(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl. [7]
C12Q 1/04

(11) 공개번호 특2002-0034171
(43) 공개일자 2002년05월08일

(21) 출원번호 10-2002-7001280
(22) 출원일자 2002년01월29일
번역문 제출일자 2002년01월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2000/16487
(86) 국제출원출원일자 2000년06월15일
(87) 국제공개번호 WO 2001/09371
(87) 국제공개일자 2001년02월08일

(81) 지정국 국내특허 : 오스트레일리아, 캐나다, 일본, 대한민국, 미국,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 리히텐슈타인, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 핀랜드, 사이프러스,

(30) 우선권주장 09/364,903 1999년07월30일 미국(US)
09/502,678 2000년02월11일 미국(US)

(71) 출원인 악조 노벨 엔.브이.
네덜란드 엔엘-6800 엘에스 아르넴 피.오.박스 186 벨페르베그 76

(72) 발명자 맷서머라폴엠.
미국노쓰캐롤라이나27513캐리킹스우드드라이브600
하이맨존스엠.
미국노쓰캐롤라이나27703더럼사우스엥겔스코트55
제프리스코트알.
미국노쓰캐롤라이나27613롤리빅토리아우즈드라이브12712
메어쉬마틴제이.
미국노쓰캐롤라이나27712더럼드레이톤코트3
쏘프써맨씨.
미국노쓰캐롤라이나27712더럼립스컴드라이브6712
배론윌리암쥐.
미국노쓰캐롤라이나27503바하마사이더밀로드23

(74) 대리인 이영필
권석흠

심사청구 : 없음

(54) 미생물의 검출, 정량 및 특징화를 위한 장치 및 방법

요약

동일한 장치 내에서 어떠한 순서로 또는 동시에 복수의 미생물 테스트를 수행하기 위한 방법을 개시한다. 이 방법은 미생물의 검출 및/또는 계수 테스트를 수행하는 단계를 포함하는데, 이는 하나 이상의 테스트 샘플을 각각의 검출 플레이트에 가하고, 상기 각각의 플레이트를 장치의 홀더 내에 또는 위에 놓고 장치 내에서 배양하고, 그리고 배양하는 동안 그리고/또는 그 후에 각 플레이트를 장치 내의 영상처리 소자(imaging device)에 의해 영상처리하여, 미생물 콜로니의 존재 여부 및/또는 얼마나 많은 미생물 콜로니가 존재하는지를 결정하는 것을 특징으로 한다. 이 방법은 또한 미생물의 감수성 및/또는 동정 테스트를 수행하는 단계를 포함하는데, 만약 감수성 테스트를 수행하는 경우라면, 미생물을 함유하는 하나 이상의 샘플을 각각의 감수성 플레이트에 가하고, 그 전 또는 그 후에 하나 이상의 항생제를 플레이트에 가하고, 상기 각각의 플레이트를 장치의 홀더 내에 또는 위에 놓고 장치 내에서 배양하고, 그리고 각 플레이트를 (a) 단계의 영상처리 소자와 같은 또는 다른 영상처리 소자에 의해 영상처리하여, 미생물 생장이 억제되었는지 그리고/또는 얼마나 억제되었는지를 결정하는 것을 특징으로 하고, 만약 동정 테스트를 수행하는 경우라면, 미생물을 함유하는 하나 이상의 샘플을 미생물에 대한 기질을 함유하는 각각의 동정 플레이트에 가하고, 상기 각각의 플레이트를 장치의 홀더 내에 또는 위에 놓고 장치 내에서 배양하고, 그리고 각 플레이트를 (a) 및/또는 (b) 단계의 영상처리 소자와 같은 또는 다른 영상처리 소자에 의해 영상처리하여, 각 플레이트 상의 미생물을 분류하고 그리고/또는 동정하는 것을 특징으로 한다. 대표도는 다기능 장치의 주요 구성요소의 블록 다이아그램을 나타낸다.

대표도

도 1

명세서

기술분야

본 출원은 1997년 12월 12일에 출원된 제프리(Jeffrey) 등의 미국 특허출원 08/989,560 및 1999년 3월 12일에 출원된 마츠무라(Matsumura) 등의 미국 특허출원 09/267,863의 관련출원이며, 상기 각 출원은 본 명세서에 참고문헌으로 포함되어 있다.

배경기술

임상 가검물에서 미생물 감염의 존재는, 종래에는, 영양소의 존재 하에서 가검물을 배양하고, 일정 시간 후에 그 가검물 상의 대기 중의, 또는 가검물 내의 변화를 통하여 미생물 활성을 검지함으로써 결정하였다. 예를 들어, 아넬(Ahnell)의 미국 특허 4,812,656에서는, 샘플을 탄소 13으로 표지된 발효가능 기질(substrate)을 포함하는 배양 배지가 들어 있는 용기 내에 넣는다. 이 용기를 밀봉하고, 그 가검물을 생물학적 활성을 촉진하는 조건에 놓이게 한 후, 가검물 위의 대기 가스의 탄소 13과 탄소 12의 비율을 측정하여, 초기 비율과 비교한다. 미국 특허 4,152,213에서는, 용기 내의 가스 압력을 모니터링하는 것을 통하여 가검물 상의 대기 내의 산소량의 감소를 검지함으로써, 밀봉된 용기 내에서 가검물 내의 산소 소비 박테리아의 존재를 측정하는 방법을 청구하고 있다. 미국 특허 4,073,691는 가검물 상의 대기 가스에 대해 일정 시간 주기 후의 특성의 변화를 측정함으로써 배양 배지를 포함하는 밀봉된 용기 내에서 박테리아를 포함하는 생물학적 활성을 갖는 인자의 존재를 결정하는 방법을 제공한다.

미국 특허 5,094,955에서는 Calandra 등에 의해 비-침입성 검출 방법이 교시되어 있는데, 이 방법에서는 투명 밀봉 용기 내에서 멸균 액체 생장 배지로서 가검물을 배양하여, 비-임상적 가검물 내에서 그리고 혈액 또는 기타 체액과 같은 임상 가검물 내에서 미생물의 존재를 검출하기 위한 장치를 개시하고 있다. 미생물의 존재는, 용기의 내부 표면에, 또는 용기를 밀봉하는 데 사용되는 밀봉 수단에 부착된 센서를 이용하여, 가검물 내의 이산화탄소의 생성 또는 가검물의 pH의 변화를 측정 또는 검지함으로써 결정한다. Caladra 등에 의하면, 고농도의 적혈구 세포와 같은 방해 물질의 존

재 하에서도 비-방사분석적이고(non-radiometric)가 아닌 비-침입적인 수단을 통하여 미생물을 검출할 수 있다.

Calandra 등의 검출 시스템의 한가지 단점은, 미생물의 존재를 검출하는 데 요구되는 시간이 샘플 내의 미생물의 수에 상대적이라는 것이다. 또한, 미생물에 대한 생장 배지가 액체이기 때문에, 인큐베이션하는 동안 통상적으로는 반드시 용기를 교반해주어야 하며, 이것은 인큐베이션 설비를 만드는데 포함되는 비용을 추가시킬 뿐만 아니라, 기계의 파손의 가능성 역시 증가시킨다. 또한 상기 기계는 미생물 존재는 측정 가능하지만, 미생물의 수를 측정할 수는 없다. 더욱이, 미생물의 검출 후, 미생물을 동정하고 그리고/또는 다양한 항생제에 대한 감수성을 측정해야할 경우가 종종 있다. Calandra-형 시스템에서는, 감수성 또는 동정 테스트를 수행하기 전에 액체 배양 배지로부터 미생물을 떠 낼 필요가 있으며, 이는 추가의 시간을 유발하는데, 환자의 상태가 매우 심각할 경우에는 이러한 시간이 항상 허용가능한 것은 아니다. 또한, Calandra-형 시스템은 항생제 감수성 및/또는 미생물 동정을 위해 플레이트를 판독/영상처리하는 부가적인 기능을 수행할 수는 없었다.

환자의 샘플에서 미생물을 검출하고 나서, 어떠한 항생제에 대하여 그 미생물이 민감한지를 측정하는 것이 요구될 경우가 종종 있다. 하나 이상의 부류의 항균제에 대해 내성을 점점 더 많이 보여주는 수많은 박테리아 종들이 있으므로, 감수성 테스트를 수행하는 것은 훨씬 더 중요하다. 환자의 분리물에서 항균 내성을 정확하게 예측하기 위한 구체적인 감수성 테스트의 실패는, 미생물이 민감하지 않은 항생제를 사용하는 경우에 환자의 치료에 상당한 영향을 미칠 수 있다.

상이한 유형의 감수성 테스트들이 미생물을 테스트하는 데 사용될 수 있다. 이하의 간단한 설명은 본 발명에 대한 상세한 설명일 뿐 아니라 몇몇 공지된 감수성 테스트에 대한 상세한 설명을 제공한다.

감수성 테스트의 한 유형은 디스크 확산 시험(disk diffusion test)으로서, 종종 Kirby-Bauer 테스트라고도 한다. 이것은 겔 플레이트(예를 들어, 150-mm Mueller-Hinton 한천 플레이트)를 (미생물 분리물의 0.5 McFarland 표준화 현탁액으로) 접종하고, 그 위에 고정된 농도의 항생제가 주입된 하나 이상의 디스크를 배치하는 과정을 포함하는 표준화된 테스트이다. 배양(예를 들어, 35℃에서 18-24 시간) 후, 디스크 주위의 억제 영역(inhibition zone)의 직경은, (그것이 존재하는 경우) 각 디스크 내에 주입된 특정 항균제에 대한 접종된 미생물의 민감도를 결정한다. Kirby-Bauer 법은 표준화되어 있으므로, 이 방법의 결과는 억제 영역의 직경을 항미생물 디스크 감수성 테스트를 위한 실행 표준(Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing)에서 NCCLS(National Commitee on Clinical Laboratory Standards)에 의해 공개된 정보와 비교함으로써 분석하는데, 그 주요 내용은 여기에 참고문헌으로 포함되어 있다. 이 테스트의 결과는, 감수성 테스트가 3개 카테고리-즉, 내성, 중간(intermediate), 및 감수성이 있는 것으로 볼 때, 반-정량적이다. 도 14에서도 나타난 바와 같이, 접종물을 갖는 한천 플레이트(110)는 그 위에 놓여진 복수의 디스크(112)들을 갖는데, 이 디스크들은 (상이한 유형 및/또는 농도의) 항생제가 주입되어 있다. 배양 후, 미생물 생장 억제 영역(114)이 형성된다. 이들 영역(114)은 NCCLS 기준에 기초하여, 내성, 중간 또는 감수성을 갖는 미생물을 표시하는 것으로 해석된다.

항미생물 감수성 테스트의 또 다른 방법은 항생제 구배법(antibiotic gradient method)이다. 이 테스트는 겔 배지 내의 항생제 구배를 이용한다. 종이 또는 플라스틱 스트립을 항생제 농도 구배로 주입시킨다. 이 복수의 스트립들을 Mueller-Hinton 한천 플레이트 상에 바퀴 살 모양으로 놓되, 이 플레이트는 테스트할 미생물로 미리 접종시켜 놓는다. 접종 후, (만약 미생물이 특정 스트립 상의 항생제에 대해 감수성을 갖는다면) 겔 내에서 각 테스트 스트립 주위에 타원형 태로 항생제 구배가 형성된다. 가시적으로 미생물 생장을 방해할 수 있는 항균제의 최소 농도가 이 테스트의 종말점(최소 억제 농도(minimum inhibitory concentration), 또는 MIC)이다. 바꿔 말하면, 디스크 확산 시험에서, MIC는 억제 영역의 가장자리(생장/비생장의 경계)에서의 농도이다. 이 경우, MIC는 타원형의 생장 억제 부분이 테스트 스트립과 교차하는 지점이다. 도 15에서 나타난 바와 같이, 한천 플레이트(101)는 항생제 구배로 주입된 복수의 테스트 스트립(103)을 갖는다. 테스트 스트립 상/내의 항생제에 의해 미생물 생장이 억제되는 곳에 타원형 영역(105)이 형성된다. 타원형 영역이 테스트 스트립과 교차하는 지점(107)이 MIC 포인트이다.

감수성 테스트의 세번째 유형은 액체 배지 희석법(broth dilution test)이다. 이 유형의 테스트에서는, 항생제의 희석액(예를 들어, 연속적인 2-배 희석)을 준비한다. 종종, 약물 적어도 10 농도를 튜브 또는 마이크로웰 내에 준비한다. 다양한 농도의 항생제를 갖는 각 튜브 또는 웰을 특정 미생물로 접종한다(테스트 박테리아의 표준 현탁액을 각 희석액에 가하여, 5×10^5 CFU/ml의 최종 농도를 얻는다). 생장 대조 웰 및 접종하지 않은 대조 웰을 각 플레이트 상에 포함시킨다. 배양(예를 들어, 35℃에서 16-24 시간 동안)한 후, 웰 또는 튜브들을 수동으로 또는 기계로 탁도, 흐림 및/또는 펠렛을 조사한다. 인디케이터를 웰 내에 둠으로써 미생물 생장을 눈으로 쉽게 볼 수 있게 할 수 있다. 다른 테스트에서처럼, 가시적인 미생물 생장을 방해하는 항균제의 최소 농도가 MIC이다.

상업적인 미세희석(microdilution) 테스트는 통상적으로 96-웰 플레이트 상에서 수행되며, 각 웰은 상업적으로 미리 제조된 항생제 테스트 패널로 대략 100 내지 200 마이크로리터를 보유한다. 96 웰 및 각 항생제에 대한 2 내지 10의 상이한 희석액으로서, 수많은 항생제를 하나의 플레이트 상에서 테스트할 수 있다. 상기의 상업적인 미세희석 시스템의 중요한 문제점은 표준 항생제 테스트 패널의 비유연성이다. 상업적인 플레이트는 웰 내에 다양한 양의 냉동, 건조 또는 동결건조된 항균제를 포함하도록 제조된다. 이는 플레이트를 준비하는 일에 소모되는 시간을 절약한다. 그러나, 다수의 항생제(미국에서는 50 개 이상)에의 이용가능성으로 인하여, 실험실의 요구에 이상적인 표준 상업적 테스트 패널을 찾는 데 있어서는 실험실에서 종종 문제가 된다. 도 16은 상기의 미세희석 시스템에 사용되는 96-웰 플레이트를 도시한 것이다.

미국 특허 5,501,959에는 액체배지 미세희석법(broth microdilution method)의 변형이 개시되어 있다. 이 시스템은 168 웰을 갖는 마이크로리터 플레이트를 이용하는데, 각 웰은 웰의 하단에 부착된 종이 디스크를 포함한다. 이 디스크는 산화환원 인디케이터뿐만 아니라, 순차적인 2-배 희석 농도의 다양한 항균제를 포함한다. 한 플레이트에서 20개의 상이한 항균제를 테스트할 수 있다. 종이 디스크의 이러한 사용은 주문 패널의 제조를 간편화한다. 그러나, 감수성 테스트가 소비자를 위한 주문품인 경우에는 더 고가의 비용이 소요된다.

감수성 테스트에 있어서 가장 고도의 자동화를 제공하는 현재의 장치는, 통상적으로는 상기에서 언급한 수동의 액체배지 미세희석법에서 수행되는 작업들을 자동화하는 것에 기초한다. 그러한 하나의 예는 미국 특허 4,448,534에 기재된 장치이다. 이 장치는 순차적인 2-배 희석 농도의 항균제로 미리-로딩된 멀티-웰 플레이트를 이용한다. 플레이트는 수동으로 접종하여 장치 내에 놓고, 거기서 배양한다. 적절한 시기에, 플레이트 상의 웰을 광도계/형광측정계로 판독하여 테스트의 결과를 결정한다. 또 다른 자동화 시스템이 미국 특허 3,957,583에 기재되어 있다. 이 장치는 순차적인 2-배 희석 농도의 항균제로 미리-로딩된 소형 멀티-챔버 카드를 이용한다. 카드들은 장치 내에서 자동으로 접종되고, 배양되고, 그리고 모니터링된다. 이 장치는 광도계를 이용하여 주기적으로 카드 내 챔버들을 판독한다. 이러한 반응속도(kinetic) 측정은 테스트의 결과를 장치가 결정할 수 있도록 하는 생장 곡선을 산출한다. 상기한 장치들은 테스트를 4 내지 8 시간 안에 수행함에도 불구하고, 미생물의 유도된 내성을 검출하는 것에 실패할 수도 있으며, 이는 부정확한 감수성 보고서를 초래할 수 있다. 불행하게도, 액체배치 미세희석법에 기초하여 장치에 의해 제공되는 자동화의 정도는 디스크 확산법과 같은 방법에서는 얻을 수 없다.

미생물 동정에 관하여는, 어떠한 유형의 미생물을 검출하는가를 결정하는 것에 따라 다양한 선택적 및 감별 배지가 달라진다. 선택적 배지는 특정한 속 또는 종의 미생물을 테스트할 때 적절하며, 타겟 미생물을 제외한 모든(또는 거의 모든) 미생물에 의해 작용한다. 감별 배지는 구체적인 특성(예를 들어, 유일한 탄소/에너지원으로서 구연산을 대사하는 능력)에 기초한 박테리아의 특정 종 사이를 구별하는 데에 사용된다. 병원에서, 또는 고정된 환경에서, 한 사람이 직면할 수 있는 상이한 종들은 그 수가 엄청나서, 선택적 배지의 이용은 불가능하다. 이러한 환경에서의 미생물 동정은 따라서 대사 특성에 기인한다. 종래의 기술은 적절한 배지의 제조를 위해 많은 시간 소모를 요구하고, 전통적인 장비를 이용함으로써 큰 실험 공간을 요구한다.

또한 미생물 동정을 위한 다양한 자동화 장치가 존재한다. 그러한 하나의 장치에 있어서, 소형 멀티-챔버 카드는 다양한 기질을 함유한다. 챔버들은 광학적으로 측정한다. 대사되는 기질의 패턴에 기초하여 동정을 결정한다. 또 다른 시스템은 96-웰 플레이트를 이용한다. 각 웰은 개개의 탄소원 및 산화-환원 인디케이터를 함유한다. 또 다른 시스템은 형광 염색약과 형광 화합물로 표지된 기질을 이용한다. 효소의 활성은 이들 기질로부터 형광 화합물을 방출하거나, 또는 형광 강도의 변화시 pH 결과를 변화시킨다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 하나의 장치 상에서의 미생물의 검출 및/또는 스크리닝, 그리고 같은 장치 상에서 동시적인 또는 연속적인, 여러 가지 항생제에 대한 미생물의 감수성의 결정 및/또는 미생물의 동정에 관한 것이다. 본 발명은 또한 같은 장치 내에서 선택적으로 소변 스크리닝을 수행하는 것에 관한 것이다. 이 장치는 상기한 기능들을 수행하기 위하여, 영상 포착 기술, 몇몇 영상 처리 알고리즘, 및 다양한 특수 일회용 플레이트를 채용한다.

더욱 상세하게는, 이 장치는 미생물 조직을 배양하기 위한 일회용 플레이트를 채용하고, 이 장치에 의한 검출 및/또는 측정을 용이하게 하기 위한 컴퓨터 하드웨어 및 소프트웨어를 채용한다. 이 시스템은 다양한 기능을 수행하기 때문에, 장치 내에는 몇몇 유형의 특수화단 플레이트들이 사용된다. 각 유형의 플레이트는 그것의 특별한 기능을 위하여 최적으로 설계된다; 따라서, 플레이트들은 배양 및 검출 특성 그리고 물리적인 크기의 면에서 상당히 다를 수 있다. 그러나, 모든 플레이트들은 유형에 상관없이 본 장치에 의해 처리될 수 있다. 본 장치는 정해진 시간에 걸쳐서 각 플레이트 상에서 복수의 측정을 수행할 수 있으며, 이러한 반응속도 정보를 이용하여 더욱 정확하게 각 기능을 수행할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 다-기능 장치의 주요 구성요소들의 블록 다이아그램이고,

도 2는 상이한 유형의 플레이트, 영상처리 장치, 및 운송 시스템을 나타내는 본 발명의 한 구현예를 도시한 것이고,

도 3은 플레이트, 플레이트 선반, 영상처리/조명 장치 및 운송 메카니즘을 나타내는 본 발명의 또 다른 구현예를 도시한 것이고,

도 4는 도 3에 도시된 구현예의 단면도이고,

도 5는 본 발명의 장치의 부가적인 구현예를 도시한 것이고,

도 6은 도 5에 도시된 구현예의 단면도이고,

도 7은 본 발명의 장치의 또 다른 구현예를 도시한 것이고,

도 8은 도 7에 도시된 구현예의 단면도이고,

도 9는 미생물 검출 (센서) 플레이트를 도시한 것이고,

도 10은 센서 플레이트의 단면도이고,

도 11은 센서 플레이트의 대안적인 구현예의 단면도이고,

도 12는 센서 플레이트의 또 다른 구현예의 단면도이고,

도 13은E.coli에 대해 양성은 3개의 센서 플레이트의 하부를 도시한 것이고,

도 14는 디스크 확산 항생제 감수성 테스트를 수행하기 위한 한천 플레이트를 나타낸 것이고,

도 15는 구체적인 항균제에 대한 미생물의 감수성을 결정하기 위한 항생제 구배법을 설명하는 것이고,

도 16은 액체배지 미세희석 항생제 감수성 테스트를 수행하기 위한 장치를 도시한 것이고,

도 17은 하부 겔 플레이트가 내부 격벽과 상부 덮개를 갖고 있는 하부를 구비하는 본 발명의 한 구현예를 도시한 것이고,

도 18a 및 18b는 본 발명의 두 가지 구현예의 평면도로서, 도 18a는 항생제 디스크를 갖는 연장된 채널들을 도시한 것이고, 도 18b는 일부만이 항생제 디스크를 내부에 포함하는 보다 짧은 채널들을 도시한 것이고,

도 19a는 내부에 항생제 스트립을 각각 포함하는 연장된 채널을 갖는 구현예를 도시한 것이고, 반면, 도 19b는 그 한쪽 단부에 항생제 디스크를 갖는 더 짧은 얇은 채널을 갖는 구현예를 도시한 것이다.

도 20a 및 20b는E.coli에 대한 감수성 플레이트의 도면으로서, 도 20a는 원래의 영상을 나타내고, 도 21b는 처리된 영상을 나타내며,

도 21a 및 21b는S.aureus에 대한 감수성 플레이트의 도면으로서, 도 21a는 원래의 영상을 나타내고, 도 21b는 처리된 영상을 나타낸다.

도 22a는Kleb.pneumoniae에 대한 감수성 플레이트의 추가 도면으로서, 도 22a는 4시간 후의 미처리 영상이고, 도 22b는 4시간 후의 처리된 영상이고, 도22c는 18시간 후의 미처리 영상이고, 도 22d는 18시간 후의 처리된 영상이다.

도 23a 및 도 23b는 동정 플레이트의 도면으로서, 도 23a는 24시간 후에 가시광선 파장에서 본 플레이트이고, 도 23b는 자외선 영역에서 본 플레이트이다.

도 24는 본 발명의 동정 플레이트의 또 다른 도면이고,

도 25a 및 도 25b는 18시간 후에 취한 소변 스크리닝 플레이트의 도면(미처리 영상)이다.

실시예

도 1에서 알 수 있는 바와 같이, 처리 하위시스템(200)은 사용자 인터페이스 하위시스템(202), 플레이트 운송 하위시스템(204), 배양 하위시스템(206) 및 영상처리 하위시스템(208)과 연결되도록 제공된다. 처리 하위시스템은 장치의 조작을 제어하는 역할을 하며, 이것은 내장된 마이크로프로세서(예를 들어, Pentium ™) 또는 PC와 같은 마이크로제어 보드 또는 시스템에 기초한다. 다양한 병렬 또는 직렬 인터페이스를 이용하여, 처리 하위시스템은 제어부 뿐만 아니라 기타의 하위시스템과도 연결된다. 처리 하위시스템은 또한 얻어진 데이터의 분석을 수행하는 능력을 제공한다. 사용자 인터페이스 하위시스템은 사용자가 장치, 그리고 장치로부터의 시각 제어 파라미터 및/또는 데이터를 제어할 수 있도록 한다. 사용자 인터페이스 하위시스템은, 별개의 버튼과 짝을 이룬 CRT, LCD, CCD 및/또는 CMOS 디스플레이, 바코드 리더, 키패드, 키보드, 및/또는 터치스크린을 포함한다. 음성 입력(언어 인식으로) 및 출력 능력 또한 제공될 수 있다. 플레이트 운송 하위시스템이 장치 내의 소자의 이동을 제어하는 능력을 제공하는 반면, 배양 하위시스템은 장치의 배양 챔버 내의 온도 및/또는 습도를 조절하는 능력을 제공한다. 영상처리 하위시스템은 플레이트의 영상을 포착하는 능력을 제공하며, 다양한 영상 캡쳐 및 조명 소자를 포함한다.

일반적으로, 이 장치는 세 가지의 주된 기능: 플레이트 배양, 영상 포착, 및 영상 처리를 수행하는 역할을 한다(추가의 기능도 고려가능). 이 장치는 최적의 생장 환경을 위하여 다양한 플레이트를 배양할 수 있는 제어된 환경을 제공한다.

플레이트들(검출/계수 센서 플레이트, 항생제 감수성 플레이트, 동정 플레이트, 소변 스크리닝 플레이트 등)은 접종하여 인큐베이터에 놓고, 거기서 배양하는 동안 계속하여 일정한 시간격을 두고 영상 포착 소자로 스캐닝한다. 이 장치는 하나 또는 그 이상의 칼라 및/또는 그레이 스케일의 영상처리 소자 및 조명 소자를 이용하여 영상 포착을 제공한다. 시간이 지남에 따른 영상을 플레이트의 하나 또는 그 이상의 측면(관점 및 각)으로부터 얻는다. 배양시간 동안 얻어진 영상을 몇몇 영상 처리 기술 및 알고리즘을 이용하여 분석하여 결과를 결정한다. 이 장치 디자인은 모듈식으로 하여 넓은 범위의 플레이트 인큐베이션 용량을 제공하도록 설계할 수 있다.

다양한 플레이트들이 하나 또는 그 이상의 영상 소자에 대응하면서 어떻게 이동할 수 있는지에 관한 한 실시예를 도 2에 나타내었다. 이 도면으로부터 알 수 있는 바와 같이, 영상 소자(211 및 212)는 각 플레이트의 상부 및 하부 각각의 영상을 캡쳐하기 위해 제공된다. 상부 및 하부의 영상 운송 시스템(215 및 216)은, 플레이트들이 상부 또는 하부의 영상처리 스테이션에 배치될 때, 각각의 영상 소자들을 복수의 플레이트들을 지나도록 이동시키기 위하여 제공된다. 각 영상처리 스테이션에서 각 플레이트(217)는 그 영상을 영상처리 소자에 의해 캡쳐되도록 한다. 플레이트들은, 도 2에 나타난 바와 같이, 플레이트들을 영상처리 스테이션으로부터 상향 및 하향 양방향으로 이동시키는 플레이트 운송 시스템(218)에 의해 영상처리 스테이션으로 이동된다. 하나의 가능한 설계에서, 플레이트들을 보유하는 플레이트 선반들은 장치의 전면에서 아래로 그리고 후면에서 위로 운송된다. 영상처리 소자는 회전 트랙의 상부 및 하부 위치에서 선형 트랙 상에 장착된다. 플레이트 선반들은 장치 내에서 " 계단식" 으로 회전한다. 회전 트랙의 상부 및 하부 위치에서의 플레이트 선반들은 " 영상처리 스테이션" 으로 들어간다. 영상처리 소자는 선반의 길이를 따라 가면서 영상 데이터를 캡쳐한다. 플레이트 선반들은 그리고 나서 다른 " 단계" 를 회전하고, 다른 선반들이 영상 캡쳐를 위하여 영상처리 위치로 이동된다. 상이한 유형의 플레이트들이 같은 크기인 것처럼 도시되어 있지만, 플레이트 홀더는 여러 가지 크기의 플레이트들을 보유하도록 만들어질 수도 있고 또는 상이한 플레이트 홀더들은, 플레이트 홀더 간에 플레이트 크기를 다양하게 하면서 특정한 크기의 플레이트들을 각각 보유할 수도 있다.

본 발명의 또 다른 구현예는, 도 3 및 도 4에서 알 수 있는 바와 같이, 복수의 플레이트(220)를 플레이트 선반(221) 상에 보유시킨다. 플레이트 선반들은 장치의 전면측에서만 " 쌓인다" . 선반들은 영상처리를 위해 장치 내로 다시 슬라이딩하여 되돌아올 수 있도록 하는 슬라이드 베어링 상에 장착된다. 영상처리/조명 소자들(223)은, 선반 뒤쪽의 X-Y 트랙킹 메카니즘과 같은, 영상처리/조명 운송 메카니즘(225) 상에 장착된다. 플레이트들은 다음과 같은 방식으로 영상처리된다:

a) 영상처리 소자를 선반 뒤쪽 위치로 (선반의 높이와 나란하게) 이동시킨다;

b) 선반을 선형 베어링을 따라서 다시 장치 내 영상처리 소자 사이로 잡아당긴다;

c) 영상처리 소자를 선반의 길이 방향을 따라가게 하면서 영상 데이터를 캡쳐한다;

d) 선반을 전방으로 밀고, 영상처리 소자는 다음 선반을 영상처리하도록 이동한다.

도 5 및 도 6에서 알 수 있는 바와 같이 본 발명의 또 다른 구현예에서는, 플레이트(230)들을 플레이트 선반(232) 상에 보유시킨다(플레이트 선반은 도 3 및 도 4와 같은 방식으로 설계될 수 있다). 영상처리 소자(234)는 선반의 길이 방향을 따라 배열된 긴 스캐너 열로서 제공된다. 플레이트들은 다음의 방식으로 영상처리된다:

a) 스캐너 열들을 스캐너 운송 메카니즘(236)을 이용하여 선반 뒤의 위치로 (선반의 높이와 나란하게) 이동시킨다;

b) 선반을 선형 베어링을 따라 다시 장치 내로, 스캐너 열들 사이로 잡아당긴다;

c) 선반을 잡아당기면서, 선반 위의 모든 플레이트들을 배열된 스캐너들에 의해 동시에 영상처리한다; 그리고

d) 선반을 전방으로 밀고, 스캐너 열은 다음 선반을 영상처리하도록 이동시킨다.

도 7 및 도 8에 도시된 본 발명의 또 다른 구현예에서, 플레이트(240)가 놓인 플레이트 선반들(243)을 회전 트랙 상에서 장치 내로 이동시킨다(도 2에서와 같이). 도 5에서와 같이, 영상처리 소자(245)는 선반의 길이방향을 따라 배열된 스캐너 열이다 - 그러나 이 열들은 장치의 상부에 고정되어 있다. 플레이트(240)들은 다음과 같은 방식으로 영상처리한다:

a) 플레이트 선반들을 장치 내에서 " 계단식" 으로 회전시킨다;

b) 선반을 (회전 트랙의 상부에서) 장치의 뒤에서부터 전면을 향하여 이동시키면서, (장치의 상부에 장착된) 스캐너 열들 사이를 통과시키고, 이 때 모든 플레이트들을 동시에 영상처리한다; 그리고

c) 플레이트 선반은 또 다른 " 단계" 를 회전하고, 또 다른 선반을 영상 캡쳐를 위하여 스캐너 열을 통과하여 이동시킨다.

물론 다른 플레이트 및/또는 영상처리 소자 운송 시스템이 이용될 수도 있다. 카트리지 시스템이 사용될 수도 있는데, 여기서 한 번에 하나의 플레이트가 영상처리를 위하여 스택으로부터 제거된다(그리고 영상처리 소자와 선택된 플레이트가 서로 근접하게 위치하도록 하기 위하여 스택 또는 영상처리 소자 중 하나를 이동시킨다). 각 플레이트를 영상처리 소자에 근접하게 위치히기 위하여 턴테이블 또는 기타 회전 시스템이 사용될 수 있고, 또는 컨베이어 벨트 또는 휠 시스템이 사용될 수 있는데, 이 때 (고체 배지를 갖는) 플레이트는 벨트 또는 휠에 열을 지어 부착할 수 있고, 벨트 또는 휠의 어느 쪽에 플레이트를 놓느냐에 따라서 상하로 회전된다.

본 장치는 하나 또는 그 이상의 칼라 및/또는 그레이 스케일의 영상처리 소자: CCD 선형 배열 스캐너, CCD 선-스캔 카메라, CCD 2D 배열 카메라(스틸 또는 모션 비디오), 레이저 스캐닝 카메라, 또는 단독으로 또는 다른 처리를 한 후에 사용될 수 있는 충분히 명료한 플레이트 영상을 제공하는 기타의 장치를 이용하여 영상 포착을 제공한다. " 영상" 는 시각적인 정보와 같은 플레이트로부터의 어떠한 정보를 의미하는데, a 1 X 1 픽셀 이상이다. 영상 포착은 규칙적으로 미리 프로그램된 시간 간격으로 수행되는데, 플레이트의 하나 또는 그 이상 관점과 각으로부터 얻어진 영상을 캡쳐한다.

배양 시간 동안 포착된 영상은 하나 또는 그 이상의 영상 처리 기술을 이용하여 분석한다. 도 2의 실시예에서, 이미지는 규칙적인 시간 간격으로 플레이트의 상부 및 하부 양쪽으로부터 (플레이트의 한 측면만을 영상처리하는 것도 고려되어질 수 있지만) 포착한다. 통상적으로 시간 간격은 5분 내지 4시간이지만, 바람직하게는 1.5 내지 2 시간 사이이며, 가장 바람직하게는 한 시간 간격이다. 규칙적인 시간 간격으로 스캐닝함으로써 속도론적 생장 데이터를 제공하며, 이것은 미생물을 특징화하는 것을 돕는 데에 이용할 수도 있다. 각 플레이트 상에서의 결과를 결정하는 데 이용되는 영상-처리 알고리즘은 하나 또는 그 이상의 다음 단계를 포함한다:

a) 칼라 분리 및 선택(필요한 경우) - 관심 칼라 대역을 선택한다(센서에 의존);

b)영상 마스킹 - 외부 영상 데이터로부터 원하는 영역을 분리하는 단계;

c) 영상 차분(subtraction) - 서로 다른 시간 간격으로 얻어진 두 개의 영상 사이의 변화된 영역을 분리하는 단계;

d) 영상 평활화(equalization) - 차분된 영상에서 나타나는 변화 부분의 크기를 증폭하는 단계;

e) 영상 블러링(blurring) - 평활화된 영상에서 단일 픽셀 노이즈의 효과를 감소시키는 단계(저역 필터);

f) 영상 대비 및 밝기 신장 - 필터링된 영상에서 국부적 차이를 더 증폭하는 단계;

g) 영상 경계값(threshold) 처리(필요시 여러개의 경계값을 사용) - 콜로니 검출 / 계수 알고리듬을 위하여 영상을 준비하는 단계; 및/또는

h) 분석되는 플레이트에 따라 다음 기능 중 하나를 이용하여 처리된 영상을 분석 -

1) 콜로니 검출, 계수 및/또는 분류 - 플레이트 상의 미생물의 존재를 결정하고, 플레이트 상의 콜로니의 수를 계수하고, 그리고/또는 칼라 분석을 수행하여 플레이트 상의 콜로니를 분류한다; 또는

2) 억제 영역 검출 및 측정 - 구체적인 항생제에 대한 미생물의 감수성을 결정한다; 또는

3) 기질 반응 영역 조사 - 칼라 분석을 통하여 기질 반응의 정도를 결정한다.

플레이트는 별도의 조명 메카니즘으로 비출 수도 있고, 또는 광원을 영상처리 소자 전체의 일부로서 제공할 수도 있다. 광원은 광대역 및/또는 협대역의 가시광, 자외선 및/또는 적외선 조명일 수 있다.

아래에서 설명하는 바와 같이, 다양한 플레이트들이 동일한 장치 내에서 모두 취급되고 분석될 수 있다.

검출/계수 플레이트:

도 9는 적어도 한 쪽(예를 들어, 하부쪽)이 투명이거나 반투명인, 평평한 얕은 용기의 형태일 수 있는 센서 플레이트(1)를 도시한 것이다. 용기는 개방될 수도 있지만(또는 단순히 기질만으로), 밀봉되거나 밀봉가능한 용기인 것이 바람직하고, 바람직하게는 센서 플레이트 층 위에 상당한 크기의 상부공간을 갖는다. 용기에는 포트(2)가 구비될 수 있는데, 이 포트는 마개(stopper)(3), 나사-캡, 격벽, 또는 이들의 조합(또는 기타 밀봉 장치)으로 밀봉될 수 있다. 일단 샘플이 용기 내로 수집되면, 센서 플레이트는 미생물의 생장 요구 조건에 따라서 기체-투과성 또는 기체-불투과성으로 만들 수 있다. 이 설계는 다른 플레이트 조성 재료, 라미네이트(기체 불투과성 및/또는 소수성 가스-투과성 막), 및/또는 제작가능한 통기구멍(예를 들어, 용기 벽의 개구 내의 가스 투과성 막)을 사용함으로써 달성된다.

센서 플레이트 소자의 용기 내에는 하나 이상의 층이 있는데, 이 층들은 샘플을 고정화/흡수하는 것을 도와서 미생물의 콜로니가 국지적으로 성장할 수 있게 하고, 이로써 미생물 콜로니 검출능력이 증가된다. 한 구현예에서는, 소자 내 하나 이상의 층이 미생물의 가시화에 역효과를 미치는 매트릭스를 갖는다. 도 10에서 알 수 있는 바와 같이, 고정화층(매트릭스층)(10) 및 센서층(12)이 제공된다. 이들 두 층은, 이하 더욱 상세히 설명하는 바와 같이, 분리하여 제공하는 것이 바람직하지만, 한 층으로 같이 조합할 수도 있다. 도 10에 또한 나타난 바와 같이, 플레이트 하부(14)는 미생물 생장에 기인하는 센서층의 변화를 관찰/영상처리할 수 있도록 투명인 것이 바람직하다.

센서층(12)은 자외선, 가시광선 및/또는 적외선 스펙트럼 내의 조밀하게 집중된 극적인 변화를 제공함으로써 미생물 생장의 위치를 나타낼 목적으로 제공된다. 이러한 집중된 변화는 미생물 생장에 근접한 센서 표면 반대편의 플레이트 하면에서 검지가능하다. 센서층은 바람직하게는 불투명인 매트릭스(지지 물질) 위 및/또는 내에 내장되어 검출가능한 특성상의 변화를 겪는 물질(예를 들어, 인디케이터)을 포함한다. " 불투명" 이란, 센서층의 반대편으로부터 고정화층 내의 고정화된 실제적인 미생물 콜로니 및/또는 테스트 샘플의 (어떠한 관련된 전자기 영역 내에서의) 관찰 또는 검출을 센서층에서 충분히 차단하는 것을 의미한다(예를 들어, 반-불투명, 거의 불투명, 또는 완전 불투명). 테스트 샘플도 실질적으로 투명할 경우 투명 또는 비교적 투명한 센서층을 갖는 것이 가능함에도 불구하고 (이 경우 센서층은 미생물 콜로니의 존재 하에서 투명에서부터 불투명까지의 집중된 변화를 겪는다), 센서층은 투명하지 않은 것이 바람직하다. 센서층이 불투명이라면, 검출 및 계수를 방해할 수 있었을 테스트 샘플 내 미생물의 검출에서도 개선된 결과를 얻는다.

만약 테스트 샘플 그 자체가 고정화층 내의 미생물의 존재 또는 생장을 직접 가시화/검출하는 것을 방해한다면, 그렇다면 하나 이상의 고정화층 또는 센서층(바람직하게는 센서층)은 실제의 테스트 샘플 및/또는 실제의 미생물의 검출/가시화를 차단할 수 있고, 대신 고정화층 내의 미생물의 존재/생장에 대응하는 센서층 내의 변화를 검출한다. 고정화층은 또한 불투명일 수 있고, 본 발명을 수행하는 한 구현예에서, 센서층, 고정화층, 및 샘플은 모두 불투명이다.

센서는 고체 조성물 또는 막을 포함하며, 인디케이터 매질이 그 위에 또는 그 안에 고정된다. 센서층은 바람직하게는 용기의 내면과 인접하게 또는 용기를 밀봉하는데 사용되는 밀봉 수단 내에 위치하거나, 또는 밀봉 수단에 부착되는데, 센서층이 외측에서 보일수 있도록 한다. 그것은 바람직하게는, 세포, 단백질, 기타 고체 또는 기타 불투명하거나 유색의 성분들이 그것과 용기표면 사이로 들어가는 것을 방지하기 위하여 용기에 부착된다. 특정한 구현예에서, 센서층은 막 또는 기타 고체층에 의하여 가검물과 그 생장 배지로부터 분리된다.

본 발명의 한 구현예는, 뚜껑 또는 캡과 같은 밀봉 수단을 포함하는데, 이것은 투명일 수도 있고, 또는 그 일부가 투명할 수도 있다. 센서는 투명한 뚜껑 또는 뚜껑의 일부에 근접하게 위치할 수 있고, 또는 뚜껑의 일부를 구성할 수 있다. 이 뚜껑이 용기를 밀봉하는 데에 사용될 때, 인디케이터의 변화는 이 투명 밀봉 수단을 통하여 읽혀진다. 밀봉 수단은 또한 캡슐화된 인디케이터 미셀(micelle)을 함유하는 폴리머와 같은 물질로 만들어질 수도 있다. 이 물질이 미생물의 대사에 의하여 유발되는 변화에 대하여 투과성이고 그 인디케이터 내의 변화가 밀봉 수단의 표면에서 가시적인 한, 용기 또는 밀봉 수단 내의 투명 부분은 필요하지 않다.

전체 샘플 부피 당 한 개 정도로 거의 미생물을 포함하지 않는 혈액과 같은 체액 가검물 내의 미생물은 본 발명을 이용하여 검출될 수 있다. 그러한 가검물은 미생물의 수가 임계 수준에 도달하기 전에, 그리고 미생물 대사에 관련된 파라미터의 변화를 측정할 수 있을 때까지 많은 배양일수를 요구할 수 있다.

센서는 다음과 같은 점에서 유용하다: 1) 미생물 대사에 기인하는 센서층의 변화(예를 들어, 대사로 인한 가스 성분의 증가 또는 감소)가 가검물 상의 대기에서가 아닌, 고체 또는 반-고체 고정화층으로부터 검출된다. 2) 센서가 플레이트 또는 폐쇄부 또는 밀봉 수단의 내부 표면에 부착되거나 또는 폐쇄부 또는 밀봉 수단의 외측을 통하여 부착되기 때문에, 플레이트의 일체성을 파괴함 없이 플레이트 또는 밀봉 수단의 투명 벽 외측으로부터 측정이 가능하다. 3) 반사율, 형광 등에 의해 또는 영상 캡쳐에 의해 측정하는 장치로 또는 시각적인 검사에 의해 외부 측정을 할 수 있다. 4) 가검물 내의 불투명/유색 또는 형광성의 성분들이 변화 또는 그러한 변화의 측정을 검출하는 능력을 방해하지 않는다. 5) 고농도의 인디케이터 분자들이 센서 내 작은 부피 내에서 (예를 들어, 폴리머 에멀젼 내에 또는 막 상에) 보유될 수 있기 때문에, 변화가 쉽게 관찰되거나 검출될 수 있다.

복합 미생물 배지를 구성하는 영양 성분들은 미생물에 의해 이용되는 대사 경로에 영향을 미친다. 유기산, 염 및 다양한 기체들이, 이용가능한 영양성분들에 의존적인 양으로 생성된다. 이들 생성물들은 또한 미생물의 종에 따라서 다양하다. 고정화층 내의 이들 생성물의 존재는 그 pH를 변화시킬 수 있다. 본 발명에서 사용되는 센서층은, pH 변화에 대응하여 측정가능한 변화를 창출하는 pH 민감성 인디케이터를 포함할 수 있다. 혹은, CO_2 처럼 인디케이터의 pH에 영향을 미칠 수 있는 기체의 존재를 측정할 수도 있다. 미생물 생장은 또한 O_2 및/또는 형광성의 변화를 측정함으로써 검출할 수도 있다. 센서층은 미생물 대사에 기인하여 O_2 농도가 감소하는 것에 반응하도록 디자인될 수 있다. 그리고 인디케이터는 색깔 또는 기타 파라미터들의 변화보다는 형광성의 변화를 수반하는 것으로 선택될 수 있다. 이산화탄소는 대부분의 미생물에 의해 생성되는 일반적인 대사산물이고, 따라서 미생물 생장의 검출을 위한 바람직한 대사산물이다. 어떠한 메카니즘이 이용되든지 간에, 바람직한 구현예에서, 센서층은 대부분의 미생물의 존재/생장에 대응하여 검출가능하는 변화를 나타낼 것이다.

인디케이터는 지지 매질에 공유적으로 또는 비-공유적으로 부착될 수 있다. 택일적으로, 인디케이터는 경화되기 전의 폴리머 매트릭스 내에 유화시키는 것과 같이 폴리머 매트릭스 내로 캡슐화될 수 있다.

센서층은 바람직하게는 적절한 투명 용기 또는 투명 밀봉 수단 내에, 필요하다면 적절한 접착제를 이용하여 부착시킨다. 이것은 또한 밀봉수단의 전체 부분을 구성할 수 있으며, 또는 밀봉 수단에 또는 용기 내에 그대로 경화된 폴리머 매트릭스 내에 유화된 인디케이터로서 부착될 수도 있다. 이것은 또한, 미생물로 인한 대사 변화가 센서에 영향을 미치도록 할 수 있는 방법이 제공되는 한, 용기의 외측에 위치할 수도 있다.

여러가지 상이한 형광성 및 가시적인 pH 인디케이터들이 pH , H_2, H_2S, NH_3, O_2 또는 CO_2 센서에서 활성 분자 종류로서 사용될 수 있다. 일반적으로, 인디케이터의 선택에 대한 유일한 제한 사항은, 단지 적외선, 형광성, 반사율 및/또는 영상처리 기술에 의해 검출가능한 수용가능하고 역동적인 범위와 파장 변화를 가져야 한다는 것이다.

본 발명에 따른 배양 배지 내의 pH 변화를 검출하기 위한 센서는 바람직하게는 약 5.0 내지 약 8.0의 pH 범위에 걸쳐서 형광 강도 또는 가시적인 색깔의 변화를 나타낸다.

CO_2 센서에 대한 인디케이터는 CO_2 농도 변화를 검출하기 위하여, 바람직하게는 약 pH 13과 약 5 사이, 그리고 더욱 바람직하게는 약 pH 13과 약 9 사이에서 적외선 강도, 형광 강도 또는 가시적인 색깔의 변화를 보여야 한다.

단지 일부의 pH 인디케이터 분자들만이 지지 매질에 공유적으로 또는 비-공유적으로 결합하여 pH 지시 특성을 유지할 수 있다. 잔틴(xanthene), 페놀프탈레인 및 페놀설폰프탈레인 그룹에 속하는 인디케이터가 유용하다. 이러한 실시예에는 플루오레신, 쿠마린, 프놀프탈레인, 티몰프탈레인(thymolphthalein), 브로모티몰 블루(bromothymol blue), 티몰 블루(thymol blue), 자일레놀 블루(xylenol blue), 오르토 크레졸프탈레인(orth cresolphthalein) 및 α-나프톨 벤제인이 포함된다.

지지 매질은 셀룰로스 또는 특정 실리콘과 같은 물질일 수 있는데, 여기에 pH 인디케이터가 유기 반응을 이용하여 공유적으로 부착될 수 있다. pH 인디케이터의 비-공유적 부착은, 양 또는 음의 제타 전위를 갖는 나일론 막과 같은 이온성 지지 물질을 이용하여 이루어질 수 있다. 사용가능한 기타의 이온성 지지 물질은 디에틸아미노 에틸(DEAE) 수지 또는 DEAE 셀룰로스와 같은 양으로 또는 음으로 하전된 이온성 수지이다. 만약 인디케이터 막이 미생물 생장 배지와 직접 접촉해야 한다면, 지지 물질을 단백질로 전처리하는 것이 필요할 수 있다.

pH 인디케이터 센서는 미생물 생장 배지의 pH 환경으로 인한 pH 변화를 직접 검지한다. 그러나, 이들 센서들은 미생물 대사에 기인하여 기체(예를 들어, 이산화 탄소, 암모니아, 수소, 황화수소 또는 산소)와 선택적으로 반응하도록 만들어질 수 있다. 선택적인 반-투과성 조성물 또는 막이 센서층 상에 제공될 수 있는데, 이러한 것으로는, 이온의 통과는 막으면서 기체의 확산은 선택적으로 가능하게 할 수 있는 것을 특징으로 하는 다양한 플라스틱, 실리콘, 라텍스, 테프론 등이 있다. 폴리머 매트릭스 내에 캡슐화된 인디케이터를 포함하는 센서에 있어서, 매트릭스를 형성하는 폴리머는 이온이 아닌 가스만 통과하게 하는 반-투과성 장벽으로서의 역할을 하는 것이다.

한 구현예에서, CO_2 센서는 복수의 성분으로 구성된다. 제 1 성분은 6 내지 10의 pH 범위에서 반응성을 갖는, 가시적인 또는 형광성의 pH 인디케이터이다. 이러한 기준을 만족시키는 인디케이터의 예는 브로모티몰 블루, 티몰 블루, 자일레놀 블루, 페놀프탈레인, 오르토 크레졸프탈레인, 쿠마린, 및 플루오레신이다. 제 2 성분은, 필요한 경우, 산, 염기 또는 버퍼인데, 이 성분은 선택된 pH 인디케이터에 의한 CO_2 검출을 위한 적정 pH 환경을 유지시킨다. 제 3 성분은 글리세롤 또는 균등한 유화제일 수 있는데, 이 성분은 경화되지 않은 폴리머 내에서 유화된 인디케이터 용액의 물방울을 만들 수 있다. 제 4 성분은 산화 티탄, 산화 아연, 산화 마그네슘, 산화 철 등과 같은 색소일 수 있다. 제 5 성분은 실리콘과 같은 경화되지 않은 폴리머 일 수 있는데, 이 성분은 인디케이터를 위해 적절한 환경을 유지시킨다. 가스에 대하여 투과성이고, 이온에 대하여는 투과성이지 않는 한, 그 고유의 화학적 또는 물리적 성질 또는 그 경화에 대한 필요로 인하여 인디케이터의 화학적 활성에 아주 큰 영향을 미치지는 않고, 살균과정을 겪으면서도 그 성질이 변경되지 않는 어떠한 폴리머도 사용될 수 있다. 마찬가지로 만족스러운 기타의 실리콘 폴리머는 고온에 의해, 촉매 활성에 의해, 또는 자외선 가황처리에 의해 경화되는 것들이다. 에멀젼은 다양한 성분들로부터 제조될 수 있으며, 폴리머는 경화되어서 pH 인디케이터 방울 주위로 반투과적인 매트릭스를 형성할 수 있고, 이것은 고정화층으로부터의 기타 기체 및 CO_2 의 선택적 확산을 가능하게 함으로써 센서 층 내의 집중된 측정가능 변화를 유도한다. 센서층은, 성형틀 등에서 별도로 제조하여, 경화시키고, 그리고 나서 실리콘 접착제와 같은 적절한 접착제로 플레이트에 부착할 수 있다. 택일적으로는, 그리고 바람직하게는, 센서를 용기의 하부 상에 형성하여 그대로 경화시킨다. 경화 후, 센서가 있는 용기를 오토클레이브 또는 감마선 조사에 의해 살균할 수 있다. 편의상, 고정화층 및 부가적인 선택층을 살균 전에 센서 플레이트 장치 내로 도입하여 이것 역시 상기 과정에 의해 살균할 수 있다.

또 다른 실시예에서, 센서층은 착색된 실리콘 매트릭스에 유화된 인디케이터 용액을 포함한다. 인디케이터 용액은 0.8M 수산화 칼륨(10.0ml) 및 이소프로필 알콜(10.0ml)의 용액에 용해된 티몰 블루 인디케이터(0.65g)를 포함한다. 인디케이터 용액(5.0g)은 그리고 나서 착색된 실리콘 성분과 혼합한다. 착색된 실리콘 매트릭스는 Sylgard 184 실리콘(성분 A(50.0g) 및 B(5.0g))과 백색 색소(part #61-18000, Ferro Corp., New Jersey)(1.0g)를 포함한다. 그리고 나서 센서물질을 플레이트 위에 붓고 얇은 층(대략 0.2 내지 0.5mm)으로 도포한다.

또 다른 실시예에서, 센서층은 착색된 실리콘 매트릭스와 혼합된 인디케이터 용액을 포함한다. 인디케이터 용액은 이소프로필 알콜(5.0ml) 및 0.9M 수산화 칼륨(5.0ml)의 용액에 용해된 오르토-크레졸프탈레인 인디케이터(2.0g)를 포함한다. 인디케이터 용액(2.5g)은 그리고 나서 착색된 실리콘 성분과 혼합한다. 착색된 실리콘 매트릭스는 Sylgard 184 실리콘(성분 A(25.0g) 및 B(2.5g))과 백색 색소(part #61-18000, Ferro Corp., New Jersey)(0.5g)를 포함한다. 그리고 나서 센서물질을 플레이트 위에 붓고 얇은 층(대략 0.2 내지 0.5mm)으로 도포한다. 이러한 실시예의 변형으로, 상기 오르토-크레졸프탈레인 센서 층을 착색된 실리콘 매트릭스를 포함하는 외피층으로 덮을 수 있다.

또 다른 실시예에서, 센서층은 색소 용액 및 실리콘 매트릭스와 혼합된 인디케이터 용액으로 이루어진다. 인디케이터 용액은 이소프로필 알콜(10.0ml) 및 0.8M 수산화 칼륨(10.0ml)의 용액에 용해된 오르토-크레졸프탈레인 인디케이터(2.0g)를 포함한다. 색소 용액은 실리콘 오일(40.0g)과 백색 색소(part #61-18000, Ferro Corp., New Jersey)(4.0g)를 포함한다. 실리콘 매트릭스는 Wacker Elastosil RT 601 실리콘(성분 A(200.0g) 및 B(20.0g)) 및 톨루엔(40.0g)을 포함한다. 그리고 나서 인디케이터 용액(20.0g)은 색소 용액(40.0g) 및 실리콘 성분과 혼합한다. 그리고 나서 센서물질을 플레이트 위에 얇은 층(대략 0.1 내지 0.3mm 두께)으로 도포한다.

상기한 바와 같이 산소, 이산화탄소 및 pH의 변화에 반응하는 인디케이터 외에, 암모니아, 산화-환원 전위, 수소, 황화수소, 또는 미생물의 존재 또는 생장에 의해 변화하는 기타의 물질의 변화를 검출하는 인디케이터도 사용될 수 있다. 또한, 복수의 상이한 인디케이터들이 센서층(또는 복수의 센서층)에 사용될 수 있다.

센서층은 바람직하게는, 샘플이 센서의 반응에 영향을 미치거나 또는 그 반응을 마스킹하는 것을 방지할 수 있도록 불

투명(예를 들어, 천연 형광성, 불투명도)이다. 센서층은 바람직하게는 미생물의 존재 하에서 하나의 불투명 상태로부터 또 다른 불투명 상태로 변화하는데, 그 변화는 영상 캡쳐 및 처리에 의해 감지할 수 있는 변화이다. 한 예로서, 센서층은 백색의 착색된 실리콘 매트릭스 내에 유화된 오르토 크레졸프탈레인 인디케이터 혼합물일 수 있으며, 백색의 착색된 실리콘이 덮여 있는 상태이다. 혹은, 센서층은 티몰 블루 인디케이터, 자일레놀 블루 인디케이터 또는 " 보편적인" 인디케이터와 같은 하나 이상의 인디케이터로 유화된 착색된 실리콘 매트릭스일 수 있다. 센서층 내의 매트릭스는 적당한 라텍스, 폴리우레탄, 나일론 막(예를 들어, 하전된 나일론 막) 또는 셀룰로스 분말일 수 있다. 센서층 매트릭스는 또한 Sylgard 184, Wacker 601 또는 Wacker 934와 같은 실리콘 매트릭스일 수 있다. 또는, 센서층은 인디케이터층 및 불투명층과 같은 두 층으로 이루어질 수도 있다.

센서 플레이트 소자 내의 그 외 주요한 층은 고정화층(10)이다. 고정화층의 목적은 매트릭스 내의, 또는 매트릭스 표면 상의 샘플 내의 미생물을 고정화하는 것이다. 샘플은 그 자체가 액체, 반고체, 또는 반액체(예를 들어, 페이스트 또는 겔)의 샘플일 수 있다. 액체 샘플은 건조 분말형태의 겔화제와 혼합되어 미생물-고정화겔 매트릭스를 형성할 수 있다. 액체 샘플은 바람직하게는 센서 플레이트 소자 내의 한 층으로서 미리 제공된 건조 분말형태의 겔화제에 가한다. 그러나, 액체 샘플은 또한 건조 분말형태의 겔화제와 혼합한 후, 겔화가 일어나기 전에 즉시 센서 플레이트 소자에 가할 수도 있다. 마찬가지로, 액체 샘플은 겔의 표면 상에 미생물을 고정화할 수 있도록, 미리 겔화된 매트릭스 상에 또는 탈수되거나 부분적으로 탈수된 겔 매트릭스 상에 도포할 수 있다. 겔화제는 또한 물리적 지탱을 가하기 위하여 지지 매트릭스 내에 내장될 수도 있다. 실시예는 글라스, 또는 완전히 혼합된 또는 직포 또는 부직포의 형태의 셀룰로스 합성 폴리머 섬유를 포함한다. 또한, 샘플을 고정화하기 위하여 고정화층은 겔화제일 필요는 없으며, 오히려 스폰지 물질, 셀룰로스, 유리 섬유, 여과지 등과 같은 비-겔상의 흡수 물질을 포함할 수 있다.

둘 이상의 겔화제가 혼합된 형태로 또는 분리된 층으로 하여 센서 플레이트 소자에 이용될 수 있다. 예를 들어, 구아 검 및 잔탄 검이 대략 2:1의 중량비로 조합된 혼합물이 사용될 수도 있다. 천연 및 합성의 하이드로겔 분말을 포함하는 기타의 겔화제들도 단독으로 또는 조합으로 사용될 있다. 하나 이상의 겔화제들이, 검, 한천, 아가로스, 카라기난, 벤토나이트, 알기네이트, 콜라겐, 젤라틴, 용융 실리케이트, 수용성 전분, 폴리아크릴레이트, 셀룰로스, 셀룰로스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 산화물, 폴리비닐 알콜, 덱스트란, 폴리아크릴아미드, 폴리사카라이드, 또는 기타의 겔화제 또는 증점제로부터 선택되어 같이 조합될 수 있다.

표면 콜로니 분리/고정화를 위하여, 하나 이상의 합성 또는 천연의 친수성 폴리머를 포함하여, 탈수된 그리고/또는 부분적으로 탈수된 겔 매트릭스가 사용될 수도 있다. 만약 둘 이상의 겔화제가 사용된다면, 그것은 함께 혼합되거나 복수의 층으로 제공될 수 있다. 한 실시예에 있어서, 표면에 미생물을 잡아두기 위한 상층이 제공될 수 있고, 상층을 통하여 액체 샘플을 끌어들이기 위한 위킹제(wicking agent)로서 하층이 제공될 수 있다(예를 들어, 개질된 셀룰로스 흡수제 위의 얇은 한천층, 또는 흡수성 패드, 폴리머, 또는 하이드로겔 상의 유공의 친수성 막).

고정화층은 센서층에 악영향을 미쳐서는 안 된다. 센서층이 pH 변화로 인하여 검출가능한 변화를 겪게 된다면, 매우 산성인 겔 층은 센서층에 역효과를 미칠 수 있다(또한 일부 제조 공정은 산성이며 센서층에 역효과를 미칠 수 있는 산성 잔기를 남길 수 있다). 더욱이, 만약 고정화층이 분말형태의 겔 층이라면, 이 층은 샘플과 혼합될 때 산성이 바뀌지 않는 것이 확실해야 하는데, 이는 미생물이 없는 경우조차도 센서층을 변화시킬 수도 있기 때문이다.

도 10에서 더 알 수 있는 바와 같이, 선택적인 컨디셔닝층(conditioning layer)(16)이 고정화층 위에(또는 내에 또는 밑에) 제공될 수 있다. 도 10에는 고정화층과 분리된 것으로 도시되어 있지만, 컨디셔닝층으로부터의 조절물질은 바람직하게는 고정화층 그 자체 내로 합체시킨다. 컨디셔닝 성분은, 고정화층 내에 제공되든 또는 분리된 층으로 제공되든 간에, 미생물 생장을 위한 하나 이상의 배지 성분, 용균제, 용균 효소, 항생제 중화제, 계면활성제 또는 미생물 검출 및

/또는 계수 능력을 개선시키는 데 도움이 될 수 있는 기타의 물질을 포함할 수 있다. 컨디셔닝 성분들은 고정화층 내로, 그리고 같은 센서 플레이트 소자 내의 분리된 층 양쪽으로 제공될 수도 있다.

테스트 샘플내 혈액 세포를 용균시키기 위하여, 겔을 보다 부드럽게 하기 위하여, 그리고/또는 겔의 더 나은 재수화(rehydration)를 위하여, 컨디셔닝을 위한 용균제(lytic agent)가 첨가될 수 있다. 가능한 용균제의 실시예는 사포닌, 디지토닌, Tweens™, 폴리소르비탄, 모노라우레이트, 및 기타의 계면활성제를 포함한다. 용균 효소는, 보통은 반드시 단백질분해 효소일 필요는 없지만, 혈액 샘플 내 세포성 물질을 소화하기 위하여, 더 부드러운 겔을 만들기 위하여, 그리고/또는 더 나은 겔의 재수화를 위하여 첨가될 수 있다. 컨디셔닝을 위한 용균효소는 하나 이상의 프로테아제, 예를 들어, 아스퍼질러스 오리재(Aspergillus oryzae) 등으로부터 유래된 효소 혼합물을 포함할 수 있다.

항생제 중화제는 컨디셔닝을 위하여, 특히 테스트 샘플 내 미생물의 더 빠르고 그리고/또는 더 우수한 복원을 위하여 첨가될 수 있다. 하나 이상의 그러한 중화제는 수지, 검, 및 탄소계 물질(예를 들어, 활성화 챠콜 또는 Ecosorb™)로부터 선택될 수 있고, 또는 다양한 항생제(예를 들어, 베타 락타마아제)를 특이적으로 붕괴시킬 수 있는 다양한 효소들 중 하나일 수 있다.

또한 컨디셔닝을 위하여 (고정화층에 직접 또는 따로) 배지(media)를 첨가할 수도 있다. 배지는 미생물 생장을 위하여 필요한 영양소를 제공하기 위하여 첨가한다. 상이한 유형의 미생물에 대하여 수많은 유형의 배지가 사용될 수 있지만, 미생물이 호기성 생물이라면, 한 실시예로서 배지는 트립톤(17), 소이톤(3), 프로테오즈 펩톤(5), 맥아 추출물(2.5), 덱스트로즈(2.5) 및 MOPS(23)을 포함할 수 있다(괄호 안의 각각의 예시적인 양은 g/l이다). 만약 미생물이 혐기성 미생물이라면, 배지는 상기 나열된 호기성 생물용 배지에 더하여, Hemin(0.005), L-시스틴(0.2), Na-m-바이설파이드(0.2) 및 메나디온(0.005)을 더 포함할 수 있다.

Coliforms에 있어서, 한 실시예로서, 배지는 락토스(5), 담즙산염(bile salt) #3(0.8), K_2HPO_4(7), KH_2PO_4(3), $(NH_4)_2SO_4$(0.5), $MgSO_4$(0.1), Na-m-바이설파이드(0.4) 및 SDS(0.1)을 포함할 수 있다. 효모, 곰팡이 및 기타의 산 내성 미생물에 있어서, 한 실시예로서, 배지는 덱스트로스(10), 효모 추출물(10), (NH_4)구연산(2) 및 타르타르산을 pH 5.5까지 포함할 수 있다.

도 10에서 더 알 수 있는 바와 같이, 용기의 벽에는 개구부(20), 그 밑에 소수성 가스-투과성 필름(22), 및 그 위에 가스-불투과성(제거가능) 필름(24)이 구비될 수 있다. 혹은, 용기는 그 벽에 가스-불투과성 필름을 갖는 구멍과 그 구멍을 덮으면서 함께 부착된 및 소수성 가스-투과성 필름이 구비될 수 있다. 만약 미생물이 혐기성이라면, 가스-불투과성 필름은 그 자리에서 제거될 것이다. 그러나 만약 미생물이 호기성이라면, 가스-불투과성 필름은 테스트 샘플이 센서 플레이트 소자에 가하여지는 때에 제거될 것이다. 물론, 소수성 가스-투과성 필름이 항상 제공될 필요는 없지만, 오염물이 용기로 들어가지 않도록 하기 위해, 그리고 잠재적인 전염성 테스트 물질이 소자로부터 누출되지 않도록 하기 위하여 유리하다.

도 10의 A 부분은 도 11 및 도 12에 더욱 상세히 도시되어 있다. 도 11에서 알 수 있는 바와 같이, 센서 플레이트 소자의 또 다른 구현예에서, 단일의 고정화 매트릭스 층 대신에, 성장 후의 표면 캡쳐와 회수를 가능하게 하는 반-강성 표면을 위한 분리 겔층(30), 점착층(31), 흡수겔층(32) 및 추가의 점착층(33) 중 하나 이상이 제공될 수 있다. 흡수겔층(32)은 컨디셔닝 성분(겔 내), 미생물 생장을 위한 배지, 용균 효소 및 항생제 중화제 중 하나이상을 포함할 수 있다. 도 11에서 알 수 있는 바와 같이, 단일의 센서층 대신에, 외피층(34), 점착층(35), 인디케이터층(36), 및 플레이트 하부(38)와 접촉하는 추가의 점착층(37) 중 하나 이상이 제공될 수 있다.

도 12에 도시된 바와 같이, 본 발명의 또 다른 구현예는, 겔화 분말 및 배지, 용균 효소 및 항생제 중화제와 같은 건조 컨디셔닝 성분을 포함하는 매트릭스층(40)이 제공된다. 도 11과 같이, 단일의 센서층 대신에, 점착층(41), 외피층(42), 점착층(43), 인디케이터층(44) 및 플레이트 하부(46)와 접촉하는 점착층(45) 중 하나가 제공될 수 있다.

센서 플레이트 소자의 크기는 요구되는 샘플 크기에 따라서 변할 수 있다. 한 실시예에 있어서, 센서 플레이트 소자는 74mm ×117mm의 치수를 갖는 고정화층을 구비한다. 만약 고정화층이 습식형 겔을 포함한다면, 샘플 크기는 매우 작게(예를 들어, 1ml 이하로) 만들어질 수 있고, 혹은 혈액 샘플과 같이, 샘플 크기는 15ml 이하일 수도 있다. 한편으로는, 만약 고정화층이 건조 분말화 겔을 포함한다면, 샘플 크기는 분말화 겔의 양에 따라서 오히려 더 커질 수 있다(예를 들어 샘플은 30ml 이상일 수 있다).

사용시에, 유체 샘플을 센서 플레이트 소자로 도입한다. 샘플은 센서 플레이트의 하면을 가로질러 펼치면서 " 컨디셔닝" (필요한 경우)한다. 샘플은 고정화 매트릭스층 내로 흡수되거나 혹은 그것과 겔을 형성한다. 그리고 나서 센서 플레이트를 배양하여 미생물 콜로니의 생장을 촉진한다. 센서 플레이트 소자의 하면을 향하여 위치하는 센서층은 미생물 콜로니의 존재를 나타낼 수 있도록 검출가능한 변화를 겪는다. 최종적으로 센서 플레이트 소자는 수동으로 또는 자동으로 검사하여 미생물 콜로니의 존재 및 위치를 결정한다.

본 장치는 센서 플레이트에 대하여, 플레이트 배양, 영상 포착/캡쳐, 및 영상처리의 3 가지 주된 기능을 수행한다. 본 장치는 플레이트를 배양하기 위하여 제어된 환경을 제공하는데, 만약 주변보다 높은 온도에서 배양을 수행하려 한다면 (모든 상황에서 높은 온도가 반드시 필요한 것은 아니지만) 히터를 포함할 수 있다. 유체 샘플을 센서 플레이트 소자에 가하고, 그리고 난 후 센서 플레이트를 본 장치 내에 놓고, 거기서 배양하는 동안 영상 포착/캡쳐 장치(카메라 또는 스캐너)에 의해 계속하여 감지/관찰한다. 센서 플레이트 소자의 하부 영상은 규칙적인 소정의 시간 간격으로 캡쳐하고, 이어서 하나 이상의 영상 처리 기술 및 알고리즘을 사용하여 분석하여, 미생물 콜로니가 센서 플레이트 상에 존재하는지 아닌지를 결정할 수 있다. 미생물을 검지하고 계수하기 위하여 제공되는 영상-처리 알고리즘은 다음 단계 중 하나 이상을 포함한다:

a) 영상 마스킹 - 외부 영상 데이터로부터 원하는 영역을 분리하는 단계;

b) 영상 차분(subtraction) - 서로 다른 시간 간격으로 얻어진 두 개의 영상 사이의 변화된 영역을 분리하는 단계;

c) 영상 평활화(equalization) - 차분된 영상에서 나타나는 변화 부분의 크기를 증폭하는 단계;

d) 영상 블러링 - 평활화된 영상에서 단일 픽셀 잡음의 효과를 감소시키는 단계(저역 필터);

e) 영상 대비 및 밝기 신장 - 필터링된 영상에서 국부적 차이를 더 증폭하는 단계;

f) 영상 경계값(threshold) 처리(필요시 여러개의 경계값을 사용) - 콜로니 검출 / 계수 알고리즘을 위하여 영상을 준비하는 단계; 및/또는

g) 콜로니 검출, 계수 및 분류 - 플레이트 상의 미생물 개체의 존재를 결정하고, 플레이트상의 콜로니의 수를 계수하고, 그리고/또는 칼라 분석을 수행하여 플레이트 상의 콜로니를 분류하는 단계.

수많은 상이한 유형의 센서 플레이트 소자의 성공가능성 연구는, 대략 6 시간 안에E.coli검출, 약 10 시간 안에E.faecalis검출, 그리고 약 11 시간 안에S.aureus검출이라는 우수한 검출 결과를 나타내었다. 도 13은 인접한 고정화 매트릭스 층 내의 미생물 콜로니에 가까운 센서층 부분 내에서 센서층이 검출가능한 변화를 겪은 4개의 센서 플레이트의 이면을 보여준다. 본 연구에서 검출된 콜로니는 다음의 테스트를 위하여 바로 사용가능한 미생물 희석액을 생산한다.

감수성 플레이트:

환자 샘플에서 미생물의 검출 및/또는 계수를 한 후, 어떠한 항생제에 대하여 그 미생물이 감수성을 갖는지를 결정하는 것이 종종 요구된다. 요즘은 하나 이상의 류의 항균제에 대하여 내성을 점점 더 많이 나타내는 수많은 박테리아 종이 존재하므로, 감수성 테스트를 수행하는 것이 훨씬 더 중요해 지고 있다. 환자의 분리물 내에서 항균 내성을 정확하게 예측하기 위한 구체적인 감수성 테스트를 실패한다면, 미생물이 감수성을 갖지 않는 항생제가 사용될 경우 환자 치료에 중요한 영향을 줄 수 있다.

본 발명의 일부로서, 미생물의 항생제 감수성 테스트를 수행하기 위하여 감수성 플레이트가 제공된다. 이 플레이트는 일회용이며, 멀티-챔버로 되어 있으며, 미생물(박테리아, 균류, 원생동물, 조류 또는 바이러스와 같은 적절한 어떤 미생물)로 접종하고, 항균제를 도포하여 미생물이 다양한 농도 또는 구배의 각 항균제에 노출되도록 한다. 그리고 나서 플레이트를 장치 내에 놓고, 미생물의 생장(또는 결핍)을 모니터하고 측정한다. 이 데이터를 이용하여 항생제에 대한 미생물의 감수성을 결정한다. 그러한 시스템은 고체 배지 및 Kirby-Bauer 표준화 결과 보고서를 이용하여 미생물 감수성 테스트를 자동화한다. 이렇게, 본 발명은 수동의 디스크 확산 시험법의 장점을 유지하면서 액체배지 미세희석 시험법하고만 연결된 감수성 테스트를 위한 자동화 수준을 미리 제공한다.

본 발명의 감수성 플레이트의 한 구현예가 도 17에 도시되어 있다. 이 플레이트는 일회용으로 제공되며, 제조 단가가 낮은 것으로 준비하며, 바람직하게는 플라스틱으로 만든다. 상부(140)는 하부(142) 위에 꼭 맞도록 제공된다. 상부(140)는 바람직하게는 투명이거나 또는 그렇지 않으면 하부(142) 내 채널 내에서의 미생물 생장의 관찰(수동으로 또는 기계로)이 가능할 수 있도록 하는 성질을 갖는다. 하부(142)에는 복수의 채널(144)이 제공되거나 그렇지 않으면 서로 분리된 챔버를 갖는다. 그러한 채널은 하부(142) 내로 꼭 맞는 삽입부(146) 내에 형성될 수 있거나 또는 하부(142) 및 삽입부(146)는 한 조각으로 일체형으로 형성될 수 있다(그리고 하부 및 삽입부 중 하나 또는 둘다는 불투명일 수 있다). 바람직하게는, 도 18 및 19에서 각 채널을 따라 도시된 것과 같은 표시는, 필요한 경우, 채널 내의 억제 길이의 수동 측정을 돕기 위하여 제공된다. 이것은 억제 영역의 직경을 측정하기 위하여 캘리퍼스를 사용하며, 보다 노동 집중적이면서도 덜 정확한 표준의 수동 디스크 확산 시스템에 비교하여 확실한 장점이다. 각 채널(144)은 고체(또는 반고체)인 생장 배지를 포함한다. 각 생장 배지는 선택적으로 다양한 채널 내의 생장 패턴의 판독성을 개선시키기 위한 인디케이터 첨가물을 포함할 수 있다. 또한, 인디케이터는 분리된 층(" 센서층")으로 제공될 수도 있고, 컨디셔닝 층이 제공될 수도 있으며, 또한 센서 플레이트와 관련하여 상기에서 언급된 바와 같이 다양한 성분들이 겔 층에 제공될 수 있다.

물리적으로, 감수성 플레이트의 외부 구조는 표준 마이크로웰 플레이트(128mm×86mm)와 유사하게 만들어질 수 있다. 그러나, 다른 형상과 크기도 고려되어질 수 있다. 플레이트는 거의 어떠한 구조 형상으로도 만들어질 수 있어서, 사각형 또는 표준 한천 플레이트와 같은 둥근 형태조차도 가능하다. 외부 구조가 어떻든 간에, 내부적으로 플레이트는 고체(반고체) 배지가 보유되어 있는 분리된 챔버 또는 채널들로 나누어져 있다. 플레이트 내의 챔버 또는 웰은 바람직하게는 연장된 채널이지만, 삼각형, 파이 형상, 원형 또는 사각형 웰 또는 기타 기하학적인 형상의 웰도 고려되어질 수 있다. 한 예로서, 도 18a는 서로 떨어진 채널들(150)이 플레이트의 폭을 거의 완전히 가로질러 연장되어 있는 한 구현예를 도시하고 있다. 항생제 디스크(152)는 각 채널의 단부 또는 중앙에 놓아둔다. 보다 짧은 채널(154)이 도 18b에 도시된 것과 같이 플레이트 내에 형성될 수도 있다. 도 19a는 항생제 구배 스트립(161)이 연장된 채널(163) 내에 배치된 또 다른 실시예를 도시하고 있다. 이 구현예에서, MIC(최소 억제 농도)가 결정될 수 있다(MIC는 억제 영역의 가장자리-즉, 생장/비생장의 경계 부분에서의 농도이다). 분리된 채널들은 도 19b에 도시된 바와 같이, 더 좁게 만들어질 수도 있다. 그러나, 만약 표준 Kirby-Bauer 항생제 테스트에 상업적으로 제공되는 것과 같은 표준 항생제 디스크(디스크 직경은 대략 6mm)를 사용하여야 한다면, 각 좁은 채널의 단부에서처럼 보다 큰 항생제 디스크 수용 부분이 제공되어야 한다. 일반적으로, 채널 길이는 8mm보다 크고(바람직하게는 20mm 내지 45mm 길이), 채널 폭은 6mm보다

크다(바람직하게는 8mm 내지 16mm 너비). 만약 표준 항생제 디스크(직경은 대략 6mm)가 사용된다면, 대략 8mm의 채널 너비가 가장 바람직하다. 물론, 만약 상이한 크기의 항생제 디스크가 사용된다면, 채널 치수는 더 크거나 더 작게 만들 수도 있다. 약 30 내지 35mm의 길이가 가장 바람직한데, 이 범위에서 감수성 테스트에 사용되는 거의 모든 항생제/미생물 조합으로부터 유래되는 억제 영역을 검지하고 측정하는 데에 충분한 길이가 된다. 채널 내의 고체 또는 반-고체의 생장 배지의 깊이는 1mm 이상이어야 하며, 바람직하게는 약 2mm 내지 약 20mm, 그리고 더욱 바람직하게는 약 5mm 내지 약 15mm이다.

격리된 챔버의 목적 중 하나는 감수성 플레이트 상에서 수행될 수 있는 테스트의 수를 최대화할 뿐만 아니라 감수성 테스트의 용이성과 재현성을 증가시키는 것이다. 표준 디스크 확산(Kirby-Bauer) 테스트가 150-mm Mueller-Hinton plate 당 12 테스트 이하(14.73-cm2 당 하나의 테스트)의 밀도로 물리적으로 제한되는 반면, 본 발명은 128mm×85mm 플레이트 상에서 24 테스트 이상을 쉽게 허용하는데, 이것은 표준 디스크 확산 플레이트의 3배 이상의 밀도이다. 초기에는, 본 발명의 채널 중의 억제 부분의 길이는 (동일한 미생물과 항생제를 사용했을 때) 표준 디스크 확산 플레이트 상의 억제 직경과는 아무런 관계가 없는 것으로 생각되었다. 대신, 억제의 측정 길이는 본 발명의 표준 플레이트에서 측정된 직경과 거의 동일하였다. " 거의 동일" 이라 함은 같은 시간 후에 본 발명에서 그리고 표준 Kirby-Bauer 테스트에서 측정된 길이가 완전히 동일하거나, 혹은 80%의 시간에 걸쳐서 테스트의 최종 결과가 상호관련될 정도로 충분히 가깝고, NCCLS에 의해 정해지는 제어 범위 내인 것을 의미한다. 대부분의 경우에 있어서, 결과는 90%의 시간에 걸쳐서 상호관련된다. 그리고, 표준 Kirby-Bauer 테스트가 (동일한 미생물 및 항생제로) 내성을 나타낼 때 본 발명의 결과가 민감성을 나타내는 경우는 전체 케이스의 단지 작은 일부(< 1.1%)에 지나지 않았으며, 반대의 경우도 그러하였다(0.9%).

본 발명의 감수성 플레이트는 다음과 같이 이용된다:

1) 테스트되는 각 항생제의 하나의 농도를 포함하는 디스크, 또는 몇가지 농도를 포함하는 스트립을, 감수성 플레이트의 각 챔버 내의 생장 배지의 접종된 표면 상에 (수동으로 또는 자동으로) 놓는다. 일단 디스크 또는 스트립을 플레이트 위에 놓으면, 항생제는 생장 배지 내로 확산하기 시작하여 생장 배지 내에서 항생제 구배를 형성한다. 항생제 패널은 유연성이 있어서, 사용자-설계 및/또는 미리-설계가 가능하다.

2) 감수성 플레이트를 (수동으로 또는 자동으로) 장치 내에 놓고 배양하면, 생장 배지 내로 확산되는 항생제에 의해 억제되는 부분을 제외하고는, 챔버 내의 미생물 생장을 촉진한다.

3) 감수성 플레이트는 수동으로 또는 자동으로 검사하여 챔버 내 억제 영역의 존재 및 길이를 결정한다. 각 채널을 따라 괘선으로 표시하거나 숫자를 매기는 것은 수동의 영역 측정을 용이하게 한다. 자동의 영역 측정은 기계에 의해 영상 캡쳐 및 영상 처리를 함으로써 수행된다.

상기한 바와 같이, 감수성 플레이트의 채널 내의 억제 길이는 수동으로 또는 자동으로 측정될 수 있다. 만약 자동으로 측정된다면, 감수성 플레이트 배양, 영상 포착/캡쳐, 및 영상 처리의 세가지 주된 기능을 수행하는 역할을 할 수 있는 장치를 준비한다. 이 장치는 플레이트를 배양하기 위한 제어된 환경을 제공한다. 감수성 플레이트는 접종하여 인큐베이터 내에 놓고, 배양 기간 동안 영상 포착 소자에 의해 계속하여 스캐닝한다. 이 장치는 다음과 같은 하나 이상의 칼라 및/또는 그레이 스케일의 영상처리 소자를 사용하여 영상 포착을 제공한다: CCD 선형 배열 스캐너, CCD 선형-스캔 카메라, CCD 2D 배열 카메라(정지 또는 모션 카메라), 레이저 스캐닝 카메라, 또는 단독으로 혹은 별도의 처리 이후에 사용될 수 있는 감수성 플레이트의 충분히 명료한 영상을 제공하는 기타 장치. " 영상" 이란, 광학적 정보와 같은, a1×1 픽셀인 감수성 플레이트로부터의 어떠한 정보를 의미한다. 영상 포착은 미리 프로그래밍된 규칙적인 시간 간격으로 수행되며, 캡쳐된 영상은 감수성 플레이트의 하나 이상의 관점과 각도로부터 얻는다.

감수성을 결정하기 위하여 제공되는 영상-처리 알고리즘은 다음 단계들 중 하나 이상을 포함한다:

h) 영상 마스킹 - 외부 영상 데이터로부터 원하는 영역을 분리하는 단계;

i) 항생물질 디스크 또는 스트립 검출 - 테스트를 통해 항생물질의 종류 및 농도를 결정

j) 영상 차분 - 서로 다른 간격으로 얻어진 두 개의 영상 사이의 변화된 영역을 분리하는 단계;

k) 영상 평활화 - 차분화된 영상에 나타나는 변화된 부분의 크기를 증폭하는 단계;

l) 영상 블러링 - 평활화된 영상에서 싱글 픽셀 노이즈의 효과를 감소시키는 단계(저역 필터);

m) 영상 대비 및 밝기 신장 - 필터링된 영상에서 국소적 차이를 더 증폭하는 단계; 및/또는

n) 억제 영역 검출, 측정 및 검사 - 특정 항생물질에 대한 미생물의 감수성을 결정하는 단계.

본 발명의 시스템으로 감수성 테스트를 한 결과를 도 20-22에 나타내었다. 도 20a는 접종 및 항생제 디스크 배치 18시간 후에 취한 (몇 가지 상이한 항생제 디스크를 이용한) 감수성 플레이트 상의E.coli의 그레이 영상을 나타낸다. 도 20b는 영상 처리 후의 동일한 플레이트 영상이다. 접종 시에 취한 영상은 배양 18시간 후에 취한 영상으로부터 차분하고, 차이 영상을 히스토그램 평활화하고 블러링한 후, 결과 영상에 억제 측정 알고리즘을 적용하였다. 억제 영역 및 평활화 직경 측정은 도 20b에 나타내었다. 유사하게, 도 21a 및 21b는 도 20과 동일한 시간 및 처리 기술을 이용한S.aureus에 대한 그레이 영상 및 처리된 영상을 나타낸다.

접종 후 1시간에서 17시간까지 각 시간마다 포착된 영상을 분석하면, 미생물 및 항생제 사이의 상호작용에 관한 부가적인 정보의 존재가 설명된다. 미생물의 생장 속도, 항생제의 확산 속도 및 미생물에 대한 항균 효과 특징과 같은 특성들은 명백하다. 사실, 많은 경우에 있어서, 억제 영역은 플레이트 접종 후 4 내지 6 시간 후 정도로 조기에 영상 처리기술을 이용하여 정해진다. 한 예로서, 도 22a 및 22b는 접종한지 단지 4 시간 후의Kleb.pneumoniae의 그레이 영상 및 처리된 영상을 각각 보여준다(도 22c 및 22d는 각각 동일한 플레이트의 18시간 후의 그레이 영상 및 처리된 영상이다).

본 발명은 또한 미생물을 위한 고체 또는 반-고체 영양 배지로 채워진 단일 챔버인 하부 플레이트 및 복수의 리브(rib) 또는 칸막이가 구비된 상부 플레이트를 포함하는 것이 고려되어질 수 있다. 상부 및 하부 플레이트가 서로 꼭 맞는 경우, (상부 플레이트의 " 챔버" 내에 항생제 디스크를 놓은 후) 영양 배지는 도 4에 도시된 본 발명의 구현예에서와 같이 격리된 챔버로 분리된다. 물론, 리브 또는 칸막이는 상부 플레이트로부터 분리된 요소로 제공되어질 수 있다.

본 발명의 또 다른 태양은, 감수성, 중간 또는 내성의 결정 외에 MIC의 결정이다. 본 발명에 있어서, MIC는 디스크로부터의 항생제의 확산이 고도로 예측가능한 로그(log) 구배를 형성할 때 영역 측정(채널에 따른 억제의 길이)의 회귀 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 디스크 확산 길이로부터의 MIC의 결정은 Giles Scientific(NY)사의 BIOMIC ™ System과 같은 공지된 어떠한 방법에 의하여도 수행될 수 있다.

본 발명에 의하면, 복수의 구획에 농도를 달리하면서 항균제를 가할 수 있다. 고체 또는 반-고체의 생장 배지는, 항균제가 생장 배지에 가하여질 때 시간이 흐름에 따라 확산하여 농도 구배를 형성할 수 있을 정도로 충분히 고상이어야 한다(농도 구배는 가로 방향으로 형성될 수 있고, 10 내지 18 시간 또는 그 이상까지의 시간에 걸쳐서 확산이 계속될 수 있다). 감수성 플레이트의 각 챔버 내의 고체 또는 반-고체 생장 배지는 테스트되는 미생물의 McFarland 0.5 표준 현탁액으로 접종(예를 들어, 면봉법으로)한다. 만약 미생물이 박테리아라면, 호기성 그램-양성 미생물, 호기성 그램 음성 미생물, 혐기성 그램 양성 미생물, 혐기성 그램 음성 미생물 또는 세포벽이 불완전한 미생물일 수 있다.

고체 또는 반-고체의 생장 배지는 정규 배지, 선택적 배지, 감별 배지(differential media), 선택적-감별 배지, 강화 배지(enriched media), 감수성 배지, 혐기성 배지 및 균류 배지 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 만약 배지가 정규 배지라면, 트립티카아제 소이 한천(trypticase soy agar), 트립틱 소이(tryptic soy), BHI 혈액 한천, BHI 한천, 카스만(Casman) 혈액, HBT 이층(bi-layer) 배지 및 표준 방법 한천 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 만약 배지가 선택적 배지라면, 콜럼비아 CNA 혈액, 아자이드 혈액 한천, 쵸콜렛 선택적 배지, 브뤼셀라(Brucella) 혈액 배지, 혈액 S×T, 스트렙(Strep) 선택적 I& II 배지, PEA, Bile Esculin 한천,Clostridium difficile한천, 스키로우(skirrow), CCFA, CLED,Pseudomonas cepacia한천, S×T 혈액 한천, TCBS 한천, CIN,Moraxella catarrhalis배지, 및 챠콜 선택적 배지 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 만약 배지가 감별 배지라면, 브릴리언트 그린(brilliant green), CYE-Legoinella, 센트리마이드(centrimide), DNA-se, 헥토엔 엔테릭(hektoen enteric) 한천, 조르단 타르타레이트(Jordans tartarate), 만니톨 염, LIA, TSI, FLO-Pseudomonas F, TECH-Pseudomonas P, 셀러스(Sellers), 녹말 한천, 써모뉴클레아제(thermonuclease), 틴스달(Tinsdale) 한천, McCarthy, LSM, 소르비톨-McConkey, MUG-McConkey 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

만약 배지가 선택적 감별 배지라면, MacConkey, EMB, Baird Parker, 항생제가 있는 BHI 혈액, BiGGY-균학적(mycologic) 배지, CIN,Clostridium difficile한천, McBride, Pseudomonas 분리 한천, S-S 한천, 터지톨 7(tergitol 7), 및 SLD 한천 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 만약, 배지가 강화 배지라면, 쵸콜렛, GC 쵸콜렛, BHI 쵸콜렛, Borget Gengou, 심장 추출액 한천, McCarthy, Regan-Lowe, Thayer-Martin, 트랜스그로우(transgrow) 배지, 시스테인 텔루라이트 혈액, 시스테인 텔루라이트 심장, BHT, 심장 추출액, Loefflers, 및 혈청 텔루라이트 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 만약 배지가 혐기성 배지라면, 콜럼비아 염기, PEA, CAN, LKV, BBE, Brucella, BHI 혈액 염기, KBE, McClung-Toabe, 옥스갈(oxgall), Schaedlers, 및 Wilkens-Chalgren 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 그리고 만약 배지가 균류 배지라면, BHI 염기, BiGGY, 새모이(birdseed), 콘 밀, 목화씨, DTM, 사부로(sabourauds) 덱스트로스, Fuji 배지, 억제 곰팡이, Littman 옥스갈, 균학적, 미코필(mycophil), Nickersons, SABHI, 및 트리코피틴(trichophytin) 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

항균제는 베타락탐 항생제, 세펨(cephem) 항생제, 글리코펩타이드 항생제, 아미노글리코사이드 항생제, 마크롤라이드 항생제, 테트라사이클린 항생제 및 퀴날론 항생제 중 하나 이상일 수 있다. 만약 항균제가 베타락탐 항생제라면, 페니실린, 유레도페니실린, 합성물질(synthetics), 카르바페넴(carbapenem) 및 베타-락탐/억제제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 만약 세펨 항생제라면, 세팔로스포린 I 내지 IV 세대 및 카르바세펨 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 또한 하나 이상의 항균제는 설파제 및 그 유도체, 클로람페니콜, 클린다마이신, 니트로후란토인, 폴리믹신 및 화학 제제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

동정 플레이트:

본 발명의 일부로서 샘플 내에서 검출된 미생물을 동정하기 위해 동정 플레이트를 이용한다. 동정 플레이트를 표준 미생물 현탁액으로 접종한다. 그리고 나서 플레이트를 장치 내에 놓는다. 미생물은 다양한 기질 또는 기질/인디케이터 조합물과 상호작용하여, 기질 또는 인디케이터 내의 검출가능한 변화를 발생시킨다. 이 장치는 기질 및/또는 인디케이터의 변화(또는 그 결핍)를 모니터링하고 측정한다. 이 데이터를 미생물을 동정하는 데에 이용한다.

물리적으로, 동정 플레이트의 전체 치수 및 조성은 통상의 96-웰 마이크로웰 플레이트:적어도 투명한 하부면을 갖는 얕은 용기와 유사한 것으로 생각될 수 있다. 플레이트는 평평하거나 일련의 함몰부를 가질 수 있다. 특정 검 또는 겔 내의 특이적인 기질 또는 기질/인디케이터 조합체를 플레이트 하부의 평탄면 상에 또는 일련의 함몰부 내에 놓는다. 이 검들은 미생물 현탁액으로부터 액체를 흡수할 수 있다. 택일적으로, 기질 또는 기질/인디케이터 조합체는 여과지 디스크와 같은 흡수 물질 내로 스며들게 하여, 겔 또는 검 내의 함몰부 내에 또는 플레이트에 부착할 수 있다. 한 구현예에서는, 종이 디스크를 잔탄 검에 부착할 수 있다. 고정화 기질 또는 기질/인디케이터 조합은 전체 플레이트 면 아래로 완전히 움푹 들어가게 하거나, 전체 플레이트 면과 같은 높이이거나, 또는 전체 플레이트면보다 높게 할 수 있다.

동정 플레이트는 다음의 방법으로 사용할 수 있다.

1. 생장 플레이트로부터 미생물 표준 현탁액을 제조한다.

2. 이 현탁액을 동정 플레이트에 첨가한다.

3. 특정 기질 또는 기질/인디케이터 조합을 각각 함유하는 복수의 부위로 현탁액을 집중시킨다.

4. 동정 플레이트를 배양하여, 각 부위 내의 미생물의 대사 활성을 촉진한다.

5. 상기 부위 내의 칼라 또는 형광성의 변화는 특정 기질에 대한 대사 활성을 나타낸다.

6. 동정 플레이트를 수동 또는 자동으로 검사하여 대사된 기질의 패턴을 결정한다.

미생물 현탁액을 동정 플레이트의 한쪽 단부에 가한다. 플레이트의 기하 구조는 현탁액이 흐를 수 있도록 하거나 혹은 수로를 만들어서 기질 또는 기질/인디케이터 조합체를 함유하는 집중화된 모든 부위가 충분한 양의 현탁액을 흡수할 수 있도록 한다. 기질 또는 기질/인디케이터 조합체가 있는 집중화된 부위는 미생물 현탁액을 흡수할 수 있도록 되어 있다. 과잉의 액체는 플레이트 밖으로 그 과잉분을 부어버리거나 혹은 택일적으로는 플레이트의 현탁액이 가하여진 곳으로부터 반대편 단부에서 위킹제가 여분의 액체를 흡수하도록 한다. 어떠한 경우든, 샘플의 도입은 단순한 일-단계 조작이다. 배양하는 동안 증발을 방지하기 위하여 뚜껑을 가한다.

또 다른 구현예에서는, 3-단편 플레이트가 이용된다. 이 두 번째 단편은 상기한 동정 플레이트와 꼭 맞으며, 채널 또는 일련의 채널로 구성되는데, 각 채널을 " 펀넬(funnels)" 을 함유하며, 이는 현탁액이 기질 또는 기질/인디케이터 조합체를 함유하는 집중화된 부위로 흐를 수 있게 한다. 다시, 과잉의 액체를 부어서 버리거나 혹은 현탁액이 가해지는 곳과 반대편의 플레이트 단부에서 위킹제에 의해 흡수시킬 수 있다. 이 채널/펀넬 단편은 그 자리에 남겨질 수도 있고, 또는 배양하기 전에 폐기될 수도 있다.

기질 또는 기질/인디케이터 조합체를 고립시키는 목적은 경쟁 기질에 의해 초래되는 간섭이 없는 집중화된 반응을 제공하기 위함이다. 기질은 충분한 농도이어야 하며, 미생물 현탁액의 첨가 동안 집중화된 부위에 잔류해야 한다. 기질 또는 기질/인디케이터 조합체는 몇가지 유형일 수 있다. 특이적 기질은 o-니트로페닐-β-D-갈락토사이드 및 기타 니트로페닐 유도체를 포함할 수 있다. 택일적으로, 기질은 5-브로모-4-클로로-3-인도일-β-D-갈락토사이드(X-gal) 또는 다른 " X" 유도체, 형광성 4-메틸럼벨리페릴 유도체 또는 7-아미조-메틸쿠마린 유도체를 포함할 수 있다.

기질/인디케이터 조합체는 당(글루코스, 락토스 등), 아미노산(라이신, 아르기닌 등), 지방산(올레산, 팔미트산 등), 저분자 유기산(구연산, 글루쿠로닉 산 등), 다가 알콜(글리세롤, 소르비톨 등) 등과 같은 기질을 포함할 수 있다. 인디케이터는 브롬크레졸 퍼플, 페놀프탈레인 등과 같은 pH 인디케이터 또는 산화/환원(red-ox) 인디케이터를 포함할 수 있는데, 이것으로 한정되지는 않는다. 양성 반응은 자외선, 가시광선 또는 적외선 스펙트럼에서 변화를 생성할 수 있다.

동정 플레이트의 분석을 위하여, 규칙적인 시간간격(보통은 한시간 간격)으로 플레이트의 상부 및/하부측으로부터 영상을 포착한다. 규칙적인 시간간격으로 스캐닝함으로써, 반응속도 기질 데이터를 제공하는데, 이것은 미생물을 특징짓는 것을 돕는 데 이용할 수 있다. 동정을 결정하기 위해 제공되어지는 영상 처리 알고리즘은 다음의 단계로 이루어지는데, 이들 중 일부는 필요하지 않은 경우 생략되어질 수 있다:

、 영상 마스킹(필요한 경우) - 외부 영상 데이터로부터 원하는 영역을 분리하는 단계;

- 기질 영역 인식(필요한 경우) - 테스트 하에서 기질의 위치를 결정하는 단계;

- 영상 차분(필요한 경우) - 서로 다른 시간 간격으로 얻어진 두 개의 영상 사이의 변화된 영역을 분리하는 단계;

- 영상 평활화(필요한 경우) - 차분된 영상에서 나타나는 변화 부분의 크기를 증폭하는 단계;

- 영상 블러링(필요한 경우) - 평활화된 영상에서 단일 픽셀 노이즈의 효과를 감소시키는 단계(저역 필터);

- 영상 대비 및 밝기 신장(필요한 경우) - 필터링된 영상에서 국부적 차이를 더 증폭하는 단계;

- 영상 패턴 인식 - 어떠한 기질이 반응하였는지를 결정하는 단계.

그리고 나서 테스트 미생물 현탁액의 반응을, 공지된 상이한 미생물과의 반응성과 비교함으로써 미생물 동정을 수행하였다.

도 23a는 24 시간에서 복수의 웰을 갖는 동정 플레이트의 (가시적인) 영상이고, 반면, 도 23b는 24시간에서의 UV 영상이다. 도 24는 각 사이에 채널(305)을 가질 수 있는 복수의 웰(300)이 구비된 동정 플레이트(310)의 한 구현예의 모습이다. 각 웰의 하부 상에는 투명 표면이 제공되면서, 플레이트의 나머지 바닥은 불투명일 수 있다. 플레이트의 상부는, 혐기성 반응을 위하여 선택된 웰을 밀봉하는 방법이 가능하도록 제공될 수 있다. 용기에는 수증기의 손실을 방지하기 위하여 불투과성 상부가 구비될 수 있으며, 미생물에 대하여 파손-저항성 및 비-독성을 갖도록 디자인될 수 있다. 플레이트의 유형이 무엇인지, 어떤 환자인지 등과 같은 정보를 나타내기 위하여 동정 플레이트 (기타 유형의 플레이트에도) 상에 바코드를 제공할 수도 있다.

샘플이 플레이트(310) 상에 가하여지면, 액체는 각 웰(300) 상에서 채널(305)을 통하여 세척된다. 과잉의 액체는 웰(307)에 수집될 수 있는데, 그 곳에는 스폰지 또는 기타 액체 흡수 물질이 배치될 수 있다. 각 기질/인디케이터 매트릭스 층은 액체 샘플 0.05 내지 1ml를 흡수하여 보유할 수 있으며, 배양하는 동안 기질의 교차-감염을 방지한다. 기질/인디케이터는 바람직하게는 미생물에 대하여 비-독성이며, 적어도 일년의 선반 수명을 갖는다.

소변 스크리닝 플레이트:

발생의 비율에서 호흡기 감염만큼은 아니지만, 요로 감염은 임상적임 미생물 실험실에서 가장 빈번하게 요구되는 테스트의 원인이 된다. 임상적인 소변 스크리닝은, 일반적으로 확립된 양, 일반적으로 1 내지 10 마이크로리터의 소변을 MacConkey 한천, 에오신 메틸렌 블루(EMB) 한천과 같은 선택적 및/또는 감별 배지 및 비선택적 배지, 일반적으로는 혈액 한천 양쪽의 플레이트 상에서 스트리킹하는 것과 같은 단계를 포함한다. 배양 후, 어떠한 미생물의 생장에 대하여 플레이트를 시험하여, 샘플 소변 내의 미생물의 존재와 환자 내의 가능한 감염을 표시한다. 가검물 내에 존재하는 미생물의 수와 유형이 모두 임상적으로 관련되어 있기 때문에, 판독은 숙련된 기술자에 의하여 행해져야 하며, 이는 시간과 비용이 소모되는 일이다. 필요하다면, 더욱 정확한 동정 및 항생제 감수성 프로파일을 위하여 후속 테스트(follow-up testing)를 행한다.

본 발명의 장치는 세균뇨(bacteriuria)에 대한 미생물 테스트의 부담을 상당히 줄인다. 배지가 불투명이든, 투명이든 혹은 반투명이든 어떻든 간에, 실제로 어떠한 고체 또는 반고체의 배지 상에서도 미생물 콜로니를 검출하고 계수할 수 있다. 선택가능한 배지는 혈액 한천 및 트립틱 소이 한천과 같은 비선택적 배지를 포함할 수 있고, 또는 CHROMagar Orientation과 같이 강화된 감별을 위하여 첨가되는 생화학적 물질을 갖는 배지 뿐만 아니라, MacConkey 한천, EMB 한천, 시스틴-락토스-전해액 불완전(CLED) 한천과 같은 선택적 및/또는 감별 배지를 포함할 수 있다. 미생물 콜로니의 검출 및/또는 계수는, 미생물 생장의 직접적인 영상처리에 의하여, 또는 배지 내, 인디케이터 내, 또는 센서층 내에서

미생물이 만들어내는 변화의 직접 또는 간접적인 영상처리에 의하여 행해질 수 있다. 배양 및 검출을 위한 배지 유형들의 어떠한 조합도, 본 발명에서 이용하기 위한 분리된 구획 또는 플레이트 내에 놓을 수 있다. 바람직하게는, 한 부분에는 비선택적 배지를 포함하고, 또 한 부분에는 선택적 및/또는 감별 배지를 포함하는 두 개의 챔버로 된 플레이트를 이용한다. 비선택적 및 감별 배지의 조합은, 선택되는 특정 배지에 따라서, 존재하는 미생물의 총 갯수와 어느 정도의 동정 양쪽의 측정을 가능하게 한다.

소변 스크리닝을 위한 플레이트는 도 25a 및 25b에 도시되어 있다. 이러한 유형의 플레이트의 분석을 위하여, 규칙적인 시간 간격(예를 들어, 매 시간마다)으로 플레이트의 상부 및/또는 하부로부터 영상을 포착한다. 또는 소정의 시간(예를 들어, 24 시간 후)에서 하나의 영상을 포착할 수 있다. 소변 스크리닝 플레이트 상의 콜로니를 검출하고 계수하기 위하여 단지 하나의 영상만이 필요하지만, 규칙적인 시간 간격으로 스캐닝함으로써 동적인 생장 데이터를 제공하고, 이것은 미생물을 특징짓는 것을 돕는 데 이용할 수 있다. 예를 들어, 도 25a 및 25b에서,K.pneumoniae및E.fecalis는 유사한 칼라를 진행시키지만,K.pneumoniae콜로니가 훨씬 더 큰 속도로 생장한다는 사실에 의해 쉽게 구별될 수 있다.

소변 스크리닝 플레이트 상의 미생물 생장을 검출하고 계수하기 위하여 제공되어지는 영상 처리 알고리즘은 다음의 단계들로 이루어진다:

a) 영상 마스킹 - 외부 영상 데이터로부터 원하는 영역을 분리하는 단계;

b) 영상 차분(필요한 경우) - 서로 다른 시간 간격으로 얻어진 두 개의 영상 사이의 변화된 영역을 분리하는 단계;

c) 영상 평활화(필요한 경우) - 차분된 영상에서 나타나는 변화 부분의 크기를 증폭하는 단계;

d) 영상 블러링(필요한 경우) - 평활화된 영상에서 단일 픽셀 잡음의 효과를 감소시키는 단계(저역 필터);

e) 영상 대비 및 밝기 신장(필요한 경우) - 필터링된 영상에서 국부적 차이를 더 증폭하는 단계;

f) 칼라 분리 및 분석(전-검출 또는 후-검출 처리) - 미생물 콜로니의 유형을 감별(인디케이터에 의존하여)하는 단계;

g) 영상 경계값(threshold) 처리(필요한 경우) - 콜로니 검출 / 계수 알고리즘을 위하여 영상을 준비하는 단계; 및/또는

h) 콜로니 검출 및 계수 - 플레이트 상의 미생물 개체의 존재를 결정하고, 플레이트 상의 콜로니를 계수하는 단계.

소변 스크리닝 플레이트의 연구는 콜로니가 접종 후 12 시간 내지 20 시간 근처에서 검출되고 계수될 수 있다는 것을 보여준다. 도 25a 및 25b는 18 시간에서 취한 원래의 스캐닝 영상이다. 플레이트된 미생물은E.faecalis(칼라로 볼 수 있을 경우-작고, 밝은 녹색),E.coli(적색),S.aureus(작고, 노란색),P.aeruginosa(중간크기, 노란색),Enterobacter cloacae(크고, 어두운 녹색), 및Klebsiella pneumoniae(중간 크기, 중간 녹색)이었다.

산업상 이용 가능성

본 발명의 상기 기재에 의해 알 수 있는 바와 같이, 완전히 통합된 미생물 시스템이 제공되는데, 이는 본질적으로 하나의 시스템으로 임상적인 미생물 실험실에서 요구되는 거의 모든 기능(미생물 검출/스크리닝 및/또는 계수, 미생물 동정, 항생제 감수성 테스트 및 소변 스크리닝)을 수행한다. 현재 완전히 통합된 기타의 시스템은 알려진 것이 없다. 대신, 본 시스템은 실제로는 비-통합 장치/산물의 " 집합" 의 일부로서, 본 발명의 복수의 기능을 수행하기 위하여 복수의 장치들이 구매되어야 한다(그리고 각각에 대하여 실험실 공간이 있어야 한다). 본 발명은 몇 개로 분리된 장치보다 사용 및 유지가 더 용이하고, 단일의 장치를 소유하고 조작하는 데 비용이 덜 소요되고, 본 발명은 또한 몇 개로 분리된 장치보다 실험실 공간이 덜 필요하고, 그리고 모듈식이면서 가변적이므로 넓은 용량 범위를 수용할 수 있다. 본 발명은 동일한

장치 내에서 복수의 기능을 수행할 수 있을 뿐만 아니라, 이러한 복수의 기능들을 동시에 수행할 수도 있다(상이한 유형의 플레이트들을 서로 인접하게 배치할 수 있다). 이로써 실험실 사용자들은 필요한 테스트를 계획함에 있어서 폭넓은 유연성을 가질 수 있다.

지금까지의 기재는 당업자가 본 발명을 실시할 수 있을 정도로 충분하다. 여기에 기재된 실시예는 어떠한 식으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 생각되어져서는 안 된다. 사실, 여기에서 기재되고 나타내어진 것들 외에도 다양한 본 발명의 변경들이 상기한 기재로부터 당업자에 의해 명백히 가능할 것이며, 이는 첨부된 특허청구범위의 범위에 속한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

a) 미생물의 검출 및/또는 계수 테스트를 수행하는 단계로서, 하나 이상의 테스트 샘플을 각각의 검출 플레이트에 가하고, 상기 각각의 플레이트를 장치의 홀더 내에 또는 위에 놓고 장치 내에서 배양하고, 그리고 배양하는 동안 그리고/또는 그 후에 각 플레이트를 장치 내의 영상처리 소자에 의해 영상처리하여, 미생물 콜로니의 존재 여부 및/또는 얼마나 많은 미생물 콜로니가 존재하는지를 결정하는 것을 특징으로 하는 단계; 및

b) 미생물의 감수성 및/또는 동정 테스트를 수행하는 단계로서, 만약 감수성 테스트를 수행하는 경우라면, 미생물을 함유하는 하나 이상의 샘플을 각각의 감수성 플레이트에 가하고, 그 전 또는 그 후에 하나 이상의 항생제를 플레이트에 가하고, 상기 각각의 플레이트를 장치의 홀더 내에 또는 위에 놓고 장치 내에서 배양하고, 그리고 각 플레이트를 (a) 단계의 영상처리 소자와 같은 또는 다른 영상처리 소자에 의해 영상처리하여, 미생물 생장이 억제되었는지 그리고/또는 얼마나 억제되었는지를 결정하는 것을 특징으로 하고, 만약 동정 테스트를 수행하는 경우라면, 미생물을 함유하는 하나 이상의 샘플을 미생물에 대한 기질을 함유하는 각각의 동정 플레이트에 가하고, 상기 각각의 플레이트를 장치의 홀더 내에 또는 위에 놓고 장치 내에서 배양하고, 그리고 각 플레이트를 (a) 및/또는 (b) 단계의 상기 영상처리 소자와 같은 또는 다른 영상처리 소자에 의해 영상처리하여, 각 플레이트 상의 미생물을 분류하고 그리고/또는 동정하는 것을 특징으로 하는 단계;

를 포함하는, 동일한 장치 내에서 어떠한 순서에 의해 또는 동시에 여러개의 미생물 테스트를 수행하는 방법.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 상기 하나 이상의 검출 플레이트를 영상처리하기 위한 상기 영상처리 소자는 상기 하나 이상의 감수성 및/또는 동정 플레이트를 영상처리하기 위한 것과 동일한 영상처리 소자인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3.

제 1 항에 있어서, 상기 각각의 검출 플레이트와 상기 각각의 감수성 및/또는 동정 플레이트는 동일한 크기이며, 상기 장치의 상기 홀더에 의해 교환가능하게 홀딩되어 있는 구조인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4.

제 1 항에 있어서, 각 플레이트는 그 표면상에 샘플의 근원을 동정하기 위한 정보를 가지며, 그리고/또는 하나 이상의 테스트가 상기 샘플 상에서 행해지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5.

제 4 항에 있어서, 상기 정보는 영상처리 소자 또는 바코드 판독기에 의해 판독될 수 있는 바코드의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6.

제 1 항에 있어서, 상기 플레이트와 상기 하나 이상의 영상처리 소자를 서로 상대적으로 이동시키기 위한 하나 이상의 운송 메카니즘을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7.

제 6 항에 있어서, 영상처리되거나 이동되는 플레이트의 유형에 관계없이, 동일한 영상처리 소자(들) 및 동일한 운송 메카니즘(들)이 사용되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8.

제 1 항에 있어서, 상기 검출 플레이트의 상기 배양은 감수성 및/또는 동정 플레이트의 배양에 있어서와 동일한 인큐베이터 내에서 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9.

제 6 항에 있어서, 상기 플레이트는 상기 영상처리 소자에 상대적으로 이동하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10.

제 6 항에 있어서, 상기 하나 이상의 영상처리 소자는 상기 플레이트에 상대적으로 이동시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11.

제 6 항에 있어서, 상기 플레이트 및 상기 하나 이상의 영상처리 소자 둘 다를 서로 상대적으로 이동시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12.

제 1 항에 있어서, 사용자 인터페이스를 통하여 장치 기능을 모니터링하고 제어하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13.

제 1 항에 있어서, 상기 플레이트의 상기 영상처리는 규칙적인 시간 간격으로 행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14.

제 13 항에 있어서, 상기 플레이트의 영상처리는 하나 이상의 칼라 및/또는 그레이 스케일의 영상처리 및 조명 소자에 의해 행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15.

제 1 항에 있어서, 상기 플레이트의 영상처리는 복수의 영상처리 소자에 의해 행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16.

제 1 항에 있어서, 상기 플레이트는 상기 영상처리 소자에 의해 영상처리가 되는 영상처리 스테이션으로 계단식 이동하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17.

제 1 항에 있어서, 상기 영상처리는 하나 이상의 CCD 선형 배열 스캐너, CCD 선-스캔 카메라, CCD 2D 배열 카메라 및 레이저 스캐닝 카메라에 의해 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18.

제 17 항에 있어서, 상기 영상처리는 각 플레이트의 하나 이상의 관점 또는 각에서 각 플레이트의 영상을 캡쳐하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19.

제 1 항에 있어서, 플레이트의 영상을 캡쳐한 후, 칼라 분리 및 선택, 영상 차분, 영상 평활화, 영상 블러링, 영상 대비 및 밝기 신장, 및 영상 경계값 처리의 영상처리 단계들 중 하나 이상을 이용하여 그 영상을 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20.

제 19 항에 있어서,

a) 만약 플레이트가 검출 또는 스크리닝 플레이트라면, 콜로니 검출, 계수 및/또는 분류 단계;

b) 만약 플레이트 또는 플레이트의 일부가 항생제 감수성을 위한 것이라면, 억제 영역 검출 및 측정 단계; 및/또는

c) 만약 플레이트 또는 플레이트의 일부가 미생물 동정을 위한 것이라면, 기질 반응 영역 검사 단계;

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21.

제 1 항에 있어서, 상기 미생물 검출 및/또는 계수 테스트, 상기 감수성 테스트 및 상기 동정 테스트를 장치 내에서 순차적으로 그리고/또는 동시다발적으로 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22.

제 1 항에 있어서, 상기 감수성 테스트 및 상기 동정 테스트를 동일한 테스트 미생물에 대하여 동일한 플레이트 상에서 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23.

제 1 항에 있어서, 상기 미생물 검출 및/또는 계수 테스트는 하나 이상의 검출 플레이트 상에서 수행하는데, 각 플레이트는 미생물 고정화층에 인접한 센서층을 가지며, 각 검출 플레이트의 상기 영상처리는 상기 센서층에 근접한 각 검출 플레이트 쪽에서 수행하며, 미생물이 상기 고정화층 내에 존재하는 경우 상기 센서층은 검출가능한 변화를 수반하고, 그리고 영상처리 소자는 검출 플레이트의 센서층 내의 변화를 검지할 수 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24.

제 1 항에 있어서, 상기 감수성 테스트는, 플레이트의 적어도 일부는 그 위에 놓인 미생물의 감수성을 결정하기 위하여 제공되는 플레이트 상에서 수행되는데, 상기 플레이트는 각 채널 내에 항생제를 갖는 복수의 채널을 가지며 각 채널에는 테스트 샘플이 가해지며, 상기 플레이트 상에서 상기 영상처리를 수행하여 각 채널 내의 미생물 생장의 억제 여부 및/또는 억제 정도를 결정하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25.

a) 검출 플레이트를 홀딩하기 위한, 그리고 감수성 및/또는 동정 플레이트를 홀딩하기 위한 하나 이상의 플레이트 홀더;

b) 미생물 검출 및/또는 계수 테스트를 수행하기 위한 복수의 검출 플레이트로서, 상기 하나 이상의 플레이트 홀더 상에 홀딩된 검출 플레이트;

c) 미생물의 감수성 및/또는 동정 테스트를 수행하기 위한 복수의 플레이트로서, 상기 하나 이상의 플레이트 홀더 상에 홀딩된 감수성 및/또는 동정 플레이트;

d) 하나 이상의 시간 주기로 플레이트를 영상처리하기 위하여 제공되는 하나 이상의 영상처리 소자;

e) 상기 하나 이상의 플레이트 홀더 및/또는 하나 이상의 영상처리 소자를 서로 상대적으로 이동시키기 위한 하나 이상의 운송 메카니즘;

f) 상기 검출 플레이트 상에서 미생물의 존재를 검출하고, 항생제 감수성 및/또는 미생물 동정을 위한 상기 플레이트 상에서 항생제 감수성 및/또는 미생물 동정을 결정하기 위한, 장치 기능을 제어하고 상기 영상처리 소자에 의해 얻어진 영상을 처리하기 위한 컴퓨터 프로세서;

를 포함하는, 복수의 미생물 테스트를 어떠한 순서로 또는 동시에 수행하기 위한 장치.

청구항 26.

제 25 항에 있어서, 상기 하나 이상의 플레이트 홀더는 그 위에 복수의 플레이트를 홀딩할 수 있도록 하는 구조의 연장된 트레이인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 27.

제 25 항에 있어서, 상기 플레이트 홀더는 검출 플레이트 및 감수성 및/또는 동정 플레이트를 동시에 홀딩할 수 있도록 하는 구조인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 28.

제 27 항에 있어서, 상기 플레이트 홀더는 검출 플레이트를 항생제 감수성 및/또는 동정 플레이트와 교환가능하게 홀딩할 수 있는 구조인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 29.

제 28 항에 있어서, 상기 각각의 플레이트 홀더는 검출 플레이트, 항생제 감수성 플레이트 및 동정 플레이트를 동시에 홀딩할 수 있도록 하는 구조인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 30.

제 25 항에 있어서, 상기 검출 플레이트는 각각 그 내부에 고체 또는 반-고체의 고정화층을 갖는 플레이트인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 31.

제 30 항에 있어서, 상기 검출 플레이트는 고정화층 내의 미생물의 존재로 인하여 검출가능한 변화를 수반할 수 있는 고정화층을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 32.

제 31 항에 있어서, 상기 센서층은 불투명인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 33.

제 25 항에 있어서, 항생제 감수성을 위한 상기 테스트 및 미생물 동정을 위한 상기 테스트는 동일한 또는 분리된 플레이트 상에서 수행하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 34.

제 33 항에 있어서, 항생제 감수성에 있어서, 플레이트의 적어도 일부는, 내부에 고체 또는 반-고체의 영양 배지를 갖는 복수의 채널 또는 웰을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 35.

제 34 항에 있어서, 각 채널 또는 웰은 그 내부에 항균제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 36.

제 33 항에 있어서, 미생물 동정 테스트에 있어서, 플레이트의 적어도 일부는, 내부에 상이한 미생물 기질을 갖는 복수의 채널 또는 웰을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 37.

제 25 항에 있어서, 소변 스크리닝을 수행하기 위한 소변 스크리닝 플레이트를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 38.

제 25 항에 있어서, 상기 하나 이상의 영상처리 소자는, 각 플레이트로부터 1×1 픽셀 이상인 정보를 수집할 수 있는 소자인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 39.

제 38 항에 있어서, 상기 하나 이상의 영상처리 소자는, CCD 선형 배열 스캐너, CCD 선-스캔 카메라, CCD 2D 카메라, 또는 레이저 스캐닝 카메라 중 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 40.

제 38 항에 있어서, 적어도 두개의 영상처리 소자가 구비되는데, 하나는 각 플레이트의 상부측을 영상처리 하기 위하여 배치되고, 다른 하나는 각 플레이트의 하부측을 영상처리 하기 위하여 배치되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 41.

제 25 항에 있어서, 상기 하나 이상의 영상처리 소자는 각 플레이트를 비추기 위한 광원을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 42.

제 25 항에 있어서, 미생물 생장에 도움이 되는 환경을 유지하기 위한 인큐베이터를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 43.

제 25 항에 있어서, 상기 프로세서는, 칼라 분리 및 선택, 영상 차분, 영상 평활화, 영상 블러링, 영상 대비 및 밝기 신장, 및 영상 경계값 처리의 영상처리 단계들 중 하나 이상을 수행하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 44.

제 43 항에 있어서, 상기 프로세서는,

d) 플레이트가 검출 또는 스크리닝 플레이트인 경우에는 콜로니 검출, 계수 및/또는 분류;

e) 플레이트 또는 플레이트의 일부가 항생제 감수성을 위한 것인 경우에는 억제 영역 검출 및 측정; 및/또는

f) 플레이트 또는 플레이트의 일부가 미생물 동정을 위한 것인 경우에는 기질 반응 영역 검사;를 수행하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 45.

a) 하나 이상의 검출 플레이트를 접종하는 단계로서, 각각의 검출 플레이트는 고정화층을 포함하며, 고정화층 내에 미생물이 존재할 때 검출가능한 변화를 수반하는 센서층을 포함하는 것을 특징으로 하는 단계;

b) 상기 하나 이상의 미생물 검출 플레이트를 하나 이상의 개별적인 플레이트 홀더 상에 놓는 단계;

c) 미생물의 생장을 가능하게 하고, 내부에 미생물을 갖는 각 플레이트의 센서층 내에서의 대응하는 변화를 가능하도록 하는 충분한 시간 주기 동안 상기 검출 플레이트를 배양하는 단계;

d) 영상처리 소자로써 각 검출 플레이트의 센서층의 영상을 취하는 단계; 및

e) 각 센서층 영상을 처리하여 각 플레이트 상에 미생물 콜로니가 존재하는지 여부 그리고/또는 얼마나 많이 존재하는지를 결정하는 단계;를 포함하는,

미생물 콜로니를 검출 및/또는 계수하는 방법.

청구항 46.

a) 하나 이상의 항생제 감수성 플레이트의 하나 이상의 채널에 테스트 샘플을 가하는 단계로서, 각 채널은 고체 또는 반-고체의 영양 배지를 내부에 포함하는 것을 특징으로 하는 단계;

b) 하나 이상의 플레이트 홀더 상에 상기 하나 이상의 감수성 플레이트를 위치시키는 단계;

c) 상기 하나 이상의 감수성 플레이트를 배양하는 단계;

d) 각 감수성 플레이트의 각 채널의 영상을 취하는 단계; 및

e) 각 영상을 처리하여, 각 플레이트의 각 채널 내의 미생물 생장 억제의 존재 또는 정도를 결정하는 단계;를 포함하는 항체 감수성 테스트를 수행하는 방법.

청구항 47.

제 1 항에 있어서, 상기 플레이트를 영상처리할 때, 영상처리하는 각 플레이트의 하나 이상의 면으로 빛을 조사하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 48.

제 47 항에 있어서, 상기 빛은 광대역 및/또는 협대역의 가시광선, 자외선 및/또는 적외선 조명인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 49.

제 25 항에 있어서, 영상처리하는 각 플레이트를 비추기 위한 하나 이상의 광원을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 50.

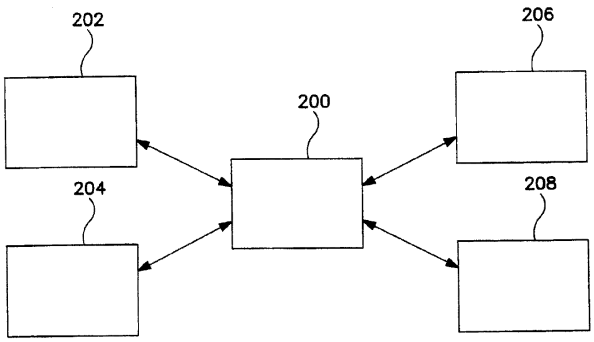
제 49 항에 있어서, 상기 하나 이상의 광원은, 광대역 및/또는 협대역 가시광선, 자외선 및/또는 적외선 조명의 광원인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 51.

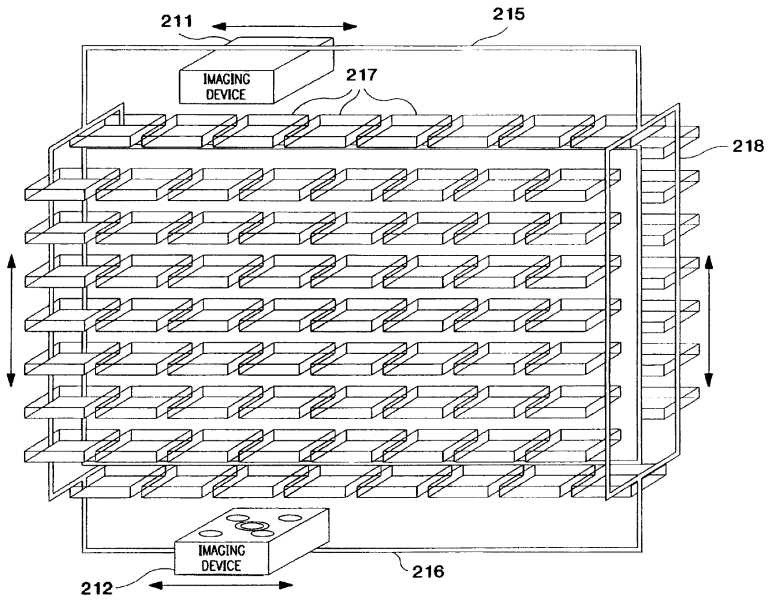
제 50 항에 있어서, 상기 하나 이상의 영상처리 소자는 상기 하나 이상의 광원을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

도면

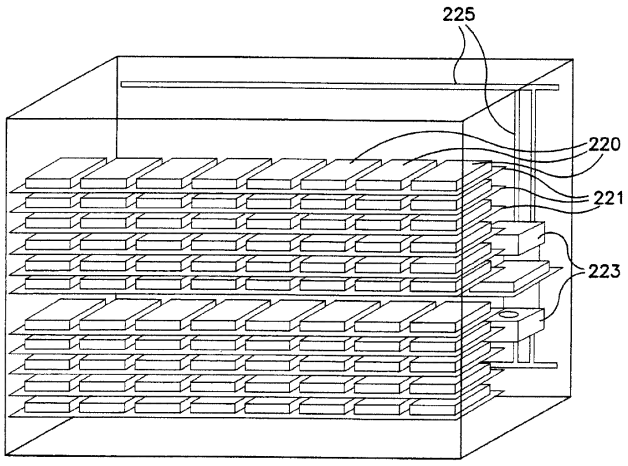
도면 1



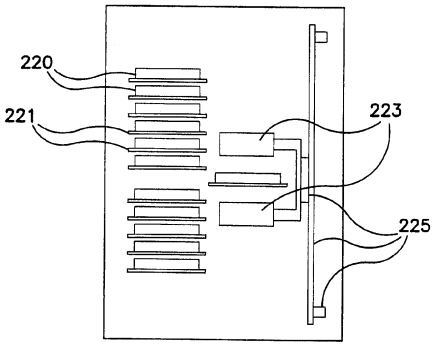
도면 2


211
215
IMAGING DEVICE
217
218
IMAGING DEVICE
212
216

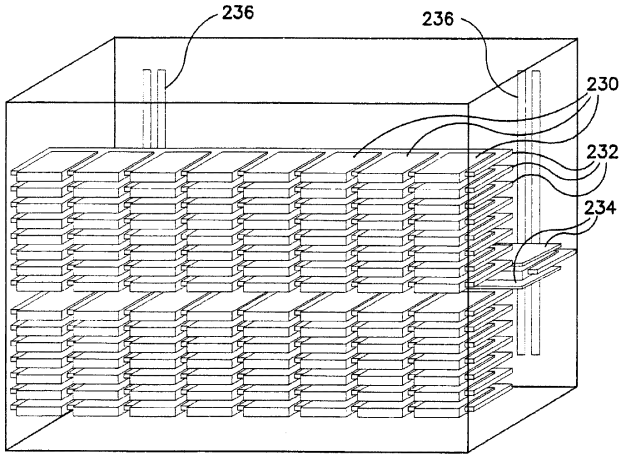
도면 3


225
220
221
223

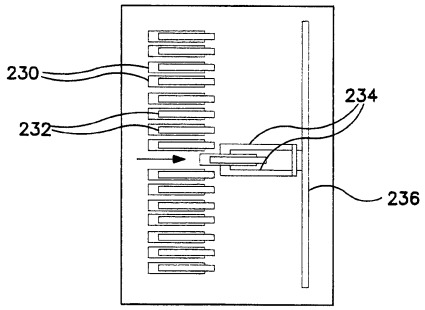
도면 4



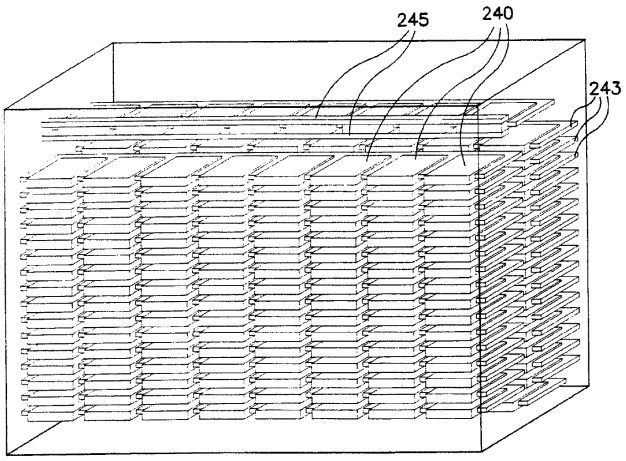
도면 5



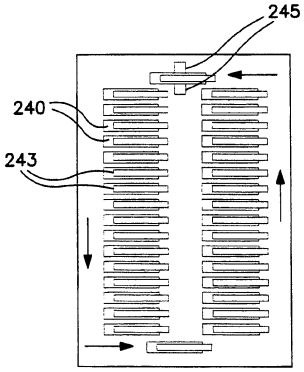
도면 6



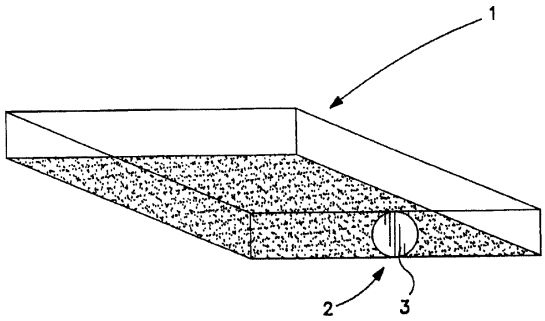
도면 7



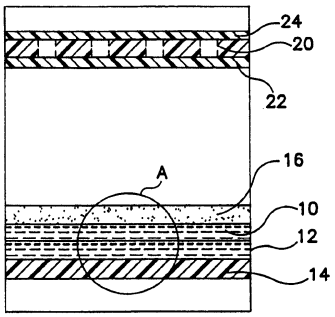
도면 8



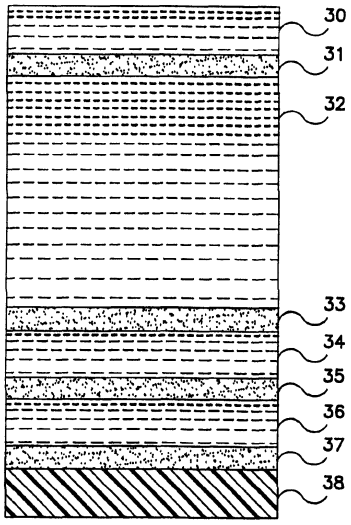
도면 9



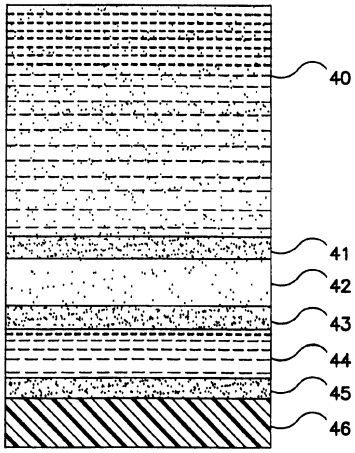
도면 10



도면 11

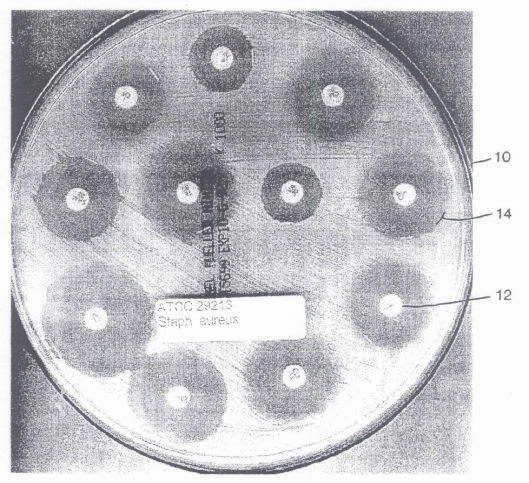


도면 12

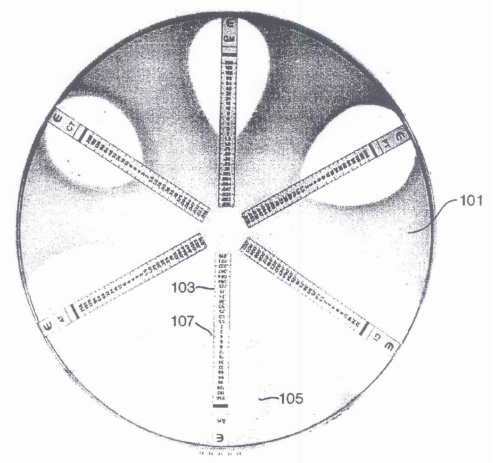


도면 13

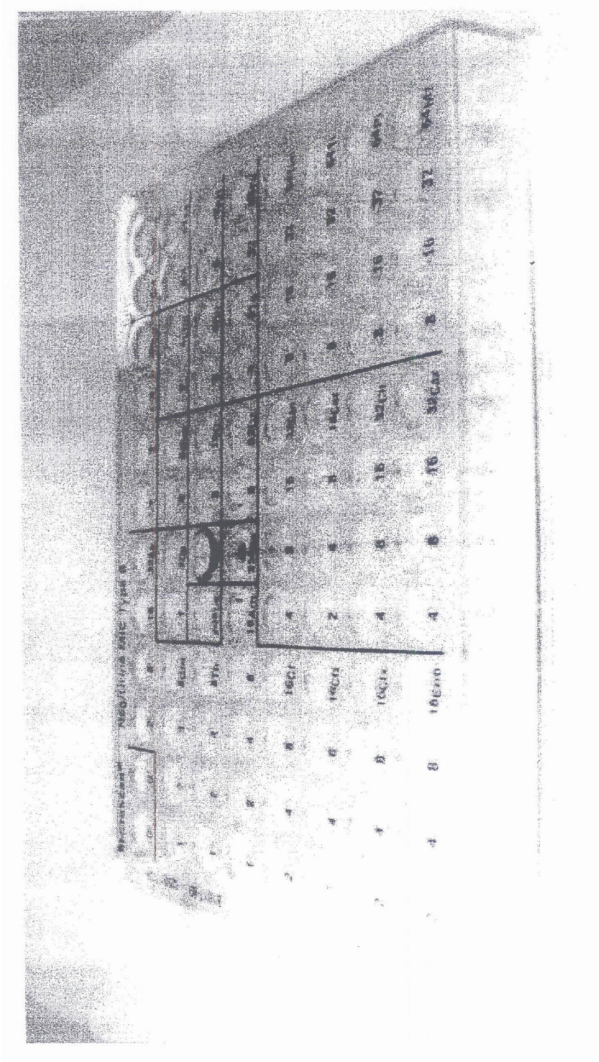
도면 14



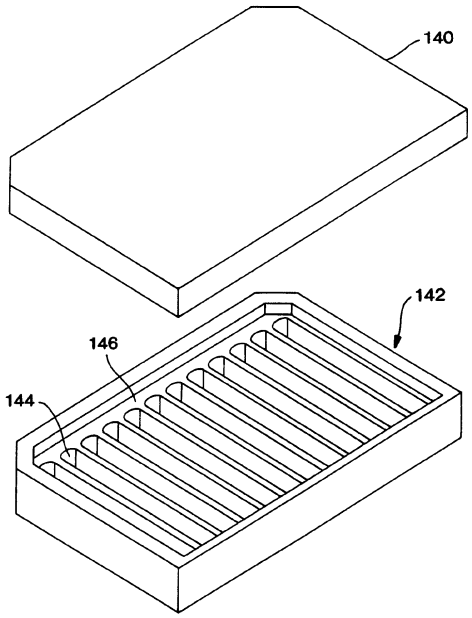
도면 15



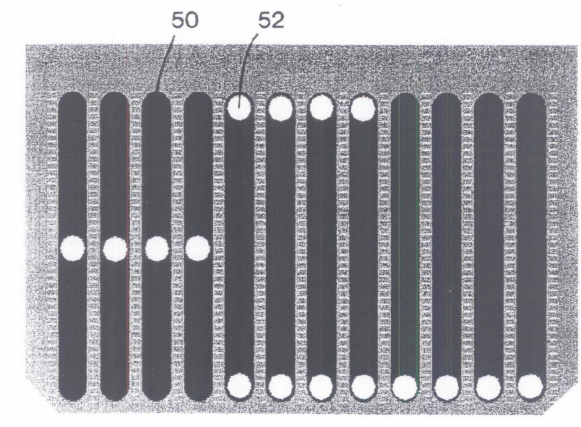
도면 16



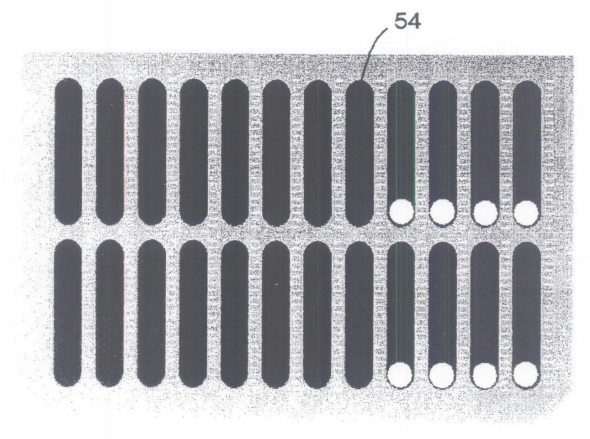
도면 17



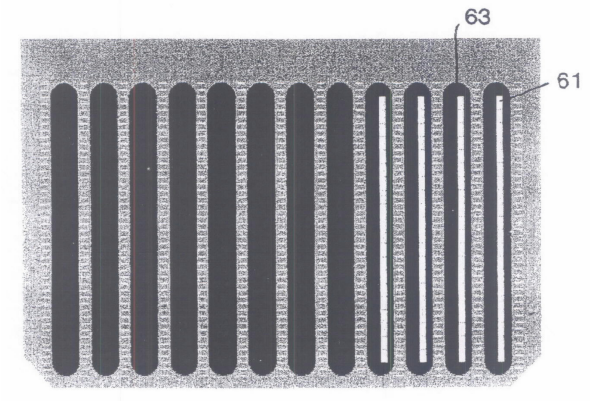
도면 18a



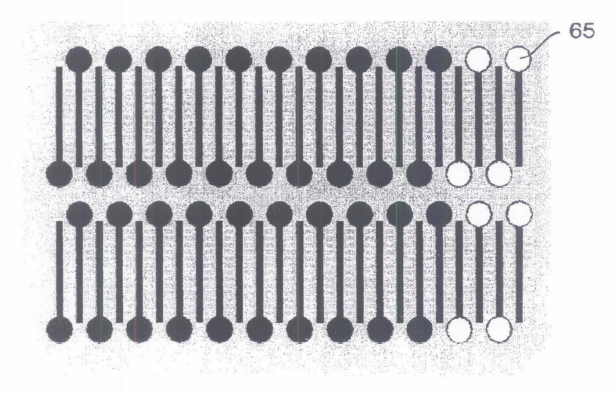
도면 18b



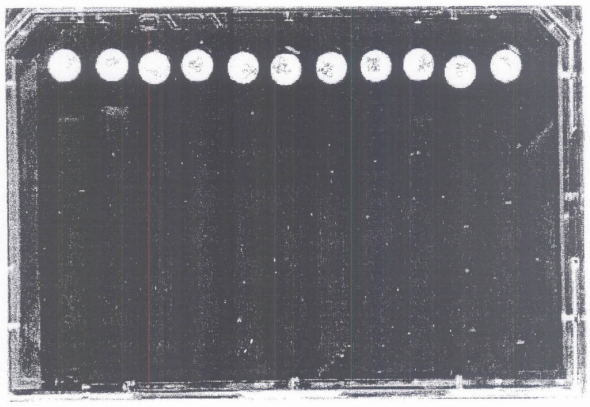
도면 19a



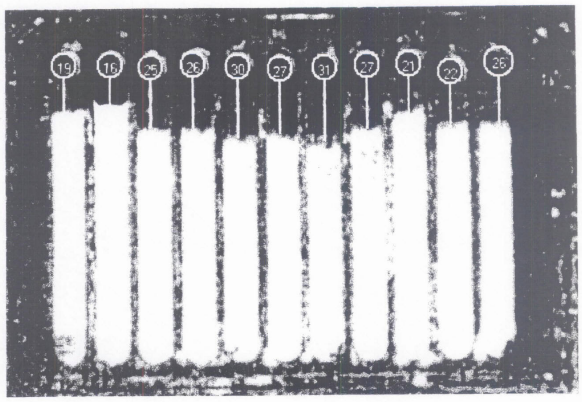
도면 19b



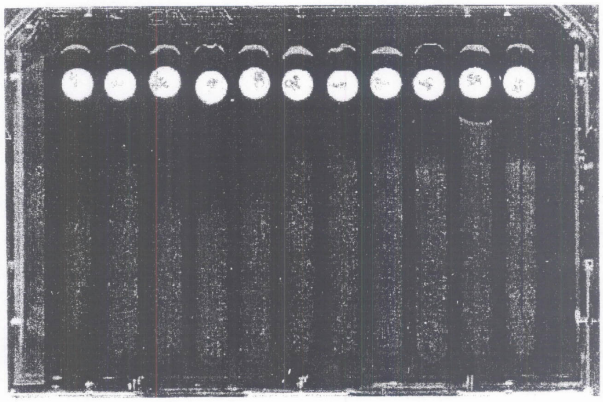
도면 20a



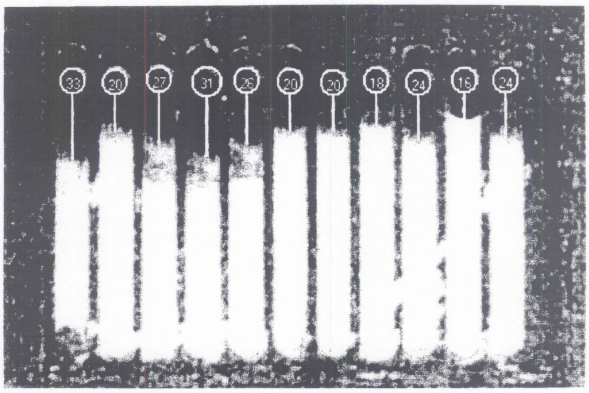
도면 20b



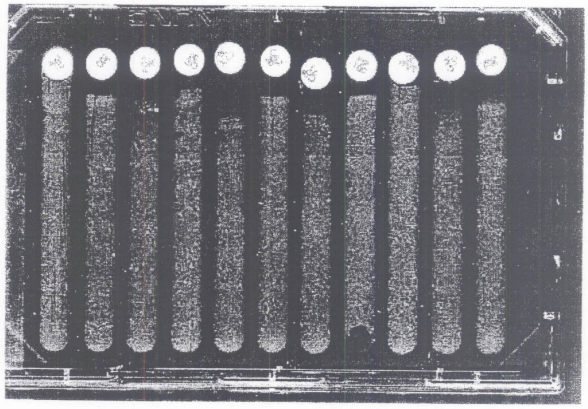
도면 21a



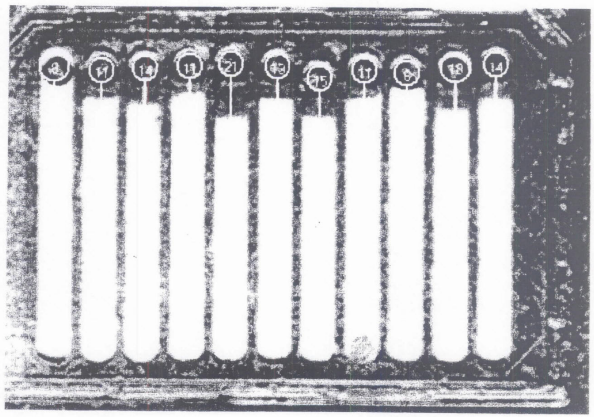
도면 21b



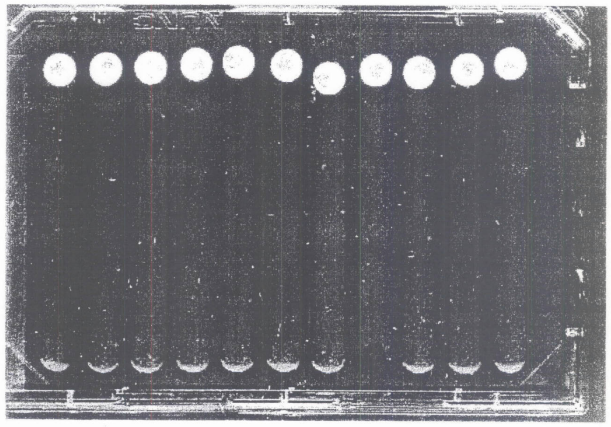
도면 22a



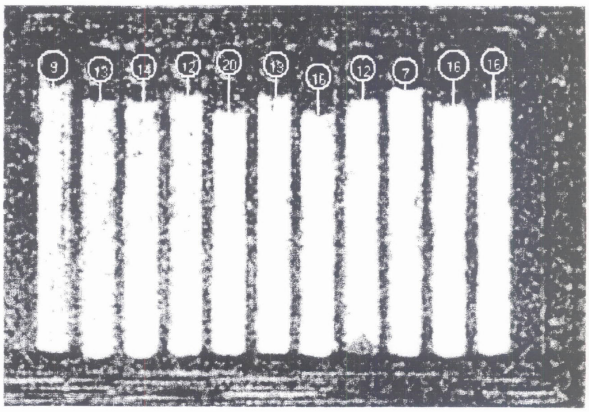
도면 22b



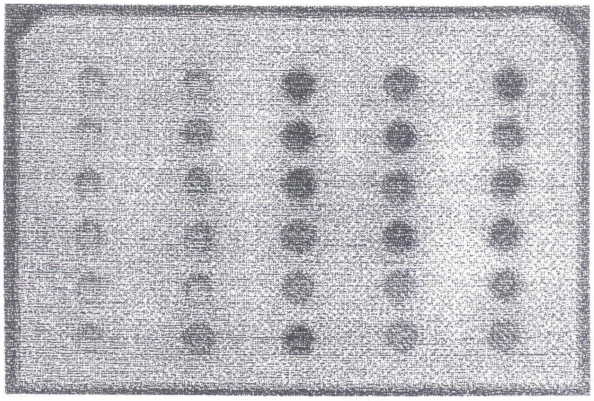
도면 22c



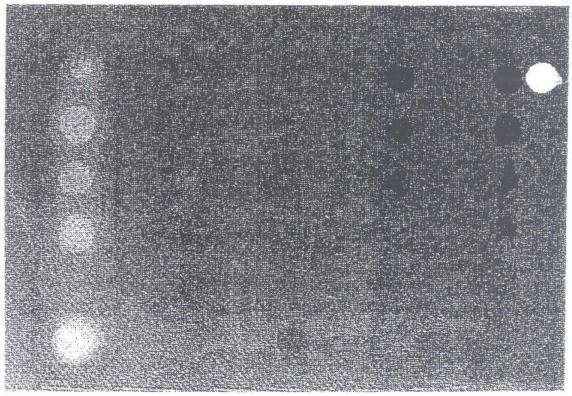
도면 22d



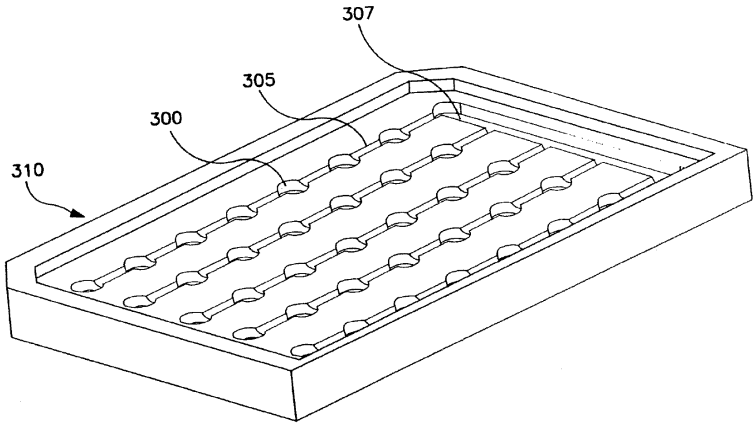
도면 23a



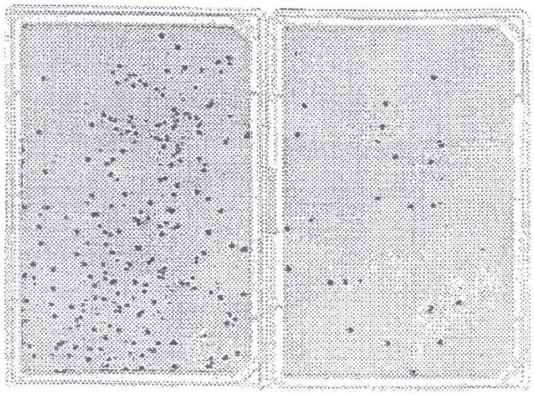
도면 23b



도면 24



도면 25



도 25a

도 25b