(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0073648
(43) 공개일자 2017년06월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/3577 (2014.01) *G01N 21/35* (2014.01)
G01N 21/552 (2014.01) *G01N 33/49* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/3577 (2013.01)
G01N 21/552 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7013706
(22) 출원일자(국제) 2015년10월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년05월19일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2015/000631
(87) 국제공개번호 WO 2016/061613
국제공개일자 2016년04월28일
(30) 우선권주장
2014904257 2014년10월24일 오스트레일리아(AU)

(71) 출원인
모나쉬 유니버시티
오스트레일리아 빅토리아 3168 클레이톤 웰링톤 로드
(72) 발명자
우드, 베이든 알.
오스트레일리아 빅토리아 3158 업웨이 라이트 애비뉴 27
헤로드, 필립
오스트레일리아 빅토리아 3800 클레이톤 웰링톤 로드
페레즈-과이타, 데이비드
오스트레일리아 빅토리아 3800 클레이톤 웰링톤 로드
(74) 대리인
박장원

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **혈액 속에서 병원체를 검출하기 위한 방법 및 시스템**

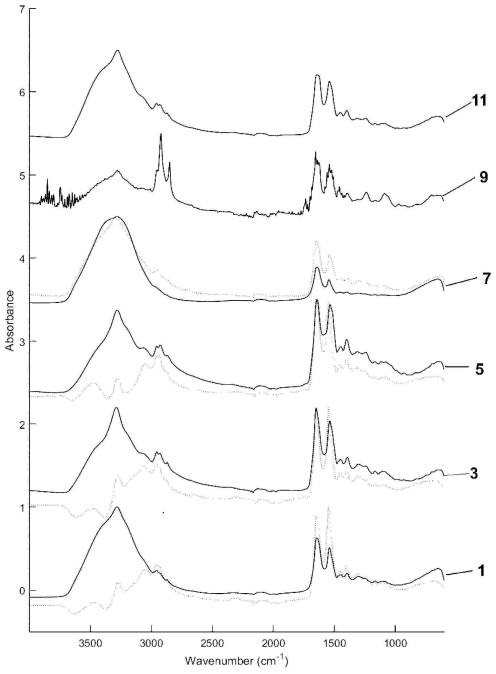
(57) 요 약

본 발명은 기본적으로 (i) 각각이 파수 및 흡광도 값을 갖는 하나 이상의 스펙트럼 성분들을 갖는, 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계;

(ii) 각각의 모델이 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 가지며, 여기서 상기 데이

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



터베이스 스펙트럼 성분이 병원체를 확인하는, 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계;

(iii) 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분이 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는지를 측정하는 단계, 및

(iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일링하는 단계를 포함하여, 혈액 속에서 병원체를 검출하는 방법에 관한 것이다. 검출가능한 병원체는 사람 면역결핍성 바이러스(HIV), B 또는 C형 간염(HBV, HCV), 및 말라리아 기생충(플라스모디움)과 같은 혈액 기원 감염체를 포함할 수 있다.

(52) CPC특허분류
G01N 33/49 (2013.01)
G01N 2021/3595 (2013.01)
G01N 2201/1293 (2013.01)
G01N 2333/005 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

다음 단계들을 포함하는, 혈액 샘플 속에서 병원체(disease agent)를 검출하는 방법:

(i) 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계로서, 상기 샘플 스펙트럼은 하나 이상의 스펙트럼 성분을 갖고, 각 성분은 파수 및 흡광도 값을 갖는 것인 단계,

(ii) 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계로서, 각 모델은 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖고, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하는 것인 단계,

(iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

(iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일링하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 단계 (ii)는 단계 (iii)을 착수하기 위한 하나 이상의 스펙트럼 윈도우(spectrum window)를 선택하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 다음 단계를 추가로 포함하는 것인 방법:

(iv) 컴파일된 각각의 개별 스펙트럼 모델에서 샘플 성분의 수를 측정하고 상기 컴파일된 스펙트럼 모델을 등급화하는 단계.

청구항 4

제1항에 있어서, 다음 단계를 추가로 포함하는 것인 방법:

(iv) 컴파일된 각각의 개별 스펙트럼 모델에서 샘플 성분들의 수를 측정하고 상기 컴파일된 스펙트럼 모델을 소정의 분류 기준을 기반으로 하여 분류하는 단계.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 병원체는 혈액 기원 바이러스 질환을 포함하는 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 병원체는 사람 면역 결핍성 바이러스(HIV), B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV), 아레나비리다에(Arenaviridae) 계열의 바이러스(라싸열, 후닌 및 마추포 포함), 분야비리다에(Bunyaviridae) 계열의 바이러스(크림-콩고 출혈열, 리프트 밸리열, 한탄 출혈열 포함), 필로비리다에(Filoviridae) 계열의 바이러스(에볼라 및 마르부르크병) 및 플라비비리다에(Flaviviridae) 계열의 바이러스(황색 열, 뎅기(dengue), 옴스크 출혈열(Omsk haemorrhagic fever), 카야사나삼림병(Kyasanur forest disease), 웨스트나일 바이러스(West Nile virus)), 알파비리다에(Alphaviridae), 바베시아 비 다이버전스(Babesia B. divergens), 비. 비게미나(B. bigemina), 비. 에퀴(B. equi), 비. 미크로프티(B. microfti), 비. 둔카니(B. duncani), 레이슈마니아 톡소플라스마 곤디이(Leishmania Toxoplasma gondii), 플라스모디움 팔시파룸(Plasmodium falciparum), 플라스모디움 비박스(Plasmodium vivax), 플라스모디움 오발레 쿠르티시(Plasmodium ovale curtisi), 플라스모디움 오발레 왈리커리(Plasmodium ovale wallikeri), 플라스모디움 말라리아에(Plasmodium malariae), 플라스모디움 노울레시(Plasmodium knowlesi), 트리파노소마 브루세이(Trypanosoma brucei) 및 트리파노소마 크루지(Trypanosoma cruzi)의 바이러스 또는 벡터를 포함하는 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 A형 간염 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, D형 간염 바이러스, E형 간염 바이러스 및G형 간염 바이러스 또는 이의 조합으로부터 선택된 특이적인 간염 바이러스를 확인하는 것인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 혈액 샘플을 대표하는 적외선 스펙트럼은 혈액 샘플의 두꺼운 필름으로부터 생성되는 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 혈액 샘플을 대표하는 적외선 스펙트럼은 혈액의 단일 소적으로부터 생성되는 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 혈액 성분을 대표하는 적외선 스펙트럼은 5 내지 50㎕, 보다 바람직하게는 5 내지 25㎕의 용적의 혈액의 단일 소적으로부터 생성되는 것인 방법.

청구항 11

다음 단계들을 포함하는, 혈액 샘플 속에서 말라리아를 검출하는 방법:

(i) 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계로서, 상기 샘플 스펙트럼은 하나 이상의 스펙트럼 성분을 갖고, 각 성분은 파수 및 흡광도 값을 갖는 것인 단계,

(ii) 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계로서, 각 모델은 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖고, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 말라리아를 확인하는 것인 단계,

(iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

(iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일링하는 단계.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 혈액 샘플을 대표하는 적외선 스펙트럼은 혈액 샘플의 두꺼운 필름으로부터 생성되는 것인 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 혈액 샘플을 대표하는 적외선 스펙트럼은 혈액의 단일 소적으로부터 생성되는 것인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 혈액 성분을 대표하는 적외선 스펙트럼은 5 내지 50㎕, 보다 바람직하게는 5 내지 25㎕의 용적의 혈액의 단일 소적으로부터 생성되는 것인 방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 말라리아의 특정 상(phase)을 확인하는 것인 방법.

청구항 16

제11항에 있어서, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 하나 이상의 플라스모디움 종을 확인하는 것인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 플라스모디움 팔시파룸(Plasmodium falciparum), 플라스모디움 비박스(Plasmodium vivax), 플라스모디움 오발 쿠르티시(Plasmodium ovale curtisi), 플라스모디움 오

발 왈리커리(Plasmodium ovale wallikeri), 플라스모디움 말라리아에(Plasmodium malariae), 플라스모디움 노울레시(Plasmodium knowlesi) 또는 이의 조합을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 플라스모디움 종을 확인하는 것인 방법.

청구항 18

혈액 샘플 속에서 병원체를 검출하는 방법을 수행하기 위한 애플리케이션(application)을 비-일시적인 형태(non-transient form)로 저장하기 위한 컴퓨터 판독가능한 저장 매체로서, 상기 검출 방법은 다음의 단계들을 포함하는 것인 컴퓨터 판독가능한 저장 매체:

(i) 혈액 샘플을 대표하는 IR 스펙트럼을 기록하는 단계;

(ii) 상기 스펙트럼을 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스와 비교하여 혈액 샘플의 파수 및 흡광도의 하나 이상의 스펙트럼 성분을 확인하는 단계로서, 상기 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하는 것인 단계; 및

(iii) 상기 데이터베이스의 개별 스펙트럼 모델에 상응하는 확인된 샘플 성분의 목록을 컴파일링하는 단계,

여기서 단계 (i) 내지 단계 (iii)은 자동화되어 있는 것임.

청구항 19

IR 스펙트럼 획득용 분광계 및 컴퓨터를 포함하는, 혈액 샘플 속에서 병원체를 검출하기 위한 시스템으로서,

(i) 상기 분광계는 혈액 샘플을 대표하는 IR 스펙트럼을 생성하고,

(ii) 상기 컴퓨터는 상기 스펙트럼을 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스에 적용하여 혈액 샘플의 파수 및 흡광도의 하나 이상의 스펙트럼 성분을 확인하되, 상기 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하고,

(iii) 상기 컴퓨터는 상기 데이터베이스의 개별 스펙트럼 모델에 상응하는 확인된 샘플 성분들의 목록을 컴파일링하는 것인 시스템.

청구항 20

혈액 샘플 속에서 병원체를 검출할 수 있도록 채택된 애플리케이션으로서, 다음의 단계들을 포함하는 방법이 가능하도록 채택된 소정의 명령 세트를 포함하는 애플리케이션:

(i) 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계로서, 상기 샘플 스펙트럼은 하나 이상의 스펙트럼 성분을 갖고, 각 성분은 파수 및 흡광도 값을 갖는 것인 단계,

(ii) 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계로서, 각 모델은 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖고, 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하는 것인 단계,

(iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

(iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일링하는 단계.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] [0001] 본 발명은 질병, 특히 혈액 기원 병원체(blood borne disease agent)의 검출 분야에 관한 것이다. 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명은 혈액 속에서 감염성 질환의 검출 및 정량화(quantification)에 관한 것이다.

[0002] [0002] 하나의 형태에서, 본 발명은 혈액 기원 병원체의 검출, 확인 및 정량화를 위한 감쇠 전반사 적외선(ATR-IR) 분광법을 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0003] [0003] 다른 형태에서, 본 발명은 혈액으로부터 ATR-IR에 의해 수득된 데이터의 다변량 분석 방법에 관한 것이다.

[0004] [0004] 하나의 특수한 측면에서, 본 발명은 혈액 기원 감염성 질환의 진단에 사용하기에 적합하다.

[0005] [0005] 하나의 특수한 측면에서, 본 발명은 말라리아, 사람 면역 결핍성 바이러스(HIV), 또는 B형 간염 바이러

스(HBV), 또는 C형 간염 바이러스(HCV) 감염의 진단에 사용하기에 적합하다.

[0006] [0006] 말라리아와 관련하여 본 발명을 이후 기술하기가 편리할 것이나, 본 발명은 이에만 사용하는 것으로 제한되지 않으며 광범위한 다른 혈액 기원 감염원(blood borne infectious agent)에 사용될 수 있음을 인식하여야 한다.

배 경 기 술

[0007] [0007] 본 명세서에서 문서, 장치, 행위 또는 지식의 어떠한 논의도 본 발명의 내용을 설명하기 위해 포함됨이 인식되어야 한다. 또한, 본 명세서 전체에서 논의는 본 발명자의 실현 및/또는 본 발명자에 의한 특정의 관련된 선행기술의 문제의 확인으로 인하여 발생한다. 더욱이, 문서, 장치, 행위 또는 지식과 같은 물질의 어떠한 논의도 본 발명자의 지식 및 경험의 측면에서 본 발명의 내용을 설명하기 위해 포함되며, 따라서, 어떠한 이러한 논의도, 어떠한 물질이 본원의 개시내용 및 청구범위의 우선일에 또는 우선일 전에, 호주, 또는 다른 곳에서 선행기술의 기초의 일부 또는 관련 기술의 통상적인 일반적인 기술을 형성하는 것으로 받아들여져서는 안된다.

[0008] **감쇠 전반사 적외선(ATR-IR) 분광법**

[0009] [0008] 분광법은 물질을 사용하여 전자기 방사선의 상호작용을 시험함으로써 물질의 화학 조성물 발견하는 것에 기울이는 과학의 분야이다. 적외선(IR) 분광법은 주로 전자기 스펙트럼, 즉, 200 내지 4000cm^{-1} 사이의 파수(wave number)의 에너지인, 전자기 스펙트럼의 적외선 구간에서의 파장을 갖는 분자 진동에 의한 에너지의 흡수에 관한 것이다. 라만 분광법은 전형적으로 20 내지 4000 cm^{-1} 사이의 파수 이동(shift)을 갖는, 분자 진동에 의존하는 파장 이동을 제공하는 단색광의 비탄성 산란에 관한 것이다.

[0010] [0009] 거의 모든 생물학적 분자의 구조는 전자기 스펙트럼의 IR 구간 내의 에너지를 흡수하는 잔사를 포함한다. 따라서, 임상 샘플의 IR 스펙트럼은 이의 주요 생물학적 성분을 대표하며 '대사 지문(metabolic fingerprint)'의 특성으로 존재할 수 있다.

[0011] [0010] ATR은 IR과 함께 사용될 수 있는 샘플링 기술이다. ATR 분광법은 잠재적으로 이동가능한 장점을 제공하며, 이는 저렴하므로 생물학적 세포 및 조직의 분석에 있어서 매우 강력한 도구가 되어 왔다. ATR은 또한 샘플이 추가의 제제없이, 및 투과-IR과 비교하여 고체 또는 액체 상태에서 직접 시험되도록 하며, 샘플로의 경로 길이가 보다 짧아, 수용액과 같은 고도로 흡수하는 매질 속에서 IR 시그날(signal)의 강력한 감쇠를 피한다.

[0012] [0011] 사용시, 샘플은 샘플보다 굴절률이 더 높은 결정의 표면과 접촉한다. IR 광의 빔(beam)은, 이것이 샘플과 접촉시 내부 표면을 적어도 1회 반사시키는 방식으로 ATR 결정을 통과한다. 이러한 반사는 샘플내로 연장하는 에바네센트 파장(evanescent wave)을 형성한다. 샘플내로의 투과 깊이는 광의 파장, ATR 결정에 대한 입사각 및 굴절률 및 프로빙(probing)되는 매질에 의존한다. 반사의 수는 변할 수 있다. 이후에, 빔은, 이것이 결정으로부터 방출함에 따라 검출기에 의해 수집된다.

[0013] **바이러스 간염**

[0014] [0012] 바이러스 간염는 6개의 관련되지 않은 간염 바이러스인, A형 간염 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, D형 간염 바이러스, E형 간염 바이러스 및 G형 간염 바이러스 중의 하나 이상에 의해 유발된다. 수백만명의 사망이 세계적으로 매년 간염에 의해 발생한다. 진단은 혈액 시험, 간 생검 및 영상화와 함께 환자의 증상, 육체적 시험 및 의학적 병력을 평가함으로써 수행한다. 많은 경우에, 간염을 겪는 환자는 증상을 인식하지 않으며, 일상의 혈액 시험 동안 질환을 단지 인식하게 된다.

[0015] [0013] 그러나, 수개의 간 질환은 바이러스 간염과 유사한 신호, 증상 또는 간 기능 시험 비정상을 나타낸다. 따라서, 간의 이들 다양한 질환을 신속하고 저렴하게 구별할 수 있는 새로운 진단 기술이 추구되고 있다. 바람직하게는, 신규 진단 기술은 다양한 간염 바이러스들을 구별할 수 있다.

[0016] **사람 면역결핍성 바이러스(HIV)**

[0017] [0014] HIV는 면역계의 점진적인 부전(progressive failure)을 포함하는 후천성 면역결핍성 질환(AIDS)를 유발하는 렌티바이러스이다. 많은 환자들은, 자신이 HIV에 감염되었다는 것을 인식하지 못하며, 널리 퍼진, 일상의 시험은 일반적으로 감염의 고 위험에 있는 집단 구간 중에서조차 이루어지지 않는다.

[0018] [0015] HIV 시험은 초기에는 항체-양성 환자를 검출하기 위하여 2회 수행된 효소-결합된 면역흡착 검정(ELISA)에 의해 이루어진다. 이후에, 확증적 시험은 보다 구체적인 시험(예를 들면, 웨스턴 블롯(Western blot) 또는

면역형광성 검정)으로 수행된다. 웨스턴 블롯만이 사용되는 경우, 제2의 표본은 일반적으로 1개월 이상 뒤에 수집되어 재시험된다. PCR 시험과 같은 핵산 시험 또한 수행되어 진단을 도울 수도 있다.

[0019] [0016] 이들 확립된 시험 요법들이 매우 정밀할 수는 있으나, 이들은 시간, 노동력 및 비용의 측면에서 힘이 들다. 따라서, HIV 감염을 신속하고 저렴하게 검출할 수 있는 신규한 진단 기술이 여전히 추구되고 있다.

[0020] **말라리아**

[0021] [0017] 말라리아는 플라스모디움(Plasmodium), 플라스모디움 팔시파룸 플라스모디움 비박스(Plasmodium falciparum Plasmodium vivax), 플라스모디움 오발 쿠르티시(Plasmodium ovale curtisi), 플라스모디움 오발 왈리커리(Plasmodium ovale wallikeri), 플라스모디움 말라리아에(Plasmodium malariae), 플라스모디움 노울레시(Plasmodium knowlesi) 속의 5개의 기생성 원생생물에 의해 유발된 모기 기원 질환이다. 매년 120만명까지의 사망자 수가 발생하며 조기 진단에 이은 감염의 즉각적인 치료가 치사율을 감소시키고 항말라리아 약물의 과다 사용을 방지하는데 필수적이다.

[0022] [0018] 이의 삶의 과정 동안에, 말라리아 기생충은 유성 및 무성 생식 경로를 포함하는 수개의 발달 단계를 통과한다. 말라리아를 진단하는 신규 기술은 비용 효과적이고 감도가 높으며 말라리아 기생충의 순환 단계, 즉 링(ring) 및 생식모세포 형태를 검출할 수 있어야 하는데, 이는 이들이 말초 혈액 순환에 존재하는 단계에만 존재하기 때문이다.

[0023] [0019] 최적으로, 환자에서 말라리아의 진단은 초기에 즉시 이루어져야만 하는 적절한 항말라리아 치료를 수반한다. 치료는 3개의 주요 인자에 의해 안내되어야 한다:

[0024] · 감염시킨 플라스모디움 종의 확인;

[0025] · 환자의 임상 상태; 및

[0026] · 감염이 이루어진 지역에 의해 측정된 것으로서 감염시킨 기생충의 약물 민감성 및 항말라리아 의약의 선행 사용.

[0027] [0020] 치료 목적을 위한 감염시킨 플라스모디움 종의 측정은 3개의 주요 이유로 인해 중요하다. 첫째로, 플라스모디움 팔시파룸 및 플라스모디움 노울레시 감염은 신속하게 진행성인 심각한 질병 또는 사망을 유발할 수 있으나 플라스모디움 비박스, 플라스모디움 오발, 또는 플라스모디움 말라리아에와 같은 다른 종은 심각한 징후를 유발하는 경향이 거의 없다. 둘째로, 플라스모디움 비박스 및 플라스모디움 오발 감염은 또한 간에 우세하게 남아있는 수면소체 형태에 대한 치료를 필요로 하며 재발성 감염을 유발할 수 있다. 마지막으로, 플라스모디움 팔시파룸 및 플라스모디움 비박스 종은 상이한 지역에서 상이한 약물 내성 양식을 갖는다. 플라스모디움 팔시파룸 및 플라스모디움 노울레시 감염의 경우, 적절한 치료요법의 신속한 개시가 특히 중요하다.

[0028] [0021] Hz의 분자 서명 및 특이적인 지질을 기준으로 하여 기생충 생명 주기의 적혈구간 단계 사이를 구별하기 위해 주 성분 분석(PCA)과 함께 신크로트론 푸리에 변환 적외선(FTIR)의 잠재능을 시험하기 위한 노력이 또한 이루어져 왔다(참고: Webster et al. Discriminating the Intraerythrocytic Lifecycle Stages of the Malaria Parasite Using Synchrotron FT-IR Microspectroscopy and an Artificial Neural Network, Analytical Chemistry 2009, 81. 2516-2524). 웹스터(Webster) 등은 이의 조기 링 단계로부터 영양체 단계 및 최종적으로 분열전체(schizont) 단계까지 기생충 성숙으로서 특이적인 지질 밴드의 흡광도 및 이동에 있어서의 증가가 있음을 발견하였다.

[0029] [0022] 이러한 작업은, 말라리아에 대한 진단 도구로서 FTIR 분광법을 사용하는 효능을 입증하였으나 명확하게 싱크로트론-게 방법은 현장용(field use) 또는 일상의 실험용으로 적합하지 않다.

[0030] [0023] FTIR 분광법적 진단은 스펙트럼, 스펙트럼 예비-공정 및 인공 신경망 분석(참고: Lasch et al., J. Chemometr. 20, 209-220(2006)) 또는 무감독 계층적 군집 분석(Unsupervised Hierarchical Cluster Analysis)(참고: Bambery et al., Biochim.Acta. 1758, 900-907(2006); Wood et al., Gynecol. Oncol. 93, 59-68(2004))과 같은 화학계기 도구의 정밀한 획득에 의존한다.

[0031] [0024] 임상 진단 도구로서 FTIR의 발전을 저해하여 왔던 제조 기술 및 산란 인공물에 의해 유발된 스펙트럼 산란기(spectral scatter)를 포함하는, 다수의 인자들에 의해 유발된 생물학적 샘플 사이의 거대한 스펙트럼 변화가 존재한다. 더욱이, 일부 생물학적 잔사는 비어-람베르트 법칙(Beer-Lambert law)에 부합하지 않는 적외선 몰 흡수계수 특성을 갖는다.

[0032] [0025] FTIR 분광계법은 또한 암 및 전암 세포 및 조직의 검출에 사용되어 왔다(참고: Whelan et al., J.Biophotonics 6, No. 10, 775-784(2013)/ DOI 10.1002/jbio.201200112). 비-비어-람베르트 적외선 흡수 거동(non-Beer-Lambert infra-red absorption behaviour)을 극복하기 위하여, 간단한 통계적 모델을 개발하여 세포 속 DNA의 농도를 예측하였다. 그러나, 당해 연구에서 상기 연구로부터 개발된 단순한 모델은 복잡한 세포 또는 생물학적 화합물의 복합체 혼합물에 적절하지 않을 수 있음이 인식되어 있다.

[0033] [0026] 다른 연구(참고: Sitole et al, OMICS A J.Integrative Biol. 18(8) 513-523(2014))에서, 혈액 혈청의 mid-ATR-FTIR 분광기적 프로파일링이 HIV/AIDS에 대한 진단제로서 실험되었다. 당해 시스템은 진단에 대한 확약의 지표이지만, 인공적 차이를 기본으로 하는 모델링으로 인하여 사용된 데이터에 문제가 야기됨이 명백하다. 특히, 결합수(bound water)에 있어서의 차이에 기인한 로딩 플롯(loading plot) 및 스펙트럼에서 ATR 교정의 결여로 인하여 수득되는 인공물에서의 분리가 관찰된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0034] [0027] 따라서, 진단제로서 FTIR의 보다 광범위한 사용을 가능하도록 하는 신규한 방법이 요구되고 있다.

과제의 해결 수단

[0035] **발명의 요약**

[0036] [0028] 본 발명의 목적은 혈액 기원 감염성 병원체를 검출하고, 확인하며 정량화하는데 적합한 방법을 제공하는 것이다.

[0037] [0029] 본 발명의 목적은 혈액 기원 감염성 질환을 검출하고 정량화하기 위한 현장용 또는 실험용으로 적합한 방법을 제공하는 것이다.

[0038] [0030] 본 발명의 목적은 전혈, 또는 혈장, 또는 혈액 세포, 또는 건조된 전혈의 샘플 속에서 혈액 기원 감염성 병원체를 검출하고 정량화하기에 적합한 방법을 제공하는 것이다.

[0039] [0031] 본 발명의 추가의 목적은 관련 기술과 관련된 적어도 하나의 단점을 완화시키는 것이다.

[0040] [0032] 본원에 기술된 구현예들의 목적은 관련 기술의 시스템의 상기 나타낸 결점들 중의 적어도 하나를 극복하거나 완화시키거나, 관련된 기술 시스템에 대해 유용한 대안을 적어도 제공하는 것이다.

[0041] [0033] 본원에 기술된 구현예의 제1 측면에서, 혈액 샘플 속에서 병원체를 검출하는 방법이 제공되며, 당해 방법은:

[0042] (i) 하나 이상의 스펙트럼 성분을 가지며, 각각의 성분은 파수 및 흡광도(absorbance) 값을 갖는, 혈액 샘플을 대표하는 적외선 샘플 스펙트럼을 생성시키는 단계,

[0043] (ii) 각각의 모델이 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 가지며, 여기서 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하는, 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계,

[0044] (iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

[0045] (iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일링(compling)하는 단계.

[0046] [0034] 바람직하게는, 상기 방법의 단계(ii)는 착수 단계(iii)에 대한 하나 이상의 스펙트럼 윈도우(spectral window)를 선택함을 추가로 포함한다.

[0047] [0035] 전형적으로, IR 스펙트럼은 환자 혈액 샘플과 접촉한 ATR 기질을 통해 사라지는 IR 빔을 전달함으로써 생성된다. 이는 ATR 위에서 샘플을 올려놓거나 건조시켜서 또는 유리 또는 플라스틱 슬라이드와 같은 슬라이드 위의 두꺼운 혈액 필름으로부터 수득될 수 있다. 다른 대안은 촛점면 배열을 사용하여 생성된 IR 스펙트럼, 즉, 슬라이드 위의 얇은 혈액 도말의 촛점면 분광 영상을 수득하는 것이다.

[0048] [0036] 개발도상국의 대부분의 실험실은 현재 통상의 현미경에 있어서 슬라이드 위에 두꺼운 혈액 필름을 사용한다. 따라서, 본 발명의 방법을 사용하여 현재의 실험실 방법을 변경하지 않고 슬라이드 위의 두꺼운 필름을 분석하는 것이 특히 유리하다. 더욱이, 본 발명의 방법을 사용하여 달성된 두꺼운 필름 혈액 샘플에서 병원체를

검출할 수 있다.

[0049] [0037] 본 발명은 또한 50㎕ 미만, 보다 바람직하게는 5 내지 25㎕ 사이의 단일 점적(drop)과 같은, 최소 용적의 혈액을 사용하는 선택사항을 제공한다. 대부분의 감염성 질환 진단 기술은 보다 큰 용적의 혈액을 필요로 한다.

[0050] [0038] 하나의 특수한 측면에서, 본 발명은 아레나비리다에(Arenaviridae)(라싸열, 후닌 및 마추포), 분야비리다에(Bunyaviridae)(크림-콩고 출혈열, 리프트 밸리열, 한탄 출혈열), 필로비리다에(Filoviridae)(에볼라 및 마르부르크병) 및 플라비비리다에(Flaviviridae)(황색 열, 뎅기(dengue), 옴스크 출혈열(Omsk haemorrhagic fever), 카야사나삼림병(Kyasanur forest disease), 웨스트나일 바이러스(West Nile virus)), 절지동물 또는 알파비리다에(Alphaviridae)의 벡터와 같은 벡터에 의해 전달되는 바이러스를 포함하는 수개의 바이러스 계열의 바이러스를 포함하나 이에 한정되지 않는 바이러스 출혈열 바이러스를 포함하는 다른 혈액 기원 바이러스 질환으로부터의 사람 면역 결핍성 바이러스(HIV), 또는 B형 간염 바이러스(HBV), 또는 C형 간염 바이러스(HCV) 감염의 진단에 사용하기에 적합하다. 사람의 다른 혈액 기원 감염성 질환은 말라리아(말라리아 및 다양한 종의 다양한 상 사이의 분화를 포함), 아프리카 수면병(African trypanosomiasis), 바베시아증(babesiosis), 샤가스병(Chagas disease), 리슈마니어증(leishmaniasis), 및 톡소플라스마증(toxoplasmosis)을 포함하는 기생충에 의해 전달될 수 있다. 혈액 기원 기생충은 바베시아 비. 다이버전스(Babesia B. divergens), 비. 비게미나(B. bigemina), 비. 에퀴(B. equi), 비. 미크로프티(B. microfti), 비. 둔카니(B. duncani), 레이슈마니아 톡소플라스마 곤디이(Leishmania Toxoplasma gondii), 플라스모디움 팔시파룸(Plasmodium falciparum), 플라스모디움 비박스(Plasmodium vivax), 플라스모디움 오발레 쿠르티시(Plasmodium ovale curtisi), 플라스모디움 오발레 왈리커리(Plasmodium ovale wallikeri), 플라스모디움 말라리아에(Plasmodium malariae), 플라스모디움 노울레시(Plasmodium knowlesi), 트리파노소마 브루세이(Trypanosoma brucei) 및 트리파노소마 크루지(Trypanosoma cruzi)을 포함한다.

[0051] **혈액 샘플**

[0052] [0039] 환자 혈액 샘플은 전혈, 혈장, 혈액 세포, 건조된 전혈 또는 이의 조합과 같은 어떠한 편리한 형태일 수 있다. 바람직하게는 혈액 샘플은 전혈이며 단순한 손가락 찌름에 의해 수집되어 IR 분광계로 직접, 또는 유리 또는 플라스틱 슬라이드 위에 전달될 수 있다.

[0053] [0040] 그러나, 전혈은 항상 특수한 질환의 진단에 최적화되어 있지 않다. 사용된 형태는 전혈을 처리하기 위한 장치의 편의성 및 이용가능성을 포함하는 광범위한 인자에 의존할 것이다. 특히, 특수한 질환과 관련하여 IR 스펙트럼에 있어서의 변화가 질병과 관련되지 않거나 관련된 다른 인자들에 기인할 수 있음을 주목하여야 한다. 이들 인자들은 흡광도 또는 목적한 양식을 차폐할 수 있으며 데이터베이스에서 스펙트럼 모델에 상응하는 샘플의 목록을 컴파일링하는 것을 어렵게 만든다.

[0054] [0041] 따라서, 물('무수' 샘플), 세포(혈청 샘플), 단백질 및 극성 화합물(유기 추출된 샘플)과 같은 관련되지 않은 성분을 제거하거나 백혈구 세포 또는 지질과 같은 목적한 화합물을 분리하기 위한 단순한 전혈 예비-처리 단계를 수행하는 것이 필요할 수 있다. 예비-처리 단계를 수행하는 것은 전혈 샘플의 직접적인 측정에 의해 기타의 경우에 검출될 수 없는 질병의 진단을 가능하도록 할 수 있다.

[0055] [0042] 바람직하게는, 혈액 샘플은 액체 형태이며 건조되지 않는 '습윤' 상태이다. 하나의 형태의 "습윤" 혈액 샘플은 물과 같이 천연적으로 존재하거나, 메탄올과 같이 고의로 첨가된 용매를 함유할 수 있다.

[0056] [0043] 습윤 샘플은 예를 들면 환자로부터 손가락 찌름에 의해 수집된 전혈을 포함한다. 현장에서 전혈 샘플은 분해하여 용매, 일반적으로 물을 가할 수 있다. 또한, 전혈을 분획화하여 혈장을 수집할 수 있다. 대표적으로, 분획화는 실험실에서 수행될 수 있으며, 여기서 적합한 장치는 당해 분야에서보다는 용이하게 이용가능하다. 예를 들면, 전혈 샘플은 클로로포름과 같은 용매로 추출하여 분석을 위해 지질 이층을 추출할 수 있다.

[0057] [0044] 샘플을 습윤시키는 것이 대안적으로 거의 바람직하지 않기 때문에, 환자 혈액 샘플은 '건조'시킬 수 있는데, 즉, 공기 속에서 건조시키거나, 열 램프 하에서 또는 다른 건조 공정에 의해 천연적으로 존재하거나 첨가된 용매를 제거할 수 있다.

[0058] **병원체를 확인하는 스펙트럼 성분**

[0059] [0045] 감염체와 같이, 혈액 속에 존재하는 병원체는 에너지를 흡수하여 중간-IR 범위에서 시그날을 생성하는 생물학적 잔사를 포함한다. 에너지는 혈액 속에 존재하는 바이러스와 같은 병원체에 의해 직접 흡수될 수 있다.

또한, 에너지는 병원체의 존재의 지표인 다른 생물학적 실체에 의해 흡수될 수 있다. 일부 병원체에 의해 유발된 대사적 변화는 글루코스 또는 우레아와 같은 종의 상승된 혈액 수준을 초래하므로, 병원체의 존재를 간접적으로 나타낸다.

[0060] [0046] 예를 들면, 병원체가 말라리아인 경우, 혈액 샘플은 말라리아 기생충의 재생 주기 동안 생성된 감염체와 관련된 모든 분자 및 화학 성분들인 말라리아의 분자 표현형과 관련된 IR 흡수 밴드를 나타낼 것이다. 다른 간접적인 흡수는 숙주 세포 및 감염체에 대한 이의 반응을 개질시킴을 포함하는 환자의 대사 상태를 개질시키는 병원체에 기인하여 일어날 수 있다. 중요하게는, 본 발명은 플라스모디움 속의 5개의 기생성 원생생물들을 가능성 있게 구별할 수 있다. 예를 들면, 플라스모디움 팔시파룸 비박스 및 플라스모디움 말라리아에를 사용한 시험은, 스펙트럼 차이가 이들 3개의 종 사이에 검출될 수 있고 본 발명의 방법이 이들을 구별할 수 있음을 입증하였다.

[0061] [0047] 각각의 바이러스 및/또는 감염체는, HIV의 경우 이들 입자가 뉴클레오캡시드 단백질(nucleocapsid protein), 레이트 조립 단백질(late assembly protein), 및 역전사효소(reverse transcriptase) 및 인테그라제(integrase)와 같은 비리온(virion)의 발달에 필수적인 효소에 강력하게 결합된 일본쇄 RNA를 함유한다. 혈액 세포내에서 세포 성분을 감염시킬 수 있는 감염체에 대해 세포내에 독특한 복제형이 존재할 것이다. 예를 들면, HIV는 헬퍼 T 세포(구체적으로 CD4+ T 세포), 대식세포, 및 수지 세포와 같은, 사람 면역계에서의 필수 세포(vital cell)를 감염시킨다.

[0062] [0048] 따라서, 각각의 감염체에 대한 분자 표현형에 상응하는 IR 흡수 밴드를 검출하기 위한 잠재성이 존재하며 바이러스 복제 중간체, "유리된" 바이러스 입자 및 또한 감염된 세포에 대한 변화를 포함한다. 다른 혈액 기원 감염체는 3개의 형태가 발견된 B형 간염 바이러스의 경우에서와 같이 혈액에서 발견될 수 있다. 가장 풍부한 것은 직경이 17 내지 25nm로 측정된, HBsAg를 함유하는 작은 구체의, 비감염성 입자이다. ml당 1013개 이상 입자의 농도가 일부 혈청에서 검출되었다. 다양한 길이의, 그러나 상기 작은 입자의 치수와 비교할만한 치수를 갖는 관형의, 필라멘트 형태가 또한 관찰된다. 이들은 또한 HBsAg 폴리펩타이드를 함유한다. 3번째 형태학적 형태는 42nm의 B 간염 비리온이다.

[0063] [0049] 다음의 표(표 1) 및 도 3은 생물학적 화합물 및 이들 각각의 지정의 대표적인 IR 밴드를 나타낸다. 혈액 속에서 감염성 질환의 존재는 이들 밴드를 통해 IR 스펙트럼과 직접 또는 간접적으로 관련될 수 있다.

표 1

[0064]

파수(cm^{-1})	지정	분석물	**도 3에 대한 참고**
930-1300	V_s(C-O)	당류	140
1000-1150	V_s(P-O)	인지질, DNA	140
1150-1300	V_{as}(P-O)	인지질, DNA	140
1200-1400	아미드 III	단백질	103, 150
1430-1480	δ(CH_3), δ(CH_2)	지질	130
1480-1600	아미드 II	단백질	102,150
1600-1720	아미드 I	단백질	101,150
1700-1760	V_s(C=O)	지질	120
2840-2860	V_s(CH_2)	지질	110
2860-2870	V_s(CH_3)	지질	110
2870-2950	V_{as}(CH_2)	지질	110
2950-2990	V_{as}(CH_3)	지질	110
3000-3020	v(CH)	지질	110
4000-4550	v(CH) 조합	지질	110
4550-5000	v(NH)v(OH) 조합	단백질, 당류	
5600-6050	1^{o} 오버톤(overtone) v(CH)	지질	
6700-7150	1^{o} 오버톤 v(NH)v(OH)	단백질, 당류	
8000-9100	2^{o} 오버톤 v(CH)	지질	
9100-10500	2^{o} 오버톤 v(NH) v(OH)	단백질, 당류	
11520-11760	3^{o} 오버톤 v(CH)	지질	

11765-12900	3° 오버톤 v(NH)	단백질, 당류	

[0065] [0050] 예를 들면, 도 19는 대조군 스펙트럼의 공제(subtraction) 후 HIV의 고 바이러스 로드(load)를 지닌 전혈 샘플의 IR 스펙트럼을 나타낸다. 이후에, 차이를 향상시키고 스펙트럼을 다음과 같이 나눌 수 있다:

[0066] (A) 대략 1010 내지 1050 cm^{-1} 및 대략 1140 내지 1190 cm^{-1}에서의 흡수 밴드는 바이러스의 경우에 향상된다. 이들은 RNA 및 DNA로 지정되어 있으므로 이들은 바이러스 자체에 잠재적으로 기여한다(직접적인 관련성).

[0067] (B) 대략 1380 내지 1410 cm^{-1}에서의 흡수 밴드는 또한 바이러스의 경우에 향상된다. 이들의 기원을 확립하기는 어렵지만 이는 전형적인 핵산 흡수 밴드가 아니며, 다른 대사물질에 대한 바이러스의 영향에 기인한다(간접적인 관련성).

[0068] (C) 대략 1060 내지 1150 cm^{-1}, 대략 1195 내지 1340 cm^{-1} 및 대략 1410 내지 1690cm^{-1}의 영역에서의 흡수 밴드는 흔히 상이한 샘플에 대한 상이한 양식을 나타낸다. 따라서, 이들은 바이러스의 존재와 관련되지 않는다. 이들은 질병 상태와 관련되지 않은 다른 생물학적 인자와 관련될 수 있다.

[0069] [0051] 따라서, HIV는 밴드(A) 및(B)에 따라 확인할 수 있다. 그러나, 질환과 관련되지 않은(C)의 스펙트럼 특징은 혈액 샘플에서 제공된 거대한 천연적 변화를 지배할 수 있다. 따라서, 단일 파수가 검출에 의존한 경우 충분한 민감성 및 특이성을 수득하기 어려울 수 있으며 기계 학습 알고리즘을 사용하여 스펙트럼에서 양식을 찾는 것이 바람직하다.

[0070] **스펙트럼 모델**

[0071] [0052] 상술한 양식은 전형적으로 분류 함수(즉, f = g(x)의 가능한 g(x))에 의해 수행되는 것으로 예측된 작동 범위의 측면에서 표현된 모델을 통해 밝혀져 있다. 알고리즘은 g(x)를 확립하기 위해 사용된 수학적 과정(일반적으로 반복과정)이다. 본 발명에서, 모델은 혈액 샘플의 스펙트럼(X)와 혈액 샘플의 일부 기여도(Y), 즉, 병원체를 확인하는 스펙트럼 성분 사이의 수학적 관계를 확립하는 알고리즘($Y_{질병의\ 존재} = f(X_{스펙트럼})$로 이루어진다.

[0072] [0053] 도 20은 질병이 있는, 및 질병이 없는 스펙트럼이 알고리즘에 도입되는 방법, 각각의 부류(질병의 존재에 대한 양성, 음성 또는 알려지지 않음)에 대한 스펙트럼의 특징적인 스펙트럼 성분을 학습함으로써 '측정 매트릭스(calibration matrix)'를 형성하는 방법을 나타내는 흐름도이다. 이로부터 새로운 혈액 샘플에 대한 스펙트럼(흡광도 값의 벡터)에 적용하여 스펙트럼이 양성, 음성 또는 미지(unknown)로 분류될 수 있는지를 측정하는 값을 생성할 수 있는 수학적 연산의 세트가 제공된다.

[0073] [0054] 모델은 하나의 특이적인 병원체(예를 들면, HIV 및 B형 간염 바이러스에 대한 별도의 모델) 또는 병원체의 조합에 대해 특이적일 수 있다. 조합 모델은 흔히 함께 확인되는 2개 이상의 병원체(예를 들면, HIV + B형 간염 바이러스)에 대해 특히 유용하다.

[0074] **분류 알고리즘**

[0075] [0055] 본 발명에 사용하기에 적합한 알고리즘은 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다:

[0076] - 선형 모델링(LDA, PLSDA, SIMCA);

[0077] - 신경망 분석(NNA);

[0078] - 랜덤 포레스트(Random Forest: RF);

[0079] - 지지된 벡터 머신(SVM).

[0080] [0056] 전형적으로, 각각의 데이터세트에 대한 모든 알고리즘의 수행능은 독립적으로 연구된다. 가장 우수한 모델링 시스템의 선택은 일반적으로 수득된 예측 결과를 기반으로 한다. 또한, 집적 모델(aggregation model)(즉, 각각의 샘플에 대하여 각각의 모델링 시스템은 분류를 위한 표(vote)를 제공하며 최종적인 예측은 이들 표들의 모델을 계산함으로써 수득한다)을 사용하는 것이 가능하다.

[0081] [0057] 특수한 병원체의 진단을 위해 확립된 "가장 우수한 모델"은 존재하지 않음을 주목한다. 병원체, 샘플의 수 및 이들 샘플의 다양성에 있어서 고유한 상이한 인자에 따라서, 일부 알고리즘은 다른 것들보다 더 큰 분류 수행능을 나타낸다. 따라서, 각각의 적용을 위해 상이한 모델링 가능성의 우선된 집중된 연구가 수행되어야 한

다. 최적으로, 모델링에 관여된 모든 변수가 확립되어야 한다.

[0082] [0058] 스펙트럼의 일부 전처리를 수행하여 모델 수행능을 개선시키기 위한 모델을을 위해 이들을 제조할 수 있다.

[0083] [0059] 후술하는 바와 같이, 파수 세트의 선택은 보다 우수한 분류 수행을 가능하도록 할 수 있다.

[0084] [0060] 유용한 모델을 생성하도록 최적화될 수 있는 다른 변수는 RF에 있어서 트리(tree)의 수 및 PLSDA에 있어서 잠재 변수를 포함한다.

[0085] [0061] 본원에 기술된 구현예의 제2 측면에서 혈액 샘플 속의 병원체를 검출하기 위한 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스에서 사용하기 위한 스펙트럼 모델을 생성하는 방법이 제공되며, 당해 방법은:

[0086] (i) 병원체를 수반하는 혈액 샘플과 병원체가 없는 혈액 샘플을 대표하는 측정 적외선 스펙트럼을 수집하는 단계(여기서, 측정 스펙트럼은 각각 파수 및 흡광도 값을 갖는 하나 이상의 스펙트럼 성분을 갖는다); 및

[0087] (ii) 상기 혈액 샘플의 스펙트럼(X)과 상기 병원체를 확인하는 혈액 샘플(Y)의 스펙트럼 성분 사이의 관계를 확립하는 알고리즘 $Y_{\text{질환의 존재}} = f(X_{\text{스펙트럼}})$을 생성하는 단계.

[0088] **모델의 생성:**

[0089] [0062] 적합한 모델의 생성에 전형적으로 사용된 단계는 다음을 포함하며 도 23에 나타나 있다:

[0090] [0063] **샘플 세트의 수득:** 혈액 샘플 및 이들의 참고 데이터(즉, 이들이 제공된 병원체에 대해 양성인지 또는 음성인지)의 세트를 수집한다. 혈액 샘플의 IR 스펙트럼을 기록하여 매트릭스 X(n=샘플 x의 수, v=파수의 수) 및 참고 데이터의 벡터 Y(nx1)를 생성하는데 사용한다. 혈액 샘플을 3개의 상이한 소세트로 분류한다: 측정, 검증(validation) 및 시험 세트.

[0091] [0064] **스펙트럼의 전처리:** 수학적 연산을 예외적인 외부 변수원을 제거하고 목적한 밴드와 연결된 스펙트럼의 차이를 향상시키기 위한 목적으로 모델링 전에 상술한 스펙트럼에서 수행할 수 있다. 이들 수학적 연산은 예를 들면:

[0092] - 기선 이동(baseline shift) 및 경로 길이 변화의 교정,

[0093] - 실험 과정과 관련된 스펙트럼 인공물(대기 기여도, 산란 또는 ATR 교정)의 교정, 및

[0094] - 도함수(derivative) 또는 다중 공선성(mean centering)의 사용에 의한 스펙트럼 중에서, 특히 밴드의 최대 위치에서 밴드의 차이의 향상.

[0095] [0065] **가변성 선택 과정**: 스펙트럼의 유익하지 않은 부분을 제거하여 분류의 정밀성을 개선시킬 수 있다. 특히, 특수한 질환과 관련된 제한된 수의 파수(선택된 스펙트럼 윈도우)를 사용하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 일부 병원체의 경우 스펙트럼의 유익한 부분은 3100 내지 2700 cm^{-1}에서 지질을 특성화하는 C-H(스트레치(stretch))일 수 있다. 단백질, 핵산 및 탄수화물의 경우 스펙트럼의 유익한 부분은 1800 내지 900 cm^{-1}일 수 있다. 아미드 1, 2 또는 3 스트레칭 방식(stretching mode)을 나타내는 잔사에 대한 스펙트럼의 유익한 윈도우는 보다 더 1800 내지 1200 cm^{-1}인 경향이 있다.

[0096] [0066] 다수의 스펙트럼 윈도우를 사용하여 이들을 연속적으로 또는 동시에 처리(process)하는 것이 가능하다.

[0097] [0067] 2개 이상의 선택된 스펙트럼 윈도우의 사용은 전형적으로 모델을 사용하여 수득된 결과의 정밀성을 개선시킨다. 예를 들면, 도 24 내지 도 27은 말라리아, 및 대조군 샘플에 대해 양성인 샘플을 사용하여, 하나의 스펙트럼 윈도우(도 24 및 25) 및 2개의 스펙트럼 윈도우(도 26 및 도 27)를 사용한 적혈구 세포의 샘플(메탄올로 고정됨)에서 수행된(후술한 바와 같음) PLS-DA를 나타낸다.

[0098] [0068] 구체적으로, 도 24 및 도 25는 말라리아와 관련된 지질에 상응하는 스펙트럼 윈도우의 용도에 관한 것이며 혼동 표(Confusion Table: CV)(표 2)에 상응한다:

표 2

[0099]

	대조군	실제 말라리아
대조군으로서 예측됨	10	11

말라리아로 예측됨	3	84

[0100] [0069] 도 26 및 도 27은 말라리아에 대한 C-O 및 P-O 영역에 상응하는 스펙트럼 윈도우 외에 말라리아와 관련된 지질에 상응하는 스펙트럼 윈도우의 용도에 관한 것이며 혼동 표(CV)(표 3)에 상응한다:

표 3

[0101]

	대조군	실제 말라리아
대조군으로서 예측됨	13	1
말라리아로 예측됨	0	92

[0102] [0070] 명확하게, 하나의 윈도우의 사용은 일부 거짓된 양성 및 일부 거짓된 음성을 초래하였지만, 2개의 스펙트럼 윈도우를 사용하는 경우 모델의 수행능은 개선된다.

[0103] [0071] **모델링:** 전술한 전-처리 및 다양한 선택 단계 후에, 모델의 설립을 위해 측정 데이터(calibration data)만을 사용한다. 알고리즘을 적용하고 함수 $y= f_{선택됨(x)}$을 확립한다. 당해 절차는 또한 모델의 일부의 내부 매개변수를 설정하는데 기여할 수 있다.

[0104] [0072] **매개변수의 최적화:** 당해 단계에서 함수를 샘플의 검증 세트(검증 세트)의 스펙트럼에 적용한다. 함수에 의해 복귀된 Y_{val}을 참고 데이터의 것과 비교함으로써 어떠한 분류 오차도 확인한다. 이 시점에서 매개변수(전-처리, 다양한 선택, 모델 유형, 알고리즘, 및 다른 변수)를 변화시키고 상응하는 관련된 오차를 지닌, 새로운 f(x)를 수득할 수 있다. 본 출원의 요건을 충족하는 분류 수행능을 지닌 함수들(및 관련 매개변수들) 중 하나, $y= f_{선택됨(x)}$를 선택할 수 있다. 따라서, 검증 세트는 모의 세트(training set)를 사용하여 생성시킨, 모델링에 관여된 매개변수 모두를 단지 조율하는데 사용된다.

[0105] [0073] 당해 분야의 숙련가에게는 상기 처리가 반복적일 수 있지만 매개변수의 선택은 또한 다양한 다른 시도들, 또는 다음을 포함하는 시도들의 조합에 의해 수행될 수 있음을 매우 명백할 것이다:

[0106] - 분석 문제의 특성의 인식의 사용(예를 들면, 모델이 선형이 아닌 경우, PLSDA가 사용되지 않거나 CO_2 영역이 분류에 사용되지 않는다),

[0107] - 반복적인 절차(예를 들면, 가변성 선택에 있어서 유전 알고리즘)

[0108] [0074] **최적화**: 최적화 단계는: 예를 들면, 변수의 모든 가능한 값을 사용한 분류 오차의 계산, PLSDA에서 잠재적인 변수의 선택을 포함한다. 당해 절차는 또한 샘플의 수가 제한되고 검증 세트가 이용불가능한 경우 모의 세트의 CV를 사용하여 수행할 수 있다.

[0109] [0075] **모델의 시험**: 모델링 단계에서 선택된 함수의 실제 분류능을 이후에 샘플의 독립된 시험을 사용하여 평가한다(즉, 시험 샘플의 $X_{시험}$ 스펙트럼을 함수에서 입력으로 도입하며 출력 $\hat{Y}_{시험}$을 참고 데이터 $Y_{시험}$과 비교한다. 오차 값은 예측된 분류 오차이다. 추정가능한 경우, 모델은 공지되지 않은 질병 상태의 새로운 환자 혈액에서 사용되도록 준비된다.

[0110] [0076] **새로운 샘플의 진단**: 적절한 $y=f_{선택됨(x)}$이 공지된 오차 한계를 사용하여 확립되면, 이를 환자로부터의 새로운 샘플의 스펙트럼에 적용하여 반응(양성 및 음성)을 측정할 수 있다.

[0111] [0077] 사용된 상기 방법은 또한 진행중인 정밀성을 보증하기 위한 모니터링을 요구할 수 있음이 잘 인식될 것이다. 이는 모델에서 미래의 변화의 예측일 수 있는 대조군 샘플을 사용하여 수행할 수 있다.

[0112] [0078] 도 21은 모델 생성의 바람직한 구현예, 및 공지되지 않은 질환 상태를 가진 혈액 샘플에 대한 적용을 나타낸다. 상기 모델은 선형 또는 비-선형일 수 있다. 그러나 당해 바람직한 구현예에서, 선형 모델을 부분 최소 제곱 알고리즘(partial least squares algorithm: PLS DA)에 의한 판별식을 기반으로 생성하여 각각의 파수의 중량 벡터(i), '회귀 벡터'를 제공한다:

[0113] $W =(w_1, w_2, w_3.....w_i)$

[0114] [0079] 앞서 기술한 바와 같이, 특수한 질환과 관련된 제한된 수의 파수(선택된 밴드 너비)를 사용하는 것이 바

람직하다. 목적한 영역의 간단한 선택으로부터 유전 알고리즘과 같은 복잡한 반복된 선택까지, 이들 파수를 선택하는 다양한 방법이 존재한다.

[0115] [0080] 스펙트럼을 흡광도 값의 벡터로서 고려한다:

[0116] $X = (x_1, x_2, x_3 \ldots\ldots x_i)$

[0117] [0081] 최종 결과는 회귀 벡터 W(i)에 각각의 흡광도 X(i)에서 스펙트럼의 흡광도 값을 곱하여 계산한다:

[0118] $Y = (w_1x_1 + w_2x_2 + w_3x_3 \ldots\ldots w_ix_i)$

[0119] [0082] +1에 근접한 Y 값은 하나의 부류(예를 들면, 병원체에 대해 양성)으로 지정하고 0에 근접한 Y 값은 다른 부류(예를 들면, 병원체에 대해 음성)으로 지정한다. 하나의 부류 또는 다른 것에 대한 지정과 관련된 컷-오프 값(cut-off value)은 임의적이며 최적화될 수 있거나, 변경될 수 있는 변수들 중 하나임이 인식될 것이다. 이는 예를 들면, 거짓된 음성보다는 보다 더 거짓된 양성을 가지는 것이 바람직한 경우에 적절할 수 있다.

[0120] [0083] 따라서, 본 발명의 방법은 질환에 대해 양성, 질환에 대해 음성, 또는 미지의 질환 상태로 혈액 샘플을 할당하거나 플래깅(flagging)하는 추가의 단계를 포함할 수 있다. 따라서, 추가의 단계는 다음을 포함할 수 있다:

[0121] (iv) 컴파일된 각각의 개별 스펙트럼 모델에서 샘플 성분들의 수를 측정하여 상기 컴파일된 스펙트럼 모델을 등급화하는 단계.

[0122] [0084] 또한, 추가의 단계는:

[0123] (iv) 컴파일된 각각의 개별 스펙트럼 모델에서 샘플 성분들의 수를 측정하고 상기 컴파일된 스펙트럼 모델을 소정의 분류 기준을 기반으로 하여 분류하는 단계를 포함할 수 있다.

[0124] [0085] 도 22는 B형 간염 바이러스(HepB) 및 C형 간염 바이러스(HepC)를 포함하는 간염 바이러스(Hep)에 대해 양성 또는 음성으로서 샘플을 분류하기 위해 모델을 생성하는 본 발명의 방법을 묘사하는 흐름도를 포함한다. 본 발명에 따른 모델을 사용하여 특이적인 간염 바이러스(A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, G형 간염) 또는 간염 바이러스의 조합을 확인할 수 있다.

[0125] [0086] 구체적으로, 도 22는 HepB와 함께 로딩된 10개의 혈액 샘플(혈청 샘플), HepC와 함께 로딩된 10개의 혈청 샘플 및 HIV와 함께 로딩된 11개의 혈청 샘플을 반영한다. 전처리 단계는 첫번째 도함수(first derivative) 및 다중 공선성(mean centering)의 계산을 포함한다. 가변 선택 단계는 적절한 핑거프린트 영역(fingerprint area)(900 - 1750 cm^{-1})을 선택하는 것으로 이루어진다.

[0126] [0087] 이후에, PLS 모델을 회귀 벡터의 중량을 수득하기 위해 PLS에서 사용된 반복알고리즘인, NINPALS 알고리즘과 결합시킨다. 사용된 다른 매개변수는 LV(4) Y=f선택됨(x): 회귀 벡터의 수이다.

[0127] [0088] 검증 단계는 교차 검증을 사용하여 제한된 세트의 샘플(이용가능한 검증 세트라기 보다는)을 사용하여 수행한다. 도 22에 나타낸 바와 같이, 2개의 샘플(샘플 번호 22 및 33)을 사용하여 모델을 시험한다.(NB: 이는 단지 예증을 위한 것이다. 전형적으로, 훨씬 더 많은 샘플을 사용하여 모델을 시험할 수 있다). 모델이 100%의 샘플을 분류하는데 적합하면, 이를 사용하여 환자로부터 미지의 혈액 샘플의 상태를 분류하는 것이 용이하다.

[0128] [0089] 도 20은 제1 단계에서 생성된 측정 스펙트럼이 병원체가 로딩되거나 병원체가 없는 것으로 공지된 혈액 샘플을 사용하여 수집되는 방법을 나타낸다. 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스튼 회귀 벡터로 정의한다. 새로운 혈액 샘플을 나타내는 IR 스펙트럼(미지의 병원체의 존재)을 생성하여 상기 스펙트럼을 스펙트럼의 참고 데이터베이스에 적용하여 혈액 샘플의 파수 및 흡광도의 하나 이상의 스펙트럼 성분을 확인한다. 스펙트럼 성분은 이 경우에 병원체를 간염 바이러스(HBV 또는 HCV) 또는 HIV로서 확인한다. 샘플 성분들의 목록은 데이터베이스의 개별 스펙트럼 모델에 상응하여 확인된다. 최종적으로, 새로운 혈액 샘플은 간염 바이러스(HBV 또는 HCV) 또는 HIV와 관련하여 양성 또는 음성으로 분류된다.

[0129] **시스템 및 장치**

[0130] [0090] 구체적인 병원체에 대해 양성 또는 음성으로 알려진 혈액 샘플로부터의 스펙트럼 모델의 생성, 측정 스펙트럼의 생성은 실험실에서 수행할 수 있다. 이들이 생성되면 알고리즘 및 모델 함수를 소프트웨어 애플리케이션(앱(app))에 도입하여 사용자에게 무선으로 전달할 수 있다.

[0131] [0091] 따라서, 다른 구현예에서, 본 발명은:

[0132] (i) 혈액 샘플을 대표하는 IR 스펙트럼을 기록하는 단계;

[0133] (ii) 상기 스펙트럼을 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스와 비교하여 혈액 샘플의 파수 및 흡광도의 하나 이상의 스펙트럼 성분을 확인하는 단계(여기서, 스펙트럼 성분은 병원체를 확인한다); 및

[0134] (iii) 데이터베이스의 개별 스펙트럼 모델에 상응하는 확인된 샘플 성분의 목록을 컴파일링하는 단계를 포함하여, 혈액 샘플 속에서 병원체를 검출하는 방법을 수행하기 위한 적용을 비-일시적인 형태(non-transient form)로 저장하기 위한 컴퓨터 판독가능한 저장 매체를 제공하며, 여기서, 단계(i) 내지(iii)은 자동화되어 있다.

[0135] [0092] 상기 적용이 컴퓨터 판독가능한 저장 매체에 저장되는 것 외에, 이는 클라우드(cloud) 또는 다른 컴퓨팅 등가물에 저장될 수 있다. 따라서, 혈액 샘플 속에서 병원체의 검출을 가능하도록 채택된 적용이 제공되며, 당해 적용은 다음의 단계를 포함하는 방법이 가능하도록 채택된 소정의 지시 시트를 포함한다:

[0136] (i) 각각이 파수 및 흡광도 값을 갖는 하나 이상의 스펙트럼 성분들을 갖는, 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계,

[0137] (ii) 각각의 모델이 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 가지며, 여기서 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하는, 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계,

[0138] (iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

[0139] (iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일링하는 단계.

[0140] [0093] 따라서, 본 발명의 방법을 운용하기 위하여, 환자 혈액 샘플의 IR 스펙트럼(예를 들면, 표준 FT-IR 분광계 및 다이아몬드 결정 ATR 악세서리)을 생성하기 위한 수단 및 진단을 유도하기 위한 모델 함수를 갖는 것만이 필요하다. 이는, 본 발명의 방법이 심지어 원격 위치에서도, 현장용으로 적합한 비교적 작은 크기로 조절될 수 있음을 의미한다.

[0141] [0094] 따라서, 추가의 구현예에서, 본 발명은 IR 스펙트럼의 획득을 위한 분광계 및 컴퓨터를 포함하는, 혈액 샘플 속에서 병원체를 검출하기 위한 시스템을 제공하며, 여기서

[0142] (i) 상기 분광계는 혈액 샘플을 대표하는 IR 스펙트럼을 생성하고,

[0143] (ii) 상기 컴퓨터는 상기 스펙트럼을 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스에 적용하여 혈액 샘플의 파수 및 흡광도의 하나 이상의 스펙트럼 성분을 확인하며, 여기서 상기 스펙트럼 성분은 병원체를 확인하고,

[0144] (iii) 상기 컴퓨터는 데이터베이스의 개별 스펙트럼 모델에 상응하는 확인된 샘플 성분들의 목록을 컴파일한다.

[0145] [0095] 다른 측면 및 바람직한 형태는 본 발명의 설명의 일부를 형성하는 본 명세서에 개시되고/되거나 첨부된 청구범위에 정의되어 있다. 필수적으로, 본 발명의 구현예는, 혈액 샘플의 IR 스펙트럼내 흡광도의 양식이 기계 학습 알고리즘 등을 사용하여 고찰될 수 있으며 질환 상태의 존재 또는 부재를 확인하는데 사용될 수 있다는 인식으로부터 기인한다.

[0146] [0096] 본 발명에 의해 제공된 장점은 다음을 포함한다:

[0147] · 신속한 처리를 용이하게 하는 감염의 신속한 검출;

[0148] · 생체내(*in vivo*)에 존재하는 감염체의 신속한 확인;

[0149] · 간단하고, 저렴한 진단 방법;

[0150] · 기존 장비를 사용할 수 있는 방법;

[0151] · 두꺼운 필름 슬라이드 샘플의 사용과 같은 기존의 혈액 샘플 수집 기술로 사용할 수 있는 점;

[0152] · HIV, A형 간염 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, D형 간염 바이러스 및 E형 간염 바이러스, G형 간염 바이러스 또는 아레나비리다에(라싸열, 후닌 및 마추포), 분야비리다에(크림-콩고 출혈열, 리프트 밸리열, 한탄 출혈열), 필로비리다에(에볼라 및 마르부르크병) 및 플라비비리다에(황색 열, 뎅기, 옴스크 출혈열, 카야사나삼림병, 웨스트나일 바이러스), 절지동물 또는 알파비리다에의 벡터와 같은 벡터에 의해 전달된 바이러스를 포함하는 수개의 바이러스 계열의 바이러스를 포함하나 이에 한정되지 않는 바이러스 출혈열 바이러스를

포함하는 다른 혈액 기원 바이러스 질환을 포함하는 광범위한 감염체의 검출을 위한 사용가능성. 혈액 기원 기생체(Parasitic blood borne agent)는 바베시아 비 다이버전스, 비. 비게미나, 비. 에퀴, 비. 미크로프티, 비. 둔카니, 레이슈마니아 톡소플라스마 곤디이, 플라스모디움 팔시파룸, 플라스모디움 비박스, 플라스모디움 오발레 쿠르티시, 플라스모디움 오발레 왈리커리, 플라스모디움 말라리아에, 플라스모디움 노울레시, 트리파노소마 브루세이 및 트리파노소마 크루지를 포함한다.

[0153] · 혈액 샘플 속에 존재하는 유사하거나 밀접하게 관련된 제제를 구별할 수 있는 점;

[0154] · 혈액의 최소 용적(소적)을 이용할 수 있음.

[0155] [0097] 본 발명의 구현예의 추가의 적용 범위는 이후 제공된 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 상세한 설명 및 구체적인 실시예는, 본 발명의 바람직한 구현예를 나타내지만, 본 개시내용의 취지 및 영역내에서 다양한 변화 및 변형이 당해 상세한 설명으로부터 당해 분야의 숙련가에게 명백해질 것이므로, 단지 예증의 방식으로 제공됨을 이해하여야 한다.

[0156] [0098] 본 출원의 바람직한 및 다른 구현예의 추가의 개시내용, 목적, 장점 및 측면은 단지 예증의 방식으로 제공되어서 본원의 개시내용을 제한하지 않는, 첨부되는 도면과 함께 취해진 구현예의 다음 설명을 참고하여 당해 분야의 숙련가에 의해 보다 잘 이해될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0157] [0099] 도 1은 샘플; 전혈(1), 분해된 전혈(3), 혈장(5), RBC(7), 메탄올 속의 RBC(9), 및 응고된 혈액의 슬러리(11)의 상이한 세트로부터 수득된 스펙트럼을 나타낸다.

도 2는 RBC(20), 전혈(21) 및 혈장(22) 혈액 지질 추출물의 유기 추출물에 대한 ATR-FTIR 스펙트럼이다.

도 3은 생물학적 화합물과 관련된 대표적인 IR 밴드 및 화합물 - νCH_3, νCH_2, νCH,(23); νCO(24); ν(P-O), ν(C=O)(25); δCH_2 및 δCH_3(26); 아미노산(27) 및 아미드 I, 아미드 II 및 아미드 III(28)에서 다양한 잔사에 대한 이들의 지정을 나타낸다.

도 4는 B형 간염 바이러스(30), C형 간염 바이러스(31) 및 HIV(32)의 상이한 로드(load)를 갖는 혈청의 ATR-FTIR 스펙트럼이고, 도 4a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 4b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타내며, 도 4c는 핵산과 관련된 1250 내지 950 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타낸다. 가시적인 관찰은 970 내지 1160 cm^{-1} 주변의 HIV에 의해 감염된 샘플의 스펙트럼에 있어서의 일부 밴드를 나타낸다. 이들 밴드(흑색 화살표)는 간염이 감염된 환자로부터 수득된 스펙트럼에서는 나타나지 않으며, RNA 및 DNA의 존재와 관련될 수 있다.

도 5는 대조군 샘플(35) 및 HIV(36) 및 C형 간염 바이러스(37)의 상이한 로드를 갖는 샘플을 포함하는 전혈의 ATR-FTIR 스펙트럼이다. 도 5a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 5b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타내며 도 5c는 핵산과 관련된 1250 내지 950 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타낸다. 이 경우에, 1140 내지 1110 cm^{-1} 주변에서 관찰된 HIV 스펙트럼에서의 밴드(band)가 훨씬 더 명백하다.

도 6은 대조군 샘플(40), 전혈(41) 및 혈청(42)을 포함하는 HIV 로딩을 갖는 샘플의 ATR-FTIR 스펙트럼이다. 도 6a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 6b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타내고, 도 6c는 핵산과 관련된 1250 내지 950 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타낸다. 또한, 핵산에 구체적으로 지정된 밴드는 WB의 경우에 훨씬 더 강력한 것으로 나타난다. IT는 WB에서 림프구의 존재에 의해 유발될 수 있다. 이들 밴드는 연구하에서 대조군에서 발견되지 않는다.

도 7은 대조군 및 B형 간염 바이러스와 함께 로딩된 혈청 샘플의 ATR-FTIR 스펙트럼이다. 도 7a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 7b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타내고 도 7c는 핵산과 관련된 1250 내지 950 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타낸다. 나안은 대조군의 스펙트럼(45)과 B형 간염 바이러스의 병리학적 샘플(46)의 차이를 발견할 수 없다.

도 8은 C형 간염 바이러스와 함께 로딩된 대조군, 전혈 및 혈청 샘플의 ATR-FTIR 스펙트럼이다. 도 8a는 3000

내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 8b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타내고, 도 8c는 핵산과 관련된 1250 내지 950 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타낸다. 또한, 나안은 대조군의 스펙트럼(50)과 전혈(51) 및 혈청(52)에서 C형 간염 바이러스의 병리학적 샘플의 차이를 발견할 수 없다.

도 9a, 9b 및 9c는 대조군(◇)에 대한 WB에서 HIV(□), WB에서 C형 간염 바이러스(▲), 혈청에서 B형 간염 바이러스(▼), 혈청에서 C형 간염 바이러스(*) 및 혈청에서 HIV(○)의 샘플/점수(scores)를 나타내는 다변량 분석의 결과를 나타내는 플롯이다. 다변량 분석을 사용하여 차이를 명확하게 하거나 숨겨진 양식을 찾는다. 선택된 방법은 기본 성분 분석(PCA), 변량의 방향으로 배향된 새로운 좌표에서 샘플을 투영하는 비감독 방법(즉, 이는 부류를 고려하지 않고, 스펙트럼만을 사용한다)이다. 데이터의 전체 세트에 걸쳐 수행된 PCA의 점수에서, 2개의 제1 점수 공간은 혈청(56) 및 전혈(57)중에서 및 특히, HIV(58) 및 간염(60) 바이러스 샘플 중에서의 분리를 나타낸다.

도 10은 B형 간염◇), C형 간염(□) 및 HIV(▲)에 대한 2개의 상이한 방식(도 10a 및 도 10b)에서 혈청 스펙트럼의 다변량 분석이다. 혈청 데이터의 경우에, HIV-HIV 및 간염은 PC1(62) 대 PC2 공간(63)에서 명확하게 분리된다.

도 11은 2개의 상이한 양식의 혈청 스펙트럼(간염만)(도 11a 및 도 11b)의 다변량 분석이다. 스펙트럼의 가시적인 관측이 점수 플롯에서 B형 간염(◇)과 C형 간염(□) 사이의 비교에서 차이를 나타내지 않았지만, 각각의 질병에 대해 상이한 군집이 존재한다.

도 12는 혈청 스펙트럼(B형 간염만)(◇)의 다변량 분석이다. 표지는 바이러스 부하의 로그를 나타낸다. 최대 로드를 갖는 샘플은 다른 것들로부터 명확하게 분리된다.

도 13은 2개의 상이한 양식(도 13a 및 도 13b)에서 전혈 스펙트럼의 다변량 분석이다. 전혈의 경우에, 점수 PC2(70) 및 PC3(71)는 HIV(□), C형 간염(▲) 및 대조군(◇) 중에서 명확하게 분리된다.

도 14는 무수 WB 샘플을 사용하여 감염된 WB(73, 74) 및 대조군(75)으로부터의 스펙트럼의 비교를 허용하는 ATR-FTIR 플롯이다. 도 14a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 14b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타내고 도 14c는 핵산과 관련된 1250 내지 950 cm^{-1}의 영역의 추가의 확장을 나타낸다.

도 15는 습윤 용해된 혈액 샘플을 사용하여 감염된 WB(77) 및 대조군(78)으로부터의 스펙트럼의 비교를 허용하는 ATR-FTIR 플롯이다. 도 15a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 15b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타낸다.

도 16은 무수 용해된 혈액 샘플을 사용하여 감염된 WB(80) 및 대조군(81)으로부터의 스펙트럼의 비교를 허용하는 ATR-FTIR 플롯이다. 도 16a는 3000 내지 1000 cm^{-1}의 전체 스펙트럼을 나타내고, 도 16b는 1750 내지 900 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타낸다.

도 17은 말라리아의 상이한 로딩(대조군(90); 0.0077%(91); 0.031%(92); 0.25%(93); 0.49%(94); 1.96%(95)으로 스파이크된(spiked) WB의 메탄올 추출물의 ATR-FTIR 플롯을 포함한다. 도 17은 1700 내지 1728 cm^{-1}의 영역의 확장을 나타낸다. 카보닐 밴드의 이동이 명확하게 관찰될 수 있으며, 이는 스파이크된 수준을 반영한다.

도 18은 WB 샘플에서 예측된 수준 대 실제 수준의 기생충의 부분 최소 제곱 회귀 플롯이다. 회귀 분석은 높은 기생충 로딩과 낮은 기생충 로딩 사이의 구별을 가능하도록 한다. 상기 방법은 선형이며, 수개의 자릿수를 포함함에 주목한다. 순열 검정은 상기 회귀가 95% 신뢰 수준에서 유의적임을 나타내었다.

도 19는 대조군 스펙트럼의 공제 후 HIV의 고 바이러스 로드를 갖는 전혈 샘플의 ATR-FTIR 스펙트럼이다.

도 20은 본 발명의 방법의 하나의 구현예에 따른 단계들을 나타내는 흐름도이다.

도 21은 바람직한 데이터 조작의 표시를 포함하는, 도 20의 단계들을 보다 상세히 나타내는 흐름도이다.

도 22는 간염 바이러스(Hep) 또는 HIV에 대해 양성 또는 음성으로서 혈액 샘플을 분류하기 위한 모델을 생성하는데 사용하는 경우 본 발명의 방법을 나타내는 흐름도이다.

도 23은 본 발명에 따른 혈액 샘플을 분류하기에 적합한 방식의 생성을 묘사하는 추가의 흐름도이다.

도 24는 파단선으로 표시된 디스크림(Discrim) Y1을 사용하여 말라리아(□) 및 대조군(◇) 샘플로 감염된 메탄올 고정된 RBC 혈액 샘플에 대한 선형 지수에 대해 예측된 Y CV의 플롯이다.

도 25는 3000-2820 cm^{-1}로부터의 스펙트럼 윈도우에 대한 IR 흡수 플롯이다.

도 26은 말라리아(□)로 감염된 메탄올 고정 RBC 혈액 샘플 및 대조군(◇) 샘플에 대한 선형 지수에 대해 예측된 Y CV의 플롯이다.

도 27은 3000-2820 cm^{-1} 및 1400-900 cm^{-1}로부터의 스펙트럼 윈도우에 대한 IR 흡수 플롯이다.

도 28은 대조군(100), 및 말라리아 파라세이테미아(링 및 영양세포-RP(101), RNP(102) 및 TP(103))로 로딩된 혈액 샘플에 대한 4000-0 cm^{-1}로부터의 스펙트럼 윈도우에 대한 IR 흡수 플롯이다.

도 29(a) 및 29(b)는 도 28에 묘사된 결과의 다변량 분석의 결과를 나타내는 2개의 상이한 양식에서의 플롯이며, 3116.19 내지 2768.71 및 1828.46 내지 852.91 cm^{-1}의 범위의 샘플에 대한 다수의 SPC 파일의 샘플/점수를 나타낸다. 파단 타원형 선을 지닌 (대조군(◇), RP(□), RNP(▲), TP(▼)는 또한 파단선으로 표시된, x 및 y 축을 따라 95% 신뢰도 수준을 나타낸다. PC1(70.17%)(110) 및 PC2(15.20%)(111)가 다수의 SPC 파일에 대한 변량(variables)/로딩(loading)을 나타내는 도 29b에 포함된다.

도 30은 도 46에서 나타낸 샘플에서 기생충혈증의 예측된 수준 대 실제 수준의 부분 최소 제곱 회귀법 플롯이다. (대조군(◇), RP(□), RNP(▲), TP(▼)).

도 31은 2500 내지 4000 cm^{-1} 영역에서 평균 스펙트럼을 기반으로 한 염색된 세포의 가시 영상(도 31a) 및 처리되지 않은 세포의 IR 영상을 나타낸다. 도 31c는 상응하는 IR 영상(도 31d)을 지닌 2개의 세포(도 31a에서 원으로 표시한, A 및 B로 표시됨)의 가시적인 확대도이다.

도 32는 플라스모디움 감염된 부위(◇), 제1의 감염되지 않은 부위(▲) 및 제2의 감염되지 않은 부위□)에 대해 도 31에 상응하는 PCA를 나타낸다.

도 33은 변량/로딩 플롯이다.

도 34는 감독한 모델 PLSDA(도함수 없음)가 수행되어 LV1 성분(파단선) 및 Y1(파단선)에 대한 Reg 벡터를 표시함을 나타낸다.

도 35은 간염(B형 간염(120); C형 간염(125))의 상이한 유형을 지닌 혈장 샘플에 대한 IR 스펙트럼이다.

도 36은 샘플(B형 간염(◇); C형 간염(□))에서 예측된 수준 대 실제 수준의 간염의 부분 최소 제곱법 회귀 플롯이다.

도 37은 글루코즈 및 우레아의 농도 범위로 로딩되고 유리 섬유 상에서 건조(100 mg/dl(130); 297 mg/dl(132); 490 mg/dl(134); 679 mg/dl(136); 865 mg/dl(138); 원래의 글루코즈](140))된 혈액 샘플에 대한 FTIR 스펙트럼이다.

도 38은 도 33에 나타낸 바와 같은 글루코즈에 대한 결과의 부분 최소 제곱법 플롯이다. 파단되지 않은 선은 가장 우수한 피트(fit)를 나타내고 파단선은 예측된 상관관계와 스파이크된 상관관계 사이의 1:1 상관관계를 나타낸다.

도 39는 글루코즈에 대한 표준 IR 스펙트럼이다.

도 40은 도 33에 나타낸 바와 같은 우레아에 대한 결과의 부분 최소 제곱법 플롯이다. 파단되지 않은 선은 가장 우수한 피트를 나타내고 파단선은 예측된 상관관계와 스파이크된 상관관계 사이의 1:1 상관관계를 나타낸다.

도 41은 파수에 대한 로딩 값의 표준 IR 스펙트럼이다.

도 42는 사용자에게 디스플레이될 수 있는 스펙트럼 품질 대조군에 대한 대표적인 그래프적 사용자 인터페이스의 예이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0158] [0100] 본 발명은 ATR-IR 분석에 적합한 샘플을 수득하기에 적합한 다음의 프로토콜의 예를 참조하여 추가로 설

명할 것이다.

[0159] **1. 결정 세정을 위한 일반적인 과정**

[0160] [0101] 일반적으로, ATR 결정은 다음의 단계를 사용하여 세정한다:

[0161] a) 습윤화시킨 연질 셀룰로즈를 샘플을 제거하기 위해 사용한다.

[0162] b) ATR 결정은 연질 셀룰로즈 및 물 및/또는 유기 용매를 사용하여 세정한다.

[0163] c) 빈 결정의 스펙트럼을 수득하여 어떠한 기억 효과도 버린다.

[0164] d) 단백질이 제거하기 어려울 경우, PBS, 세제 또는 교질입자의 물(micellar water)의 사용이 추천된다.

[0165] **2. 샘플 제조를 위한 일반적인 과정**

[0166] **2.1 전혈(WB) 샘플링 방법**

[0167] [0102] 전혈을 EDTA 튜브 속에서 또는 랜싯(lancet)을 사용하여 직접 환자로부터 추출한다.

[0168] **2.1.1 습윤 WB**

[0169] [0103] 습윤 전혈 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 것과 유사한 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0170] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0171] b) 물(W)의 블랭크(blank)를 10 마이크로리터의 물의 스펙트럼을 측정하여 수득한다.

[0172] c) 10마이크로리터의 EB를 미세피펫으로 취하고 ATR 결정의 표면에 침착시킨다.

[0173] d) 전혈의 원래의 스펙트럼(RWB)을 즉시 획득한다.

[0174] e) 전혈의 최종 스펙트럼(WB_w)을 RWB의 파수 i로부터 W의 파수 i의 강도를 감하여 수득한다.

[0175] $WB_w(i) = RWB(i)-W(i)$

[0176] f) 결정을 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0177] **2.1.2 무수 WB**

[0178] [0104] 무수 전혈 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다.

[0179] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0180] b) 1 내지 5 마이크로리터(적용에 따른 양)을 미세피펫으로 취하여 ATR 결정의 표면에 침착시킨다.

[0181] c) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0182] d) 건조 후, 전혈의 스펙트럼(WB_d)을 획득한다.

[0183] e) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0184] **2.2 분해된 WB 샘플 방법**

[0185] [0105] WB 샘플을 위에서 기술된 바와 동일한 과정으로 수득하고 전혈을 증류수와 1:1(v/v)의 비로 또는 7%(w/v) 나트륨 도데실 설페이트(SDS) 용액과 8:1(v/v)의 비로 혼합함으로써 분해한다.

[0186] **2.2.1 습윤 분해된 WB**

[0187] [0106] 습윤 분해된 전혈 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0188] a) 배경을 빈 선명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0189] b) 물(W)의 블랭크를 10 마이크로리터의 증류수 또는 7%(w/v) SDS 용액의 블랭크를 측정함으로써 수득하고, 분해에 사용된 방법에 따라 증류수와 8:1(v/v)의 비로 혼합한다.

[0190] c)10 마이크로리터의 분해된 WB를 미세피펫으로 취하고 ATR 결정의 표면에 침착시킨다. 혈장(RL)의 원래의 스펙트럼을 즉시 수득한다.

[0191] d) 분해된 전혈의 최종 스펙트럼(L_w)을 RL의 파수 i에 대해 W의 파수 i의 강도를 감하여 수득한다.

[0192] $L_w(i) = RL(i) - W(i)$

[0193] e) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0194] **2.2.2 무수 분해된 WB**

[0195] [0107] 무수 분해된 전혈 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0196] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0197] b) 1 내지 5(적용에 의존) 마이크로리터의 분해된 WB 미세피펫으로 취하여 ATR 결정의 표면에 침착시킨다.

[0198] c) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0199] d) 건조 후, 혈장의 스펙트럼(L_d)을 획득한다.

[0200] e) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0201] **2.3 혈장(P) 샘플 방법**

[0202] [0108] 환자 혈장 샘플을 에틸렌 디아민 테트라 아세트산(EDTA) 함유 튜브 또는 (혈정이 필요한 경우 혈청 튜브) 속에서 직접 랜싯을 사용하여 환자로부터의 전혈을 우선 감하여 통상적으로 제조한다. WB 샘플을 1600g에서 10분 동안 원심분리한다. 혈장은 파스퇴르 피펫(Pasteur pipette)을 사용하여 상부 상으로부터 수득한다.

[0203] **2.3.1 습윤 혈장**

[0204] [0109] 습윤 혈장 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다.

[0205] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0206] b) 물(W)의 블랭크를 10 마이크로리터의 물의 스펙트럼을 측정하여 수득한다.

[0207] c) 10 마이크로리터의 혈장을 미세피펫으로 취하고 ATR 결정의 표면에 침착시킨다. 혈장의 원래의 스펙트럼(RP)을 즉시 수득한다.

[0208] d) 혈장의 최종 스펙트럼(P_w)을 RP의 파수 i에 대해 W의 파수 i의 강도를 감하여 수득한다.

[0209] $P_w(i) = RP(i) - W(i)$

[0210] e) 결정을 상기 설정한 단계에 따라 세정한다.

[0211] **2.3.2 무수 혈장**

[0212] [0110] 무수 혈장 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0213] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0214] b) 1 내지 5 마이크로리터(적용에 따른 양)의 혈장을 미세피펫으로 취하여 ATR 결정의 표면에 침착시킨다.

[0215] c) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0216] d) 건조 후, 혈장의 스펙트럼(P_d)을 획득한다.

[0217] e) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0218] **2.4 적혈구 세포(RBC) 샘플 방법**

[0219] [0111] 환자 RBC의 샘플을 EDTA 튜브(혈청이 필요한 경우 혈청 튜브) 속에서 또는 직접 랜싯을 사용하여 환자로

부터의 전혈을 우선 감하여 수득한다. WB 샘플을 1600g에서 10분 동안 원심분리한다. RBC는 파스퇴르 피펫을 사용하여 하부 상으로부터 수득한다.

[0220] **2.4.1 습윤 RBC**

[0221] [0112] 습윤 RBC 샘플을 전형적으로 본 발명의 방법에 따라 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다.

[0222] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0223] b) 물(W)의 블랭크를 10 마이크로리터의 물의 스펙트럼을 측정하여 수득한다.

[0224] c) 10 마이크로리터의 RBC를 미세피펫으로 취하고 ATR 결정의 표면에 침착시킨다. RBC의 원래의 스펙트럼(RRBC)을 즉시 획득한다.

[0225] d) 혈장의 최종 스펙트럼($RBCs_w$)을 RP의 파수 i에 대해 W의 파수 i의 강도를 감하여 수득한다.

[0226] $RBCs_w(i) = RRBCs(i) - W(i)$

[0227] e) 결정을 상기 설정한 단계에 따라 세정한다.

[0228] **2.4.2 무수 RBC**

[0229] [0113] 무수 RBC 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0230] a) 배경을 빈 투명한 ATR 결정을 사용하여 수득한다.

[0231] b) 1 내지 5 마이크로리터(적용에 따른 양)의 RBC를 미세피펫으로 취하여 ATR 결정의 표면에 침착시킨다.

[0232] c) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0233] d) 건조 후, 혈장의 스펙트럼($RBCs_d$)을 수득한다.

[0234] e) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0235] **2.5 용매 속에 포장된 RBC**

[0236] [0114] 메탄올(MeOH)과 같은 용매 속의 RBC 샘플을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0237] a) 수득된 RBC를 PBS(인산염 완충된 염수)로 세척하여, 혈장/혈청 성분을 제거한 후 1mL의 냉 메탄올과 0.4:1(v/v)로 혼합한다.

[0238] b) 메탄올 속에 포장된 RBCs의 1 내지 5 마이크로리터(적용에 따른 양)을 미세피펫으로 취하여 ATR 결정의 표면에 침착시킨다.

[0239] c) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0240] d) 건조 후, 메탄올 속에 포장된 RBC의 스펙트럼(RBCsm)을 수득한다.

[0241] e) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0242] **2.5 용매 속의 응고된 전혈의 슬러리**

[0243] [0115] 메탄올(MeOH)과 같은 용매 속의 응고된 전혈 슬러리를 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 1에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다.

[0244] a) WB를 1.1 단락과 동일한 과정을 사용하여 추출한다.

[0245] b) 1 내지 5 마이크로리터의 WB를 미세피펫을 사용하여 ATR 결정에 침착시킨다.

[0246] c) 동일한 양의 메탄올을 WB의 앞서의 소적에 침착시켜 응집된 혈액의 슬러리를 생성시킨다.

[0247] d) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0248] e) 건조 후, 무수 슬러리의 스펙트럼을 수득한다.

[0249] f) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0250] **2.6 혈청/혈장/혈액 지질 추출물**

[0251] [0116] 메탄올(MeOH)과 같은 용매 속에서 혈청, 또는 혈장 또는 혈액 또는 이의 조합으로부터의 지질 추출물을 본 발명의 방법에 따라 전형적으로 처리하여 다음의 단계를 사용하여 도 2에 나타낸 ATR-FTIR 스펙트럼을 생성한다:

[0252] a) WB/혈장/혈청을 1.1 단락과 동일한 과정을 사용하여 추출한다.

[0253] b) WB/혈장/혈청을 유기 용매와 혼합한다. 유액이 형성되는 경우, 샘플을 원심분리하여야 한다.

[0254] c) 1 내지 5 마이크로리터의 추출 상을 미세피펫으로 취하여 ATR 결정에 침착시킨다.

[0255] d) 샘플을 상이한 방법(건조되도록 하거나/드라이어 또는 가열 램프 사용)을 통해 건조시킨다.

[0256] e) 건조 후, 무수 필름의 스펙트럼을 획득한다.

[0257] f) 결정을 상기 설정된 일반적인 과정에 따라 세정한다.

[0258] **병원체로서의 말라리아**

[0259] [0117] 말라리아는 상이한 종의 플라스모디움에 의해 유발된다. 플라스모디움의 상이한 종은 상이한 분자 표현형 및 상응하는 적외선 스펙트럼을 갖는다. 상이한 종의 말라리아 유발 인자가 말라리아 참고 데이터베이스에 포함되어 있다. 플라스모디움의 상이한 종을 규정하거나 확인하기 위해 전형적으로 다음의 방법을 우선 사용하여 사람이 다음과 같은 말라리아를 가지는지를 확인할 수 있다.

[0260] [0118] 따라서, 본 발명에 따라 혈액 샘플 속에서 말라리아를 검출하는 방법의 추가의 구현예에서, 당해 방법은:

[0261] (i) 각각이 파수 및 흡광도 값을 갖는 하나 이상의 스펙트럼 성분들을 갖는, 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계,

[0262] (ii) 각각의 모델이 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 가지며, 여기서 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 말라리아를 확인하는, 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계,

[0263] (iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

[0264] (iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일하는 단계.

[0265] [0119] 본 발명의 방법의 추가의 구현예에서, 말라리아의 유발 인자를 구체화하고 측정하기 위해, 당해 방법은:

[0266] (i) 각각이 파수 및 흡광도 값을 갖는 하나 이상의 스펙트럼 성분들을 갖는, 혈액 샘플을 대표하는 샘플 적외선 스펙트럼을 생성시키는 단계,

[0267] (ii) 각각의 모델이 파수 및 흡광도 값의 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 가지며, 여기서 상기 데이터베이스 스펙트럼 성분은 플라스모디움 팔시파룸, 플라스모디움 비박스, 플라스모디움 오발 쿠르티시, 플라스모디움 오발 왈리커리, 플라스모디움 말라리아에, 플라스모디움 노울레시 또는 이의 조합과 같은(및 이에 한정되지 않는) 상이한 플라스모디움 종을 확인하는, 스펙트럼 모델의 참고 데이터베이스를 제공하는 단계,

[0268] (iii) 참고 데이터베이스가 하나 이상의 샘플 스펙트럼 성분에 상응하는 하나 이상의 데이터베이스 스펙트럼 성분을 갖는지를 측정하는 단계, 및

[0269] (iv) 확인된 상응하는 데이터베이스 성분의 목록을 컴파일하는 단계.

[0270] **실험 결과 - 말라리아**

[0271] [0120] 상기 방법을 사용하여 수행된 실험적 시험은 혈액 속에서 스펙트럼과 말라리아 기생충 농도 사이의 상관관계를 나타낸다. 상이한 농도의 기생충(링 및 영양 세포)으로 로딩된 적혈구 세포(RBC) 및 전혈장 샘플(WB)을 유리 섬유지(glass-fibre paper)에서 건조시켰다. 로딩 요법은 표 4에 요약되어 있다:

표 4

[0272]

혈액 샘플의 유형	기생충혈증의 유형	기생충혈증(로딩의 수준)
RBC	대조군	0
RBC	대조군	0
RBC	대조군	0
RBC	대조군	0
RBC	대조군	0
WB	대조군	0
WB	대조군	0
WB	대조군	0
WB	대조군	0
WB	대조군	0
GF TR	GF TR	0
GF UNT	GF UNT	0
RBC	링	0.078125
RBC	링	0.15625
RBC	링	0.3125
RBC	링	0.625
RBC	링	1.25
RBC	링	10
RBC	링	10
RBC	링	2.5
RBC	링	5
RBC	링	5
WB	링	0.078125
WB	링	0.15625
WB	링	0.3125
WB	링	10
WB	링	2.5
WB	링	5
RBC	영양세포	0.078125
RBC	영양세포	0.15625
RBC	영양세포	0.3125
RBC	영양세포	0.625
RBC	영양세포	1.25
RBC	영양세포	2.5
RBC	영양세포	5
WB	영양세포	0.078125
WB	영양세포	0.15625
WB	영양세포	1.25
WB	영양세포	5

[0273] [0121] 도 28은 표 4에 나열된 말라리아로 로딩된 대조군, RP, RNP 및 TP 샘플의 IR 흡광도 스펙트럼이다. 나안은 대조군과 병원성 샘플의 스펙트럼 사이의 차이를 용이하게 구별할 수 없다.

[0274] [0122] 도 29a 및 29b는 3116.19 내지 2768.71 및 1828.46 내지 852.91 cm^{-1}의 영역에서 샘플에 대한 다수의 SPC 파일의 샘플/점수를 나타내는 다변량 분석의 결과를 나타내는 2개의 상이한 양식의 플롯이다. 다변량 분석을 사용하여 차이를 명확히하거나 숨겨진 양식을 발견한다. 선택된 방법은 기본 성분 분석(PCA), 변량의 방향으로 배향된 새로운 좌표에서 샘플을 투영하는 비감독 방법(즉, 이는 부류를 고려하지 않고, 스펙트럼만을 사용한다)이다.

[0275] [0123] 도 30은 샘플 속에서 기생충혈증의 예측된 수준 대 실제 수준의 부분 최소 제곱 회귀법 플롯이다. 회귀분석은 높은 및 낮은 기생충 로딩 사이의 구별을 가능하도록 한다. 상기 방법은 선형이며, 수개의 자릿수를 포함함에 주목한다.

[0276] [0124] 추가의 실험적 시험을 수행하여 RBC에서 말라리아 영양세포의 IR 신호가 상기 종이에서 건조되는 경우에

유지되었는지를 알아보기 위해 수행하였다. 10개의 RBC 샘플을 5% 기생충혈증(영양세포)를 사용하여 로딩하고 정상의 여과지에 건조시켰다. 12개의 정상 RBC 샘플을 또한 대조군으로서 생성시켰다.

[0277] [0125] 본 발명의 방법을 또한 현미경 및 PCR에 의해 특정의 플라스모디움 팔시파룸 및/또는 플라스모디움 비박스를 함유하는 것으로 공지된 샘플과 관련하여 측정에 사용하였다. FTR을 사용한 결과는, 상기 방법이 말라리아 종 및 혼합 감염 둘 다에 의한 감염의 검출에 적합하였음을 입증하였다.

[0278] **실험 결과 - 유리에서 RBC의 얇은 도말(thin smear)로부터 수득된 영상을 사용한 말라리아의 검출**

[0279] [0126] 실험적 연구를 수행하여 5% 말라리아 영양체로 감염된 RBC와 감염되지 않은 혈액 세포를 구별하는 것과 관련하여 본 발명의 방법의 효능을 연구하였다.

[0280] [0127] 이 경우에 초점면 배열을 사용하였는데, 즉, 유리 위의 얇은 혈액 도말의 FP 분광계 영상을 사용하였다. 영상을 획득한 후, 샘플을 영양체의 가시적 검출을 위해 김사 염색(Giemsa stain)으로 염색하였다.

[0281] [0128] 도 31은 2500 내지 4000 cm^{-1}의 영역에서 평균 스펙트럼을 기반으로 한 염색된 세포의 가시적 영상(도 31a) 및 처리되지 않은 세포의 IR 영상(도 31b)을 나타낸다. 도 31c은 상응하는 IR 영상(도 31d)와 함께 2개의 세포(표시된 A 및 B, 도 31a에서 원으로 표시)의 가시적 확대도이다. 이들 영상으로부터 스펙트럼의 밀도는 기생충이 존재하지 않는 경우 보다 더 큼이 명백하다. PCA 분석은 3개의 부위 - 감염되지 않은 RBC 부위(112), 영양체에 대한 플라스모디움(113) 및 영양체가 없는 감염된 RBC의 부분에 대한 제2의 감염되지 않은 부위(114).

[0282] [0129] 상응하는 PCA를 플라스모디움 감염된 부위(◇), 제1의 감염되지 않은 부위(▲) 및 제2의 감염되지 않은 부위(□)에 대해 도 32에 기록한다. 95% 신뢰도 수준을 -4 및 4에서 표시한다.

[0283] [0130] 도 33은 변량/로딩 플롯이다. 차이를 보다 근접하게 실험하기 위하여, 감독한 모델 PLSDA(도함수 없음)를 수행하여 도 34에 나타낸다. LV 1 성분(파단선) 및 Y1에 대한 Reg 벡터(파단 선)이 나타나 있다. 회귀 벡터가 약간의 노이즈(noise)가 있지만, 감염된 및 감염되지 않은 픽셀(pixel) 사이를 구별할 수 있는 3300 cm^{-1} 밴드에서의 이동이 존재한다.

[0284] [0131] 상술한 결과를 기준으로 하여 유리 위에서 처리되지 않은 RBC 얇은 필름에서 기생출혈증의 확인을 위한 다음 방법을 제안할 수 있다:

[0285] (i) 얇은 혈액 필름의 생성,

[0286] (ii) 현미경적 가시적 분석을 수행하여 가시적인 영상을 생성,

[0287] (iii) FTIR 영상의 생성,

[0288] (iv)(a) 영상의 각각의 픽셀을 모델화하여 이들을 기생충 또는 RBC로서 분류,

[0289] (iv)(b) RBC 평균 스펙트럼을 추출하고, 각각의 RBC의 픽셀을 평균내어 각각의 RBC가 감염되어 있는지 아닌지를 연구한다.

[0290] **실험 결과 - 간염**

[0291] [0132] 상기 방법을 사용하여 수행된 실험적 시험은 상이한 유형의 간염을 지닌 혈장 샘플 사이를 구별할 수 있음을 입증하였다.

[0292] [0133] 각각의 샘플에 대해, B형 간염(HB) 및 C형 간염(HC)을 지닌 혈장 대략 3 마이크로리터를 예비-절단된 유리 여과지에 놓고 20분 동안 공기-건조시켰다. 건조된 혈장 샘플이 있는 유리 종이를 이후에 다이아몬드 ATR-FTIR 윈도우의 결정에 두고 스펙트럼을 8 cm^{-1}에서 동시 가해지고 공기의 배경 스펙트럼에 대해 비례화한 50개 스캔(scan)으로 기록하였다. 수득되는 스펙트럼은 도 35에 나타낸다.

[0293] [0134] 도 36은 샘플에서 간염의 예측된 수준 대 실제 수준의 부분 최소 제곱법 회귀 플롯이다. 데이터 분석을 1583.18 내지 1492.13 cm^{-1} 및 1304.45 내지 1120.49 cm^{-1}의 영역에서 샘플에 대해 수행하였다. 회귀 분석은 높은 기생충 로딩과 낮은 기생충 로딩 사이 및 HB와 HC 감염의 사이를 구별할 수 있도록 한다.

[0294] **실험 결과 - 글루코즈 및 우레아**

[0295] [0135] 앞서의 실험 결과는 혈액 속에 존재하는 기생충혈증 형태의 병원체에 의해 직접 흡수된 IR 에너지와 관

련된 스펙트럼 효과를 나타내었다. 본 발명의 방법을 사용하여 수행된 실험적 시험은 또한 병원체를 당해 병원체에 의해 유발된 다른 생물학적 실체에 의해 흡수된 에너지를 통해 간접적으로 검출할 수 있음을 나타내었다. 예를 들면, 병원체는 글루코즈, 우레아 또는 이들 둘 다에서 상승을 유발할 수 있다.

[0296] [0136] 혈액 샘플을 광범위한 범위의 농도의 글루코즈 및 우레아로 로딩하고 유리 섬유 위에서 건조시켰다. 도 37은 샘플에 대한 FTIR 스펙트럼을 나타내며 글루코즈의 흡광도는 샘플 속의 글루코즈의 농도에 비례함을 나타낸다.

[0297] [0137] 도 38은 결과들의 부분 최소 제곱법 플롯을 제공한다. 이후에, 회귀 벡터를 도 39에 나타낸 바와 같이 글루코즈 표준 스펙트럼과 연관시켰다.

[0298] [0138] 유사한 시도를 우레아로 취하였다. 도 40은 결과의 부분 최소 제곱법 플롯을 제공한다. 이후에, 회귀 벡터를 도 41에 나타낸 바와 같은 글루코즈 표준 스펙트럼과 연관시켰다.

[0299] **실험 결과 - 품질 조절**

[0300] [0139] 스펙트럼의 확인은 상술한 모델 중의 하나로 혼입하기 전에 수행할 수 있다. 이는, 획득된 스펙트럼이 모델에 포함된 특징과 유사한 특징을 가짐을 보증한다. 이는 또한 기술적 쟁점이 모델로부터의 정보의 추출시 방해하지 않을 것임을 보증한다. 예를 들면, 품질 조절의 다음 2개의 방법을 개발하였다.

[0301] **품질 조절 - 독립된 모델**

[0302] [0140] 첫번째는 모델과는 독립적인, 즉, 데이터베이스에만 의존하는 품질 조절에 의존한다. 품질 조절은 상이한 성분의 과량(또는 결함) 및 샘플에 관한 방해를 모니터하도록 하는데 중점을 둔다. 성분 관련 농도는 알고리즘을 사용하여 계산하며, 당해 농도를 한계값(threshold value)과 비교한다. 예를 들면, 성분의 상대 농도 값의 분포를 데이터베이스 상에서 생성할 수 있다. 이후에, 상부 및 하부 말단에서 약해지는 분포의 부분을 한계를 정의하는데 사용할 수 있다. 성분의 상대적인 농도가 한계 밖에 있는 경우, 스펙트럼은 품질 조절을 통과하지 않는다.

[0303] [0141] 전형적으로, 다음의 3개의 성분이 품질 조절 방법에서 연속적으로 고려된다:

[0304] (i) 대기 방해: 배경과 샘플 측정 사이의 IR 활성 대기 증기의 변동은 양성 및 음성 한계를 사용함으로써 측정되는 음성 및 양성 밴드를 유발할 수 있다;

[0305] (ii) 용매: 용매(물, MeOH)는 적절히 제거되지 않아 왔다; 및

[0306] (iii) 샘플: 예를 들면, 불량한 접촉으로 인하여 결정에서 충분한 샘플이 존재하지 않는다.

[0307] **품질 조절 - 독립된 모델**

[0308] [0142] 제2의 품질 조절 방법을 모델과 연관시키며 모델화의 측면에서 샘플 및 측정 샘플 사이의 거리의 측정에 의존한다. 대표적인 예는 PLSDA에서 T^2 및 SQ 잔사의 사용 및 95% 신뢰도 구간이다.

[0309] [0143] 예를 들면, 기록된 스펙트럼에 대한 품질 조절은 (i) 대기 방해(물), (ii) 용매(메탄올), (iii) 샘플, 및 최종적으로 (iv) 모델까지의 거리의 순서로 수행할 수 있었다. 전형적으로, 이는 표 5의 것들과 같은 결과와 연관될 수 있다:

표 5

[0310]

QC	예비-처리	상대적인 농도의 계산	역치
$H_2O(g)$	표준화	3846 cm^{-1}에서 흡광도 - 3852 cm^{-1}에서 흡광도	<1.5 SD >1.5 SD
MeOH	도함수	1029 cm^{-1}에서 흡광도 - 1033 cm^{-1}에서 흡광도	>1.5 SD
샘플	없음	1650 cm^{-1}에서 흡광도	<1.5 SD

[0311] [0144] 사용자에게 표시될 수 있는 전형적인 그래프적 사용자 인터페이스의 예는 도 42에 나타낸다.

[0312] [0145] 본 발명을 이의 구체적인 구현예와 관련하여 기술하였으나, 추가의 변형(들)이 가능함이 이해될 것이다. 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원리를 따르고 본 발명이 속한 분야에서 공지되거나 통상의 실시내에 있는 본

개시내용으로부터의 이러한 이탈을 포함하는 본 발명의 어떠한 변화 용도 또는 개작을 포함하며 앞서 설정된 필수적인 특징에 적용될 수 있는 것으로 의도된다.

[0313] [0146] 본 발명이 본 발명의 필수적인 특징의 취지로부터 벗어남이 없이 수개의 형태로 구현될 수 있기 때문에, 상기 기술된 구현예는 달리 명시하지 않는 한 본 발명을 제한하는 것이 아니라, 첨부된 청구범위에 정의된 바와 같은 본 발명의 취지 및 영역내에 광범위하게 속하는 것으로 해석되어야 한다. 기술된 구현예들은 모든 측면에서 제한하는 것이 아닌 예증적인 것으로만 고려되어야 한다.

[0314] [0147] 다양한 변형 및 등가의 배열이 본 발명 및 첨부된 청구범위의 취지 및 영역내에 포함되는 것으로 의도된다. 따라서, 구체적인 구현예는, 본 발명의 원리가 실시될 수 있는 많은 방법을 예증하는 것으로 이해되어야 한다. 다음의 청구범위에서, 평균-합-함수 절은 정의된 기능을 수행하는 것으로서의 구조물 및 구조적 등가물뿐만 아니라, 등가 구조물도 포함하는 것으로 의도된다.

[0315] [0148] 용어 "서버", "보안 서버" 또는 유사한 용어들이 본원에 사용된 경우, 달리 내용이 요구하지 않는 한, 통신 시스템에서 사용될 수 있는 통신 장치를 기술하는 것이며 본 발명은 어떠한 특수한 통신 장치 유형으로 제한하는 것으로 해석되지 않아야 함을 주목해야 한다. 따라서, 통신 장치는 브리지(bridge), 라우터(router), 브리지-라우터(로우터), 스위치(switch), 노드(node), 또는 보안될 수 있거나, 보안될 수 없는 다른 통신 장치를 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0316] [0149] 또한, 흐름도가 본원에 사용되어 본 발명의 다양한 측면을 입증하는 경우, 이는 본 발명을 어떠한 특수한 논리 순서도 또는 논리 구현(logic implementation)으로 한정하는 것으로 해석되어서는 안된다는 것을 주목해야 한다. 기술된 로직은 전체 결과를 변화시키거나 본 발명의 실제 영역으로부터 벗어남이 없이 상이한 논리 블록(예를 들면, 프로그램, 모듈, 함수, 또는 서브루틴(subroutines))으로 분배될 수 있다. 흔히, 논리 소자를 가하거나, 변형시키거나, 생략하거나, 상이한 순서로 수행할 수 있거나, 전체적인 결과를 변화시키거나 본 발명의 실제 영역으로부터 벗어남이 없이 상이한 논리 구조(예를 들면, 논리 게이트(logic gate), 루핑 프리미티브(looping primitive), 조건 논리, 및 다른 논리 구조)를 사용하여 실행할 수 있다.

[0317] [0150] 본 발명의 다양한 구현예는 프로세서(예를 들면, 마이크로프로세서, 마이크로컨트롤러, 디지탈 신호 프로세서, 또는 일반적인 목적의 컴퓨터 및 이러한 경우, 어떠한 시판되는 프로세서도 사용하여 단일 프로세서, 시스템내 프로세서들의 일련의 또는 평행한 세트로서 실행할 수 있으며, 따라서, 시판되는 프로세서의 예는 Merced™, Pentium™, Pentium II™, Xeon™, Celeron™, Pentium Pro™, Efficeon™, Athlon™, AMD™ 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다)와 함께 사용하기 위한 컴퓨터 프로그램 논리, 프로그램가능한 논리 장치(예를 들면, 필드 프로그램가능 게이트 어레이(Field Programmable Gate Array: FPGA) 또는 다른 PLD), 개별 부품, 집적 회로(예를 들면, 애플리케이션 특이적인 집적 회로(ASIC)), 또는 어떠한 이의 조합을 포함하는 어떠한 다른 수단을 포함하는, 많은 상이한 형태로 구현될 수 있다. 본 발명의 예시적인 구현예에서, 우세하게 사용자와 서버 사이의 통신 모두는 컴퓨터 실행가능한 형태로 전환되는 컴퓨터 프로그램 명령의 세트로서 실행되어, 이로써 컴퓨터 판독가능한 매체에 저정되고, 운용 시스템의 조절 하에서 마이크로프로세서에 의해 실행된다.

[0318] [0151] 본원에 기술된 경우 기능성의 모두 또는 일부를 실행하는 컴퓨터 프로그램 논리는 소스 코드 형태(source code form), 컴퓨터 실행가능한 형태, 및 다양한 중간 형태(예를 들면, 어셈블러, 컴파일러, 링커, 또는 로케이터에 의해 생성된 형태)를 포함하는 다양한 형태로 구현될 수 있다. 소스 코드는 다양한 프로그래밍 언어(예를 들면, 대상 코드, 어셈블리 언어, 또는 포트란(Fortran), C, C++, 자바(JAVA), 또는 HTML과 같은 고-수준 언어) 중 어느 것에서 실행될 일련의 컴퓨터 프로그램 명령을 포함할 수 있다. 더욱이, 다양한 운용 시스템 또는 운용 환경과 함께 사용하기 위한 Ada; Algol; APL; awk; 베이직(Basic); C; C++; 코놀(Conol); 델파이(Delphi); 에이펠(Eiffel); 유포리아(Euphoria); 포쓰(Forth); 포트란(Fortran); HTML; 아이콘(Icon); 자바(Java); 자바스크립트(Javascript); 리스프(Lisp); 로고(Logo); 메쓰매티카(Mathematica); 매트랩(MatLab); 미란다(Miranda); 모듈(Modula)-2; 오베론(Oberon); 파스칼(Pascal); Perl; PL/I; 프롤로그(Prolog); 파이톤(Python); 렉스(Rexx); SAS; 스케임(Scheme); 세드(sed); 시뮬라(Simula); 스말탁(Smalltalk); 스노볼(Snobol); SQL; 비주얼 베이직(Visual Basic); 비주얼 C++; 리눅스(Linux) 및 XML.)인 보다 일반적인 것들 중에서, 본 발명의 구현예를 실행하는데 사용될 수 있는 수백개의 이용가능한 컴퓨터 언어가 존재한다. 소스 코드는 다양한 데이터 구조 및 통신 메세지를 정의하여 사용할 수 있다. 소스 코드는 컴퓨터 실행가능한 형태(예를 들면, 해석 프로그램을 통해)로 존재할 수 있거나, 소스 코드는 컴퓨터 실행가능한 형태로 전환(예를 들면, 변환기, 어셈블러, 또는 컴파일러를 통해)될 수 있다.

[0319] [0152] 컴퓨터 프로그램은 반도체 기억 장치(예를 들면, RAM, ROM, PROM, EEPROM, 또는 플래쉬-프로그램가능한

(Flash-Programmable) RAM), 자기 기억 장치(예를 들면, 디스켓 또는 고정 디스크), 광학 기억 장치(예를 들면, CD-ROM 또는 DVD-ROM), PC 카드(예를 들면, PCMCIA 카드), 또는 다른 기억 장치와 같은 실제하는 저장 매체 속에 영구적으로 또는 일시적으로 어떠한 형태(예를 들면, 소스 코드 형태, 컴퓨터 실행가능한 형태, 또는 중간 형태)로 고정될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 아날로그 기술, 디지탈 기술, 광학 기술, 무선 기술(예를 들면, 블루투쓰), 네트웍 기술, 및 네트웍간 기술을 포함하나, 이에 한정되지 않는 다양한 통신 기술 중의 어느 것도 사용하여 컴퓨터로 전달가능한 신호의 어떠한 형태로 고정될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 동반되어 인쇄되거나 전자 서류(예를 들면, 수축-포장된 소프트웨어(shrink wrapped software))와 함께 제거가능한 저장 매체로서 어떠한 형태로 배포되거나, 컴퓨터 시스템(예를 들면, 시스템 ROM 또는 고정 디스크)과 함께 예비로딩되거나, 통신 시스템 위의 서버 또는 전자 게시판으로부터 배포될 수 있다.

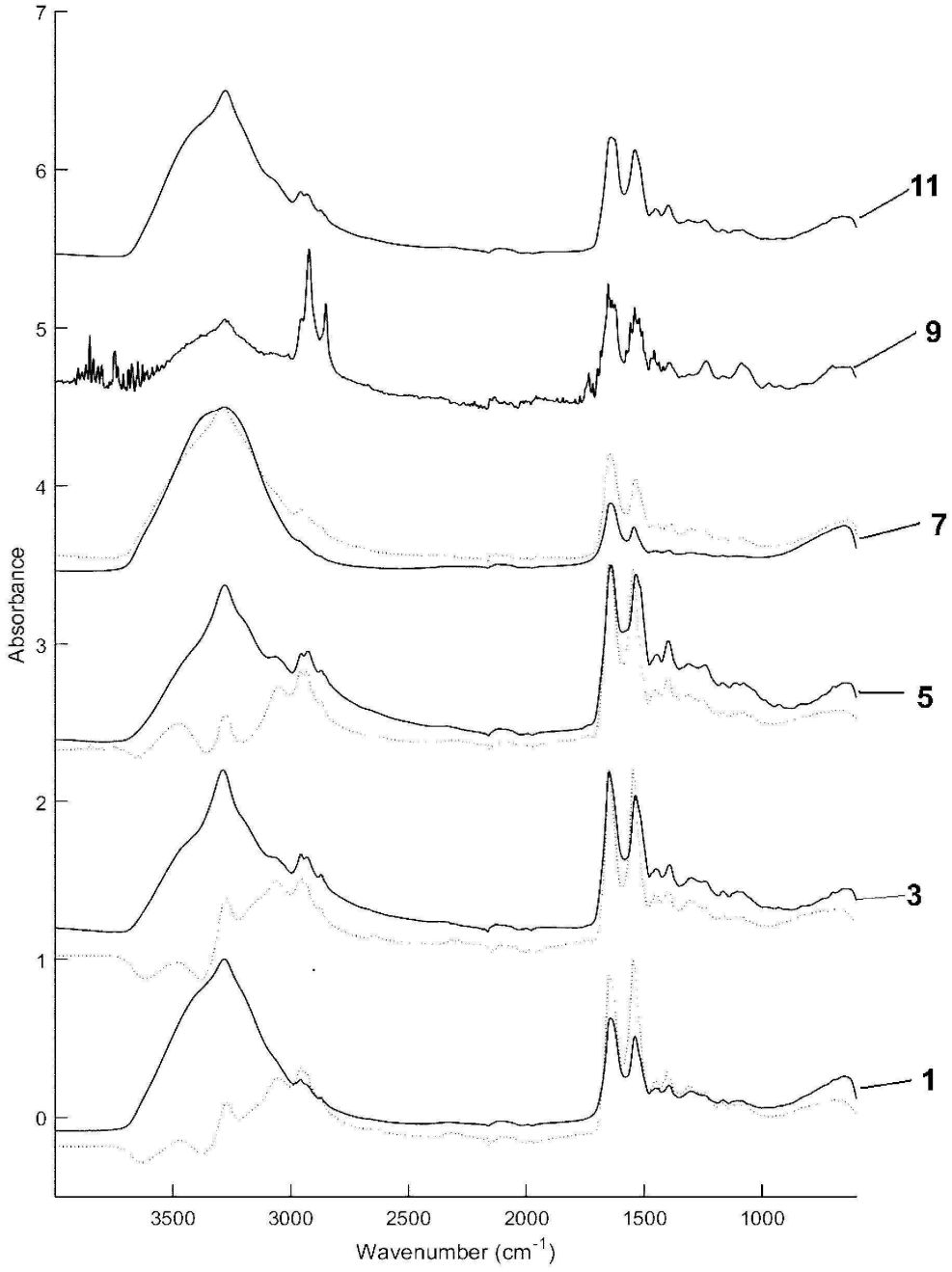
[0320] [0153] 본원에 기술된 경우 기능성 전부 또는 일부를 실행하는 하드웨어 논리(프로그램가능한 논리 장치와 함께 사용하기 위한 프로그램가능한 논리 포함)를 전통적인 수동 방법을 사용하여 설계할 수 있거나, 컴퓨터 보조된 설계(Computer Aided Design: CAD), 하드웨어 기술 언어(예를 들면, VHDL 또는 AHDL), 또는 PLD 프로그래밍 언어(예를 들면, PALASM, ABEL, 또는 CUPL)와 같은 다양한 도구를 사용하여 전자적으로 설계, 포착, 시뮬레이션 또는 문서화할 수 있다. 하드우에 논리는 또한 본 발명의 구현예를 실행하기 위한 디스플레이 스크린내로 혼입시킬 수 있으며 이는 부분 디스플레이 스크린(segmented display screen), 아날로그 디스플레이 스크린, 디지탈 디스플레이 스크린, CRT, LED 스크린, 플라즈마 스크린, 액정 다이오드 스크린 등일 수 있다.

[0321] [0154] 프로그램가능한 논리는 반도체 기억 장치(예를 들면, RAM, ROM, PROM, EEPROM, 또는 플래쉬-프로그램가능한 RAM), 자기 기억 장치(예를 들면, 디스켓 또는 고정 디스크), 광학 기억 장치(예를 들면, CD-ROM 또는 DVD-ROM), 또는 다른 기억 장치와 같은 실제하는 저장 매체 속에 영구적으로 또는 일시적으로 고정될 수 있다. 프로그램가능한 논리는 아날로그 기술, 디지탈 기술, 광학 기술, 무선 기술(예를 들면, 블루투쓰), 네트웍 기술, 및 네트웍간 기술을 포함하나, 이에 한정되지 않는 다양한 통신 기술 중의 어느 것도 사용하여 컴퓨터로 전달가능한 신호로 고정될 수 있다. 프로그램가능한 논리는 동반되어 인쇄되거나 전자 서류(예를 들면, 수축-포장된 소프트웨어와 함께 제거가능한 저장 매체로서 배포되거나, 컴퓨터 시스템(예를 들면, 시스템 ROM 또는 고정 디스크)과 함께 예비로딩되거나, 통신 시스템(예를 들면, 인터넷 또는 월드 와이드 웹(World Wide Web)) 위의 서버 또는 전자 게시판으로부터 배포될 수 있다.

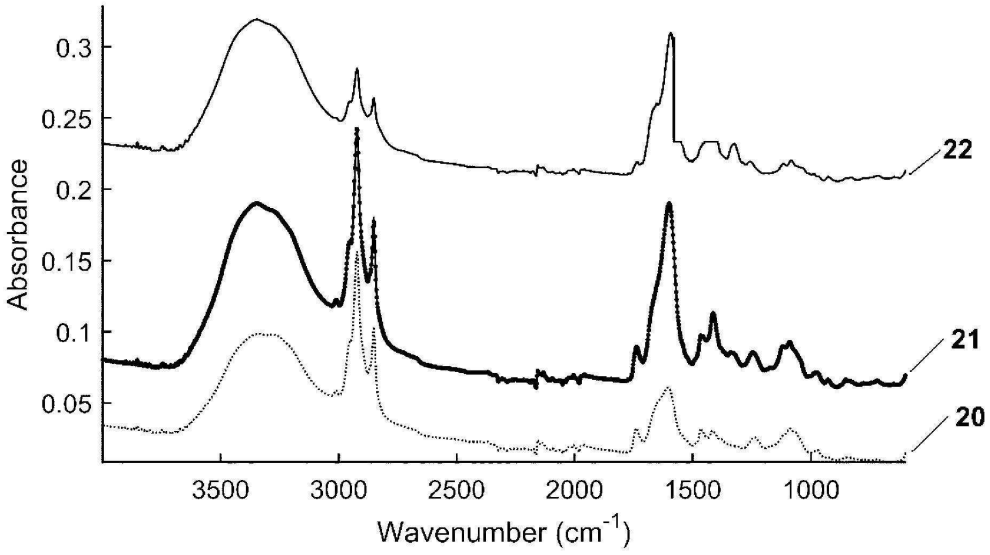
[0322] [0155] 본 명세서에 사용된 경우 "포함하다/포함하는" 및 "포괄하다/포괄하는"은 기술된 특징, 정수, 단계 또는 성분의 존재를 명시하기 위해 취해지지만 하나 이상의 다른 특징, 정수, 단계, 성분 또는 이의 그룹의 존재 또는 추가를 배제하지 않는다. 따라서, 내용이 명확하게 달리 요구하지 않는 한, 명세서 및 청구범위 전체에걸쳐, 단어 '포함하다', '포함하는', '포괄하다', '포괄하는" 등은 독점적인 또는 철저한 의미에 대치되는 것으로서 포괄적인 의미; 다시 말해서, "포함하나, 이에 한정되지 않는"의 의미로 해석되어야 한다.

도면

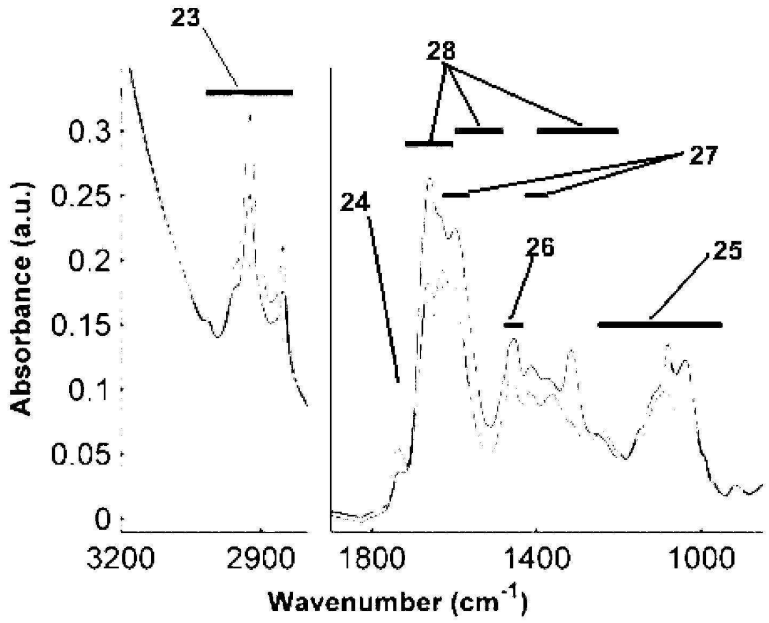
도면1


Absorbance
Wavenumber (cm-1)
3500
3000
2500
2000
1500
1000
0
1
2
3
4
5
6
7
11
9
7
5
3
1

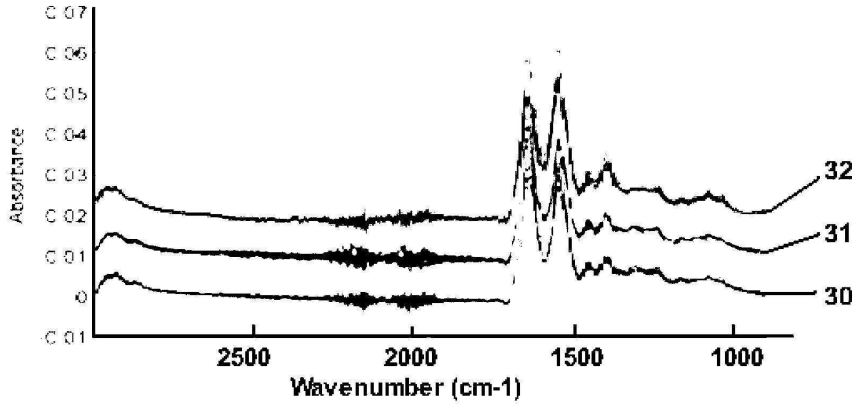
도면2


Absorbance
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Wavenumber (cm-1)
22
21
20

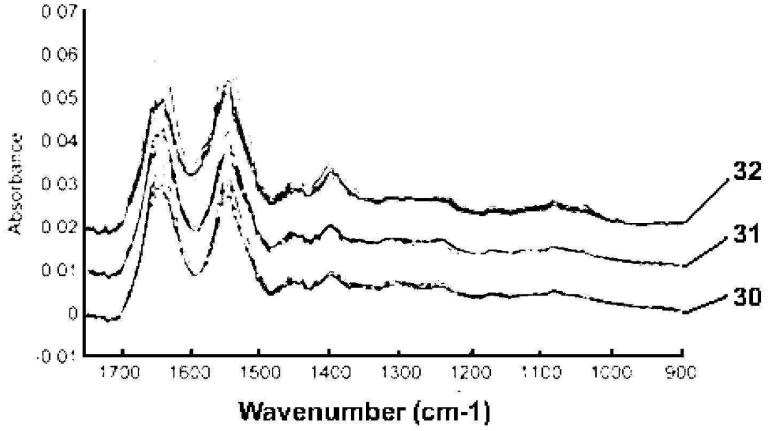
도면3


Absorbance (a.u.)
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
3200
2900
1800
1400
1000
Wavenumber (cm-1)
23
28
27
24
26
25

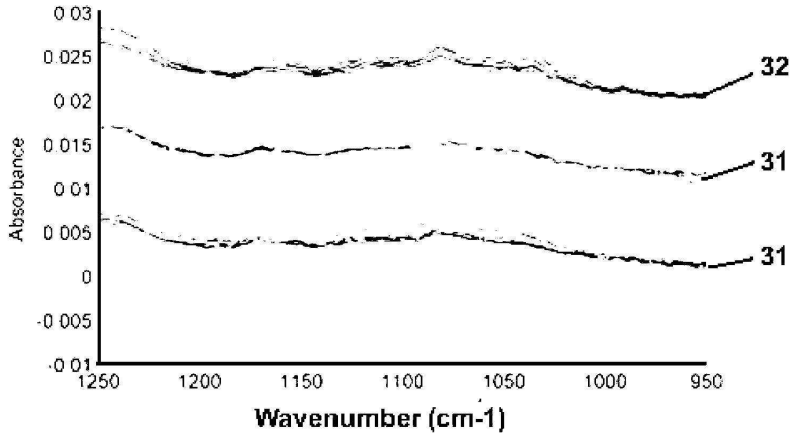
도면4a



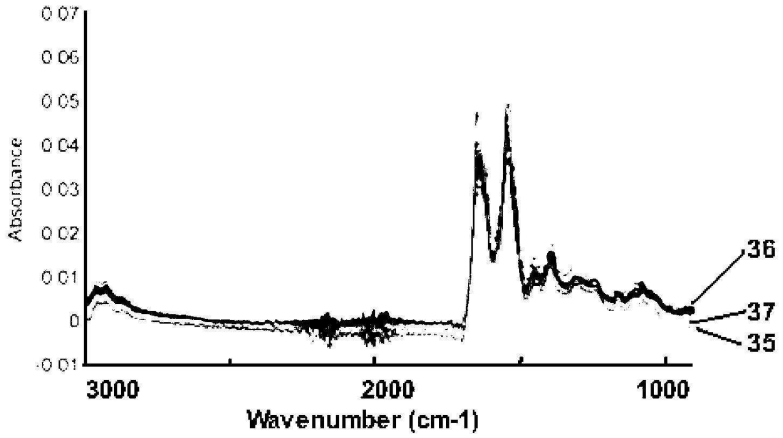
도면4b



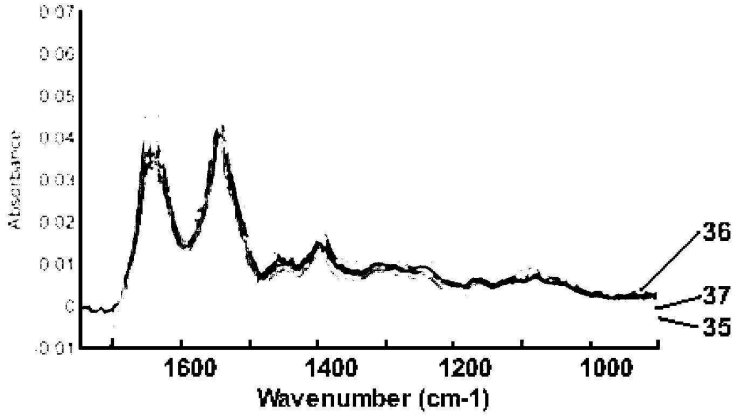
도면4c



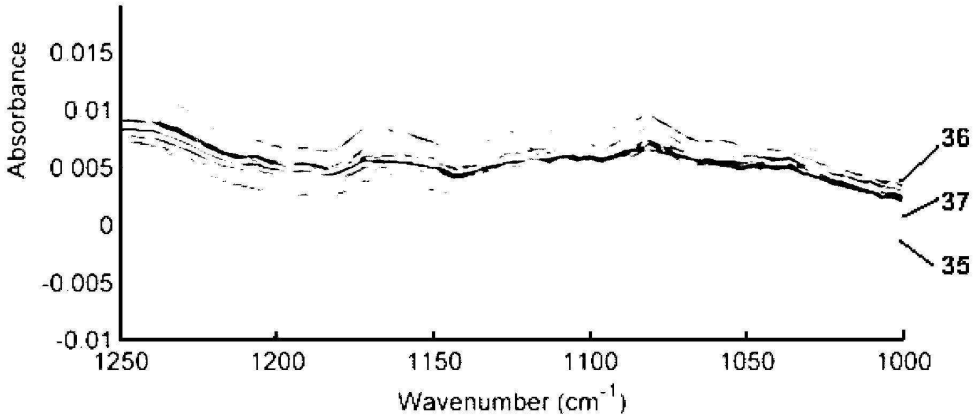
도면5a



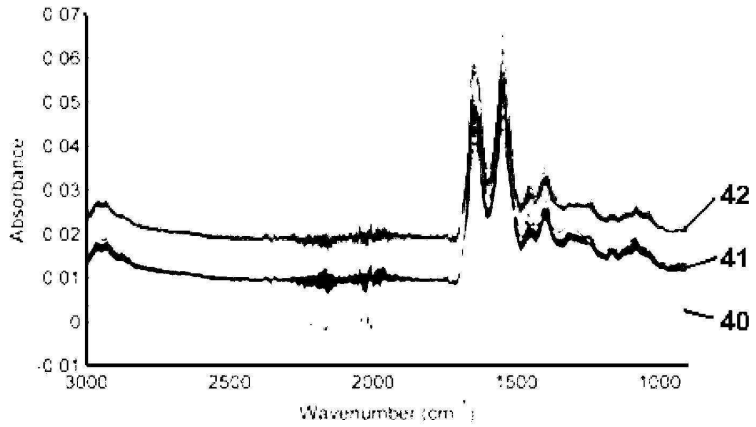
도면5b



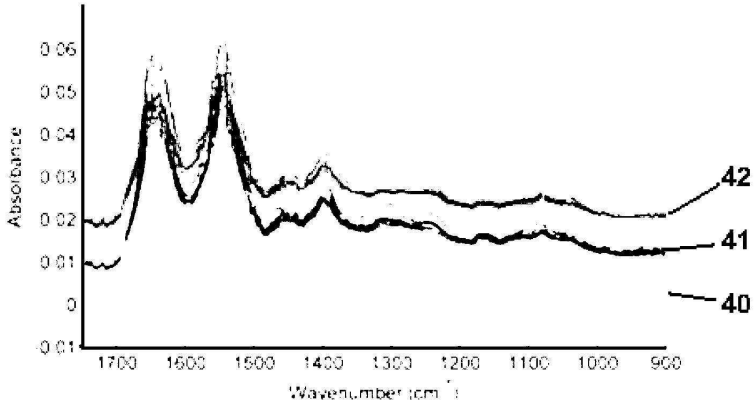
도면5c



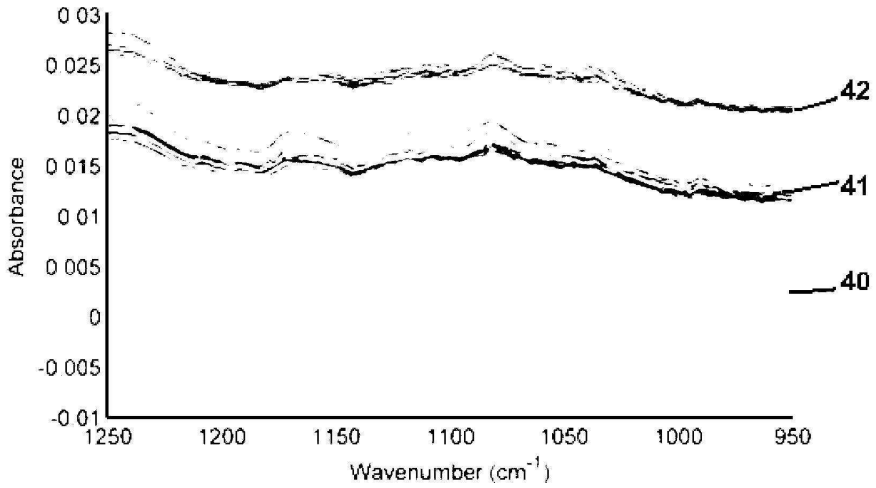
도면6a



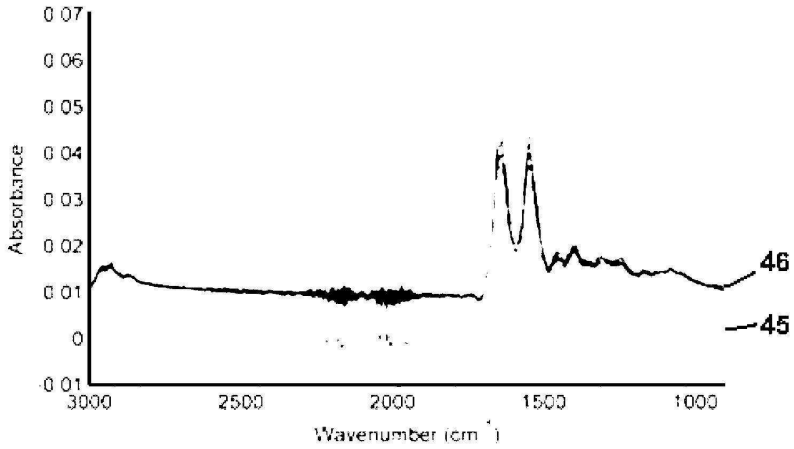
도면6b



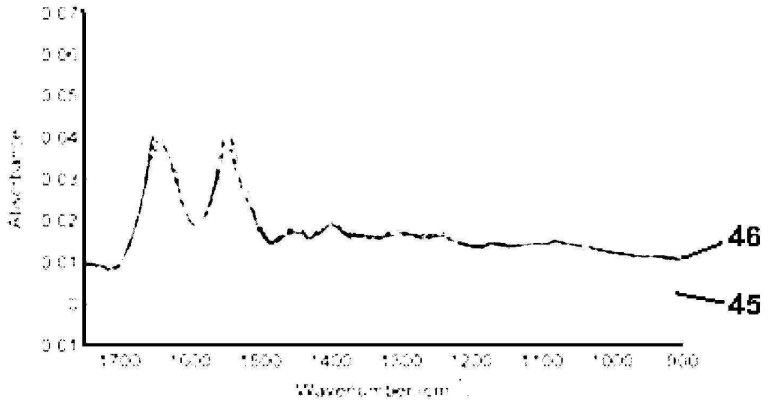
도면6c



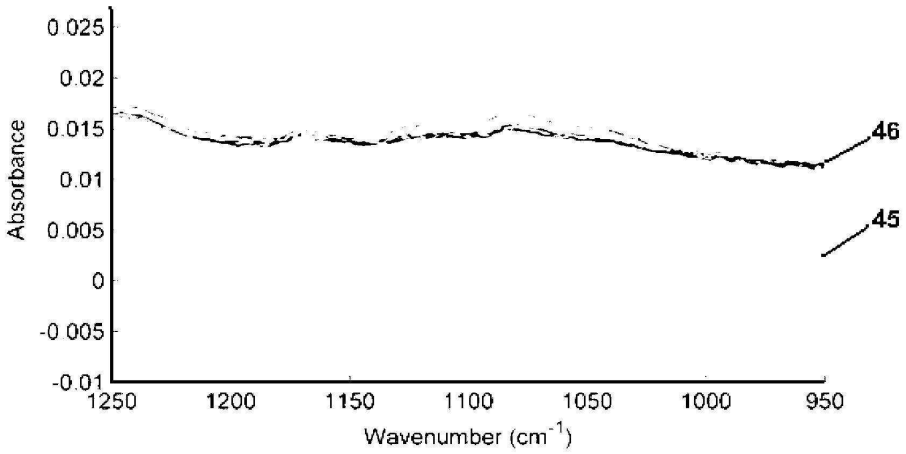
도면7a



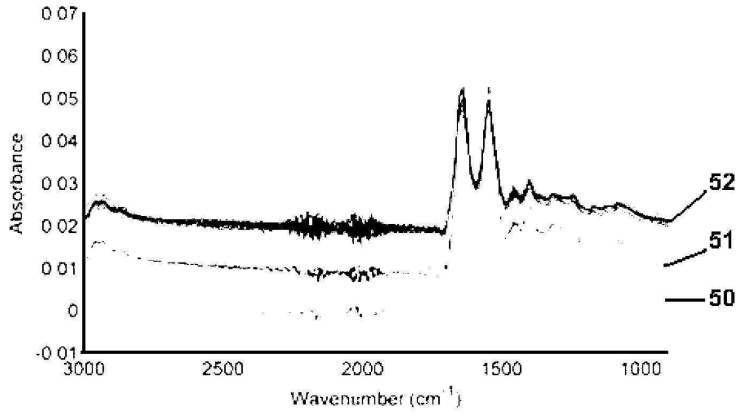
도면7b



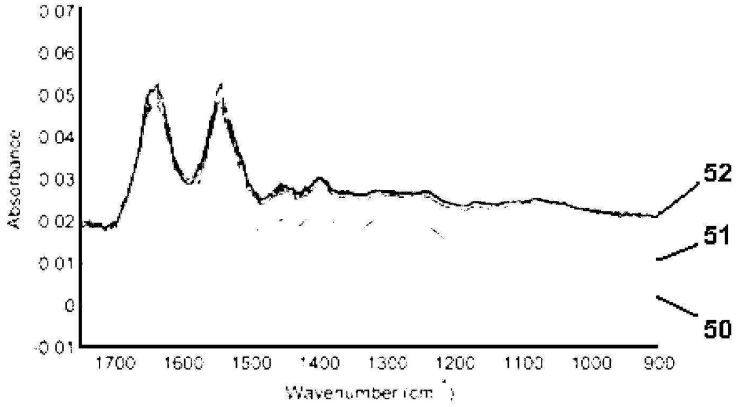
도면7c



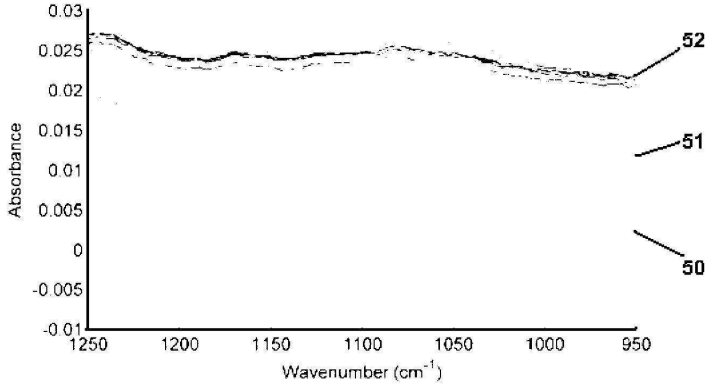
도면8a



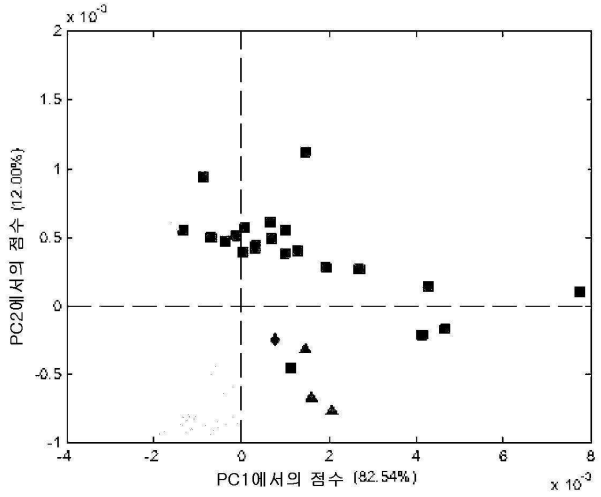
도면8b



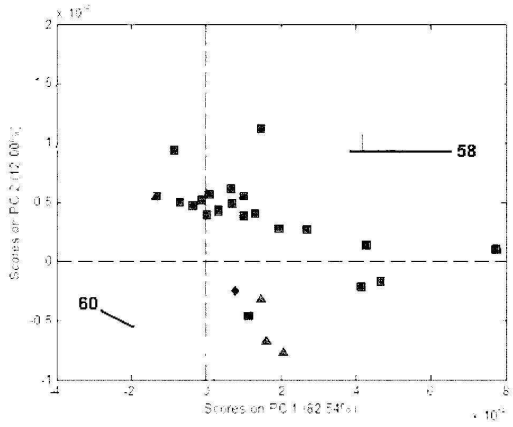
도면8c



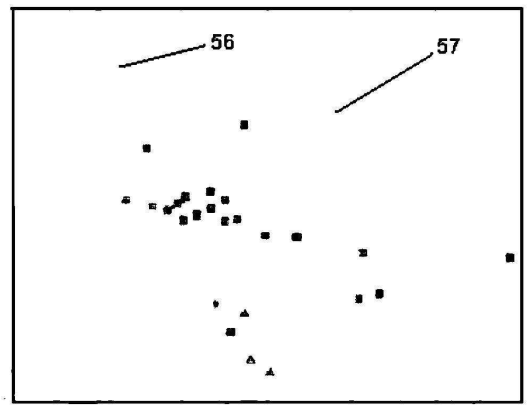
도면9a



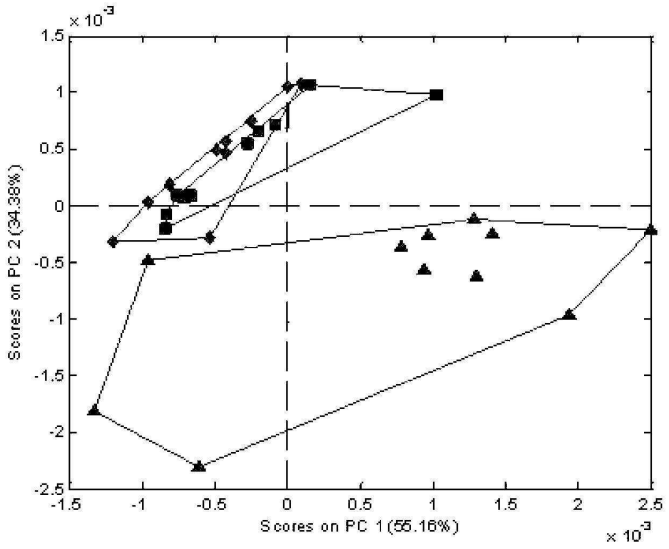
도면9b



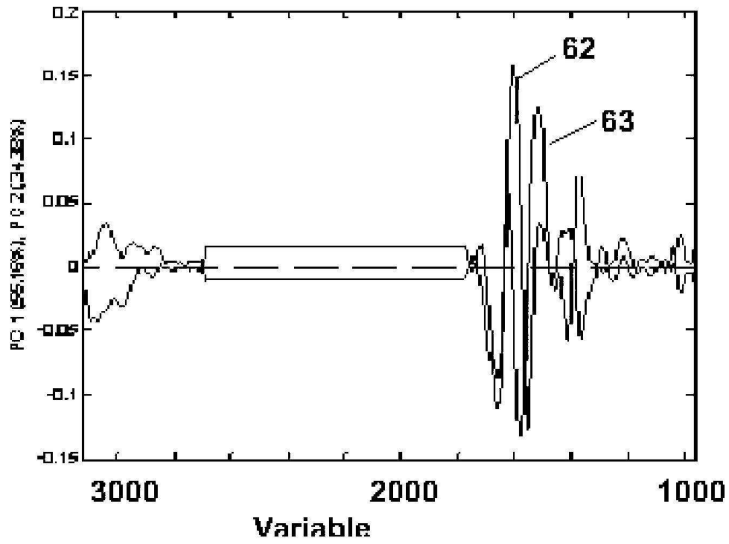
도면9c



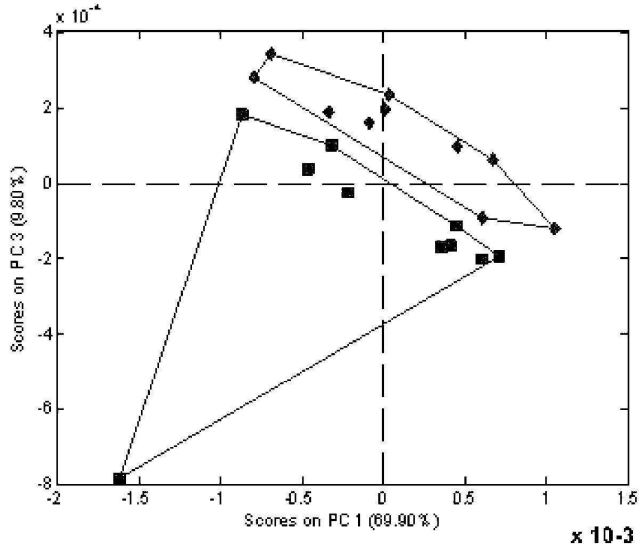
도면10a


x 10^-3
1.5
1
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
Scores on PC 2 (34.38%)
-1.5
-1
-0.5
0
0.5
1
1.5
2
2.5
Scores on PC 1 (55.16%)
x 10^-3

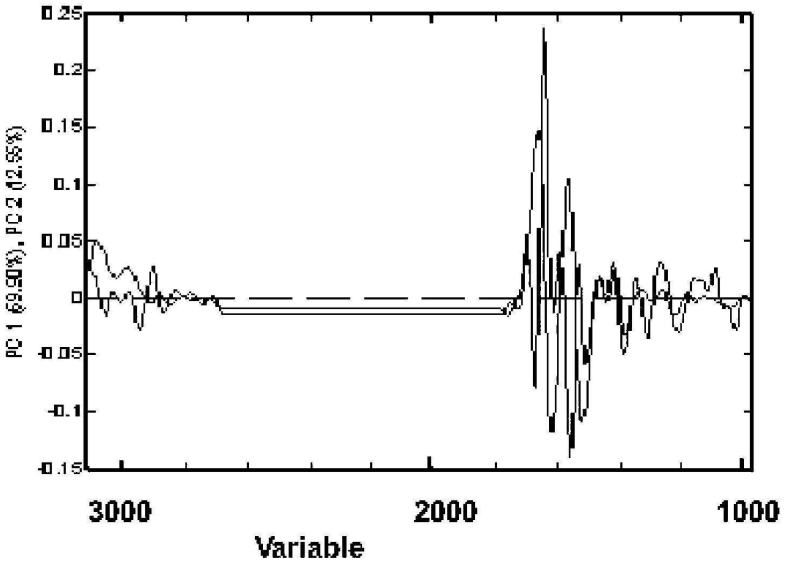
도면10b


0.2
0.15
0.1
0.05
0
-0.05
-0.1
-0.15
62
63
3000
2000
1000
Variable

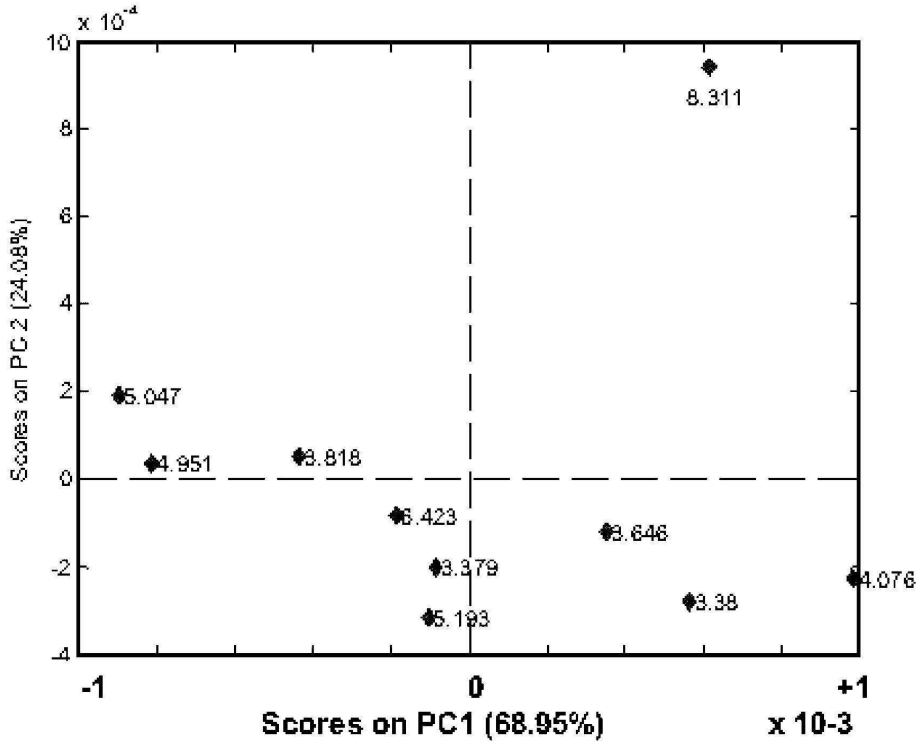
도면11a


x 10^-4
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-2
-1.5
-1
-0.5
0
0.5
1
1.5
Scores on PC 3 (9.80%)
Scores on PC 1 (69.90%)
x 10-3

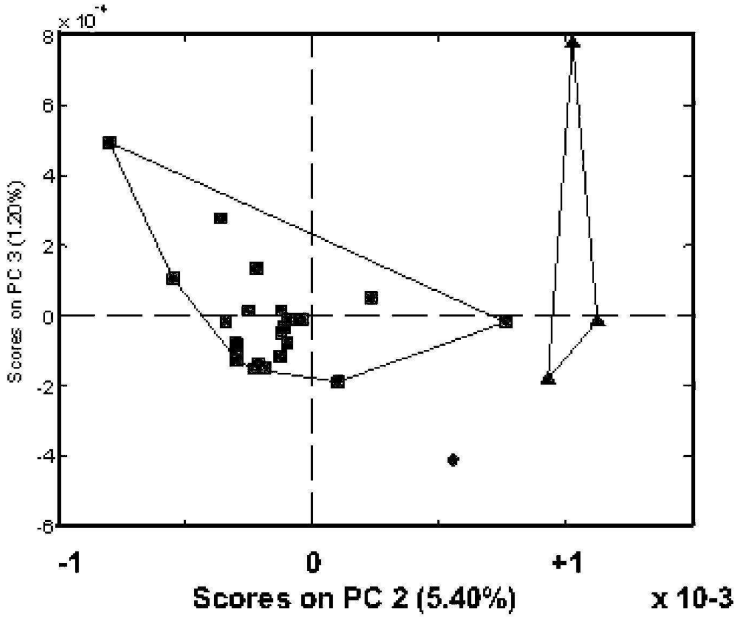
도면11b


0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
-0.05
-0.1
-0.15
PC 1 (69.90%), PC 2 (12.65%)
3000
2000
1000
Variable

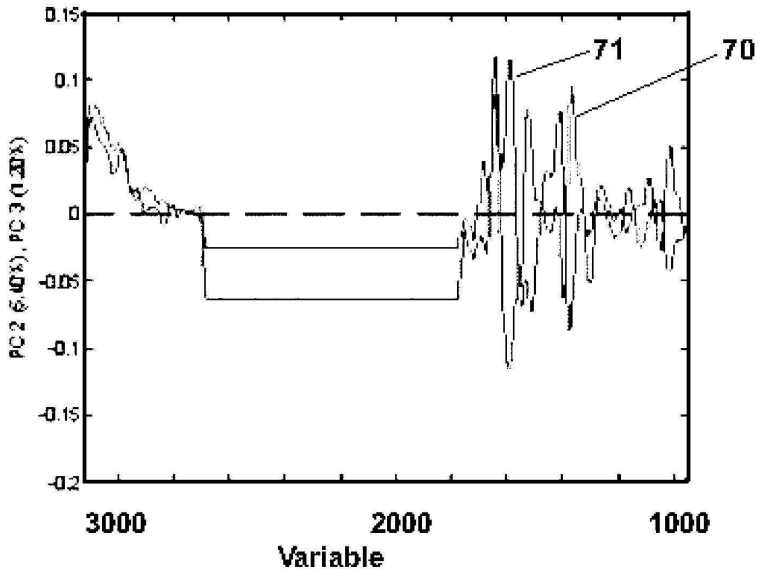
도면12


x 10-4
10
8
6
4
2
0
-2
-4
Scores on PC 2 (24.08%)
8.311
5.047
4.951
3.818
3.423
3.646
3.379
4.076
3.38
5.193
-1
0
+1
Scores on PC1 (68.95%)
x 10-3

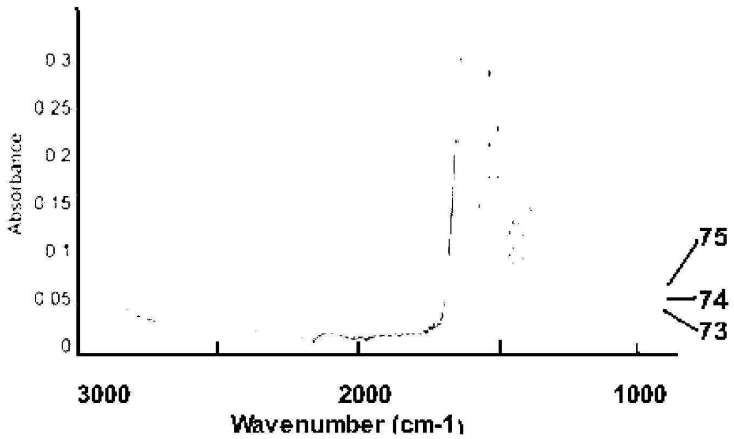
도면13a


x 10-4
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
Scores on PC 3 (1.20%)
-1
0
+1
Scores on PC 2 (5.40%)
x 10-3

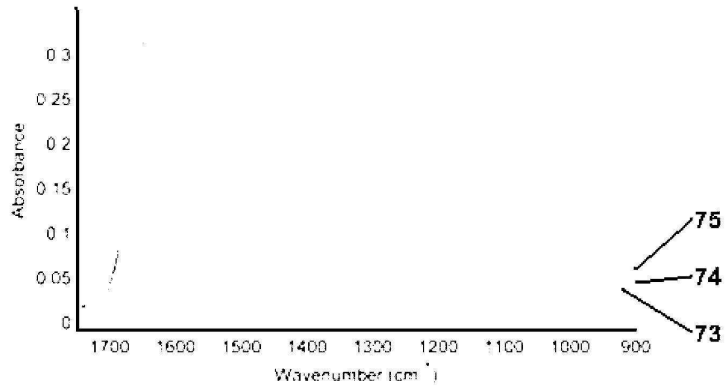
도면13b



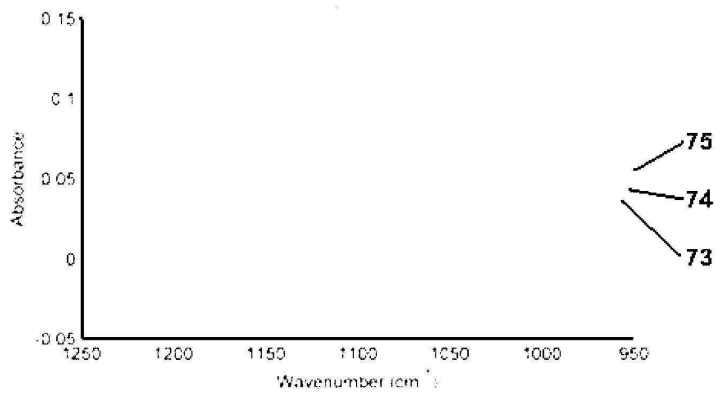
도면14a



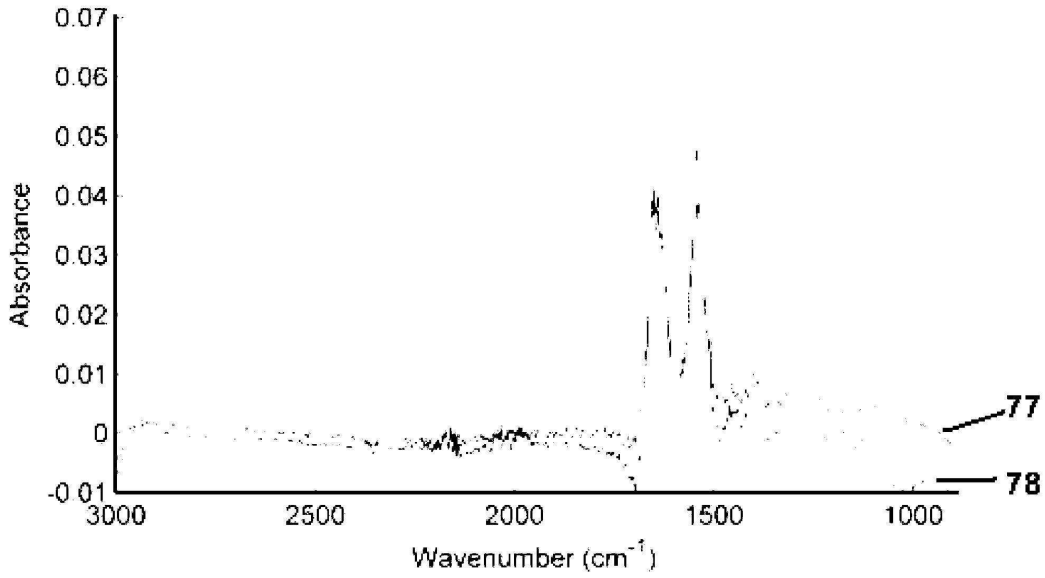
도면14b



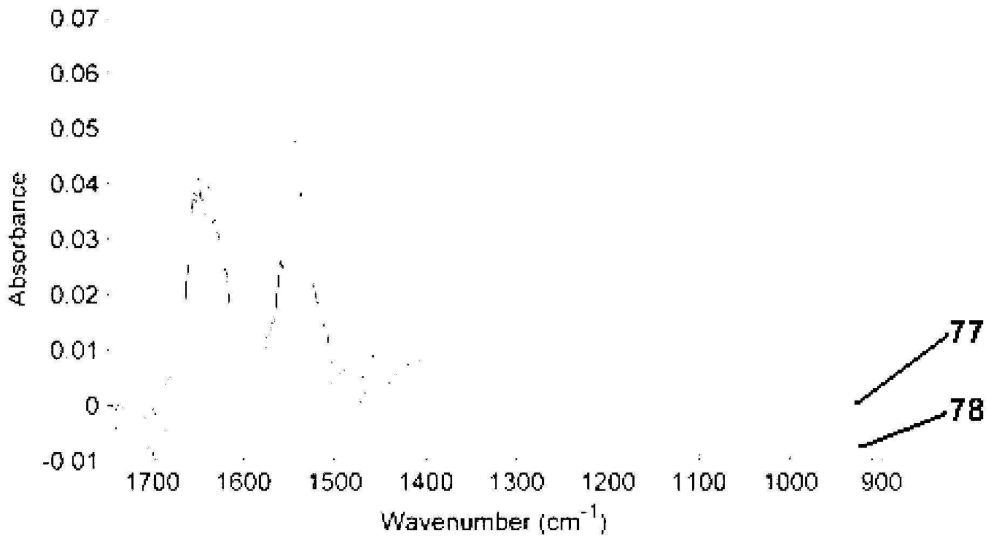
도면14c



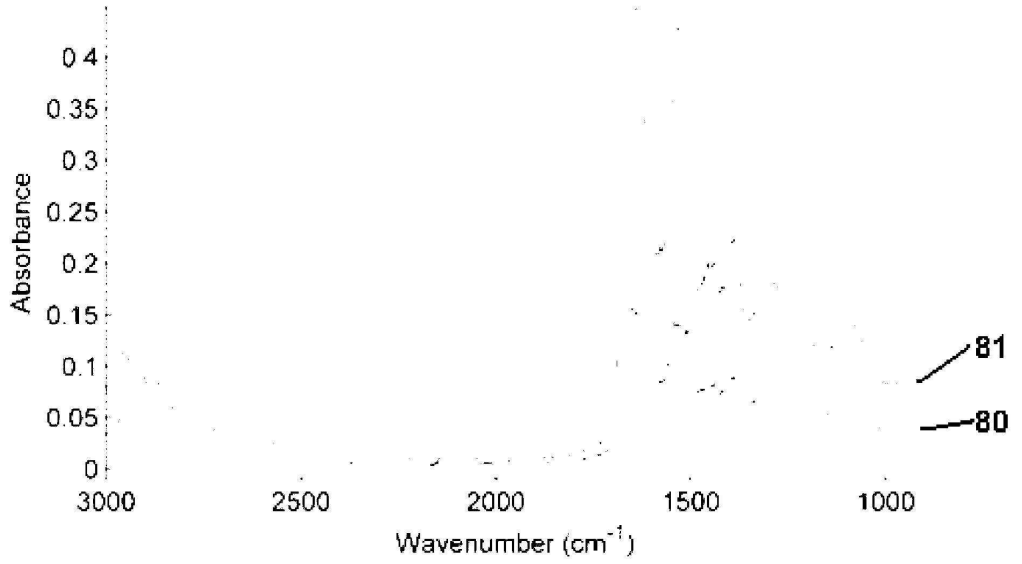
도면15a



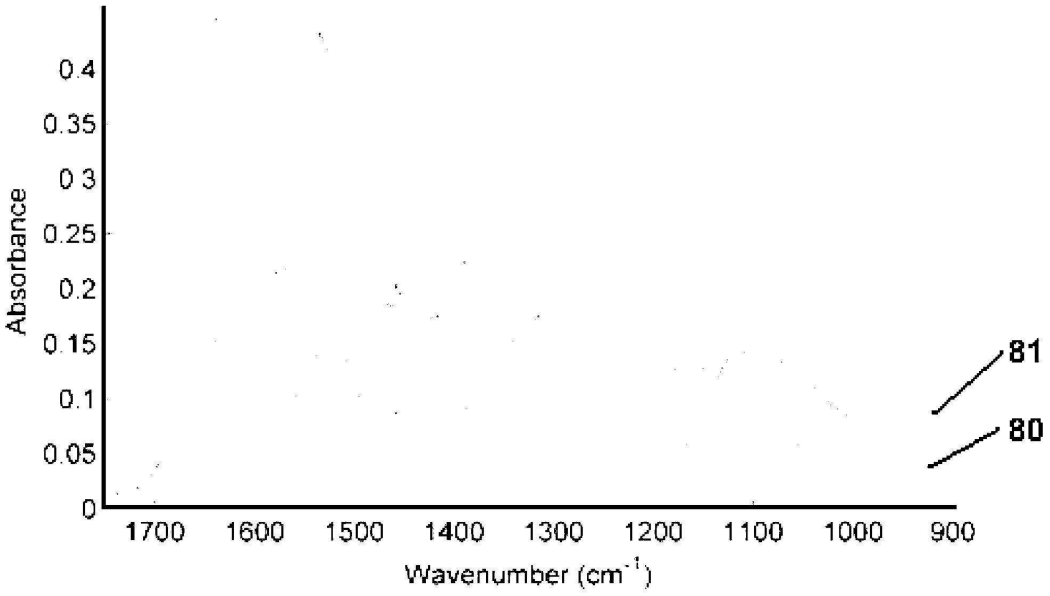
도면15b



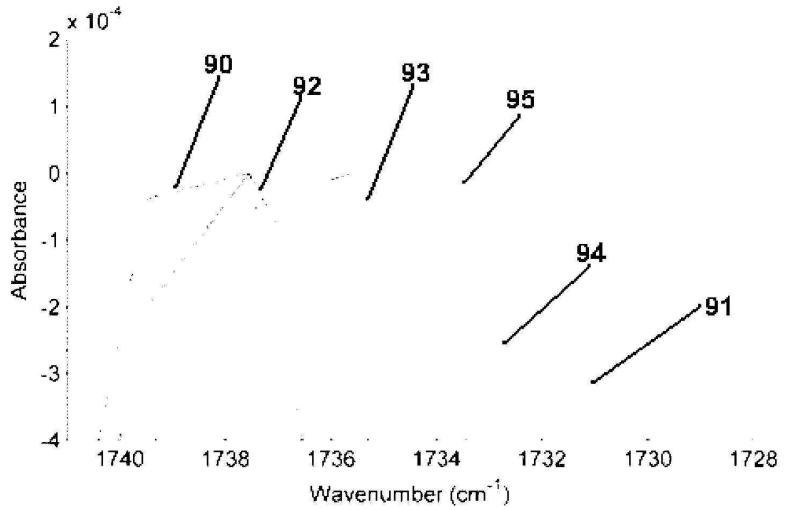
도면16a


0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
Absorbance
3000
2500
2000
1500
1000
Wavenumber (cm-1)
81
80

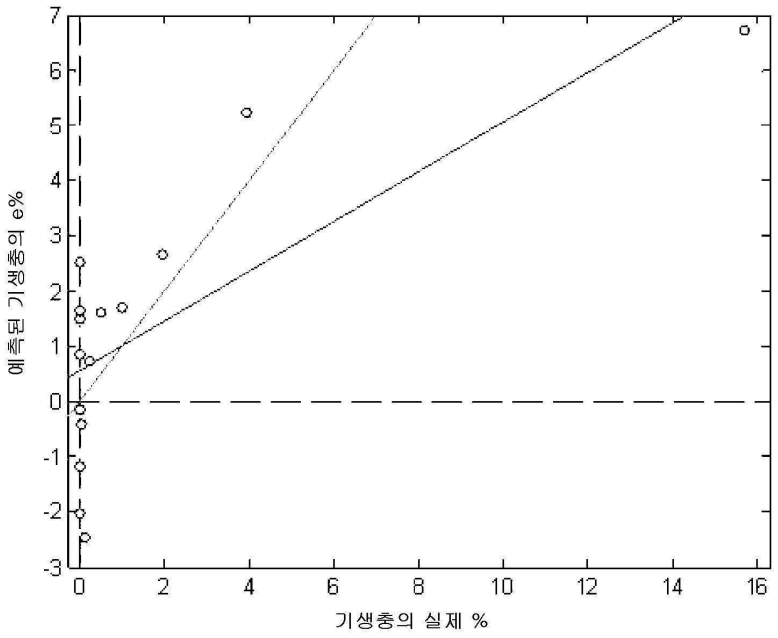
도면16b


0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
Absorbance
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
Wavenumber (cm-1)
81
80

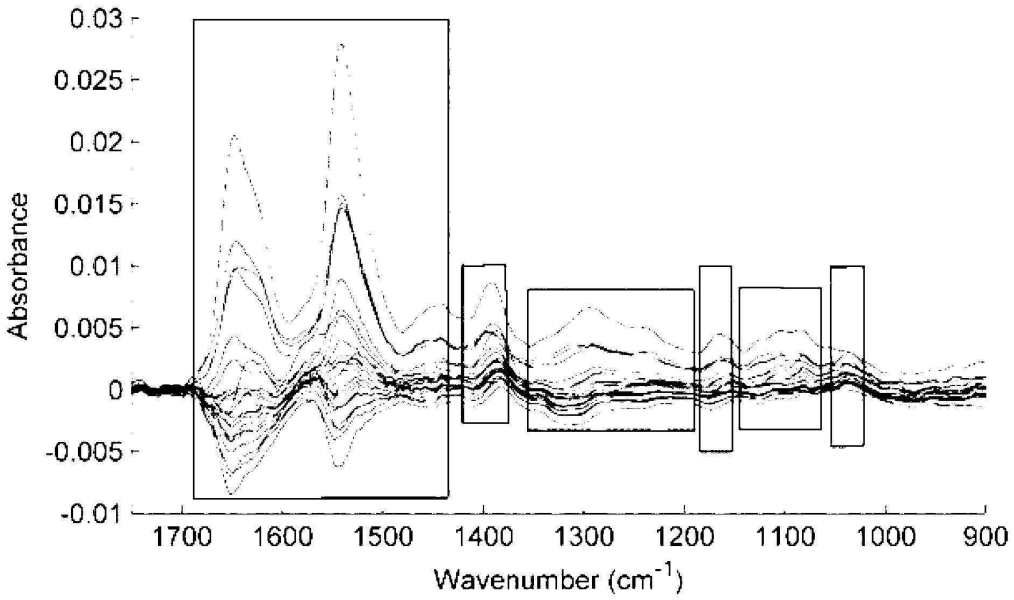
도면17


x 10^-4
2
1
0
-1
-2
-3
-4
Absorbance
90
92
93
95
94
91
1740
1738
1736
1734
1732
1730
1728
Wavenumber (cm^-1)

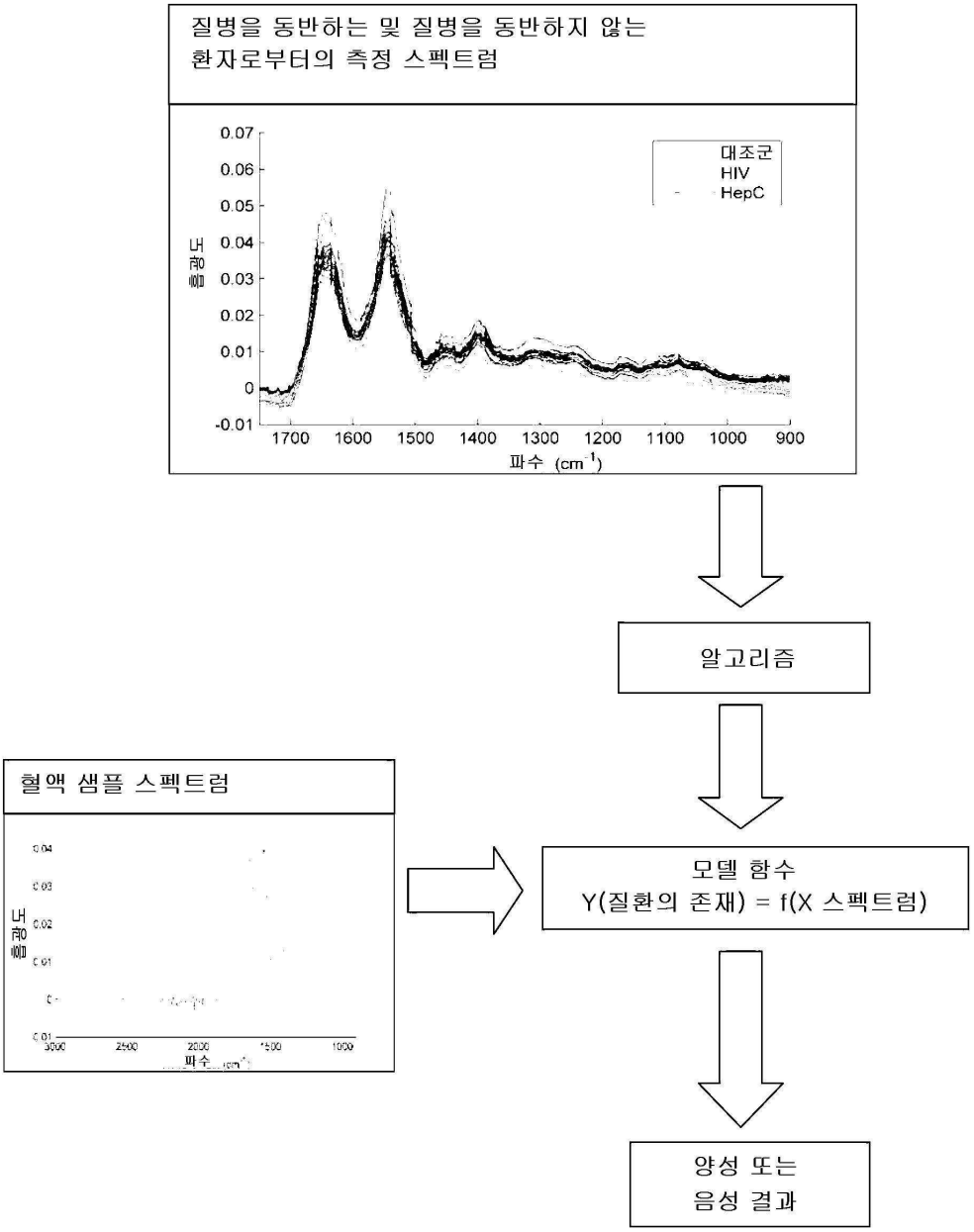
도면18


7
6
5
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
예측된 기생충의 e%
0
2
4
6
8
10
12
14
16
기생충의 실제 %

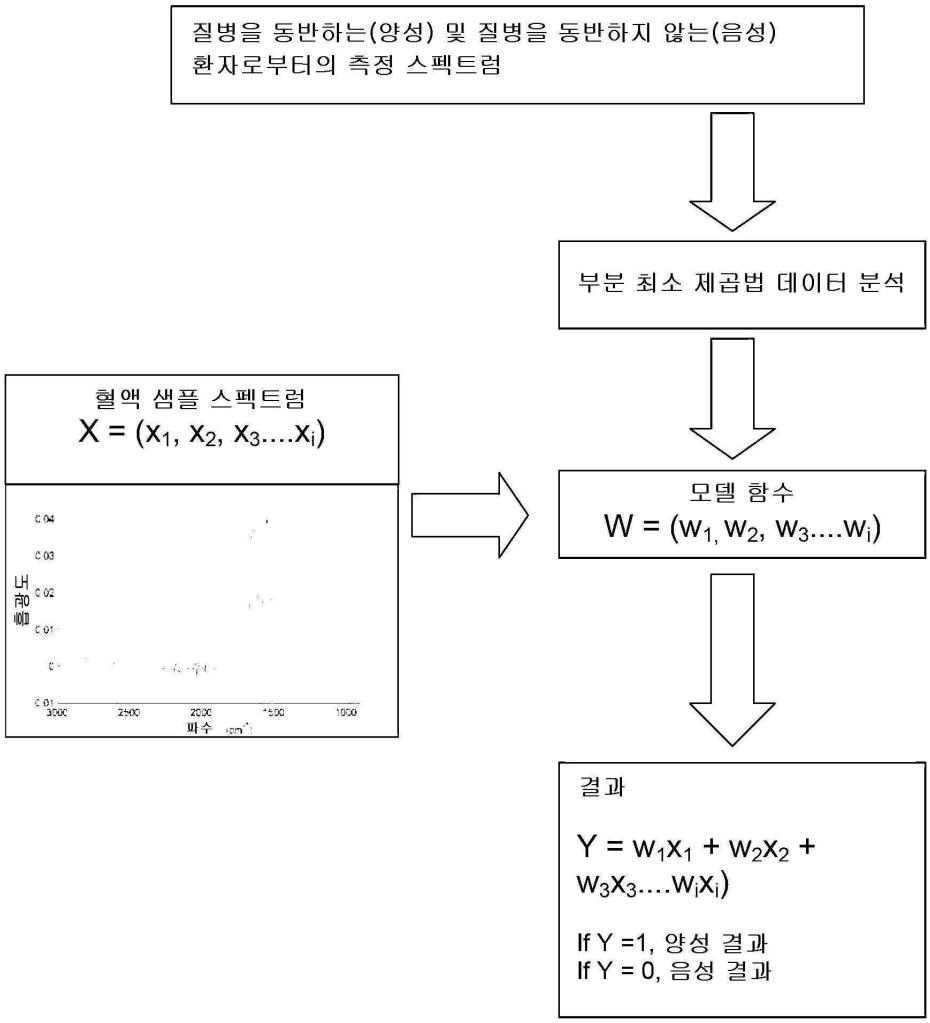
도면19


0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
-0.005
-0.01
Absorbance
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
Wavenumber (cm-1)

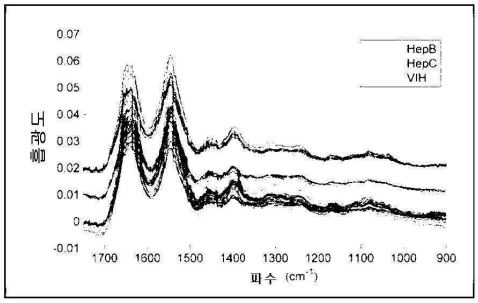
도면20


질병을 동반하는 및 질병을 동반하지 않는
환자로부터의 측정 스펙트럼
대조군
HIV
HepC
흡광
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
-0.01
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
파수 (cm-1)
알고리즘
혈액 샘플 스펙트럼
모델 함수
Y(질환의 존재) = f(X 스펙트럼)
양성 또는
음성 결과

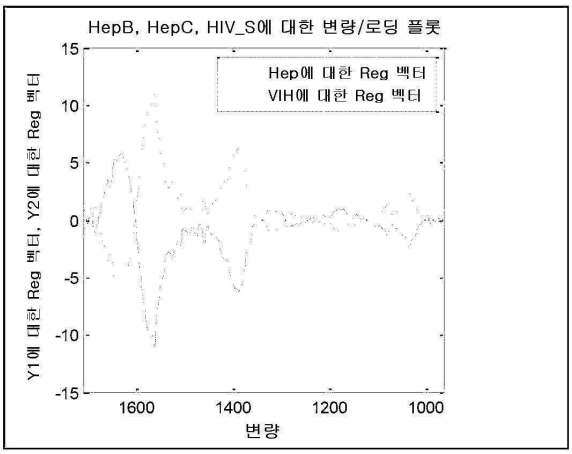
도면21


질병을 동반하는(양성) 및 질병을 동반하지 않는(음성) 환자로부터의 측정 스펙트럼
부분 최소 제곱법 데이터 분석
혈액 샘플 스펙트럼
X = (x1, x2, x3....xi)
모델 함수
W = (w1, w2, w3....wi)
결과
Y = w1x1 + w2x2 + w3x3....wixi)
If Y =1, 양성 결과
If Y = 0, 음성 결과

도면22



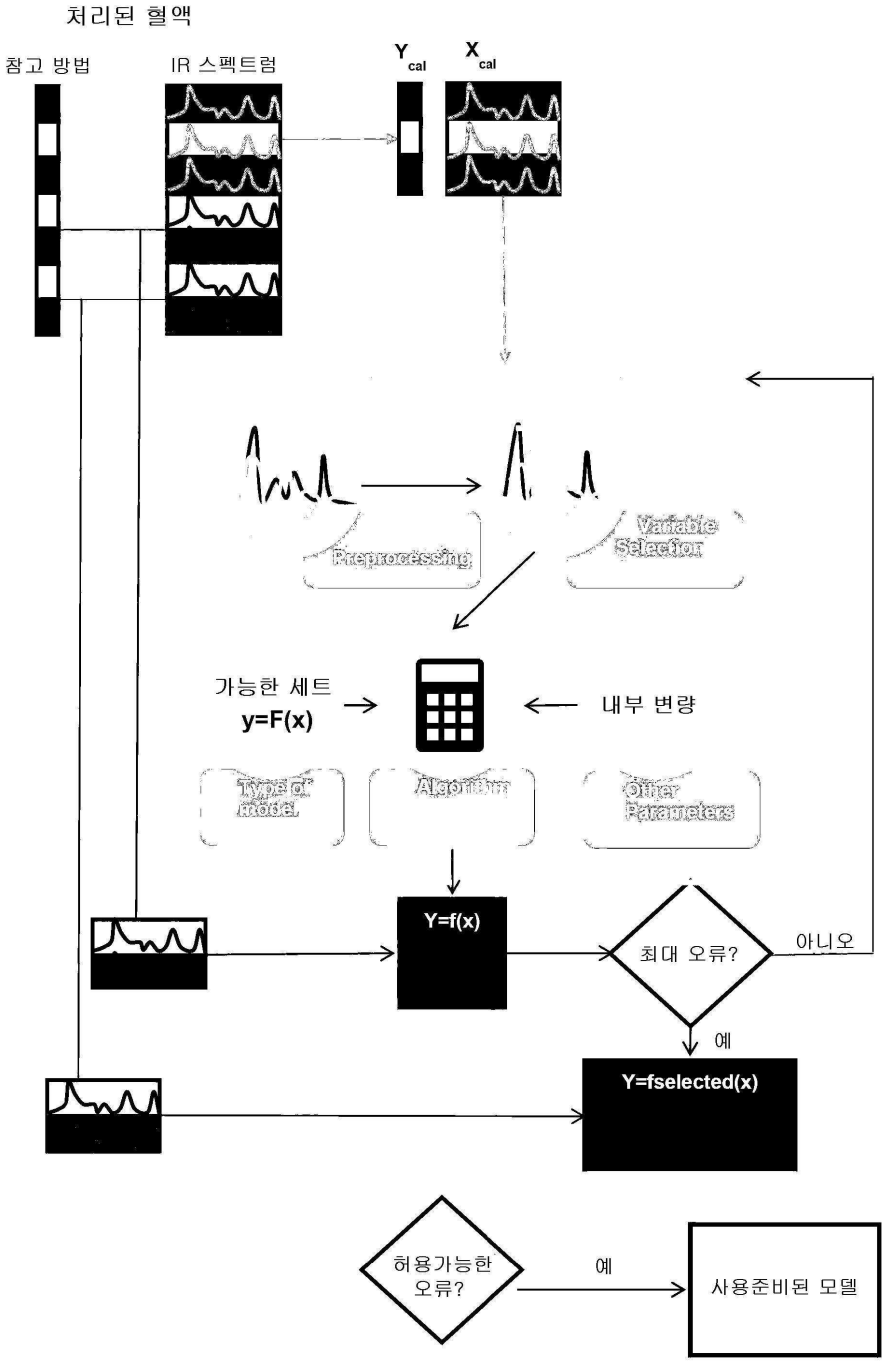
PLS



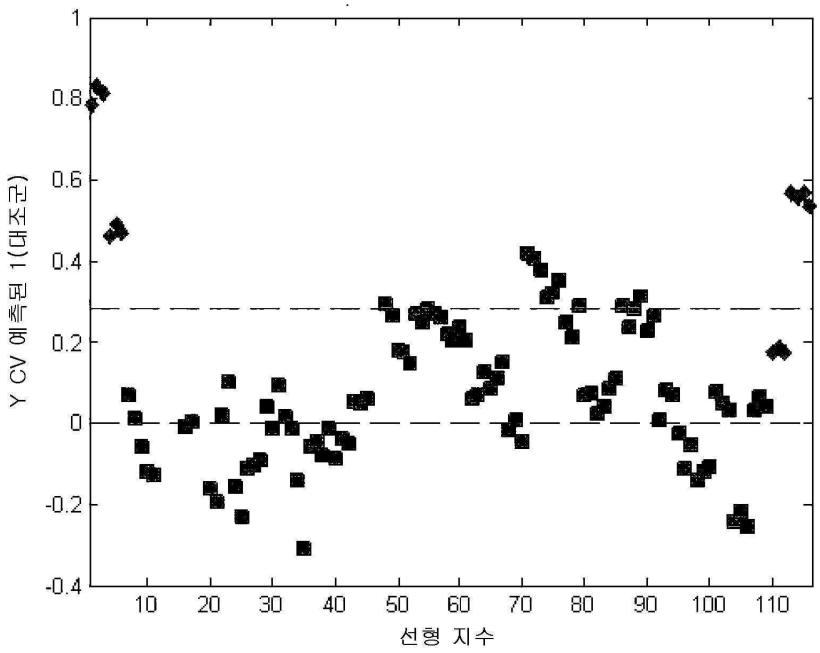
혈액 샘플

샘플	예측된 Y 값 **(Hep)**	예측된 Y 값 **(VIH)**	결과
22(Hep)	0.81	0.18	+Hep
33(VIH)	0.18	0.81	+VIH

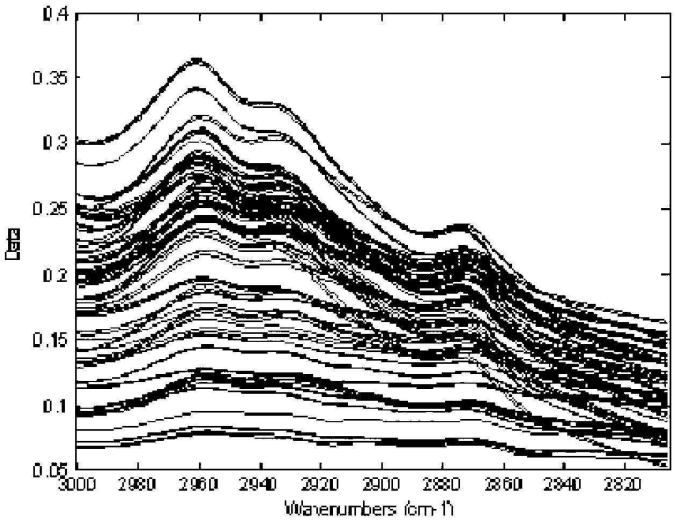
도면23


처리된 혈액
참고 방법
IR 스펙트럼
Y cal
X cal
Preprocessing
Variable Selection
가능한 세트
y=F(x)
내부 변량
Type of model
Algorithm
Other Parameters
Y=f(x)
최대 오류?
아니오
예
Y=fselected(x)
허용가능한 오류?
예
사용준비된 모델

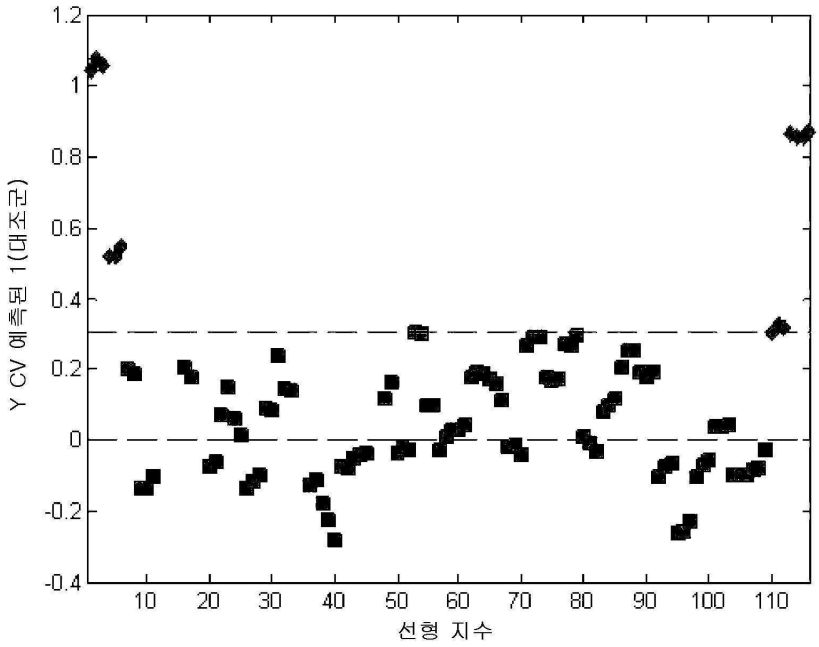
도면24



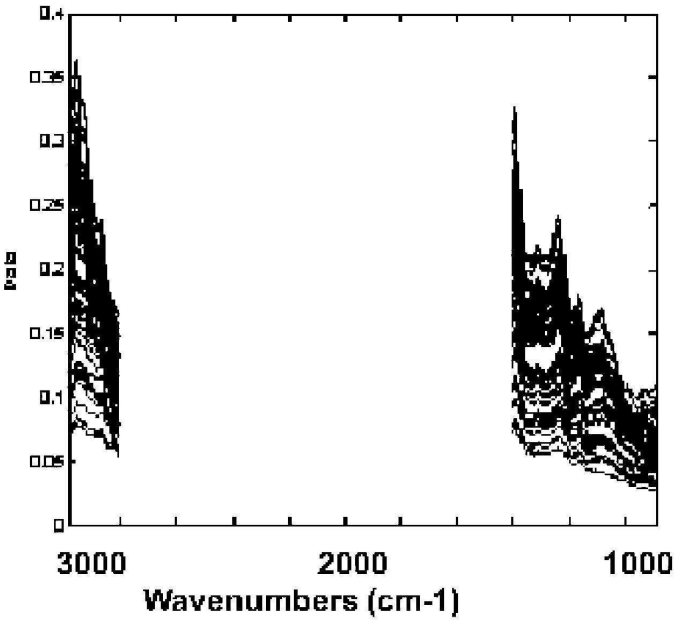
도면25



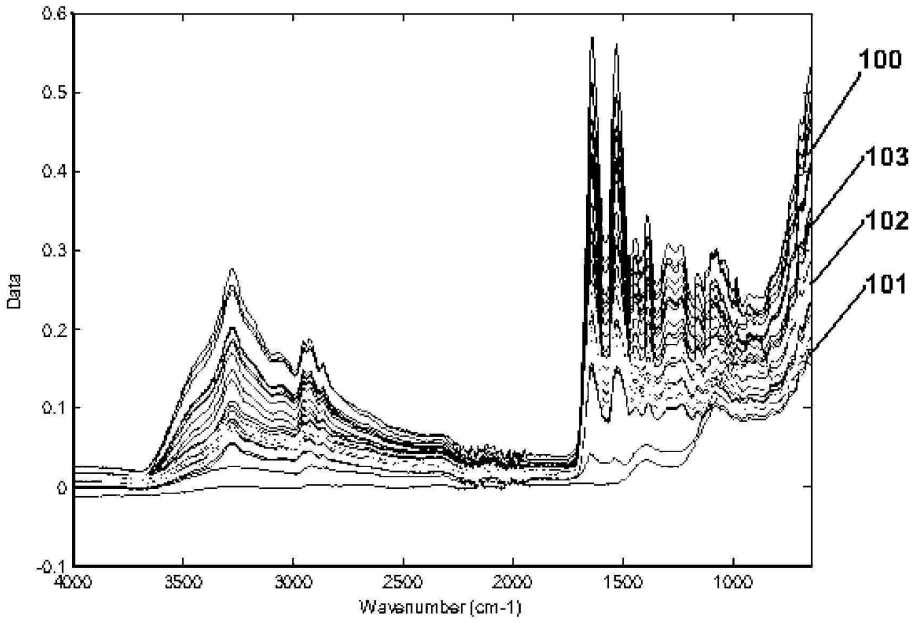
도면26



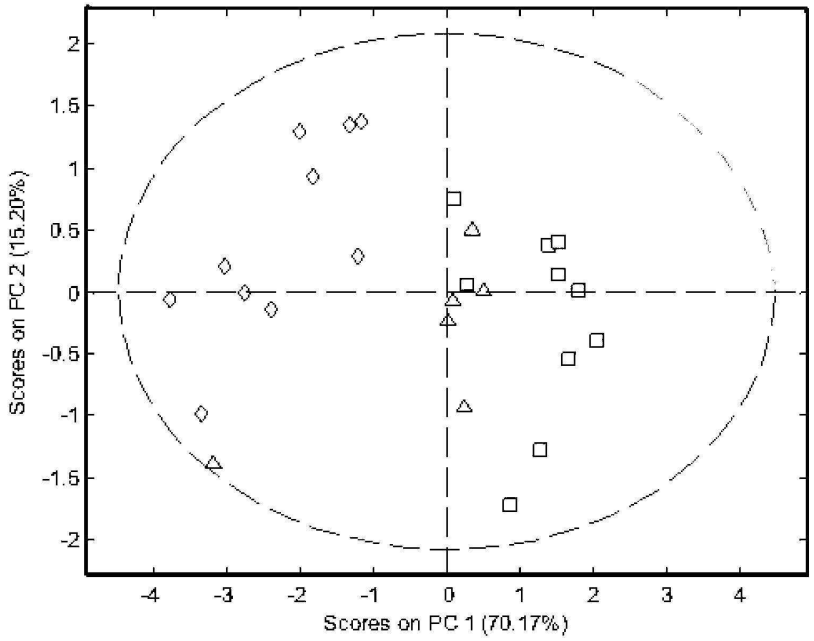
도면27



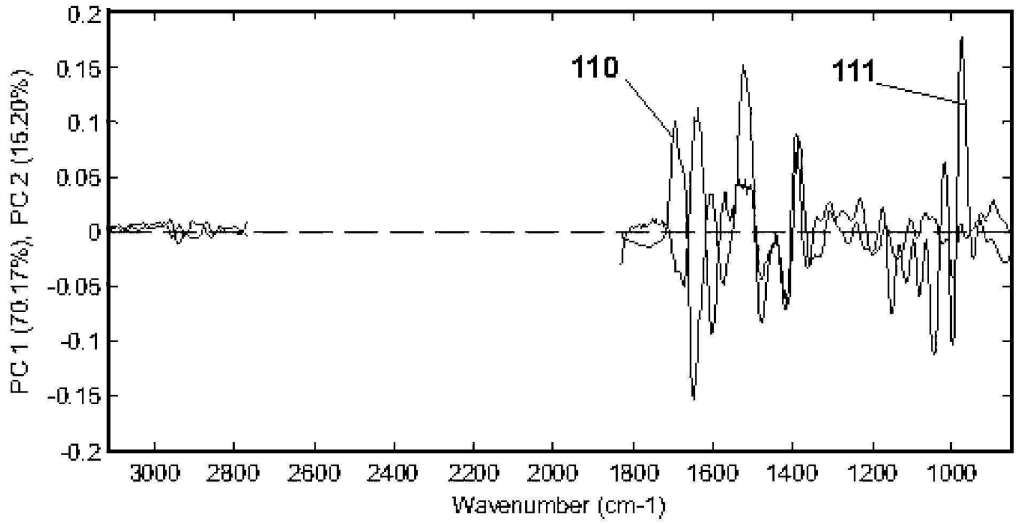
도면28


100
103
102
101
Data
Wavenumber (cm-1)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
-0.1
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000

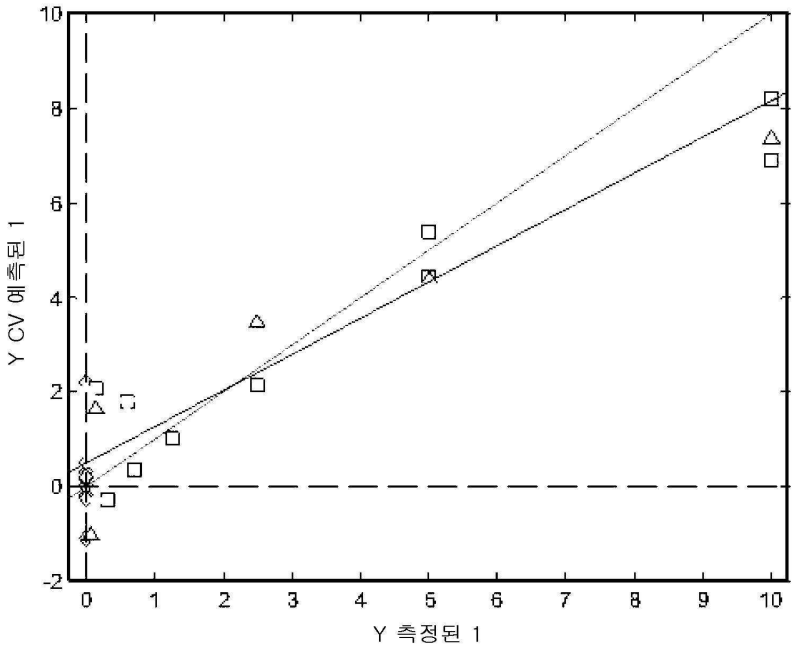
도면29a


Scores on PC 2 (15.20%)
Scores on PC 1 (70.17%)
2
1.5
1
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-4
-3
-2
-1
0
1
2
3
4

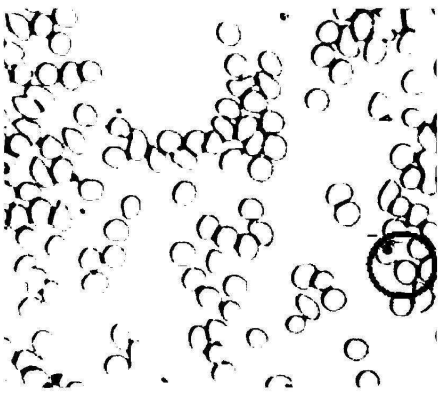
도면29b



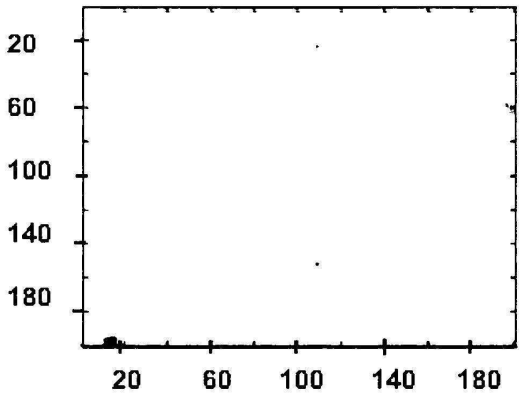
도면30



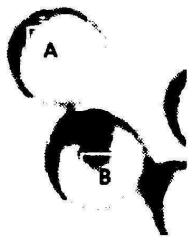
도면31a



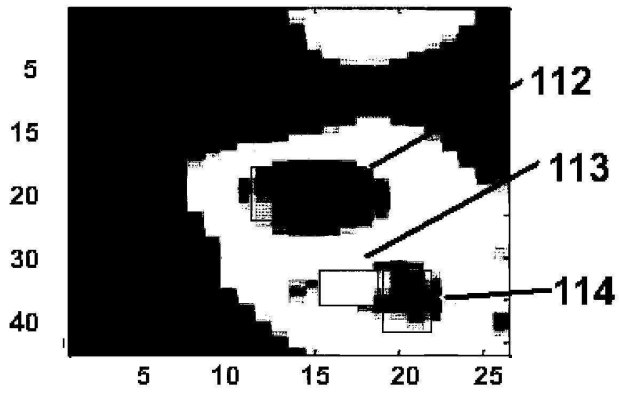
도면31b



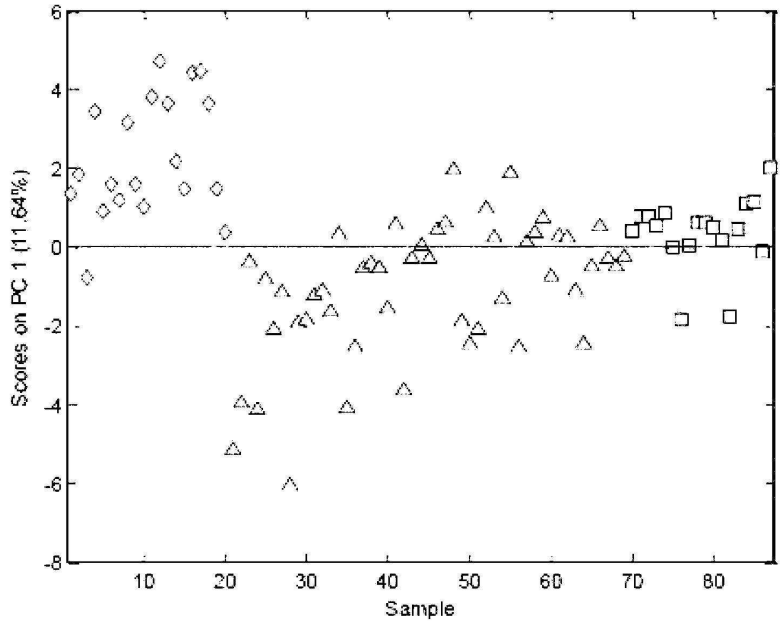
도면31c



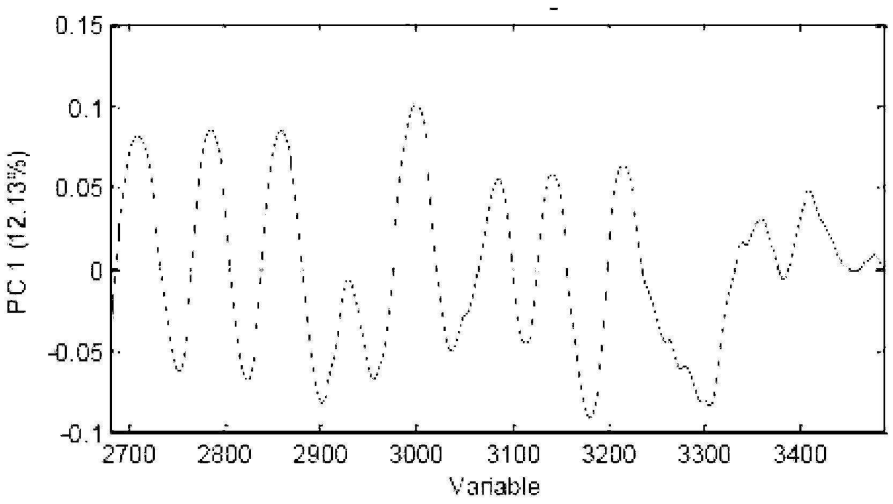
도면31d



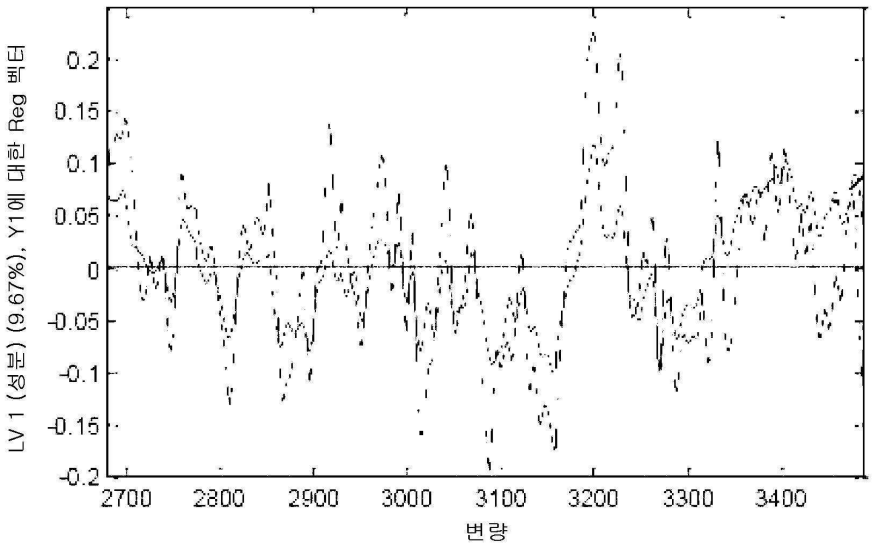
도면32


Scores on PC 1 (11.64%)
Sample
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
10
20
30
40
50
60
70
80

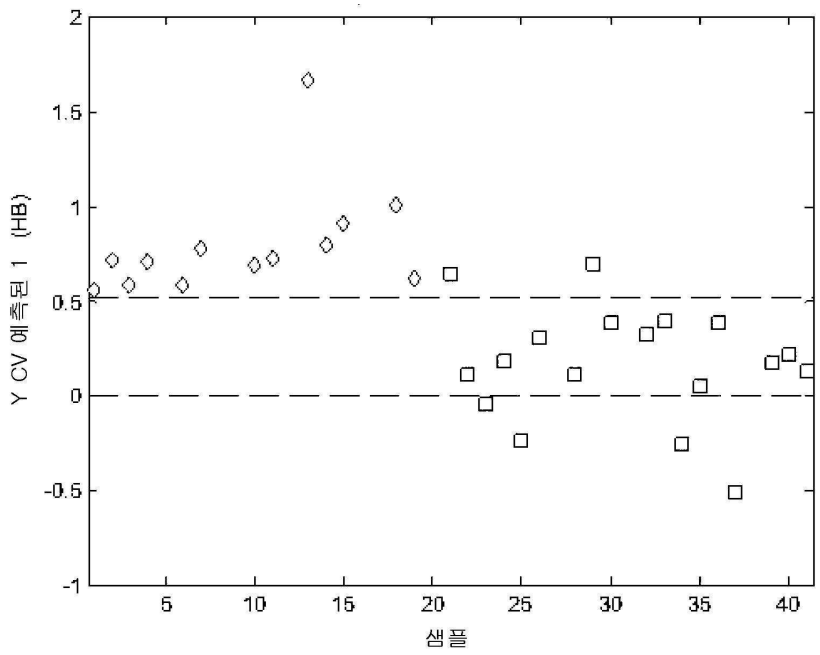
도면33


PC 1 (12.13%)
Variable
0.15
0.1
0.05
0
-0.05
-0.1
2700
2800
2900
3000
3100
3200
3300
3400

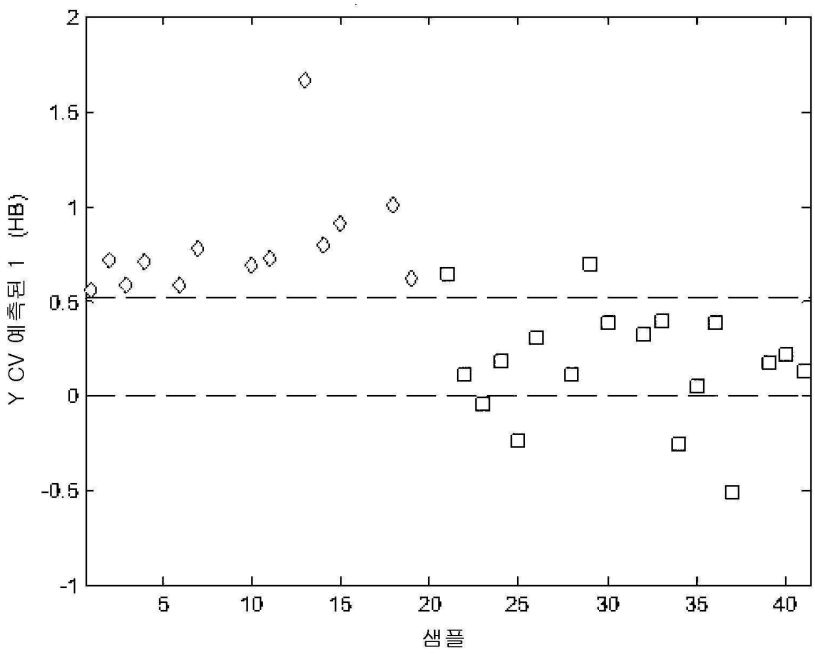
도면34


LV 1 (성분) (9.67%), Y1에 대한 Reg 벡터
0.2
0.15
0.1
0.05
0
-0.05
-0.1
-0.15
-0.2
2700
2800
2900
3000
3100
3200
3300
3400
변량

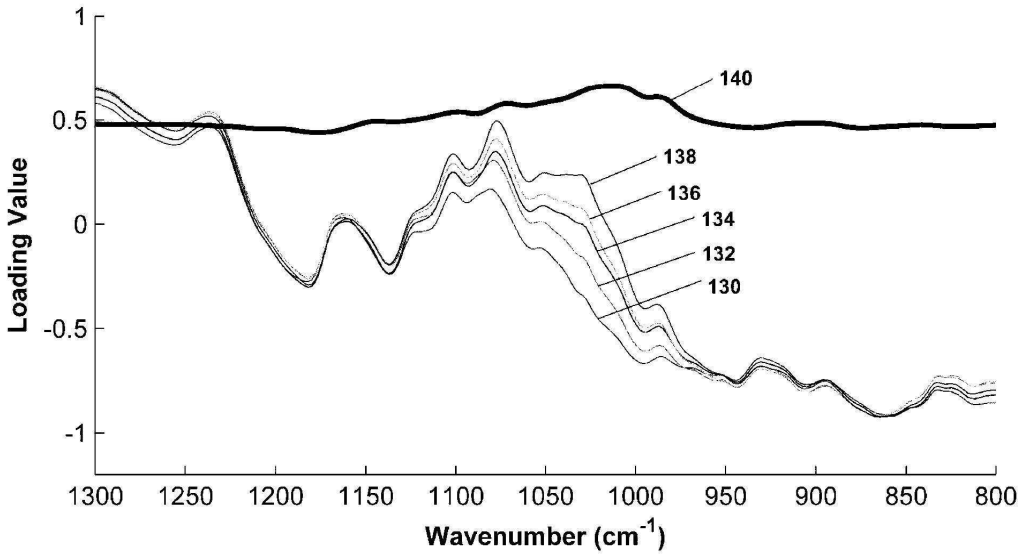
도면35


Y CV 예측된 1 (HB)
2
1.5
1
0.5
0
-0.5
-1
5
10
15
20
25
30
35
40
샘플

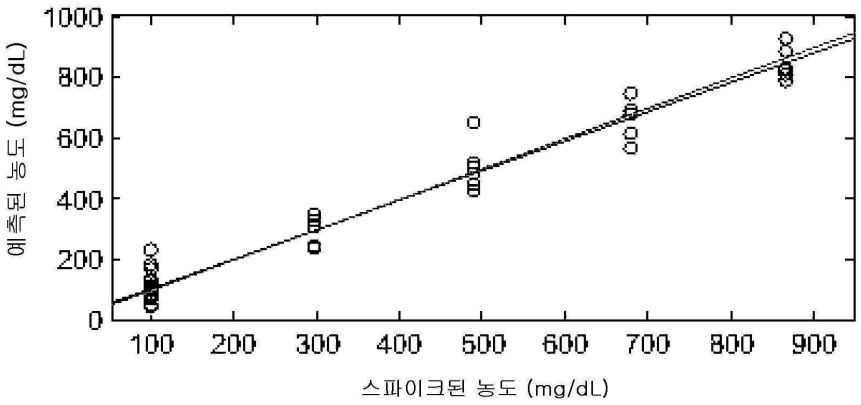
도면36


Y CV 예측된 1 (HB)
샘플
2
1.5
1
0.5
0
-0.5
-1
5
10
15
20
25
30
35
40

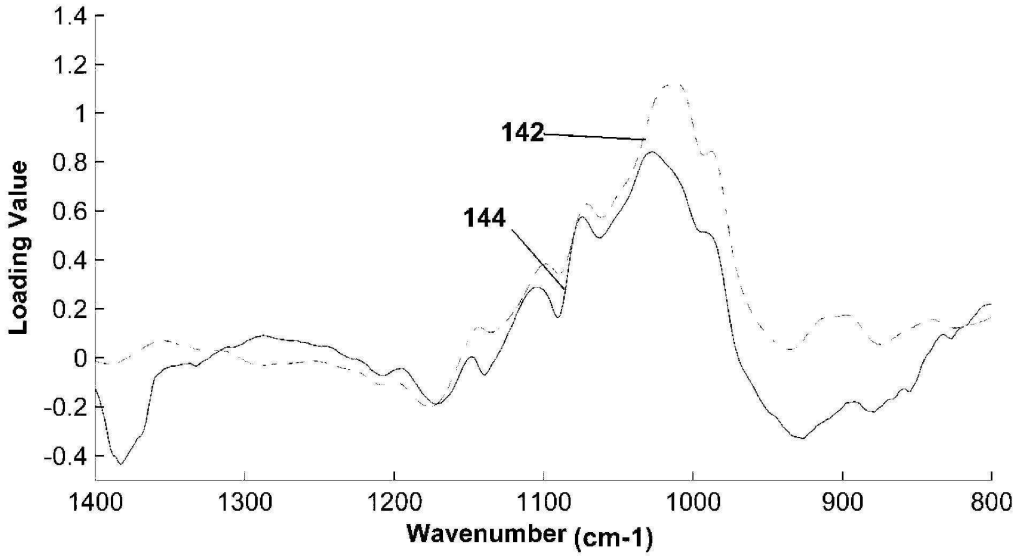
도면37


Loading Value
Wavenumber (cm-1)
140
138
136
134
132
130
1
0.5
0
-0.5
-1
1300
1250
1200
1150
1100
1050
1000
950
900
850
800

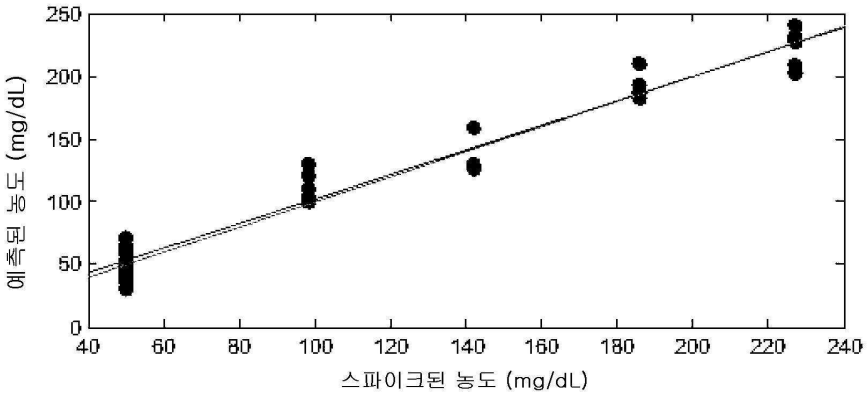
도면38



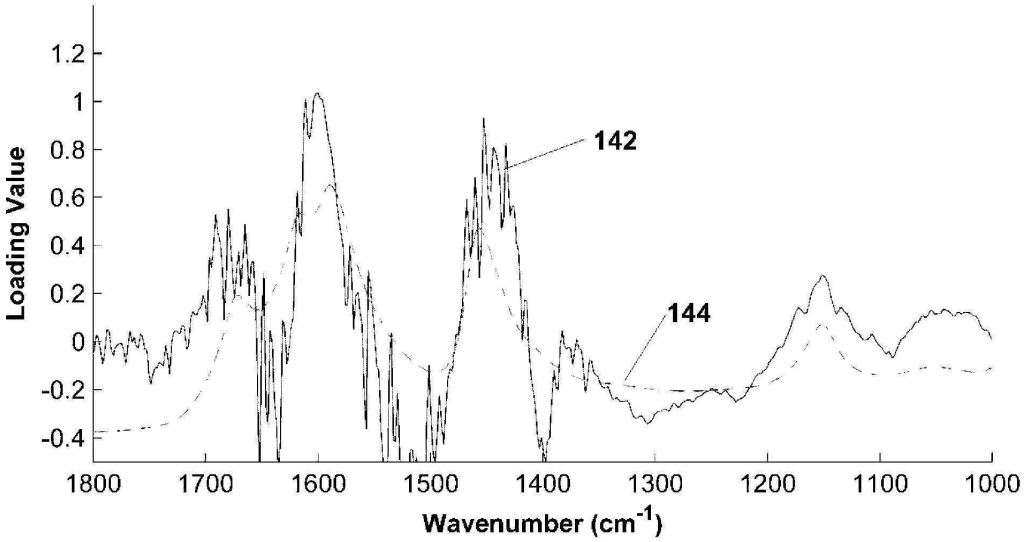
도면39



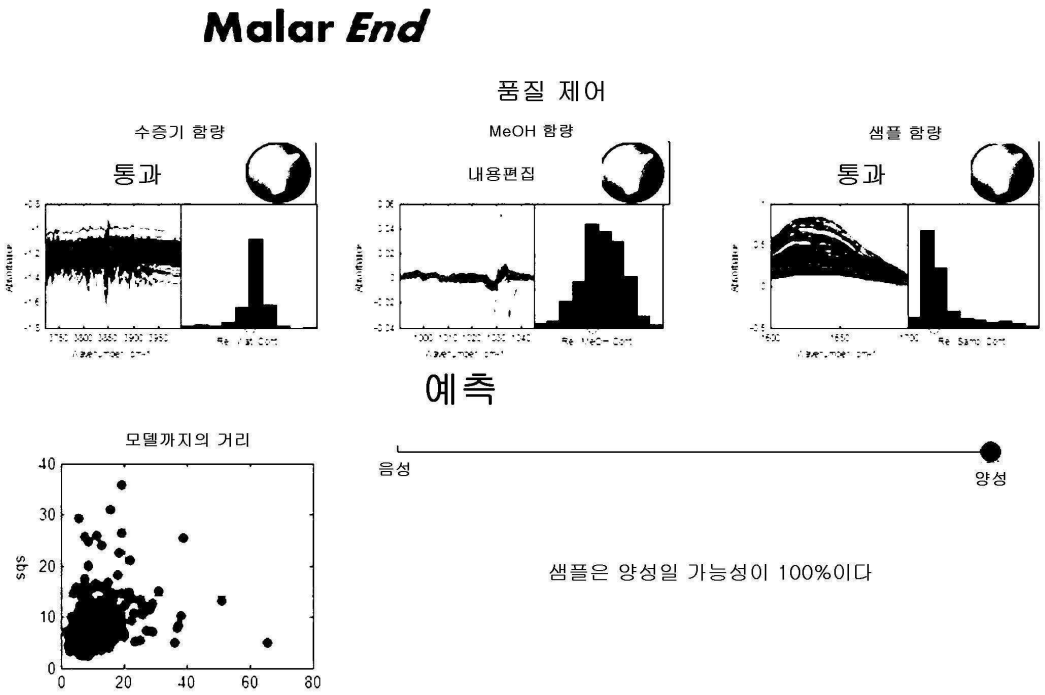
도면40



도면41


Loading Value
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
-0.4
142
144
1800
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
Wavenumber (cm-1)

도면42


Malar End
품질 제어
수증기 함량
통과
MeOH 함량
내용편집
샘플 함량
통과
예측
모델까지의 거리
sqs
음성
양성
샘플은 양성일 가능성이 100%이다