접촉 분배를 수행하기 위해 제트 분배(jet dispensing)를 이용하는 것을 포함할 수 있다.

[0121] 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽은 광학적으로 투명하고 광학 조사를 위해 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽은, 예컨대, 분석기 디바이스(200)에서의 AST 서브시스템(250)에 의한 광학 조사를 위해 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽은, 예컨대, 분석기 디바이스(200)에서의 AST 서브시스템(250)에 의한 형광 현미경 검사를 위해 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 반응 웰들(1214)은 AST 서브시스템(250)에서의 온도 제어 블록에서의 대응하는 웰들에 피팅되도록 구성될 수 있고, 온도 제어 블록은 복수의 반응 웰들(1214)의 측면들을 가열하도록 구성될 수 있다.

[0122] 격막(1208)은 베이스(1212)의 복수의 반응 웰들(1214)에서의 각각의 반응 웰(1214)을 밀봉한다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 밀봉 캡 매트(sealing cap mat)라고 지칭될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 베이스(1212)의 복수의 반응 웰들(1214)을 가로질러 연장되는 단일체(unibody)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들

에서, 격막(1208)은 함께 조립된 다수의 부분들을 포함할 수 있고, 여기서 각각의 부분은 베이스(1212)의 각각의 반응 웰(1214)을 커버한다. 격막(1208)은 제1 또는 제2 피켓터(202, 204)에 결합된 바늘(900 또는 910)과 같은 바늘을 수용하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 바늘은 삽입 동안 격막(1208)에 오리피스를 생성할 수 있고, 격막(1208)에서의 오리피스는 격막(1208)의 물질의 결과로서 바늘이 제거될 때 폐쇄될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은, 고무, 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE), 열가소성 엘라스토머(TPE), 실리콘, 부틸 고무, 또는 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)과, 실리콘, 고무, 및 부틸 고무로 구성된 그룹으로부터 선택된 다른 물질의 이중 층을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 약 1 내지 2 mm 범위의 두께를 가질 수 있다.

[0123] 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 복수의 개구들(1206)을 포함할 수 있고, 여기서 각각의 개구(1206)는 베이스(1212)에서의 복수의 반응 웰들(1214)의 각각의 반응 웰(1214)과 정렬된다. 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 또한 식별자(1210)를 포함할 수 있다. 식별자(1210)는 항균제 감수성 테스트를 수행하기 위해 분석기 디바이스(200)에 의해 스캐닝될 수 있는 AST 카트리지(1200)의 식별자일 수 있다. 일부 실시예들에서, 식별자(1210)는 식별 코드, 바코드, 또는 데이터 매트릭스 중 적어도 하나일 수 있다.

[0124] 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 조립된 AST 카트리지(1200)를 형성하기 위해 격막(1208) 및 베이스(1212) 위에 피팅될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 결합된 구성요소를 형성하기 위해 커버(1202) 내로 오버몰딩될 수 있고, 결합된 구성요소는 스냅-핏 조인트(snap-fit joint) 또는 기계적 패스너(mechanical fastener) 중 적어도 하나에 의해 베이스(1212) 위에 조립될 수 있다. 일부 실시예들에서, 커버(1202), 격막(1208), 및 베이스(1212)는 하나 이상의 기계적 패스너에 의해 함께 인터로킹되거나 클램핑될 수 있다.

[0125] 일부 실시예들에서, 베이스(1212), 격막(1208), 및 커버(1202) 각각은 AST 카트리지(1200)의 중심에 개구(1204)를 포함한다. 일부 실시예들에서, 개구(1204)는 분석기 디바이스(200)에서 AST 카트리지(1200)를 이동하기 위한 피켓 팁(예를 들어, 제1 및 제2 피켓터들(202, 204))에 의한 삽입을 위해 호환가능한 원형 홀일 수 있다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212), 격막(1208), 및 커버(1202)에서의 개구(1204)는 AST 카트리지(1200)의 조립 시에 서로 정렬될 수 있다.

[0126] 일부 실시예들에서, 베이스(1212)는 폴리스티렌(polystyrene)(PS) 물질로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 폴리프로필렌(PP) 또는 폴리카보네이트(PC) 물질로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 조립된 AST 카트리지(1200)의 치수들은 약 135 mm(길이) x 35 mm(폭) x 10 mm(높이)일 수 있다.

[0127] 도 13은 본 개시내용의 실시예들에 따른, AST 카트리지(1200) 내로 삽입되는 저용량 바늘(910)의 도면을 도시한다. 특히, 도 13은 바늘(910)의 바늘 샤프트(914)가 격막(1208)을 관통하여 AST 카트리지(1200)의 반응 웰(1214) 내로 관통하는 것을 도시하고 있다. 일부 실시예들에서, 바늘 샤프트(914)는 삽입 동안 격막(1208)에 오리피스들을 생성할 수 있다. 격막(1208)의 물질의 결과로서 바늘 샤프트(914)가 제거될 때 격막(1208)에 있는 오리피스들이 폐쇄될 수 있다.

[0128] **분석기에서의 모듈들 및 서브시스템들의 실시예들:**

[0129] 도 14a 및 도 14b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스(200)에서 이용된 예시적인 원심 분리기들의 도면을 도시한다. 특히, 도 14a는 처리 튜브(1404)에서의 샘플을 원심 분리하는데 이용될 수 있는 제1 원심 분리기(1402)를 도시하는 반면, 도 14b는 AST 카트리지(1414)에서의 강화된 샘플을 원심 분리하는데 이용될 수 있는 제2 원심 분리기(1412)를 도시한다. 제1 및 제2 원심 분리기들(1402, 1412)은 각각 도 3b에 도시된 제1 및 제2 원심 분리기들(240, 242)의 예시적인 실시예들을 나타낸다. 처리 튜브(1404) 및 AST 카트리지(1414)는 각각 도 7a 및 도 7b, 및 도 12a 및 도 12b에 도시된 처리 튜브(700) 및 AST 카트리지(1200)의 예시적인 실시예들을 나타낸다.

[0130] 일부 실시예들에서, 제1 원심 분리기(1402)는 약 12,000 G의 상대 원심력(RCF) 또는 g 힘을 처리 튜브(1404)에 적용하도록 구성되는 고속 원심 분리기일 수 있다. 일부 실시예들에서, 제2 원심 분리기(1412)는 약 3,000 G의 상대 원심력(RCF) 또는 g 힘을 AST 카트리지(1414)에 적용하도록 구성되는 저속 원심 분리기일 수 있다.

[0131] 일부 실시예들에서, 제1 원심 분리기(1402)는 처리 튜브(1404)를 제1 배향으로 보유하고 처리 튜브(1404)에 45° 스윙 버킷 원심 분리를 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 카트리지(1414)가 제2 원심 분리기(1412)에서의 수직 위치로 이동하도록, 제2 원심 분리기(1412)는 AST 카트리지(1414)를 다른 배향으로 보유하고 90° 스윙 버킷 원심 구성을 적용할 수 있다.

[0132] 일부 실시예들에서, 제1 원심 분리기(1402) 및 제2 원심 분리기(1412)는 한 번에 다수의 처리 튜브(1404) 및

AST 카트리지(1414)를 각각 원심 분리할 수 있다. 예를 들어, 제1 원심 분리기(1402)는 함께 원심 분리하기 위해 한 번에 2개의 처리 튜브(1404)를 보유하도록 구성될 수 있다. 다른 예에서, 제2 원심 분리기(1412)는 함께 원심 분리하기 위해 한 번에 2개의 AST 카트리지(1414)를 보유하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브들(1404)은 병원체들을 갖는 강화된 샘플을 획득하기 위해 농축 및 강화 단계들 동안 제1 원심 분리기(1402) 내로 이동될 수 있다.

[0133] 도 15a, 도 15b, 도 15c 및 도 15d는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스(200)에서 이용된 예시적인 강화 서브시스템(1500)의 도면들을 도시한다. 강화 서브시스템(1500)은 도 3b에 도시된 강화 서브시스템(246)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(1500)은 다른 물질들과의 샘플들의 진동 및 혼합을 허용하기 위해 스윙 모션을 처리 튜브들(700)에 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브(700)는 샘플의 병원체 성장 및 강화를 위해, 처리 튜브(700)에서의 병원체들을 성장 배지들과 혼합하기 위해 피켓팅 시스템(예를 들어, 제1 또는 제2 피켓터(202, 204))에 의해 강화 서브시스템(1500)에 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 튜브(700)는 혈액 샘플에서의 혈액 세포들을 용해하기 위해 하나 이상의 용해 시약을 처리 튜브(700)에서의 혈액 샘플과 혼합하기 위해 피켓팅 시스템(예를 들어, 제1 또는 제2 피켓터(202, 204))에 의해 강화 서브시스템(1500)에 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(1500)의 혼합 기능은 분석기 디바이스(200)에서의 병원체 식별 및/또는 항균제 감수성 테스트 둘 다를 위한 샘플 처리를 위해 이용될 수 있다.

[0134] 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(1500)은 혼합기일 수 있어서, 처리 튜브들(700)을  $\pm 30^\circ$  각도로 앞뒤로 스윙함으로써 하나 이상의 처리 튜브(700)를 수평 위치에서 회전시킨다. 일부 실시예들에서, 4개의 처리 튜브들(700)이 한 번에 강화 서브시스템(1500) 내에 로딩될 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(1500)은 업 위치와 다운 위치 사이에서 앞뒤로 이동하는 자석(1501)을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 처리 튜브(700)는 하나 이상의 처리 튜브(700)에서의 농축된 병원체들에 부착되도록 구성되는 자기 비드들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 자석(1501)은 하나 이상의 처리 튜브(700)에서의 자기 비드들에 부착된 농축된 병원체들을 보유하는데 이용될 수 있다.

[0135] 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(1500)은 처리 튜브(700)에서의 및/또는 AST 카트리지(1200)에서의 자기 비드들에 부착되는 농축된 병원체들을 보유하는 데 이용될 수 있는 추가적인 또는 대안적인 독립적 자석 스테이션을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 서브시스템(1500)에서의 자석 스테이션은 AST 카트리지(1200)의 이미지를 획득하기 위해 강화된 샘플의 각각의 분취액에서의(예를 들어, AST 카트리지(1200)의 반응 웰들(1214)에서의) 병원체들을 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽으로 이동시키는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 분취액에서의 병원체들은 병원체들이 반응 웰들(1214)의 바닥 벽으로 이동하는 것을 가능하게 하는 자기 비드들에 부착될 수 있다.

[0136] 도 16a, 도 16b 및 도 16c는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기 디바이스(200)에서 이용된 예시적인 기계 장치(1600)의 도면을 도시한다. 기계 장치(1500)는 도 3b에 도시된 기계 장치(248)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 일부 실시예들에서, 기계 장치(1600)는 수직 위치에 2개의 처리 튜브(700)를 보유할 수 있고, 예컨대, 샘플에서의 미생물의 용해를 수행하기 위해 처리 튜브(700)에 빠른 진동 이동을 제공할 수 있다. 일부 실시예들에서, 기계 장치(1600)는 교반기일 수 있다. 추가적인 또는 대안적인 실시예들에서, 기계 장치(1600)는 샘플을 교반하기 위해 처리 튜브(700)를 초음파 처리하도록 구성되는 초음파 처리기를 포함할 수 있다.

[0137] 도 17a 및 도 17b는 본 개시내용의 실시예들에 따른, 분석기에서의 AST 서브시스템(1700)과 인터페이싱하는 AST 카트리지(1200)의 도면들을 도시한다. AST 서브시스템(1700)은 도 3b에 도시된 AST 서브시스템(250)의 예시적인 실시예를 나타낸다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(1700)은 AST 카트리지(1200)에서의 강화된 샘플의 광학 조사를 수행하도록 구성된 이미징 서브시스템일 수 있다. 일부 실시예들에서, AST 서브시스템(1700)은 현미경(1702), 스캐닝 스테이지(1706), 및 열 블록(1708)을 포함할 수 있다.

[0138] 일부 실시예들에서, AST 카트리지(1200)는 분석기 디바이스(200)에서의 피켓터(예를 들어, 제1 또는 제2 피켓터(202, 204))에 의해 AST 서브시스템(1700)의 열 블록(1708)에 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 열 블록(1708)은 AST 카트리지(1200)가 내부에 위치될 때 AST 카트리지(1200)의 반응 웰들(1214)의 모든 측면들을 둘러쌀 수 있다. 일부 실시예들에서, 열 블록(1708)은 AST 카트리지(1200)의 37 °C 온도 제어를 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 가열 덮개(1710)는 AST 서브시스템(1700)의 열 블록(1708)에 위치될 때 AST 카트리지(1200) 위에 배치될 수 있다. 현미경(1702)은 열 블록(1708)을 통해 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽의 광학 관독을 획득하도록 구성될 수 있다.

- [0139] 일부 실시예들에서, 스캐닝 스테이지(1706)는 AST 카트리지(1200) 위에서의 현미경(1702)의 전동 위치결정(motorized positioning)을 가능하게 하는 전동 XYZ 변환 스테이지(motorized XYZ-translation stage)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 약 300초 미만 내에 하나 이상의 파장으로(예를 들어, 2개의 파장으로) AST 카트리지(1200)에서의 반응 웰들(1214) 전부를 스캐닝하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 광학 관독들을 위해 10X 대물렌즈를 이용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 상이한 형광 신호들(예컨대, 녹색 및 적색 형광)을 검출하기 위해 2개의 광학 채널을 이용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은, 여기(excitation)를 위한 490 nm 및 방출을 위한 520 nm(예를 들어, 녹색 형광을 검출하기 위한)의 파장들 및 여기를 위한 540 nm 및 방출을 위한 620 nm(예를 들어, 적색 형광을 검출하기 위한)의 파장들과 같은, 2개의 상이한 파장을 이용하여 AST 카트리지를 스캐닝할 수 있다.
- [0140] 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 AST 카트리지(1200)에서의 반응 웰들(1214)의 형광 현미경 검사를 수행하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)을 이용하여 하나 이상의 이미지를 획득하기 전에, 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 분취액들에서의 병원체들을 염색(stain)하기 위해 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1214)에 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료를 분배할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 및/또는 제2 형광 염료들은 AST 카트리지(1200)의 반응 웰들(1214)에서의 강화된 샘플의 분취액들의 인큐베이션 후에 반응 웰들(1214)에 전달될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 형광 염료는 반응 웰들(1214)의 분취액들에서의 살아있는 세포들을 라벨링하는 DNA-결합 염료를 포함할 수 있는 반면, 제2 형광 염료는 온전한 세포 멤브레인을 가로지르지 못하는 형광 삽입제(fluorescent intercalating agent)를 포함할 수 있고, 따라서 반응 웰들(1214)의 분취액들에서 그것의 멤브레인이 손상된 죽은 세포들만을 라벨링한다. 예를 들어, 제1 형광 염료는 SYBR® Green 또는 녹색 형광을 방출하는(예를 들어, 약 500 내지 560 nm의 방출 파장들에서의) 다른 형광 염료일 수 있고, 제2 형광 염료는 프로피디움 요오드화물(propidium iodide)(PI) 또는 적색 형광을 방출하는(예를 들어, 약 560 내지 700 nm의 방출 파장들에서의) 다른 형광제일 수 있다.
- [0141] 일부 실시예들에서, 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 (제1 또는 제2 피펫터(202, 204)에 결합된) 제1 또는 제2 바늘(512 또는 514)이 반응 웰들(1214)의 각각의 격막들(1208)을 관통하는 것에 의해 그리고 제1 또는 제2 바늘(512 또는 514)이 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽과 접촉하지 않고서 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료의 반응 웰 교차 오염을 회피하기 위해 비접촉 분배를 수행하는 데 세트 분배를 이용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 또는 제2 바늘(512 또는 514)에 의해 각각의 반응 웰(1214)에 분배된 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료의 용량은 약 0.5 마이크로리터 내지 10 마이크로리터의 범위에 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 AST 카트리지(1200)의 각각의 반응 웰(1214)에서 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료를 검출하기 위해 하나 이상의 형광 이미지를 획득하는 것에 의해 AST 카트리지(1200)의 이미지 획득을 위한 형광 현미경 검사를 수행할 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 AST 카트리지(1200)의 형광 이미지들을 분석하기 위해 하나의 형광 염료, 2개의 형광 염료들 등을 검출하도록 구성될 수 있다.
- [0142] 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 AST 카트리지(1200)의 획득된 하나 이상의 이미지의 이미지 분석 및 데이터 처리를 수행하도록 구성되는 프로세서(예를 들어, 처리 디바이스(116))에 결합될 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)에 결합된 프로세서는 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1214)에서의 형광 병원체들의 수를 계산하는 것에 의해 AST 카트리지(1200)의 획득된 하나 이상의 이미지를 분석할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 AST 카트리지(1200)의 반응 웰들(1214)에서의 살아있는 세포들의 수 및 죽은 세포들의 수를 계산하는 것 및 다양한 규칙들을 적용하는 것에 기초하여 샘플에서의 병원체가 다양한 항균제들에 내성이 있는지를 결정할 수 있다. 예를 들어, 프로세서는 (예를 들어, 하나 이상의 이미지에서 녹색 형광에 의해 검출된) 살아있는 세포들의 수에 대한 (예를 들어, 하나 이상의 이미지에서 적색 형광에 의해 검출된) 죽은 세포들의 수의 비율이 미리 결정된 항균제 농도에 대한 미리 결정된 임계값 미만인지를 결정하는 것에 의해 특정 병원체가 내성이 있는지를 식별할 수 있다.
- [0143] 다른 예에서, 프로세서는 살아있는 세포들의 수에 대한 죽은 세포들의 수의 비율이 반응 웰(1214)에서의 항균제가 없는 강화된 샘플의 분취액에 대한 미리 결정된 임계값 초과인지를 결정함으로써 특정 병원체가 내성이 있는지를 식별할 수 있다. 다른 예에서, 프로세서는 항생제 없이 인큐베이팅된 분취액에 대한 살아있는 세포들의 수에 대한 항생제로 인큐베이팅된 분취액에 대한 살아있는 세포들의 수의 비율이 미리 결정된 임계값 초과인지를 결정함으로써 특정 병원체가 내성이 있는지를 식별할 수 있다. 또 다른 예에서, 프로세서는 시간 0에서(예를 들어, 인큐베이션/반응 전에) 분취액에 대한 살아있는 세포들의 수에 대한 항생제로 인큐베이팅된 분취액에 대한 살아있는 세포들의 수의 비율이 미리 결정된 임계값 초과인지를 결정함으로써 특정 병원체가 내성이 있는지를 식별할 수 있다. 또 다른 예에서, 프로세서는 시간 0에서(예를 들어, 인큐베이션/반응 전에) 분취액에 대

한 하나 이상의 이미지에서의 살아있는 세포들의 밝기(brightness)에 대한 항생제로 인큐베이팅된 분취액에 대한 하나 이상의 이미지에서의 살아있는 세포들의 밝기의 비율이 미리 결정된 임계값 초과인지를 결정함으로써 특정 병원체가 내성이 있는지를 식별할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 고도로 내성인 병원체들을 식별하고 특정 병원체가 특정 항균제들에 내성이 있는지 여부를 결정하기 위해 이러한 예시적인 규칙들 중 하나 이상, 또는 임의의 조합을 적용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702) 및 프로세서는 (예를 들어, 강화된 샘플의 분취액과 항균제 사이의) 각각의 반응의 여러 복제들이 AST 카트리지(1200)에서의 다수의 반응 웰들(1214)에서 수행되는 반응 웰들(1214)의 이미지들을 획득하고 처리할 수 있다.

[0144] 일부 실시예들에서, 프로세서는 AST 카트리지(1200)의 하나 이상의 이미지를 분석하는 것에 기초하여 특정 병원체의 성장을 억제하는 항생제 또는 항균제의 최소 억제 농도(minimum inhibitory concentration)(MIC)를 결정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 상이한 항생제 농도들에서 병원체들을 인큐베이팅하기 위해 상이한 분취액들이 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 반응이 병원체들의 초기 수에 대해 유의한 성장을 나타내지 않은 항생제의 최소 농도로서 MIC를 결정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 중간 항균제 농도들에 대한 결과들을 외삽함으로써 MIC를 결정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 데이터베이스(예를 들어, 데이터베이스들(110))에 저장된 룩업 테이블 또는 논리 규칙들의 세트에 기초하여 병원체들이 내성이 있는지, 중간인지 또는 감수성인지를 결정하기 위해 MIC에 대해 획득된 값을 이용할 수 있다.

[0145] **예시적인 동작 방법들:**

[0146] 도 18은 본 개시내용의 실시예들에 따른, 샘플의 AST를 수행하기 위한 방법(1800)의 흐름도를 도시한다. 일부 실시예들에서, 방법(1800)은, 도 1 내지 도 17을 참조하여 위에서 논의된 바와 같이, 분석기(108, 200), 샘플 준비 카트리지(114, 224, 500), 처리 튜브(113, 510, 700), AST 카트리지(115, 232, 1200), 제거기(109), 및 처리 디바이스(116)를 포함한, AST 시스템에서의 다양한 구성요소들을 이용하여 AST를 수행하기 위한 단계들을 설명할 수 있다. 방법(1800)에 도시된 동작들이 완전한 것은 아니고 다른 동작들이 또한 예시된 동작들 중 임의의 것의 이전에, 그 이후에, 또는 그 사이에 수행될 수 있다는 것을 이해해야 한다. 본 개시내용의 다양한 실시예들에서, 방법(1800)의 동작들이 상이한 순서로 수행되고 및/또는 달라질 수 있다.

[0147] 도 18의 방법(1800)은 샘플 준비 카트리지 및 샘플 용기가 분석기 디바이스에 수용되는 단계(1802)에서 시작한다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)는 분석기 디바이스(200)의 사용자 또는 조작자에 의해, 분석기 디바이스(200)의 샘플 카트리지 서랍(220) 및 샘플 서랍(210)에 각각 배치되는 샘플 준비 카트리지(224) 및 샘플 용기를 수용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 용기는 환자로부터 획득된 샘플을 포함할 수 있고, 여기서 샘플은 병원체들을 포함한다. 일부 실시예들에서, 샘플 용기에서의 샘플은 환자로부터 획득된 전혈, 소변, 무균 체액, 또는 다른 샘플들을 포함할 수 있다.

[0148] 단계(1804)에서, 샘플 준비 카트리지로부터의 제1 바늘이 분석기 디바이스에서의 피펫터 시스템에 설치된다. 일부 실시예들에서, 샘플 준비 카트리지(500)로부터의 바늘(512 또는 514)은, 샘플 준비 카트리지(500) 위쪽으로 움직이는 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)의 피펫 팁에 의해, 바늘의 플라스틱 본체 부분(예를 들어, 플라스틱 본체(902 또는 912))을 누르고 그에 피팅함으로써, 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)에 설치될 수 있다.

[0149] 단계(1806)에서, 제1 바늘은 피펫터 시스템을 이용하여 샘플 용기 내로 삽입된다. 일부 실시예들에서, 바늘(512 또는 514)의 설치 후에, 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 아래로 누르고 샘플 용기 내로 바늘(512 또는 514)을 삽입하기 전에 샘플 서랍(210)에서의 샘플 용기 위로 이동할 수 있다.

[0150] 단계(1808)에서, 샘플 용기로부터의 샘플은 제1 바늘을 통해 샘플 준비 카트리지에서의 처리 튜브로 이송된다. 일부 실시예들에서, 바늘(512 또는 514)은 샘플을 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)의 플라스틱 본체 저장소 내로 끌어올릴 수 있고, 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 샘플을 샘플 준비 카트리지(500)에서의 처리 튜브(510) 내로 이송하기 위해 샘플 준비 카트리지(500)로 이동할 수 있다.

[0151] 샘플을 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)의 플라스틱 본체 저장소로부터 처리 튜브(510)로 이송하기 위해, (제1 또는 제2 피펫터(202, 204)에 결합된) 바늘(512 또는 514)은 처리 튜브의 격막(예를 들어, 처리 튜브(700)의 격막(704))을 관통할 수 있다. 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 이어서 바늘(512 또는 514)을 통해 처리 튜브로 샘플을 분배할 수 있다.

[0152] 단계(1810)에서, 샘플의 병원체들은 분석기 디바이스를 이용하여 처리 튜브에서 농축 및 강화되어, 처리 튜브에서 강화된 샘플을 초래한다. 일부 실시예들에서, 단계(1810)에서의 샘플의 농축 및 강화는, 원심 분리, 유체 제거, 성장 배지 추가, 및 강화된 샘플에서의 병원체 카운팅을 포함하는 일련의 단계들을 수행하기 위해 분석기

디바이스(200)에서의 구성요소들을 이용할 수 있다.

- [0153] 단계(1812)에서, 강화된 샘플의 복수의 분취액들이 분석기 디바이스에서의 AST 카트리지에서 복수의 반응 웰들에 분배된다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)에서의 제1 또는 제2 피펫터(202, 204)는 강화된 샘플의 복수의 분취액들을 AST 카트리지(1200)에서의 반응 웰들(1214)에 분배할 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 분취액은 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1214)에 대응할 수 있고, 각각의 반응 웰(1214)은 병원체들을 포함하는 강화된 샘플의 각각의 분취액과 반응하기 위한 미리 결정된 농도의 항균제를 포함할 수 있다.
- [0154] 단계(1814)에서, AST 카트리지의 반응 웰들에서의 분취액들은 분취액들에서의 병원체들과 각각의 반응 웰에서의 항균제 사이에 반응이 발생하기 위한 미리 결정된 시간 기간 동안 인큐베이팅된다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 AST 카트리지(1200)를 AST 서브시스템(250 또는 1700)으로 이동시킬 수 있고, 여기서 반응 웰들(1214)은 온도 제어 인큐베이션을 위해 열 블록 또는 가열기에 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 반응 웰들(1214)에서의 분취액들의 인큐베이팅을 위한 미리 결정된 시간 기간은 약 2시간 이하이다.
- [0155] 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)에서 분취액들을 인큐베이팅한 후에, 제1 피펫터(202)는 AST 카트리지(1200)의 이미지를 획득하기 위해 각각의 분취액에서의 병원체들을 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽으로 이동시키기 위해 AST 카트리지(1200)를 분석기 디바이스(200)에서의 원심 분리기(예를 들어, 원심 분리기(242 또는 1412))로 이동시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)에서 분취액들을 인큐베이팅한 후에, 제1 피펫터(202)는 AST 카트리지(1200)를 강화 서브시스템(1500)으로 이동시킬 수 있고, 여기서 (자석 스테이션과 같은) 자석이 AST 카트리지(1200)의 이미지를 획득하기 위해 각각의 분취액에서의 병원체들을 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽으로 이동시키기 위해 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 병원체들은 각각의 분취액에서의 자기 비드들에 부착될 수 있다.
- [0156] 단계(1816)에서, AST 카트리지에서 각각의 반응 웰의 이미지는 분석기 디바이스에서의 현미경을 이용하여 획득된다. 일부 실시예들에서, 제1 피펫터(202)는 AST 카트리지(1200)를 AST 서브시스템(1700)으로 이동시킬 수 있고, 여기서 AST 카트리지(1200)는 스캐닝 스테이지(1706)를 이용하여 현미경(1702)에 의해 이미징된다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)은 내측 표면 및 외측 표면을 갖는 바닥 벽을 포함하고, 여기서 분취액들에서의 병원체들과 각각의 반응 웰(1214)에서의 항균제 사이의 반응은 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽의 내측 표면 위에서 발생한다. 일부 실시예들에서, AST 카트리지(1200)의 이미지는 현미경(1702)에 의해 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽의 외측 표면에서 획득된다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 AST 카트리지(1200)의 외측 표면 아래로부터 취해진 하나 이상의 이미지를 획득하도록 구성된다. 일부 실시예들에서, 현미경(1702)은 AST 카트리지(1200)의 각각의 반응 웰(1214)에서의 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료를 검출하기 위해 하나 이상의 형광 이미지를 획득하도록 구성될 수 있다.
- [0157] 단계(1818)에서, 각각의 반응 웰에서의 항균제에 대한 병원체들의 감수성은 이미지를 분석함으로써 결정된다. 일부 실시예들에서, 분석기 디바이스(200)에서의 현미경(1702)에 결합된 프로세서(예를 들어, 처리 디바이스(116))는 현미경(1702)으로부터 획득된 하나 이상의 이미지를 분석함으로써 각각의 반응 웰(1214)에서의 항균제에 대한 병원체들의 감수성을 결정하기 위해 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 AST 카트리지(1200)에서의 각각의 반응 웰(1212)에서의 형광 병원체들의 수를 계산함으로써 하나 이상의 이미지를 분석할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 제1 형광 염료에 의한 분취액들에서의 세포들의 염색에 기초하여 각각의 반응 웰(1214)에서의 결과에 따라 병원체들 중 하나 이상이 항균제에 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정함으로써 병원체들의 감수성을 결정할 수 있다.
- [0158] 일부 실시예들에서, 프로세서는 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료에 의한 분취액들에서의 세포들의 염색에 기초하여 병원체들 중 하나 이상이 각각의 반응 웰(1214)에서의 항균제에 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정함으로써 병원체들의 감수성을 결정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 제1 형광 염료 및/또는 제2 형광 염료에 의한 분취액들에서의 세포들의 염색에 기초하여 미리 결정된 농도의 특정 항균제에 대해 살아있는 세포들의 수에 대한 죽은 세포들의 수의 비율이 미리 정의된 임계값 미만이라고 결정함으로써 특정 병원체가 반응 웰(1214)에서의 특정 항균제에 내성이 있다고 결정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 살아있는 세포들의 수에 대한 죽은 세포들의 수의 비율이 약 20 % 또는 약 10%의 미리 정의된 임계값 미만이라고 결정할 수 있다.
- [0159] 일부 실시예들에서, 현미경(1702)에 결합된 프로세서는 반응 웰들(1214)에서의 고투여량(high dose) 항균제들의 이용으로 인해 생기는 하나 이상의 반응 웰(1214)에서의 가속된 반응에 기초하여 고도로 내성인 병원체들을 검

출하도록 구성될 수 있다. 특히, 복수의 반응 웰들(1214) 중 제1 반응 웰(1214)은 제1 농도의 항균제를 포함할 수 있고, 여기서 제1 농도는 항균제 및 병원체에 대한 임상 중단점보다 상당히 더 높은 고투여량이다. 일부 실시예들에서, 임상 중단점은 특정 병원체에 의한 감염이 그 항균제 또는 항생제에 의한 성공적인 치료에 감수성 인지를 정의하기 위해 이용되는 항균제 또는 항생제의 농도 또는 선량을 나타낼 수 있다. 일부 실시예들에서, 임상 중단점보다 더 높은 항균제 농도를 이용하는 것은 반응 웰에서의 분취액에서의 항균제와 농축된 병원체들 사이의 반응을 가속시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 더 높은 항균제 농도를 이용하는 것에 의해, 프로세서는 제1 반응 웰의 이미지들을 약 1시간 이하 내에 고도로 내성인 병원체들을 결정하기 위해 제어와 비교함으로써 병원체들의 감수성을 결정하도록 구성될 수 있다.

[0160] 병원체 감수성을 결정하는 것에 부가하여, 프로세서는 AST 카트리지(1200)의 이미지에 기초하여 하나 이상의 병원체에서의 특정 병원체의 성장을 억제하기 위한 특성의 항균제의 최소 억제 농도(MIC)를 결정하도록 추가로 구성될 수 있다. 더욱이, 프로세서는 프로세서에 통신가능하게 결합된 데이터베이스(예를 들어, 데이터베이스들(110))에서의 규칙들의 세트를 파싱함으로써 특정 병원체가 특정 항균제의 MIC의 값에 기초하여 특정 항균제에 감수성인지, 중간인지, 또는 내성이 있는지를 결정하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 데이터베이스(110)는 (예를 들어, 분석기 디바이스(200)에 의해 수행되는) 이전의 병원체 식별 작업 흐름들로부터의 병원체 분류 데이터 및/또는 결과들을 저장하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세서는 하나 이상의 데이터베이스(110)로부터 병원체 분류 데이터 및/또는 결과들을 검색하고, 검색된 데이터를 이용하여 MIC로부터 내성/중간/감수성 호출들을 수행하기 위해 적용되어야 하는 하나 이상의 규칙들을 결정할 수 있다.

[0161] 도 19는 본 개시내용의 실시예들에 따른, AST 카트리지를 제조 또는 조립하기 위한 방법(1900)의 흐름도를 도시한다. 일부 실시예들에서, 방법(1900)은 도 3b 내지 도 17을 참조하여 위에서 논의된 바와 같이, AST 카트리지(232, 1200)와 같은 AST 카트리지의 제조 및/또는 조립을 설명할 수 있다. 방법(1900)에 도시된 동작들은 완전한 것은 아니고 다른 동작들이 또한 예시된 동작들 중 임의의 것의 이전에, 그 이후에 또는 그 사이에 수행될 수 있다는 것을 이해해야 한다. 본 개시내용의 다양한 실시예들에서, 방법(1900)의 동작들이 상이한 순서로 수행되고 및/또는 달라질 수 있다.

[0162] 도 19의 방법(1900)은 단계(1902)에서 시작하여, 복수의 개구들을 포함하는 커버가 제조된다. 일부 실시예들에서, 개구들(1206)을 갖는 AST 카트리지(1200)의 커버(1202)는 사출 성형을 이용하여 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 폴리프로필렌(PP), 폴리카보네이트(PC) 또는 다른 플라스틱 물질로 제조될 수 있다.

[0163] 단계(1904)에서, 격막의 제1 측면이 커버에서의 복수의 개구들을 가로질러 연장되도록 격막이 커버 내로 오버몰딩된다. 일부 실시예들에서, 커버(1202)는 격막(1208)이 단일 고체 단편을 생성하기 위해 그 위에 직접 몰딩되는 기판일 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)과, 실리콘, 고무 및 부틸 고무로 구성되는 그룹으로부터 선택된 다른 물질의 이중 층으로부터 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)은 고무, 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE), 열가소성 엘라스토머(TPE), 실리콘, 부틸 고무, 또는 이들의 조합 중 적어도 하나로부터 제조될 수 있다.

[0164] 단계(1906)에서, 복수의 반응 웰들을 포함하는 베이스가 생성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212)는 사출 성형을 이용하여 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212)는 폴리스티렌(PS)으로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212)를 생성하는 것은 단일 구성요소로서 함께 접속된 복수의 반응 웰들(1214)을 생성하는 것을 포함한다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212)에서의 복수의 반응 웰들(1214)은 원뿔 형상을 갖도록 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)의 바닥 벽의 직경은 약 2 mm 미만일 수 있다.

[0165] 일부 실시예들에서, 베이스(1212)의 제조 동안 그리고 베이스(1212)를 격막(1208)에 부착하기 전에 미리 결정된 농도의 항균제가 각각의 반응 웰(1214)에 액체 형태로 추가될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 반응 웰(1214)에서의 항균제는 강제 공기(forced air)를 이용하여 항균제의 건조된 또는 동결 건조 형태를 획득하기 위해 건조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 항균제의 저하를 방지하기 위해 각각의 반응 웰(1214)에서 항균제를 추가하는 단계 및 항균제를 건조하는 단계는 미리 결정된 시간 기간 내에 완료될 수 있다. 일부 실시예들에서, 항균제를 추가하고 건조하기 위한 미리 결정된 시간 기간은 약 10분, 15분 등이다.

[0166] 단계(1908)에서, 베이스는 격막의 제2 측면에 부착될 수 있어서, 격막의 제2 측면은 베이스에서의 복수의 반응 웰들을 가로질러 연장되어 밀봉한다. 일부 실시예들에서, 격막(1208)의 제1 측면은 커버(1202) 내에 오버몰딩되고, 격막(1208)의 제2 측면은 베이스(1212)에 부착되어 베이스(1212)에서의 반응 웰들(1214) 위에 밀봉 메커니즘을 제공한다. 일부 실시예들에서, 베이스(1212)는 스냅-핏 조인트 또는 기계적 패스너 중 적어도 하나를

이용함으로써 격막(1208)의 제2 측면에 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 커버(1202)에서의 각각의 개구(1206)는 격막(1208)의 제2 측면에 베이스(1212)를 부착하는 동안 베이스(1212)에서의 복수의 반응 웰들(1214)의 각각의 반응 웰(1214)과 정렬될 수 있다.

**[0167] 예시적인 이용 사례**

**[0168]** 일부 실시예들에서, 위에 설명된 AST 시스템은 혈액 샘플의 항생제 감수성 테스트를 위한 최소 억제 농도를 결정하기 위해 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 혈액 샘플은 용해제를 포함하는 반응 튜브에 추가된다. 일부 실시예들에서, 샘플의 양은 이용된 반응 튜브의 크기에 의존할 수 있다. 예를 들어, 반응 튜브가 15 mL의 용량을 가지면, 튜브에서의 샘플 용량은 15 mL 미만, 예컨대, 10 mL일 것이다. 일부 실시예들에서, 용해 작용을 개선하기 위해 프로테아제와 같은 추가 작용제가 반응 튜브에 추가될 수 있다. 예를 들어, 100 μL - 2 mL의 프로테아제가 추가될 수 있다. 샘플을 용해 및 농축하기 위해, 샘플들은 저속 회전 이동 하에서 인큐베이션될 수 있고, 그 후 원심 분리된다. 샘플에 대한 상청액은 강화 단계를 위한 매트릭스를 준비하기 위해 샘플의 바람직한 양이 남을 때까지 폐기될 수 있다. 일부 실시예들에서, 200 μL - 2 mL의 범위의 용량은 농축 후에 보유된다. 일부 실시예들에서, 약 500 μL의 용량은 농축 후에 보유된다.

**[0169]** 일부 실시예들에서, 강화이 선택적으로 수행된다. 그러한 강화 전에, 배지 브로스가 추가되고 와류(vortexed)될 수 있다. 강화는 바람직한 시간 기간 동안 회전 교반(rotary agitation)으로 강화 온도에서 수행될 수 있다. 일부 실시예들에서, 총 강화 용량은 이용된 농축된 샘플의 용량에 추가된 배지의 용량에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시예들에서, 강화 용량은 약 5 mL이다(예를 들어, 500 μL 농축된 샘플 + 4500 μL 배지). 통상의 기술자는 본 발명을 벗어나지 않고 다른 양들 및 비율들이 이용될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

**[0170]** 샘플에서의 혈액으로부터 관심 있는 박테리아를 분리하기 위해, 일부 실시예들에서 면역자기 분리가 이용될 수 있다. 예를 들어, 관심 있는 박테리아와 관련된 비오틴화된 분자들(biotinylated molecules)에 부착된 자기 비드들이 이용될 수 있다. 이들 코팅된 자기 비드들은 반응 튜브에서의 농축된 샘플에 추가되어 인큐베이션될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플에서 이용가능한 임의의 박테리아를 캡처하기 위해 비특정 자기 비드들이 이용될 수 있다.

**[0171]** 일부 실시예들에서, 자기 비드들로 박테리아를 캡처한 후에, 혈액 샘플로부터 잔해물을 소화, 감소 및/또는 제거하기 위해 시약들의 세트가 이용될 수 있다. 예로서, 2 μL 내지 200 μL 범위 내에서의 프로테아제들이 이 목적들을 위해 이용될 수 있고/있거나 DNase들이 임의의 무세포(cell-free) DNA를 소화하기 위해 이용될 수 있다.

**[0172]** 인큐베이션 후에, 자기 비드들의 수집은 반응 튜브를 자석 상에 또는 자석에 가깝게 배치함으로써 수행될 수 있다. 일단 비드들이 자석에 가장 가까운 반응 튜브의 부분에 수집되면, 임의의 상청액이 피펫팅되어 폐기될 수 있다. 샘플 박테리아를 포함하는 나머지 비드들은 세정 프로세스에 따라 위치될 수 있다. 일단 위치가 완료되면, 비드들은 배양 배지로 재현탁될 수 있다. 원하는 양의 비드된 샘플(예를 들어, 500 μL)이 튜브로부터 (웰 플레이트와 같은) 샘플 플레이트로 추출되고, 필요에 따라 희석되고, 인큐베이션을 위한 샘플의 원하는 용량 및 농도를 달성하기 위해 와류되고, 플레이트에서의 복수의 또는 반응 웰들에 전달될 수 있다. 그 후 샘플 플레이트는 이미징을 위해 박테리아를 웰들의 바닥으로 유도하기 위해 원심 분리될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 플레이트는 3000 G의 스핀에서 1분 동안 원심 분리된다.

**[0173]** 이어서, 샘플 플레이트 상의 샘플을 원하는 양의 시간 동안 인큐베이션한다. 예를 들어, 샘플을 5시간 동안 인큐베이션할 수 있다. 이어서, 샘플 플레이트를 원심 분리하여, 박테리아를 이미징을 위해 웰의 바닥으로 유도할 수 있다. 이어서, 인큐베이션된 샘플을 샘플 플레이트의 바닥을 통해 이미징하여, 샘플의 성장 - 및 단지 항균제 감수성 - 을 결정할 수 있다.

**[0174] 실험 예들:**

**[0175]** 아래에 논의된 바와 같이, 여러 실험을 수행하여 진술한 항생제 감수성 시험 시스템들 및 방법들의 다양한 실시예들을 테스트하였다.

**[0176]** 예 1: 혈액 튜브 샘플로부터의 샘플의 최소 억제 농도의 결정

**[0177]** 이 예는 본 명세서에 개시된 실시예들에 따른, 혈액 튜브 샘플로부터 시작하는 항균제 감수성 테스트를 수행하는 방법을 예시한다.

**[0178]** 먼저, 스트렙타비딘 코팅된 비드들(Streptavidin coated beads)을 위치하고 고정화하였다. 이 경우에 항체들과

같은 비오틴화된 분자들에 부착된 비드들은 온화한 회전(25 rpm)으로 실온에서 인산염 식염수 완충제(pH 7.4로 조정됨)와 함께 밤새 인큐베이팅하였다. 이용된 자기 비드들의 mg 당 전형적인 결합 용량(100 µL)은 대략 20 µg의 비오틴화된 항체이다. 코팅 후에, 0.01%의 BSA(w/v)를 포함하는 인산염 식염수 완충제(pH 7.4로 조정됨)를 이용한 일부 워시들을 수행하였다. 마지막으로, 비드들을 응용을 위해 목적하는 농도로 재현탁시켰다. 이용된 항체는 비오틴 클레비시엘라 폴리클로날 항체(Klebsiella Polyclonal Antibody)(PA1-73177, 인비트로젠(Invitrogen))이었고 이용된 자기 비드들은 디나비드 마이원 스트렙타비딘(Dynabeads MyOne Streptavidin) T1(65601, 써모피셔 사이언티픽(Thermofisher Scientific))이었다.

[0179] 표적 접종물(target inoculum)(약 100CFU/10 mL)에 따라 적절한 양의 박테리아(클레비시엘라(Klebsiella) 페렴 ATCC13883)가 섞인 10 mL EDTA 혈액 튜브들 중에 수집된 공여자들(donors)로부터의 단일 대형 혈액 풀(single large blood pool)로부터 혈액 샘플들이 준비되었다. 풀이 섞인 후, 10 mL을, 용해제 (700 µL의 Isolator BC0507C, Oxoid) 및 불혼화성 플루오로카본 오일(20 µL의 Fluorinert™ FC-40 F9755, Sigma-Aldrich)을 포함하는 이전에 라벨링된 15 mL 튜브로 이송하였다. 용해 및 농축하기 위해, 샘플을 저속(10 rpm)으로 회전 이동 하에 짧은 시간 기간(30초) 동안 인큐베이팅하고, 고정 각도 회전자로 12.000 g 힘으로 5분 동안 원심 분리하였다. 각각의 샘플의 상청액을 500 µL를 이용하여 강화 단계를 위한 매트릭스를 제조할 때까지 폐기하였다. 샘플들 중 절반이 이 시점에서 처리를 중단하였고, 이들 500 µL를 아가 플레이트들(agar plates) 상에 체크 포인트로서 플레이팅하여 농축 프로세스가 얼마나 잘 진행되었는지 및 다음 스테이지가 얼마나 많은 CFU로부터 시작되는지를 알았다.

[0180] 실험을 계속한 샘플들에 대해, 강화 단계 전에 4500 mL의 배지(필러 힌톤 브로스)를 추가하고 1분의 와류를 수행하였다. 이 강화 프로세스를 37 °C에서 30분 동안 저속(10 rpm)으로 회전 교반하면서 수행하였다. 일단 이 스테이지가 완료되면, 희석 배크를 제조하고 각 샘플에서의 박테리아 집단을 알기 위해 아가 플레이트를 플레이팅하고, 복제 시간 및 면역자기 분리 프로세스에 이용가능한 박테리아의 수를 알았다.

[0181] 혈액으로부터의 박테리아의 면역자기 분리를 위해, 100 µL의 항체 코팅된 비드들이 각각의 샘플 튜브에 추가되었다. 이용된 인큐베이션 조건들은 온화한 회전 이동(25 rpm)으로 37 °C에서 30분이었다. 인큐베이션 후에, 몇 개의 박테리아가 거기에 있었는지(비드들에 결합되고 비드들에 결합되지 않음)를 알기 위해, 100 µL의 매트릭스를 이용하는 배크 희석물이 LB 아가 플레이트들 상에 플레이팅되었다. 자기 비드들의 수집은 15분 동안 자석들 상에 튜브들을 배치함으로써 수행되었다. 이 시간 후에, 상청액이 피펫팅되어 폐기되었고, 2개의 단계의 워시들이 샘플들을 세정하기 위해 수행되었다. 각각의 워싱 단계는 5 mL의 워시 완충제(인산염 식염수 완충제, pH 7.4)를 추가하는 것, 회전 이동(10 rpm)으로 1분 동안 37 °C에서 온화하게 혼합하는 것, 짧은 시간 기간(1분) 동안 자석 상에 튜브들을 배치함으로써 비드들을 수집하는 것, 및 피펫팅하여 상청액을 폐기하는 것을 수반하였다. 일단 워시들이 끝나면, 비드들은 500 µL의 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 재현탁되었고 10-20초 동안 와류되었다. 자기 비드들에 의해 캡처된 박테리아의 양을 결정하기 위해, 100 µL의 최종 매트릭스가 희석물들의 배크를 만들고 16-18시간 동안 37 °C에서 성장된 LB 아가 플레이트들 상에 플레이팅되었다. 이 샘플들은 또한 샘플에 존재하는 박테리아를 알고 이 말단 대 말단 어세이(end-to-end assay)에서 다음 및 마지막 단계였던 AST 테스트를 수행하는 데 필요한 양을 계산하기 위해 역 형광 현미경 하에서 관찰되었다. 5 µL의 각각의 샘플은 편평한 폴리스티렌 막 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송되었고 암실에서 실온에서 10분 동안 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 인큐베이팅되었다. 384-웰 플레이트는 스윙-버킷 이동에서 3000 g로 1분 동안 원심 분리되었고 역 형광 현미경에서 관찰되었다. 각각의 샘플에 대해, 각각의 웰의 바닥을 커버하는 복합 이미지가 구축되었다.

[0182] 그 측정에 기초하여, 샘플을 희석하여(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스) 대략  $4 \times 10^4$  CFU/mL의 박테리아 수를 달성하였다. 박테리아 샘플을 10 µL의 최종 용량으로 37 °C에서 5시간 동안 상이한 시프로플록사신 농도에서  $2 \times 10^4$  CFU/mL의 최종 농도로 인큐베이팅하였다. 테스트된 시프로플록사신 농도는 0.125, 0.06, 0.03, 0.015, 0.008 및 0.004 mg/L였다. 각각의 항생제 농도에 대해 3회 반복을 수행하였다.

[0183] 샘플을 인큐베이션의 시간 0에 이미징하고, 5시간의 인큐베이션 후(항생제를 이용하거나 이용하지 않고), 5 µL의 각각의 샘플을 편평한 폴리스티렌 필름 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송하고, 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 암실에서 실온에서 10분 동안 인큐베이팅하였다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 원심 분리기에서 3000 g로 1분 동안 원심 분리하고, 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해 복합 이미지를 구축하였다. 이미지를 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아를 카운팅하고, 필라멘트 박테리아(filamentous bacteria)를 검출하고, 적색 박테리아를 카운팅하고, 박테리아의 밝기를 기록하였다. 이들 이미

지는 도 21a에 도시되어 있다.

- [0184] 이미지로부터 획득된 데이터를 이용하여 0.008 및 0.004 mg/L의 시프로플록사신에서 성장을 나타낸 그래프를 구축한 반면,  $\geq 0.015$  mg/L의 농도에서는 성장하지 않았다(도 21b). 이들 결과는 박테리아 카운팅 및 데이터 분석과 함께 이 균주(strain)에 대해 0.015 mg/L의 MIC를 나타내고, 브로스 미세회석 방법에 따르면 이 균주는 0.03 mg/L의 MIC를 가지며, 이는 본질적인 일치성을 달성하였다. 이 그래프는 도 21b에 도시되어 있다.
- [0185] 예 2: 혈액 배양 병으로부터의 샘플의 최소 억제 농도의 결정
- [0186] 이 예는 본 명세서에 개시된 실시예들에 따른, 혈액 배양 병으로부터 시작하여 항생제 감수성 테스트를 수행하는 방법을 예시한다.
- [0187] 먼저, 스트렙타비딘 코팅된 비드들을 워시하고 고정화하였다. 워싱 완충제 및 고정화 프로세스는 응용에 따라 상이할 수 있다. 이 경우에 항체들과 같은 비오틴화된 분자들에 부착된 비드들은 온화한 회전(25 rpm)으로 실온에서 인산염 식염수 완충제(pH 7.4로 조정된다)와 함께 밤새 인큐베이팅하였다. 이용된 자기 비드들의 mg 당 전형적인 결합 용량(100  $\mu$ L)은 대략 20  $\mu$ g의 비오틴화된 항체이다. 코팅 후에, 일부 워시들은 0.01%의 BSA(w/v)를 포함하는 인산염 식염수 완충제(pH 7.4로 조정됨)로 수행되었고 다음에 비드들은 응용을 위해 원하는 농도로 최종적으로 재현탁되었다. 이용된 항체는 비오틴 클레브시엘라 폴리클로날 항체(PA1-73177, 인비트로젠)이었고 이용된 자기 비드들은 디나비드 마이클 스트렙타비딘 T1(65601, 써모피셔 사이언티픽)이었다.
- [0188] 표적 접종물(약 100CFU)에 따라 적절한 양의 박테리아(클레브시엘라 페럼 ATCC13883)가 섞인 이전에 혼합된 단일 대형 혈액 플로로부터 혈액 샘플이 준비되었다. 플이 섞인 후, 10 mL를, 이전에 라벨링된 혈액 배양 시스템(442023, BD BACTEC™ Plus Aerobic/F)으로 이송되고, 교반 플랫폼과 혼합되었다(150 rpm에서 5분). 시간이 경과하면, 수지가 침전되기를 적절한 시간 동안 기다렸다(30초 - 1분). 그 후 5mL 샘플이 추출되었다.
- [0189] 박테리아의 면역자기 분리는 혈액 배양 병으로부터 추출된 5 mL의 매트릭스 및 항-K.페럼 항체들로 코팅된 100  $\mu$ L의 비드들을 포함하는 15 mL 튜브를 이용하여 수행되었다. 이용된 인큐베이션 조건들은 37 °C에서 30분 동안 완만한 회전 이동(25 rpm)과 함께 수행되었다. 인큐베이션 후에, 100  $\mu$ L의 매트릭스를 이용하는 회석 탱크 및 플레이팅을 수행하여 각각의 샘플에 얼마나 많은 박테리아가 포함되었는지를 알았다(박테리아는 비드들에 결합되고 결합되지 않음). 자기 비드들의 수집은 튜브들을 자석들 상에 7.5분 동안 배치시킴으로써 수행되었다. 이 시간 후에, 상청액을 피펫팅하여 폐기하고, 3개의 워시 단계를 수행하여 샘플들을 세정하였다. 각각의 워싱 단계는 5 mL의 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)를 추가하는 것, 1분을 와류하는 것, 느린 회전 이동(10 rpm)과 37 °C에서 2분 동안 온화하게 혼합하는 것, 튜브들을 자석 상에 짧은 시간 기간(2분) 동안 배치하고 상청액을 피펫팅하여 폐기함으로써 비드들을 수집하는 것을 수반하였다. 워시 후에, 비드들은 500  $\mu$ L의 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)와 함께 재현탁되고 1분 동안 와류되었다. 항체 코팅된 자기 비드들에 의해 캡처된 박테리아의 양을 결정하기 위해, 100  $\mu$ L의 최종 매트릭스를 이용하여 회석액들의 탱크를 만들고, 16-18시간 동안 37 °C에서 성장된 LB 아가 플레이트들 상에 플레이팅하였다. 샘플들에 존재하는 박테리아의 수를 결정하고 AST 테스트를 수행하기 위해 필요한 조정을 계산하기 위해 샘플들을 역 형광 현미경 하에서 또한 관찰하였다. 각각의 샘플의 5  $\mu$ L를 편평한 폴리스티렌 막 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송하고 암실에서 실온에서 10분 동안 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 인큐베이팅하였다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 원심 분리에서 3000 g로 1분 동안 원심 분리하고 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해 각각의 웰의 바닥을 커버하는 복합 이미지를 구축하였다. 이미지들을 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아의 수를 결정하였다.
- [0190] 그 측정에 기초하여, 샘플을 회석하여(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스) 대략  $4 \times 10^4$  CFU/mL의 박테리아 수를 달성하였다. 박테리아 샘플을 10  $\mu$ L의 최종 용량으로 37 °C에서 5시간 동안 상이한 겐타마이신 농도들(Gentamicin concentrations)에서  $2 \times 10^4$  CFU/mL의 최종 농도로 인큐베이팅하였다. 테스트된 겐타마이신 농도들은 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 및 0.06 mg/L였다. 각각의 항생제 농도에 대해 3개의 복제를 수행하였다.
- [0191] 샘플을 인큐베이션의 시간 0에 분석하고, 5h 인큐베이션 후(항생제를 이용하거나 이용하지 않고), 5  $\mu$ L의 각각의 샘플을 편평한 폴리스티렌 필름 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송하고, 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 암실에서 RT에서 10분 동안 인큐베이팅하였다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 이동으로 3000 g에서 1분 동안 원심 분리하고, 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해 복합 이미지를 구축하였다. 이미지를 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아를 카운팅하고, 필라멘트 박테리아를 검출하고,

적색 박테리아를 카운팅하고, 박테리아의 밝기를 기록하였다. 이들 이미지는 도 22a에 도시되어 있다.

- [0192] 이미지로부터 획득된 데이터를 이용하여 0.125 및 0.06 mg/L의 젠타마이신에서 성장을 나타낸 그래프를 구축한 반면,  $\geq 0.25$ 의 농도에서는 성장하지 않았다(도 22b). 이들 결과는 박테리아 카운팅 및 데이터 분석과 함께 이 균주에 대해 0.25 mg/L의 MIC를 나타내고, 브로스 미세회석 방법에 따르면 이 균주는 0.5-0.25 mg/L의 MIC를 갖는다. 이 그래프는 도 22b에 도시되어 있다.
- [0193] 예 3: 젠타마이신에 대한 그램-음성 박테리아의 최소 억제 농도의 결정
- [0194] 브로스 미세회석 방법에 따라 0.25-0.5 mg/L의 MIC를 갖는 젠타마이신에 감수성인 그램-음성 박테리아 클레브시엘라 페렘(ATCC13883)의 한 균주에 대해 본 명세서에 개시된 실시예들을 이용하여 최소 억제 농도를 결정하였다. 박테리아를 배양 배지에서 지수 상(exponential phase)까지 액체 배양에서 성장시켰다. 배양물을 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 회석하고, 10  $\mu$ L의 최종 용량에서 상이한 농도의 젠타마이신으로 37 °C에서 5시간 동안  $2 \times 10^4$  CFU/mL의 최종 농도로 인큐베이팅하였다. 테스트된 젠타마이신 농도들은 4, 2, 1, 0.5, 0.25 및 0.125 mg/L였다. 각각의 항생제 농도에 대해 3개의 복제를 수행하였다.
- [0195] 샘플을 인큐베이션의 시간 0에서, 5시간 동안 인큐베이션한 후(항생제를 이용하거나 이용하지 않고)에 분석하였다. 샘플을 암실에서 실온에서 10분 동안 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 인큐베이팅하였다. 염료 인큐베이션 후, 1  $\mu$ L의 샘플을 4  $\mu$ L의 완충제(NaCl 0.9 %)로 희석하고, 편평한 폴리스티렌 필름 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송했다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 이동으로 3000 g에서 1분 동안 원심 분리하고, 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해, 각각의 웰의 바닥을 커버하는 복합 이미지를 구축하였다. 이미지를 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아를 카운팅하고, 필라멘트 박테리아를 검출하고, 적색 박테리아를 카운팅하고, 박테리아의 밝기를 기록하였다. 이들 이미지는 도 23a에 도시되어 있다.
- [0196] 이미지로부터 획득된 데이터를 이용하여, 0.125 mg/L의 젠타마이신에서 박테리아 성장을 나타낸 그래프를 구축한 반면,  $\geq 0.25$  mg/L의 농도에서는 성장하지 않았다(도 23b). 이들 결과는 박테리아 카운팅 및 데이터 분석과 함께 이 균주에 대해 0.25 mg/L의 MIC를 나타내고, 이는 브로스 미세회석 방법에 의해 획득된 MIC와 상응한다. 결과는, 상이한 항생제 농도들에서의 5시간 인큐베이션에 의해 및 박테리아 성장 및 박테리아 특징들을 이용하여, 젠타마이신에 대한 이들 그램-음성 균주들의 MIC를 결정하는 것이 가능하다는 것을 보여준다. 이 그래프는 도 23b에 도시되어 있다.
- [0197] 예 4: 메로페넴에 대한 그램-음성 박테리아에 대한 최소 억제 농도의 결정
- [0198] 브로스 미세회석 방법에 따라 메로페넴(meropenem)에 대해 8 mg/L의 MIC를 갖는 그램-음성 박테리아 클레브시엘라 페렘(IHMA1977064)의 한 균주에 대해 본 명세서에 개시된 실시예들을 이용하여 최소 억제 농도를 결정하였다. 박테리아를 배양 배지에서 지수 상까지 액체 배양에서 성장시켰다. 배양물을 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 회석하고, 10  $\mu$ L의 최종 용량에서 상이한 농도의 메로페넴으로 37 °C에서 5시간 동안  $2 \times 10^4$  CFU/mL의 최종 농도로 인큐베이팅하였다. 테스트된 메로페넴 농도들은 32, 16, 8, 4, 2 및 1 mg/L의 젠타마이신이였다. 각각의 항생제 농도에 대해 3개의 복제를 수행하였다.
- [0199] 샘플을 인큐베이션의 시간 0에 분석하고, 5시간 동안 인큐베이션한 후(항생제를 이용하거나 이용하지 않고), 5  $\mu$ L의 각각의 샘플을 편평한 폴리스티렌 필름 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송하고, 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 암실에서 실온에서 10분 동안 인큐베이팅하였다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 이동으로 3000 g에서 1분 동안 원심 분리하고, 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해, 각각의 웰의 바닥을 커버하는 복합 이미지를 구축하였다. 이미지를 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아를 카운팅하고, 필라멘트 박테리아를 검출하고, 적색 박테리아를 카운팅하고, 박테리아의 밝기를 기록하였다. 이들 이미지는 도 24a에 도시되어 있다.
- [0200] 이미지로부터 획득된 데이터를 이용하여, 2 및 1 mg/L의 메로페넴에서 박테리아 성장을 나타낸 그래프를 구축한 반면,  $\geq 4$  mg/L의 농도에서는 성장하지 않았다(도 24b). 이들 결과는 박테리아 카운팅 및 데이터 분석과 함께 4 mg/L의 MIC를 나타내고, 브로스 미세회석 방법에 따르면 이 균주는 8 mg/L의 MIC를 가지며, 이는 본질적인 일치율을 달성한다. 이 그래프는 도 24b에 도시되어 있다.
- [0201] 결과는 상이한 항생제 농도들에서의 5시간 인큐베이션 및 박테리아 성장 및 박테리아 특징들을 이용하여, 메로페넴에 대한 이들 그램-음성 균주의 MIC를 결정하는 것이 가능하다는 것을 보여준다.

- [0202] 예 5: 에리트로마이신(erythromycin)에 대한 그램-양성 박테리아에 대한 최소 억제 농도의 결정
- [0203] 본 명세서에 설명된 실시예들에 따라, 에리트로마이신에 대한 하나의 감수성(ATCC29213) 및 하나의 내성(ATCC43300)인 그램-양성 박테리아 황색포도구균(Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*)의 2개의 균주에 대해 최소 억제 농도를 결정하였다. 이들 균주의 MIC를 브로스 미세희석 방법에 의해 획득하였고, 에리트로마이신에 대해 감수성인 *S. 아우레우스*(*S. aureus*)는 0.25-0.5 mg/L의 MIC를 갖고, 내성 균주는 MIC  $\geq$  512 mg/L였다. 박테리아 균주를 풍부한 배지에서 지수 상까지 액체 배양에서 성장시켰다. 박테리아 배양물을 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 희석하고, 10  $\mu$ L의 최종 용량에서 상이한 농도의 젠타마이신에서 37  $^{\circ}$ C에서 5시간 동안  $2 \times 10^4$  CFU/mL의 최종 농도로 인큐베이팅하였다. 에리트로마이신에 대해 감수성인 *S. 아우레우스* 균주를 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06 및 0.03 mg/L에서 테스트한 반면, 내성 균주는 4, 2, 1, 0.5, 0.25 및 0.125 mg/L의 에리트로마이신에서 테스트하였다. 각각의 항생제 농도에 대해 3개의 복제를 수행하였다.
- [0204] 샘플을 인큐베이션의 시간 0에 분석하고, 5시간 동안 인큐베이션한 후(항생제를 이용하거나 이용하지 않고), 샘플을 암실에서 실온에서 10분 동안 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 인큐베이팅하였다. 염료 인큐베이션 후, 1  $\mu$ L의 샘플을 4  $\mu$ L의 완충제(NaCl 0.9%)로 희석하고, 편평한 폴리스티렌 필름 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송했다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 이동으로 3000 g에서 1분 동안 원심 분리하고, 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해, 각각의 웰의 바닥을 커버하는 복합 이미지를 구축하였다. 이미지를 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아를 카운팅하고, 필라멘트 박테리아를 검출하고, 적색 박테리아를 카운팅하고, 박테리아의 밝기를 기록하였다.
- [0205] 이미지로부터 획득된 데이터는 에리트로마이신에 감수성이고 내성이 있는 *S. 아우레우스*에 대해서도 그래프를 수행하는 데 이용되었다(각각 도 25a 및 25b). 에리트로마이신에 감수성인 *S. 아우레우스*는 0.125 mg/L의 에리트로마이신에서의 성장을 보인 반면,  $\geq$  0.25 mg/L의 농도에서는 성장하지 않았다(도 25a). 이들 결과는 박테리아 카운팅 및 데이터 분석과 함께 이 균주에 대해 0.25 mg/L의 MIC를 나타내고, 이는 브로스 미세희석 방법에 의해 획득된 MIC와 상응한다. 에리트로마이신에 내성이 있는 *S. 아우레우스* 균주의 데이터 분석(도 25b)은 4 mg/L 및 더 낮은 농도의 에리트로마이신에서의 성장을 보였으며, 이는 이 균주에 대해 MIC  $\geq$  4 mg/L를 나타낸다. 브로스 미세희석 방법에 의해 획득된 MIC는  $\geq$  512 mg/L이었으며, 이는 양 방법에서 이 균주가 에리트로마이신에 내성이 있음을 나타낸다(EUCAST 및 CLSI 중단점들은 에리트로마이신에 대해 MIC > 2인 *S. 아우레우스*의 균주가 내성이 있음을 나타낸다). 결과는 상이한 항생제 농도들에서 5시간 인큐베이션을 이용하여 박테리아 성장 및 박테리아 특징들을 이용하여 에리트로마이신에 대한 이들 그램-양성 균주들의 MIC를 결정하는 것이 가능하다는 것을 보여준다.
- [0206] 예 6: 암피실린에 대한 내성 박테리아의 신속한 결정
- [0207] 특정 항균제에 대한 높은 내성 박테리아를 신속히 검출하기 위해, 박테리아를 고투여량의 그러한 항균제의 존재 하에 짧은 시간 기간(1시간) 동안 성장시켰다. 대장균(*Escherichia coli*)의 2개의 균주, 즉, 암피실린(ampicillin)에 대해 하나의 감수성인 것(ATCC25922) 및 다른 내성인 것(ATCC700891)을 배양 배지에서 지수 상까지 성장시켰다. 박테리아 배양물을 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 희석하고, 10  $\mu$ L의 최종 용량에서 128 mg/L, 64 mg/L, 및 32 mg/L의 최종 농도로 암피실린의 존재 하에 37  $^{\circ}$ C에서 1시간 동안  $2 \times 10^4$  CFU/mL의 최종 농도로 인큐베이팅하였다. 각각의 항생제 농도에 대해 3개의 반복을 수행하였다.
- [0208] 임의의 인큐베이션 이전의 그리고 1시간 인큐베이션 이후의 박테리아를 나타내는 시간 0에서 샘플들을 시각화하였다. 5  $\mu$ L의 각각의 샘플을 편평한 폴리스티렌 필름 바닥을 갖는 384-웰 플레이트로 이송하고, 형광 염료들(SYBR Green and Propidium Iodide)과 함께 암실에서 실온에서 10분 동안 인큐베이팅하였다. 384-웰 플레이트를 스윙-버킷 이동으로 3000 g에서 1분 동안 원심 분리하고, 역 형광 현미경에서 관찰하였다. 각각의 샘플에 대해, 각각의 웰의 바닥을 커버하는 복합 이미지를 구축하였다. 이미지를 맞춤형 소프트웨어로 분석하여 박테리아를 카운팅하고, 필라멘트 박테리아를 검출하고, 적색 박테리아를 카운팅하고, 박테리아의 밝기를 기록하였다. 이들 이미지는 도 26a에 도시되어 있다.
- [0209] 상이한 암피실린 농도에서 대장균(*E. coli*) 균주들 둘 다의 이미지들을 비교할 때, 브로스 미세희석 방법에 따라 4 mg/L의 MIC를 갖는 암피실린에 감수성인 대장균 균주는 테스트된 임의의 암피실린 농도에서 성장하지 않고(도 26b), 박테리아는 테스트된 3개의 농도에서 필라멘트 형태로 존재하고, 또한 128 mg/L의 암피실린에서 적색 박테리아가 존재하며, 이는 박테리아가 죽었다는 것을 나타낸다. 반면, 브로스 미세희석 방법에 따라 MIC > 128 mg/L를 갖는 암피실린에 내성이 있는 대장균 균주는 필라멘트 박테리아 또는 적색 박테리아의 존재 없이 모든 3

가지 테스트된 암피실린 농도에서 1시간 후 성장을 나타내었다(도 26b).

[0210] 결과는 고투여량 항생제 농도에서 단지 1시간의 인큐베이션에 의해 및 박테리아 성장 및 박테리아 특징들을 이용하여, 암피실린에 대한 내성 박테리아를 검출하는 것이 가능하다는 것을 입증한다.

[0211] 예 7: 특정 비드들을 이용한 혈액 샘플 세정

[0212] 자기 비드들에 의한 박테리아의 캡처의 최적의 지속기간을 확립하기 위해 상이한 시간 조건들이 평가되었다. 먼저, 스트렙타비딘 코팅된 비드들을 응용에 기초하여 위상 완충제로 위상하였다. 일단 위상되면, 비드들을 고정시켰다. 비드들을 이 경우와 같은 항체들과 같은 비오틴화된 분자들에 부착하여, 온화한 회전(25 rpm)으로 실온에서 인산염 식염수 완충제(pH 7.4로 조정됨)와 함께 밤새 인큐베이션을 수행하였다. 테스트된 자기 비드들의 mg(100  $\mu$ L)당 전형적 결합 용량은 대략 20  $\mu$ g의 비오틴화된 항체였다. 코팅을 완료한 후에, 0.01 %의 BSA(w/v)를 포함하는 인산염 식염수 완충제(pH 7.4로 조정됨)를 이용한 일부 위시들을 수행하였고, 마지막으로 비드들을 응용에 대해 원하는 농도로 재현탁시켰다. 이용된 항체는 비오틴 클레비시엘라 폴리클로날 항체(PA1-73177, 인비트로젠)이었고, 이용된 자기 비드들은 디나비드 마이클 스트렙타비딘 T1(65601, 써모피셔 사이언티픽)이었다.

[0213] 상이한 캡처 시간들을 혈액 샘플들로 평가하였다. 혈액 샘플을 표적 접종물에 따라 적절한 양의 박테리아(클레비시엘라 페럼 ATCC13883)가 섞인 단일의 대형 사전-셰이킹된 혈액 풀(single large pre-shaken blood pool)로부터 준비하였다. 풀이 섞인 후, 10 mL을 이전에 라벨링된 혈액 배양 시스템(442023, BD BACTEC™ Plus Aerobic/F)으로 이송하고, 교반 플랫폼(180 rpm에서 5분)과 혼합하였다. 시간이 경과하면, 수지가 침전되기를 적절한 시간 동안 기다리고(30초 - 1분), 5 mL 샘플을 추출하였다. 각각의 혈액 배양 시스템으로부터 10 mL 이하를 추출하였다.

[0214] 혈액 배양 시스템으로부터 나온 5 mL의 혈액이 15 mL 튜브로 이송되고 필요한 양의 항체 코팅된 비드들(100  $\mu$ L)이 추가되었다. 온화한 회전 이동(25 rpm)으로 37 °C에서 30분 동안 인큐베이션이 수행되었다. 인큐베이션 후에, 100  $\mu$ L의 매트릭스를 이용하는 희석 बैं크가 수행되고 플레이팅되었다. 테스트된 시간들(15 - 7.5분) 동안 튜브들을 자석 상에 배치함으로써 비드들을 수집한 다음, 상청액을 피펫팅하고 폐기하였다. 그 시점에서, 위시들의 3개의 대응하는 배치들을 시작하기 위해 5 mL의 위상 완충제가 추가되었다. 각각의 위상 단계는 1분 동안 와류하고 온화한 회전 이동(25 rpm)으로 2분 동안 37 °C에서 샘플들을 인큐베이션하고, 짧은 시간 기간(5 - 2.5분) 동안 튜브들을 자석 상에 배치하고, 상청액을 피펫팅하고 폐기함으로써 비드들을 수집하는 것을 포함하였다. 위시 후에, 비드들을 500  $\mu$ L의 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 재현탁시키고 1분 와류하였다. 다음 단계는 100  $\mu$ L의 매트릭스를 이용하여 희석 बैं크를 수행하고 그것을 플레이팅하는 것을 포함하였다. 병행하여, 이 샘플들은 또한 현미경 하에서 가시화되어 2가지 타입의 관독들(플레이트들 대 현미경) 사이에 일치하는지를 체크하였다. 역 형광 현미경 하에서 샘플들을 관찰하기 위해, 5  $\mu$ L의 각각의 샘플을 형광 염료들(SYBR-Green + Propidium Iodide)을 포함하는 384-웰 플레이트에 이송하였다. 후속하여, 이 플레이트는 실온에서 10분 동안 인큐베이션되었고 그것의 가시화 전에 원심 분리 프로세스가 (1분 동안 3000 g의 힘으로) 수행되었다. 아래의 표 1은 결과들이 캡처 시간에 거의 의존성을 갖지 않는다는 것을 보여준다.

표 1

IMS 자석 시간 (분)	위시 자석 시간 (분)	초기 (CFU)	플레이트들		현미경	
			카운트들 (CFU)	복구 값들 (%)	카운트들 (CFU)	복구 값들 (%)
15	5	173000	146000	84,39	208875	120,74
		154000	148625	96,51	167130	108,53
7,5	5	195750	175500	89,66	282935	144,54
		141500	98750	69,79	144970	102,45
15	2,5	270875	106000	39,13	149380	55,15
		139375	136750	98,12	223845	160,61
7,5	2,5	112875	160000	141,75	183060	162,18
		138750	165250	119,10	223600	161,15

[0215]

- [0216] 예 8: 비특정 비드들을 이용한 혈액 샘플 세정 프로세스
- [0217] 혈액 세포 용해물(blood cell lysates)로부터 유래된 세포 잔해물로부터의 샘플 세정을 개선하기 위한 일련의 시약들이 평가되었다. 혈액 샘플들은 단일의 대형 사전-셰이킹된 혈액(150 rpm에서 5분)으로부터 준비되었다. 셰이킹 후에, 10 mL가 이전에 라벨링된 혈액 배양 시스템(442023, BD BACTEC™ Plus Aerobic/F)에 이송되고, 교반 플랫폼(180 rpm에서 5분)과 혼합되었다. 시간이 경과하면, 수지가 침전되기를 적절한 시간 동안 기다리고 (30초 - 1분), 10 mL 샘플을 추출하였다. 각각의 혈액 배양 시스템으로부터 10 mL 이하를 추출하였다.
- [0218] 혈액 배양 시스템으로부터 추출된 10 mL의 혈액 샘플들은 가변 용량의 용해제로 용해될 15 mL 튜브로 이송되었다(700 µL의 2.8g/100mL의 사포닌 S4521, Sigma-Aldrich). 용해 및 농축 단계에 이용된 튜브는 또한 불혼화성 플루오로카본 오일(20 µL의 Fluorinert™ FC-40 F9755, Sigma-Aldrich)을 포함하였다. 용해제와 별도로, 프로테아제와 같은 다른 시약들이 또한 그들의 작용을 증가시키기 위해 추가되었다(아스페르길루스 오리자에 (*Aspergillus oryzae*) P6110로부터의 250 µL의 프로테아제, Sigma-Aldrich). 용해 및 농축 단계들을 수행하기 위해, 낮은 rpm(10 rpm)에서 회전 이동 하에 짧은 시간 기간(30초) 동안 샘플을 인큐베이팅한 다음, 500 µL의 TTGB 2X 완충제를 포함하는 IMS에 대한 매트릭스를 준비하기 위해 500 µL까지 상청액을 폐기하기 위해 5분 동안 12000 g의 힘으로 원심 분리하는 것이 필요하였다. 초기 매트릭스가 획득되면, DNase들과 같은 다른 상보적 시약들(상당한 농도 및 시간)이 세포 잔해물의 제거를 개선하기 위해 추가되었다. 자기 비드들의 추가 전에, 샘플들은 표적 집종물에 따라 적절한 양의 박테리아(대장균 ATCC25922)로 섞였다. 매트릭스가 섞인 후에, 짧은 와류가 수행되었다. 이 시점에서 자기 비드들이 추가되었지만, 부드럽게 혼합되기 전에 추가되지 않았다.
- [0219] 이용된 자기 비드들은 peps6 펩티드, ApoH 단백질의 합성 버전, 잠재적으로 감염성인 제품으로 간주되는 혈액 매개 인간 단백질(blood-borne human protein)(MP10031, ApoH Technologies)에 결합되었다. 이들 비드들로 면역자기 분리를 수행하는 조건들은 온화한 회전 이동(25rpm) 및 20도의 경사로 37 °C에서 30분이었다. 결합이 발생하면, 4 mL의 1X TTGB 완충제가 희석 탱크를 수행하기 위해 100 µL의 샘플을 이용하기 위해 추가되었고, 아가 플레이트는 자기 보유(magnetic retention) 전의 박테리아의 수를 결정하기 위해 이용되었다. 올바른 자기 분리를 위해 필요한 시간이 대략 15분 내에 확립되었다. 후속하여, 상청액이 제거되고, 4개의 워시 배치들이 수행되었다. 워시의 각각의 단계는 5 mL의 워시 완충제(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)를 추가하는 것, 1분 동안 와류하는 것, 온화한 회전 이동(25 rpm)으로 37 °C에서 2분 동안 샘플을 인큐베이팅하는 것, 짧은 시간 기간(5분) 동안 자석 상에 튜브들을 배치하고 상청액을 피펫팅하여 폐기함으로써 비드들을 수집하는 것을 포함하였다.
- [0220] 워시 후, 비드들을 500 µL의 배양 배지(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)에 재현탁시키고, 1분 동안 와류시키고, 250 µL의 각각의 샘플을 2개의 1.5 mL 튜브로 이송하였다. 이 시점에서, 시약들에 의한 제2 처리를 수행하여 샘플을 추가로 세정하고, 이전 어세이에서 검출된 가능한 응집체를 분해하였다. 구체적으로, 10 µL의 프로테아제를 추가하고, 30초 동안 작용하도록 남겨두었다. 박테리아에 대한 프로테아제의 작용을 피하기 위해, 이를 고정각 회전자로 1000 g 힘으로 1분 동안 원심 분리에 의해 제거하였다. 마지막으로, 상청액을 폐기하고, 비드들을 500 µL의(필러 힌톤 양이온 조정된 브로스)로 재현탁하고, 1분 동안 와류시켰다. 모든 샘플의 100 µL의 매트릭스 및 아가 플레이트를 이용하여 탱크 희석을 수행하고, 샘플을 또한 현미경 하에 관찰하였다. 도 27은 프로테아제를 갖는 및 갖지 않는 샘플들의 이미지들을 도시한다.
- [0221] 5 µL의 각각의 샘플을 일정량의 염료(SYBR-Green + PI)를 포함하는 384-웰 플레이트로 이송하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이팅하고, 그의 시각화 전에 원심 분리 프로세스(1분 동안 3000 g 힘)을 수행하였다.
- [0222] 아래의 표 2는 박테리아의 상당 부분이 세정 프로세스의 끝에 복구되고, 워시 후에 프로테아제들이 이용될 때 카운트들의 수가 더 높다는 것을 나타내며, 이는 아마도 박테리아 응집체들의 분해로 인한 것이다.

표 2

샘플	위시들 이후의 프로테아제	초기 (CFU)	플레이트들		현미경	
			카운트들 (CFU)	복구 값들 (%)	카운트들 (CFU)	복구 값들 (%)
S1-NP	아니오	40500	109000	269,14	92300	227,90
S1-P	예	40500	86125	212,65	145800	360,00
S2-NP	아니오	37500	95750	255,33	59700	159,20
S2-P	예	37500	91625	244,33	128600	342,93
S3-NP	아니오	42000	107125	255,06	109000	259,52
S3-P	예	42000	110000	261,90	148200	352,86

[0223]

[0224]

[0225]

[0226]

[0227]

[0228]

[0229]

[0230]

[0231]

예시적인 컴퓨터 시스템:

도 20은 컴퓨터 시스템(2000)의 예시적인 구성요소들의 블록도이다. 하나 이상의 컴퓨터 시스템(2000)은, 예를 들어, 본 명세서에서 논의된 실시예들 중 임의의 것은 물론, 이들의 조합들 및 하위 조합들을 구현하는데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 컴퓨터 시스템(2000)은, 예컨대, 본 명세서에 설명된 바와 같은, AST 서브시스템(1700) 또는 처리 디바이스(116)에서의 현미경에 대해, 이미지 획득, 이미지 분석, 및 데이터 처리를 수행하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 컴퓨터 시스템들(2000)은 또한 분석기 디바이스(200)에서의 다양한 구성요소들의 이동들을 프로그래밍 및 동작하기 위해 제어기(109)에서 이용될 수 있다. 컴퓨터 시스템(2000)은, 프로세서(2004)와 같은, 하나 이상의 프로세서(중앙 처리 유닛 또는 CPU라고도 지칭됨)를 포함할 수 있다. 프로세서(2004)는 통신 인프라스트럭처 또는 버스(2006)에 접속될 수 있다.

컴퓨터 시스템(2000)은 또한 사용자 입력/출력 디바이스(들)(2003)를 통해 통신 인프라스트럭처(2006)와 통신할 수 있는 모니터, 키보드, 포인팅 디바이스 등과 같은 사용자 입력/출력 인터페이스(들)(2002)를 포함할 수 있다.

프로세서들(2004) 중 하나 이상은 그래픽 처리 유닛(GPU)일 수 있다. 실시예에서, GPU는 수학적으로 집약적인 애플리케이션들을 처리하도록 설계된 특수 전자 회로인 프로세서일 수 있다. GPU는 컴퓨터 그래픽 애플리케이션들, 이미지들, 비디오들 등에 공통인 수학적으로 집약적인 데이터와 같은 큰 데이터 블록들의 병렬 처리에 효율적인 병렬 구조를 가질 수 있다.

컴퓨터 시스템(2000)은 또한 랜덤 액세스 메모리(RAM)와 같은 메인 또는 주 메모리(2008)를 포함할 수 있다. 메인 메모리(2008)는 하나 이상의 레벨의 캐시를 포함할 수 있다. 메인 메모리(2008)는 제어 로직(즉, 컴퓨터 소프트웨어) 및/또는 데이터를 그 안에 저장할 수 있다. 일부 실시예들에서, 메인 메모리(2008)는 패혈증 검출, 패혈증 가능성 예측, 병원체 식별, 및 감수성 테스트를 수행하고, 그에 따라 환자들의 치료를 위한 추천들을 생성하도록 구성된 광학 로직을 포함할 수 있다.

컴퓨터 시스템(2000)은 또한 하나 이상의 보조 저장 디바이스 또는 메모리(2010)를 포함할 수 있다. 보조 메모리(2010)는 예를 들어 하드 디스크 드라이브(2012) 및/또는 이동식 저장 드라이브(2014)를 포함할 수 있다.

이동식 저장 드라이브(2014)는 이동식 저장 유닛(2018)과 상호작용할 수 있다. 이동식 저장 유닛(2018)은 컴퓨터 소프트웨어(제어 로직) 및/또는 데이터를 저장한 컴퓨터 이용가능한 또는 판독가능한 저장 디바이스를 포함할 수 있다. 이동식 저장 유닛(2018)은 프로그램 카트리리지 및 카트리리지 인터페이스(예컨대 비디오 게임 디바이스들에서 발견되는 것), 이동식 메모리 칩(예컨대 EPROM 또는 PROM) 및 연관된 소켓, 메모리 스틱 및 USB 포트, 메모리 카드 및 연관된 메모리 카드 슬롯, 및/또는 임의의 다른 이동식 저장 유닛 및 연관된 인터페이스일 수 있다. 이동식 저장 드라이브(2014)는 이동식 저장 유닛(2018)으로부터 판독하고/하거나 그에 기입할 수 있다.

보조 메모리(2010)는 컴퓨터 프로그램들 및/또는 다른 명령어들 및/또는 데이터가 컴퓨터 시스템(2000)에 의해 액세스되게 하기 위한 다른 수단들, 디바이스들, 구성요소들, 도구들 또는 다른 접근법들을 포함할 수 있다. 이러한 수단들, 디바이스들, 구성요소들, 도구들 또는 다른 접근법들은 예를 들어 이동식 저장 유닛(2022) 및 인터페이스(2020)를 포함할 수 있다. 이동식 저장 유닛(2022) 및 인터페이스(2020)의 예들은 프로그램 카트리리지 및 카트리리지 인터페이스(예컨대 비디오 게임 디바이스들에서 발견되는 것), 이동식 메모리 칩(예컨대 EPROM

또는 PROM) 및 연관된 소켓, 메모리 스틱 및 USB 포트, 메모리 카드 및 연관된 메모리 카드 슬롯, 및/또는 임의의 다른 이동식 저장 유닛 및 연관된 인터페이스를 포함할 수 있다.

[0232] 컴퓨터 시스템(2000)은 통신 또는 네트워크 인터페이스(2024)를 더 포함할 수 있다. 통신 인터페이스(2024)는 컴퓨터 시스템(2000)이 외부 디바이스들, 외부 네트워크들, 외부 엔티티들 등(참조 번호(2028)에 의해 개별적으로 그리고 집합적으로 참조됨)의 임의의 조합과 통신하고 상호작용하게 할 수 있다. 예를 들어, 통신 인터페이스(2024)는 컴퓨터 시스템(2000)이 유선 및/또는 무선(또는 이들의 조합)일 수 있고 LAN들, WAN들, 인터넷 등의 임의의 조합을 포함할 수 있는 통신 경로(2026)를 통해 외부 또는 원격 디바이스들(2028)과 통신하게 할 수 있다. 제어 로직 및/또는 데이터는 통신 경로(2026)를 통해 컴퓨터 시스템(2000)으로 그리고 컴퓨터 시스템(2000)으로부터 전송될 수 있다.

[0233] 컴퓨터 시스템(2000)은 또한, 몇 가지 비제한적인 예를 들자면, PDA(personal digital assistant), 데스크톱 워크스테이션, 랩톱 또는 노트북 컴퓨터, 넷북, 태블릿, 스마트폰, 스마트워치 또는 다른 웨어러블들, 어플라이언스, 사물 인터넷의 일부, 및/또는 내장 시스템 중 임의의 것, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다.

[0234] 컴퓨터 시스템(2000)은 원격 또는 분산 클라우드 컴퓨팅 솔루션; 로컬 또는 구내 소프트웨어("구내" 클라우드 기반 솔루션); "서비스로서(as a service)" 모델들(예를 들어, CaaS(content as a service), DCaaS(digital content as a service), SaaS(software as a service), MSaaS(managed software as a service), PaaS(platform as a service), DaaS(desktop as a service), FaaS/framework as a service), BaaS(backend as a service), MBaaS(mobile backend as a service), IaaS(Infrastructure as a service) 등); 및/또는 전술한 예들 또는 다른 서비스들 또는 전달 패러다임들의 임의의 조합을 포함하는 하이브리드 모델을 포함하지만 이들에 제한되지 않는 임의의 전달 패러다임을 통해 임의의 애플리케이션들 및/또는 데이터에 액세스하거나 이들을 호스팅하는 클라이언트 또는 서버일 수 있다.

[0235] 컴퓨터 시스템(2000)에서의 임의의 적용가능한 데이터 구조들, 파일 포맷들, 및 스키마들은 JSON(JavaScript Object Notation), XML(Extensible Markup Language), YAML(Yet Another Markup Language), XHTML(Extensible Hypertext Markup Language), WML(Wireless Markup Language), MessagePack, XUL(XML User Interface Language), 또는 임의의 다른 기능적으로 유사한 표현들을 단독으로 또는 조합하여 포함하지만 이들로 제한되지 않는 표준들로부터 도출될 수 있다. 대안적으로, 독점적 데이터 구조들, 포맷들 또는 스키마들이 배타적으로 또는 공지된 또는 공개 표준들과 조합하여 이용될 수 있다.

[0236] 일부 실시예들에서, 제어 로직(소프트웨어)이 저장된 유형의 비일시적 컴퓨터 이용가능한 또는 판독가능한 매체를 포함하는 유형의 비일시적 장치 또는 제조 물품은 또한 본 명세서에서 컴퓨터 프로그램 제품 또는 프로그램 저장 디바이스라고 지칭될 수 있다. 이것은 컴퓨터 시스템(2000), 메인 메모리(2008), 보조 메모리(2010), 및 이동식 저장 유닛들(2018 및 2022)뿐만 아니라, 전술한 것의 임의의 조합을 구현하는 유형의 제조 물품들을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 제어 로직은, 하나 이상의 데이터 처리 디바이스(컴퓨터 시스템(2000) 등)에 의해 실행될 때, 이러한 데이터 처리 디바이스로 하여금 본 명세서에 설명된 바와 같이 동작하게 할 수 있다.

[0237] 본 개시내용에 포함된 교시에 기반하여, 도 20에 도시된 것 이외의 데이터 처리 디바이스, 컴퓨터 시스템 및/또는 컴퓨터 아키텍처를 이용하여 본 개시내용의 실시예를 제조하고 이용하는 방법이 관련 기술분야(들)의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 특히, 실시예들은 본 명세서에 설명된 것들 이외의 소프트웨어, 하드웨어, 및/또는 운영 체제 구현들로 동작할 수 있다.

[0238] 발명의 내용 및 요약서 섹션들이 아니라 상세한 설명 섹션이 청구항들을 해석하는데 이용되는 것을 의도한다는 것을 알아야 한다. 발명의 내용 및 요약서 섹션들은 발명자(들)에 의해 참조되는 바와 같은 본 개시내용의 전부가 아닌 하나 이상의 예시적인 실시예를 기재할 수 있고, 따라서, 본 개시내용 및 첨부된 청구항들을 임의의 방식으로 제한하도록 의도되지 않는다.

[0239] 본 개시내용의 실시예들은 지정된 기능들 및 그 관계들의 구현을 예시하는 기능적 빌딩 블록들의 도움으로 위에서 설명되었다. 이러한 기능적 빌딩 블록들의 경계들은 설명의 편의를 위해 본 명세서에서 임의로 정의되었다. 지정된 기능들 및 그 관계들이 적절히 수행되는 한, 대안적인 경계들이 정의될 수 있다.

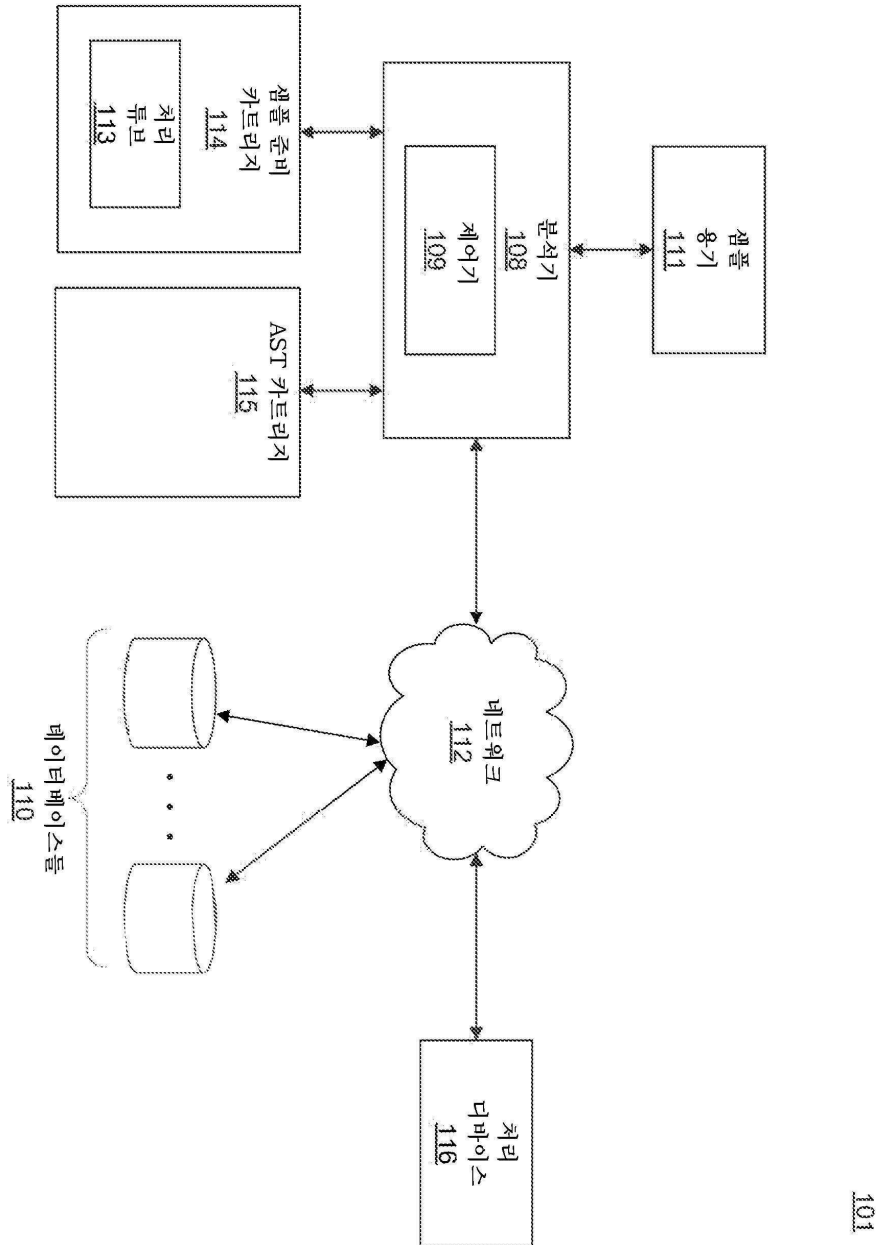
[0240] 특정 실시예들의 전술한 설명은, 다른 사람들이, 관련 기술분야의 통상의 기술자 내의 지식을 적용함으로써, 본 개시내용의 일반적인 개념으로부터 벗어나지 않고, 과도한 실험 없이, 이러한 특정 실시예들을 다양한 애플리케이션들에 대해 용이하게 수정 및/또는 적용시킬 수 있는 본 개시내용의 일반적인 성질을 매우 충분히 드러낼 것

이다. 따라서, 이러한 적응들 및 수정들은, 본 명세서에 제시된 교시 및 안내에 기반하여, 개시된 실시예들의 등가물들의 의미 및 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 본 명세서의 어구 또는 용어는 제한을 위한 것이 아니라 설명을 위한 것이며, 따라서 본 명세서의 용어 또는 어구는 교시 및 안내에 비추어 통상의 기술자에 의해 해석되어야 한다는 것을 이해해야 한다.

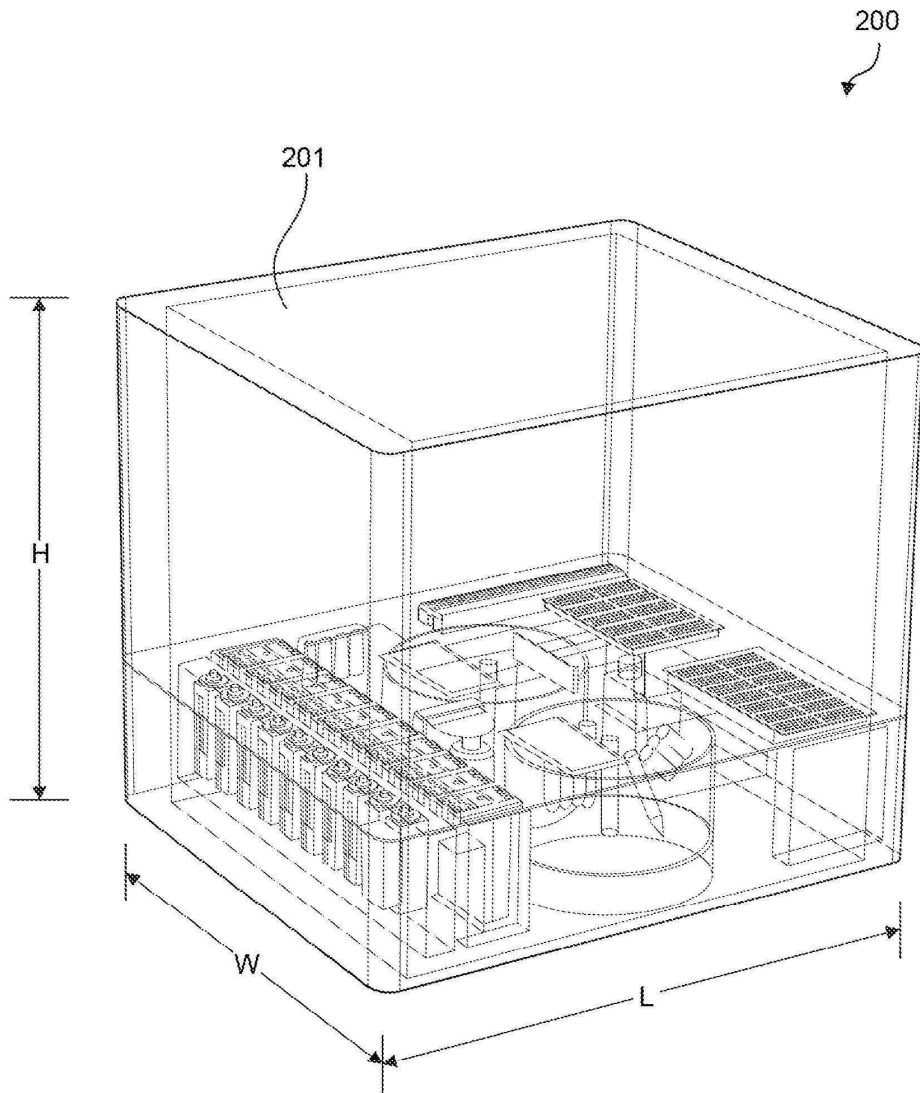
[0241] 본 개시내용의 폭 및 범위는 위에서 설명된 예시적인 실시예들 중의 임의의 것에 의해 제한되어야 하는 것이 아니라, 오직 다음의 청구항들 및 그 등가물들에 따라 정의되어야 한다.

**도면**

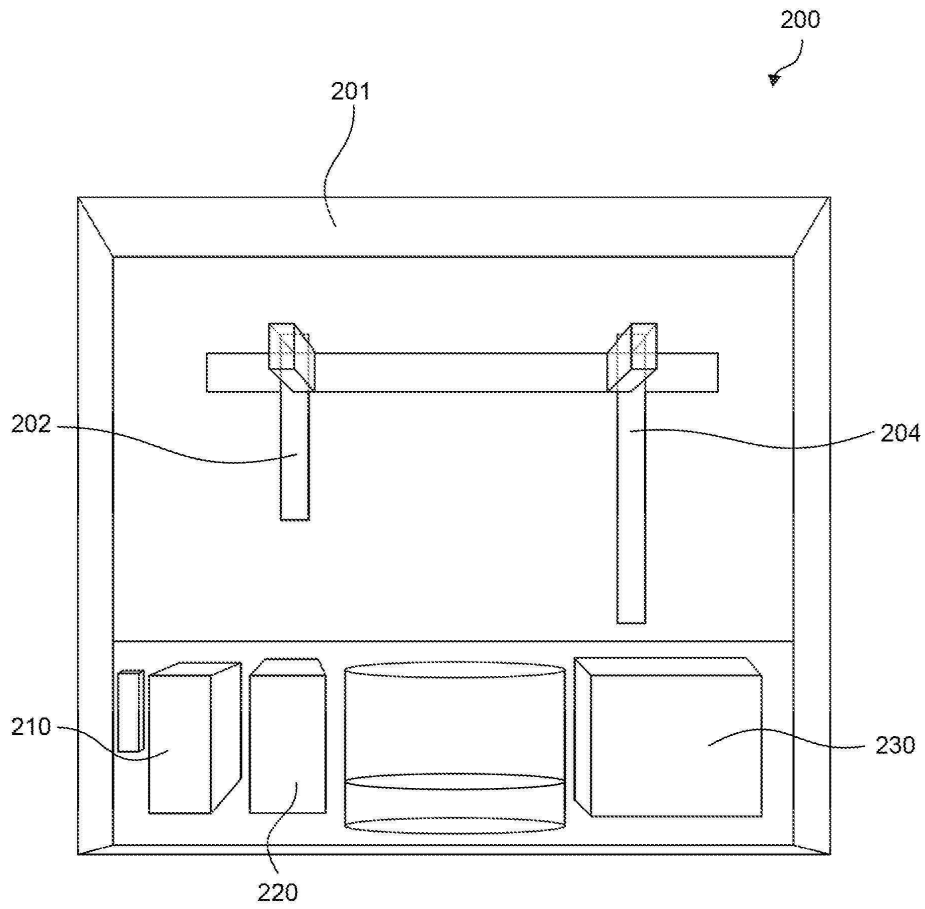
**도면1**



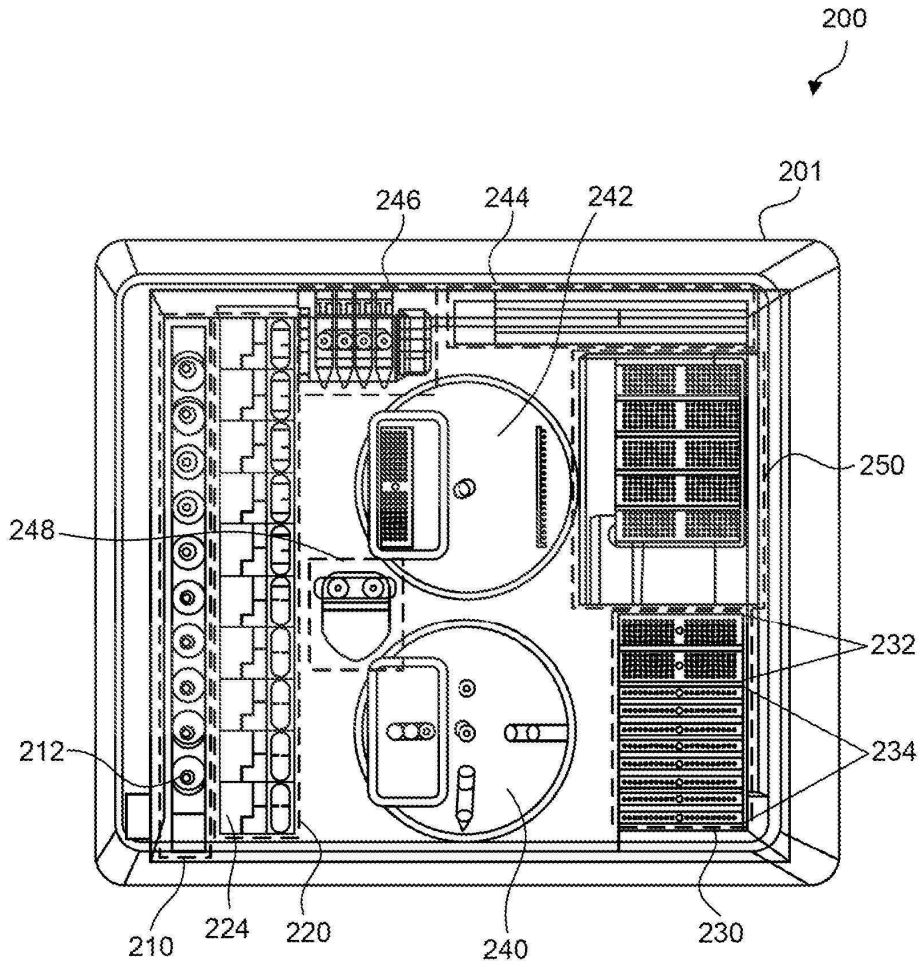
도면2



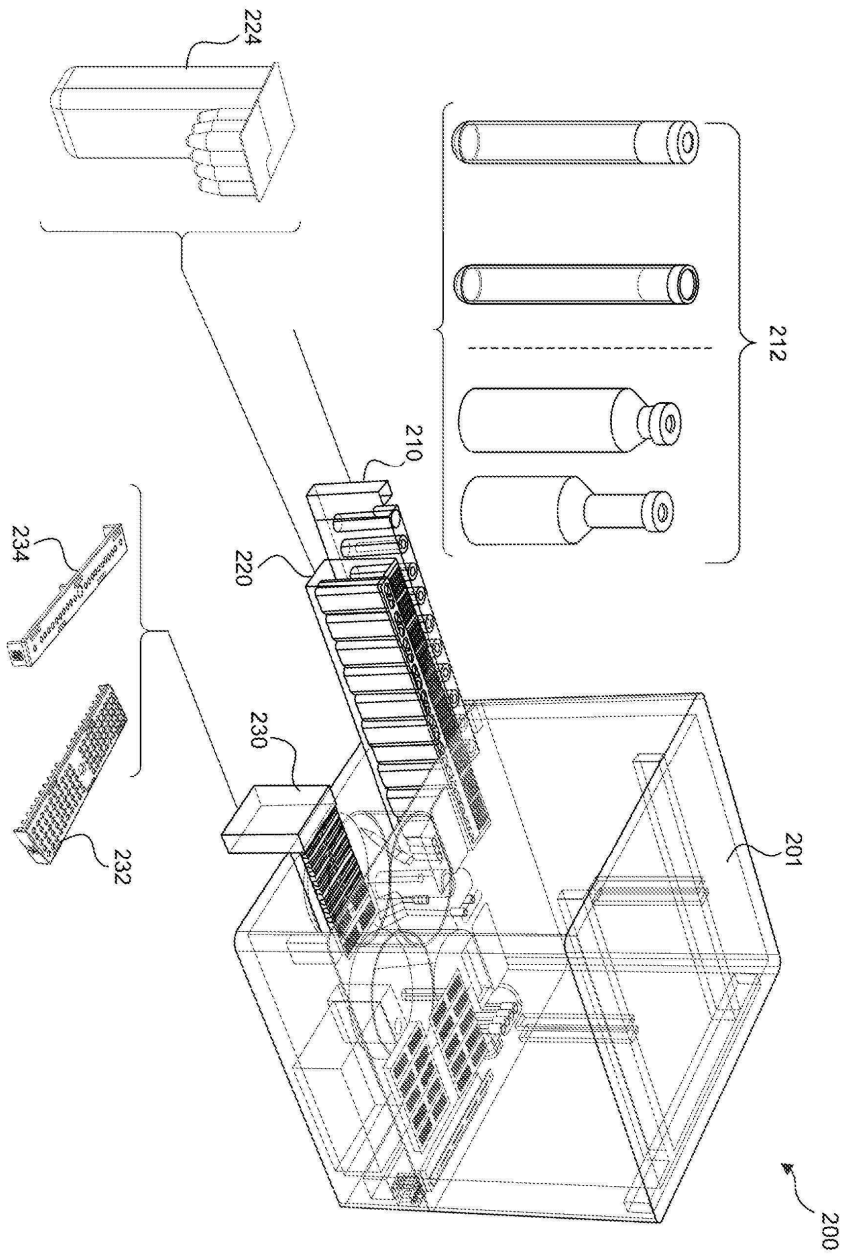
도면3a



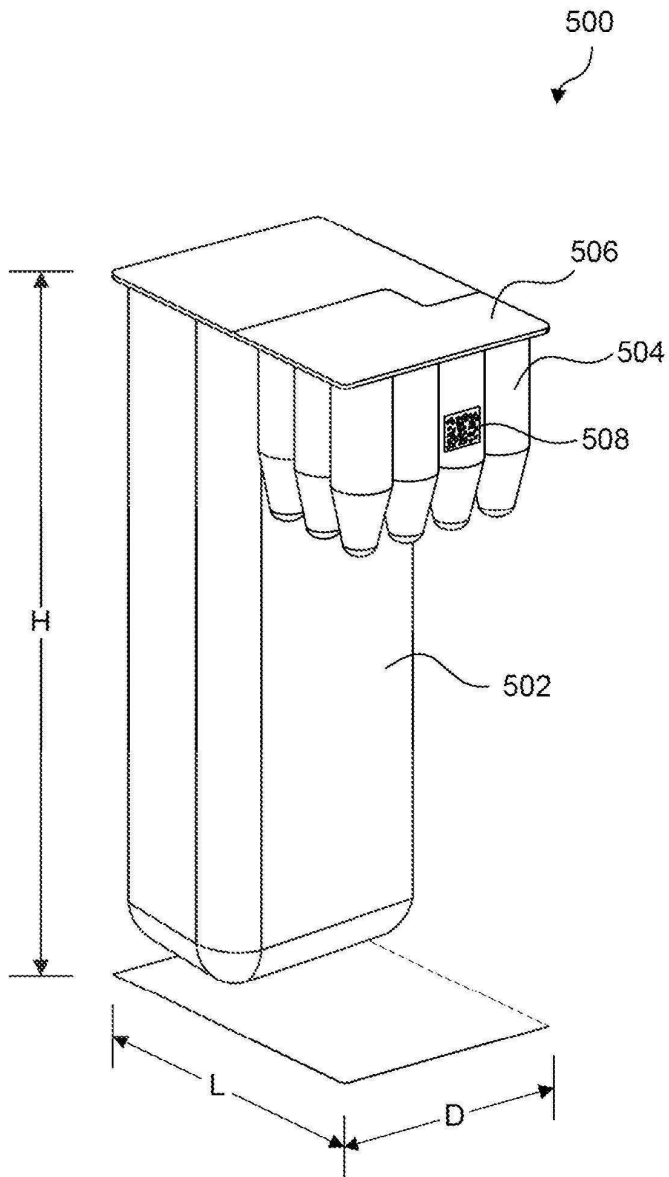
도면3b



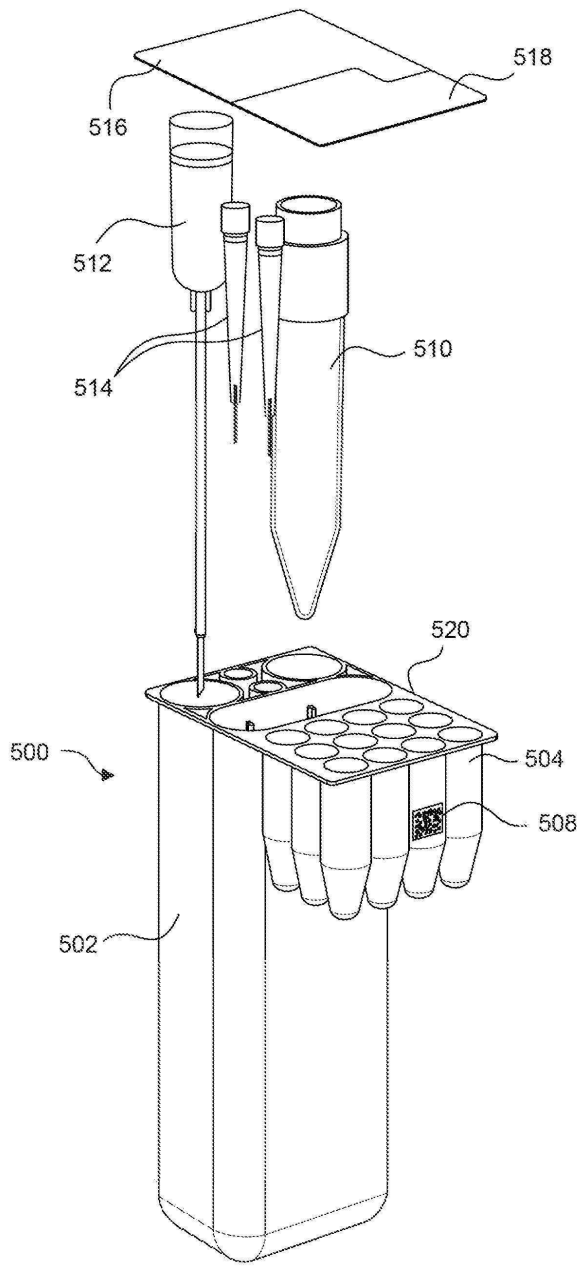
도면4



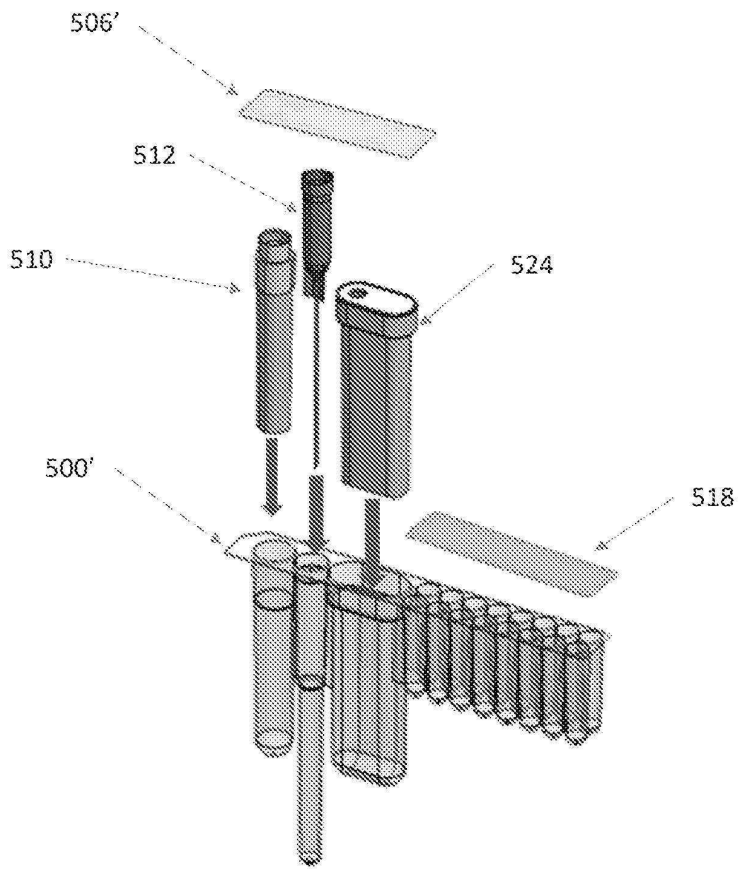
도면5



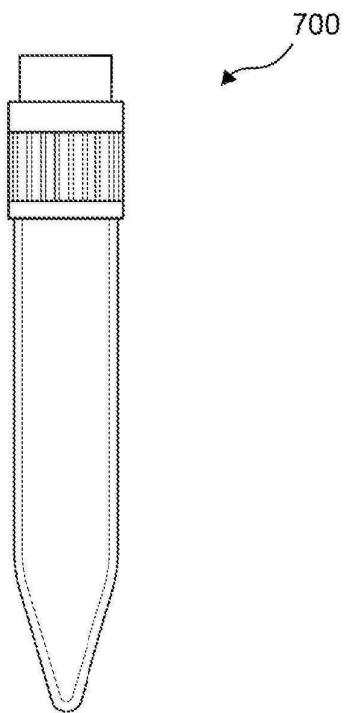
도면6a



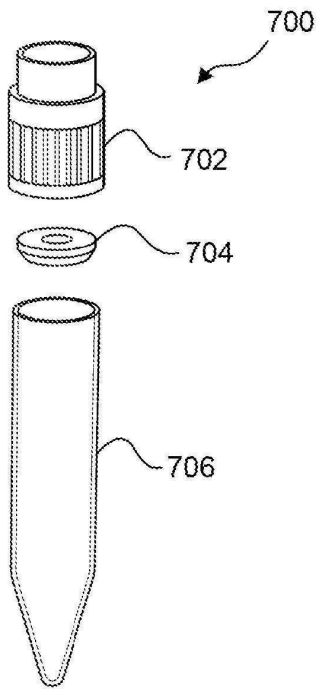
도면6b



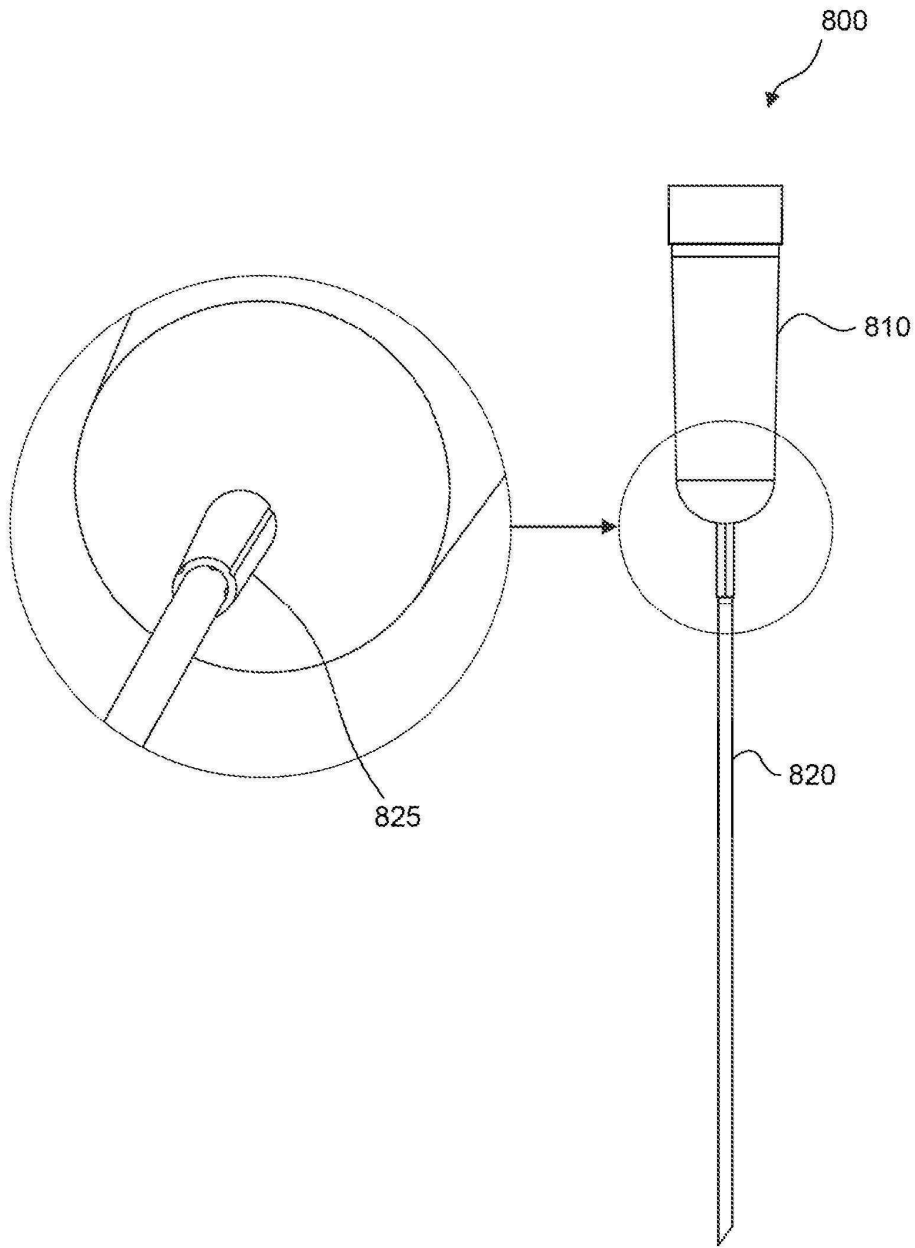
도면7a



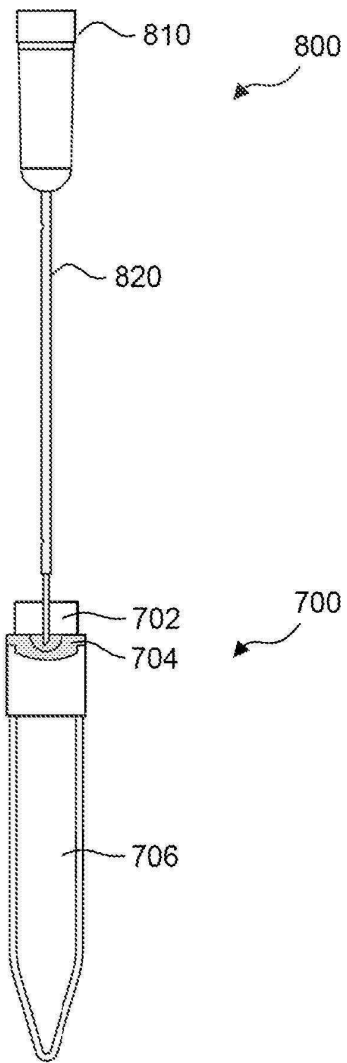
도면7b



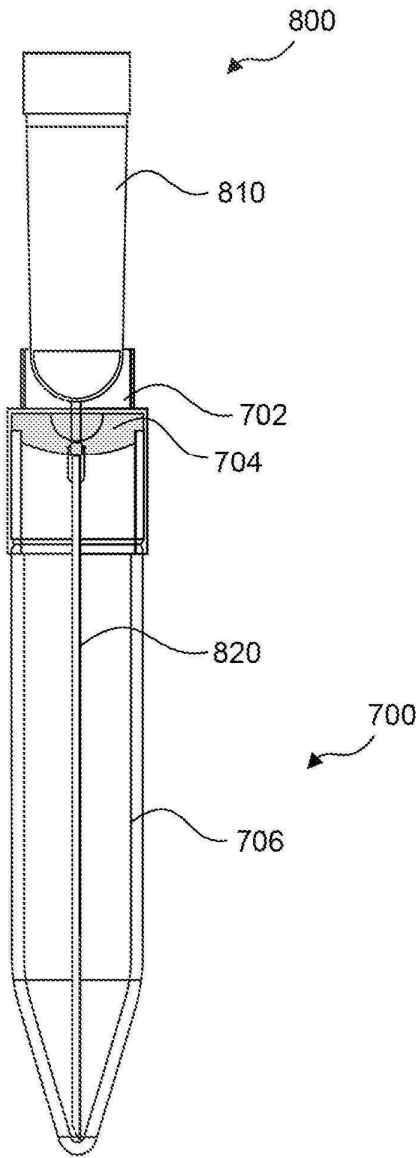
도면 8a



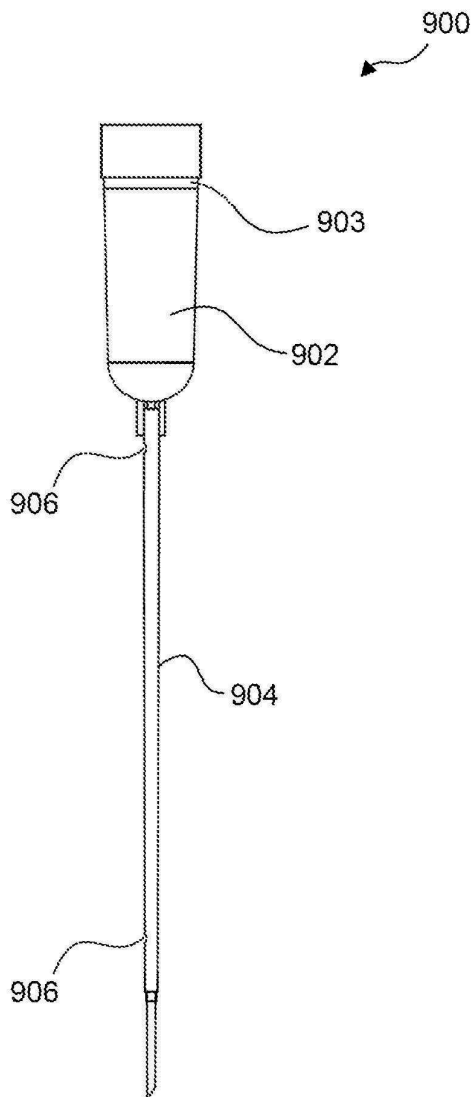
도면 8b



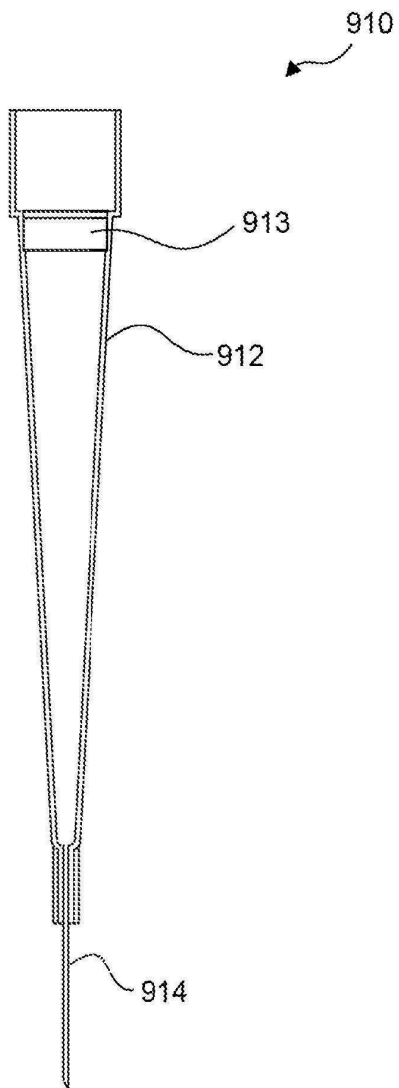
도면8c



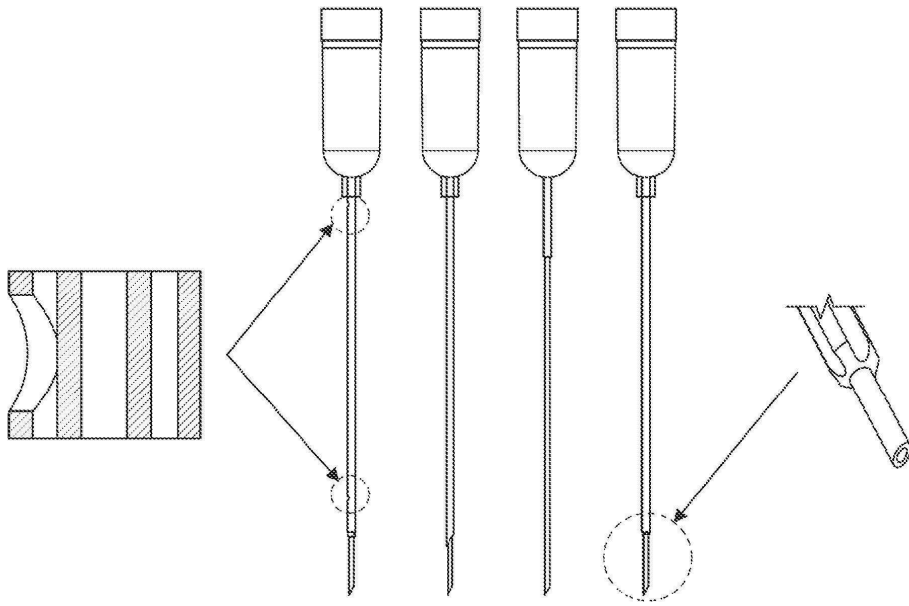
도면9a



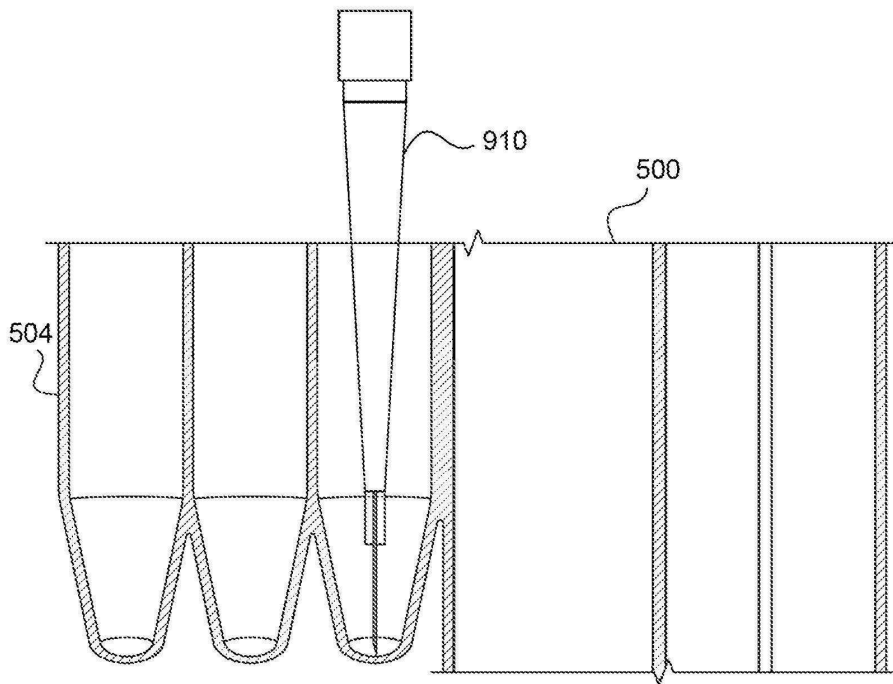
도면9b



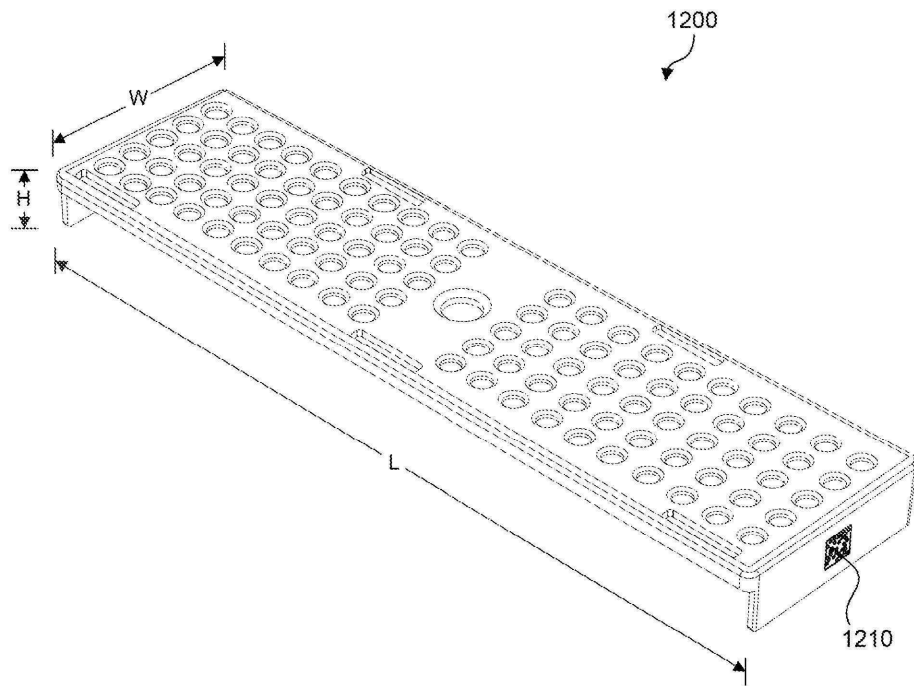
도면10



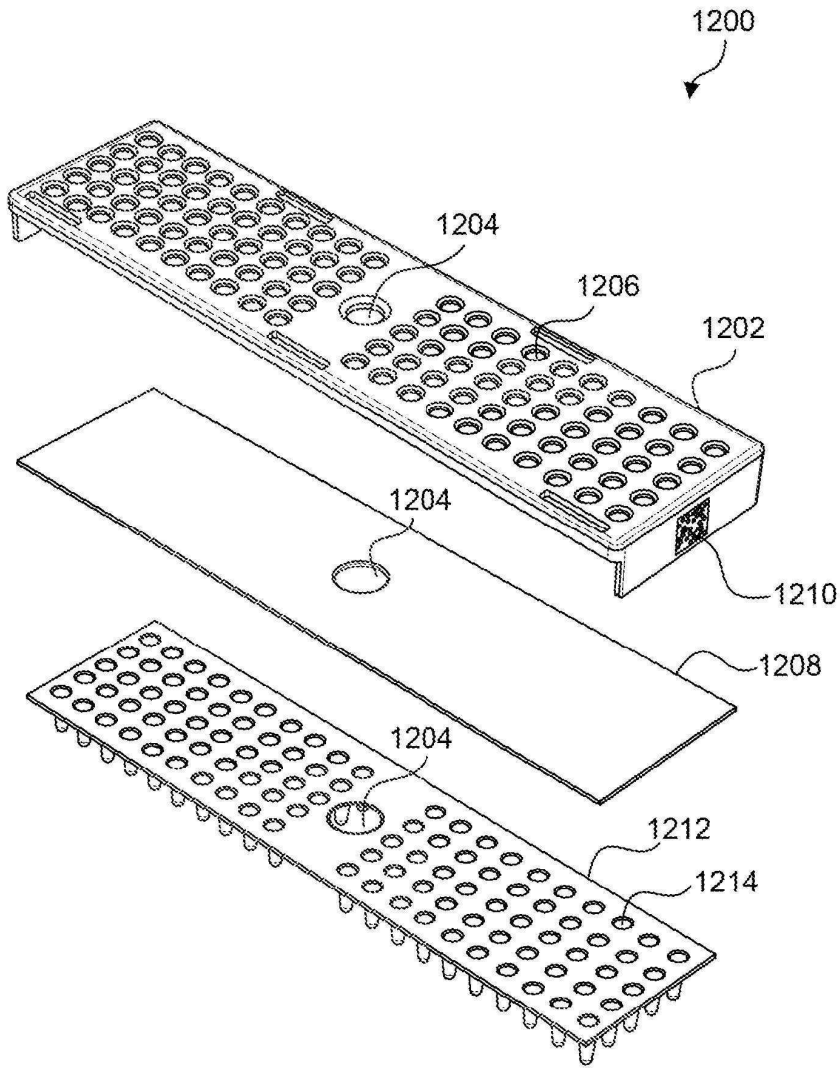
도면11



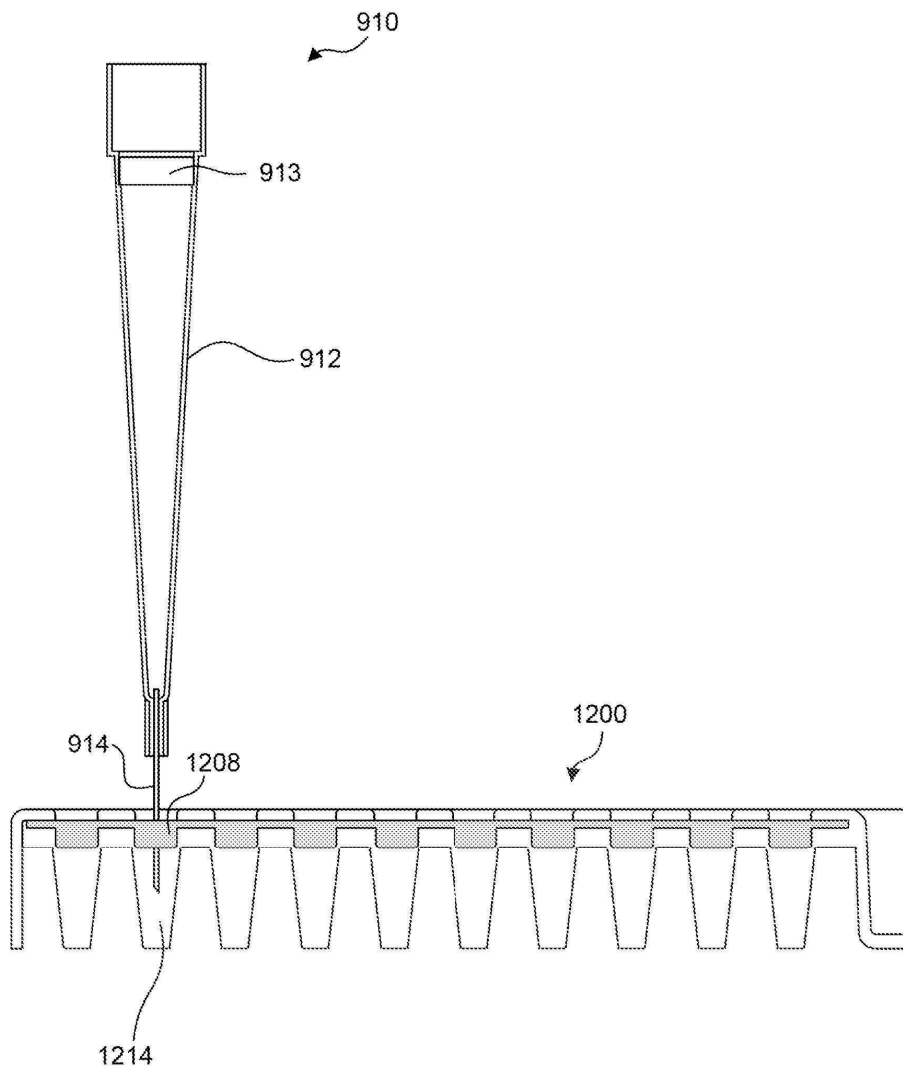
도면 12a



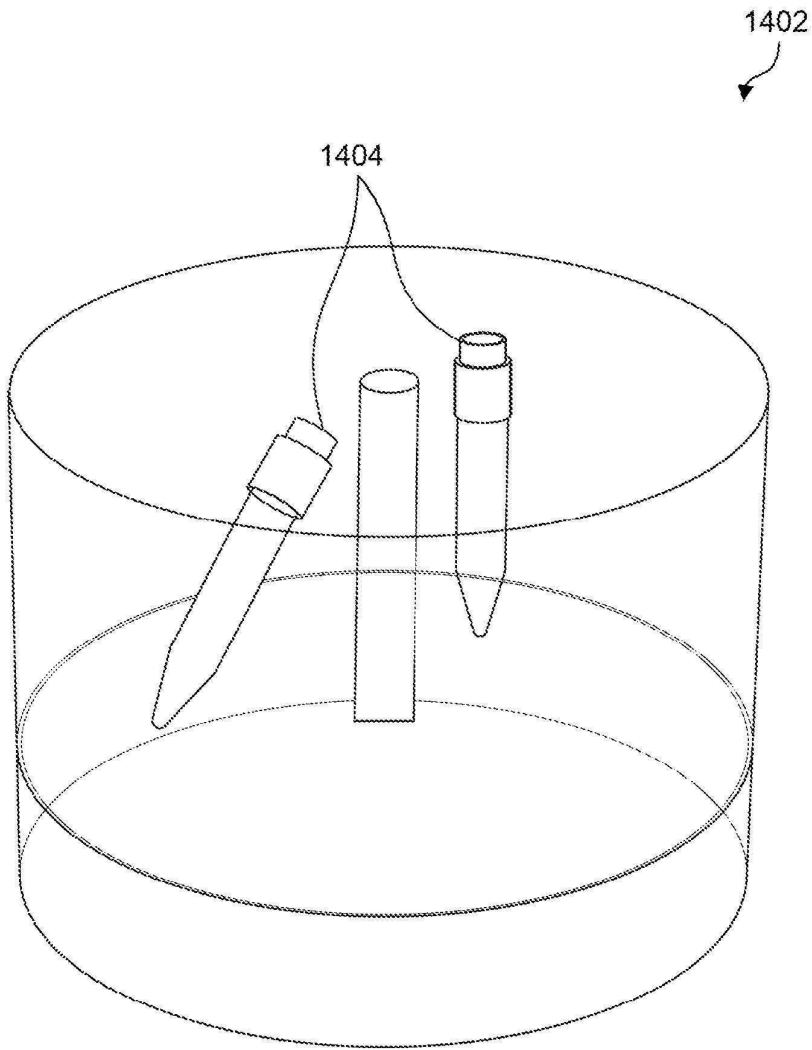
도면12b



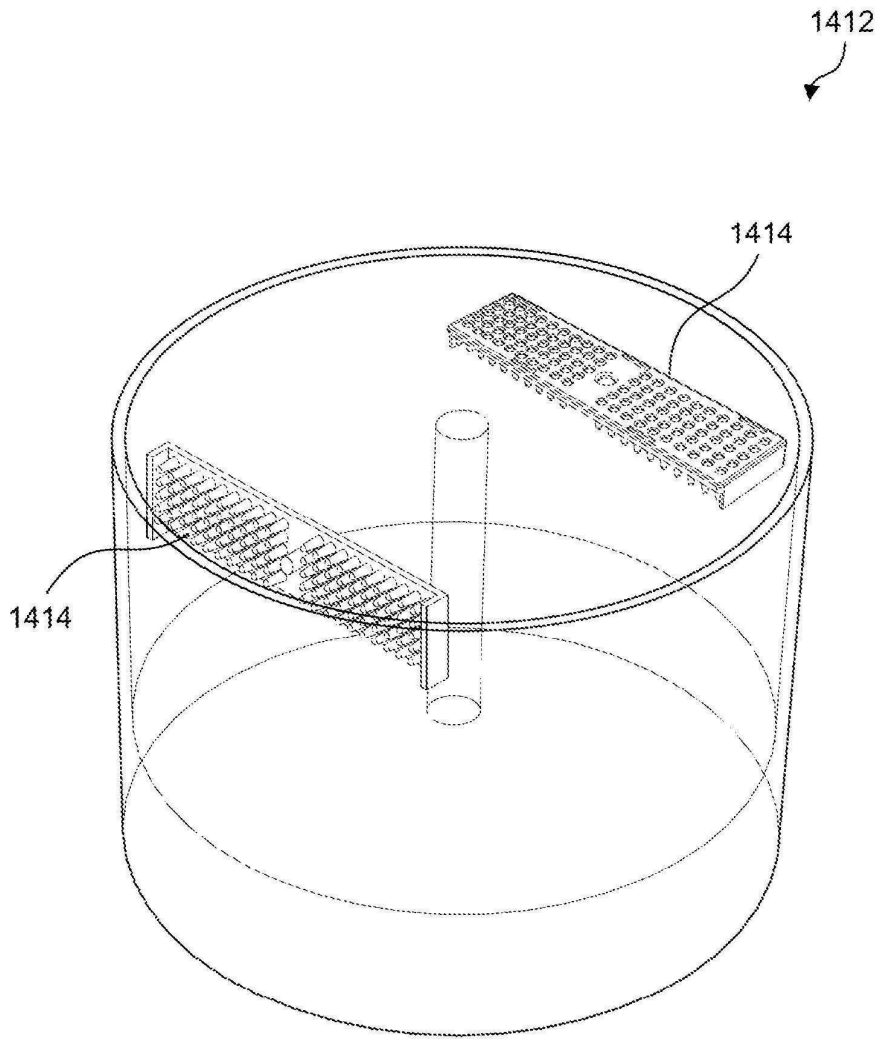
도면13



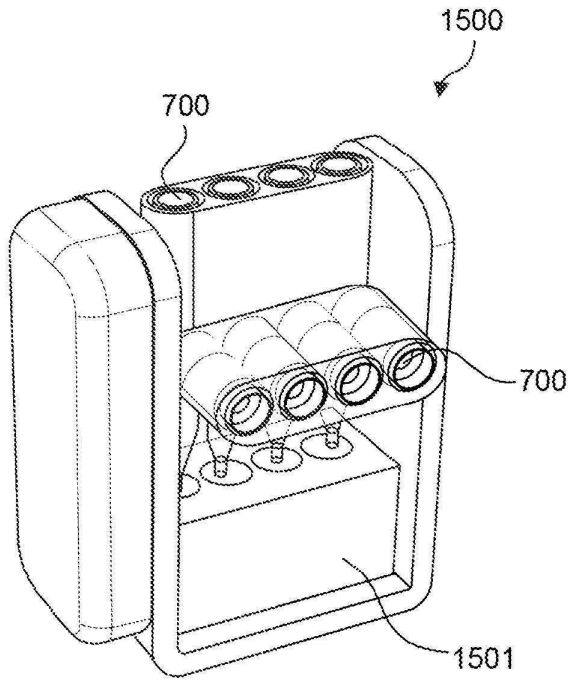
도면14a



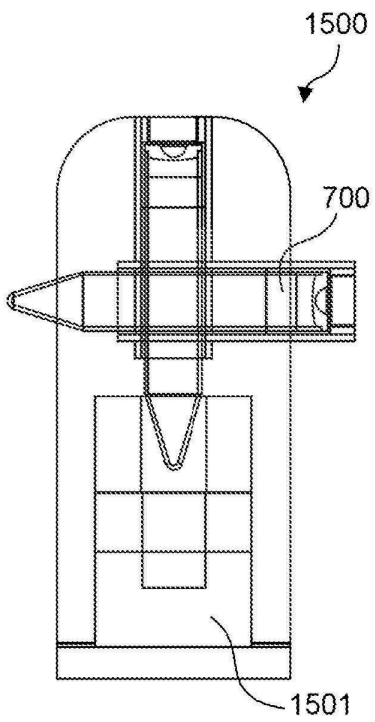
도면14b



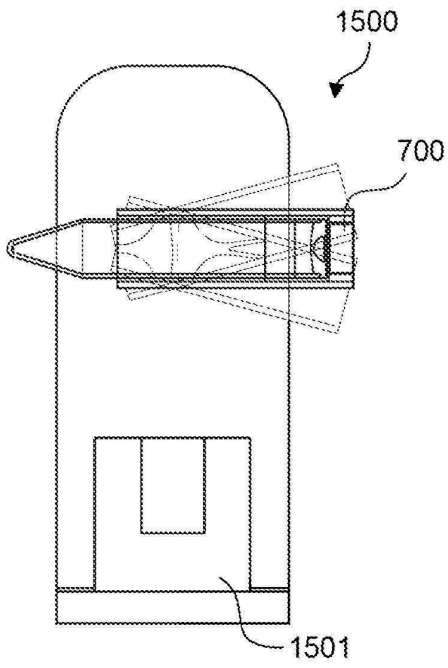
도면15a



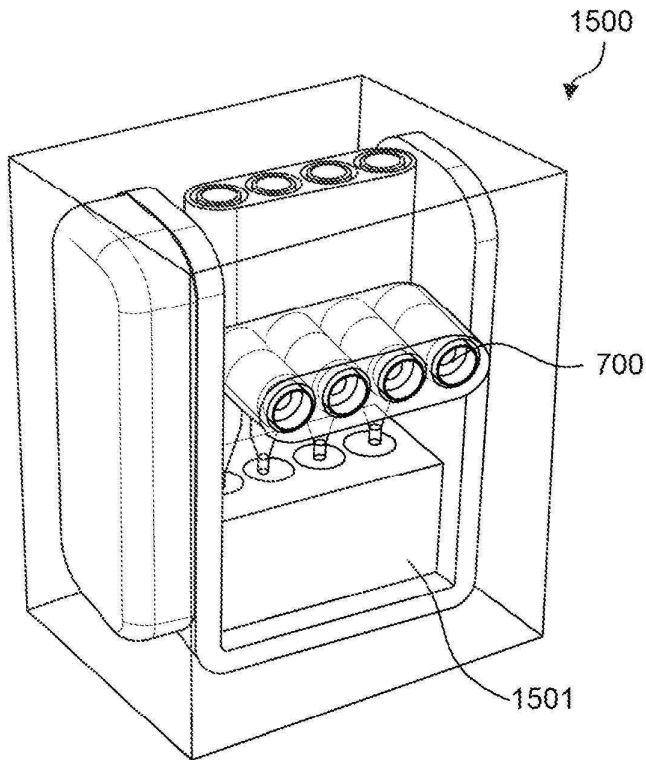
도면15b



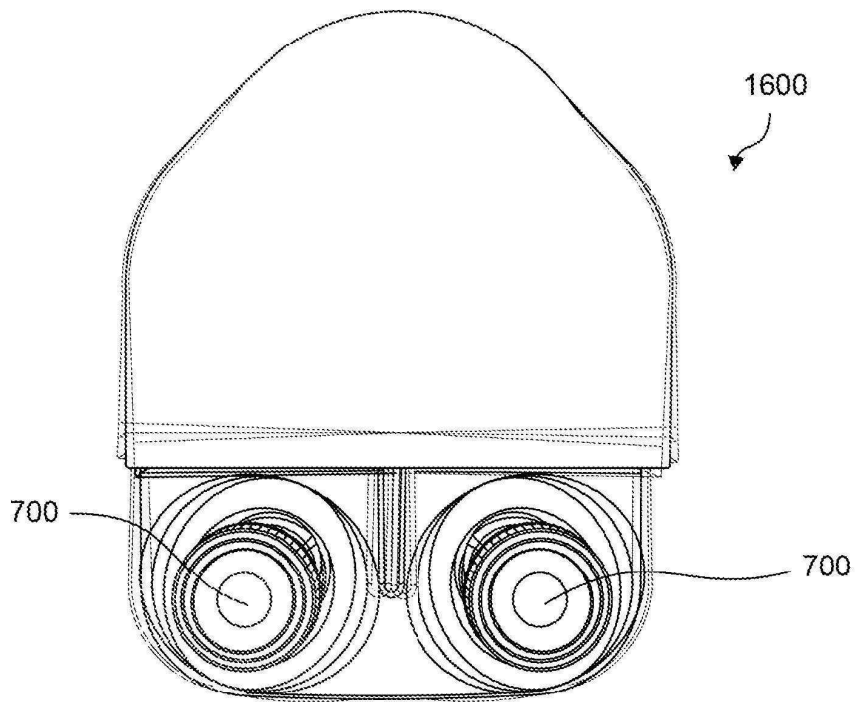
도면15c



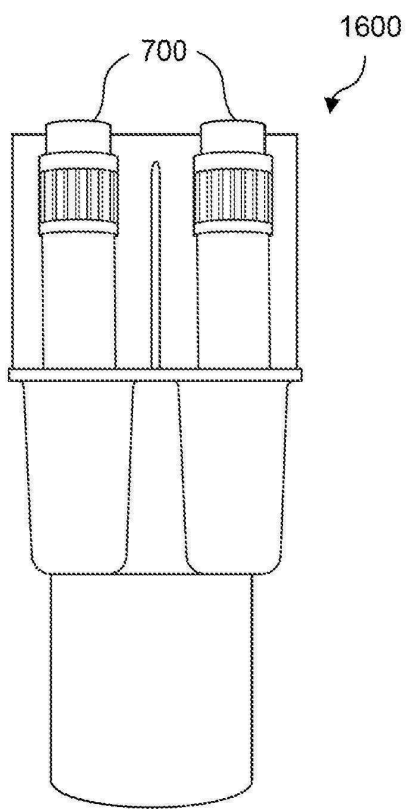
도면15d



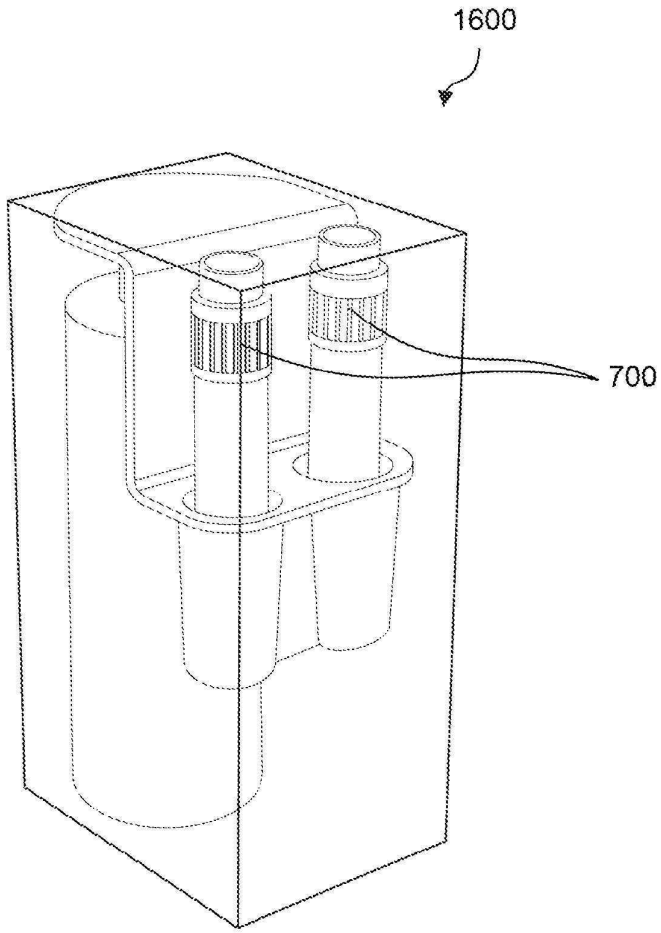
도면16a



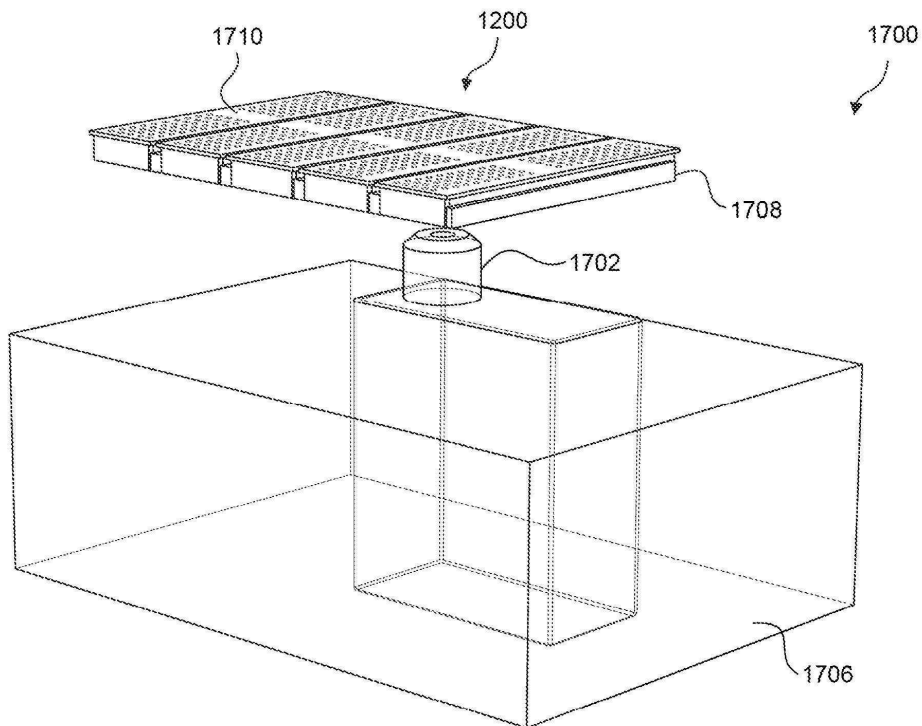
도면16b



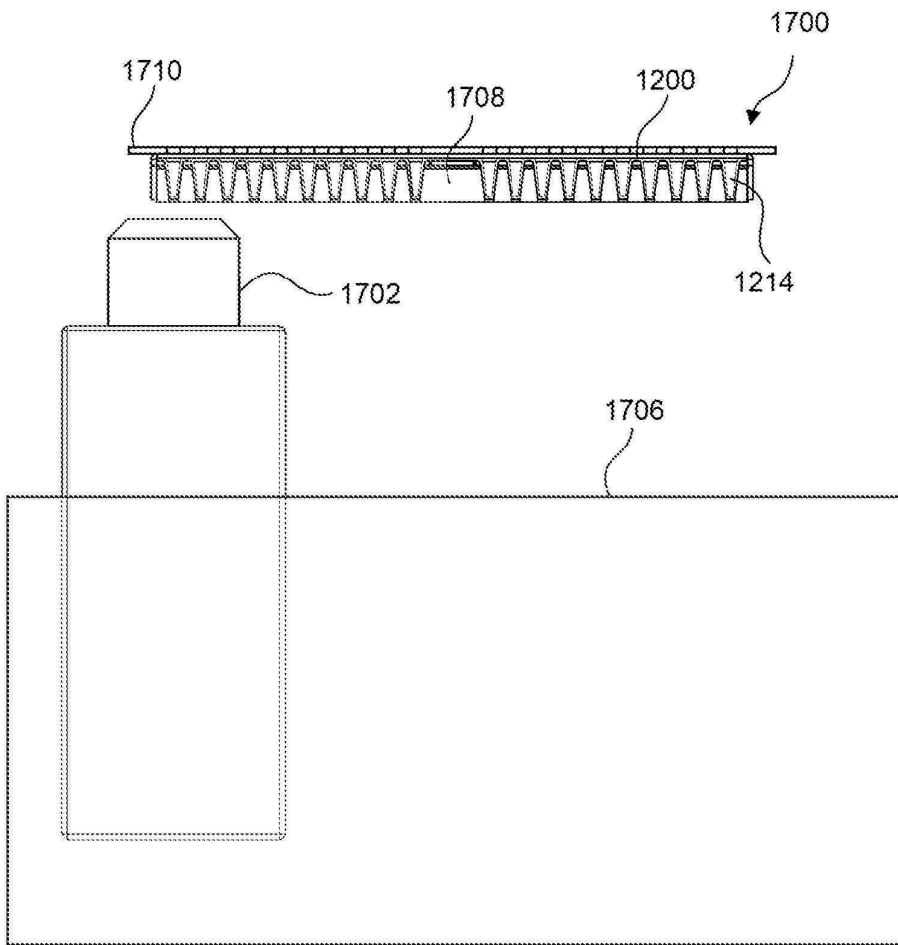
도면16c



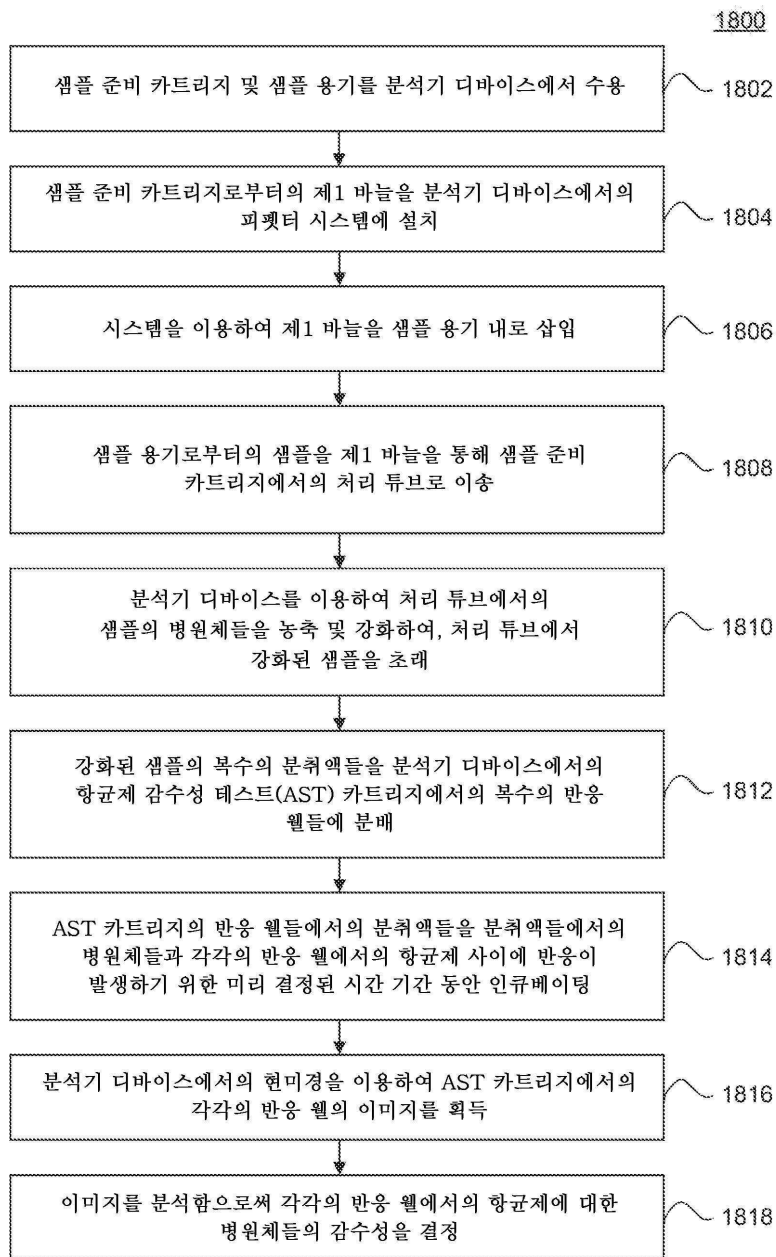
도면17a



도면17b

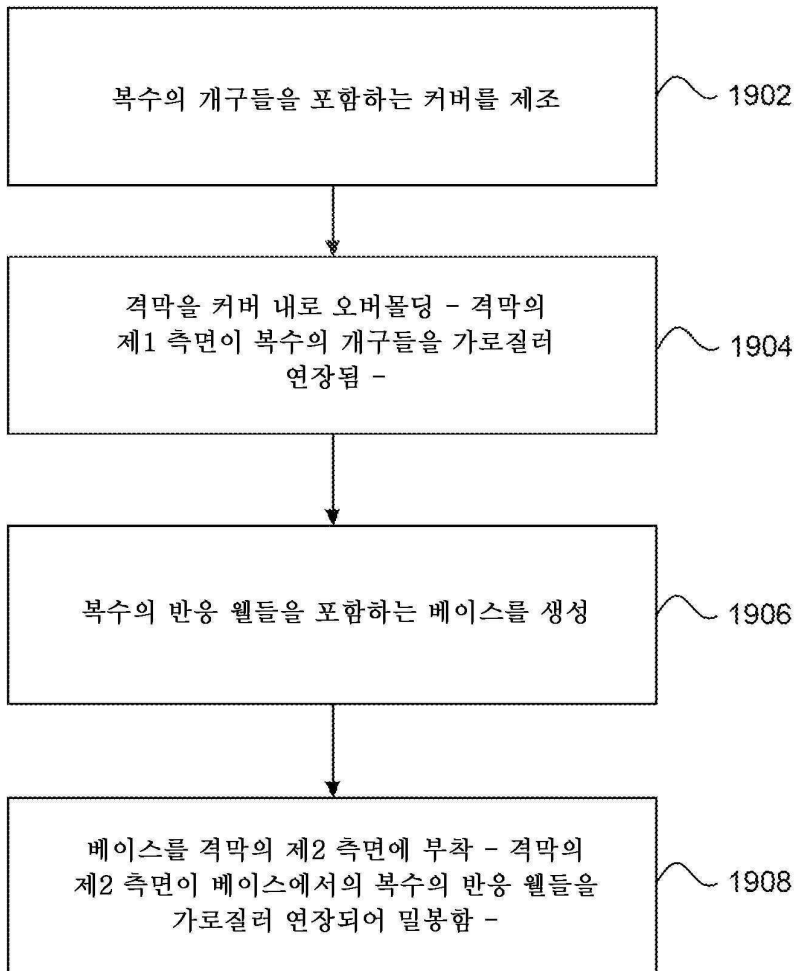


도면18



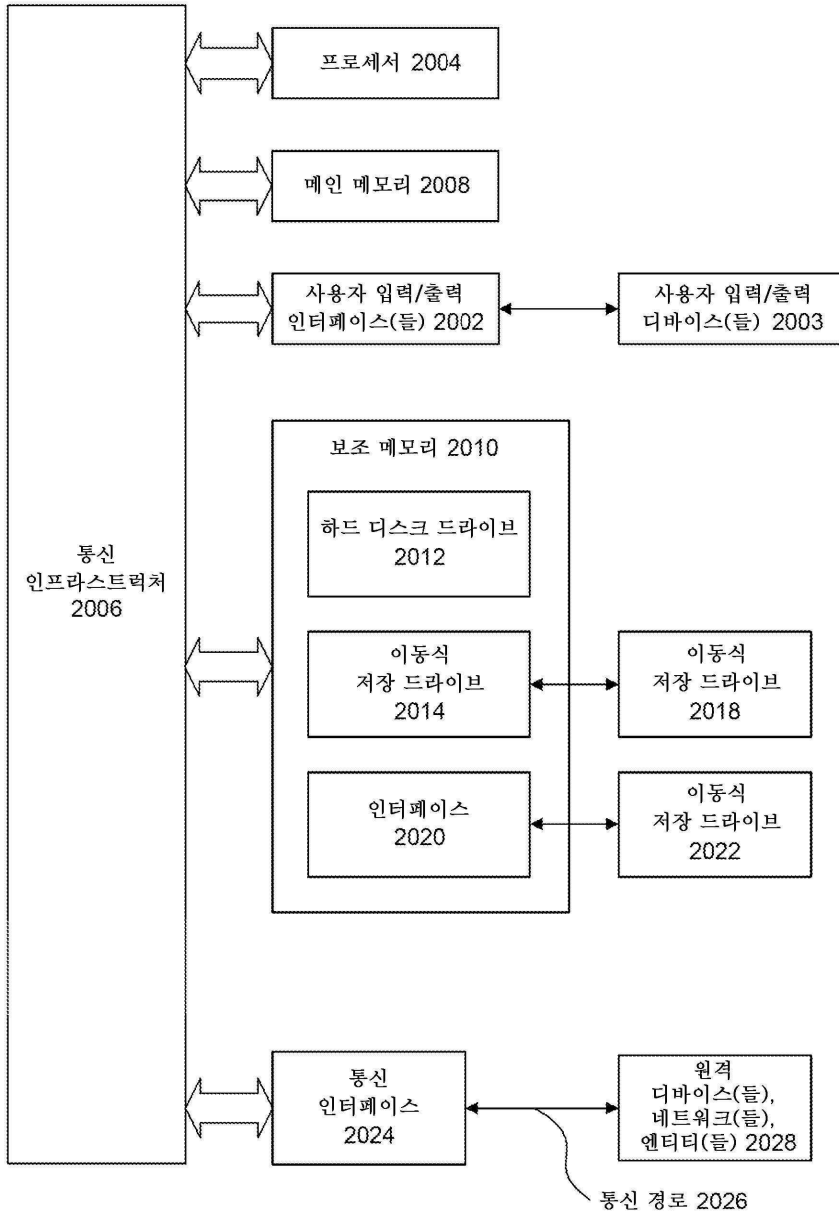
도면19

1900



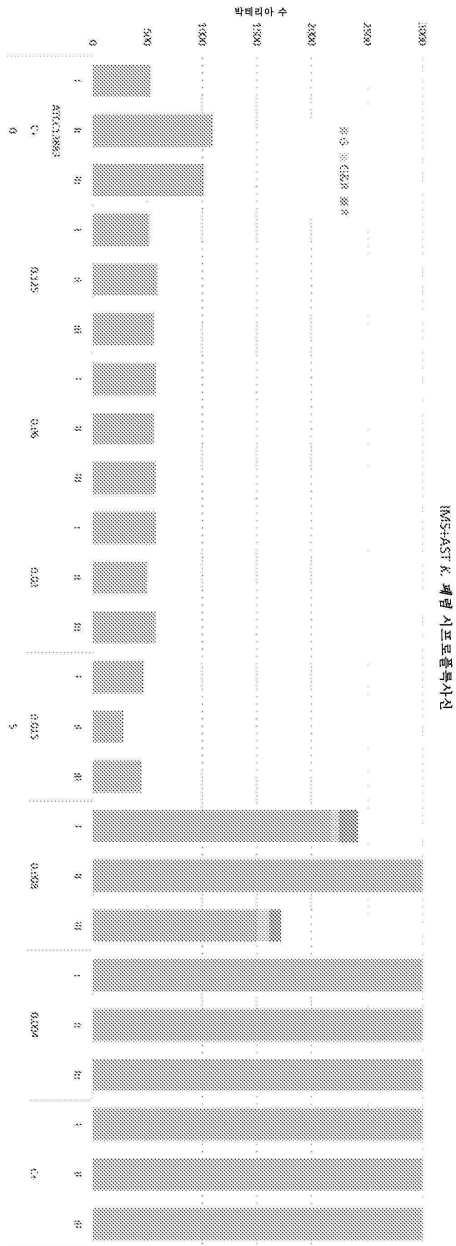
도면20

컴퓨터 시스템 2000

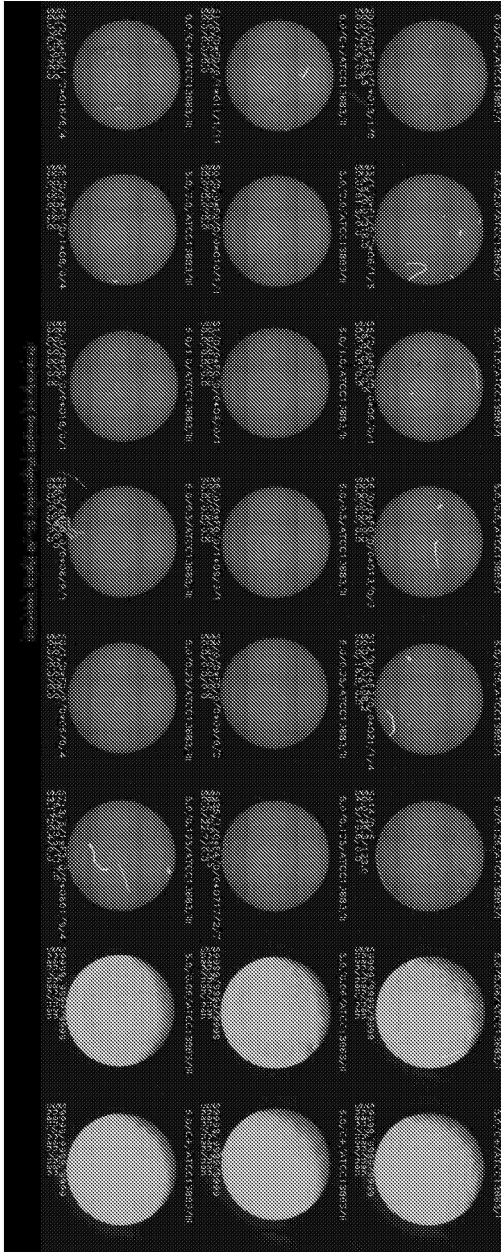




도면21b

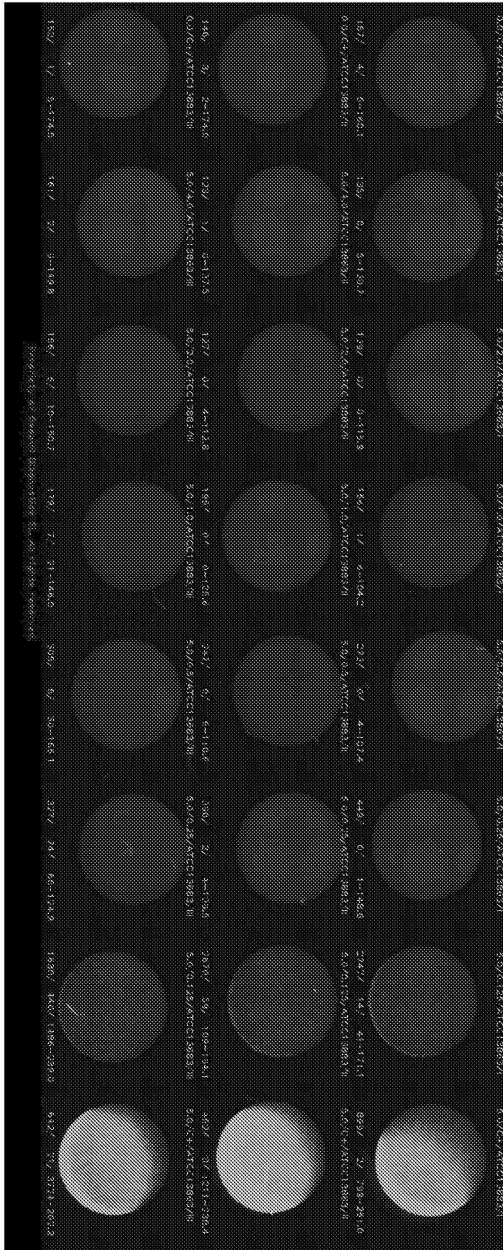


도면22a



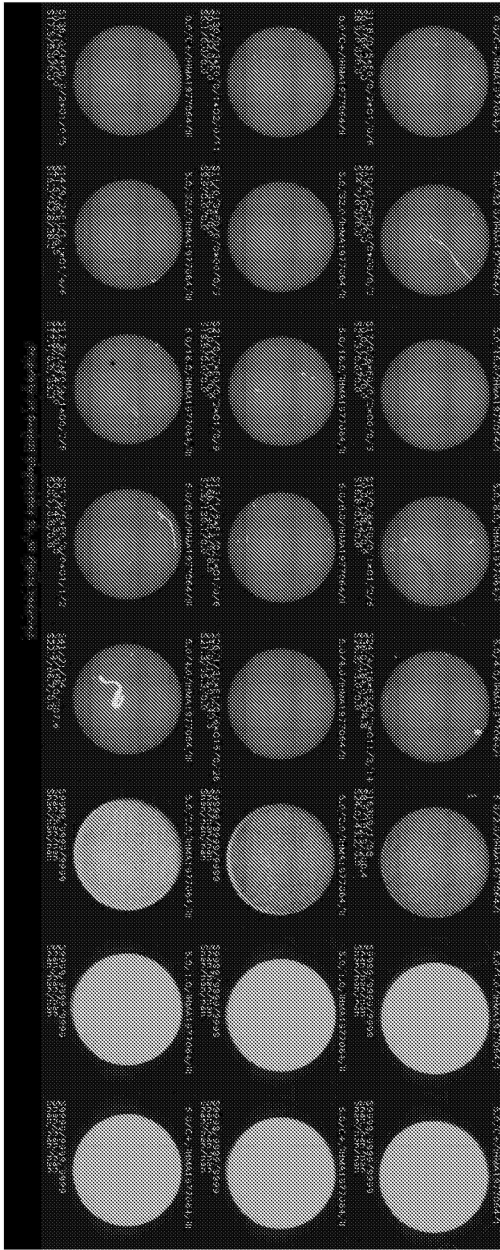


도면23a



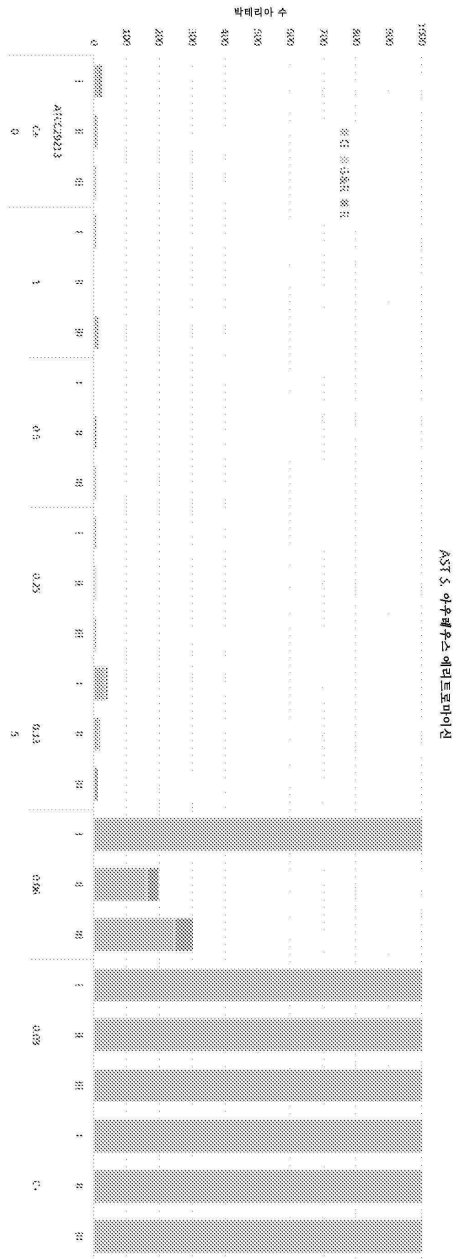


도면24a



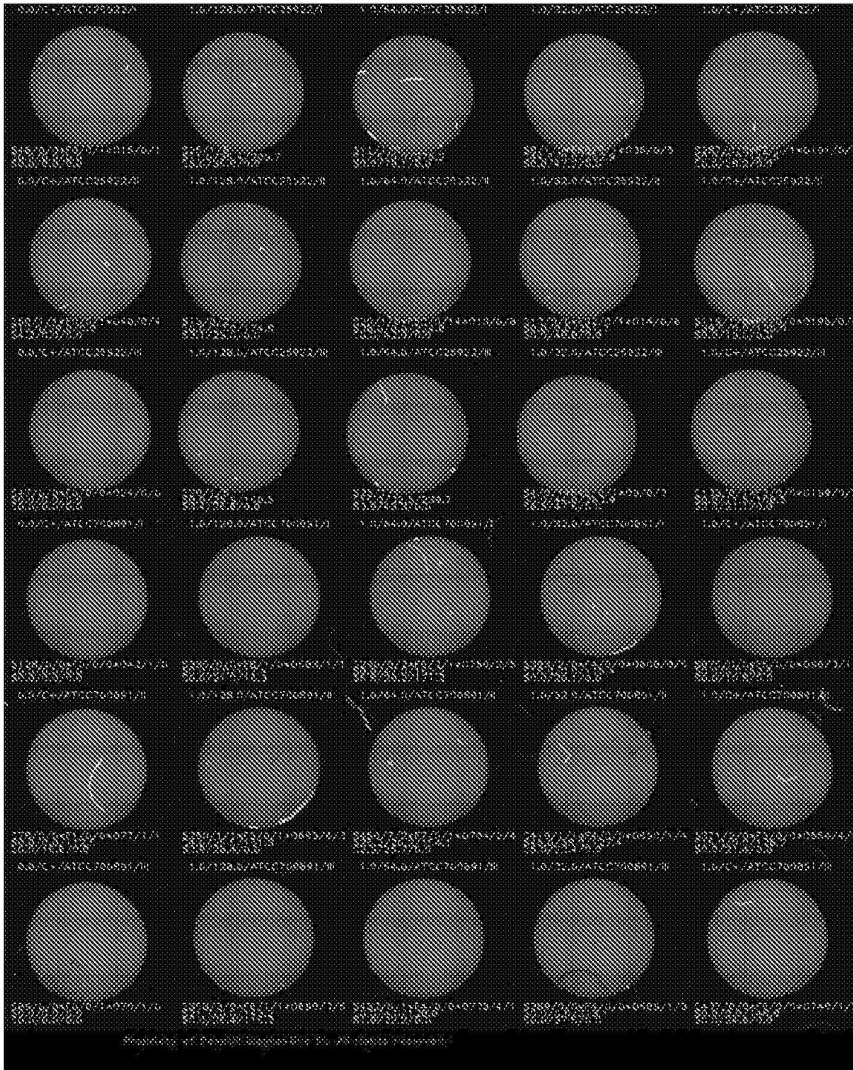


도면25a

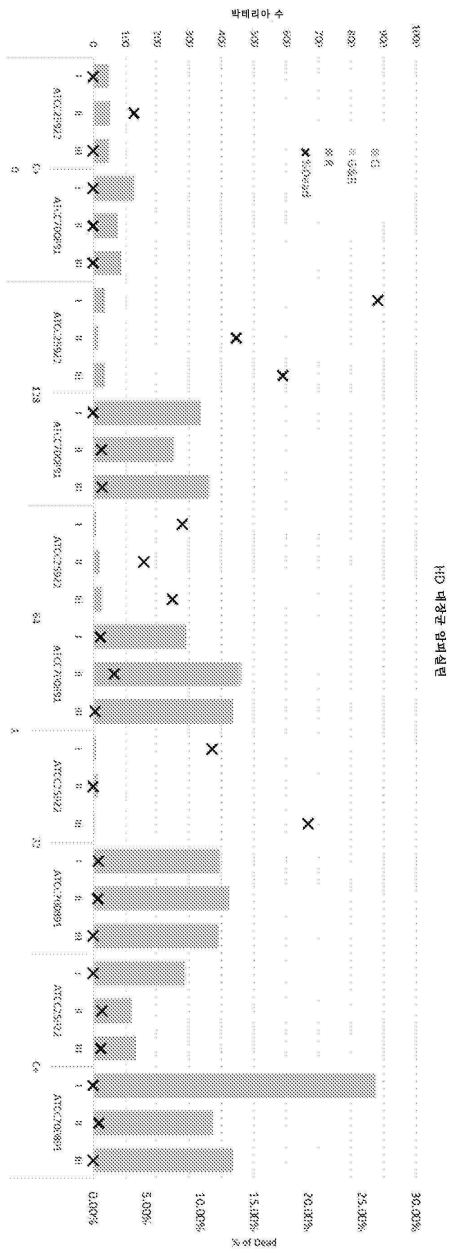




도면26a



도면26b



도면27

