(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-504826
(P2025-504826A)
(43)公表日　令和7年2月19日(2025.2.19)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｑ	*1/04 (2006.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/04		２Ｇ０５８
Ｃ１２Ｍ	*1/00 (2006.01)*	Ｃ１２Ｍ	1/00	Ｃ	４Ｂ０２９
Ｃ１２Ｍ	*1/34 (2006.01)*	Ｃ１２Ｍ	1/34	Ｂ	４Ｂ０３３
Ｃ１２Ｍ	*1/26 (2006.01)*	Ｃ１２Ｍ	1/26		４Ｂ０６３
Ｃ１２Ｍ	*1/02 (2006.01)*	Ｃ１２Ｍ	1/02	Ｂ	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全72頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-542095(P2024-542095)
(86)(22)出願日　令和5年1月13日(2023.1.13)
(85)翻訳文提出日　令和6年9月11日(2024.9.11)
(86)国際出願番号　PCT/IB2023/050337
(87)国際公開番号　WO2023/135574
(87)国際公開日　令和5年7月20日(2023.7.20)
(31)優先権主張番号　63/299,555
(32)優先日　令和4年1月14日(2022.1.14)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　524049996
ディープル・ダイアグノスティクス・ソシエダッド・リミターダ
ＤＥＥＰＵＬＬ ＤＩＡＧＮＯＳＴＩＣＳ Ｓ．Ｌ．
スペイン０８０２８バルセロナ、バルディリ・レイシャク４－８
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100111039
弁理士　前堀 義之
(72)発明者　ブル ヒベルト，ラファエル
スペイン０８０２８バルセロナ、バルセロナ、バルディリ・レイシャク４－８、ディープル・ダイアグノスティクス・ソ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗菌剤感受性試験のためのシステム、方法、および装置

(57)【要約】
本明細書には、血液サンプルから直接抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）を行うためのシステム、方法、および装置が記載されている。サンプルを濃縮するためのシステムは、サンプル容器、サンプル調製カートリッジ、およびＡＳＴカートリッジを受け入れるように構成されたハウジングを含み、ハウジング内に配置された１つまたは複数の遠心分離機、ピペッティングシステム、コントローラ、ＡＳＴサブシステム、磁石ステーション、顕微鏡、およびヒータを使用してサンプルを処理および試験する。このシステムは、隔膜と針ベースのピペッティングシステムを使用して、血液サンプル容器からサンプル調製カートリッジ内の処理チューブにサンプルを移送するように構成されている。サンプルの移送後、システムは、迅速検出のためにサンプル中の病原体を分離、濃縮、富化するステップを実行する。その後、富化されたサンプルのアリコートをＡＳＴカートリッジ内の抗菌剤含有反応ウェルに分注し、培養後に各反応ウェルの画像を取得し、取得した画像の解析に基づいて抗菌剤に対する病原体の感受性を決定する。

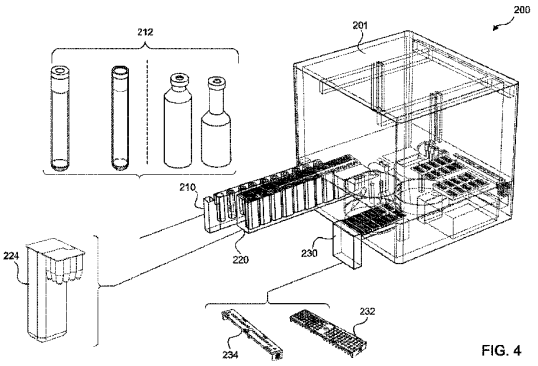


FIG. 4

【特許請求の範囲】
【請求項１】
分析装置によって、サンプル調製カートリッジおよびサンプル容器を受け取るステップであって、サンプル容器が病原体を含むサンプルを収容するステップと、
分析装置内のピペッタシステムにサンプル調製カートリッジからの第１の針を設置するステップと、
ピペッタシステムを使用して第１の針をサンプル容器に挿入するステップと、
サンプル容器から第１の針を通してサンプル調製カートリッジ内の処理チューブにサンプルを移送するステップと、
分析装置を使用して処理チューブ内でサンプルの病原体を濃縮させ富化するステップであって、処理チューブ内で富化されたサンプルを得るステップと、
富化されたサンプルの複数のアリコートを分析装置内の抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジ内の複数の反応ウェルに分注するステップであって、各アリコートがそれぞれの反応ウェルに対応し、各反応ウェルは所定の濃度の抗菌剤を含むステップと、
ＡＳＴカートリッジの反応ウェル内で、各反応ウェル内の病原体と各反応ウェル内の抗菌剤との間で反応が起こるように、所定の期間、アリコートを培養するステップと、
分析装置内の顕微鏡を使用してＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェルの画像を取得するステップと、
分析装置内の顕微鏡に連結したプロセッサによって、画像を分析して各反応ウェル内の病原体の各反応ウェル内の抗菌剤に対する感受性を決定するステップと、
を含む方法。
【請求項２】
サンプル容器は血液培養ボトルであり、
血液培養ボトル内で、サンプルは、病原体が成長するが増殖の安定期に達しない程度の時間、培養される、
請求項１に記載の方法。
【請求項３】
サンプル容器が血液サンプルチューブである、
請求項１に記載の方法。
【請求項４】
病原体をラベル付けする、および数えるために、蛍光色素および分析装置の顕微鏡を使用して、移送されたサンプル内の病原体の数を特定するステップをさらに含み、
特定結果に応じて、移送されたサンプルを富化または希釈して富化サンプル内に所定の数の病原体が得られるようにする、
請求項１に記載の方法。
【請求項５】
分析装置を使用して、移送されたサンプルの病原体を濃縮するステップが、
処理チューブを分析装置の遠心分離機に移動させるステップと、
遠心分離機内の処理チューブを遠心分離して、移送されたサンプル内の病原体を濃縮させるステップと、
ピペッタシステムを使用して処理チューブから液体を除去し、処理チューブ内に濃縮した病原体を残すステップと、を含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項６】
サンプルが血液サンプルであり、
方法は、処理チューブの遠心分離の前に、
１つまたは複数の溶解試薬を処理チューブに添加するステップと、
１つまたは複数の溶解試薬を処理チューブ内の血液サンプルと混合させて血液サンプル内の血球を溶解させるステップと、をさらに含む、
請求項５に記載の方法。

【請求項７】
１つまたは複数の溶解試薬が、１つまたは複数のサポニンベースの緩衝液を含む、
請求項６に記載の方法。
【請求項８】
１つまたは複数の溶解試薬が、１つまたは複数の洗剤、界面活性剤、またはプロテアーゼを含む、
請求項６に記載の方法。
【請求項９】
富化サンプルを得るために、処理チューブを遠心分離して上澄みを除去することにより、所定の追加時間後に、濃縮された病原体を洗浄するステップをさらに含む、
請求項５に記載の方法。
【請求項１０】
処理チューブがさらに、処理チューブ内の濃縮された病原体に付着するように構成された磁性ビーズを含み、
方法が、
分析装置の磁石ステーションを使用して、処理チューブ内の磁性ビーズに付着した濃縮病原体を保持するステップと、
処理チューブ内から余分な液体を除去して濃縮病原体を含む富化サンプルの結果とするステップと、
をさらに含む、
請求項５に記載の方法。
【請求項１１】
磁性ビーズが、不特定のリガンドで被覆される、
請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
磁性ビーズが、処理チューブ内の濃縮された病原体の、特定の病原体に特化した特異的リガンドで被覆される、
請求項１０に記載の方法。
【請求項１３】
濃縮病原体を磁性ビーズに付着させた後、かつ磁性ビーズに付着した濃縮病原体を磁石によって保持する前に、プロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅによる処理を加えるステップをさらに含む、
請求項１０に記載の方法。
【請求項１４】
１つまたは複数の洗浄材料を処理チューブ内の濃縮病原体に付加し、濃縮病原体から血液成分または破片を除去して、処理チューブ内に富化されたサンプルを残すステップをさらに含む、
請求項５に記載の方法。
【請求項１５】
１つまたは複数の洗浄材料は、１つまたは複数の緩衝液、洗剤、界面活性剤、およびプロテアーゼの組み合わせを含む、
請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
富化サンプルの複数のアリコートを反応ウェルに分注する前に、ＡＳＴカートリッジの各反応ウェルに抗菌剤を液体の状態で添加するステップをさらに含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項１７】
ＡＳＴカートリッジの各反応ウェルの抗菌剤は、富化サンプルの複数のアリコートを反応ウェルに分注する前に、乾燥形態または凍結乾燥形態である、
請求項１に記載の方法。

【請求項１８】
複数のアリコートを複数の反応ウェルに分注するステップは、
ジェット分注法を使用して、サンプル調製カートリッジの第２の針が反応ウェルのそれぞれの隔膜を貫通することにより、および第２の針がそれぞれの反応ウェルの底壁に接触することなく、アリコートの非接触分注を実行することを含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項１９】
第２の針が第１の針と同様である、
請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
第２の針によって分注される各アリコートの容量は約０．５μＬ～約１０μＬの範囲である、
請求項１８に記載の方法。
【請求項２１】
サンプル内の病原体の数が２００より少ない、
請求項１に記載の方法。
【請求項２２】
富化サンプル内の病原体の数は、約１，０００～約１００，０００の範囲である、
請求項１に記載の方法。
【請求項２３】
富化サンプル内の病原体の数は、約１０，０００である、
請求項１に記載の方法。
【請求項２４】
各反応ウェルは、内側表面および外側表面を有する底壁を含み、各反応ウェルにおけるアリコート内の病原体と抗菌剤との間の反応は、ＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェルの底壁の内側表面の上方で起こり、ＡＳＴカートリッジの各反応ウェルの底壁の外側表面で、ＡＳＴカートリッジの画像が取得される、
請求項１に記載の方法。
【請求項２５】
アリコートを培養するための所定の期間は約２時間またはそれ以下である、
請求項１に記載の方法。
【請求項２６】
各反応ウェルにおいてアリコートを培養した後、ＡＳＴカートリッジを分析装置内の遠心分離機に移動させ、ＡＳＴカートリッジの画像を取得するために、各アリコート内の病原体を各反応ウェルの底壁に移動させる、
請求項１に記載の方法。
【請求項２７】
各反応ウェルでアリコートを培養した後、ＡＳＴカートリッジの画像を取得するために、各アリコート内の病原体を各反応ウェル１２１４の底壁に移動させるように、分析装置の磁石を使用するステップをさらに含み、病原体は各アリコート内の磁性ビーズに付着する、
請求項１に記載の方法。
【請求項２８】
画像を取得するまえに、反応ウェルのアリコート内の病原体を染色するために、第１の蛍光色素を各反応ウェルに添加するステップをさらに含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項２９】
各反応ウェルに第１の蛍光色素を添加するステップは、
ジェット分注法を使用して、サンプル調製カートリッジの第２の針が反応ウェルのそれぞれの隔膜を貫通することにより、および第２の針がそれぞれの反応ウェルの底壁に接触

することなく、第１の蛍光色素の非接触分注を実行することを含む、
請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
第２の針によって各反応ウェルに分注される第１の蛍光色素の容量は約０．５μＬ～約１０μＬの範囲である、
請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
第２の針が第１の針と同様である、
請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
画像を取得することは、ＡＳＴカートリッジの各反応ウェル内で第１の蛍光色素を検出するために１つまたはそれ以上の蛍光画像を取得するステップを含む、
請求項２８に記載の方法。
【請求項３３】
画像を分析することは、ＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェル内の蛍光病原体の数を計算するステップを含む、
請求項３２に記載の方法。
【請求項３４】
画像を取得するまえに、第２の蛍光色素を各反応ウェルに添加するステップをさらに含む、
請求項２８に記載の方法。
【請求項３５】
反応ウェルのアリコート内で、第１の蛍光色素は、反応ウェルのアリコート内の生細胞を標識するＤＮＡ結合色素を含み、第２の蛍光色素は、死細胞を標識する、または損傷のない細胞膜を浸透しない蛍光インターカレータを含む、
請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
病原体の感受性を決定することは、
　第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素によるアリコート内の細胞の染色に基づいて、病原体のうちの１つまたは複数が、各反応ウェル内の抗菌剤に対して感受性あり、中間、または耐性ありであるかを決定することを含む、
請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
特定の病原体が反応ウェル内の特定の抗菌剤に対して耐性であると決定することは、
　第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素によるアリコート内の細胞の染色に基づいて、死細胞の数と生細胞の数との比が、所定濃度の特定の抗菌剤に対する所定の閾値を下回っていると判定することを含む、
請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
病原体の感受性を決定することは、
　第１の蛍光色素によるアリコート内の細胞の染色に基づいて、病原体のうちの１つ以上が、各反応ウェル内の抗菌剤に対して感受性あり、中間、または耐性ありであるかを判定することを含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項３９】
複数の反応ウェルのうちの第１の反応ウェルは、抗菌剤の第１の濃度を含み、
　第１の濃度は、抗菌剤および病原体に対する臨床的ブレイクポイントよりも大幅に高い高用量である、
請求項１に記載の方法。
【請求項４０】

病原体の感受性を決定することは、
　第１反応ウェルの画像をコントロールと比較して、約１時間以内に高度耐性病原体を決定することを含む、
請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
ＡＳＴカートリッジの画像に基づいて、１つ以上の病原体の中の特定の病原体の増殖を抑制するための特定の抗菌剤の最小阻害濃度（ＭＩＣ）をプロセッサによって決定することをさらに含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項４２】
プロセッサと通信可能に結合されたデータベース内のルールのセットを解析することによって、特定の抗菌剤に対する特定の病原体の感受性あり、中間、または耐性ありをプロセッサによって決定することをさらに含む、
請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジであって、
　複数の反応ウェルを含むベースであって、各反応ウェルは、底部壁を含み、その底部壁は光学的に透明であるベースと、
　複数の反応ウェルにおける各反応ウェルを封止するベース上に配置された隔膜と、
　隔膜上に配置されたカバーと、を含み、
　複数の反応ウェル内の各反応ウェルには、病原体を含む富化サンプルの各アリコートと反応させるための所定濃度の抗菌剤が収容されており、
　この抗菌剤は各反応ウェル内に配置されている、
ＡＳＴカートリッジ。
【請求項４４】
各反応ウェル内の抗菌剤は、液体の状態である、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項４５】
各反応ウェル内の抗菌剤は、乾燥状態または凍結乾燥の状態である、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項４６】
複数の反応ウェルの各反応ウェルの底壁は、光学的な照会用に構成される、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項４７】
複数の反応ウェルの各反応ウェルの底壁は、蛍光顕微鏡用に構成される、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項４８】
各反応ウェルの底壁の直径は、約２ミリメートル未満である、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項４９】
各反応ウェルが円錐形を含む、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５０】
各反応ウェルは、針が各反応ウェルの底面に接触することなく反応ウェルの隔膜を貫通することにより、病原体を含む富化サンプルのアリコートを、針による非接触分注によって受け取るように構成される、、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５１】
カバーが、複数の開口部を含み、
　各開口部は、ベース内の複数の反応ウェルのそれぞれの反応ウェルと整列する、

請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５２】
複数の反応ウェルは、温度制御ブロック内の対応するウェルに適合するように構成され、
　温度制御ブロックは、複数の反応ウェルを加熱する、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５３】
ベース、隔膜、およびカバーは、それぞれＡＳＴカートリッジの中心に開口部を含み、
　開口部は、ＡＳＴカートリッジを移動させるためのピペットチップによる挿入に適合する、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５４】
隔膜はカバーにオーバーモールドされて組合せられた部品を形成し、
　組合せられた部品は、スナップフィット結合または機械式留め具のうち少なくとも１つによってベース上に組み立てられる、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５５】
隔膜は、複数の反応ウェルにわたって延びる一体型構造である、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５６】
隔膜は、組み立てられた複数の部品を含み、
　各部品は各反応ウェルを覆う、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５７】
隔膜は、ゴム、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）、熱可塑性エラストマー（ＴＰＥ）、シリコーン、ブチルゴム、またはこれらの組み合わせのうちの少なくとも１つを含む、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５８】
隔膜は、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）と、シリコーン、ゴム、およびブチルゴムからなるグループから選択される別の材料との二重層で構成される、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項５９】
隔膜は、約１～２ｍｍの範囲の厚さを有する、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項６０】
複数の反応ウェルが約１００個の反応ウェルを含み、
　各反応ウェルは、約３０μＬの容量を保持する、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項６１】
カバーは、ポリプロピレン（ＰＰ）、またはポリカーボネート（ＰＣ）材料から製造される、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項６２】
ベースはポリスチレン（ＰＳ）から製造される、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項６３】
カバーが、抗菌剤感受性試験を行うために分析装置によってスキャンされる識別子を含む、
請求項４３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項６４】

識別子は、データマトリクスまたはバーコードである、
請求項６３に記載のＡＳＴカートリッジ。
【請求項６５】
サンプルを富化するためのシステムであって、
病原体を含むサンプルを収容するサンプル容器を受け入れるように構成されたハウジングと、
ハウジング内に配置されたピペッタシステムと、
ハウジング内に配置された１つ以上の遠心分離機と、
コントローラと、を含み、
コントローラは、
ピペッタシステムを使用してサンプル容器から処理チューブにサンプルの少なくとも一部を移送し、
１つ以上の遠心分離機を使用して処理チューブを遠心分離してサンプル中の病原体を濃縮し、
ピペッタシステムを使用して処理チューブから流体を除去し、処理チューブ内に濃縮された病原体を残し、
ピペッタシステムを使用して処理チューブ内の濃縮された病原体に増殖媒体を加え、処理チューブ内の濃縮された病原体を所定の期間増殖させ、
所定の期間経過後に濃縮された病原体を洗浄して、処理チューブ内に富化されたサンプルを得るように構成される、
システム。
【請求項６６】
サンプル容器は血液培養ボトルであり、血液培養ボトル内のサンプルは、病原体が成長するが増殖の安定期に達しない程度の時間、培養される、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項６７】
サンプル容器は、血液サンプルチューブである、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項６８】
ハウジング内に配置されたミキサをさらに含み、
サンプルは血液サンプルであり、
コントローラが、処理チューブの遠心分離に先立って、
ピペッタシステムを使用して１つまたは複数の溶解試薬を処理チューブに添加し、
ミキサを使用して１つまたは複数の溶解試薬を処理チューブ内で血液サンプルと混合させ、血液サンプル中の血球を溶解させるように構成される、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項６９】
１つまたは複数の溶解試薬は、１つまたは複数のサポニンベースの緩衝液、洗剤、界面活性剤、またはプロテアーゼを含む、
請求項６８に記載のシステム。
【請求項７０】
濃縮した病原体を洗浄することは、１つ以上の遠心分離機を使用して処理チューブを遠心分離し、ピペッタシステムを使用して処理チューブから上澄みを除去して、サンプルチューブ内に富化されたサンプルを残すことを含む、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項７１】
抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）サブシステムをさらに含み、
処理チューブが、処理チューブ内の濃縮した病原体に付着するように構成された磁性ビーズをさらに含み、
ＡＳＴサブシステムは、処理チューブに磁力を適用して処理チューブ内の磁性ビーズに

付着した濃縮病原体を保持するように構成され、
　コントローラは、ピペッタシステムを使用して処理チューブから余分な水分を除去し、濃縮した病原体を含む富化サンプルが得られる結果となるようにさらに構成される、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項７２】
磁性ビーズが、不特定のリガンドで被覆される、
請求項７１に記載のシステム。
【請求項７３】
磁性ビーズが、処理チューブ内の濃縮された病原体の、特定の病原体に特化した特異的リガンドで被覆される、
請求項７１に記載のシステム。
【請求項７４】
コントローラは、１つ以上の洗浄材料を処理チューブ内の濃縮病原体に付加し、洗浄し、濃縮病原体から血液成分または破片を除去して、処理チューブ内に富化されたサンプルを残すようにさらに構成される、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項７５】
１つ以上の洗浄材料は、１つ以上の緩衝液、洗剤、界面活性剤、およびプロテアーゼの組み合わせを含む、
請求項７４に記載のシステム。
【請求項７６】
サンプル容器および処理チューブは、それぞれ、ピペッタシステムの第１のピペッタに連結した第１の針の挿入を可能とする隔膜を含む、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項７７】
サンプルの少なくとも一部をサンプル容器から処理チューブに移送するステップは、第１の針を処理チューブの隔膜を通して挿入すること、およびサンプルの少なくとも一部を第１の針を通して処理チューブへ分注することを含む、
請求項７６に記載のシステム。
【請求項７８】
　複数の反応ウェルを含む抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジを受けるように構成されたレセプタクルと、
　富化サンプルを複数の反応ウェルに移送した後、富化サンプル中の濃縮した病原体の１つ以上の画像を取得するように構成された顕微鏡と、
をさらに含む、
請求項６５に記載のシステム。
【請求項７９】
１つ以上の遠心分離機が、
　処理チューブを保持して遠心分離するように構成された第１の遠心分離機と、
　ＡＳＴカートリッジを垂直方向に保持して遠心分離するように構成された第２の遠心分離機と、を含む、
請求項７８に記載のシステム。
【請求項８０】
磁力を適用して濃縮病原体を、ＡＳＴカートリッジ内の反応ウェルの底面に移動させるように構成された磁石ステーションをさらに含み、
　濃縮病原体は磁性ビーズに付着する、
請求項７８に記載のシステム。
【請求項８１】
サンプルを分析するためのシステムであって、
システムは、

処理チューブおよび抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジを受け入れるように構成されたハウジングを含み、
ＡＳＴカートリッジは、複数の反応ウェルを含み、各反応ウェルは、底部壁を含み、底部壁は光学的に透明であり、
システムはさらに、
ハウジング内に配置されたヒータと、
ハウジング内に配置されたピペッタシステムと、
ハウジング内に配置された顕微鏡と、
コントローラと、を含み、
コントローラは、
ピペッタシステムを使用して、処理チューブからＡＳＴカートリッジ内の複数の反応ウェルに病原体を含む富化サンプルの複数のアリコートを分注するように構成され、
各アリコートはそれぞれの反応ウェルに対応し、
各反応ウェルは所定の濃度の抗菌剤を含み、
コントローラはさらに、
ヒータを使用して、ＡＳＴカートリッジの反応ウェル内のアリコートを所定の期間培養し、各反応ウェル内の病原体と抗菌剤との間で反応を起こさせ、
顕微鏡を使用して、ＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェルの底壁の１つまたは複数の画像を取得し、
顕微鏡に連結されたプロセッサによって、１つまたは複数の画像を分析することにより、各反応ウェルにおける病原体の抗菌剤に対する感受性を決定するように構成される、
システム。
【請求項８２】
コントローラは、１つ以上の画像を取得するまえに、反応ウェルのアリコート内の病原体を染色するために、ピペッタシステムを使用して、第１の蛍光色素を各反応ウェルに添加するようにさらに構成される、
請求項８１に記載のシステム。
【請求項８３】
１つ以上の画像を取得することは、ＡＳＴカートリッジの各反応ウェル内で第１の蛍光色素を検出するために１つ以上の蛍光画像を取得するステップを含む、
請求項８２に記載のシステム。
【請求項８４】
１つ以上の画像を分析することは、ＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェル内の蛍光病原体の数を計算するステップを含む、
請求項８３に記載のシステム。
【請求項８５】
コントローラは、１つ以上の画像を取得するまえに、ピペッタシステムを使用して、第２の蛍光色素を各反応ウェルに添加するようにさらに構成される、
請求項８２に記載のシステム。
【請求項８６】
反応ウェルのアリコート内で、第１の蛍光色素は、反応ウェルのアリコート内の生細胞を標識するＤＮＡ結合色素を含み、第２の蛍光色素は、死細胞を標識する蛍光インターカレータを含む、
請求項８５に記載のシステム。
【請求項８７】
抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジの製造方法であって、
複数の開口部を備えるカバーを製造するステップと、
カバーに隔膜をオーバーモールドするステップであって、隔膜の第１の側面が複数の開口部を横断して延びるステップと、
複数の反応ウェルを備えるベースを製造するステップと、

ベースを隔膜の第２の側面に装着するステップであって、隔膜の第２の側面がベースの複数の反応ウェルを横断して延び、かつ、複数の反応ウェルを封止するステップと、を含む、
方法。
【請求項８８】
カバーは、ポリプロピレン（ＰＰ）、またはポリカーボネート（ＰＣ）を含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項８９】
ベースはポリスチレン（ＰＳ）を含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９０】
ベースを隔膜の第２の側面に装着するまえに、所定濃度の抗菌剤を液体の状態で各反応ウェルに添加するステップと、
各反応ウェル内の抗菌剤を、強制空気を使用して乾燥または凍結乾燥の状態まで乾燥するステップと、
をさらに含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９１】
各反応ウェルにおける抗菌剤の添加および乾燥のステップは、抗菌剤の劣化を防ぐために所定の時間内に完了される、
請求項９０に記載の方法。
【請求項９２】
所定の時間が約１５分である、
請求項９１に記載の方法。
【請求項９３】
所定の時間が約１０分である、
請求項９１に記載の方法。
【請求項９４】
カバーを製造することは、射出成形の使用を含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９５】
ベースを隔膜の第２の側面に装着するステップは、スナップフィット結合または機械式留め具のうちの少なくとも１つを使用することを含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９６】
ベースを隔膜の第２の側面に装着する際に、カバーの各開口部をベース内の複数の反応ウェルのそれぞれの反応ウェルと位置合わせするステップをさらに含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９７】
ベースを製造するステップは、複数の反応ウェルを単一の構成要素として互いに接続して製造することを含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９８】
隔膜は、ゴム、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）、熱可塑性エラストマー（ＴＰＥ）、シリコーン、ブチルゴム、またはこれらの組み合わせのうちの少なくとも１つを含む、
請求項８７に記載の方法。
【請求項９９】
隔膜は、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）と、シリコーン、ゴム、およびブチルゴムからなるグループから選択される別の材料との二重層で構成される、

請求項８７に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年１月１４日に出願された米国仮出願第６３／２９９，５５５号に基づく優先権を主張するものであり、その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。本出願は、Ｂｒｕ　Ｇｉｂｅｒｔ他による、「病原体の識別（ｐａｔｈｏｇｅｎ　ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｉｏｎ）のためのシステム、方法、および装置」と題する２０２３年１月１３日に出願された共同係属中の米国特許出願第＿＿＿号（弁護士用案件番号４５１８．００３ＰＣ０１）、および２０２２年８月３日に出願されたＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２２／０３９２９０号に関連しており、それらの開示内容は参照により本明細書に全体として組み込まれる。
【０００２】
本開示の実施形態は、患者の治療法を決定するために全血（ｗｈｏｌｅ　ｂｌｏｏｄ：非処理の血）または他のサンプルから抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ：ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ　ｓｕｓｃｅｐｔｉｂｉｌｉｔｙ　ｔｅｓｔｉｎｇ）を行うためのシステム、方法、および装置に関する。
【背景技術】
【０００３】
敗血症は、感染に対する制御不能な宿主反応によって引き起こされる生命を脅かす臓器機能不全と定義される。敗血症を発症または進行中の患者は、肺炎などの局所感染から始まる場合があり、患者の免疫システムが過剰に反応することで、全身に炎症（ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ）が及ぶ。炎症は、治療せずに放置すると最終的に臓器不全や患者の死につながる可能性がある。敗血症は毎年１１００万人の死亡原因となっており、その多くは早期診断、適切な臨床管理、治療によって予防できる。
【０００４】
敗血症の診断は、感染を特定するための培養血液サンプルをラボで検査することで実施される。現在の検査では、最終的に治療に効果的な抗菌剤に対する感受性を決定するための、敗血症の原因となる細菌の血液培養の採取と処理（ｐｒｏｃｅｓｓ）に時間がかかるため、検査結果が出るまでに数日かかる場合がある。しかし、敗血症は、適切に特定され、時間内に治療されないと数時間のうちに敗血症性ショックや死に至る可能性があるため、病院の患者にとっては敗血症の検出は時間との戦いとなる。さらに、血液培養検査は時間がかかり、特にすでに抗生物質治療を受けている患者の場合、敗血症が疑われる患者の細菌や真菌の検出において、常に信頼性の高い結果が得られるとは限らない。患者の血液培養で陽性結果を得られる確率は低く、陽性結果の特定が得られなくても患者は敗血症を発症している可能性もある。
【０００５】
抗菌剤感受性試験を実施するための従来の方法および自動化された方法では、分離された細菌の「純粋培養」と、細菌の増殖（ｇｒｏｗｔｈ）のための長時間（例えば６～２４時間）の培養（ｉｎｃｕｂａｔｉｏｎ）が必要となる。このような従来のシステムは、増殖に基づくため、時間がかかり、高価で、手作業を必要とし、統合されていないという点で限界がある。改善策がなければ、医師が経験則に基づく抗生物質で治療している間、患者は苦しみ続け、感染の原因となる１つまたは複数の病原体（ｃａｕｓａｔｉｖｅ　ａｇｅｎｔｓ）（例えば、病原菌）について、また感染症にかかっている患者の高度耐性病原体（ｈｉｇｈｌｙ　ｒｅｓｉｓｔａｎｔ　ｐａｔｈｏｇｅｎ）を治療する抗菌剤について、検査室からより実行可能な情報を得るまで、しばしば悪化する可能性がある。
【発明の概要】
【０００６】
本開示の実施形態は、患者の予後を改善するために患者に適切な治療を提供することを

目的として、抗菌剤感受性試験のための改善された診断方法、システム、および装置のための費用対効果の高い解決策を提供する。

【０００７】

本明細書では、血液サンプル、または尿、無菌体液などの他のサンプルから直接、抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）を行うためのシステム、方法、および装置について説明する。本明細書で提示する実施形態では、ＡＳＴシステム、分析装置、ＡＳＴカートリッジ、サンプル調製カートリッジ、および処理チューブ（ｐｒｏｃｅｓｓｉｎｇ　ｔｕｂｅ）が提供され、サンプルの検体品質を維持しながら、血液培養を行わずにサンプルから迅速にＡＳＴを行うことができる。いくつかの実施形態では、病原体の表現型感受性（ｐｈｅｎｏｔｙｐｉｃａｌ　ｓｕｓｃｅｐｔｉｂｉｌｉｔｙ）を特定するために単一細胞顕微鏡が活用され、迅速かつ効果的な抗菌治療のための診断経路につながる可能性がある。いくつかの実施形態では、本明細書に記載するＡＳＴのためのシステム、方法、および装置は、敗血症および／または他の基礎疾患を持つ患者の治療に使用される可能性がある。

【０００８】

一実施形態では、感受性試験を実施するための方法の一例が説明される。この方法は、分析装置によって、サンプル調製カートリッジおよびサンプル容器を受け取るステップを含み、サンプル容器が病原体を含むサンプルを収容し、方法はまた、分析装置内のピペッタシステムにサンプル調製カートリッジからの第１の針を設置するステップと、ピペッタシステムを使用して第１の針をサンプル容器に挿入するステップと、サンプル容器から第１の針を通ってサンプル調製カートリッジ内の処理チューブにサンプルを移送するステップと、分析装置を使用して処理チューブ内でサンプルの病原体を濃縮させ（ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｅ）および富化して（ｅｎｒｉｃｈ）、処理チューブ内で富化されたサンプルを得るステップと、富化されたサンプルの複数のアリコート（ａｌｉｑｕｏｔｓ：一定分量）を分析装置内の抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジ内の複数の反応ウェルに分注するステップと、を含み、各アリコートがそれぞれの反応ウェルに対応し、各反応ウェルは所定の濃度の抗菌剤を含む。この方法はさらに、ＡＳＴカートリッジの反応ウェル内で、各反応ウェル内の病原体と各反応ウェル内の抗菌剤との間で反応が起こるように、所定の期間、アリコートを培養する（ｉｎｃｕｂａｔｅ）ステップと、分析装置内の顕微鏡を使用してＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェルの画像を取得するステップと、および分析装置内の顕微鏡に連結したプロセッサ（ｐｒｏｃｅｓｓｏｒ：処理機）によって、画像を分析して各反応ウェル内の病原体の各反応ウェル内の抗菌剤に対する感受性を決定するステップと、を含む。

【０００９】

別の実施形態では、一例としての抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジが説明される。ＡＳＴカートリッジは、複数の反応ウェルを含むベースを含み、各反応ウェルは、底部壁を含み、その底部壁は光学的に透明である。ＡＳＴカートリッジは、複数の反応ウェルにおける各反応ウェルを封止（ｓｅａｌ）するベース上に配置された隔膜（ｓｅｐｔｕｍ）と、隔膜上に配置されたカバーと、をさらに含む。複数の反応ウェル内の各反応ウェルには、病原体を含む富化サンプルの各アリコートと反応させるための所定濃度の抗菌剤が収容されており、この抗菌剤は各反応ウェル内に配置されている。

【００１０】

別の実施形態では、サンプルを富化するためのシステムの一例が説明される。このシステムは、病原体を含むサンプルを収容するサンプル容器を受け入れるように構成されたハウジングと、ハウジング内に配置されたピペッタシステムと、ハウジング内に配置された１つ以上の遠心分離機と、コントローラと、を含む。コントローラは、ピペッタシステムを使用してサンプル容器から処理チューブにサンプルを移送し、１つ以上の遠心分離機を使用して処理チューブを遠心分離してサンプル中の病原体を濃縮し、ピペッタシステムを使用して処理チューブから流体を除去し、処理チューブ内に濃縮された病原体を残し、ピペッタシステムを使用して処理チューブ内の濃縮された病原体に増殖媒体（ｇｒｏｗｔｈ　ｍｅｄｉａ）を加え、処理チューブ内の濃縮された病原体を所定の期間増殖させ、所定の

期間経過後に濃縮された病原体を洗浄して、処理チューブ内に富化されたサンプルを得るように構成される。

【００１１】

別の実施形態では、サンプルを分析するためのシステムの例が説明される。このシステムは、処理チューブおよび抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）カートリッジを受け入れるように構成されたハウジングを含む。ＡＳＴカートリッジは、複数の反応ウェルを含み、各反応ウェルは、底部壁を含み、底部壁は光学的に透明である。システムはさらに、ハウジング内に配置されたヒータ、ハウジング内に配置されたピペッタシステム、ハウジング内に配置された顕微鏡、およびコントローラを含む。コントローラは、ピペッタシステムを使用して、処理チューブからＡＳＴカートリッジ内の複数の反応ウェルに病原体を含む富化サンプルの複数のアリコートを分注するように構成されており、各アリコートはそれぞれの反応ウェルに対応し、各反応ウェルは所定の濃度の抗菌剤を含む。コントローラはさらに、ヒータを使用して、ＡＳＴカートリッジの反応ウェル内のアリコートを所定の期間培養し、各反応ウェル内の病原体と抗菌剤との間で反応を起こさせるように構成されており、顕微鏡を使用して、ＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェルの底壁の１つまたは複数の画像を取得し、顕微鏡に連結されたプロセッサによって、１つまたは複数の画像を分析することにより、各反応ウェルにおける病原体の抗菌剤に対する感受性を決定する。

【００１２】

別の実施形態では、ＡＳＴカートリッジの製造方法の一例が説明される。この方法は、複数の開口部を備えるカバーを製造するステップと、カバーに隔膜をオーバーモールドするステップと、を含み、隔膜の第１の側面が複数の開口部を横断して延び、方法はまた、複数の反応ウェルを備えるベースを製造するステップと、ベースを隔膜の第２の側面に装着するステップと、を含み、隔膜の第２の側面がベースの複数の反応ウェルを横断して延び、かつ、複数の反応ウェルを封止する。

【００１３】

さらなる特徴および利点、ならびに様々な実施形態の構造および動作については、添付の図面を参照しながら以下で詳細に説明する。ここで説明されている特定の実施形態は、制限することを意図したものではないことに留意されたい。このような実施形態は、例示目的のみでここに提示されている。関連技術の当業者であれば、ここに記載されている内容に基づいて、さらなる実施形態が明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【００１４】

本明細書に組み込まれ、その一部を構成する添付の図面は、本開示の実施形態を示しており、その説明と併せて、本開示の原理をさらに説明し、当業者が本開示を作成および使用できるようにする。

【００１５】

【図１】図１は、本開示の実施形態による抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）を行うためのシステムのダイヤグラムを示す。

【図２】図２は、本開示の実施形態による分析装置を示す。

【図３Ａ】図３Ａは、本開示の実施形態による分析装置の正面図を示す。

【図３Ｂ】図３Ｂは、本開示の実施形態による分析装置の上面図を示す図である。

【図４】図４は、本開示の実施形態による、３つの開口コンパートメントを備える分析装置の図を示す。

【図５】図５は、本開示の実施形態によるサンプル調製カートリッジの図を示す。

【図６Ａ】図６Ａは、本開示の実施形態による、サンプル調製カートリッジ内の処理チューブおよび他の構成要素を示す。

【図６Ｂ】図６Ｂは、本開示の実施形態による、直線的なサンプル調製カートリッジ内の処理チューブおよび他の構成要素を示す。

【図７Ａ】図７Ａは、本開示の実施形態による処理チューブの図を示す。

【図７Ｂ】図７Ｂは、本開示の実施形態による処理チューブの図を示す。

【図８Ａ】図８Ａは、本開示のいくつかの実施形態による処理チューブへの挿入用に構成された針の図を示す。
【図８Ｂ】図８Ｂは、本開示のいくつかの実施形態による処理チューブへの挿入用に構成された針の図を示す。
【図８Ｃ】図８Ｃは、本開示のいくつかの実施形態による処理チューブへの挿入用に構成された針の図を示す。
【図９Ａ】図９Ａは、本開示の実施形態による、高容量針の図を示す。
【図９Ｂ】図９Ｂは、本開示の実施形態による、低容量針の図を示す。
【図１０】図１０は、本開示の実施形態による高容量針の例の図を示す。
【図１１】図１１は、本開示の実施形態による、低容量針がサンプル調製カートリッジとインターフェースする様子を示す図である。
【図１２Ａ】図１２Ａは、本開示の実施形態によるＡＳＴカートリッジの図を示す。
【図１２Ｂ】図１２Ｂは、本開示の実施形態によるＡＳＴカートリッジの図を示す。
【図１３】図１３は、本開示の実施形態による、低容量針がＡＳＴカートリッジに挿入される様子を示す図である。
【図１４Ａ】図１４Ａは、本開示の実施形態による分析装置で使用される遠心分離機の例の図を示す。
【図１４Ｂ】図１４Ｂは、本開示の実施形態による分析装置で使用される遠心分離機の例の図を示す。
【図１５Ａ】図１５Ａは、本開示の実施形態による分析装置で使用される富化サブシステムの一例の図を示す。
【図１５Ｂ】図１５Ｂは、本開示の実施形態による分析装置で使用される富化サブシステムの一例の図を示す。
【図１５Ｃ】図１５Ｃは、本開示の実施形態による分析装置で使用される富化サブシステムの一例の図を示す。
【図１５Ｄ】図１５Ｄは、本開示の実施形態による分析装置で使用される富化サブシステムの一例の図を示す。
【図１６Ａ】図１６Ａは、本開示の実施形態による分析装置で使用される機械装置の一例の図を示す。
【図１６Ｂ】図１６Ｂは、本開示の実施形態による分析装置で使用される機械装置の一例の図を示す。
【図１６Ｃ】図１６Ｃは、本開示の実施形態による分析装置で使用される機械装置の一例の図を示す。
【図１７Ａ】図１７Ａは、本開示の実施形態による、分析器内の画像化サブシステムとインターフェースするＡＳＴカートリッジの図を示す。
【図１７Ｂ】図１７Ｂは、本開示の実施形態による、分析器内の画像化サブシステムとインターフェースするＡＳＴカートリッジの図を示す。
【図１８】図１８は、本開示の実施形態による、サンプルのＡＳＴを実施するための方法のフローチャート図を示す。
【図１９】図１９は、本開示の実施形態による、ＡＳＴカートリッジの製造または組み立てのための方法のフローチャート図を示す。
【図２０】図２０は、本開示の実施形態によるコンピュータシステムの例示的な構成要素のブロック図である。
【図２１Ａ】図２１Ａは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２１Ｂ】図２１Ｂは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２２Ａ】図２２Ａは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２２Ｂ】図２２Ｂは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２３Ａ】図２３Ａは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２３Ｂ】図２３Ｂは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２４Ａ】図２４Ａは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。

【図２４Ｂ】図２４Ｂは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２５Ａ】図２５Ａは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２５Ｂ】図２５Ｂは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２６Ａ】図２６Ａは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２６Ｂ】図２６Ｂは、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【図２７】図２７は、本開示の実施形態に基づく試験からの、実験結果を示す。
【００１６】
本開示の実施形態は、添付の図面を参照しながら説明する。
【発明を実施するための形態】
【００１７】
特定の構成および配置が説明されているが、これは例示目的のみでなされていることを理解すべきである。当業者は、本開示の精神および範囲から逸脱することなく、他の構成および配置を使用できることを認識するであろう。当業者には、本開示が他のさまざまな用途にも採用できることが明らかであろう。
【００１８】
単位、接頭語、および記号は、国際単位系（ＳＩ）で認められた形式で表記する。数値の範囲は、その範囲を定義する数値を含むものとする。数値の範囲が述べられている場合、その範囲の上限および下限として述べられている数値の間の各整数、およびその分数も、その数値間の各小範囲とともに、具体的に開示されているものと理解される。したがって、本明細書に記載された範囲は、記載された終点を含め、その範囲内のすべての値の略記であると理解される。例えば、１から１０までの範囲は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０からなるグループのすべての数値、数値の組み合わせ、またはサブ範囲を含むと理解される。
【００１９】
数値が明示的に記載されている場合、その数値とほぼ同等の数量または量である数値も開示の範囲内であると理解される。コンビネーションが開示されている場合、その組み合わせの各要素のサブコンビネーションも具体的に開示されており、開示の範囲内である。逆に、異なる要素または要素グループが個別に開示されている場合、それらのコンビネーションも開示されている。
【００２０】
代替案（例えば、「または」）の使用は、いずれか一方、両方、またはそれらの任意の組み合わせを意味すると理解すべきである。本明細書で使用される場合、不定冠詞「ａ」または「ａｎ」は、記載または列挙された構成要素の「１つまたは複数」を指すものと理解すべきである。
【００２１】
「約」という用語は、当業者であれば特定の値または組成について許容誤差範囲内にあると判断する値または組成を指し、その値または組成の測定または決定方法、すなわち測定システムの限界によっても左右される。例えば、「約」は当該技術分野における慣行に従って、１×標準偏差以内または１×標準偏差を超えることを意味する。あるいは、「約」は１０％までの範囲を意味する場合もある。さらに、特に生物学的システムまたはプロセスに関して、用語は最大で１桁違い、または最大で５倍の値を意味する場合もある。特定の値または組成が本願および特許請求の範囲に記載されている場合、別段の記載がない限り、「約」の意味は、その特定の値または組成の許容誤差範囲内にあると想定すべきである。
【００２２】
本明細書に記載されているように、濃度範囲、パーセント範囲、比率範囲、整数範囲は、別段の指定がない限り、記載された範囲内の任意の整数の値、および必要に応じてその分数（整数の１０分の１や１００分の１など）を含むと理解される。
【００２３】
はじめに：

敗血症の検出と治療における現在の標準的な対処は、血液培養に依存しているが、検出までの平均時間は約１３時間である。血液培養検査では、病原体の識別（ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｉｏｎ：ＩＤ）なしに微生物が検出され、続いて陽性サンプルがペトリ皿に植え付け（ｐｌａｔｅ）られる。従来の血液培養プロセスでは、成人患者１人につき２セットの血液培養セットが採取され、各セットは好気性ボトルと嫌気性ボトルで構成され、培養中に敗血症の原因となる細菌の全スペクトルが確実に捕捉されるようにしている。通常、各培養は別々の静脈穿刺（例えば、患者の左腕と右腕）から採取される。これは、細菌の排出イベント（ｓｈｅｄｄｉｎｇ　ｅｖｅｎｔ）が培養によって確実に捕捉され、その後の検査（ＩＤやＡＳＴなど）で細菌が「回復（ｒｅｃｏｖｅｒ）」されるようにするためである。培養後、好気性ボトルと嫌気性ボトルは血液培養装置内で培養され、増殖がリアルタイムでモニタリングされる。好気性ボトルと嫌気性ボトルは、細菌が電子的に検出される遅延対数増殖（ｌａｇ－ｌｏｇ　ｇｒｏｗｔｈ）の移行を完了するまで培養され、撹拌される。その後、検査室の作業員に患者の培養が陽性であることが通知されるかもしれない。通常、ほとんどの細菌では平均約１３時間で培養が陽性となるが、酵母（ｙｅａｓｔ）や真菌（ｆｕｎｇｉ）ではさらに長い時間（最大５日間）を要する場合もある。しかし、採取エラー、採血量不足、検査室への輸送の遅延、感度不足などにより、多くの培養が陰性となる。

【００２４】

敗血症の緊急性により、陽性反応が出た後、検査室は直ちにグラム染色（ｇｒａｍ　ｓｔａｉｎ）（グラム陽性菌またはグラム陰性菌など）を行い、重要な微生物、汚染物質、単一微生物、または多微生物感染を識別し、中間情報を医療従事者に報告する。さらに、検査室は、分子診断システムなどの迅速な方法を用いて細菌を識別するための即時的な措置を講じることができ、その結果は１．５時間で得られる。これらのシステムは、特定のプロファイルを示す特定の細菌の遺伝子学的な薬剤耐性に関する限定的な分子情報を提供する可能性がある。あるいは、検査室では陽性血液培養（ＰＢＣ）アリコートをマトリクス支援レーザー脱離・イオン化飛行時間型（ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ）質量分析システムで処理し、約１時間でＩＤを報告することができる。医療従事者はこのＩＤを使用して、予防的に患者に投与された可能性のある抗生物質を確認し、場合によっては調整することができる。しかし、細菌が識別されるまでに、患者の培養が初めて行われてから、最長で２０～２４時間（最善でも）が経過している可能性がある。

【００２５】

識別された病原体の入手と報告と並行して、その病原体の抗生物質感受性プロファイルを決定するために、抗生物質感受性試験（ＡＳＴ）を実施することもある。場合によっては、分離された細菌病原体に対して、微量液体希釈法や培養ベースのアッセイ（ａｓｓａｙ）（例えば、ディスク拡散法による抗生物質感受性試験や、ペトリ皿に植え付けられた培地を使用する方法）などの手動法を用いて、ＡＳＴを体外で実施することもある。また、場合によっては、ＡＳＴを自動化装置を使用して実施し、抗菌剤または薬剤への耐性の最小阻害濃度（ＭＩＣ）を調べることもある。

【００２６】

しかしながら、これらのシステムでは分離された細菌コロニーが必要となる場合がある。例えば、現在のＡＳＴ法では、適切に機能させるために、清浄な細菌の大量のバイオマスが必要となる場合がある。陽性血液培養からの継代培養（ｓｕｂｃｕｌｔｕｒｅ）は、まず、ペトリ皿に植え付けられた培地で増殖させる必要がある。このプロセスは、２４時間体制の検査室では６～１２時間で完了するが、夜間閉鎖される検査室では２４時間かかる場合もある。その後、ＡＳＴシステムに接種（ｉｎｏｃｕｌａｔｅ）する前に、培養物を均一化（例えば、１０，０００個の細胞を接種）する必要がある場合もある。接種後、ＡＳＴ分析には、すべての細菌分類群に対する薬剤感受性または耐性情報を報告するまでに８～１６時間かかる。さらに、ＡＳＴは患者が入院してから少なくとも２日目にならないと開始されない可能性もある。つまり、ＡＳＴ分析の結果（例えば、特定の抗生物質に対する細菌の感受性あり、中間、耐性あり（ＳＩＲ）、ＭＩＣ、または耐性情報など）は

、患者から最初の血液培養サンプルを採取してから２．５～３日後に医療従事者に報告される可能性がある。

【００２７】

敗血症患者の重要な抗生物質情報を報告するまでの全体的なプロセスに数日を要する場合がある。例えば、感染が疑われる場合、患者から血液、尿、喀痰などのサンプルを採取し、臨床検査室に提出して、まず感染因子が存在するかどうかを判断する。ほとんどの病原性細菌種が十分に増殖するには、１８～２４時間（例えば、１日目）を要する場合がある。細菌が分離された場合、さらに１８～２４時間（例：２日目）を要して分離株を培養し、さらに２～４８時間（例：３日目以降）を要して細菌分離株を識別し、ＡＳＴが実施される。従来の方法および自動化されたＡＳＴ法では、細菌分離株の「純粋培養」が必要であり、さらに細菌の増殖のための長時間の培養（例：６～２４時間）が必要である。従来のシステムは、増殖を基本としているため、時間がかかり、高価で、手作業を必要とし、統合されていないという点で限界がある。改善策がなければ、感染の原因となる１つまたは複数の病原体（例えば、病原菌）について、検査室からより実行可能な情報を得るのを待っている間、医師が経験則に基づく抗生物質で治療し、患者は苦しみ続け、しばしば悪化する可能性がある。

【００２８】

現在の技術では、宿主反応の検出、病原体の識別、抗菌剤または抗生物質感受性試験（ＡＳＴ）のワークフロー全体を統合した包括的な解決策を提供することはできない。場合によっては、一部のシステムは宿主反応の検出や病原体の検出など、敗血症カスケードの単一の側面のみに焦点を当てている。例えば、システムは分子白血球ＲＮＡマーカーを検出することで（逆転写（ＲＴ）－ＰＣＲによる遺伝子発現の検出を介して）、敗血症の早期兆候として宿主反応を調べることはできるが、病原体の識別や感受性に関する回答は提供できない。免疫反応の結果は、患者が敗血症カスケードに突入したか、または突入していることを医療従事者に警告し、不可逆的な罹患の可能性を防ぐための治療または介入が緊急に必要であることを示し得る。医療従事者は、感染部位から血液培養を採取して感染因子を特定するなど、従来の方法で感染部位と感染因子を特定し、ただちに対応する。

【００２９】

病原体検出の面では、現在の技術では、血液サンプルからＰＣＲを使用して直接検出および識別する方法が提供されている。しかし、そのようなシステムは高価で、メニューの選択肢が限られており、サービスが困難であり、迅速なＡＳＴ結果の解決策を提供できず、限定的な分子遺伝学的耐性パネルしか提供できない可能性がある。他のシステムでは、血液から直接病原体を検出するｒＲＮＡ　ＲＴ－ＰＣＲ法を病原体の識別に利用している場合もあるが、メニューが限られている（例えば、１５種類以下の標的）という制約がある場合もある。結局のところ、現在の技術では、血液から直接迅速にＡＳＴを自動的に行う解決策は提供されておらず、代わりに、何らかの有用な結果報告のためには、１３～２０時間を要する陽性血液培養に頼っている。例えば、一部のシステムでは陽性血液培養ボトル（ＰＢＣ）からアリコートを入手し、ＰＢＣボトルから分離した細菌を増殖させるのに必要な時間（例えば６～２４時間）を短縮できる。しかし、これらのシステムでは報告できる薬剤や細菌の種類が限られているため、医療従事者にとっての有用性は限定的である。罹患率（ｍｏｒｂｉｄｉｔｙ）と死亡率（ｍｏｒｔａｌｉｔｙ）を大幅に削減するためには、標準的な治療方法で現在必要とされている複数の培養ステップ（生物学的増幅など）による大幅な時間遅延を伴わずに、血液サンプルから直接検出される感染性敗血症の原因となる細菌の単一細胞または低コピー数レベルにおける抗生物質感受性と抗生物質耐性を迅速に判定する、新しい診断方法、装置、システムが必要である。

【００３０】

患者において敗血症状態がしばしば発見されずに、急速に生命を脅かす状態へと進行することがあるため、生命を救い、抗菌剤耐性（ＡＭＲ）を低減するために、患者サンプルの迅速な検査を実施し、適切な抗菌剤に関する指針を提供するための、新しい包括的なシステム、装置、および方法に対する明確な必要性と需要がある。本明細書で説明するシス

テム、装置、および方法は、患者に効果的で適切な治療を推奨するために、病原体の抗生物質に対する感受性および耐性を決定するための全体的かつ系統的なアプローチを提供する。

【００３１】

ＡＳＴシステム概要：

図１は、本開示の実施形態による抗菌剤感受性試験（ＡＳＴ）を行うためのシステム１０１のダイヤグラムを示す。いくつかの実施形態では、システム１０１は、本明細書ではＡＳＴシステム１０１と呼ばれることがある。システム１０１は、分析器１０８、サンプル容器１１１、サンプル調製カートリッジ１１４、ＡＳＴカートリッジ１１５、処理装置１１６、およびネットワーク１１２を介して通信可能に結合された複数のデータベース１１０を含んでいてもよい。

【００３２】

分析器１０８は、患者のサンプル中の病原体の表現型ＡＳＴを実行するポイント・オブ・ケア（ＰＯＣ）検査装置であってもよく、サンプル容器１１１に保存されていてもよい。本明細書のいくつかの実施形態では、分析器１０８は、分析装置と呼ばれることがある。いくつかの実施形態では、サンプル容器１１１内のサンプルは、全血、尿、滅菌体液、または患者から得られた他のサンプルで構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、分析装置１０８は、分析装置１０８のハウジング内の対応する引き出し（ｄｒａｗｅｒ）に、分析装置１０８のユーザまたはオペレータによって配置されたサンプル容器１１１を受け取ってもよい。

【００３３】

サンプル容器１１１を受け取ることに加えて、分析器１０８はサンプル調製カートリッジ１１４およびＡＳＴカートリッジ１１５も受け取ることができ、これらは同様に分析器１０８のハウジングの対応する引き出しに分析器１０８のユーザまたはオペレータによって配置されることができる。いくつかの実施形態では、分析装置１０８内の様々な構成要素およびサブシステムが、サンプル容器１１１、サンプル調製カートリッジ１１４、ＡＳＴカートリッジ１１５、処理装置１１６、および／またはデータベース１１０とインターフェースし、サンプル調製および処理、サンプル中の病原体の富化（ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ）およびクリーンアップ、顕微鏡検査および／または蛍光法を用いたＡＳＴを行うことができる。

【００３４】

いくつかの実施形態では、サンプル容器１１１を受け取った後、分析装置１０８内のピペッティングシステムが、サンプル容器１１１からサンプル調製カートリッジ１１４にサンプルを移送することがある。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ１１４は、サンプルを保持するように構成されたレセプタクルと、サンプル処理を行うための要素とを備えた専用消耗品であってもよい。サンプル調製カートリッジ１１４は、その内容物を保護するためにチューブの上または内部に配置された隔膜を有する処理チューブ１１３を含んでもよい。処理チューブ１１３は、サンプル調製カートリッジ１１４の針を使用してサンプルを移送することにより、隔膜を介してサンプル容器１１１からサンプルを受け取るように構成されていてもよい。サンプルが処理チューブ１１３に移送されると、サンプルは、サンプル濃縮（ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｉｏｎ）、溶解（ｌｙｓｉｓ）、富化（ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ）、クリーンアップ、および／または他の処理ステップを受けることができる。

【００３５】

いくつかの実施形態では、サンプル容器１１１は採血管である。採血管は、さまざまな業者から入手可能であり、血液を保存するための多様な試薬を含む場合がある。

【００３６】

いくつかの実施形態では、サンプル容器１１１は血液培養ボトルである。血液培養ボトルは、さまざまな業者から入手可能であり、微生物の増殖を促す増殖媒体を含む。血液培養ボトルは、サンプル中の微生物に対する抗生物質の作用を弱めるために、抗生物質を吸

収する樹脂も含むことがある。いくつかの実施形態では、血液培養ボトル内のサンプルは、病原体が成長するが増殖の安定期（ｇｒｏｗｔｈ　ｐｌａｔｅａｕ）（陽性）に達しない程度の時間、培養される。

【００３７】

サンプル調製カートリッジ１１４の要素および構成要素を使用してサンプル調製および処理（例えば、サンプルの濃縮、富化、およびクリーンアップを含む）を行った後、サンプルは、分析器１０８内のピペッティングシステムによって、サンプル調製カートリッジ１１４内の処理チューブ１１３からＡＳＴカートリッジ１１５に移送される。いくつかの実施形態では、ＡＳＴカートリッジ１１５は、ＡＳＴを実施するための富化サンプルの複数のアリコートを保持するように構成された複数の反応ウェルを備える特殊な消耗品であってもよい。いくつかの実施形態では、分析装置１０８は、ＡＳＴカートリッジ１１５内の富化サンプルの複数のアリコートを所定の濃度の抗菌剤に曝露させることによる顕微鏡法（例えば、単一細胞顕微鏡法、蛍光顕微鏡法など）を使用してもよい。

【００３８】

いくつかの実施形態では、分析装置１０８は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）カートリッジなどの追加のカートリッジとさらにインターフェースしてもよい。いくつかの実施形態では、ＰＣＲカートリッジは、病原体の識別を行うための核酸増幅ステップを実行するためのサンプルの複数のアリコートを保持するように構成された複数の反応チャンバを備えた特殊な消耗品であってもよい。いくつかの実施形態では、分析装置１０８は、サンプル調製／処理、病原体識別、および／または感受性試験を同時または連続して行うために、１つ以上のサンプル調製カートリッジ１１４、ＰＣＲカートリッジ、および／またはＡＳＴカートリッジ１１５を同時に保持するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、本明細書において、サンプル調製カートリッジ１１４、ＡＳＴカートリッジ１１５、および／またはＰＣＲカートリッジは、分析装置１０８に挿入するように構成された消耗品または容器として言及される場合がある。

【００３９】

いくつかの実施形態では、分析装置１０８は、分析装置１０８のハウジング内に配置されるコントローラ１０９を含むことができる。コントローラ１０９は、分析器１０８内の１つまたは複数のサンプル容器、処理チューブ、カートリッジ、およびピペッティングシステムの動きを含む、分析器１０８内の異なる構成要素の動きおよび動作を制御することができる。いくつかの実施形態では、コントローラ１０９は、サンプル調製、病原体識別、感受性試験、および／または他の機能を実行するための、分析装置１０８内の１つまたは複数の遠心分離機、サブシステム、およびモジュールの動作も制御することができる。いくつかの実施形態では、コントローラ１０９は、分析器１０８内の１つまたは複数の遠心分離機、サブシステム、およびモジュールをオン／オフおよび操作するようにプログラムされた、分析器１０８内の集積回路（ＩＣ）チップ上のマイクロコントローラを含むことができる。いくつかの実施形態では、コントローラ１０９は、分析器１０８内の１つ以上のステッピングモータ、アクチュエータ、または他の動作制御構成要素に結合され、動作を制御するようにプログラムされ得る。

【００４０】

いくつかの実施形態では、コントローラ１０９は処理装置１１６によってプログラムされてもよい。処理装置１１６は、データ処理を実行し、コントローラ１０９および／または分析器１０８内の他の構成要素に指示を提供するために分析器１０８に結合された演算処理装置であってもよい。いくつかの実施形態では、処理装置１１６は、パーソナルデジタルアシスタント、デスクトップワークステーション、ラップトップまたはノートブックコンピュータ、ネットブック、タブレット、スマートフォン、携帯電話、スマートウォッチ、またはそれらの任意の組み合わせであってもよい。

【００４１】

いくつかの実施形態では、処理装置１１６は、分析装置１０８と通信してＡＳＴカートリッジ１１５内で生じた反応の結果を受信し、サンプルの１つ以上の病原体の感受性を決

定するためにさらなる処理およびデータ分析を行うことができる。いくつかの実施形態では、処理装置１１６は、分析装置１０８からＡＳＴカートリッジ１１５の１つまたは複数の画像を受信し、特定の病原体が特定の抗菌剤に対して感受性あり、中間、または耐性ありであるかを判断するために、画像をコントロール（ｃｏｎｔｒｏｌ：規準）と比較する。

【００４２】

いくつかの実施形態では、処理装置１１６は複数のデータベース１１０とも通信することができる。いくつかの実施形態では、複数のデータベース１１０のうちの１つまたは複数は、任意の数のデータベースを代表することができ、複数の病原体に対する臨床パラメータデータ、疫学情報、または抗生物質耐性情報を格納するものなど、様々なデータベースを含むことができる。いくつかの実施形態では、複数のデータベース１１０のうちの１つまたは複数で、病原体の分類データ（ｔａｘｏｎｏｍｙ　ｄａｔａ）および／または過去の病原体識別ワークフロー（例えば、分析装置１０８によって実行される）の結果を格納するように構成することができる。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のデータベース１１０からの情報を使用して、ＡＳＴカートリッジ１１５および分析装置１０８を使用して試験する抗菌剤を選択することができる。いくつかの実施形態では、１つ以上のデータベース１１０からの情報を使用して、ＡＳＴシステム１０１による試験の結果から、試験した病原体が薬剤に対して耐性あり、中間、または感受性ありのいずれであるかを決定することができる。いくつかの実施形態では、複数のデータベース１１０のうちの１つまたは複数を、様々な病原体に対する抗菌剤に対する感受性の判定を行うための事前定義されたルールを格納するように構成してもよい。いくつかの実施形態では、処理装置１１６は、分析装置１０８のユーザに感受性情報を報告するために、データベース１１０内の病原体の分類データ、結果、および／または事前定義されたルールのうちの少なくとも１つを使用してもよい。いくつかの実施形態では、処理装置１１６は、予め定められた規則の解析から病原体が特定の薬剤に対して感受性を有さないことを特定することに基づいて、病原体に対する特定の薬剤の感受性を報告しない場合がある。例えば、クレブシエラ（Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ）はアンピシリンに対して自然耐性であるため、処理装置１１６は、この感受性情報をユーザに報告しない場合がある。

【００４３】

いくつかの実施形態では、複数のデータベース１１０のうちの１つまたは複数は、病院、臨床ケア施設、検査室、放射線科、薬局などのさまざまなヘルスケアサービスおよびヘルスケアプロバイダから取得した患者のヘルスケア情報を含む電子健康記録（ＥＨＲ）データを含んでもよい。いくつかの実施形態では、データベース１１０に保存されたＥＨＲデータは、患者の健康および治療に関する患者データおよび病歴データを含み、人口統計、病歴、投薬およびアレルギー、予防接種状況、臨床検査結果、放射線画像、生命徴候、年齢および体重などの個人統計、および各患者の請求情報を含む。いくつかの実施形態では、処理装置１１６は、分析装置１０８によって実行された病原体の識別および／またはＡＳＴの結果を、複数のデータベース１１０に保存されたデータ（例えば、臨床パラメータデータ、疫学情報または抗生物質耐性情報、ＥＨＲデータなど）とともに使用して、患者に対する治療の推奨を決定することができる。

【００４４】

いくつかの実施形態では、システム１０１内の構成要素は、ネットワーク１１２を介して通信可能に結合されていてもよい。特に、ネットワーク１１２は、分析装置１０８、複数のデータベース１１０、処理装置１１６、および／またはシステム１０１内の他の任意の装置または構成要素間の情報の伝送および通信を可能にしてもよい。いくつかの実施形態では、システム１０１は、ラマン分光装置および／または電子健康記録（ＥＨＲ）システム（図示せず）などの追加の構成要素を含んでもよい。

【００４５】

いくつかの実施形態では、ネットワーク１１２は、ＬＡＮ（ローカルエリアネットワーク）、ＷＡＮ（ワイドエリアネットワーク）、電話ネットワーク、ワイヤレスネットワー

ク、ポイント・ツー・ポイントネットワーク、スターネットワーク、トークンリングネットワーク、ハブネットワーク、またはその他の適切な構成のいずれか、またはそれらの組み合わせであってもよい。ネットワークは、１つまたは複数のネットワークプロトコル（ＩＥＥＥ（米国電気電子技術者協会）プロトコル、３ＧＰＰ（登録商標）（第３世代パートナーシッププロジェクト）プロトコル、第４世代ワイヤレスプロトコル（４Ｇ）（例えばＬＴＥ（長期進化）標準、ＬＴＥ　Ａｄｖａｎｃｅｄ、ＬＴＥ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｐｒｏ）、第５世代ワイヤレスプロトコル（５Ｇ）、および／または同様の有線および／またはワイヤレスプロトコルを含む）に準拠し、分析装置１０８、複数のデータベース１１０、処理装置１１６、および／またはシステム１０１内のその他の任意の装置または構成要素間のデータのルーティング用に１つまたは複数の中間装置を含んでもよい。

【００４６】

分析装置の実施形態：

図２は、本開示の実施形態による分析装置２００の図を示す。分析装置２００は、図１に示す分析装置１０８の例示的な実施形態を表す。いくつかの実施形態では、分析装置２００は、本明細書では分析器２００と呼ばれることがある。分析装置２００は、ハウジング２０１を備えた卓上型装置であり、そのハウジング２０１には、サンプルの調製、処理、および試験を行うための様々な構成要素およびモジュールが収容されている。いくつかの実施形態では、ハウジング２０１は、分析装置２００の本体、および／または、内部のモジュールおよび構成要素を保護する分析装置２００の外装ケースを含む場合がある。いくつかの実施形態では、分析装置２００は、分析装置２００のユーザによるアクセスおよび操作のための様々な区画を備えた立方体、直方体、または長方形の形状から構成される場合がある。いくつかの実施形態では、分析装置２００は、例えば約７５０ｍｍ（長さ）×６５０ｍｍ（幅）×６５０ｍｍ（高さ）といった約１m^3未満の寸法のコンパクトなサイズを有していてもよい。

【００４７】

いくつかの実施形態では、分析装置２００は、パーソナルデジタルアシスタント、デスクトップワークステーション、ラップトップまたはノートブックコンピュータ、ネットブック、タブレット、スマートフォン、携帯電話、スマートウォッチ、またはそれらの任意の組み合わせなどの演算処理装置（例えば、処理装置１１６）に連結されてもよい。分析装置２００のユーザまたはオペレータは、分析装置２００を制御し、分析装置２００に対してサンプル情報、患者情報、病原体情報、抗菌剤情報などを送受信し、分析装置２００から病原体識別の結果にアクセスして編集するために、その演算処理装置を使用することができる。

【００４８】

図３Ａは、本開示の実施形態による分析装置２００の正面図を示す。図３Ａは、分析装置２００のハウジング２０１内に配置された内部機能を示しており、これには、第１のピペッタ２０２、第２のピペッタ２０４、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０が含まれる。

【００４９】

いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２および第２のピペッタ２０４は、分析装置２００のハウジング２０１内の構成要素間の液体移送を処理するように構成されたピペッタ装置であってもよい。いくつかの実施形態では、第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、分析装置２００内のコントローラ１０９によって制御される自動化された装置であってもよい。いくつかの実施形態では、コントローラ１０９は、分析装置２００内の異なる構成要素に対する第１および第２のピペッタ２０２、２０４の垂直および／または水平方向の移動を含め、第１および第２のピペッタ２０２、２０４の移動を制御してもよい。いくつかの実施形態では、分析装置２００に、より多いまたはより少ないピペッタが存在してもよい。

【００５０】

いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２および第２のピペッタ２０４は、それ

ぞれ、高容量ピペッタおよび低容量ピペッタと呼ばれることがある。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、約５０マイクロリットル（μＬ）から５ミリリットル（ｍＬ）の範囲の容量を扱うように構成されてもよく、一方、第２のピペッタ２０４は、約１から２００μＬの範囲の容量を扱うように構成されてもよい。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、５０μＬで５％の変動係数（ＣＶ）を有し、５ｍＬで１％のＣＶを有し、第２のピペッタ２０４は、１～２００μＬで５％のＣＶを有してもよい。

【００５１】

いくつかの実施形態では、第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、本明細書においてピペッタおよび／またはピペッタシステムと称される場合がある。いくつかの実施形態では、第１および第２のピペッタ２０２、２０４はそれぞれ、取り外し可能で使い捨て可能な針に取り付けられるように構成されていてもよい。第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、第１および第２のピペッタ２０２、２０４によって必要とされるように、異なる容量範囲を扱うように構成された２つの異なる針に取り付けられてもよい。

【００５２】

液体の移送に加えて、第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、分析装置２００のハウジング２０１内でチューブ、カートリッジなどの要素を移動するように構成されていてもよい。特に、第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、それぞれ、分析装置２００で使用される様々な構成要素に取り付け可能なピペットチップホルダで構成されていてもよい。特に、第１および第２のピペッタ２０２、２０４のピペットチップは、針、チューブ、カートリッジ、スピンコラムバスケットなどの取り扱い機能に押し当ててはめ込み、様々な構成要素をピックアップして分析装置２００内の異なるモジュールまたは領域に配置することができる。

【００５３】

いくつかの実施形態では、第１および第２のピペッタ２０２、２０４の寸法は、約３２５ｍｍ（幅）×５７５ｍｍ（奥行き）×４３５ｍｍ（高さ）であってもよい。いくつかの実施形態では、第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、ハウジング２０１の上部セクションに配置され、第１および第２のピペッタ２０２、２０４がハウジング２０１の下部セクション内のサンプル、チューブ、カートリッジ、および異なるモジュールと相互作用するようにしてもよい。特に、第１および第２のピペッタ２０２、２０４は、図３Ａに示すサンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０における液体の移送および構成要素の移動を処理することができる。

【００５４】

いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０は、分析装置２００のハウジング２０１内の３つの対応するレセプタクル内に収まるように設計されたスライド式の水平区画で構成される。いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０は、サンプル処理および検査のために分析装置２００に挿入される特殊な要素を受けるように構成されていてもよい。特に、サンプル引き出し２１０は、患者から得られたサンプルを収容するサンプル容器（例えば、サンプル容器１１１）を受けることができる。サンプルカートリッジ引き出し２２０は、分析装置２００内の構成要素によってサンプルが移送されるサンプル調製カートリッジ（例えば、サンプル調製カートリッジ１１４）を受けることができる。

【００５５】

いくつかの実施形態では、処理カートリッジ引き出し２３０は、サンプル調製カートリッジにおけるサンプルの処理および富化後に富化されたサンプルのアリコートを受けるように構成されたＡＳＴカートリッジ（例えば、ＡＳＴカートリッジ１１５）を受けることができる。追加のまたは代替の実施形態では、処理カートリッジ引き出し２３０は、ＡＳＴカートリッジおよび／またはＰＣＲカートリッジ引き出しとして使用されてもよい。例えば、分析装置２００がサンプルの病原体識別を行うために使用されているか、または抗

菌剤感受性試験を行うために使用されているかに応じて、ＰＣＲカートリッジまたはＡＳＴカートリッジが処理カートリッジ引き出し２３０に挿入されてもよい。いくつかの実施形態では、分析装置２００は、ＡＳＴおよび病原体識別用の専用カートリッジまたは消耗品とインターフェースするように構成されたデュアル処理カートリッジ引き出し２３０で、病原体識別および抗菌剤感受性試験の両方の機能を行うように構成されていてもよい。

【００５６】

いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０は、それぞれサンプル容器、サンプル調製カートリッジ、およびＡＳＴカートリッジ（またはＰＣＲカートリッジ）の識別子をスキャンするように構成されたリーダを含んでもよい。いくつかの実施形態では、各引き出しを分析装置２００のハウジング２０１に挿入する際に、引き出し内のリーダがサンプル容器および／またはカートリッジの識別子をスキャンすることがある。いくつかの実施形態では、引き出し２１０、２２０、および２３０内のリーダは、対応するサンプル容器および／またはカートリッジの識別コード、バーコード、またはデータマトリクスをスキャンするように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、引き出し２１０、２２０、および２３０内のリーダは、バーコードリーダ、クイックレスポンス（ＱＲ）コードリーダ、またはこれらに類するものであってもよい。

【００５７】

いくつかの実施形態では、図３Ａは、ハウジング２０１内に配置され、サンプル処理用のチューブおよびカートリッジを処理するように構成された１つ以上の遠心分離機を含む追加の構成要素を示す。

【００５８】

図３Ｂは、本開示の実施形態による分析装置２００の上面図を示す図である。図３Ｂは、分析装置２００の上面図から見た断面図を示しており、分析装置２００のハウジング２０１内の第１および第２のピペッタ２０２、２０４の下に配置された様々な構成要素、モジュール、および／またはサブシステムを示している。

【００５９】

図３Ｂのハウジング２０１は、複数のサンプル容器２１２を含むサンプル引き出し２１０、複数のサンプル調製カートリッジ２２４を含むサンプルカートリッジ引き出し２２０、およびＡＳＴカートリッジ２３２およびＰＣＲカートリッジ２３４の両方を含む処理カートリッジ引き出し２３０を含む。サンプル容器２１２、サンプル調製カートリッジ２２４、およびＡＳＴカートリッジ２３２は、それぞれ、図１に示すサンプル容器１１１、サンプル調製カートリッジ１１４、およびＡＳＴカートリッジ１１５の例示的な実施形態を表している。

【００６０】

いくつかの実施形態では、処理カートリッジ引出し２３０は、病原体の識別および抗菌剤感受性試験を行うためのＡＳＴカートリッジ２３２およびＰＣＲカートリッジ２３４の両方を収容するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、ハウジング２０１内のそれぞれの引き出しに、サンプル容器２１２、サンプル調製カートリッジ２２４、ＡＳＴカートリッジ２３２、および／またはＰＣＲカートリッジ２３４が、一度に所定の数だけ収容される場合がある。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ２２４、ＡＳＴカートリッジ２３２、および／またはＰＣＲカートリッジ２３４は、１回の使用後に使い捨てにされるか、または追加のサンプルの検査のために再使用される場合がある。

【００６１】

図３Ｂはまた、ハウジング２０１内に配置された第１の遠心分離機２４０、第２の遠心分離機２４２、ＰＣＲサブシステム２４４、富化サブシステム２４６、機械装置２４８、およびＡＳＴサブシステム２５０も示している。

【００６２】

いくつかの実施形態では、第１の遠心分離機２４０は、第１のピペッタ２０２によって

第１の遠心分離機２４０内に配置された処理チューブ（例えば、処理チューブ１１３）および／またはスピンコラムバスケットを遠心分離するように構成された高速遠心分離機であってもよい。いくつかの実施形態では、第２の遠心分離機２４２は、第２のピペッタ２０４によって第２の遠心分離機２４２内に配置されたＡＳＴカートリッジ２３２を遠心分離するように構成された低速遠心分離機であってもよい。いくつかの実施形態では、第１および第２の遠心分離機２４０、２４２は、スイングバケット構成で処理チューブ、スピンコラムバスケット、および／またはＡＳＴカートリッジ２３２を遠心分離してもよい。いくつかの実施形態では、第１および第２の遠心分離機２４０、２４２は、直径が約２５０ｍｍ、高さが約１７５ｍｍの円筒形を構成してもよい。

【００６３】

いくつかの実施形態では、ＰＣＲサブシステム２４４は、定量的ＰＣＲ（ｑＰＣＲ）を行う際に温度を制御するように構成されたサーマルサイクラと、蛍光によるＰＣＲカートリッジ内の反応チャンバの光学的な照会のための光学システムとを備えていてもよい。いくつかの実施形態では、ＰＣＲサブシステム２４４のサーマルサイクラは、約３５℃から１００℃の範囲の温度を制御してもよい。いくつかの実施形態では、ＰＣＲサブシステム２４４の光学システムは、ハウジング２０１内のＰＣＲカートリッジの底から蛍光測定を行うことができる。いくつかの実施形態では、ＰＣＲカートリッジは、第２のピペッタ２０４によってＰＣＲサブシステム２４４内に配置され、ＰＣＲサブシステム２４４から取り出されてもよい。いくつかの実施形態では、ＰＣＲサブシステム２４４は、同時に最大２つのＰＣＲカートリッジを保持することができ、その場合、ＰＣＲカートリッジはＰＣＲサブシステム２４４内で独立してサーマルサイクリングを受ける。いくつかの実施形態では、ＰＣＲサブシステム２４４の寸法は、約７０ｍｍ（幅）×１２５ｍｍ（奥行き）×２５０ｍｍ（高さ）である。

【００６４】

いくつかの実施形態では、富化サブシステム２４６は、複数の処理チューブを保持するように構成され、処理チューブにスイング運動を適用して、サンプルの振動と、サンプル中の病原体と増殖媒体との混合を可能にし、病原体の増殖と富化を行うように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、富化サブシステム２４６のスロットにチューブを垂直に装填するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、富化サブシステム２４６は、チューブの向きを垂直位置から水平位置に変え、水平位置を中心に±１５°のスイング運動を１Ｈｚの周波数で適用する。いくつかの実施形態では、富化サブシステム２４６は、一度に最大約４本の１５ｍＬ処理チューブを保持することができ、各処理チューブは異なるサンプルを代表する。

【００６５】

いくつかの実施形態では、富化サブシステム２４６は可動磁石を備えていてもよい。可動磁石は、富化サブシステム２４６内の垂直位置にあるときに処理チューブと係合してもよい。いくつかの実施形態では、富化サブシステム２４６は、富化サブシステム２４６内に保持された処理チューブの３７℃の温度制御を適用してもよい。いくつかの実施形態では、富化サブシステム２４６の寸法は、約１５０ｍｍ（幅）×１７５ｍｍ（奥行き）×１１５ｍｍ（高さ）である。

【００６６】

いくつかの実施形態では、機械装置２４８は、処理チューブを撹拌してサンプル中の微生物の溶解を行うように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、機械装置２４８のスロットにチューブを垂直に装填するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、機械装置２４８は、処理チューブに高速振動運動を加えるように構成された撹拌（ａｇｉｔａｔｏｒ）装置または細胞破砕装置（ｃｅｌｌ ｄｉｓｒｕｐｔｉｎｇ ｄｅｖｉｃｅ）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、機械装置２４８は、処理チューブが垂直位置にある間に、撹拌装置によって所定の軸に沿って往復運動を加えることによって、高速振動運動を加えることができる。

【００６７】

いくつかの実施形態では、機械装置２４８は、一度に最大２本の処理チューブを保持し、処理チューブに±２°の角度運動を加えることができる。いくつかの実施形態では、機械装置２４８は、毎分約５，０００～３０，０００サイクルで処理チューブを振動させることがある。いくつかの実施形態では、機械装置２４８の寸法は、約７５ｍｍ（幅）×１７５ｍｍ（奥行き）×１００ｍｍ（高さ）であることがある。

【００６８】

追加または代替の実施形態では、機械装置２４８は、処理チューブを超音波処理してサンプルを撹拌するように構成された超音波発生器（ｓｏｎｉｃａｔｏｒ）を含んでいてもよい。

【００６９】

いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０は、ハウジング２０１内のＡＳＴカートリッジ２３２内のサンプルの培養用に構成されたヒータと、ＡＳＴカートリッジ２３２の反応ウェルを画像化するための画像化サブシステムとを含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０のヒータは、ＡＳＴカートリッジ２３２内のサンプルの培養の温度制御に使用されてもよい。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０のイメージングサブシステムは、電動ＸＹＺ移動ステージを使用してＡＳＴカートリッジ２３２の各反応ウェルの底をスキャンして画像を取得するように構成された顕微鏡を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０のイメージングサブシステムは、異なる蛍光シグナル（例えば、緑色および赤色）を検出するための２つの光学チャネルとともに、蛍光センサを含んでいてもよい。

【００７０】

いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０は、取得された画像および／または信号に基づいて、微生物（例えば、病原体）の抗菌性表現型耐性を特定することができる。いくつかの実施形態では、ＡＳＴカートリッジ２３２は、第２のピペッタ２０４によってＡＳＴサブシステム２５０に配置され、ＡＳＴサブシステム２５０から取り外されることができる。

【００７１】

いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０は、一度に最大５つのＡＳＴカートリッジ２３２を保持することができる。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０は、ＡＳＴサブシステム２５０内に保持されたＡＳＴカートリッジ２３２に対して、サーマルブロックを使用するなどして、Ｃ温度制御を適用することができる。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０は約３７℃の温度制御を適用してもよい。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム２５０の寸法は、約２００ｍｍ（幅）×１８５ｍｍ（奥行き）×２８５ｍｍ（高さ）であってもよい。

【００７２】

図４は、本開示の実施形態による、３つの開口コンパートメントを備える分析装置２００の図を示す。いくつかの実施形態では、図４の分析装置２００は、サンプルおよび／またはカートリッジの装填および／または取り出しのために開位置でハウジング２０１から延びるサンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０を示す。サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０は、閉鎖位置においてハウジング２０１内に押し込まれてもよく、その場合、区画はハウジング２０１内の３つの対応するレセプタクルに適合する。いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０の開閉は、分析装置２００のコントローラ（例えば、コントローラ１０９）および／または処理装置１１６によって制御されてもよい。いくつかの実施形態では、処理装置１１６のユーザは、処理装置１１６にインストールされたソフトウェアを使用して、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０の開閉を制御することができる。いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０、サンプルカートリッジ引き出し２２０、および処理カートリッジ引き出し２３０は、分析装置２００にサン

プル容器、カートリッジ、および／または他の要素を装填および／または装填解除するために、ユーザが手動で引き出してハウジング２０２に押し込むことができる。

【００７３】

いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０は複数のサンプルを保持することができる。いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０は、サンプル容器２１２に保管されたサンプルを含め、一度に最大１０個のサンプルを保持することができる。いくつかの実施形態では、図４に示すサンプル容器２１２は、１つ以上の血液サンプルチューブ、尿サンプルチューブ、および／または血液培養ボトルを代表することができる。いくつかの実施形態では、サンプルカートリッジ用引出し２２０は、複数のサンプル調製カートリッジ、例えば一度に最大１０個のサンプル調製カートリッジを収容することができる。いくつかの実施形態では、処理カートリッジ用引出し２３０は、複数の処理カートリッジ、例えば一度に最大１２個のＰＣＲカートリッジ、６個のＡＳＴカートリッジ、またはそれらの組み合わせを収容することができる。

【００７４】

いくつかの実施形態では、サンプル引き出し２１０の寸法は、約４０ｍｍ（幅）×１５５ｍｍ（奥行き）×６００ｍｍ（高さ）であってもよい。いくつかの実施形態では、サンプルカートリッジ引き出し２２０の寸法は、約８５ｍｍ（幅）×１５０ｍｍ（奥行き）×６１５ｍｍ（高さ）であってもよい。いくつかの実施形態では、処理カートリッジ引き出し２３０の寸法は、約１４０ｍｍ（幅）×１５５ｍｍ（高さ）×２７０ｍｍ（奥行き）であってもよい。

【００７５】

分析装置におけるサンプル処理、濃縮、富化、およびクリーンアップの具体例：

一部の具体例では、分析装置２００内に配置された構成要素が、ＡＳＴアッセイを実行し、ＡＳＴカートリッジ２３２内のサンプルの画像を取得する前に、処理チューブ１１３内でサンプル処理、濃縮、富化、およびクリーンアップのステップを実行することがある。いくつかの実施形態では、分析装置２００の第１のピペッタ２０２は、サンプル容器１１１から処理チューブ１１３にサンプルを移送し、サンプル中の病原体を処理、分離、濃縮、および富化して迅速に検出するためのステップを実行する。

【００７６】

いくつかの実施形態では、サンプル処理は、血球溶解（ｂｌｏｏｄ　ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ）のステップを含んでもよい。サンプルが血液サンプルである実施形態では、第１のピペッタ２０２は、血液サンプルの血球溶解を行うように構成されていてもよい。第１のピペッタ２０２は、処理チューブ１１３に１つ以上の溶解試薬を添加してもよい。１つまたは複数の溶解試薬は、分析装置２００のハウジング２０１内に配置されたミキサ（例えば、富化サブシステム２４６など）を使用して処理チューブ１１７内の血液サンプルと混合され、血液サンプル内の血球を溶解させることができる。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の溶解試薬は、１つまたは複数のサポニンベースの緩衝液（ｓａｐｏｎｉｎ－ｂａｓｅｄ　ｂｕｆｆｅｒ）を含むことができる。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の溶解試薬は、１つまたは複数の洗剤、界面活性剤、またはプロテアーゼ（ｐｒｏｔｅａｓｅｓ）を含んでもよい。

【００７７】

血液サンプル中の血球の溶解後、第１のピペッタ２０２は、溶解したサンプルの濃縮および富化のために、処理チューブ１１７を遠心分離機２４０（または図１４Ａの１４０２）に移してもよい。サンプルの濃縮および富化は、遠心分離を含む、分析装置２００内の構成要素を使用する一連のステップを伴う場合がある。いくつかの実施形態では、分析装置２００内の第１のピペッタ２０２は、処理チューブ１１７を、第１の遠心分離機２４０または１４０２などの遠心分離機に移動させる場合がある。いくつかの実施形態では、遠心分離機２４０または１４０２は、処理チューブ１１７に遠心力を加え、例えばサンプル中の他の成分から病原体を分離することにより、サンプル中の病原体を濃縮する。

【００７８】

遠心分離後、第１のピペッタ２０２を使用して処理チューブ１１７から液体を除去し、濃縮された病原体を処理チューブ１１７内に残すことができる。いくつかの実施形態では、その後、第１のピペッタ２０２を使用して、処理チューブ１１７内の濃縮された病原体に増殖媒体を加え、処理チューブ１１７内の濃縮された病原体を所定の期間増殖させることができる。いくつかの実施形態では、所定の期間は、濃縮された病原体の増殖を可能にする期間、例えば約４時間以上である。いくつかの実施形態では、所定の期間は、ほとんどの病原体の富化には３～４時間であるが、他の病原体は増殖／富化にさらに長い期間を要する場合がある。いくつかの実施形態では、増殖媒体は、サンプル調製カートリッジ２２４の１つ以上のリザーバに貯蔵される。いくつかの実施形態では、増殖媒体は、ミューラーヒントンブロス、陽イオン調整ミューラーヒントンブロス、トリプシンソイブロス、リシゲンシーブロス、ブレインハートインフュージョン（ＢＨＩ）ブロスなどを含んでもよい。

【００７９】

濃縮および富化後、分析装置２００は、富化されたサンプル中の病原体を取得するために、サンプルの洗浄またはクリーンアップステップを実行してもよい。いくつかの実施形態では、濃縮された病原体を洗浄するために、第１のピペッタ２０２は、増殖のための所定の期間が経過した後（増殖媒体を添加した後）、処理チューブ１１７を遠心分離機２４０または１４０２に移動させ、処理チューブ１１７から上澄み（ｓｕｐｅｒｎａｔａｎｔ）を除去して富化サンプルを得る。

【００８０】

いくつかの実施形態では、分析装置２００は、磁性ビーズを使用するなど、免疫磁気分離（ＩＭＳ）技術によってサンプルのクリーンアップステップを実施してもよい。いくつかの実施形態では、処理チューブ１１７は、処理チューブ１１７内の濃縮された病原体に付着するように構成された複数の磁性ビーズを含んでもよい。いくつかの実施形態では、磁性ビーズは不特定のリガンド（ｌｉｇａｎｄｓ）で被覆されていてもよい。いくつかの実施形態では、磁性ビーズは、処理チューブ１１７内の濃縮された病原体の特定の病原体または病原体のグループに特化した特異的リガンドで被覆される。いくつかの実施形態では、病原体は、培養期間後に磁性ビーズの表面に固定化され、磁場を使用してペレットに集中させることができる。

【００８１】

いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、富化サブシステム２４６などの磁石ステーションに処理チューブ１１７を移動させ、処理チューブ１１７に磁力を加えて、磁性ビーズに付着した濃縮病原体を保持することができる。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、処理チューブ１１７内の磁性ビーズに付着した濃縮病原体を保持した後、処理チューブ１１７から余分な液体を除去してもよい。余分な液体の除去により、濃縮病原体を含む富化サンプルが得られる結果となり得る。

【００８２】

いくつかの実施形態では、濃縮された病原体は、洗浄ステップにおいて、破片または他の材料を除去するために再懸濁および洗浄される場合がある。特に、第１のピペッタ２０２は、処理チューブ１１７内の濃縮された病原体に１つ以上の洗浄材料を添加し、濃縮された病原体から血液成分または破片を洗浄および除去し、富化されたサンプルを処理チューブ１１７内に残す場合がある。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の洗浄材料は、１つまたは複数の緩衝液、洗剤、界面活性剤、およびプロテアーゼの組み合わせを含んでもよい。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の洗浄材料は、サンプル調製カートリッジ２２４に貯蔵されていてもよい。

【００８３】

いくつかの実施形態では、分析器２００は、サンプル中の病原体の数を特定するように構成されていてもよい。特に、分析器２００は、サンプル中の細胞を標識し、病原体の数を数えるために、１つ以上の蛍光色素および顕微鏡（例えば、ＡＳＴサブシステム２５０）を使用してもよい。いくつかの実施形態では、初期サンプル（例えば、濃縮および富化

前）における病原体の数は２００未満である場合がある。濃縮および富化ステップを実行することにより、富化サンプルにおける病原体の数は、約１，０００～約１００，０００の範囲まで増加する場合がある。いくつかの実施形態では、富化サンプルにおける病原体の数は約１０，０００である場合がある。サンプル中の病原体の数の特定に応答して、分析装置２００は、富化サンプル中の所定の数の病原体を取得するために、サンプルをさらに富化または希釈するように構成されていてもよい。

【００８４】

いくつかの実施形態では、濃縮の前または後に、サンプルをプロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅで処理してもよい。例えば、濃縮後、しかし富化前にサンプルにプロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅを添加してもよい。別の例では、溶解試薬と同時にサンプルにプロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅを添加してもよい。

【００８５】

いくつかの実施形態では、クリーンアッププロセス中にサンプルをプロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅで処理してもよい。例えば、免疫磁気捕捉プロセス中にプロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅを添加して、消化させ、サンプル中の破片の量を減少させてもよい。別の例では、プロテアーゼおよび／またはＤＮＡｓｅを免疫磁気捕捉プロセスの後に添加してもよく、これにより、プロテアーゼ／ＤＮＡｓｅ試薬が免疫磁気分離プロセスに干渉するのを回避できるという利点がある。これは、ビーズによる細菌の捕捉がプロテアーゼによって分解されうるタンパク質を基にしており、その効果が妨げられる可能性がある場合に特に重要である。

【００８６】

濃縮、富化、およびクリーンアップの後、処理チューブ１１７内の富化サンプルは、その後、富化サンプル内の濃縮病原体の感受性を決定するためのＡＳＴアッセイおよび画像取得を行うために、分析装置２００内のピペッティングシステムによってＡＳＴカートリッジ２３２に移送する準備が整う可能性がある。

【００８７】

サンプル調製カートリッジの実施形態：

図５は、本開示の実施形態によるサンプル調製カートリッジ５００の図を示す。サンプル調製カートリッジ５００は、図３Ｂに示すサンプル調製カートリッジ２２４の例示的な実施形態を表す。サンプル調製カートリッジ５００は、サンプル容器内のサンプルを調製および処理するために分析装置２００のサンプル引き出し２１０に挿入される消耗品であってもよい。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００は、ポリプロピレン（ＰＰ）材料から射出成形によって製造されてもよい。サンプル調製カートリッジ５００は、ハウジング５０２、複数のリザーバ５０４、蓋５０６、および識別子５０８を含んでいてもよい。

【００８８】

いくつかの実施形態では、ハウジング５０２は、丸みを帯びたエッジを有する細長い長方形の形状を有していてもよい。ハウジング５０２は、図６Ａに示されているように、サンプル調製に使用される追加の要素を保持するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、複数のリザーバ５０４は、別個のリザーバまたは一緒に成形されたチューブであってもよい。複数のリザーバ５０４は、サンプルの濃縮、溶解、および／または核酸増幅を行うために使用される材料を貯蔵するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、リザーバ５０４に貯蔵される材料は、１つ以上の緩衝液（例えば、食塩ベースの緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳなど）、界面活性剤、プロテアーゼ、増殖媒体など）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、リザーバ５０４は、血液サンプルの細胞溶解を行うための１つ以上のサポニンベースの緩衝液、界面活性剤、またはプロテアーゼなどの１つ以上の溶解試薬を貯蔵してもよい。いくつかの実施形態では、リザーバ５０４は、１つ以上の緩衝液、界面活性剤、およびプロテアーゼの組み合わせを含んでもよい１つ以上の洗浄材料を貯蔵してもよい。

【００８９】

いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００の蓋５０６は、ハウジング５０２および複数のリザーバ５０４を覆って延びる保護蓋である。いくつかの実施形態では、識別子５０８は、抗菌剤感受性試験のためのサンプル調製を行うために分析装置２００によってスキャンされ得るサンプル調製カートリッジ５００の識別子である。いくつかの実施形態では、識別子５０８は、識別コード、バーコード、またはＱＲコード（登録商標）などのデータマトリクスのうちの少なくとも１つであってもよい。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００の寸法は、図５に示されているように、約８０ｍｍ（幅）×５５ｍｍ（奥行き）×１５５ｍｍ（高さ）であってもよい。

【００９０】

図６Ａは、本開示の実施形態による、処理チューブ５１０およびそこに挿入される他の構成要素を備えたサンプル調製カートリッジ５００の分解斜視図を示す。サンプル調製カートリッジ５００は、処理チューブ５１０、第１の取り外し可能な針５１２、およびサンプル調製カートリッジ５００のハウジング５０２内の対応するレセプタクルに収納される２つの第２の取り外し可能な針５１４を含んでもよい。処理チューブ５１０は、図１に示す処理チューブ１１３の例示的な実施形態を表す。

【００９１】

いくつかの実施形態では、処理チューブ５１０は、例えば、円錐形の底を備えた１５ｍｌチューブを含んでもよい。いくつかの実施形態では、処理チューブ５１０は、分析装置２００内の他のモジュールで処理するために、サンプル調製カートリッジ５００から取り外し可能であってもよい。いくつかの実施形態では、処理チューブ５１０は、分析装置２００のサンプル引き出し２１０およびサンプルカートリッジ引き出し２２０に、サンプル容器およびサンプル調製カートリッジ５００がそれぞれ装填された後に、サンプルが移送されるチューブであってもよい。

【００９２】

いくつかの実施形態では、サンプルは、第１の取り外し可能な針５１２によって、サンプル引き出し２１０内のサンプル容器から、サンプルカートリッジ引き出し２２０内のサンプル調製カートリッジ５００の処理チューブ５１０に移送されてもよい。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、第１の取り外し可能な針５１２に取り付けられるようになっており、第１の取り外し可能な針５１２が処理チューブ５１０の隔膜を貫通して挿入されることにより、サンプルを処理チューブ５１０へ、および／または処理チューブ５１０から移送するように構成されている。いくつかの実施形態では、２つの第２の取り外し可能な針５１４は、少量の処理に使用され、第２のピペッタ２０４は、２つの第２の取り外し可能な針５１４に取り付けられるように構成されていてもよい。

【００９３】

図６Ａはまた、サンプル調製カートリッジ５００の複数のリザーバ５０４の開口部５２０を示している。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００には１２個のリザーバ５０４があり、各リザーバ５０４は約２．５ｍＬの容積を保持する。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００は、ハウジング５０２のレセプタクルを覆う穿通可能なフィルム５１６、および／または複数のリザーバ５０４の開口５２０を覆う箔シール（ｆｏｉｌ　ｓｅａｌ）５１８を含んでもよい。いくつかの実施形態では、穿孔可能なフィルム５１６はポリエステルフィルムでもよく、箔シール５１８はアルミニウム箔を含んでもよく、穿孔可能なフィルム５１６および箔シール５１８の両方が、第１および／または第２の取り外し可能な針５１２、５１４によって穿孔可能である。

【００９４】

図６Ｂは、本開示の実施形態による、処理チューブ５１０およびそこに挿入される他の構成要素を備えたサンプル調製カートリッジ５００’の分解斜視図を示す。サンプル調製カートリッジ５００’はサンプル調製カートリッジ５００に類似しているが、より直線的な形状と、蓋５０６の代わりに剥離可能なフィルム５０６’を備えている。

【００９５】

処理チューブおよび針の実施形態：

図７Ａおよび７Ｂは、本開示の実施形態による処理チューブ７００の図を示す。処理チューブ７００は、図６Ａに示す処理チューブ５１０の例示的な実施形態を表す。特に、図７Ａは組み立て後の処理チューブ７００を示し、一方、図７Ｂは処理チューブ７００内の構成要素の分解図を示す。処理チューブ７００は、キャップ７０２、隔膜７０４、およびチューブ７０６を含む。

【００９６】

いくつかの実施形態では、隔膜７０４は、処理チューブ７００の隔膜７０４上にキャップ７０２が取り付けられた状態で、チューブ７０６の内部に固定される場合がある。いくつかの実施形態では、隔膜７０４は、キャップ７０２をチューブ７０６から取り外す必要なく、処理チューブ７００への液体の移送のための針（例えば、針５１２および５１４）の挿入および取り外しができるように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、隔膜７０４は処理チューブ７００内に気密封止を提供し、処理チューブ７００の内容物の汚染を防止する。

【００９７】

いくつかの実施形態では、処理チューブ７００は、ピペッタ（例えば、第１および／または第２のピペッタ２０２、２０４）によるハンドリングに適合する処理チューブ７００の上端におけるハンドリング構造を備えていてもよい。いくつかの実施形態では、処理チューブ７００のハンドリング構造は、ピペッタの先端による挿入に適合するキャップ７０２内の円筒形キャビティであってもよい。いくつかの実施形態では、第１および第２のピペッタ２０２、２０４のピペットチップがキャップ７０２の円筒形キャビティに押し当てられて嵌合し、処理チューブを分析装置２００内でピックアップして移動させることができる。

【００９８】

いくつかの実施形態では、キャップ７０２は高密度ポリエチレン（ＨＤＰＥ）材料から作られ、チューブ７０６はポリプロピレン（ＰＰ）材料から作られてもよい。いくつかの実施形態では、隔膜７０４は、ゴム、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）、熱可塑性エラストマー（ＴＰＥ）、シリコーン（ｓｉｌｉｃｏｎｅ）、ブチルゴム、またはこれらの組み合わせのうちの少なくとも１つを含んでもよい。いくつかの実施形態では、隔膜７０４は、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）の二重層と、シリコーン、ゴム、およびブチルゴムからなるグループから選択される別の材料とを含んでもよい。いくつかの実施形態では、組み立て後の処理チューブ７００の寸法は、例えば、約１１０ｍｍの高さおよび約２０ｍｍの直径から構成される場合がある。いくつかの実施形態では、隔膜７０４は、約１ｍｍから２ｍｍの範囲の厚さを有していてもよい。

【００９９】

いくつかの実施形態では、処理チューブ７００は、処理チューブ７００内の濃縮された病原体に付着するように構成された複数の磁性ビーズを含んでもよい。いくつかの実施形態では、複数の磁性ビーズは非特異的リガンドで被覆されていてもよい。いくつかの実施形態では、複数の磁性ビーズは、処理チューブ７００内の濃縮された病原体に特異的な特定のリガンドで被覆されていてもよい。追加のまたは代替の実施形態では、複数の磁性ビーズは、サンプル調製カートリッジ５００の１つまたは複数のリザーバ５０４に貯蔵されていてもよい。

【０１００】

いくつかの実施形態では、処理チューブ７００は、図８Ａ、８Ｂ、および８Ｃに示されているように、針を受け入れるように構成されていてもよい。図８Ａ、８Ｂ、および８Ｃは、本開示のいくつかの実施形態による処理チューブ７００への挿入用に構成された針８００の図を示す。

【０１０１】

特に、図８Ａは、プラスチック製本体８１０、カニューレ８２０、および複数のスロット８２５を備える針８００を示す。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体８１０は、接着（ｂｏｎｄｉｎｇ）によってカニューレ８２０に取り付けられる場合がある。い

くつかの実施形態では、分析装置内のピペッタ（例えば、第１のピペッタ２０２）は、針８００のプラスチック製本体８１０の近位端に取り付けられる場合がある。いくつかの実施形態では、針８００のプラスチック製本体８１０は、分析装置内のピペッタの汚染を防止するように構成されたエアロゾルフィルタを含む。いくつかの実施形態では、針８００は、針の挿入時に処理チューブ７００を換気するように構成された換気針であってもよい。いくつかの実施形態では、針８００の換気は、密閉された処理チューブ７００内の圧力を緩和することを促進する。いくつかの実施形態では、針８００のプラスチック製本体８１０は、針８００が隔膜７０４を通ってチューブ７０６内に挿入されたときに、処理チューブ７００の内部と外部との間に空気連通路を提供するよう構成された所定数のスロット８２５を含む。例えば、カニューレ８２０を保持する針８００の注入部分に４つのスロット８２５が設けられていてもよい。いくつかの実施形態では、スロット８２５は射出成形により生成されてもよい。

【０１０２】

図８Ｂは、処理チューブ７００への挿入中の針８００を示し、図８Ｃは、処理チューブ７００への完全挿入後の針８００を示す。いくつかの実施形態では、針８００のカニューレ８２０は、隔膜７０４を通ってキャップ７０２に挿入され、処理チューブ７００のチューブ７０６に挿入される場合がある。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体８１０の遠位端は、カニューレ８２０がチューブ７０６に完全に挿入された際に、処理チューブ７００のキャップ７０２に適合する可能性がある。

【０１０３】

図９Ａおよび９Ｂは、本開示の実施形態による、高容量針９００および低容量針９１０の図をそれぞれ示している。いくつかの実施形態では、高容量針９００および低容量針９１０は、分析装置２００内の第１のピペッタ２０２および第２のピペッタ２０４にそれぞれ結合されていてもよい。

【０１０４】

図９Ａに示されているように、高容量針９００は、プラスチック製本体９０２およびカニューレ９０４を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９０２は、分析装置における液体の移送中に約５０μＬから５ｍＬの容量を保持するように構成されたリザーバであってもよい。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９０２は、高容量針９００に結合されたピペッタの汚染を防止するために内部に配置されたフィルタ９０３を含んでもよい。

【０１０５】

いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９０２はポリプロピレン（ＰＰ）材料で製造されていてもよい。いくつかの実施形態では、針９００のプラスチック製本体９０２は、約１６ｍｍの直径および約５０ｍｍの長さを有していてもよい。いくつかの実施形態では、カニューレ９０４はステンレス鋼で製造されていてもよい。いくつかの実施形態では、カニューレ９０４は約１００ｍｍの長さを有していてもよい。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９０２およびカニューレ９０４を組み立てたときの全長は約１５０ｍｍであってもよい。いくつかの実施形態では、高容量針９００は、内径（ＩＤ）が約１．０５ｍｍ、外径（ＯＤ）が約１．６０ｍｍ、カニューレ直径（ＣＤ）が約２．５０ｍｍの１７ゲージ針であってもよい。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、カニューレ９０４は、針９００の内側コアの周りに配置された二次カニューレをさらに含んでもよい。いくつかの実施形態では、カニューレ９０４は、１つまたは複数の通気孔９０６を含む。いくつかの実施形態では、針９００のカニューレ９０４は、通気孔９０６と流体連通している場合がある。いくつかの実施形態では、カニューレ９０４は、針の周囲にスロットを備えるスロット付きカニューレである場合がある。

【０１０７】

図９Ｂに示されているように、低容量針９１０は、プラスチック製本体９１２と針シャ

フト９１４とを含んでもよい。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９１２は、分析装置における液体の移送中に約１～２００μＬの容量を保持するように構成されたリザーバであってもよい。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９１２は、低容量針９１０に結合されたピペッタの汚染を防止するために内部に配置されたフィルタ９１３を含んでもよい。いくつかの実施形態では、プラスチック製本体９１２はポリプロピレン（ＰＰ）材料で製造されていてもよい。いくつかの実施形態では、針９１０のプラスチック製本体９１２は、約７．２５ｍｍの直径および約４５ｍｍの長さを有していてもよい。いくつかの実施形態では、針シャフト９１４は、約１０ｍｍの長さを有していてもよい。いくつかの実施形態では、針シャフト９１４はステンレス鋼でできている場合がある。いくつかの実施形態では、低容量針９１０は、内径（ＩＤ）が約０．２０ｍｍ、外径（ＯＤ）が約０．３０ｍｍの２９ゲージ針である場合がある。

【０１０８】

図１０は、本開示の実施形態による高容量針９００の例の図を示す。特に、図１０は、ベント孔、スロットなどを備えた高容量針９００のカニューレの様々な例を示す。いくつかの実施形態では、図１０に示す第１の針は、針のカニューレに２つの連通したオリフィスまたは通気孔を有することによって排気することができる。いくつかの実施形態では、図１０に示す第２および第４の針は、各針の先端が処理チューブの隔膜（例えば隔膜７０４）に挿入されたときに排気することができる。

【０１０９】

図１１は、本開示の実施形態による、低容量針９１０がサンプル調製カートリッジ５００とインターフェースする様子を示す図である。特に、図１１は、サンプル調製カートリッジ５００の複数のリザーバ５０４のうちの１つに配置された低容量針９１０の例を示しており、例えば、リザーバ５０４から処理チューブ内のサンプルにサンプル濃縮および／または溶解に使用される材料を移送するために使用される。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００は、低容量針９１０などの１つの針を受け取るように構成されていてもよい。他の実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００は、高容量針９００および低容量針９１０の両方などの２つの針を受け取るように構成されていてもよい。

【０１１０】

ＡＳＴカートリッジの実施形態：

図１２Ａおよび１２Ｂは、本開示の実施形態によるＡＳＴカートリッジ１２００の図を示す。ＡＳＴカートリッジ１２００は、ＡＳＴカートリッジ２３２の例示的な実施形態を代表する。特に、図１２Ａは組み立て後のＡＳＴカートリッジ１２００を示し、一方、図１２ＢはＡＳＴカートリッジ１２００内の構成要素の分解図を示す。ＡＳＴカートリッジ１２００は、カバー１２０２、隔膜１２０８、およびベース１２１２を含む。いくつかの実施形態では、カバー１２０２が隔膜１２０８の上に配置され、隔膜がベース１２１２の上に配置される。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、ベース１２１２は複数の反応ウェル１２１４を含む。いくつかの実施形態では、ベース１２１２内の反応ウェル１２１４の数は、例えば１００個の反応ウェルなど、約５０個から２００個の範囲内にある場合がある。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４は、例えば３０μＬなど、約２０μＬから５０μＬの範囲内の容量を保持する場合がある。複数の反応ウェル１２１４の各反応ウェル１２１４は、病原体を含む富化サンプルのそれぞれのアリコートと反応するための所定の濃度の抗菌剤を含有していてもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４内に配置される抗菌剤は、液体の状態であってもよく、乾燥形態または凍結乾燥形態であってもよい。いくつかの実施形態では、反応ウェル１２１４内に配置される抗菌剤は、富化サンプルの複数のアリコートを反応ウェル１２１４に分注する前に、第１または第２のピペッタ２０２、２０４によってベース１２１２内で各反応ウェル１２１４に添加されてもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４内に配置される抗菌剤は、ＡＳＴカートリッジ１２

００の製造および／または組み立て中に各反応ウェル１２１４に添加されてもよい。
【０１１２】
いくつかの実施形態では、分析装置２００内の第１または第２のピペッタ２０２、２０４は、処理チューブ７００内のサンプル中の病原体の濃縮および富化後、ＡＳＴカートリッジ１２００内の反応ウェル１２１４に富化サンプルの複数のアリコートを分注してもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４は、病原体を含む富化サンプルのアリコートを、針（例えば、第１または第２のピペッタ２０２、２０４に連結した針９００または９１０）による非接触分注によって受け取るように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、針は各反応ウェル１２１４の底面に接触することなく各アリコートを分注するために、各反応ウェル１２１４の隔膜１２０８を貫通してもよい。いくつかの実施形態では、針９００または９１０によって分注される各アリコートの体積は、約０．５μＬ～約１０μＬの範囲内であってもよい。
【０１１３】
いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４は、円錐形状と底壁とを含む。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４の底壁は、約２ｍｍ未満の直径を有してよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４への複数のアリコートの非接触分注は、サンプル調製カートリッジ５００内の針９００または９１０が各反応ウェル１２１４の底壁に接触することなく、反応ウェル１２１４のそれぞれの隔膜を貫通させるジェット分注（ｊｅｔ　ｄｉｓｐｅｎｓｉｎｇ）の使用を含み得る。
【０１１４】
いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４の底壁は光学的に透明であり、光学的な照会（ｉｎｔｅｒｒｏｇａｔｉｏｎ）用に構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４の底壁は、分析装置２００内のＡＳＴサブシステム２５０などによって、光学的な照会用に構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４の底壁は、分析装置２００内のＡＳＴサブシステム２５０などによって、蛍光顕微鏡用に構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、複数の反応ウェル１２１４は、ＡＳＴサブシステム２５０内の温度制御ブロック内の対応するウェルに適合するように構成されてもよく、温度制御ブロックは、複数の反応ウェル１２１４の側面を加熱するように構成されてもよい。
【０１１５】
隔膜１２０８は、ベース１２１２の複数の反応ウェル１２１４の各反応ウェル１２１４を封止する。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、封止キャップマットと呼ばれることがある。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、ベース１２１２の複数の反応ウェル１２１４にわたって延びる一体型構造体で構成されることがある。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、組み立てられた複数の部品を含んでもよく、各部品はベース１２１２の各反応ウェル１２１４を覆う。隔膜１２０８は、第１または第２のピペッタ２０２、２０４に連結した針９００または９１０などの針を受け入れるように構成することができる。いくつかの実施形態では、針は挿入中に隔膜１２０８に孔を形成し、隔膜１２０８の材料の結果として、針が取り除かれると隔膜１２０８の孔は塞がれるようにしてもよい。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、ゴム、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）、熱可塑性エラストマー（ＴＰＥ）、シリコーン、ブチルゴム、またはこれらの組み合わせのうちの少なくとも１つを含んでもよい。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）と、シリコーン、ゴム、およびブチルゴムからなるグループから選択される別の材料との二重層で構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、約１～２ｍｍの範囲の厚さを有していてもよい。
【０１１６】
いくつかの実施形態では、カバー１２０２は、複数の開口部１２０６を含み、各開口部１２０６は、ベース１２１２内の複数の反応ウェル１２１４のそれぞれの反応ウェル１２１４と整列する。いくつかの実施形態では、カバー１２０２は識別子１２１０も含み得る。識別子１２１０は、抗菌剤感受性試験を行うために分析装置２００によってスキャンさ

れ得るＡＳＴカートリッジ１２００の識別子であり得る。いくつかの実施形態では、識別子１２１０は、識別コード、バーコード、またはデータマトリクスのうちの少なくとも１つであり得る。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、カバー１２０２が隔膜１２０８およびベース１２１２に被さり、組み立てられたＡＳＴカートリッジ１２００を形成する場合がある。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８はカバー１２０２にオーバーモールドされて組合せられた部品を形成し、組合せられた部品は、スナップフィット結合または機械式留め具のうち少なくとも１つによってベース１２１２上に組み立てられる。いくつかの実施形態では、カバー１２０２、隔膜１２０８、およびベース１２１２は、１つ以上の機械式留め具によって相互に噛み合うか、または締め付けられる場合がある。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、ベース１２１２、隔膜１２０８、およびカバー１２０２は、それぞれＡＳＴカートリッジ１２００の中心に開口部１２０４を含む。いくつかの実施形態では、開口部１２０４は、分析装置２００内でＡＳＴカートリッジ１２００を移動させるためのピペットチップ（例えば、第１および第２のピペッタ２０２、２０４）による挿入に適合する円形の穴であってもよい。いくつかの実施形態では、ベース１２１２、隔膜１２０８、およびカバー１２０２における開口部１２０４は、ＡＳＴカートリッジ１２００の組み立て時に互いに位置合わせされる場合がある。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、ベース１２１２はポリスチレン（ＰＳ）材料で製造されていてもよい。いくつかの実施形態では、カバー１２０２はポリプロピレン（ＰＰ）またはポリカーボネート（ＰＣ）材料で製造されていてもよい。いくつかの実施形態では、組み立てられたＡＳＴカートリッジ１２００の寸法は、約１３５ｍｍ（長さ）×３５ｍｍ（幅）×１０ｍｍ（高さ）である場合がある。

【０１２０】

図１３は、本開示の実施形態による、低容量針９１０がＡＳＴカートリッジ１２００に挿入される様子を示す図である。特に、図１３は、針９１０の針シャフト９１４が、ＡＳＴカートリッジ１２００の隔膜１２０８を貫通して反応ウェル１２１４に突き刺さっている様子を示す。いくつかの実施形態では、針シャフト９１４は、挿入中に隔膜１２０８に開口部を形成することがある。隔膜１２０８の開口部は、隔膜１２０８の材料の結果として、針シャフト９１４が取り除かれると閉じることがある。

【０１２１】

分析装置におけるモジュールおよびサブシステムの実施形態：

図１４Ａおよび１４Ｂは、本開示の実施形態による分析装置２００で使用される遠心分離機の例の図を示す。特に、図１４Ａは、処理チューブ１４０４内のサンプルを遠心分離するために使用され得る第１の遠心分離機１４０２を示しており、一方、図１４Ｂは、ＡＳＴカートリッジ１４１４内の富化サンプルを遠心分離するために使用され得る第２の遠心分離機１４１２を示している。第１および第２の遠心分離機１４０２、１４１２は、それぞれ、図３Ｂに示されている第１および第２の遠心分離機２４０、２４２の例示的な実施形態を表している。処理チューブ１４０４およびＡＳＴカートリッジ１４１４は、それぞれ、図７Ａ～７Ｂおよび図１２Ａ～１２Ｂに示されている処理チューブ７００およびＡＳＴカートリッジ１２００の例示的な実施形態を表している。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、第１の遠心分離機１４０２は、処理チューブ１４０４に、約１２，０００Ｇの相対遠心加速度（ＲＣＦ）またはｇフォース（ｇ　ｆｏｒｃｅ）を適用するように構成された高速遠心分離機であってもよい。いくつかの実施形態では、第２の遠心分離機１４１２は、ＡＳＴカートリッジ１４１４に、約３，０００Ｇの相対遠心加速度（ＲＣＦ）またはｇフォースを適用するように構成された低速遠心分離機であってもよい。

【０１２３】
いくつかの実施形態では、第１の遠心分離機１４０２は、処理チューブ１４０４を第１の向きで保持してもよく、処理チューブ１４０４に４５度のスイングバケット遠心分離を適用する。いくつかの実施形態では、第２の遠心分離機１４１２は、ＡＳＴカートリッジ１４１４を別の向きで保持し、ＡＳＴカートリッジ１４１４が第２の遠心分離機１４１２内で垂直位置に移動するように、９０度のスイングバケット遠心分離を適用してもよい。
【０１２４】
いくつかの実施形態では、第１の遠心分離機１４０２および第２の遠心分離機１４１２は、複数の処理チューブ１４０４およびＡＳＴカートリッジ１４１４をそれぞれ同時に遠心分離してもよい。例えば、第１の遠心分離機１４０２は、２つの処理チューブ１４０４を同時に保持して一緒に遠心分離するように構成されていてもよい。別の例では、第２の遠心分離機１４１２は、２つのＡＳＴカートリッジ１４１４を同時に保持して一緒に遠心分離するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、病原体を含む富化されたサンプルを得るための濃縮および富化ステップ中に、処理チューブ１４０４を第１の遠心分離機１４０２内に移動させてもよい。
【０１２５】
図１５Ａ、１５Ｂ、１５Ｃ、および１５Ｄは、本開示の実施形態による分析装置２００で使用される富化サブシステム１５００の一例の図を示す。富化サブシステム１５００は、図３Ｂに示す富化サブシステム２４６の一例の実施形態を表す。いくつかの実施形態では、富化サブシステム１５００は、他の材料とのサンプルの振動および混合を可能にするために、処理チューブ７００にスイング運動を適用してもよい。いくつかの実施形態では、処理チューブ７００を富化サブシステム１５００内にピペッティングシステム（例えば、第１または第２のピペッタ２０２、２０４）によって配置し、処理チューブ７００内の病原体を増殖媒体と混合して、病原体を増殖させ、サンプルを富化させることができる。いくつかの実施形態では、処理チューブ７００を、ピペッティングシステム（例えば、第１または第２のピペッタ２０２、２０４）によって富化サブシステム１５００に配置し、処理チューブ７００内の血液サンプルに１つまたは複数の溶解試薬を混合して、血液サンプル中の血球を溶解してもよい。いくつかの実施形態では、富化サブシステム１５００の混合機能は、分析装置２００における病原体の識別および／または抗菌剤感受性試験の両方に対するサンプル処理に使用されてもよい。
【０１２６】
いくつかの実施形態では、富化サブシステム１５００は、処理チューブ７００を±３０°の角度で前後に揺動させることにより、１つ以上の処理チューブ７００を水平位置で回転させるミキサであってもよい。いくつかの実施形態では、４つの処理チューブ７００が一度に富化サブシステム１５００に装填される場合がある。いくつかの実施形態では、富化サブシステム１５００は、上位置と下位置との間を往復運動する磁石１５０１を含む場合がある。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の処理チューブ７００は、１つまたは複数の処理チューブ７００内の濃縮された病原体に付着するように構成された磁性ビーズを含んでもよい。いくつかの実施形態では、磁石１５０１は、１つまたは複数の処理チューブ７００内の磁性ビーズに付着した濃縮された病原体を保持するために使用されてもよい。
【０１２７】
いくつかの実施形態では、富化サブシステム１５００は、処理チューブ７００および／またはＡＳＴカートリッジ１２００内の磁性ビーズに付着した濃縮病原体を保持するために使用される追加または代替の独立した磁石ステーションを含んでもよい。いくつかの実施形態では、富化サブシステム１５００内の磁石ステーションは、富化されたサンプル（例えば、ＡＳＴカートリッジ１２００の反応ウェル１２１４内の）の各アリコート内の病原体を、ＡＳＴカートリッジ１２００の画像を取得するために各反応ウェル１２１４の底壁まで移動させるために使用されてもよい。いくつかの実施形態では、各アリコート内の病原体を、反応ウェル１２１４の底壁への病原体の移動を可能にする磁性ビーズに付着さ

せることができる。

【０１２８】

図１６Ａ、１６Ｂ、および１６Ｃは、本開示の実施形態による分析装置２００で使用される機械装置１６００の一例の図を示す。機械装置１５００は、図３Ｂに示す機械装置２４８の一例の実施形態を表す。いくつかの実施形態では、機械装置１６００は、２つの処理チューブ７００を垂直位置に保持し、処理チューブ７００に高速振動運動を提供することができ、例えば、サンプル中の微生物の溶解を行うことができる。いくつかの実施形態では、機械装置１６００は撹拌機であってもよい。追加のまたは代替の実施形態では、機械装置１６００は、処理チューブ７００を超音波処理してサンプルを撹拌するように構成された超音波発生器を含んでもよい。

【０１２９】

図１７Ａおよび１７Ｂは、本開示の実施形態による、分析器内のＡＳＴサブシステム１７００とインターフェースするＡＳＴカートリッジ１２００の図を示す。ＡＳＴサブシステム１７００は、図３Ｂに示すＡＳＴサブシステム２５０の例示的な実施形態を表す。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム１７００は、ＡＳＴカートリッジ１２００内の富化サンプルの光学的な照合を行うように構成された画像化サブシステムであってもよい。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム１７００は、顕微鏡１７０２、スキャンステージ１７０６、およびサーマルブロック１７０８を含んでいてもよい。

【０１３０】

いくつかの実施形態では、ＡＳＴカートリッジ１２００は、分析装置２００内のピペッタ（例えば、第１または第２のピペッタ２０２、２０４）によってＡＳＴサブシステム１７００のサーマルブロック１７０８内に配置されてもよい。いくつかの実施形態では、ＡＳＴカートリッジ１２００が内部に配置されるとき、サーマルブロック１７０８がＡＳＴカートリッジ１２００の反応ウェル１２１４の全側面を取り囲むことがある。いくつかの実施形態では、サーマルブロック１７０８がＡＳＴカートリッジ１２００の３７℃の温度制御を行うことがある。いくつかの実施形態では、ＡＳＴサブシステム１７００のサーマルブロック１７０８内に配置されたときに、加熱用蓋１７１０がＡＳＴカートリッジ１２００の上に配置される場合がある。顕微鏡１７０２は、サーマルブロック１７０８を介してＡＳＴカートリッジ１２００内の各反応ウェル１２１４の底壁の光学読み取り値を取得するように構成される場合がある。

【０１３１】

いくつかの実施形態では、スキャンステージ１７０６は、ＡＳＴカートリッジ１２００上での顕微鏡１７０２の電動位置決めを可能にする電動ＸＹＺ並進ステージで構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、約３００秒未満で、ＡＳＴカートリッジ１２００内のすべての反応ウェル１２１４を１つまたは複数の波長（例えば、２つの波長）でスキャンするように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、光学読み出しに１０Ｘの対物レンズを使用してもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、異なる蛍光シグナル（例えば、緑色および赤色の蛍光）を検出するために２つの光学チャネルを使用してもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、例えば、励起（ｅｘｃｉｔａｔｉｏｎ）用の４９０ｎｍの波長および放出（ｅｍｉｓｓｉｏｎ）用の５２０ｎｍの波長（例えば、緑色蛍光の検出用）と、励起用の５４０ｎｍの波長および放出用の６２０ｎｍの波長（例えば、赤色蛍光の検出用）という２つの異なる波長を使用して、ＡＳＴカートリッジをスキャンしてもよい。

【０１３２】

いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００内の反応ウェル１２１４の蛍光顕微鏡検査を行うように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２を使用して１つ以上の画像を取得する前に、第１または第２のピペッタ２０２、２０４が、ＡＳＴカートリッジ１２００内の各反応ウェル１２１４に第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素を分注して、アリコート内の病原体を染色（ｓｔａｉｎ）することがある。いくつかの実施形態では、富化されたサンプルのアリコートを

ＡＳＴカートリッジ１２００の反応ウェル１２１４で培養した後、第１および／または第２の蛍光色素を反応ウェル１２１４に送達してもよい。いくつかの実施形態では、第１の蛍光色素は、反応ウェル１２１４のアリコート内の生細胞を標識するＤＮＡ結合色素を含んでいてもよく、一方、第２の蛍光色素は、無傷の細胞膜を横断できない蛍光インターカレータ（ｉｎｔｅｒｃａｌａｔｉｎｇ　ａｇｅｎｔ：層間物質）を含んでいてもよく、したがって、反応ウェル１２１４のアリコート内の、その膜が損傷した死細胞のみを標識する。例えば、第１の蛍光色素は、ＳＹＢＲ（登録商標）グリーンまたは緑色蛍光を発する別の蛍光色素（例えば、約５００～５６０ｎｍの放出波長で）であり得、第２の蛍光色素は、ヨウ化プロピジウム（ＰＩ）または赤色蛍光を発する別の蛍光剤（例えば、約５６０～７００ｎｍの放出波長で）であり得る。

【０１３３】

いくつかの実施形態では、第１または第２のピペッタ２０２、２０４は、第１または第２の針５１２または５１４（第１または第２のピペッタ２０２、２０４に連結している）が、第１または第２の蛍光色素および／または第１または第２の蛍光色素の反応ウェル間の交差汚染を回避するために、反応ウェル１２１４のそれぞれの隔膜１２０８を貫通し、第１または第２の針５１２または５１４が各反応ウェル１２１４の底壁に接触しないようにする非接触分注を実施するためにジェット分注法を使用してもよい。いくつかの実施形態では、第１の針５１２または第２の針５１４によって各反応ウェル１２１４に分注される第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素の量は、約０．５マイクロリットル～１０マイクロリットルの範囲内である場合がある。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００の各反応ウェル１２１４内の第１蛍光色素および／または第２蛍光色素を検出するために、１つ以上の蛍光画像を取得することによって、ＡＳＴカートリッジ１２００の画像取得のための蛍光顕微鏡検査を行うことができる。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００の蛍光画像を分析するために、１つの蛍光色素、２つの蛍光色素、またはその他を検出するように構成されていてもよい。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００から得られた１つ以上の画像の画像分析およびデータ処理を行うように構成されたプロセッサ（例えば、処理装置１１６）に連結してもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２に連結したプロセッサは、ＡＳＴカートリッジ１２００内の各反応ウェル１２１４内の蛍光病原体の数を計算することにより、ＡＳＴカートリッジ１２００から得られた１つまたは複数の画像を分析することができる。いくつかの実施形態では、プロセッサは、ＡＳＴカートリッジ１２００の反応ウェル１２１４における生細胞の数および死細胞の数を計算し、かつ、さまざまなルールを適用することに基づいて、サンプル中の病原体がさまざまな抗菌剤に対して耐性であるかどうかを決定することができる。例えば、プロセッサは、死細胞の数（例えば、１つ以上の画像における赤色蛍光により検出される）と、生細胞の数（例えば、１つ以上の画像における緑色蛍光により検出される）との比率が、所定の抗菌剤濃度（ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ　ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｉｏｎ）に対する所定の閾値未満であるかどうかを判定することにより、特定の病原体が耐性であるかどうかを識別することができる。

【０１３５】

別の例では、プロセッサは、反応ウェル１２１４内に抗菌剤がない状態で、富化サンプルのアリコートについて、死滅した細胞の数と生細胞の数の比が所定の閾値を上回るかどうかを判定することによって、特定の病原体が耐性であるかどうかを特定してもよい。別の例では、プロセッサは、抗生物質なしで培養したアリコートに対する生細胞の数に対する抗生物質とともに培養したアリコートに対する生細胞の数の比が所定の閾値を上回るか否かを判定することによって、特定の病原体が耐性であるか否かを特定してもよい。さらに別の例では、プロセッサは、抗生物質とともに培養したアリコートの生細胞数と、時間ゼロ（例えば、培養／反応前）におけるアリコートの生細胞数との比が所定の閾値を上回

るか否かを判定することによって、特定の病原体が耐性であるか否かを特定してもよい。さらに別の例では、プロセッサは、抗生物質とともに培養したアリコートの１つ以上の画像における生細胞の輝度（ｂｒｉｇｈｔｎｅｓｓ）の比率が、時間ゼロ（例えば、培養／反応前）におけるアリコートの１つ以上の画像における生細胞の輝度の比率に対して所定の閾値を超えているかどうかを判定することによって、特定の病原体が耐性であるかどうかを特定してもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、高度耐性病原体を特定し、特定の病原体が特定の抗菌剤に対して耐性であるか否かを判定するために、これらの例示的なルールのうちの１つまたは複数、または任意の組み合わせを適用してもよい。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２およびプロセッサは、ＡＳＴカートリッジ１２００内の複数の反応ウェル１２１４で各反応（例えば、富化サンプルのアリコートと抗菌剤との間）の複数の複製が行われる反応ウェル１２１４の画像を取得し、処理してもよい。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、プロセッサは、ＡＳＴカートリッジ１２００の１つ以上の画像を分析することに基づいて、特定の病原体の増殖を阻害する抗生物質または抗菌剤の最小阻害濃度（ＭＩＣ）を決定することができる。いくつかの実施形態では、異なる抗生物質濃度で病原体を培養するために、異なるアリコートを使用することができる。いくつかの実施形態では、プロセッサは、反応が病原体の初期数に関して有意な増殖を示さない抗生物質の最小濃度としてＭＩＣを決定してもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、中間抗菌剤濃度の結果を外挿（ｅｘｔｒａｐｏｌａｔｅ）することによりＭＩＣを決定してもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、データベース（例えば、データベース１１０）に格納されたルックアップテーブルまたは論理規則のセットに基づいて、病原体が耐性あり、中間、または感受性ありであるかを決定するために、ＭＩＣに対して得られた値を使用してもよい。

【０１３７】

操作方法例：

図１８は、本開示の実施形態による、サンプルのＡＳＴを実施するための方法１８００のフローチャート図を示す。いくつかの実施形態では、方法１８００は、既に図１～図１７を参照して説明したように、分析器１０８、２００、サンプル調製カートリッジ１１４、２２４、５００、処理チューブ１１３、５１０、７００、ＡＳＴカートリッジ１１５、２３２、１２００、コントローラ１０９、および処理装置１１６を含む、ＡＳＴシステム内の様々な構成要素を使用してＡＳＴを実施するためのステップを説明する。方法１８００に示される動作は網羅的なものではなく、図示された動作の前、後、または間に、他の動作も実行できることを理解すべきである。本開示の様々な実施形態では、方法１８００の動作は異なる順序で実行でき、かつ／または異なる場合がある。

【０１３８】

図１８の方法１８００はステップ１８０２から始まり、このステップでは、サンプル調製カートリッジおよびサンプル容器が分析装置で受け取られる。いくつかの実施形態では、分析装置２００は、分析装置２００のユーザまたはオペレータによって、分析装置２００のサンプルカートリッジ引き出し２２０およびサンプル引き出し２１０にそれぞれ配置されるサンプル調製カートリッジ２２４およびサンプル容器を受け取ってもよい。いくつかの実施形態では、サンプル容器は、患者から採取されたサンプルを含み、そのサンプルは病原体を含む。いくつかの実施形態では、サンプル容器内のサンプルは、全血、尿、無菌体液、または患者から採取された他のサンプルを含んでもよい。

【０１３９】

ステップ１８０４では、サンプル調製カートリッジからの第１の針が分析装置のピペッタシステムに設置される。いくつかの実施形態では、サンプル調製カートリッジ５００からの針５１２または５１４が、第１または第２のピペッタ２０２、２０４のピペットチップがサンプル調製カートリッジ５００の上方に移動し、針のプラスチック製本体部分（例えば、プラスチック製本体９０２または９１２）に押し当ててはめ込むことによって、第１または第２のピペッタ２０２、２０４に設置される。

【０１４０】
ステップ１８０６では、ピペッタシステムを使用して、第１の針がサンプル容器に挿入される。いくつかの実施形態では、針５１２または５１４の取り付け後、針５１２または５１４を押し下げてサンプル容器に挿入する前に、第１または第２のピペッタ２０２、２０４がサンプル引き出し２１０内のサンプル容器の上方に移動してもよい。
【０１４１】
ステップ１８０８では、サンプル容器からのサンプルが、第１の針を通ってサンプル調製カートリッジ内の処理チューブに移送される。いくつかの実施形態では、針５１２または５１４が、第１または第２のピペッタ２０２、２０４のプラスチック製本体リザーバにサンプルを引き上げ、第１または第２のピペッタ２０２、２０４が、サンプル調製カートリッジ５００に移動して、サンプル調製カートリッジ５００内の処理チューブ５１０にサンプルを移送してもよい。
【０１４２】
第１または第２のピペッタ２０２、２０４のプラスチック製本体リザーバから処理チューブ５１０にサンプルを移送するために、針５１２または５１４（第１または第２のピペッタ２０２、２０４に連結している）は、処理チューブの隔膜（例えば、処理チューブ７００の隔膜７０４）を突き通す可能性がある。その後、第１または第２のピペッタ２０２、２０４は、針５１２または５１４を通して処理チューブにサンプルを分注する可能性がある。
【０１４３】
ステップ１８１０では、分析装置を使用して、処理チューブ内でサンプルの病原体を濃縮および富化し、処理チューブ内で富化サンプルを得る。いくつかの実施形態では、ステップ１８１０におけるサンプルの濃縮および富化は、遠心分離、流体の除去、増殖媒体の添加、富化サンプルにおける病原体の計数を含む一連のステップを実行するために、分析装置２００内の構成要素を使用してもよい。
【０１４４】
ステップ１８１２では、富化されたサンプルの複数のアリコートが、分析装置内のＡＳＴカートリッジ内の複数の反応ウェルに分注される。いくつかの実施形態では、分析装置２００内の第１または第２のピペッタ２０２、２０４が、富化サンプルの複数のアリコートをＡＳＴカートリッジ１２００内の反応ウェル１２１４に分注してもよい。いくつかの実施形態では、各アリコートはＡＳＴカートリッジ１２００内のそれぞれの反応ウェル１２１４に対応し、各反応ウェル１２１４は、病原体を含む富化サンプルのそれぞれのアリコートと反応するための所定の濃度の抗菌剤を含むことができる。
【０１４５】
ステップ１８１４では、ＡＳＴカートリッジの反応ウェル内のアリコートを所定の時間培養し、各反応ウェル内のアリコート中の病原体と抗菌剤との間で反応を起こさせる。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００をＡＳＴサブシステム２５０または１７００に移動させ、反応ウェル１２１４を温度制御された培養のためにサーマルブロックまたはヒータ内に配置してもよい。いくつかの実施形態では、反応ウェル１２１４内のアリコートを培養するための所定の期間は約２時間またはそれ以下である。
【０１４６】
いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４におけるアリコートを培養した後、第１のピペッタ２０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００を分析装置２００内の遠心分離機（例えば、 遠心分離機２４２または１４１２）に移動させ、ＡＳＴカートリッジ１２００の画像を取得するために、各アリコート内の病原体を各反応ウェル１２１４の底壁に移動させる。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４におけるアリコートを培養した後、第１のピペッタ２０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００を富化サブシステム１５０に移動させてもよく、ここで、磁石（磁石ステーションなど）を使用して、各アリコート内の病原体を各反応ウェル１２１４の底壁に移動させ、ＡＳＴカートリッジ１２００の画像

を取得することができる。いくつかの実施形態では、各アリコート内の病原体を磁性ビーズに付着させることができる。

【０１４７】

ステップ１８１６では、分析装置内の顕微鏡を使用して、ＡＳＴカートリッジ内の各反応ウェルの画像を取得する。いくつかの実施形態では、第１のピペッタ２０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００をＡＳＴサブシステム１７００に移動させ、ＡＳＴカートリッジ１２００は、スキャンステージ１７０６を使用して顕微鏡１７０２により画像化される。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４は、内側表面および外側表面を有する底壁を含み、各反応ウェル１２１４におけるアリコート内の病原体と抗菌剤との間の反応は、ＡＳＴカートリッジ１２００内の各反応ウェル１２１４の底壁の内側表面の上方で起こる。いくつかの実施形態では、ＡＳＴカートリッジ１２００の各反応ウェル１２１４の底壁の外側表面で、顕微鏡１７０２によりＡＳＴカートリッジ１２００の画像が取得される。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００の外側表面の下から撮影した１つ以上の画像を取得するように構成される。いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２は、ＡＳＴカートリッジ１２００の各反応ウェル１２１４内の第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素を検出するために、１つ以上の蛍光画像を取得するように構成されてもよい。

【０１４８】

ステップ１８１８では、画像を分析することにより、各反応ウェルにおける病原体の抗菌剤に対する感受性が決定される。いくつかの実施形態では、分析装置２００内の顕微鏡１７０２に結合されたプロセッサ（例えば、処理装置１１６）が、顕微鏡１７０２から取得された１つ以上の画像を分析することによって、各反応ウェル１２１４における病原体の抗菌剤に対する感受性を決定するために使用されてもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、ＡＳＴカートリッジ１２００内の各反応ウェル１２１２内の蛍光病原体の数を計算することによって、１つまたは複数の画像を分析してもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、第１の蛍光色素によるアリコート内の細胞の染色に基づいて、病原体のうちの１つまたは複数が各反応ウェル１２１４内の抗菌剤に対して感受性あり、中間、または耐性ありであるかを決定することによって、病原体の感受性を決定してもよい。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、プロセッサは、第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素によるアリコート内の細胞の染色に基づいて、各反応ウェル１２１４内の病原体のうちの１つ以上が、抗菌剤に対して感受性あり、中間、または耐性ありであるかを判定することによって、病原体の感受性を判定してもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、第１の蛍光色素および／または第２の蛍光色素によるアリコート内の細胞の染色に基づいて、死細胞の数と生細胞の数との比が、所定濃度の特定の抗菌剤に対する所定の閾値を下回っていると判定することによって、特定の病原体が反応ウェル１２１４内の特定の抗菌剤に対して耐性であると判定してもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、死細胞の数と生細胞の数の比が、約２０％または約１０％という予め定められた閾値を下回っていると決定してもよい。

【０１５０】

いくつかの実施形態では、顕微鏡１７０２に連結されたプロセッサは、反応ウェル１２１４における高用量（ｈｉｇｈ　ｄｏｓｅ）の抗菌剤の使用に起因する１つ以上の反応ウェル１２１４における加速された反応に基づいて、高度耐性病原体を検出するように構成されていてもよい。特に、複数の反応ウェル１２１４のうちの第１の反応ウェル１２１４は、抗菌剤の第１の濃度を含んでもよく、第１の濃度は、抗菌剤および病原体に対する臨床的ブレイクポイントよりも大幅に高い高用量である。いくつかの実施形態では、臨床的ブレイクポイントは、特定の病原体による感染がその抗菌剤または抗生物質に感受性があり、治療に成功する可能性があるかどうかを定義するために使用される抗菌剤または抗生物質の濃度または用量を表す場合がある。いくつかの実施形態では、臨床ブレイクポイン

トよりも高い抗菌剤濃度を使用することで、反応ウェル内のアリコートにおける抗菌剤と濃縮された病原体との間の反応を加速させることができる。いくつかの実施形態では、より高い抗菌剤濃度を使用することで、プロセッサは、第１反応ウェルの画像をコントロールと比較して、約１時間以内に高度耐性病原体を決定することにより、病原体の感受性を決定するように構成することができる。

【０１５１】

病原体の感受性を決定することに加えて、プロセッサは、ＡＳＴカートリッジ１２００の画像に基づいて、１つ以上の病原体における特定の病原体の増殖を抑制するための特定の抗菌剤の最小阻害濃度（ＭＩＣ）を決定するようにさらに構成されていてもよい。さらに、プロセッサは、プロセッサと通信可能に結合されたデータベース（例えば、データベース１１０）内のルールのセットを解析することによって、特定の抗菌剤に対する特定の病原体の感受性あり、中間、または耐性ありを決定するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、１つ以上のデータベース１１０は、病原体の分類データおよび／または以前の病原体識別ワークフロー（例えば、分析装置２００によって実行される）の結果を保存するように構成されていてもよい。いくつかの実施形態では、プロセッサは、１つまたは複数のデータベース１１０から病原体の分類データおよび／または結果を取得し、取得したデータを使用して、ＭＩＣから耐性／中間／感受性の判定を行うために適用すべき１つまたは複数のルールを決定することができる。

【０１５２】

図１９は、本開示の実施形態による、ＡＳＴカートリッジの製造または組み立てのための方法１９００のフローチャート図を示す。いくつかの実施形態では、方法１９００は、図３Ｂ－１７を参照して上述したＡＳＴカートリッジ２３２、１２００などのＡＳＴカートリッジの製造および／または組み立てについて説明することがある。方法１９００に示される動作は網羅的なものではなく、図示された動作の前、後、または間に、他の動作も実行できることを理解すべきである。本開示の様々な実施形態では、方法１９００の動作は異なる順序で実行できる、かつ／または変更される場合がある。

【０１５３】

図１９の方法１９００は、ステップ１９０２から始まり、このステップでは、複数の開口部を備えるカバーが製造される。いくつかの実施形態では、開口部１２０６を備えたＡＳＴカートリッジ１２００のカバー１２０２は、射出成形を用いて製造することができる。いくつかの実施形態では、カバー１２０２は、ポリプロピレン（ＰＰ）、ポリカーボネート（ＰＣ）、または別のプラスチック材料から製造することができる。

【０１５４】

ステップ１９０４では、カバーに隔膜がオーバーモールドされ、その隔膜の第１の側面がカバーの複数の開口部を横断するようにする。いくつかの実施形態では、カバー１２０２は、隔膜１２０８が直接上に成形されて単一の一体部品となる基板であってもよい。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）と、シリコーン、ゴム、およびブチルゴムからなるグループから選択される別の材料との二重層から作製されてもよい。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８は、ゴム、ポリテトラフルオロエチレン（ＰＴＦＥ）、熱可塑性エラストマー（ＴＰＥ）、シリコーン、ブチルゴム、またはこれらの組み合わせのうちの少なくとも１つから作製することができる。

【０１５５】

ステップ１９０６では、複数の反応ウェルを含むベースが製造されてもよい。いくつかの実施形態では、ベース１２１２は射出成形を用いて製造されてもよい。いくつかの実施形態では、ベース１２１２はポリスチレン（ＰＳ）から製造されてもよい。いくつかの実施形態では、ベース１２１２を製造することは、複数の反応ウェル１２１４を単一の構成要素として互いに接続して製造することを含む。いくつかの実施形態では、ベース１２１２内の複数の反応ウェル１２１４は、円錐形に製造されることがある。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４の底壁の直径は、約２ミリメートル未満であることがある。

【０１５６】
いくつかの実施形態では、ベース１２１２の製造中、ベース１２１２を隔膜１２０８に取り付ける前に、所定濃度の抗菌剤を液体の状態で各反応ウェル１２１４に添加してもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４内の抗菌剤を乾燥させ、強制空気を使用して抗菌剤の乾燥形態または凍結乾燥形態を得てもよい。いくつかの実施形態では、各反応ウェル１２１４における抗菌剤の添加および乾燥のステップは、抗菌剤の劣化を防ぐために所定の時間内に完了してもよい。いくつかの実施形態では、抗菌剤の添加および乾燥の所定の時間は、約１０分、１５分などである。
【０１５７】
ステップ１９０８において、ベースは、隔膜の第２の側面がベース内の複数の反応ウェルを横断して封止するように、隔膜の第２の側面に取り付けられてもよい。いくつかの実施形態では、隔膜１２０８の第１の側面はカバー１２０２にオーバーモールドされ、隔膜１２０８の第２の側面はベース１２１２に結合されて、ベース１２１２内の反応ウェル１２１４の上に密封機構を提供する。いくつかの実施形態では、ベース１２１２は、スナップフィット結合または機械式留め具のうちの少なくとも１つを使用して、隔膜１２０８の第２の側面に結合されてもよい。いくつかの実施形態では、ベース１２１２を隔膜１２０８の第２の側面に装着する際に、カバー１２０２の各開口１２０６をベース１２１２内の複数の反応ウェル１２１４のそれぞれの反応ウェル１２１４と位置合わせすることができる。
【０１５８】
使用例
いくつかの実施形態では、上述のＡＳＴシステムは、血液サンプルの抗生物質感受性試験における最小阻害濃度を決定するために使用することができる。いくつかの実施形態では、血液サンプルは溶解剤を含む反応チューブに添加される。いくつかの実施形態では、サンプルの量は使用される反応チューブのサイズに依存する可能性がある。例えば、反応チューブの容量が１５ｍＬの場合、チューブ内のサンプル容量は１５ｍＬ未満、例えば１０ｍＬとなる。いくつかの実施形態では、溶解作用を改善するために、プロテアーゼなどの追加の試薬を反応チューブに添加してもよい。例えば、１００μＬ～２ｍＬのプロテアーゼを添加してもよい。サンプルを溶解および濃縮するために、サンプルは低速回転で培養され、その後遠心分離される。富化ステップ用のマトリクスを調製するために、所望量のサンプルが残るまでサンプルの上澄み液を廃棄してもよい。いくつかの実施形態では、濃縮後に２００μＬ～２ｍＬの範囲の容量が維持される。いくつかの実施形態では、濃縮後に約５００μＬの容量が維持される。
【０１５９】
いくつかの実施形態では、任意選択で富化工程を行う。このような富化の前に、培地ブロスを添加し、ボルテックス撹拌してもよい。富化は、好ましい期間、回転撹拌しながら富化温度で実施してもよい。いくつかの実施形態では、濃縮サンプルの体積に対して添加した培地の体積により、富化の総体積を決定してもよい。いくつかの実施形態では、富化量は約５ｍＬ（例えば、５００μＬの濃縮サンプル＋４５００μＬの培地）である。当業者は、他の量および比率が本発明から逸脱することなく使用され得ることを認識するであろう。
【０１６０】
サンプル中の血液から対象の細菌を分離するために、いくつかの実施形態では免疫磁気分離が使用される場合がある。例えば、対象の細菌に関連するビオチン化（ｂｉｏｔｉｎｙｌａｔｅｄ）分子に結合した磁性ビーズが使用される場合がある。これらの被覆磁性ビーズは、反応チューブ中の濃縮サンプルに添加され、培養される場合がある。いくつかの実施形態では、サンプル中に存在する任意の細菌を捕捉するために非特異的磁性ビーズが使用される場合がある。
【０１６１】
いくつかの実施形態では、磁性ビーズによる細菌の捕捉後、一組の試薬が、血液サンプ

ルからの残骸を消化、低減および／または除去するために使用される場合がある。一例として、２μＬ～２００μＬの範囲内のプロテアーゼがこの目的のために使用される場合があり、および／または、あらゆる遊離ＤＮＡを消化するためのＤＮＡｓｅｓが使用される場合がある。

【０１６２】

培養後、磁性ビーズの収集は、反応チューブを磁石の上または磁石の近くに置くことによって行うことができる。ビーズが磁石に最も近い反応チューブの部分に集まったら、上澄み液をピペットで取り除いて廃棄する。サンプル細菌を含む残りのビーズは、洗浄プロセスに従って洗浄することができる。洗浄が完了したら、ビーズを培養媒体（ｃｕｌｔｕｒｅ　ｍｅｄｉａ）で再懸濁することができる。所望量のビーズサンプル（例えば５００μＬ）をチューブからサンプルプレート（例えばウェルプレート）に抽出し、必要に応じて希釈し、ボルテックス撹拌処理して、培養用の所望の容量および濃度のサンプルを得て、プレートの複数の反応ウェルに分注することができる。その後、サンプルプレートを遠心分離して、画像化のために細菌をウェルの底に集めることができる。いくつかの実施形態では、サンプルプレートは、３０００Ｇの回転数で１分間遠心分離される。

【０１６３】

その後、サンプルプレート上のサンプルを所望の時間培養する。例えば、サンプルを５時間培養する。その後、サンプルプレートを遠心分離して、細菌をウェルの底に集め、画像化を行う。培養後のサンプルをサンプルプレートの底から画像化し、サンプルの増殖（および抗菌感受性のみ）を測定する。

【０１６４】

実験例：

以下に説明するように、上述の抗生物質感受性試験システムおよび方法の様々な実施形態を試験するために、いくつかの実験を行った。

【０１６５】

例１：　採血管サンプルからのサンプルの最小阻害濃度の判定

本実施例では、本明細書で開示する実施形態に従って、採血管サンプルから抗生物質感受性試験を行う方法を説明する。

【０１６６】

まず、ストレプトアビジン被覆ビーズを洗浄し、固定化した。ビオチン化分子（この場合は抗体）を結合させたビーズは、リン酸緩衝生理食塩水（ｐｈｏｓｐｈａｔｅ　ｓａｌｉｎｅ　ｂｕｆｆｅｒ）（ｐＨ７．４に調整）中で室温で緩やかに回転させながら（２５ｒｐｍ）一晩培養した。使用した磁性ビーズの１ｍｇあたりの典型的な結合容量（１００μＬ）は、ビオチン化抗体約２０μｇである。被覆後、０．０１％　ＢＳＡ（ｗ／ｖ）を含むリン酸緩衝生理食塩水（ｐＨ　７．４に調整）で数回洗浄した。最後に、ビーズを適用に必要な濃度に再懸濁した。使用した抗体はビオチン化クレブシエラポリクローナル抗体（ＰＡ１－７３１７７、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）であり、使用した磁性ビーズはＤｙｎａｂｅａｄｓ　ＭｙＯｎｅ　Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　Ｔ１（６５６０１、Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）であった。

【０１６７】

供血者から採取した１０ｍＬのＥＤＴＡ血液チューブから得た単一の大きな血液プールから血液サンプルを調製し、対象接種量（ｉｎｏｃｕｌｕｍ）（約１００ＣＦＵ／１０ｍＬ）に応じて適切な量の細菌（クレブシエラ肺炎桿菌ＡＴＣＣ１３８８３）を添加（ｓｐｉｋｅ）した。プールに細菌を添加した後、１０ｍＬをあらかじめラベルを貼った１５ｍＬチューブに移し、溶解剤（Ｉｓｏｌａｔｏｒ　ＢＣ０５０７Ｃ、Ｏｘｏｉｄの７００μＬ）と混ざらないフッ化炭素油（Ｆｌｕｏｒｉｎｅｒｔ（商標）　ＦＣ－４０　Ｆ９７５５、２０μＬ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）を加えた。溶解と濃縮のため、サンプルは低速（１０ｒｐｍ）で回転させながら短時間（３０秒間）培養し、角度固定ロータで１２，０００ｇフォースの遠心力を５分間かけた。各サンプルの上澄み液は、富化ステップのマトリクスを調製するために使用する５００μＬまで廃棄した。この時点でサンプルの半

分は処理を中止し、これらの５００μＬを寒天プレートにプレーティングし、濃縮プロセスがどの程度進んでいるか、また、次の段階が何ＣＦＵから開始されるかを知るためのチェックポイントとした。

【０１６８】

実験を継続したサンプルについては、富化ステップの前に、４５００ｍＬの媒体（ミューラーヒントンブロス）を添加し、１分間ボルテックス撹拌を行った。この富化工程は、３７℃で、低速（１０ｒｐｍ）の回転撹拌を３０分間行った。この段階が完了すると、希釈のバンク（ｂａｎｋ）を作成し、寒天培地上に植え付けて、各サンプル中の細菌の集団、増殖時間、免疫磁気分離プロセスに利用可能な細菌の数を把握した。

【０１６９】

血液から細菌を免疫磁気分離するために、各サンプルチューブに１００μＬの抗体被覆ビーズを添加した。使用した培養条件は、３７℃で３０分間、緩やかな回転運動（２５ｒｐｍ）であった。培養後、細菌の数（ビーズに結合したもの、および結合していないもの）を把握するために、マトリクスの１００μＬを使用したバンク希釈液をＬＢ寒天プレートに塗布した。磁性ビーズの収集は、チューブを磁石の上に１５分間置くことで行った。この時間経過後、上澄みをピペッティングで取り除き廃棄し、サンプルを洗浄するために２段階の洗浄を行った。各洗浄ステップでは、５ｍＬの洗浄緩衝液（リン酸緩衝生理食塩水、ｐＨ７．４）を添加し、３７℃で１分間、回転運動（１０ｒｐｍ）で穏やかに混合し、チューブを磁石の上に短時間（１分間）置いてビーズを集め、上澄みをピペッティングして廃棄した。洗浄が完了すると、ビーズを５００μＬの培養媒体（Ｍｕｅｌｌｅｒ Ｈｉｎｔｏｎ ｃａｔｉｏｎ ａｄｊｕｓｔｅｄ ｂｒｏｔｈ）で再懸濁し、１０～２０秒間ボルテックス撹拌した。磁性ビーズに捕捉された細菌の量を測定するために、最終マトリクスの１００μＬを使用して希釈のバンクを作成し、３７℃で１６～１８時間培養したＬＢ寒天プレートに塗布した。これらのサンプルは、サンプルに存在する細菌を特定し、ＡＳＴテストに必要な量を算出するために、倒立型蛍光顕微鏡でも観察され、ＡＳＴテストは、このエンドツーエンドアッセイの次の最終ステップであった。各サンプルの５μＬを、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移し、蛍光色素（ＳＹＢＲ Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに室温で１０分間暗所にて培養した。３８４ウェルのプレートをスイングバケット式で３０００ｇ、１分間遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて、各ウェルの底面をカバーする合成画像を作成した。

【０１７０】

この測定値に基づいて、サンプルを希釈（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）し、細菌数を約４ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬとした。細菌サンプルは、最終容量１０μＬで３７℃で５時間、異なるシプロフロキサシン濃度で最終濃度２ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬとなるように培養した。シプロフロキサシンの濃度は、０．１２５、０．０６、０．０３、０．０１５、０．００８、および０．００４ｍｇ／Ｌで試験した。各抗生物質濃度について、３回の反復試験を実施した。

【０１７１】

サンプルは、培養時間０分後と培養時間５時間後（抗生物質あり、および無し）に撮影した。各サンプル５μＬを、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移し、蛍光色素（ＳＹＢＲ Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに室温で暗所にて１０分間培養した。３８４ウェルのプレートをスイングバケット式遠心分離機で３０００ｇフォース、１分間遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて合成画像を作成した。画像は、細菌のカウント、糸状菌（ｆｉｌａｍｅｎｔｏｕｓ ｂａｃｔｅｒｉａ）の検出、赤色細菌のカウント、細菌の輝度の記録を行うカスタムソフトウェアで分析した。これらの画像は図２１Ａに示されている。

【０１７２】

画像から得られたデータを使用して、シプロフロキサシン濃度が０．００８および０．００４ｍｇ／Ｌでは増殖が認められたが、０．０１５ｍｇ／Ｌ以上の濃度では増殖が認め

られなかったことを示すグラフを作成した（図２１Ｂ）。これらの結果と、細菌の計数およびデータ分析を併せて、この菌株に対するＭＩＣは０．０１５ｍｇ／Ｌであることが示され、ブロス微量液体希釈法（ｂｒｏｔｈ　ｍｉｃｒｏｄｉｌｕｔｉｏｎ　ｍｅｔｈｏｄ）によると、この菌株に対するＭＩＣは０．０３ｍｇ／Ｌであり、これは本質的な一致である。このグラフは図２１Ｂに示されている。

【０１７３】

例２：　血液培養ボトルからのサンプルの最小阻害濃度の判定

本実施例では、本明細書で開示する実施形態に従って、血液培養ボトルから開始する抗生物質感受性試験の実施方法を説明する。

【０１７４】

まず、ストレプトアビジン被覆ビーズを洗浄し、固定化した。洗浄緩衝液および固定化プロセスは、アプリケーションによって異なる場合がある。ビオチン化分子（この場合は抗体）に結合したビーズは、室温で緩やかに回転させながら（２５ｒｐｍ）、リン酸緩衝生理食塩水（ｐＨ７．４に調整）で一晩培養した。使用した磁性ビーズ（１００μＬ）１ｍｇあたりの典型的な結合容量は、ビオチン化抗体で約２０μｇである。被覆後、０．０１％　ＢＳＡ（ｗ／ｖ）を含むリン酸緩衝生理食塩水（ｐＨ７．４に調整）で数回の洗浄を行い、その後、ビーズを最終的に適用に必要な濃度に再懸濁した。使用した抗体はビオチン化クレブシエラポリクローナル抗体（ＰＡ１－７３１７７、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）であり、使用した磁性ビーズはＤｙｎａｂｅａｄｓ　ＭｙＯｎｅ　Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　Ｔ１（６５６０１、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）であった。

【０１７５】

血液サンプルは、事前に混合された単一の大きな血液プールから調製され、対象接種量に応じて適切な量の細菌（クレブシエラ肺炎桿菌ＡＴＣＣ１３８８３）が添加された（約１００ＣＦＵ）。プールに細菌を添加した後、１０ｍＬをあらかじめラベル付けした血液培養システム（４４２０２３、ＢＤ　ＢＡＣＴＥＣ（商標）　Ｐｌｕｓ　Ａｅｒｏｂｉｃ／Ｆ）に移し、撹拌装置で混合した（１５０ｒｐｍで５分間）。時間が経過した後、樹脂が沈殿するまで適度な時間（３０秒～１分）待った。その後、５ｍＬのサンプルを抽出した。

【０１７６】

免疫磁気分離は、血液培養ボトルから抽出したマトリクス５ｍＬと抗クレブシエラ肺炎桿菌（Ｋ．ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）抗体で被覆したビーズ１００μＬを含む１５ｍＬチューブを用いて行った。培養条件は、３７℃で３０分間、緩やかな回転運動（２５ｒｐｍ）で行った。培養後、各サンプルに含まれる細菌数（磁性ビーズに結合した細菌数と結合していない細菌数）を把握するために、マトリクス１００μＬを用いた希釈のバンクの作製と塗布が行われた。磁性ビーズの回収は、チューブを磁石の上に７．５分間置くことで実施された。この時間経過後、上澄みをピペッティングで除去し、廃棄し、サンプルを洗浄するために、３段階の洗浄が実施された。各洗浄ステップでは、５ｍＬの培地（Ｍｕｅｌｌｅｒ　Ｈｉｎｔｏｎ　ｃａｔｉｏｎ　ａｄｊｕｓｔｅｄ　ｂｒｏｔｈ）を添加し、１分間ボルテックス撹拌し、３７℃で２分間ゆっくりと回転（１０ｒｐｍ）させながら混合し、チューブを磁石の上に短時間（２分間）置いてビーズを集め、上澄みをピペッティングして廃棄した。洗浄後、ビーズを５００μＬの培養媒体（Ｍｕｅｌｌｅｒ　Ｈｉｎｔｏｎ陽イオン調整ブロス）で再懸濁し、１分間ボルテックス撹拌した。抗体被覆磁性ビーズに捕捉された細菌の量を測定するために、最終マトリクスの１００μＬを用いて希釈系列を作成し、３７℃で１６～１８時間培養したＬＢ寒天プレートに塗布した。また、サンプル内の細菌数を特定し、ＡＳＴ　テストに必要な調整値を算出するために、倒立型蛍光顕微鏡でサンプルを観察した。各サンプルの５μＬを、平底ポリスチレン膜底の　３８４ウェルのプレートに移し、蛍光色素（ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　およびヨウ化プロピジウム）とともに、暗所で室温にて１０分間培養した。３８４ウェルのプレートをスイングバケット式遠心分離機で３０００ｇ、１分間遠心し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルに

ついて、各ウェルの底面をカバーする合成画像を作成した。画像は、細菌数を決定するためにカスタムソフトウェアで分析した。

【０１７７】

この測定値に基づいて、サンプルを希釈（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）し、細菌数を約４ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬとした。細菌サンプルは、最終濃度２ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬで、異なるゲンタマイシン濃度で、最終容量１０μＬ、３７℃で５時間培養した。ゲンタマイシン（ｇｅｎｔａｍｉｃｉｎ）濃度は、２、１、０．５、０．２５、０．１２５、および０．０６ｍｇ／Ｌで試験した。各抗生物質濃度について、３回の反復試験を行った。

【０１７８】

サンプルは、培養時間０および培養時間５時間後（抗生物質ありおよび抗生物質なし）に分析した。各サンプル５μＬを、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移し、蛍光色素（ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに、室温で暗所にて１０分間培養した。３８４ウェルのプレートをスイングバケット式遠心分離機で３０００ｇフォース、１分間遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて合成画像を作成した。画像は、細菌のカウント、糸状菌の検出、赤色細菌のカウント、細菌の輝度の記録を行うカスタムソフトウェアで分析した。これらの画像は図２２Ａに示されている。

【０１７９】

画像から得られたデータを使用して、０．１２５および０．０６ｍｇ／Ｌのゲンタマイシンで増殖が認められたが、０．２５ｍｇ／Ｌ以上の濃度では増殖しなかったことを示すグラフが作成された（図２２Ｂ）。これらの結果と細菌の計数およびデータ分析を併せて、この菌株に対するＭＩＣは０．２５ｍｇ／Ｌであることが示され、ブロス微量液体希釈法によると、この菌株のＭＩＣは０．５～０．２５ｍｇ／Ｌである。このグラフは図２２Ｂに示されている。

【０１８０】

例３：　グラム陰性菌（ｇｒａｍ－ｎｅｇａｔｉｖｅ　ｂａｃｔｅｒｉａ）のゲンタマイシンに対する最小阻害濃度の判定

ゲンタマイシンに感受性であり、最小阻害濃度が０．２５～０．５ｍｇ／ｍＬであるグラム陰性菌の一株である肺炎桿菌（ＡＴＣＣ１３８８３）について、本明細書で開示する実施形態を用いて最小阻害濃度を決定した。細菌は、液体培地で培養し、培養媒体内で指数増殖期まで培養した。培養液を培養媒体（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で希釈し、最終容量１０μＬで、ゲンタマイシンの異なる濃度で、３７℃で５時間、最終濃度２ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬで培養した。試験したゲンタマイシン濃度は、４、２、１、０．５、０．２５、および０．１２５ｍｇ／Ｌであった。各抗生物質濃度について、３回の反復試験を行った。

【０１８１】

サンプルは、培養時間０および培養時間５時間後（抗生物質あり、なし）に分析した。サンプルは、蛍光色素（ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに、室温で１０分間、暗所にて培養した。色素培養後、１μＬのサンプルを４μＬの緩衝液（食塩　０．９％）で希釈し、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移した。３８４ウェルのプレートを、スイングバケット式で３０００ｇ、１分間遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて、各ウェルの底面をカバーする合成画像を作成した。画像は、細菌のカウント、糸状菌の検出、赤色細菌のカウント、細菌の輝度の記録を行うカスタムソフトウェアで分析した。これらの画像は図２３Ａに示されている。

【０１８２】

画像から得られたデータを使用して、０．１２５ｍｇ／Ｌのゲンタマイシンでは細菌が増殖するが、０．２５ｍｇ／Ｌ以上の濃度では増殖しないことを示すグラフを作成した（図２３Ｂ）。これらの結果と細菌の計数およびデータ分析を併せて、この菌株に対するＭ

ＩＣは０．２５ｍｇ／Ｌであることが示され、これはブロス微量液体希釈法で得られたＭＩＣと一致する。この結果は、異なる抗生物質濃度で５時間培養し、細菌の増殖と細菌の特性を利用すれば、これらのグラム陰性菌株に対するゲンタマイシンのＭＩＣを決定できることを示している。このグラフは図２３Ｂに示されている。

【０１８３】

例４：　メロペネム（ｍｅｒｏｐｅｎｅｍ）に対するグラム陰性菌の最小阻害濃度の判定

グラム陰性菌の一株である肺炎桿菌（ＩＨＭＡ１９７７０６４）について、メロペネムに対する最小阻害濃度を、本明細書で開示する実施形態を用いて、ブロス微量希釈法に従って決定した。細菌は、液体培養により培養媒体内で指数増殖期まで増殖させた。培養物を培養媒体（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で希釈し、最終容量１０μＬ中で、メロペネムの異なる濃度で３７℃で５時間、最終濃度２ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬで培養した。メロペネムの濃度は、ゲンタマイシンの３２、１６、８、４、２、および１ｍｇ／Ｌであった。各抗生物質濃度について、３回の反復試験を行った。

【０１８４】

サンプルは、培養時間０および培養時間５時間後（抗生物質ありおよび抗生物質なし）に分析した。各サンプル５μＬを、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移し、蛍光色素（ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに室温で暗所にて１０分間培養した。３８４ウェルのプレートをスイングバケット式遠心分離機で３０００ｇ、１分間遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて、各ウェルの底面を覆う合成画像を作成した。画像は、細菌のカウント、糸状菌の検出、赤色細菌のカウント、細菌の輝度の記録を行うカスタムソフトウェアで分析した。これらの画像は図２４Ａに示されている。

【０１８５】

画像から得られたデータを使用して、メロペネムの濃度が２および１ｍｇ／Ｌでは細菌の増殖が認められるが、４ｍｇ／Ｌ以上の濃度では増殖しないことを示すグラフが作成された（図２４Ｂ）。これらの結果と細菌の計数およびデータ分析を併せて、この菌株のＭＩＣは４ｍｇ／Ｌであり、ブロス微量液体希釈法によるとこの菌株のＭＩＣは８ｍｇ／Ｌであり、これは本質的な一致を達成している。このグラフは図２４Ｂに示されている。

【０１８６】

結果から、異なる抗生物質濃度で５時間培養し、細菌増殖と細菌特性を利用することで、これらのグラム陰性菌株のメロペネムに対するＭＩＣを決定できることが示された。

【０１８７】

例５：　グラム陽性菌に対するエリスロマイシン（ｅｒｙｔｈｒｏｍｙｃｉｎ）の最小阻害濃度の判定

本明細書に記載の実施形態に従って、エリスロマイシンに感受性（ＡＴＣＣ２９２１３）および耐性（ＡＴＣＣ４３３００）の２つの菌株のグラム陽性菌である黄色ブドウ球菌（ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）の最小阻害濃度を測定した。これらの菌株のＭＩＣは、ブロス微量希釈法により測定され、エリスロマイシンに感受性の黄色ブドウ球菌のＭＩＣは０．２５～０．５ｍｇ／Ｌ、耐性菌株のＭＩＣは５１２ｍｇ／Ｌ以上であった。細菌株は、液体培地で増殖期まで増殖させた。細菌培養液を培養媒体（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で希釈し、ゲンタマイシンの異なる濃度を最終容量１０μＬで含む培地で、最終濃度２ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬで５時間、３７℃で培養した。エリスロマイシンに感受性のある黄色ブドウ球菌株は、１、０．５、０．２５、０．１２５、０．０６、および０．０３ｍｇ／Ｌで試験し、耐性株は、４、２、１、０．５、０．２５、および０．１２５ｍｇ／Ｌのエリスロマイシンで試験した。各抗生物質濃度について、３回の反復試験を行った。

【０１８８】

サンプルは培養時間０および培養時間５時間後（抗生物質あり、なし）に分析した。サンプルは、蛍光色素（ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに、室温で１０分間、暗所にて培養した。色素培養後、１μＬのサンプルを４μＬの緩衝液（食塩

０．９％）で希釈し、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移した。３８４ウェルのプレートを３０００ｇで１分間、スイングバケット式で遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて、各ウェルの底面をカバーする合成画像を作成した。画像は、細菌のカウント、糸状菌の検出、赤色細菌のカウント、細菌の輝度の記録を行うカスタムソフトウェアで分析した。

【０１８９】

画像から得られたデータは、エリスロマイシンに感受性および耐性を示す黄色ブドウ球菌のグラフ作成に使用された（それぞれ図２５Ａ、および２５Ｂ）。エリスロマイシンに感受性を示す黄色ブドウ球菌は、０．１２５ｍｇ／Ｌのエリスロマイシンで増殖を示したが、０．２５ｍｇ／Ｌ以上の濃度では増殖しなかった（図２５Ａ）。これらの結果と細菌の計数およびデータ分析を併せて、この菌株のＭＩＣは０．２５ｍｇ／Ｌであることが示され、これは、ブロス微量希釈法で得られたＭＩＣと一致する。エリスロマイシン耐性黄色ブドウ球菌の菌株（図２５Ｂ）のデータ分析では、エリスロマイシン４ｍｇ／Ｌおよびそれ以下の濃度で増殖が認められ、この菌株のＭＩＣは４ｍｇ／Ｌ以上であることが示された。ブロス微量希釈法で得られたＭＩＣは≧５１２ｍｇ／Ｌであり、この結果から、両方の方法でこの菌株はエリスロマイシンに耐性であることが示された（ＥＵＣＡＳＴおよびＣＬＳＩのブレイクポイントでは、エリスロマイシンに対するＭＩＣが２以上の黄色ブドウ球菌の菌株は耐性であると示されている）。この結果から、異なる抗生物質濃度で５時間培養し、細菌の増殖と細菌の特性を利用することで、これらのグラム陽性菌株のエリスロマイシンに対するＭＩＣを決定できることが示された。

【０１９０】

例６：　アンピシリン（ａｍｐｉｃｉｌｌｉｎ）耐性菌の迅速な判定

特定の抗菌剤に対する高耐性菌を迅速に検出するために、高用量の抗菌剤の存在下で短期間（１時間）にわたって細菌を増殖させた。アンピシリンに対して感受性（ＡＴＣＣ２５９２２）および耐性（ＡＴＣＣ７００８９１）の２株の大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）を、培養媒体内で指数増殖期まで増殖させた。細菌培養液を培地（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で希釈し、アンピシリンの最終濃度を１２８ｍｇ／Ｌ、６４ｍｇ／Ｌ、３２ｍｇ／Ｌとして、最終容量１０μＬ中で、３７℃で１時間、最終濃度２ｘ１０^{4}ＣＦＵ／ｍＬで培養した。各抗生物質濃度について、３回の反復試験を行った。

【０１９１】

サンプルは、培養前の細菌と１時間培養後の細菌を表す時間０で可視化された。各サンプルの５μＬを、平底ポリスチレンフィルム底の３８４ウェルのプレートに移し、蛍光色素（ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎおよびヨウ化プロピジウム）とともに、室温で暗所にて１０分間培養した。３８４ウェルのプレートをスイングバケット式で３０００ｇ、１分間遠心分離し、倒立型蛍光顕微鏡で観察した。各サンプルについて、各ウェルの底面をカバーする合成画像を作成した。画像は、細菌のカウント、糸状菌の検出、赤色細菌のカウント、細菌の輝度の記録を行うカスタムソフトウェアで分析した。これらの画像は図２６Ａに示されている。

【０１９２】

アンピシリンの異なる濃度における両方の大腸菌株の画像を比較すると、微量液体希釈法によるＭＩＣが４ｍｇ／Ｌのアンピシリンに感受性のある大腸菌株は、試験したアンピシリンの濃度ではいずれも増殖せず（図２６Ｂ）、試験した３つの濃度では細菌は糸状の形態をしており、アンピシリン１２８ｍｇ／Ｌでは赤色の細菌も存在しており、細菌が死滅していることを示している。一方、微量液体希釈法でＭＩＣが１２８ｍｇ／Ｌ以上のアンピシリン耐性大腸菌株は、アンピシリンの３つの濃度すべてにおいて、１時間後に糸状菌や赤色細菌の存在なしに増殖を示した（図２６Ｂ）。

【０１９３】

この結果は、高用量の抗生物質濃度で１時間培養し、細菌の増殖と細菌の特性を利用すれば、アンピシリン耐性菌を検出できることを示している。

【０１９４】

例７：　特定のビーズを用いた血液サンプルのクリーンアップ

磁性ビーズによる細菌の捕捉の最適な持続時間を確立するために、異なる時間条件が評価された。まず、ストレプトアビジン被覆ビーズを、適用に基づく洗浄緩衝液で洗浄した。洗浄後、ビーズを固定化した。ビーズは、この場合のように抗体などのビオチン化分子に結合され、リン酸緩衝生理食塩水（ｐＨ７．４に調整）中で室温で緩やかに回転させながら（２５ｒｐｍ）一晩培養した。試験した磁性ビーズの１ｍｇ（１００μＬ）あたりの結合容量は、通常、ビオチン化抗体で約２０μｇであった。被覆が完了した後、０．０１％ＢＳＡ（ｗ／ｖ）を含むリン酸緩衝生理食塩水（ｐＨ７．４に調整）で数回洗浄し、最後にビーズをアプリケーションに必要な濃度に再懸濁した。使用した抗体はビオチン化クレブシエラポリクローナル抗体（ＰＡ１－７３１７７、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）であり、使用した磁性ビーズはＤｙｎａｂｅａｄｓ　ＭｙＯｎｅ　Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　Ｔ１（６５６０１、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）であった。

【０１９５】

異なる捕獲時間が血液サンプルで評価された。血液サンプルは、対象接種量に応じて適切な量の細菌（クレブシエラ肺炎桿菌ＡＴＣＣ１３８８３）を添加した、単一の大型の事前振とう血液プールから調製した。プールに菌体を添加した後、１０ｍＬをあらかじめラベル付けした血液培養システム（４４２０２３、ＢＤ　ＢＡＣＴＥＣ（商標）、Ｐｌｕｓ　Ａｅｒｏｂｉｃ／Ｆ）に移し、撹拌装置で混合した（１８０ｒｐｍで５分間）。時間が経過したら、樹脂が沈殿するまで適当な時間（３０秒～１分）待ってから、５ｍＬのサンプルを抽出した。各血液培養システムから抽出されたサンプルは１０ｍＬを超えないようにした。

【０１９６】

血液培養システムから得られた５ｍＬの血液を１５ｍＬチューブに移し、必要な量の抗体被覆ビーズ（１００μＬ）を加えた。３７℃で３０分間、緩やかな回転運動（２５ｒｐｍ）で培養した。培養後、マトリクス１００μＬを使用して希釈バンクを作成し、プレートに分注した。チューブをマグネット上に所定時間（１５～７．５分間）置き、ビーズを集め、上澄みをピペッティングして廃棄した。この時点で、５ｍＬの洗浄緩衝液を添加し、３つの対応する洗浄バッチを開始した。各洗浄ステップでは、１分間ボルテックス撹拌を行い、緩やかな回転運動（２５ｒｐｍ）で３７℃で２分間サンプルを培養し、チューブを磁石の上に短時間（５～２．５分）置いてビーズを回収し、上澄みをピペッティングして廃棄した。洗浄後、ビーズを５００μＬの培養媒体（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で再懸濁し、１分間ボルテックス撹拌した。次のステップでは、マトリクスの１００μＬを使用して希釈バンクを作成し、それをプレートに塗布した。並行して、これらのサンプルを顕微鏡下で観察し、２種類の測定値（プレートと顕微鏡）に一致性があるかを確認した。倒立型蛍光顕微鏡でサンプルを観察するため、各サンプルの５μＬを蛍光色素（ＳＹＢＲ－Ｇｒｅｅｎ　＋　ヨウ化プロピジウム）を含む３８４ウェルのプレートに移した。その後、このプレートを室温で１０分間培養し、可視化する前に遠心分離（３０００ｇフォース、１分間）を行った。表１は、結果がキャプチャ時間にほとんど依存していないことを示している。

【０１９７】

【表１】

			プレート		顕微鏡	
IMS磁石時間(分)	洗浄磁石時間(分)	初期(CFU)	計数(CFU)	回収値(%)	計数(CFU)	回収値(%)
15	5	173000	146000	84.39	208875	120.74
		154000	148625	96.51	167130	108.53
7.5	5	195750	175500	89.66	282935	144.54
		141500	98750	69.79	144970	102.45
15	2.5	270875	106000	39.13	149380	55.15
		139375	136750	98.12	223845	160.61
7.5	2.5	112875	160000	141.75	183060	162.18
		138750	165250	119.10	223600	161.15

【０１９８】

例８：　非特異的ビーズを用いた血液サンプルのクリーンアッププロセス

血液細胞溶解液由来の細胞破片からのサンプルクリーンアップを改善する一連の試薬が評価された。血液サンプルは、単一の大容量の事前振とう（ｐｒｅ－ｓｈａｋｅｎ）血液（１５０ｒｐｍで５分間）から調製された。振とう後、１０ｍＬをあらかじめラベル付けした血液培養システム（４４２０２３、ＢＤ　ＢＡＣＴＥＣ（商標）　Ｐｌｕｓ　Ａｅｒｏｂｉｃ／Ｆ）に移し、撹拌台（１８０ｒｐｍで５分間）で混合した。時間が経過したら、樹脂が沈殿するまで適当な時間（３０秒～１分）待ってから、１０ｍＬのサンプルを抽出した。各血液培養システムから抽出されたサンプルは１０ｍＬを超えないようにした。

【０１９９】

血液培養システムから抽出した１０ｍＬの血液サンプルを１５ｍＬチューブに移し、可変量の溶解剤（２，８ｇ／１００ｍＬのサポニンＳ４５２１、７００μＬ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）で溶解した。溶解および濃縮ステップで使用するチューブには、混和しないフルオロカーボンオイル（Ｆｌｕｏｒｉｎｅｒｔ（商標）、ＦＣ－４０　Ｆ９７５５、２０μＬ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）も加えた。溶解剤のほか、プロテアーゼなどの他の試薬も作用を高めるために加えた（プロテアーゼ　ｆｒｏｍ　Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｏｒｙｚａｅ　Ｐ６１１０、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、２５０μＬ）。溶解と濃縮ステップを行うには、低回転数（１０ｒｐｍ）で短時間（３０秒間）サンプルを回転させながら培養し、その後１２０００ｇフォースの遠心力を５分間かけて上澄みを５００μＬまで捨て、ＴＴＧＢ　２Ｘ緩衝液５００μＬを含むＩＭＳ用のマトリクスを調製する必要があった。初期マトリクスが得られたら、細胞残骸の除去を改善するために、ＤＮＡｓｅｓ（異なる濃度と時間）などの補完的な試薬を追加した。磁性ビーズを添加する前に、対象接種量に応じてサンプルに適切な量の細菌（大腸菌　ＡＴＣＣ２５９２２）を添加した。マトリクスを添加した後、短時間のボルテックス撹拌を行った。この時点で磁性ビーズを添加したが、添加前に穏やかに混合した。

【０２００】

使用した磁性ビーズは、ＡｐｏＨタンパク質の合成バージョンであるｐｅｐｓ６ペプチドに結合したもので、血液中に存在するヒトタンパク質であり、潜在的に感染性のある製品（ＭＰ１００３１、ＡｐｏＨ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）とみなされている。これらのビーズを使用した免疫磁気分離の条件は、３７℃で３０分間、緩やかな回転運動（２５ｒｐｍ）と２０度の傾斜であった。結合が起こると、１Ｘ　ＴＴＧＢ緩衝液４ｍＬを加え、サンプル１００μＬを用いて希釈バンクを行い、磁気保持前の細菌数を決定するために寒天プレートを使用した。正確な磁気分離に必要な時間は約１５分間と設定された。その後、上澄み液を除去し、４回の洗浄を行った。洗浄の各ステップでは、５ｍＬの洗浄緩衝

液（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）を添加し、１分間ボルテックス撹拌し、サンプルを３７℃で２分間、緩やかな回転運動（２５ｒｐｍ）で培養し、チューブを磁石の上に短時間（５分間）置いてビーズを回収し、上澄みをピペッティングして廃棄した。

【０２０１】

洗浄後、ビーズを５００μＬの培養媒体（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で再懸濁し、１分間ボルテックス撹拌し、各サンプルの２５０μＬを２本の１．５ｍＬチューブに移した。この時点で、試薬による２回目の処理を行い、サンプルをさらに洗浄し、以前のアッセイで検出された可能性のある凝集塊（ａｇｇｒｅｇａｔｅｓ）を分散させた。具体的には、１０μＬのプロテアーゼを添加し、３０秒間作用させた。細菌に対するプロテアーゼの作用を避けるため、固定角度ロータを使用して１０００ｇフォースで１分間遠心分離し、プロテアーゼを除去した。最後に、上澄み液を捨て、ビーズを５００μＬの（ミューラーヒントン陽イオン調整ブロス）で再懸濁し、１分間ボルテックス撹拌した。マトリクスの１００μＬを使用したバンク希釈と、すべてのサンプルの寒天プレートでの培養を行い、サンプルを顕微鏡下でも観察した。図２７は、プロテアーゼ有り、およびプロテアーゼ無しでのサンプルの画像を示す。

【０２０２】

各サンプル５μＬを、色素（ＳＹＢＲ－Ｇｒｅｅｎ　＋　ＰＩ）を入れた３８４ウェルのプレートに移し、室温で１０分間培養し、可視化前に遠心分離（３０００ｇフォース、１分間）を行った。

【０２０３】

以下の表２は、洗浄プロセスの終了時にかなりの数の細菌が回収されることを示しており、また、洗浄後にプロテアーゼを使用した場合の細菌数は多く、これはおそらく細菌凝集体の分散によるものと考えられる。

【０２０４】

【表２】

			プレート		顕微鏡	
サンプル	洗浄後プロテアーゼ	初期（CFU）	計数（CFU）	回収値（%）	計数（CFU）	回収値（%）
S1-NP	無	40500	109000	269.14	92300	227.90
S1-P	有	40500	86125	212.65	145800	360.00
S2-NP	無	37500	95750	255.33	59700	159.20
S2-P	有	37500	91625	244.33	128600	342.93
S3-NP	無	42000	107125	255.06	109000	259.52
S3-P	有	42000	110000	261.90	148200	352.86

【０２０５】

コンピュータシステムの例：

図２０は、コンピュータシステム２０００の例示的な構成要素のブロック図である。１つ以上のコンピュータシステム２０００は、例えば、本明細書で説明されている実施形態のいずれか、およびそれらの組み合わせや部分的な組み合わせを実施するために使用することができる。いくつかの実施形態では、１つ以上のコンピュータシステム２０００が、本明細書で説明されているような、ＡＳＴサブシステム１７００内の顕微鏡または処理装置１１６などの画像取得、画像分析、およびデータ処理を行うために使用される場合がある。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のコンピュータシステム２０００は、コントローラ１０９において、分析装置２００内の様々な構成要素の動作をプログラミングおよび操作するために使用される場合もある。コンピュータシステム２０００は、プロセッサ２００４などの１つまたは複数のプロセッサ（中央処理装置、またはＣＰＵとも呼ばれる）を含んでもよい。プロセッサ２００４は、通信インフラストラクチャまたはバス２０

０６に接続されていてもよい。
【０２０６】
コンピュータシステム２０００は、モニタ、キーボード、ポインティングデバイスなどのユーザ入出力インターフェース２００２も含み、ユーザ入出力デバイス２００３を介して通信インフラ２００６と通信できる。
【０２０７】
プロセッサ２００４の１つまたは複数をグラフィック処理ユニット（ＧＰＵ）とすることができる。一実施形態では、ＧＰＵは、数学的に集中的なアプリケーションを処理するように設計された特殊な電子回路であるプロセッサとすることができる。ＧＰＵは、コンピュータグラフィックスアプリケーション、画像、動画などに共通する数学的に集中的なデータなどの大規模なデータブロックの並列処理に効率的な並列構造を有することができる。
【０２０８】
コンピュータシステム２０００は、ランダムアクセスメモリ（ＲＡＭ）などの主メモリまたは一次メモリ２００８も含み得る。主メモリ２００８は、１つ以上のレベルのキャッシュを含んでもよい。主メモリ２００８は、制御ロジック（すなわち、コンピュータソフトウェア）および／またはデータをそこに格納してもよい。いくつかの実施形態では、主メモリ２００８は、敗血症の検出、敗血症の可能性予測、病原体の特定、および感受性試験を実行するように構成された光学的ロジックを含んでもよく、それに応じて患者の治療に関する推奨を生成してもよい。
【０２０９】
コンピュータシステム２０００は、１つまたは複数の二次記憶装置またはメモリ２０１０も含むことができる。二次メモリ２０１０は、例えば、ハードディスクドライブ２０１２および／または取り外し可能な記憶装置ドライブ２０１４を含むことができる。
【０２１０】
取り外し可能な記憶装置ドライブ２０１４は、取り外し可能な記憶装置ユニット２０１８と相互作用し得る。取り外し可能な記憶装置ユニット２０１８は、コンピュータソフトウェア（制御ロジック）および／またはデータを保存した、使用可能または読み取り可能なコンピュータ可読記憶装置を含み得る。取り外し可能な記憶装置２０１８は、プログラムカートリッジおよびカートリッジインターフェース（ビデオゲーム装置に見られるような）、取り外し可能なメモリチップ（ＥＰＲＯＭまたはＰＲＯＭなど）および関連するソケット、メモリスティックおよびＵＳＢポート、メモリカードおよび関連するメモリカードスロット、および／またはその他の取り外し可能な記憶装置および関連するインターフェースであってもよい。取り外し可能な記憶装置ドライブ２０１４は、取り外し可能な記憶装置２０１８から読み取り、および／または取り外し可能な記憶装置２０１８に書き込みを行うことができる。
【０２１１】
二次記憶装置２０１０は、コンピュータプログラムおよび／または他の命令および／またはデータがコンピュータシステム２０００によってアクセスされることを可能にする他の手段、装置、構成要素、機器または他のアプローチを含んでもよい。このような手段、装置、構成要素、機器または他のアプローチには、例えば、取り外し可能な記憶装置ユニット２０２２およびインターフェース２０２０が含まれる可能性がある。取り外し可能な記憶装置ユニット２０２２およびインターフェース２０２０の例としては、プログラムカートリッジおよびカートリッジインターフェース（ビデオゲーム装置に見られるような）、取り外し可能なメモリチップ（ＥＰＲＯＭまたはＰＲＯＭなど）および関連ソケット、メモリスティックおよびＵＳＢポート、メモリカードおよび関連メモリカードスロット、および／またはその他の取り外し可能な記憶装置および関連インターフェースが挙げられる。
【０２１２】
コンピュータシステム２０００は、通信インターフェースまたはネットワークインター

フェース２０２４をさらに含んでもよい。通信インターフェース２０２４は、コンピュータシステム２０００が、外部デバイス、外部ネットワーク、外部エンティティなどの任意の組み合わせ（個別に、および参照番号２０２８で総称して参照される）と通信および相互作用することを可能にする場合がある。例えば、通信インターフェース２０２４は、有線および／または無線（またはその組み合わせ）であり、ＬＡＮ、ＷＡＮ、インターネットなどの任意の組み合わせを含み得る通信経路２０２６を介して、コンピュータシステム２０００が外部デバイスまたは遠隔デバイス２０２８と通信することを可能にする場合がある。制御ロジックおよび／またはデータは、通信経路２０２６を介してコンピュータシステム２０００に送受信される場合がある。

【０２１３】

コンピュータシステム２０００は、パーソナルデジタルアシスタント（ＰＤＡ）、デスクトップワークステーション、ラップトップまたはノートブックコンピュータ、ネットブック、タブレット、スマートフォン、スマートウォッチ、その他のウェアラブル、家電、モノのインターネット（ＩＯＴ）の一部、および／または組み込みシステムなどの非限定的な例、またはそれらの組み合わせである。

【０２１４】

コンピュータシステム２０００は、クライアントまたはサーバであってよく、リモートまたは分散クラウドコンピューティングソリューション、ローカルまたはオンプレミスソフトウェア（「オンプレミス」クラウドベースソリューション）、「サービスとしての（ａｓ ａ ｓｅｒｖｉｃｅ）」モデル（例えば、サービスとしてのコンテンツ（ＣａａＳ）、サービスとしてのデジタルコンテンツ（ＤＣａａＳ）、サービスとしてのソフトウェア（ＳａａＳ）、サービスとしてのマネージドソフトウェア（ＭＳａａＳ）、サービスとしてのプラットフォーム（ＰａａＳ）、サービスとしてのデスクトップ（ＤａａＳ）、サービスとしてのフレームワーク（ＦａａＳ）、サービスとしてのバックエンド（ＢａａＳ）、サービスとしてのモバイル・バックエンド（ＭＢａａＳ）、サービスとしてのインフラストラクチャ（ＩａａＳ）など）、および／または、前述の例または他のサービスまたは配信パラダイムの任意の組み合わせを含むハイブリッドモデルであってもよい。

【０２１５】

コンピュータシステム２０００における適用可能なデータ構造、ファイルフォーマット、およびスキーマ（ｓｃｈｅｍａｓ）は、ＪａｖａＳｃｒｉｐｔ Ｏｂｊｅｃｔ Ｎｏｔａｔｉｏｎ（ＪＳＯＮ）、Ｅｘｔｅｎｓｉｂｌｅ Ｍａｒｋｕｐ Ｌａｎｇｕａｇｅ（ＸＭＬ）、Ｙｅｔ Ａｎｏｔｈｅｒ Ｍａｒｋｕｐ Ｌａｎｇｕａｇｅ（ＹＡＭＬ）、Ｅｘｔｅｎｓｉｂｌｅ Ｈｙｐｅｒｔｅｘｔ Ｍａｒｋｕｐ Ｌａｎｇｕａｇｅ（ＸＨＴＭＬ）、Ｗｉｒｅｌｅｓｓ Ｍａｒｋｕｐ Ｌａｎｇｕａｇｅ（ＷＭＬ）、ＭｅｓｓａｇｅＰａｃｋ、ＸＭＬ Ｕｓｅｒ Ｉｎｔｅｒｆａｃｅ Ｌａｎｇｕａｇｅ（ＸＵＬ）、またはその他の機能的に類似した表現を単独または組み合わせて使用することができる。あるいは、専有のデータ構造、フォーマット、またはスキーマを排他的に使用することも、既知の標準またはオープンスタンダードと組み合わせて使用することもできる。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、制御ロジック（ソフトウェア）が保存された、使用可能なまたは読み取り可能な有形かつ非一時的なコンピュータ媒体を含む、有形かつ非一時的な装置または製造品も、本明細書ではコンピュータプログラム製品またはプログラム記憶装置と呼ばれることがある。これには、コンピュータシステム２０００、主メモリ２００８、二次メモリ２０１０、および取り外し可能な記憶装置ユニット２０１８および２０２２、ならびに前述の任意の組み合わせを具現化する有形の製造品が含まれるが、これらに限定されない。このような制御ロジックは、１つまたは複数のデータ処理装置（コンピュータシステム２０００など）によって実行されると、本明細書に記載されているように、このようなデータ処理装置を動作させる可能性がある。

【０２１７】

本開示に含まれる教示に基づき、図２０に示すもの以外のデータ処理装置、コンピュー

タシステム、および／またはコンピュータアーキテクチャを使用して、本開示の実施形態を製造および使用する方法は、関連技術に精通した者にとって明らかであろう。特に、実施形態は、本明細書で説明されているもの以外のソフトウェア、ハードウェア、および／またはオペレーティングシステムの実施で動作することができる。

【０２１８】

概要および要約のセクションではなく詳細な説明のセクションがクレームの解釈に使用されることを理解されたい。概要および要約のセクションは、発明者が意図したとおり、本開示の１つまたは複数の例示的な実施形態を提示するが、すべてではなく、したがって、本開示および添付のクレームをいかなる状況でも制限することを意図していない。

【０２１９】

本開示の実施形態は、特定の機能およびそれらの関係の実施を示す機能的ビルディングブロックの助けを借りて、上記で説明されている。これらの機能的ビルディングブロックの境界は、説明の便宜上、本明細書で任意に定義されている。特定の機能およびそれらの関係が適切に実行される限り、別の境界を定義することも可能である。

【０２２０】

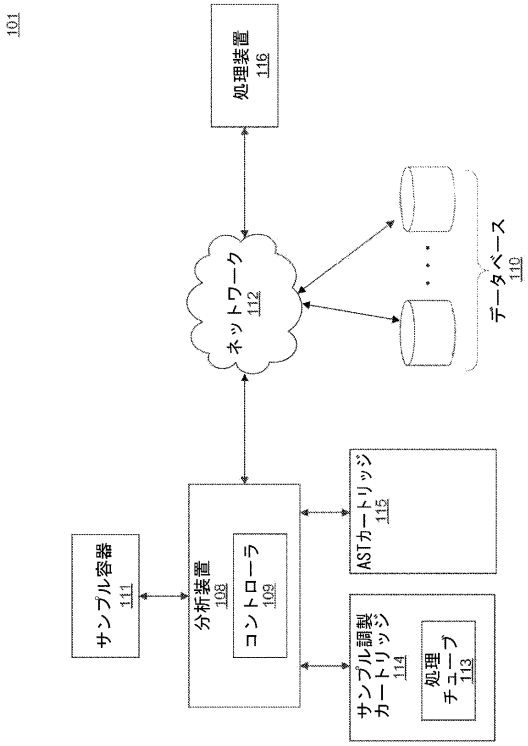
特定の実施形態に関する前述の説明は、開示の一般的な性質を十分に明らかにしているため、当業者は、過度な実験を行うことなく、また本開示の一般的な概念から逸脱することなく、特定の実施形態を容易に修正および／または様々な用途に適応させることができる。したがって、このような適応や修正は、本明細書で提示された教示や指針に基づき、開示された実施形態の均等物の意味および範囲内であることが意図されている。本明細書の用語や表現は、説明を目的としたものであり、制限を目的としたものではないことを理解されたい。本明細書の用語や表現は、教示や指針を踏まえて、当業者によって解釈されるべきである。

【０２２１】

本開示の広さおよび範囲は、上述の例示的な実施形態のいずれによっても限定されるべきではなく、以下の特許請求の範囲およびそれらの同等物に従ってのみ定義されるべきである。

【図面】

【図１】



【図２】

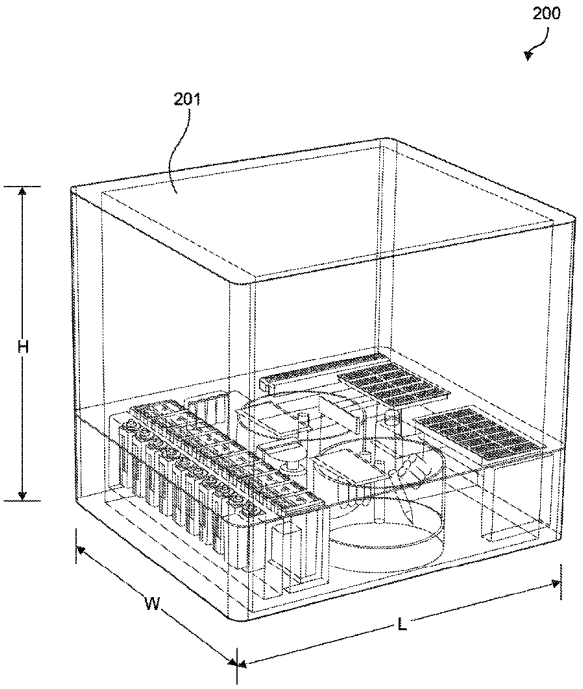


FIG. 2

【図３Ａ】

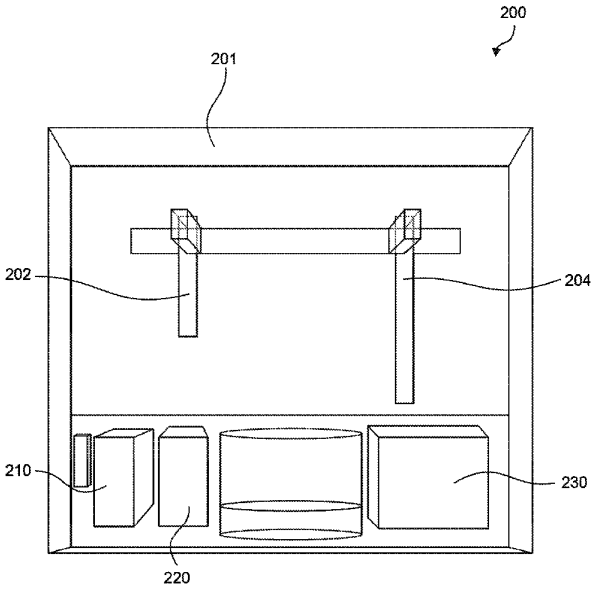


FIG. 3A

【図３Ｂ】

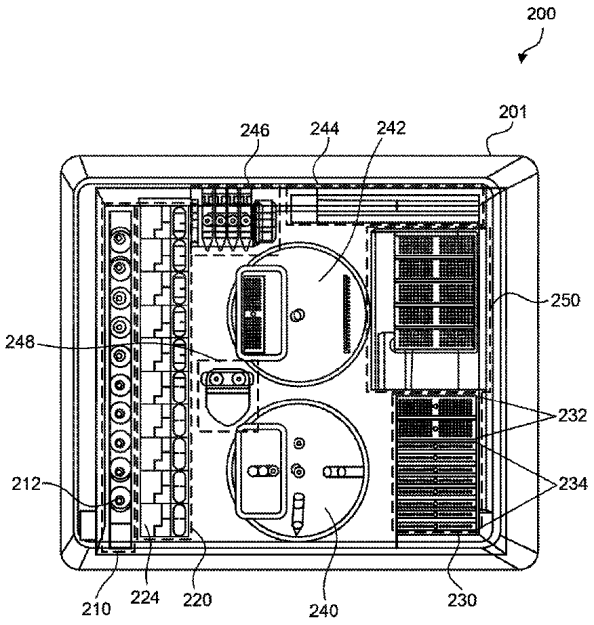


FIG. 3B

【図４】

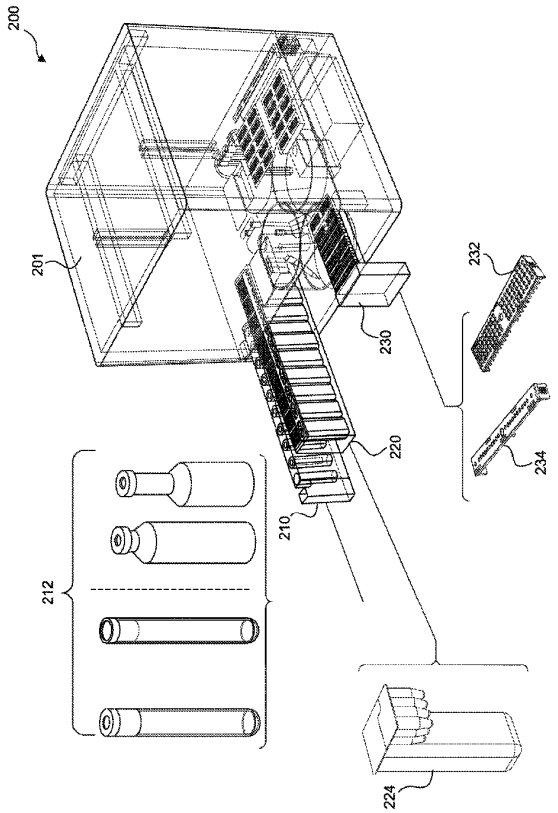


FIG. 4

【図５】

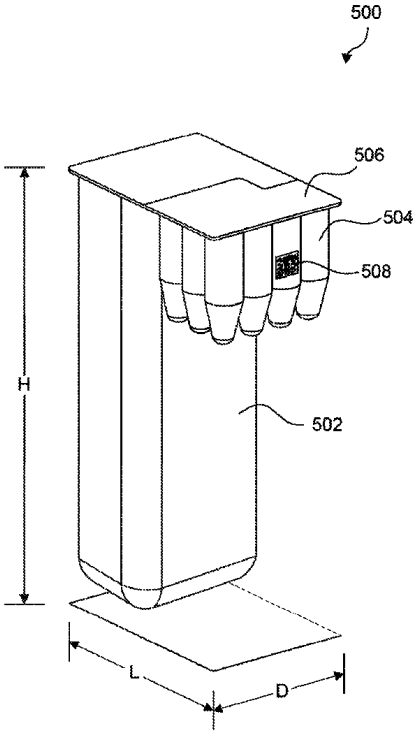


FIG. 5

【図６Ａ】

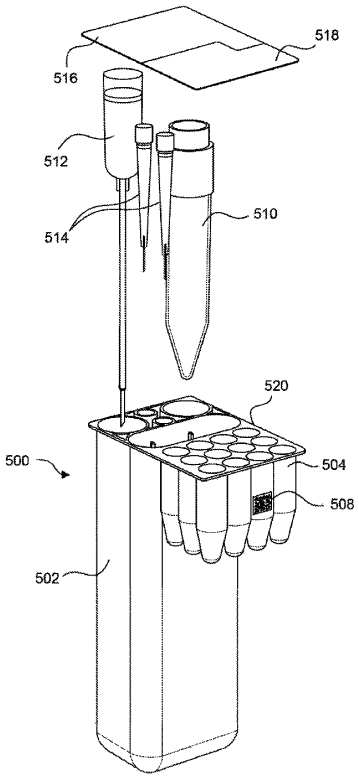


FIG. 6A

【図６Ｂ】

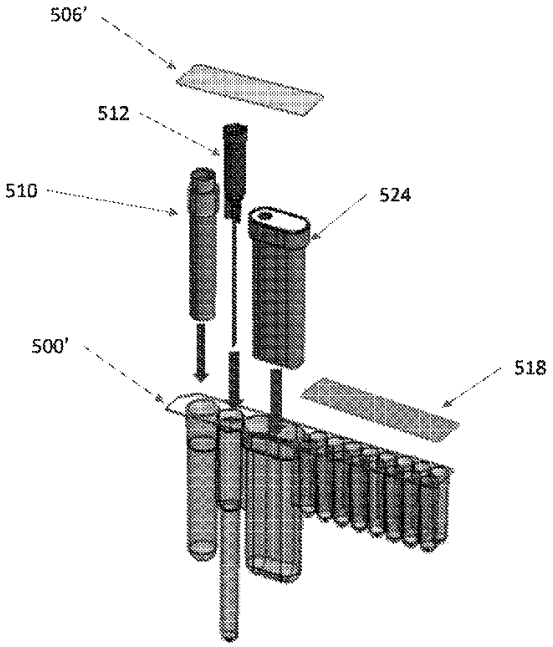


FIG. 6B

【図７Ａ】

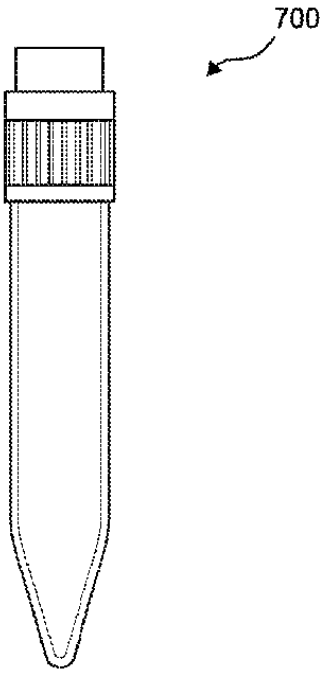


FIG. 7A

【図７Ｂ】

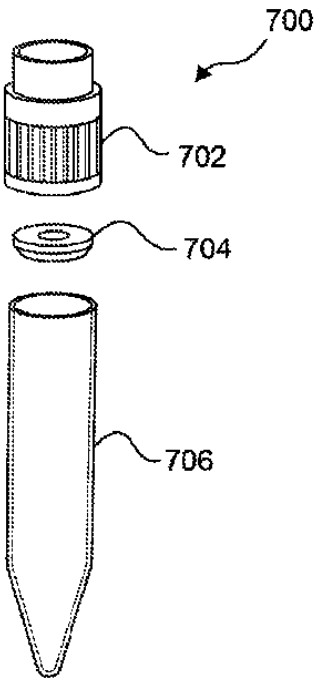


FIG. 7B

【図８Ａ】

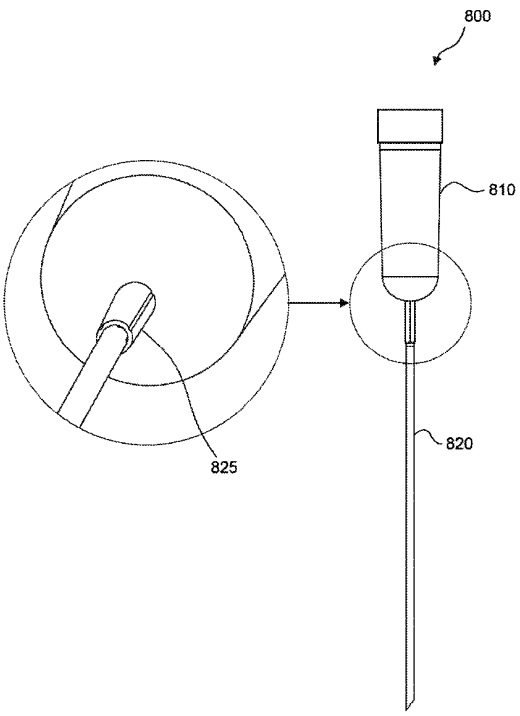


FIG. 8A

【図８Ｂ】

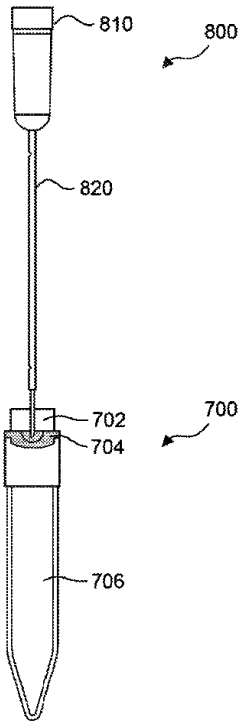


FIG. 8B

【図８Ｃ】

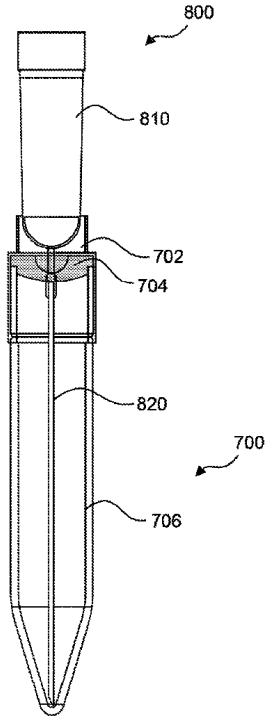


FIG. 8C

【図９Ａ】

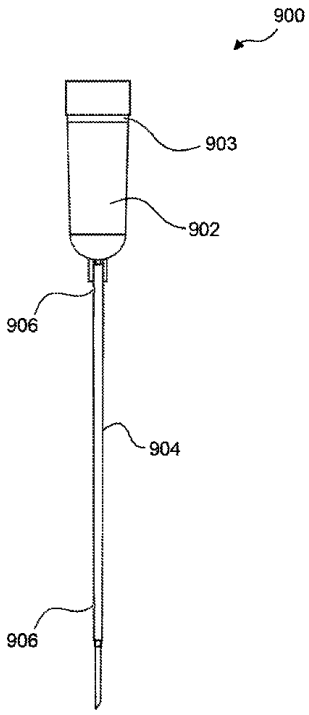


FIG. 9A

【図９Ｂ】

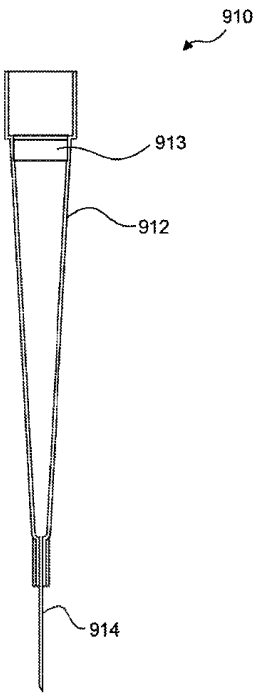


FIG. 9B

【図１０】

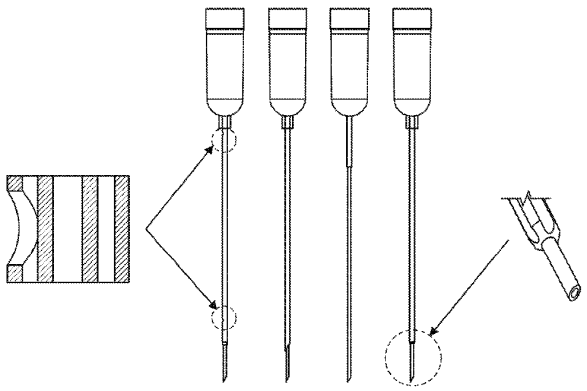


FIG. 10

【図１１】

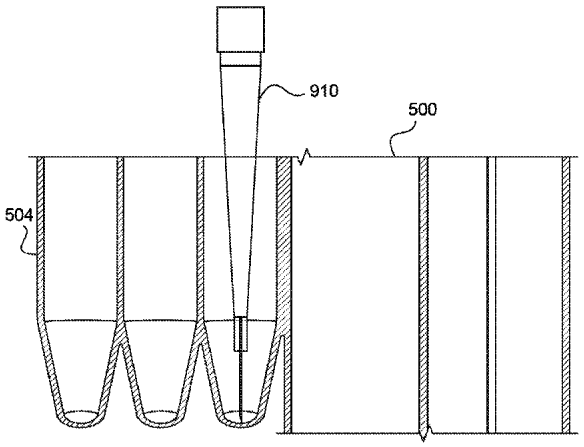


FIG. 11

【図１２Ａ】

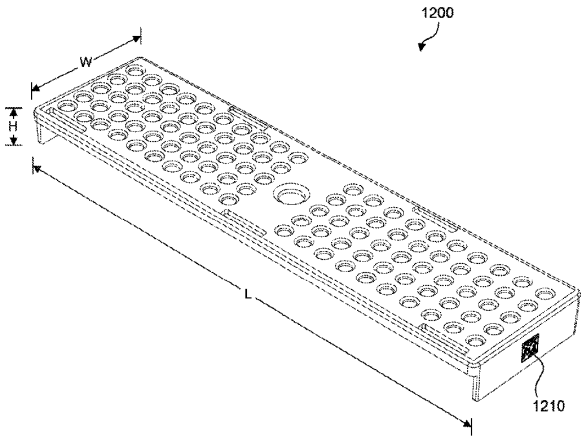


FIG. 12A

【図１２Ｂ】

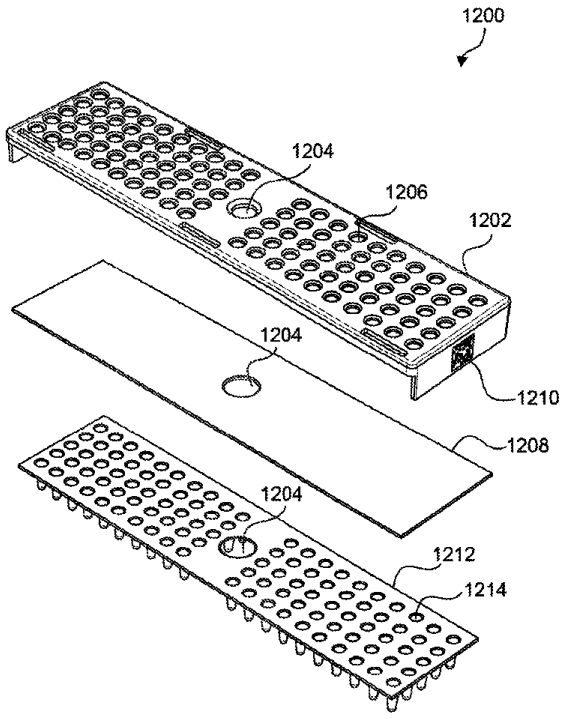


FIG. 12B

【図１３】

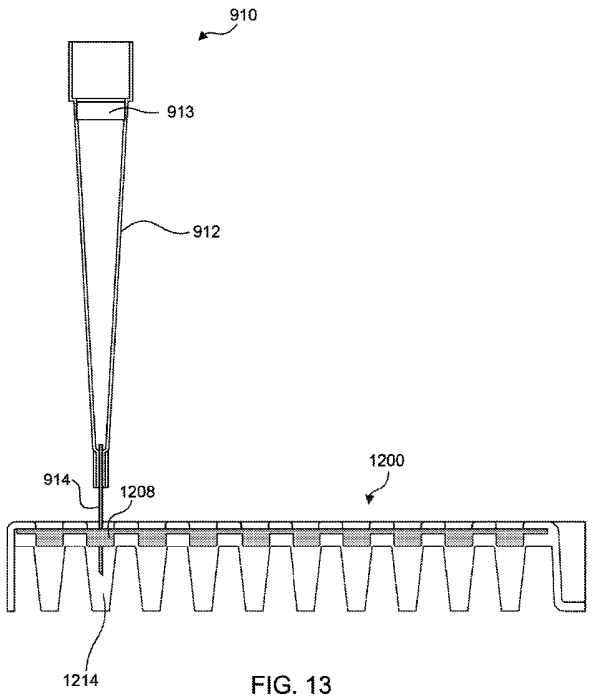


FIG. 13

【図１４Ａ】

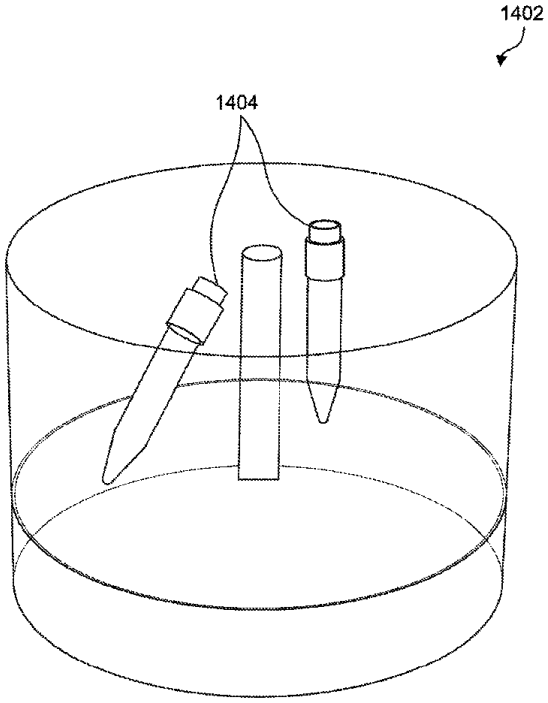


FIG. 14A

【図１４Ｂ】

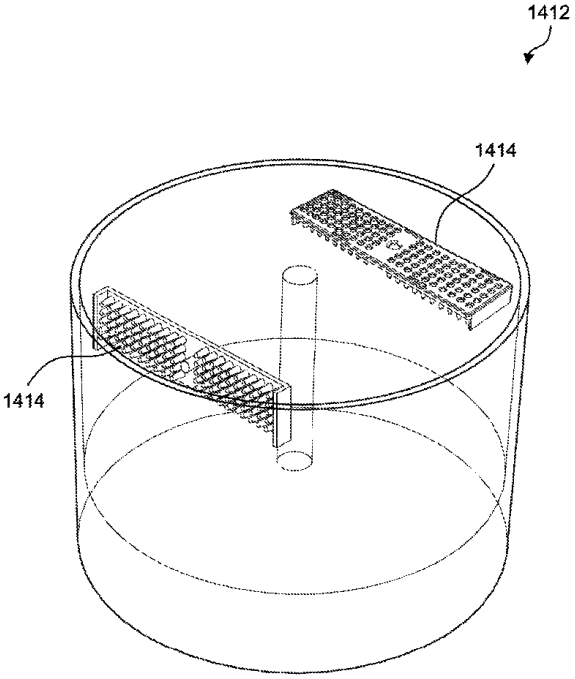


FIG. 14B

【図１５Ａ】

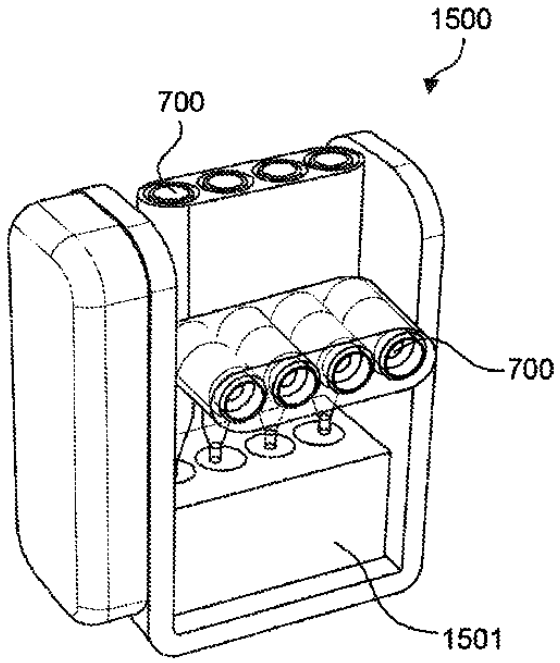


FIG. 15A

【図１５Ｂ】

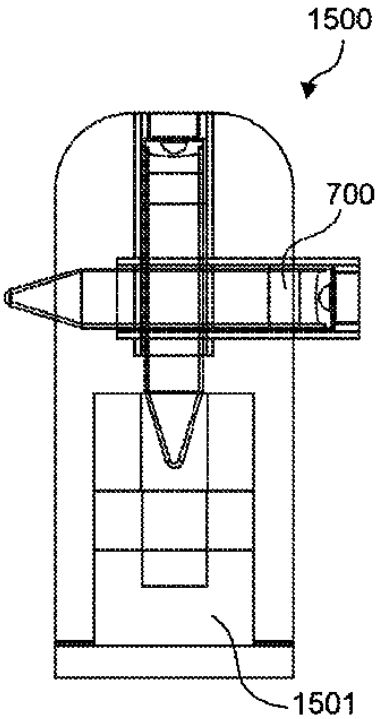


FIG. 15B

【図１５Ｃ】

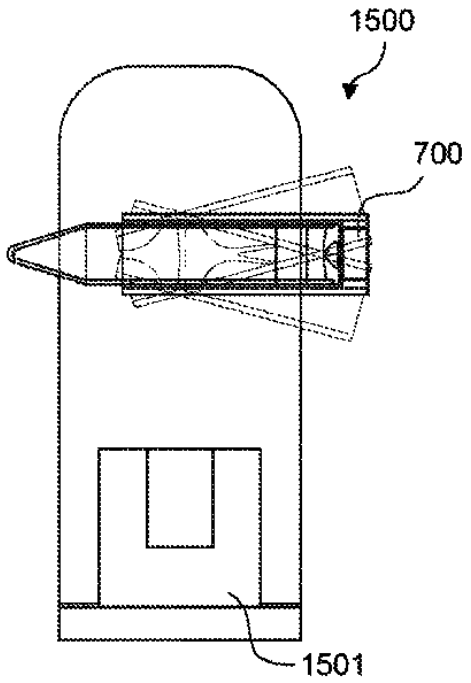


FIG. 15C

【図１５Ｄ】

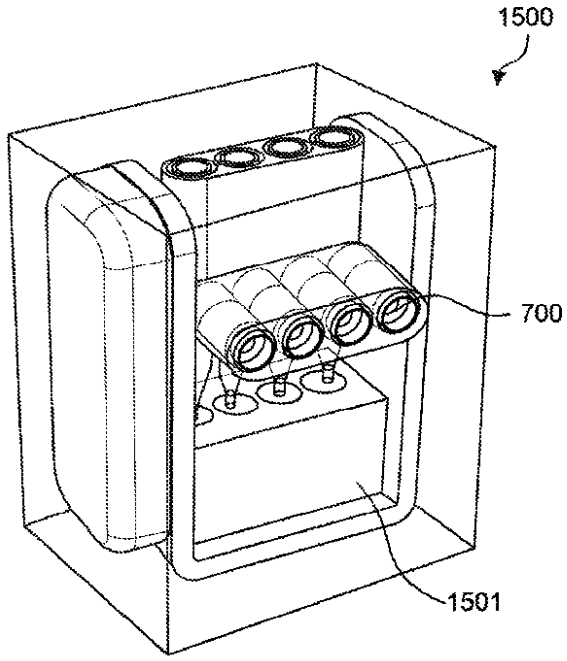


FIG. 15D

【図１６Ａ】

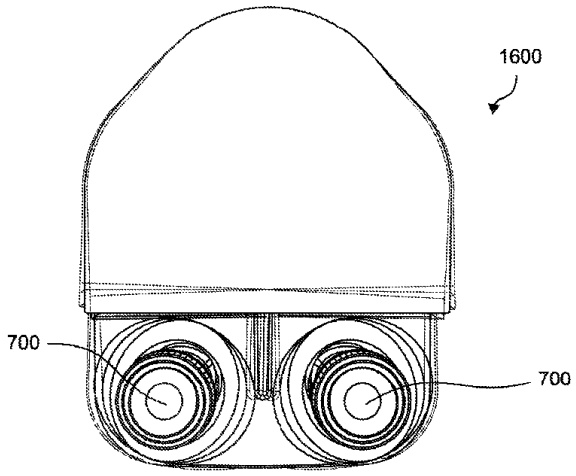


FIG. 16A

【図１６Ｂ】

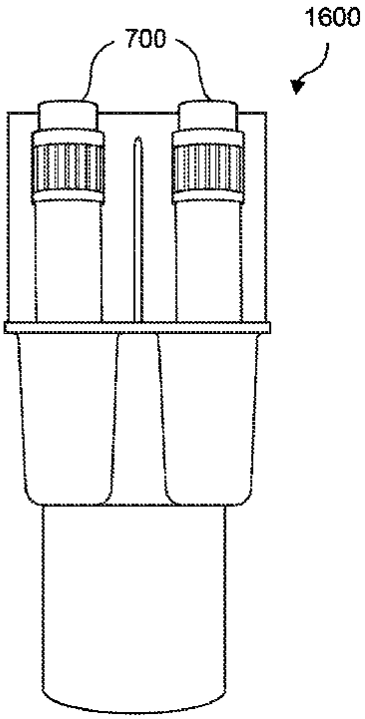


FIG. 16B

【図１６Ｃ】

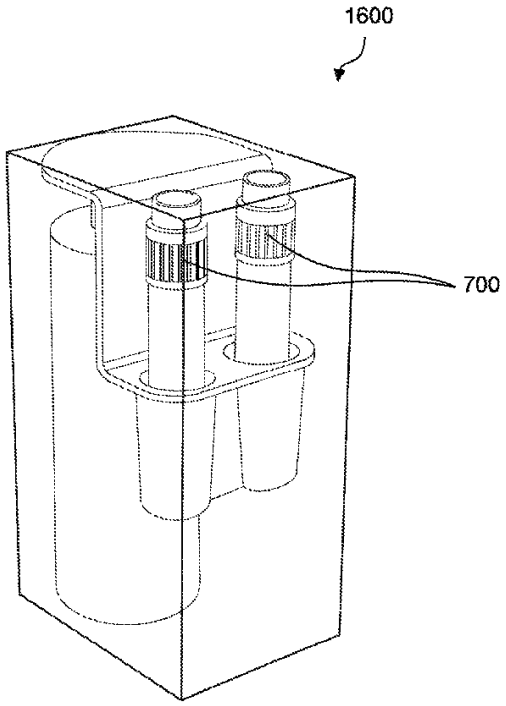


FIG. 16C

【図１７Ａ】

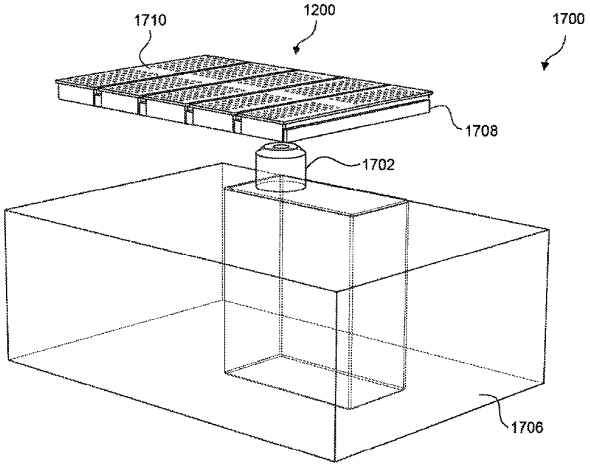


FIG. 17A

【図１７Ｂ】

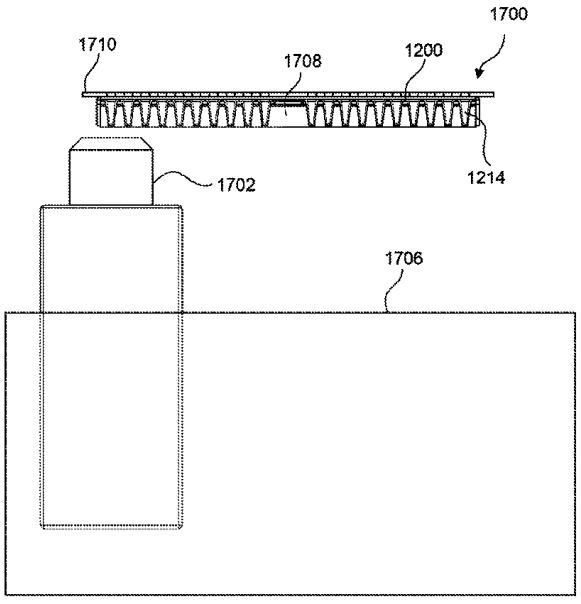
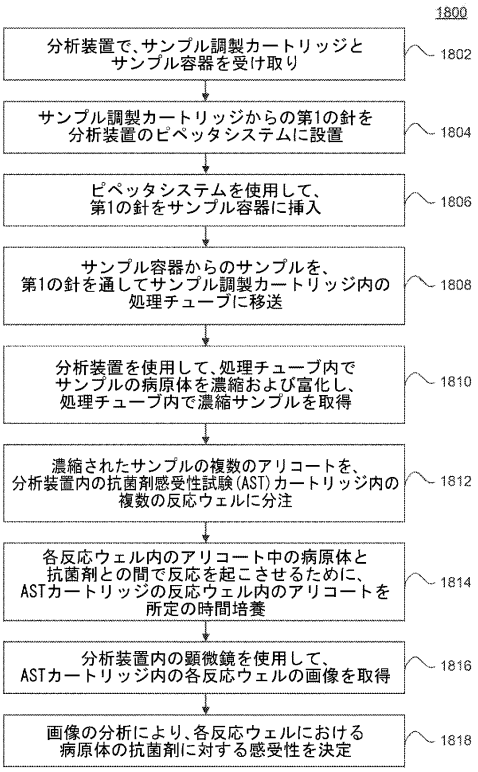
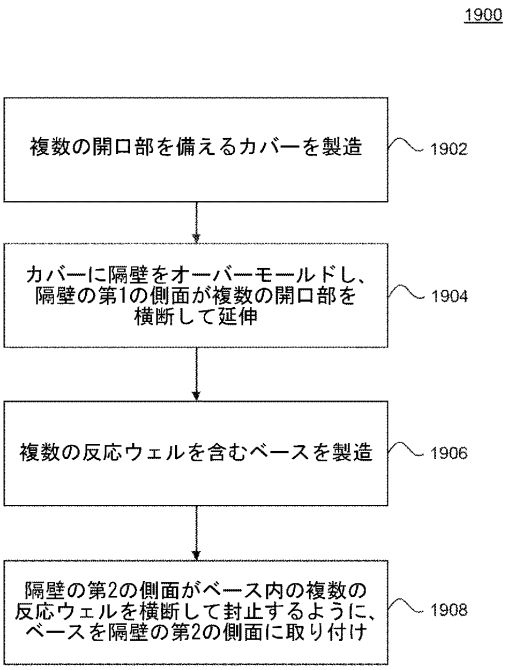


FIG. 17B

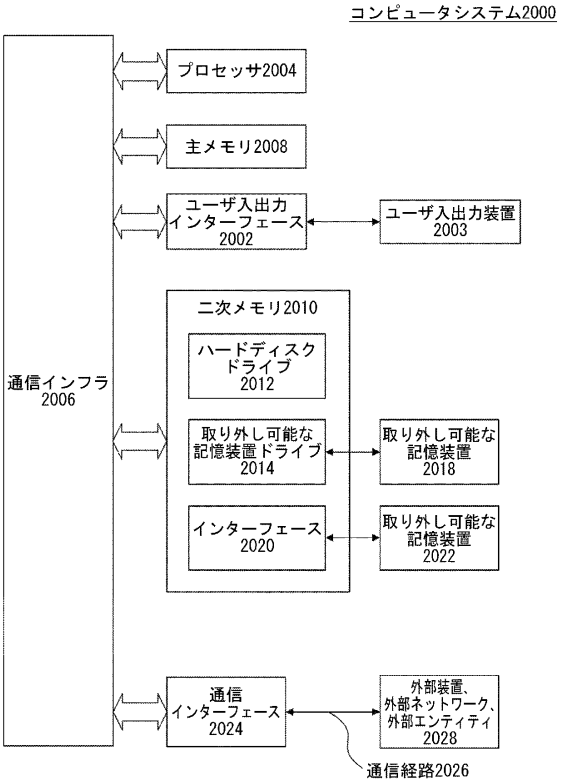
【図１８】



【図１９】



【図２０】



【図２１Ａ】

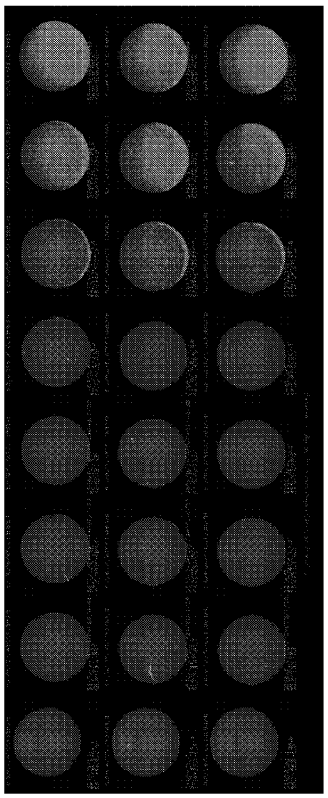
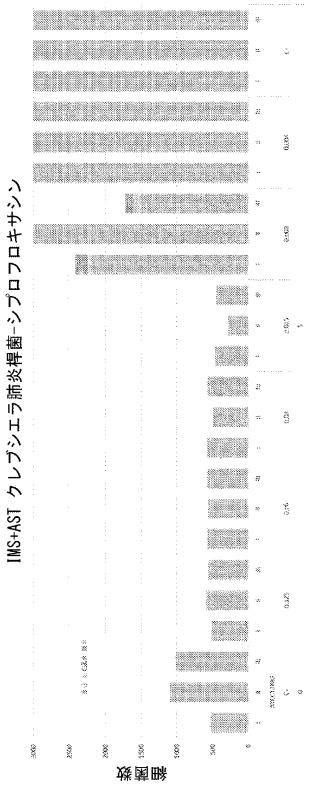


FIG. 21A

【図２１Ｂ】



【図２２Ａ】

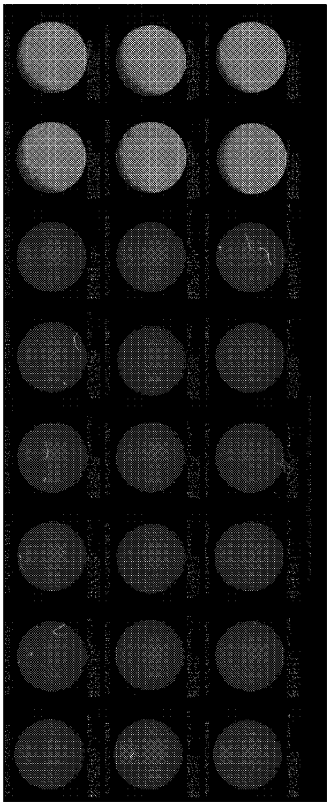
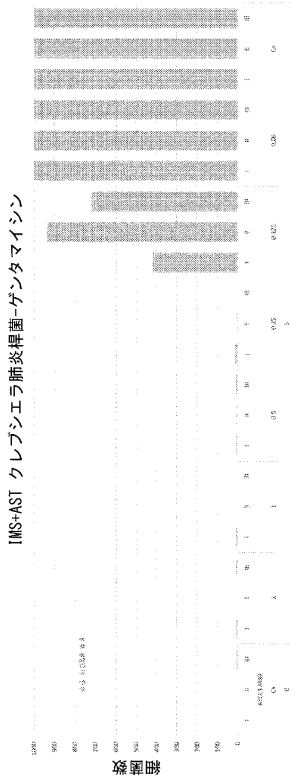


FIG. 22A

【図２２Ｂ】



【図２３Ａ】

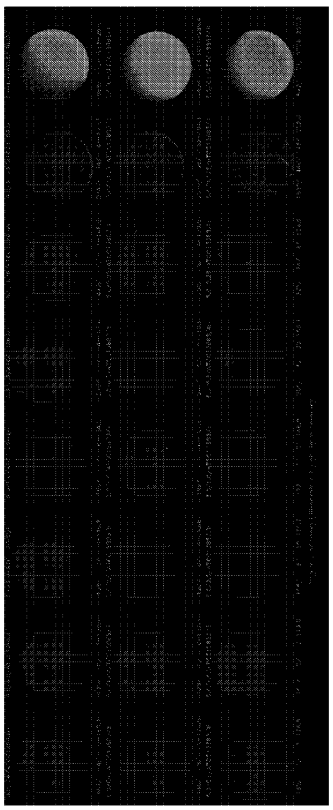
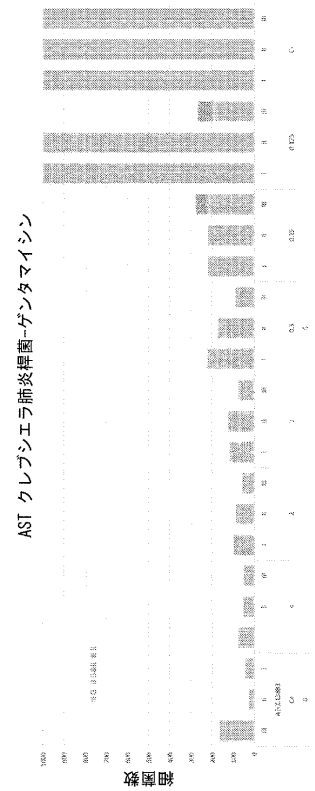


FIG. 23A

【図２３Ｂ】



【図２４Ａ】

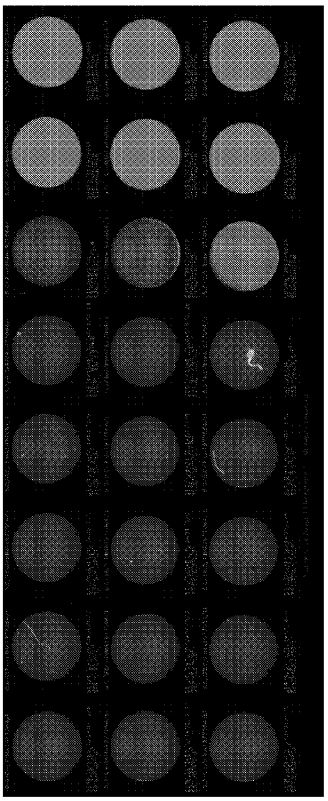
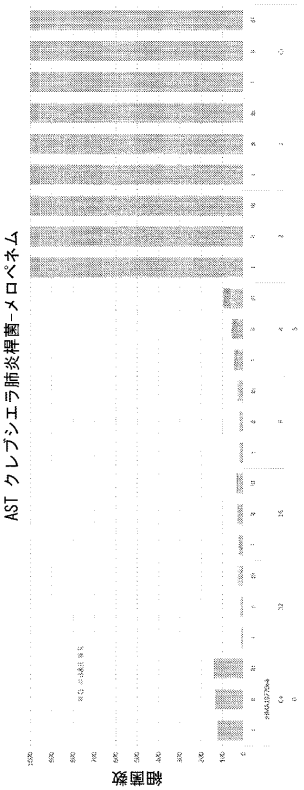
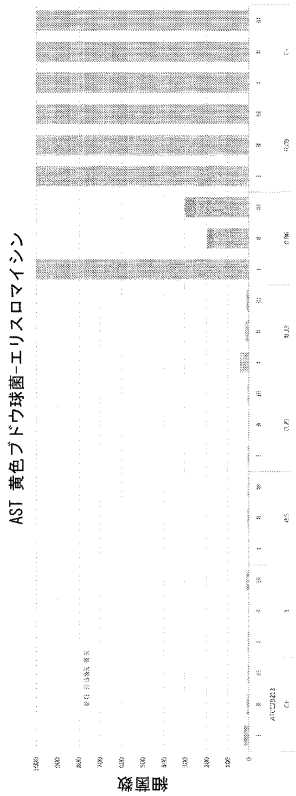


FIG. 24A

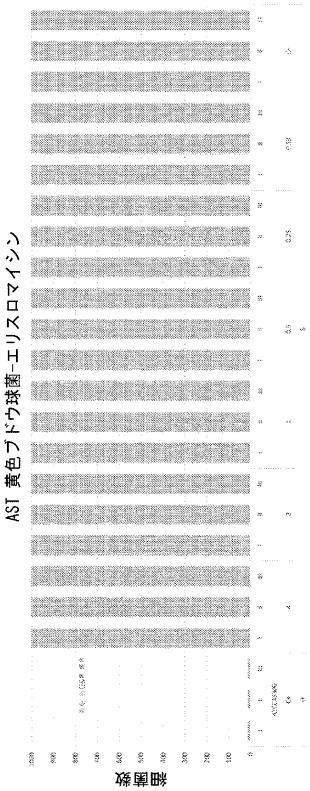
【図２４Ｂ】



【図２５Ａ】



【図２５Ｂ】



【図２６Ａ】

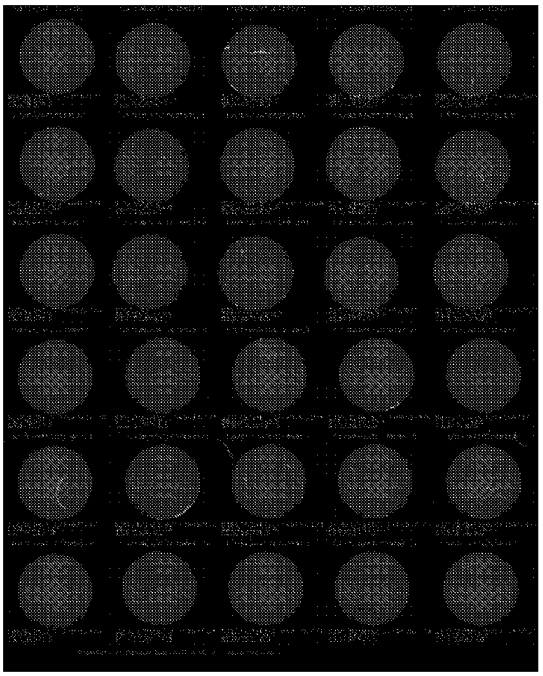
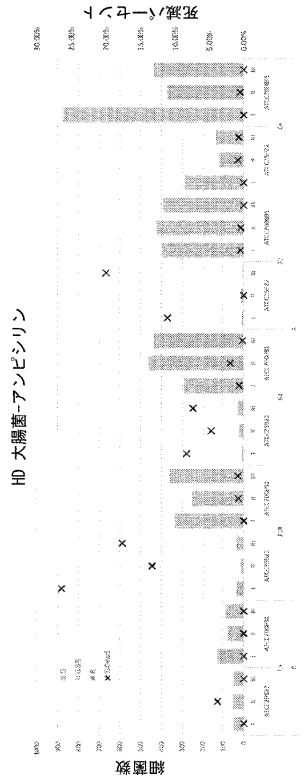
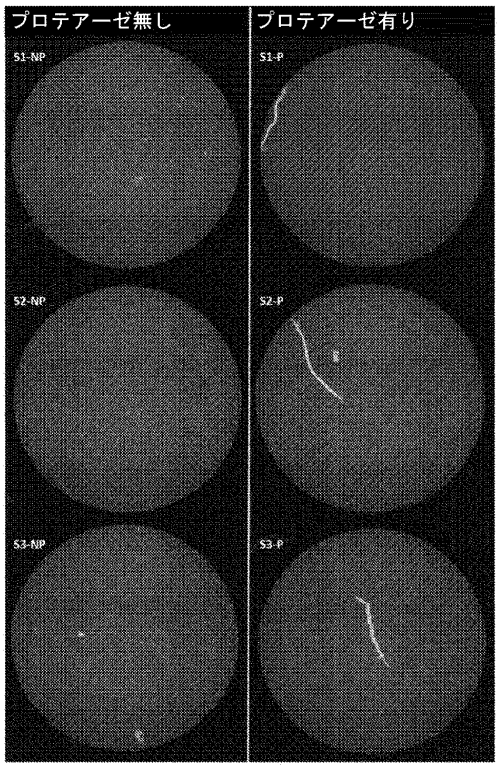


FIG. 26A

【図２６Ｂ】



【図２７】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2023/050337

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N35/10
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 3 301 454 A1 (ACCELERATE DIAGNOSTICS INC [US]) 4 April 2018 (2018-04-04)	1-4, 16-25, 28-42, 81-86
Y	paragraph [0163] - paragraph [0178]; figures 1, 2, 27 paragraph [0252]	5-15,26, 27
X	US 2019/301987 A1 (SPEARS BENJAMIN [US] ET AL) 3 October 2019 (2019-10-03)	65-80
Y	paragraphs [0008] - [0010]; figures 5, 6 paragraphs [0020], [0021] paragraphs [0066], [0067]	5-15,26, 27
A	US 2018/088141 A1 (VACIC ALEKSANDAR [US] ET AL) 29 March 2018 (2018-03-29) paragraph [0085] - paragraph [0086]; figures 1A, 1B	1-42, 65-86

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 April 2023	14/06/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Werth, Jochen

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2023/050337

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-42, 65-86

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

International Application No. PCT/IB2023/050337

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-42, 65-86

Method and systems for antimicrobial susceptibility testing

---

2. claims: 43-64, 81-99

Antimicrobial susceptibility testing cartridge

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2023/050337

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 3301454 A1	04-04-2018	NONE	
US 2019301987 A1	03-10-2019	AU 2019227996 A1	24-09-2020
		BR 112020017555 A2	22-12-2020
		CA 3092841 A1	06-09-2019
		CN 112313495 A	02-02-2021
		EP 3759461 A1	06-01-2021
		IL 277051 A	29-10-2020
		JP 2021514653 A	17-06-2021
		US 2019301987 A1	03-10-2019
		WO 2019169340 A1	06-09-2019
US 2018088141 A1	29-03-2018	AU 2017252564 A1	15-11-2018
		AU 2021277713 A1	23-12-2021
		BR 112018071543 A2	26-02-2019
		CA 3021813 A1	26-10-2017
		CN 109313208 A	05-02-2019
		EP 3446130 A1	27-02-2019
		IL 262486 A	31-12-2018
		JP 6850340 B2	31-03-2021
		JP 2019515311 A	06-06-2019
		JP 2021103172 A	15-07-2021
		US 2018088141 A1	29-03-2018
		US 2019128910 A1	02-05-2019
		WO 2017185012 A1	26-10-2017
		ZA 201807032 B	29-01-2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
G01N	*35/02*	*(2006.01)*	G01N	35/02	G	
C12N	*11/14*	*(2006.01)*	C12N	11/14		

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＪＡＶＡＳＣＲＩＰＴ

シエダッド・リミターダ内

(72)発明者　カレラ ファブラ，ジョルディ

スペイン０８０２８バルセロナ、バルセロナ、バルディリ・レイシャク４－８、ディープル・ダイアグノスティクス・ソシエダッド・リミターダ内

(72)発明者　マリ アルミラル，マルタ

スペイン０８０２８バルセロナ、バルセロナ、バルディリ・レイシャク４－８、ディープル・ダイアグノスティクス・ソシエダッド・リミターダ内

(72)発明者　サングラス バウレナス，アリアドナ

スペイン０８０２８バルセロナ、バルセロナ、バルディリ・レイシャク４－８、ディープル・ダイアグノスティクス・ソシエダッド・リミターダ内

Ｆターム（参考）　2G058　AA00 BA06 CC01 EA02 ED35 GA01

4B029　AA02 BB02 CC03 CC08 CC13 FA01 FA11 FA15 GA03 GB03 GB04

4B033　NA12 NB22 NB62 NC04 ND05 ND12 NF07 NG02 NH06

4B063　QA01 QA18 QQ03 QQ06 QQ15 QQ34 QQ36 QS10 QS39 QX01