

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-541494

(P2024-541494A)

(43)公表日 令和6年11月8日(2024.11.8)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 Q 1/06 (2006.01)	C 1 2 Q 1/06	4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	C 4 B 0 6 3

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全26頁)

(21)出願番号	特願2024-531148(P2024-531148)	(71)出願人	304043936 ビオメリュー BIOMERIEUX フランス国 F - 6 9 2 8 0 マーシー レトワール
(86)(22)出願日	令和4年11月24日(2022.11.24)	(74)代理人	100107766 弁理士 伊東 忠重
(85)翻訳文提出日	令和6年5月23日(2024.5.23)	(74)代理人	100229448 弁理士 中楨 利明
(86)国際出願番号	PCT/FR2022/052171	(72)発明者	テタル, ブルーノ フランス共和国 6 9 2 9 0 クラボンヌ , アレー デ プラターヌ 1 1
(87)国際公開番号	WO2023/094775	(72)発明者	フォーレ, ニコラス フランス共和国 3 8 1 0 0 グルノーブル, コース デ ラ リベラシオン エド
(87)国際公開日	令和5年6月1日(2023.6.1)		最終頁に続く
(31)優先権主張番号	2112454		
(32)優先日	令和3年11月24日(2021.11.24)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	フランス(FR)		
(81)指定国・地域	AP(BW,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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 抗菌剤に対する微生物の感受性を決定する方法

(57)【要約】

本発明は、抗菌剤に対する微生物株の感受性を予測する方法に関し、当該方法は、クライアントデバイス(2)のデータ処理手段(4)が：(a)抗菌剤を欠いている試料(22)における上記の株の少なくとも1つのコロニーを表す390nmから900nmのハイパースペクトル画像を得るステップ；(b)上記のコロニーに対応する上記のハイパースペクトル画像のピクセルに基づきコロニーのスペクトル(以下、「テストスペクトル」と呼ぶ)を決定するステップ；(c)上記のテストスペクトルを、所定のデータのデータベースの微生物クラス(以下、「参照微生物クラス」と呼ぶ)と比較するステップであり、上記のクラスは、種よりも低い分類学的レベルに対応し、微生物株の少なくとも1つのハイパースペクトルのスペクトルを使用して学習され、データベースは、各参照微生物クラスに対して、参照微生物クラスの抗菌剤に対する感受性を有する、ステップ；(d)抗菌剤に対する微生物株の感受性を、テストハイパースペクトルのスペクトルに最も近い参照微生物クラスに関連する感受性として決定するステップ；を実施することを

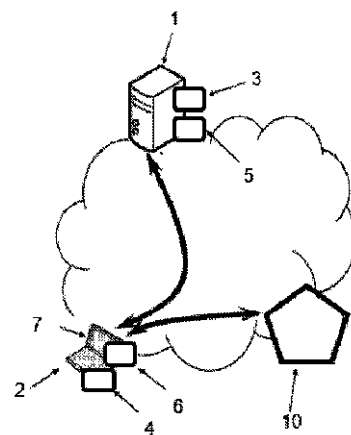


Figure 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗菌剤に対する微生物株の感受性を予測する方法であって、クライアントデバイスのデータ処理手段が、

(a) 抗菌剤を欠いている試料における前記株の少なくとも1つのコロニーを表す390nmから900nmのハイパースペクトル画像を得るステップと、

(b) 前記コロニーに対応する前記ハイパースペクトル画像のピクセルから前記コロニーのスペクトル(以下、「テストスペクトル」と呼ぶ)を決定するステップと、

(c) 前記テストスペクトルを、所定のデータベースの微生物クラス(以下、「参照微生物クラス」と呼ぶ)と比較するステップであり、前記クラスは、種よりも低い分類学的レベルに対応し、微生物株の少なくとも1つのハイパースペクトルのスペクトルで学習され、前記データベースは、各参照微生物クラスに対して、前記参照微生物クラスの抗菌剤に対する感受性を含む、ステップと、

(d) 前記抗菌剤に対する微生物株の感受性を、ハイパースペクトルのテストスペクトルに最も近い参照微生物クラスに関連するものとして決定するステップと、
を実施することを含むのを特徴とする方法。

10

【請求項 2】

前記比較するステップ及び前記決定するステップは、参照微生物クラスとして前記データベースの微生物株の同一性を有する監視された分類に基づく予測因子によって実行され、前記分類を訓練する段階は、

(c1) 前記データベースの微生物株ごとに様々なコロニーのハイパースペクトルのスペクトルを取得するステップと、

(c2) 前記様々なコロニーのハイパースペクトルのスペクトルで前記分類を訓練するステップと、
を含む、請求項1に記載の方法。

20

【請求項 3】

前記予測因子は、畳み込み人工ニューラルネットワークである、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

ステップ(b)は、前記試料における前記コロニーを検出するように前記ハイパースペクトル画像をセグメント化することを含む、請求項1に記載の方法。

30

【請求項 5】

ステップ(b)は、前記コロニーの前記スペクトルを平滑化及び/又は正規化することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ(a)は、前記クライアントデバイスに接続された観察装置によって前記ハイパースペクトル画像を取得することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 7】

サーバのデータ処理手段が、ハイパースペクトル画像又は既に分類されたコロニーのスペクトルの訓練データベースから自動分類モデルのパラメータを学習するステップ(a0)を含む、請求項1に記載の方法。

40

【請求項 8】

前記微生物株は黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)株であり、前記抗菌剤はメチシリンである、請求項1に記載の方法。

【請求項 9】

抗菌剤に対する微生物の感受性を決定するためのシステムであって、データ処理手段を含む少なくとも1つのクライアントデバイスを含み、前記データ処理手段は、

- 試料における前記微生物の少なくとも1つのコロニーを表すハイパースペクトル画像を得ること、

- 前記コロニーに対応する前記ハイパースペクトル画像のピクセルから前記コロニーの

50

スペクトル（以下、「テストスペクトル」と呼ぶ）を決定すること、

- 前記テストスペクトルを、所定のデータベースの微生物クラス（以下、「参照微生物クラス」と呼ぶ）と比較することであり、前記クラスは、種よりも低い分類学的レベルに対応し、微生物株の少なくとも1つのハイパスペクトルのスペクトルで学習され、前記データベースは、各参照微生物クラスに対して、前記参照微生物クラスの抗菌剤に対する感受性を含むこと、

- 前記抗菌剤に対する微生物株の感受性を、ハイパスペクトルのテストスペクトルに最も近い参照微生物クラスに関連するものとして決定すること、

を実施するように構成されることを特徴とするシステム。

【請求項10】

前記ハイパスペクトル画像を取得するための観察装置をさらに含む、請求項9に記載のシステム。

【請求項11】

コンピュータプログラムであって、前記プログラムがコンピュータ上で実行されるときに、抗菌剤に対する微生物の感受性を決定するために請求項1乃至8のいずれか一項に記載の方法を実行するためのコード命令を含むコンピュータプログラム。

【請求項12】

抗菌剤に対する微生物の感受性を決定するために請求項1乃至8のいずれか一項に記載の方法を実行するためのコード命令を含むコンピュータプログラムを格納するコンピュータ装置により読み取り可能な記憶手段。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、微生物学的分析の分野に関し、特に、微生物の特徴付け、とりわけ、抗菌剤に対する酵母、カビ、及び細菌の感受性又は耐性の性質の予測に関する。

【0002】

有利に、本発明は、観察可能な培地において増殖した細菌、カビ、又は酵母の1つ以上のコロニーのハイパスペクトル画像の分析に適用される。

【背景技術】

【0003】

微生物、特に病原菌の *in vitro* 診断の分野において、微生物の特徴付けは、好ましくは、この微生物に感染した患者に対する治療を決定するために、その種及び抗菌剤に対するその感受性（「アンチバイオグラム」）を特定することを含む。この目的のために、複雑な微生物学的プロセスが、通常、実験室で実施され、このプロセスは、微生物の他の特性、特にその界（例えば、酵母又は細菌等）、及び細菌に関しては、そのグラム型又はその発酵性又は非発酵性についての事前の知識を最も頻繁に必要とする。実際、この情報は、特に、最終的にその種又はそのアンチバイオグラムを決定するために、微生物に適応する培地又は抗菌剤のタイプが選択されるのを可能にする。例えば、本出願人によって販売されている A P I（登録商標）微生物同定ギャラリーの選択は、同定されることになる微生物の界（例えば、酵母対細菌等）又は細菌株のグラム型の知識に基づく。同様に、本出願人によって販売されている V i t e k（登録商標）2 のシステムを使用した細菌株のアンチバイオグラムの決定は、当該株のグラム型及び発酵性又は非発酵性の機能としてのカードの選択に基づく。また、同定されることになる微生物が酵母又は細菌であるかに応じて異なるマトリックスを使用する M A L D I - T O F 質量分析による同定を引用することも可能である。従って、この情報を可能な限り早く知ることによって、微生物学的プロセスは最適化され、特にそのプロセスを加速することによって、又は使用される消耗品の量を減らすことによって、微生物学的プロセスは最適化される。

【0004】

歴史的に、これらの特性の各々は、かなりの数の手動ステップ（付着、染色、媒染、洗浄、過染色等）を含む技術を使用して決定され、従って、実施するのに時間がかかる。

10

20

30

40

50

【0005】

特許文献1は、細菌株のグラム型及び発酵性を決定する方法を記載しており、この方法は自動的であり、これらの特徴を決定するために細菌又はその培地を標識又は染色することを必要としない。この目的のために、マルチスペクトルイメージングシステム又はハイパースペクトルイメージングシステムとさえ呼ばれるイメージングシステムが使用される。これは、高いスペクトル分解能を有するシステムであり、かなりの数のチャンネルを有するペトリ皿によって反射されるか又はそれを透過する光のデジタル画像の生成を可能にする。標準的なRGB画像は3つのチャンネルを有するけれども、HSI(「ハイパースペクトルイメージング(Hyper Spectral Imaging)」)画像は、(数ナノメートルのスペクトル分解能である)390から900nmの波長範囲にわたって数百のスペクトルチャンネルを有し得るデータキューブを形成する。次に、適した分類アルゴリズムがHSI画像に適用されることによって、示された菌株のグラムのタイプ及び発酵性又は非発酵性が決定されるのが可能になる。次に、微生物に適した培地又は抗菌剤のタイプを選択して、培地の試料における微生物の増殖の関数として、抗菌薬に対する微生物の感受性を最終的に決定することができる。

10

【0006】

非特許文献1は、HSI画像から微生物の種を直接決定することさえ提案している。説明したように、この情報は興味深いものであるが、微生物が抗菌剤に耐性であるかどうかを決定するにはそれだけでは十分ではなく、依然としてアンチバイオグラムを生成する必要がある。実際、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)等の同じ種でも、一部の株は耐性があり、他の株は耐性がない。例えば、MRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*))及びMSSA(メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(*Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus*))は、すなわち、それぞれメチシリン抗菌薬に対して耐性又は非耐性の黄色ブドウ球菌の株と呼ばれる。

20

【0007】

非特許文献2は、種よりも低い分類学で微生物を分類するための解決策を提案しているが、複雑な取り扱い及び材料にとっては不利益である。実際、コロニーを単離する必要があり、次に、このコロニーのHSI画像を、「HMI」顕微鏡を使用して明確に取得する必要がある。次に、アルゴリズムが個々のスケールで1つずつ細胞を観察し、この個々の観察は分類のために使用される。

30

【0008】

従って、抗菌剤に対する微生物の感受性、すなわち耐性又は感度を決定するための迅速且つ効率的な解決策を有することができるということが依然として望ましい。そのような解決策は、例えば、病原微生物に感染している可能性のある患者から試料を採取すること、本発明の溶液を使用して分析用に試料を調製すること、本発明の溶液を適用すること、溶液によって提供された感受性結果の関数として抗菌剤を選択すること、次に、選択した抗菌剤を患者に適用することを含む臨床プロセスに統合される。有利に、本発明は、細菌、カビ、又は酵母の1つ以上のコロニーのハイパースペクトル画像の分析に適用可能であり、それらの細菌、カビ、又は酵母の1つ以上のコロニーは、培地において増殖するものであり、さらに、マーカー若しくは染色を使用することなく、個々のスケールで細胞を観察することなく、又は顕微鏡等の高倍率の光学系を使用することなく、且つ、細菌若しくはコロニーを破壊する必要なく観察することができるものである。

40

【0009】

有利に、本発明は、取得されたハイパースペクトル画像内の一部のピクセルを、特に10を超えるピクセルをコロニーが占めるとすぐに適用可能である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【特許文献1】WO2019/122732

50

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献1】Arrigoni, Turra and Signoroni, entitled, "Hyperspectral image analysis for rapid and accurate discrimination of bacterial infections: A benchmark study"

【非特許文献2】Park et al., entitled, "Classification of Salmonella Serotypes with Hyperspectral Microscope Imagery"

【非特許文献3】"MLST revisited: the gene-by-gene approach to bacterial genomics", by Martin C. J. Maiden, Nature Reviews Microbiology, 2013 10

【発明の概要】

【0012】

本発明の目的は、抗菌剤の存在なしに培地上で増殖した微生物コロニーのハイパースペクトルイメージングを使用して、上記の抗菌剤に対する微生物の感受性を予測することである。

【0013】

この目的のために、本発明の目的は、抗菌剤に対する微生物株の感受性を予測する方法であり、当該方法は、クライアントデバイスのデータ処理手段が： 20

(a) 抗菌剤を欠いている試料における上記の株の少なくとも1つのコロニーを表す390nmから900nmのハイパースペクトル画像を得るステップ；

(b) 上記のコロニーに対応する上記のハイパースペクトル画像のピクセルからコロニーのスペクトル(以下、「テストスペクトル」と呼ぶ)を決定するステップ；

(c) 上記のテストスペクトルを、所定のデータベースの微生物クラス(以下、「参照微生物クラス」と呼ぶ)と比較するステップであり、上記のクラスは、種よりも低い分類学的レベルに対応し、微生物株の少なくとも1つのハイパースペクトルのスペクトルで学習され、データベースは、各参照微生物クラスに対して、参照微生物クラスの抗菌剤に対する感受性を含む、ステップ； 30

(d) 抗菌剤に対する微生物株の感受性を、ハイパースペクトルのテストスペクトルに最も近い参照微生物クラスに関連するものとして決定するステップ；
を実施することを含むのを特徴とする。

【0014】

言い換えると、390nmから900nmのハイパースペクトルイメージングは、2つの微生物株がクローンであるか又は同じ株に由来し、従って抗菌剤に対して同じ感受性を共有することを予測するのに十分な情報を有するということが本発明者等は発見した。あるクラスの感受性を知ることによって、新しい微生物がそのクラスに属することを予測することにより、新しい微生物はそのクラスの感受性を予測することができる。

【0015】

「微生物クラス」という用語は、本明細書において、種よりも低い分類学的レベルで、特に株レベルで微生物の同一性を特徴付ける任意のデジタルオブジェクトを意味すると理解され、そのオブジェクトを用いて、コロニーのハイパースペクトルのスペクトルを、適した測定基準を使用して比較して、そのコロニーが上記のクラスに属するかどうかを決定することができる。微生物クラスは、例えば、監視される機械学習アルゴリズム若しくは監視されない機械学習アルゴリズムによって、又は参照ハイパースペクトルのスペクトルによって学習されるクラスであり得る。 40

【0016】

好ましい実施形態によると、比較するステップ及び決定するステップは、参照微生物クラスとしてデータベースの微生物株の同一性を有する監視された分類に基づく予測因子に 50

よって実行され、分類を訓練する段階は：

(c1) データベースの微生物株ごとに様々なコロニーのハイパースペクトルのスペクトルを取得するステップ；

(c2) 様々なコロニーのハイパースペクトルのスペクトルで分類を訓練するステップ；を含む。

【0017】

言い換えると、試験を受けるコロニーのスペクトルと比較されるであろう微生物株を表すスペクトルを決定するのではなく、この実施形態は、微生物株の様々なコロニーから得られたハイパースペクトルのスペクトルからクラスを学習し、これによって、測定誤差、照明の変動性、又は生物学的性質を有するスペクトルの変動性（スペクトルを変更するコロニーの可変厚、可変色等）等、スペクトルの取得におけるいかなる変動も考慮されるのが可能になる。

【0018】

より具体的には、予測因子は、畳み込み人工ニューラルネットワークである。好ましくは、データベースは、まだ列挙されていない新しい株、ハイパースペクトルのスペクトルの株内変動性を考慮するために、又は試料の調製及び異なる照明から生じるデータを組み込むために、頻繁に更新される。そのような予測因子の使用は、それが組み込む前処理（例えば、1つ以上の畳み込み層によって変数のサイズを小さくすることによって特徴を抽出すること等）が先験的に設定されないため、処理の柔軟性を提供する。

【0019】

本発明の実施形態によると：

- ステップ（b）は、試料における上記のコロニーを検出するように上記のハイパースペクトル画像をセグメント化することを含み；
- ステップ（a）は、上記のクライアントデバイスに接続された観察装置によって上記のハイパースペクトル画像を取得することを含み；
- 当該方法は、サーバのデータ処理手段が、ハイパースペクトル画像又は既に分類されたコロニーのスペクトルの訓練データベースから上記の自動分類モデルのパラメータを学習するステップ（a0）を含み；
- 微生物株は黄色ブドウ球菌株であり、抗菌剤はメチシリンである。

【0020】

本発明のさらなる目的は、抗菌剤に対する微生物の感受性を決定するためのシステムであり、当該システムは、データ処理手段を含む少なくとも1つのクライアントデバイスを含み、上記のデータ処理手段は：

- 試料における上記の微生物の少なくとも1つのコロニーを表すハイパースペクトル画像を得ること；
 - 上記のコロニーに対応する上記のハイパースペクトル画像のピクセルからコロニーのスペクトルを決定すること；
 - 上記のテストスペクトルを、所定のデータベースの微生物クラス（以下、「参照微生物クラス」と呼ぶ）と比較することであり、上記のクラスは、種よりも低い分類学的レベルに対応し、微生物株の少なくとも1つのハイパースペクトルのスペクトルで学習され、データベースは、各参照微生物クラスに対して、参照微生物クラスの抗菌剤に対する感受性を含むこと；
 - 抗菌剤に対する微生物株の感受性を、ハイパースペクトルのテストスペクトルに最も近い参照微生物クラスに関連するものとして決定すること；
- を実施するように構成されることを特徴とする。

【0021】

一実施形態によると、当該システムは、上記のハイパースペクトル画像を取得するための観察装置をさらに含む。

【0022】

本発明のさらなる目的は、プログラムがコンピュータ上で実行されるときに、抗菌剤に

10

20

30

40

50

対する微生物の感受性を決定するための上記の方法を実行するためのコード命令を含むコンピュータプログラム製品である。

【0023】

本発明のさらなる目的は、抗菌剤に対する微生物の感受性を決定するための上記の方法を実行するためのコード命令を含むコンピュータプログラム製品を格納するコンピュータ装置により読み取り可能な記憶手段である。

【図面の簡単な説明】

【0024】

本発明のさらなる特徴及び利点は、以下の好ましい実施形態の説明を読むことによって明らかになる。この説明は、添付の図面を参照して提供される。

【図1】本発明による方法を実施するためのアーキテクチャの図である。

【図2a】本発明による方法の実施形態で使用される試料における微生物を観察するための装置の第1の実施形態を示した図である。

【図2b】本発明による方法の好ましい実施形態で使用される試料における微生物を観察するための装置の第2の実施形態を示した図である。

【図3a】抗菌剤に対して耐性を有するクラスのコロニスペクトルの一例を示した図である。

【図3b】抗菌剤に対して感受性を有するクラスのコロニスペクトルの一例を示した図である。

【図4】本発明による方法の好ましい実施形態のステップを示した図である。

【図5】本発明による方法の好ましい実施形態で使用される畳み込みニューラルネットワークアーキテクチャの一例を示した図である。

【図6】本発明による畳み込みニューラルネットワークに基づく予測因子の混同行列を示した図である。

【発明を実施するための形態】

【0025】

アーキテクチャ

本発明は、抗菌剤に対する所与の種の微生物の感受性を決定する方法に関する。上記の微生物は、典型的には、細菌、カビ、又は酵母であり（以下の説明では黄色ブドウ球菌の例が使用されているが、これは大腸菌（*E. coli*）、クロストリディオイデス・デフィシル（*C. difficile*）等であってもよく）、上記の抗菌剤は、酵母及びカビに関連する抗真菌剤又は抗菌薬である（従って、特にメチシリンは黄色ブドウ球菌に対して一般的に好まれる抗菌薬であったが、例えばバンコマイシンも同様であった）。

【0026】

後述するように、この方法は、機械学習コンポーネント、特に、サポートベクターマシン（SVM）又は畳み込みニューラルネットワーク（CNN）の中から選択される分類モデルを含み得る。

【0027】

より具体的には、当該方法は、微生物のハイパースペクトル画像と呼ばれる画像を分類する方法であり、入力又は学習データが画像タイプのものであり、試料22における上記の微生物の少なくとも1つのコロニーを表すように分類する方法である（言い換えると、それは、少なくとも1つのコロニー、一般的には複数のコロニーが可視であり、すなわち、検査技師によって肉眼で検出可能であるか、又はそれ自体が知られているセグメンテーションアルゴリズムによって画像内で検出可能である試料の画像を含む。一例として、コロニーは、画像内で10ピクセルを超えるサイズに達するとすぐに検出可能である）。試料22は、任意の培地又は反応培地であり得るけれども、典型的にはペトリ皿に注がれた寒天である上記の微生物の培地に適応する。HSI画像と示されたハイパースペクトル画像の概念が以下で参照される。

【0028】

本方法は、サーバ1及びクライアントデバイス2によって、図1において示されている

10

20

30

40

50

アーキテクチャ内で実施される。サーバ 1 は、（学習方法を実施する）学習装置であり、クライアントデバイス 2 は、（抗菌剤に対する微生物の感受性を決定する方法を実施する）操作装置、例えば、医師、病院、又は微生物学研究所の端末である。

【0029】

2つの装置 1、2を統合することは非常に可能であるが、好ましくは、サーバ 1 は遠隔装置であり、クライアントデバイス 2 は、消費者向け装置、特にデスクトップコンピュータ、ラップトップ等である。クライアントデバイス 2 は、有利に、観察装置 10 に接続されており、これにより、典型的には、上記の入力画像を直接処理するために、入力画像を直接取得することができ；或いは、入力画像は、クライアントデバイス 2 にロードされることになる。

10

【0030】

いずれの場合も、各装置 1、2 は、典型的には、データを交換するために、インターネット等のワイドエリアネットワーク又はローカルネットワークにリンクされた遠隔のコンピューティングデバイスである。各装置は、プロセッサタイプのデータ処理手段 3、4 と、本発明による方法を実施するためのコンピュータ命令全てを格納する、コンピュータメモリ、特に固定メモリ、例えばフラッシュメモリ又はハードディスク等のデータ記憶手段 5、6 とを含む。クライアントデバイス 2 は、典型的には、インタラクションのためのスクリーン等のユーザインタフェース 7 を含む。

【0031】

サーバ 1 は、有利に、考慮される種に関するデータベースを格納し、データベースは、その種に属する微生物株のリストを含み、この株の各々に対して：

20

- 株のコロニーを学習するためのハイパースペクトルのスペクトル、すなわち、既に分類されたオブジェクトのセット；
 - 抗菌剤に対する株の感受性又は耐性に関するデータ；
 - 任意的に、試験条件に関するデータ；
- を含む。

【0032】

取得

説明したように、本方法が、試料 2 2、特に、寒天が注がれ、任意の様式で得られた 1 つ以上の微生物株を含有する液体試料を広げた後に微生物コロニーの増殖を可能にする栄養培地を形成するペトリ皿における上記の微生物の少なくとも 1 つのコロニーを表す入力として任意のハイパースペクトル画像を直接得ることができるとしても、本方法は、好ましくは、観察装置 10 によって供給されたデータから入力画像を得るステップ (a) から開始される。

30

【0033】

既知の様式で、当業者は、特に特許文献 1 に記載されているようなハイパースペクトルイメージング技術を使用することができる。

【0034】

ハイパースペクトル画像は、従来の 3 チャンネル RGB 画像と比較して、多数のスペクトルチャンネル、特に少なくとも 7 の、有利には少なくとも 20 の、及び潜在的には 200 を超えるスペクトルチャンネルを含む (223 のチャンネルの例が使用される) 画像を意味すると理解される。一般に、装置 10 は、単に試料 2 2 の HSI 画像を取得することができればよく、従って、その高い倍率が焦点合わせを難しくする顕微鏡を必要としないという点で、特に非特許文献 2 に記載されているものと比較して「シンプル」である。

40

【0035】

次に、図 2 a 及び 2 b に対応する装置 10 の 2 つの可能な実施形態が記載される。

【0036】

図 2 a を参照すると、装置 10 は、例えば、参照ハイパースペクトルイメージングシステム、すなわち、Resonon, Montana, USA によって販売されている「Pika II」である。この装置は、有利に：

50

- 例えば [最小 ; 最大] = [390 nm ; 900 nm] の波長範囲において感受性がある、基本センサのレイを含むデジタルセンサ、例えば、CCD又はCMOS型デジタルセンサ等；及び、センサによって取得されることになる波長を選択するための光分散素子又は分光器；で構成されている「ハイパースペクトル」カメラ18；
 - カメラ18のデジタルセンサ上の、ハイパースペクトル画像が取得されることになる試料22の光学画像に焦点を合わせる対物レンズ20；
 - 例えば2又は4のランプ等、例えば1つ以上の同種ランプで構成されるフロントライティング24であって、[最小 ; 最大] の範囲の光を発する、及び、試料22の均一な前方照明を提供することができ、例えば、照明は白色光ランプタイプのものである、フロントライティング24；
 - 上記の範囲の試料22の均一な後方照明を提供するために、例えば、白色光LEDのマトリクスで構成されるリアライティング26；
 - 試料22を支持し、走査によって完全な画像を得るために試料が対物レンズ20の前を通過するのを可能にするキャリッジ28；
- を含む。

【0037】

装置10は、例えば、160マイクロメートルのサンプリングレート（300マイクロメートルと推定される空間分解能）、及び[最小 ; 最大] の範囲にわたって数ナノメートルのスペクトル分解能で、90ミリメートル×90ミリメートルを測定する領域の画像を取得するように構成される。200のチャンネルは、約500nmの範囲を超えることができる。特に、対物レンズ20の視野及び被写界深度は、1cmまで、好ましくは0.9cmまで、さらにより好ましくは0.5cmの半径で完全なコロニーを含み得る画像を得るように選択される。

【0038】

従って、装置10は、試料22によって反射された光のデジタルHSI画像を生成し、この画像は、実際には3次元であるため、誤って「ハイパーキューブ」と呼ばれる。すなわち、2つの空間次元及び1つのスペクトル次元であり、各ピクセル（又は、HSI画像の3次元性質のため、正しくはボクセル）は、スペクトルチャンネルについて試料22の一点で測定された放射輝度を表す。

【0039】

一般的に「光度」と呼ばれるピクセルの放射輝度は、この場合、例えばデジタル写真の分野でそれ自体が知られているように、露光期間を通じてカメラ18のセンサの対応する基本感受性部位の表面における入射光の量に対応する。

【0040】

装置10は、カメラ18によって生成されたHSI画像を処理する、及び/又は、全てをクライアントデバイス2に委ねるように構成されたオンボードデータ処理手段を含み得る。

【0041】

これらの処理手段には、全ての場合において、本発明による方法を実施するためのコンピュータ命令、この実施に有用なパラメータ、及び中間計算及び最終計算の結果を格納するためのパラメータ、装置10によって生成された画像を格納するためのメモリ（RAM、ROM、キャッシュ、マスメモリ等）のセットが提供される。クライアントデバイス2は、説明したように、当該方法の最終結果を表示するための表示スクリーン7を任意的に含む。単一の処理ユニットが記載されているけれども、本発明が、いくつかの処理ユニット（例えば、HSI画像を前処理するためのカメラ18内のオンボードユニット、及び残りの処理を実施するためのクライアントデバイス2のユニット4等）によって実行される処理にも適用されることは明らかである。さらに、クライアントデバイス2のインターフェース7は、例えば、オペレータが利用できるキーボード/マウス及びドロップダウンメニュー、ペトリ皿上に存在し且つ試料22に関する情報を含むバーコード/QRコード（登録商標）を読み取るバーコード/QRコード（登録商標）リーダー等によって、試料2

10

20

30

40

50

2に関するデータ、特に、予測が培地に依存する場合に使用される培地のタイプが入力されるのを可能にし得る。

【0042】

図2bを参照すると、第2の実施形態に従って、装置10は、例えば、対物レンズ20とカメラ32のセンサとの間で対物レンズ20の前に配置されたスペクトルフィルタのセット36に結合されたカメラ34、有利には高空間分解能CMOS又はCCDカメラを代替的に含み得る。フィルタのセット36は、ナンバーNFの別個のバンドパスフィルタで構成され、各々が、50nm以下、好ましくは20nm以下の半値全幅(FWHM)のスペクトル幅で、範囲[最小; 最大]の一部の光のみを透過するように構成されている。セット36は、例えば、典型的には24までの異なるフィルタを収容することができる
10
フィルタホイールであり、このホイールは、データ処理ユニットによって制御され、データ処理ユニットは、上記のフィルタがカメラの前を通過する、及び上記のフィルタの各々について画像キャプチャを制御するようにホイールを作動させる。

【0043】

方法

入力HSI画像の「分類」は、画像を記述するあり得るクラスのセットの中から少なくとも1つのクラスを決定することを含む。本発明の方法は、試験されることになる微生物が既にデータベースに列挙されている株の1つに属するかどうかを決定するために自動分類モデルを使用することを提案するものであり、例えば、抗菌剤に対する微生物の感受性を直接決定するため、又は微生物が特定のステレオタイプに属するかどうかさえも決定す
20
るために自動分類モデルを使用することを提案するものではない。

【0044】

特に、それぞれメチシリン耐性の黄色ブドウ球菌(MRSA)及びメチシリン感受性の黄色ブドウ球菌(MSSA)のコロニーに対するスペクトルの複数の例を各々が表している図3a及び3bを参照すると、2つのスペクトルは全く同じ外観を有しているわけではなく、従って、新しい黄色ブドウ球菌のコロニーの感受性又は耐性の性質を直接識別する分類の可能性があるとすることに留意すべきである。しかし、そのような感受性予測因子の性能は、臨床又は産業微生物学の分野において十分でないことを本発明者等は見出した。例えば、GaussianカーネルSVM予測因子の性能は、BCRにおいて70%で
30
プラトーである。

【0045】

図4を参照すると、当該方法は、ハイパースペクトル画像を得るステップ(a)の後で、コロニーのスペクトルを、上記のコロニーに対応する上記のハイパースペクトル画像のピクセルから決定するステップ(b)を含む。

【0046】

「コロニーのスペクトル」という用語は、周波数の関数としてコロニーのスケールに対して測定された光強度を表す曲線を意味すると理解される。数学的に、これは、HSI画像のチャンネル数に関するサイズベクトル(すなわち、本明細書において提供される例では223)である。

【0047】

好ましくは、このスペクトルは、上記のコロニーに対応する上記のハイパースペクトル画像のピクセル上の平均スペクトルとして決定される。実際、念のために説明すると、HSI画像は、各空間ピクセルに対して複数の対応する強度値を含む。

【0048】

この点において、ステップ(b)は、試料22において上記のコロニーを検出するように上記のハイパースペクトル画像をセグメント化し、次に、セグメント化されたピクセルにわたってチャンネル単位で強度を平均することによって典型的に説明されるように、スペクトルを決定することを有利に含む。例えば、ステップ(b)は、(例えば、画像内の丸いオブジェクトを選択するフィルタを適用すること(例えば、ハフ変換等)によって)コロニーを自動的に検出すること、及び/又は、例えば、検査技師によってコロニーを選
40
50

択する手動のステップを含む。言い換えると、コロニーのピクセルあたり $n = 2 \times 2 \times 3$ のサイズベクトルがあり、これらのベクトルの平均がコロニーを表すベクトルにされる。実際に、コロニーは、一般的に、最大サイズ $1 \times 1 \times 1$ の H S I 画像のゾーンにわたって広がっているため、平均は、約百のベクトルに対してのみ提供される必要がある。

【0049】

ハイパスベクトル画像が上記の微生物の複数のコロニーを表す場合、本発明による方法は、各コロニー、又は、例えば、培地内のサイズ又は位置に関する基準に従って選択されたコロニーのセットに適用することができる。

【0050】

一般に、セグメント化は、フィラメント又はダスト等のアーチファクトを除去することによって、関心のあるコロニー全てが検出されるのを可能にする。セグメント化は、任意の既知の様式で実施することができる。

【0051】

ステップ (b) は、有利に、スペクトルの処理、特にスペクトルの平滑化及び / 又は正規化を含む：

- 平滑化は、例えば、移動平均を決定することによって、おそらくアーチファクトであるピークを除去することを含む；
- 正規化は、スペクトルを比較可能にすることを目的とし、特に、スペクトルから平均を減算し、それをその標準偏差で除算することを含む標準正規化 (S N V) 技術を使用する。

【0052】

学習データベースが参照スペクトルを直接格納する場合、それらは、好ましくは、必要に応じて同じ平滑化及び / 又は正規化を受けたに違いないということに留意するべきである。

【0053】

分類

ステップ (c) では、(必要に応じて平滑化及び / 又は正規化された) 上記のコロニーのスペクトルは、説明したように、自動分類モデルによって、データベースにおいて列挙された株の同一性で構成された微生物クラスの中から直接分類される。複数のスペクトルが決定された場合、各スペクトルを分類することができ、結果を集計することができる。

【0054】

自動分類モデルは、説明したように、サポートベクターマシン (S V M) 又は畳み込みニューラルネットワーク (C N N) であり得る。S V M の場合、例えば、R B E (放射基底関数) カーネル S V M が選択される。

【0055】

C N N の場合、例えば、図 5 において示されているタイプのアーキテクチャが選択され、これは、本方法を実施するのに特に適している。従来、このアーキテクチャは、(入力が画像ではなくスペクトル、すなわち 1 次元のオブジェクトであるため) 1 つ以上の 1 D 畳み込み層、特徴マップの深さを増加させるための活性化層 (例えば、R e L U 関数等)、及び特徴マップのサイズが (一般的に 2 分の 1 に) 縮小されるのを可能にする 1 D プーリング層 (この場合、最大値プーリング) で構成された一連の「畳み込みブロック」を有利に含む。2 つの畳み込みブロックで十分であり得るため、非常に好ましくは、本 C N N は 2 つの畳み込みブロックのみを含むということは注目に値する。

【0056】

従って、図 5 の例において、C N N は、説明したように、3 つのブロックに分布された 1 2 の層を用いて開始される。最初のブロックは、入力としてスペクトルを受け取り (従って、 $2 \times 2 \times 3$ サイズのオブジェクトを形成し)、深度を 16 に増加させる二重畳み込み + 活性化シーケンス、次に、最大値プーリング層 (全体的な平均プーリングを使用することも可能である) を含み、出力として $1 \times 1 \times 1 \times 16$ サイズの特徴マップを有する (サイズはスペクトル次元に従って 2 で除算される)。

10

20

30

40

50

【0057】

2番目のブロックは、最初のブロックと同一のアーキテクチャを有し、新しい二重畳み込み+活性化からの出力として、 111×32 サイズの特徴マップ（深度は倍になる）を生成し、最大値プーリング層からの出力として、 55×32 サイズの特徴マップを生成する（スペクトルサイズは新たに2分の1に減少する）。

【0058】

3番目のブロックは、最初の2つのブロックと同一のアーキテクチャを有し、新しい二重畳み込み+活性化からの出力として、 55×32 サイズの特徴マップ（深さは変更されない）を生成し、最大値プーリング層からの出力として、 27×32 サイズの特徴マップを生成する（スペクトルサイズは新たに2分の1に減少する）。

10

【0059】

最後の畳み込みブロック（この場合は3番目のブロック）の出力において、CNNは、このブロックからの（最も「詳細な」情報を有する）最終的な特徴マップ出力をベクトル（1次元オブジェクト）に変換する「平坦化（flattening）」層を有利に含む。従って、例えば、 27×32 サイズの特徴マップは、 $27 * 32 = 864$ であるベクトルに切り替わる。どのレベルでもマップ/フィルタのサイズに制限はないこと、及び、上述のサイズは単なる例であることを理解されたい。

【0060】

最後に、従来通り、これは、1つ以上の全結合層（図5において示されているFC又は「dense」層）及び任意的に最後の活性化（activation）層、例えば、ソフトマックス層等をもたらす。示されている例では、第1のdense層は、 864 サイズのベクトルをより小さい 256 サイズのベクトルに変換し（これには、 $(864 + 1) * 256 = 22,1440$ のパラメータが必要であり、これは、CNNのパラメータ全ての90%であり）、さらに、第2のFC層は、 864 サイズのベクトルをサイズCの最終ベクトルに変換し、Cはクラスの所望の総数であり、上述の例では2、5、又は11である（これには $(256 + 1) * C$ のパラメータが必要である）。

20

【0061】

好ましくは、CNNは、畳み込みブロックのシーケンス、次に平坦化層、最後に1つ以上の全結合層で構成される（すなわち、正確にそれらを含む）。

【0062】

従って、パラメータの総数は200,000ほどであり、（一般的に数千万のパラメータがある）CNNとしては著しく少ないことが分かる。従って、本CNNは、適度なコンピューティングリソースを有するクライアントデバイスを含む多くのクライアントデバイス2によって使用することができる。

30

【0063】

ここでも、「直接分類」又は「エンドツーエンド」という用語は、上記のコロニーの少なくとも1つの特徴マップの事前分類又は個別抽出を行わないことを意味すると理解されることに留意するべきであり：CNNは、特徴マップの形で内部状態を自然に有するが、これらのマップは決してCNNの外部に戻されず、CNNは出力として分類の結果のみを有することが理解される。

40

【0064】

学習

好ましくは、当該方法は、サーバ1のデータ処理手段3によって、学習データベースからの自動分類モデルのパラメータを学習するステップ(a0)を含み得る。実際、このステップは、典型的には、特にリモートサーバ1によってかなり上流で実施される。説明したように、学習データベースは、それらのクラス（すなわち、微生物株の同定）に関連する全ての場合において、特定の量の学習データ、特にコロニーのハイパースペクトル画像を含んでもよく、或いはスペクトルから直接得てもよい。

【0065】

モデルの学習は、選択されたモデルに適応した、当業者に知られている任意の方法で実

50

行することができる。

【0066】

実施形態全てにおいて、学習されたモデルのパラメータは、必要であれば、分類に使用するためにクライアントデバイス2のデータ記憶手段21に格納することができる。同じモデルを多くのクライアントデバイス2に含めることができるが、1つの学習ステップのみが必要であるということに留意するべきである。

【0067】

好ましくは、考慮される微生物種に対する学習データベースは、以下のように形成される。以下のことは、上記の種の各株に対して実行される：

- いくつかの試料、好ましくは少なくとも3つの試料が生成され、例えば、抗菌剤もマ

10

ーキング剤又は染色剤も含有しない栄養寒天を注いだいくつかのペトリ皿が生成され、その寒天の上には、上記の株のコロニーが増殖する；
- 図2において示されているような装置を使用して、各試料の少なくとも1つのコロニー、好ましくは、ペトリ皿あたり、ペトリ皿の中心から異なる距離に配置されたいくつかのコロニーのハイパスpekトルのpekトルが取得及び格納され、上記のようにこれらのpekトルは処理される。最初の2つの試料のpekトルが、株の微生物クラスを学習するために使用され、他の試料（例えば、増殖を行うときの3番目の試料）のpekトルは、学習の性能を試験するために使用される。任意的に、装置の特徴の違いによって生じるpekトルの可変性（例えば、装置間の光源の可変性等）を捕捉するために、異なる捕捉装置を使用して、いくつかの試料で取得を実行することもできる；

20

- 例えば、本出願人により販売されているV i t e k（登録商標）2、又は、従来技術においてそれ自体はよく知られているeテスト若しくは拡散ディスクの使用、及びその格納によって、抗菌剤に対する株の感受性の表現型測定が行われる；

- 例えば、そのゲノムの完全な配列決定を使用し、さらに、非特許文献3において記載されているようにw g M L S Tプロファイルを確立して株のゲノムが特徴付けされ、この特徴付けは格納される。

【0068】

データベース及び予測因子の更新

例えば、本発明による予測因子によって決定されるように、データベースにおいて株が

30

【0069】

コンピュータプログラム製品

第2及び第3の態様によると、本発明は、抗菌剤に対する微生物の感受性を決定する方法を（特に、サーバ1及び/又はクライアントデバイス2のデータ処理手段3、5上で）

40

【0070】

本発明の好ましい用途

本発明は、有利に、以下の方法に組み込まれる：

- 所与の地理的ゾーンを定める臨床又は産業環境（例えば、病院の一部門、病院全体、病院のグループ、農業食品工場、飲料水供給施設等）において関心のある株を疫学的に監視する方法であって、データベースが、上記のゾーンからサンプリングされた株で構成されている、方法。従って、本発明は、食品、環境、又は製造基準に従っていない院内疾患又は微生物汚染と戦うための2つの重要な情報アイテム：すなわち、地理的サンプリング

50

ゾーンにおいて既に見られる株との新たにサンプリングされた株の同一性又は非同一性、及び抗菌剤に対するその感受性を提供する。サンプリングゾーン（例えば、病室、生産ゾーン等）に関連するこれらのデータは、例えば、これらの病原菌が病院内又は生産工場内でどのように散在しているかに関する調査が行われるのを可能にする。病院の疫学的監視に関連して、培養物全てを知識データベースに供給するために使用することができ、それらは、感受性試験を統合するかどうかにかかわらず、微生物学的診断プロセスに関連して実施され、予防範囲媒体（*prevention range media*）に関する入院スクリーニングプロセスにおいて実施されるということに留意するべきである。従って、本発明は、病院に存在する様々な耐性クローンの疫学的監視を実行する可能性を提供する；

10

- 病原菌に感染している疑いのある患者の抗生物質療法の方法。それ自体は知られているように、患者が感染の犠牲者であると疑われる場合、一般的には、感染している株の同一性及びアンチバイオグラムを知る前に、薬効範囲が広い抗生物質の組み合わせが投与され、次に、抗生物質療法は、株のアンチバイオグラムが実行された後に任意に変更される。微生物株は、通常、ペトリ皿上でコロニーを増殖させるいくつかの連続するステップを経ることによって特徴付けられる。本発明によって、最初の増殖の兆候から、株の同一性及び1つ以上の抗菌剤に対するその感受性の予測が利用可能であるため、臨床医は、アンチバイオグラムの結果を待つことなく治療を適応させることができる。

【0071】

実施例

20

MRSA及びMSSA株を同定するCNNに基づく予測因子を定めるように、本発明をメチシリンに対する黄色ブドウ球菌の50株の感受性の予測に適用した。以下の表は、学習データベースにおいて列挙されている株の各々について、ハイパースペクトルのスペクトルが取得されたコロニーの数及びメチシリンに対する感受性を特定している。

【0072】

30

40

50

【表 1】

株の API ナンバー	メチシリンに対する感受性	コロニーの総数
1412368	MSSA	145
1412369	MSSA	108
412370	MSSA	134
1502039	MSSA	188
1412148	MRSA	179
1412174	MRSA	129
1412289	MRSA	86
1412330	MRSA	111
1412343	MRSA	118
1412350	MRSA	89
1502059	MSSA	139
1502063	MSSA	159
1502098	MRSA	187
1502125	MSSA	170
1412147	MSSA	128
1412162	MSSA	153
1412277	MRSA	116
1412300	MRSA	140
1412315	MRSA	166
1412316	MRSA	127
1502094	MSSA	209
1502121	MSSA	205
1503077	MRSA	142
1503078	MRSA	164
1412156	MSSA	213
1412157	MSSA	186
1412202	MSSA	78
1502123	MSSA	142
1412145	MSSA	161
1412153	MSSA	140
1412170	MRSA	200
1412171	MSSA	127

10

20

30

40

50

1412260	MRSA	108
1412262	MRSA	81
1412278	MRSA	122
1412303	MRSA	170
1412340	MRSA	123
1502073	MSSA	172
1412175	MSSA	128
1412177	MSSA	170
1502095	MSSA	206
1502124	MSSA	160
1412152	MSSA	125
1412197	MSSA	164
1412198	MSSA	148
1502041	MSSA	175
1412232	MRSA	154
1412233	MRSA	100
1412327	MRSA	91
1412353	MRSA	85

10

20

30

40

50

図6は、図5のニューラルネットワークによる株の微生物株の予測因子の混同行列を示している。後者のグローバル精度 (global accuracy) は88%であり、クラスあたりの平均精度 (「 バランス精度 (balanced accuracy) 」) は87%である。

【 図面 】
【 図 1 】

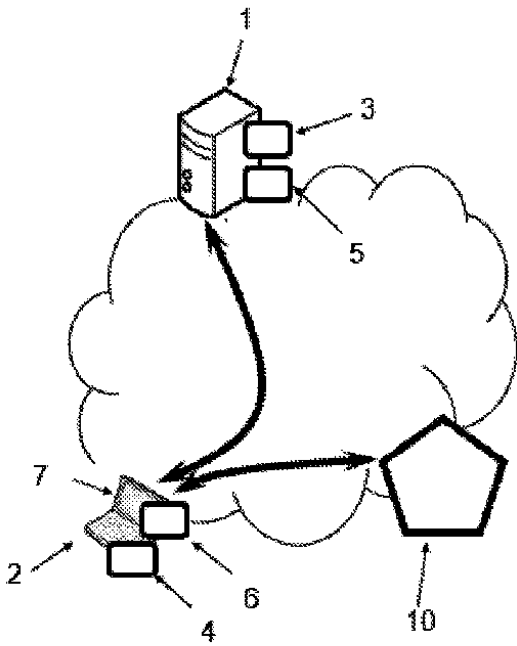


Figure 1

【 図 2 a 】

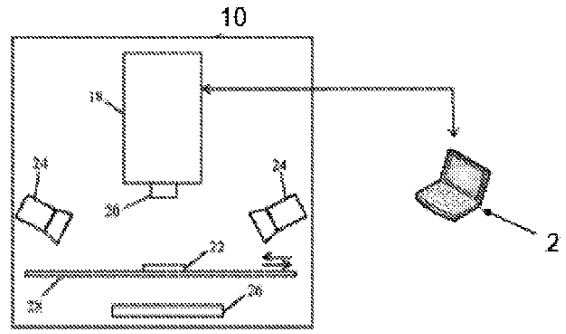


Figure 2a

10

20

【 図 2 b 】

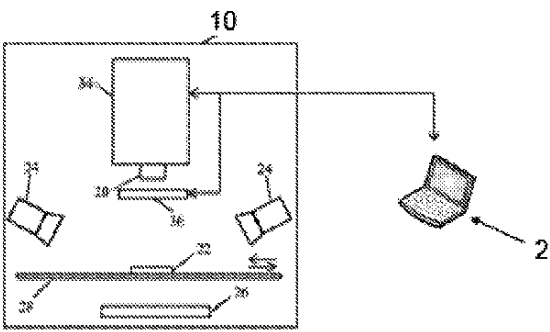


Figure 2b

【 図 3 a 】

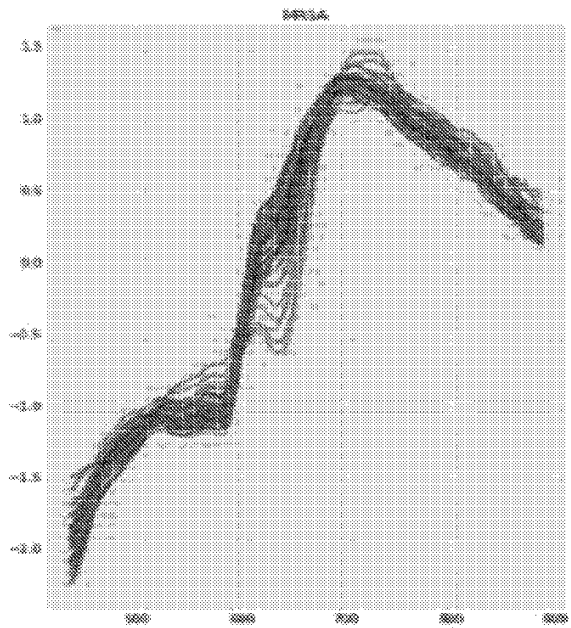


Figure 3a

30

40

50

【 図 3 b 】

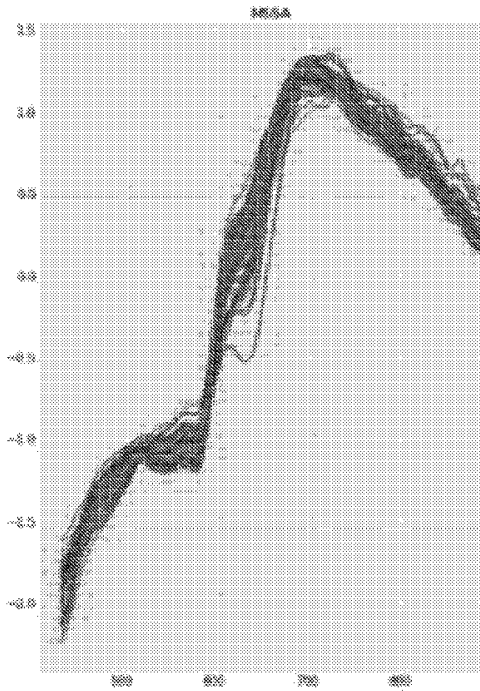
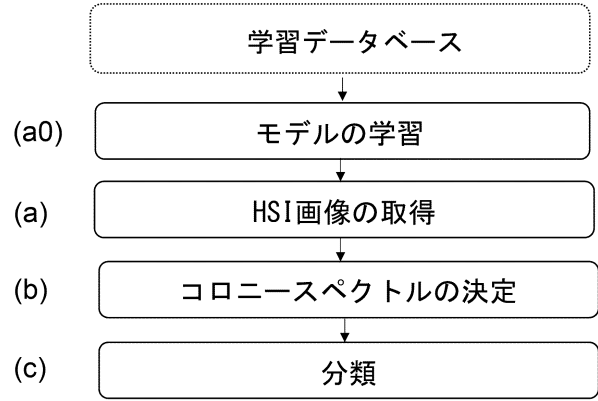


Figure 3b

【 図 4 】



10

20

【 図 5 】

層(タイプ)	出力の形状	Param #
conv1d_62 (Conv1D)	(None, 223, 16)	64
conv1d_63 (Conv1D)	(None, 223, 16)	784
activation_49 (Activation)	(None, 223, 16)	0
max_pooling1d_30 (MaxPooling)	(None, 111, 16)	0
conv1d_64 (Conv1D)	(None, 111, 32)	1568
conv1d_65 (Conv1D)	(None, 111, 32)	3104
activation_50 (Activation)	(None, 111, 32)	0
max_pooling1d_31 (MaxPooling)	(None, 55, 32)	0
conv1d_66 (Conv1D)	(None, 55, 32)	3104
conv1d_67 (Conv1D)	(None, 55, 32)	3104
activation_51 (Activation)	(None, 55, 32)	0
max_pooling1d_32 (MaxPooling)	(None, 27, 32)	0
flatten_10 (Flatten)	(None, 864)	0
dense_19 (Dense)	(None, 256)	221440
activation_52 (Activation)	(None, 256)	0
dropout_10 (Dropout)	(None, 256)	0
dense_20 (Dense)	(None, C)	257*C
activation_53 (Activation)	(None, C)	0

【 図 6 】

30

40

Figure 6

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/FR2022/052171
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>G06T 7/00</i> (2006.01)i; <i>A61B 5/00</i> (2006.01)i; <i>G01J 3/28</i> (2006.01)i; <i>C12Q 1/04</i> (2006.01)i 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) G06T; A61B; G01J; 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 Y	US 2017236281 A1 (DACOSTA RALPH [CA]) 17 August 2017 (2017-08-17) the whole document	1,9,12 2-8,10,11
Y	WO 2019122732 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 27 June 2019 (2019-06-27) cited in the application the whole document	1-12
Y	HUISUNG KIM ET AL. "Development of a multispectral light-scatter sensor for bacterial colonies" <i>JOURNAL OF BIOPHOTONICS</i> , DE, Vol. 10, No. 5, 14 July 2016 (2016-07-14), pages 634-644 DOI: 10.1002/jbio.201500338 ISSN: 1864-063X, XP055454322 the whole document	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 17 February 2023		Date of mailing of the international search report 27 February 2023
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer Boiangiu, Clara Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2022/052171

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUILLEMOT MATHILDE ET AL. "Hyperspectral imaging for presumptive identification of bacterial colonies on solid chromogenic culture media" <i>PROCEEDINGS OF SPIE; [PROCEEDINGS OF SPIE ISSN 0277-786X VOLUME 10524], SPIE, US, Vol. 9887, 27 April 2016 (2016-04-27), pages 98873L-98873L</i> DOI: 10.1117/12.2229761 ISBN: 978-1-5106-1533-5, XP060069290 the whole document	1-12
Y	ARRIGONI SIMONE ET AL. "Hyperspectral image analysis for rapid and accurate discrimination of bacterial infections: A benchmark study" <i>COMPUTERS IN BIOLOGY AND MEDICINE, NEW YORK, NY, US, Vol. 88, 21 June 2017 (2017-06-21), pages 60-71</i> DOI: 10.1016/J.COMPBIOMED.2017.06.018 ISSN: 0010-4825, XP085171351 the whole document	1-12
Y	EP 3257947 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 20 December 2017 (2017-12-20) the whole document	1-12
Y	WO 2019122734 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 27 June 2019 (2019-06-27) the whole document	1-12
Y	BOSOON PARK ET AL. "Hyperspectral microscope imaging methods to classify gram-positive and gram-negative foodborne pathogenic bacteria" <i>TRANSACTIONS OF THE AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, ST. JOSEPH, MI, US, Vol. 58, No. 1, 01 January 2015 (2015-01-01), pages 5-16</i> DOI: 10.13031/TRANS.58.10832 ISSN: 0001-2351, XP008182213 the whole document	1-12
Y	WO 2015189390 A1 (LINEA AB Q [SE]) 17 December 2015 (2015-12-17) the whole document	1-12
Y	GRAUS MATTHEW S ET AL. "Hyperspectral fluorescence microscopy detects autofluorescent factors that can be exploited as a diagnostic method for species differentiation" <i>JOURNAL OF BIOMEDICAL OPTICS, SPIE, 1000 20TH ST. BELLINGHAM WA 98225-6705 USA, Vol. 22, No. 1, 01 January 2017 (2017-01-01), page 16002, [retrieved on 2017-01-05]</i> DOI: 10.1117/1.JBO.22.1.016002 ISSN: 1083-3668, XP060082688 the whole document	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2022/052171

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2017236281	A1	17 August 2017	CA	2955976	A1	28 January 2016
				CN	106714670	A	24 May 2017
				DK	3171765	T3	01 November 2021
				EP	3171765	A1	31 May 2017
				EP	3957232	A1	23 February 2022
				ES	2894912	T3	16 February 2022
				JP	6769949	B2	14 October 2020
				JP	2017524935	A	31 August 2017
				JP	2021004890	A	14 January 2021
				PL	3171765	T3	03 January 2022
				PT	3171765	T	27 October 2021
				US	2017236281	A1	17 August 2017
				US	2020104998	A1	02 April 2020
				WO	2016011534	A1	28 January 2016
				WO	2019122732	A1	27 June 2019
EP	3728623	A1	28 October 2020				
FR	3075825	A1	28 June 2019				
JP	2021506288	A	22 February 2021				
KR	20200100790	A	26 August 2020				
US	2021079441	A1	18 March 2021				
WO	2019122732	A1	27 June 2019				
EP	3257947	A1	20 December 2017	CN	109415753	A	01 March 2019
				EP	3257947	A1	20 December 2017
				ES	2716170	T3	10 June 2019
				JP	6872566	B2	19 May 2021
				JP	2019522970	A	22 August 2019
				US	2019323948	A1	24 October 2019
WO	2017216190	A1	21 December 2017				
WO	2019122734	A1	27 June 2019	CN	111492064	A	04 August 2020
				EP	3728624	A1	28 October 2020
				FR	3075824	A1	28 June 2019
				JP	2021506286	A	22 February 2021
				KR	20200100791	A	26 August 2020
				US	2021079442	A1	18 March 2021
				WO	2019122734	A1	27 June 2019
WO	2015189390	A1	17 December 2015	AU	2015273443	A1	22 December 2016
				CA	2949732	A1	17 December 2015
				CN	106661606	A	10 May 2017
				EP	3074539	A1	05 October 2016
				EP	3351642	A1	25 July 2018
				JP	6976167	B2	08 December 2021
				JP	2017518768	A	13 July 2017
				KR	20170018346	A	17 February 2017
				US	2017121759	A1	04 May 2017
				US	2020318164	A1	08 October 2020
				WO	2015189390	A1	17 December 2015

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2022/052171

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE		
INV.	G06T7/00	A61B5/00
		G01J3/28
		C12Q1/04
ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)		
G06T A61B G01J C12Q		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 2017/236281 A1 (DACOSTA RALPH [CA]) 17 août 2017 (2017-08-17)	1, 9, 12
Y	le document en entier	2-8, 10, 11

Y	WO 2019/122732 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 27 juin 2019 (2019-06-27)	1-12
	cité dans la demande	
	le document en entier	

		-/--
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention	
"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date	"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément	
"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)	"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier	
"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens	"&" document qui fait partie de la même famille de brevets	
"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
17 février 2023	27/02/2023	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé	
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Boiangiu, Clara	

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (avril 2005)

10

20

30

40

50

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale n° PCT/FR2022/052171
--

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>HUISUNG KIM ET AL: "Development of a multispectral light-scatter sensor for bacterial colonies", JOURNAL OF BIOPHOTONICS, vol. 10, no. 5, 14 juillet 2016 (2016-07-14), pages 634-644, XP055454322, DE ISSN: 1864-063X, DOI: 10.1002/jbio.201500338 le document en entier -----</p>	1-12
Y	<p>GUILLEMOT MATHILDE ET AL: "Hyperspectral imaging for presumptive identification of bacterial colonies on solid chromogenic culture media", PROCEEDINGS OF SPIE; [PROCEEDINGS OF SPIE ISSN 0277-786X VOLUME 10524], SPIE, US, vol. 9887, 27 avril 2016 (2016-04-27), pages 98873L-98873L, XP060069290, DOI: 10.1117/12.2229761 ISBN: 978-1-5106-1533-5 le document en entier -----</p>	1-12
Y	<p>ARRIGONI SIMONE ET AL: "Hyperspectral image analysis for rapid and accurate discrimination of bacterial infections: A benchmark study", COMPUTERS IN BIOLOGY AND MEDICINE, NEW YORK, NY, US, vol. 88, 21 juin 2017 (2017-06-21), pages 60-71, XP085171351, ISSN: 0010-4825, DOI: 10.1016/J.COMPBIOMED.2017.06.018 le document en entier -----</p>	1-12
Y	<p>EP 3 257 947 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 20 décembre 2017 (2017-12-20) le document en entier -----</p>	1-12
Y	<p>WO 2019/122734 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 27 juin 2019 (2019-06-27) le document en entier -----</p>	1-12
	-/--	

1

Formulaire PCT/ISA/210 (suite de la deuxième feuille) (avril 2005)

page 2 de 3

50

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2022/052171

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>BOSOON PARK ET AL: "Hyperspectral microscope imaging methods to classify gram-positive and gram-negative foodborne pathogenic bacteria", TRANSACTIONS OF THE AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. ST.JOSEPH, MI, US, vol. 58, no. 1, 1 janvier 2015 (2015-01-01), pages 5-16, XP008182213, ISSN: 0001-2351, DOI: 10.13031/TRANS.58.10832 le document en entier -----</p>	1-12
Y	<p>WO 2015/189390 A1 (LINEA AB Q [SE]) 17 décembre 2015 (2015-12-17) le document en entier -----</p>	1-12
Y	<p>GRAUS MATTHEW S ET AL: "Hyperspectral fluorescence microscopy detects autofluorescent factors that can be exploited as a diagnostic method for species differentiation", JOURNAL OF BIOMEDICAL OPTICS, SPIE, 1000 20TH ST. BELLINGHAM WA 98225-6705 USA, vol. 22, no. 1, 1 janvier 2017 (2017-01-01), page 16002, XP060082688, ISSN: 1083-3668, DOI: 10.1117/1.JBO.22.1.016002 [extrait le 2017-01-05] le document en entier -----</p>	1-12

10

20

30

40

1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2022/052171

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2017236281 A1	17-08-2017	CA 2955976 A1	28-01-2016
		CN 106714670 A	24-05-2017
		DK 3171765 T3	01-11-2021
		EP 3171765 A1	31-05-2017
		EP 3957232 A1	23-02-2022
		ES 2894912 T3	16-02-2022
		JP 6769949 B2	14-10-2020
		JP 2017524935 A	31-08-2017
		JP 2021004890 A	14-01-2021
		PL 3171765 T3	03-01-2022
		PT 3171765 T	27-10-2021
		US 2017236281 A1	17-08-2017
		US 2020104998 A1	02-04-2020
		WO 2016011534 A1	28-01-2016
WO 2019122732 A1	27-06-2019	CN 111492065 A	04-08-2020
		EP 3728623 A1	28-10-2020
		FR 3075825 A1	28-06-2019
		JP 2021506288 A	22-02-2021
		KR 20200100790 A	26-08-2020
		US 2021079441 A1	18-03-2021
EP 3257947 A1	20-12-2017	CN 109415753 A	01-03-2019
		EP 3257947 A1	20-12-2017
		ES 2716170 T3	10-06-2019
		JP 6872566 B2	19-05-2021
		JP 2019522970 A	22-08-2019
		US 2019323948 A1	24-10-2019
WO 2019122734 A1	27-06-2019	CN 111492064 A	04-08-2020
		EP 3728624 A1	28-10-2020
		FR 3075824 A1	28-06-2019
		JP 2021506286 A	22-02-2021
		KR 20200100791 A	26-08-2020
		US 2021079442 A1	18-03-2021
WO 2015189390 A1	17-12-2015	AU 2015273443 A1	22-12-2016
		CA 2949732 A1	17-12-2015
		CN 106661606 A	10-05-2017
		EP 3074539 A1	05-10-2016
		EP 3351642 A1	25-07-2018
		JP 6976167 B2	08-12-2021
		JP 2017518768 A	13-07-2017
		KR 20170018346 A	17-02-2017
		US 2017121759 A1	04-05-2017
		US 2020318164 A1	08-10-2020
		WO 2015189390 A1	17-12-2015

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (avril 2005)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

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,N
E,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,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,I
T,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,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

ウ ジェネラル ド ゴール 2 2

(72)発明者 ルルー , デニス

フランス共和国 0 1 6 0 0 トレヴァー , アヴニユ ドゥ メーヌ 2 5 1

(72)発明者 ロシュ , ジャン マルク

フランス共和国 7 3 3 5 0 フェッソン シュル サラン , リュ プレリー デ ラ ヴィル 2 5 7

(72)発明者 ラルマン , ジョルダンヌ

フランス共和国 3 0 6 2 0 ユショー , リュ デ カンディユ 1 0

F ターム (参考) 4B029 AA07 BB01 BB02 CC02 FA11 FA15 GB06 HA04

4B063 QA01 QA06 QA18 QR74 QR84 QS39 QX01

【要約の続き】

含むのを特徴とする。