

医療用点滴投与量の高精度制御を可能にする点滴静注量計測用マイクロ流量センサの開発

Development of MEMS flow sensor for drip infusion system

研究代表者 広島市立大学情報科学研究科 講師 長谷川義大*

Yoshihiro Hasegawa

We developed a MEMS flow sensor for applied to a drip infusion system. The MEMS sensor consists of a silicone rubber layer, a film sensor, and a PDMS layer with a flow channel, which are fabricated on a plastic plate as a substrate. The film sensor has a metal heater and thermistors for the flow rate measurement element, and they formed on a thin polyimide film. In the drip infusion system, the flow sensor needs to have high sensitivity in a low flow rate range under a low driving temperature condition in order to achieve high-precision drug delivery. Therefore, calorimetric method was used as a flow rate measurement principle to increase the sensor sensitivity. Then, we set the driving condition of the sensor to 40° C or less to prevent deterioration of the infusion drug. Experiments under these conditions showed that our flow sensor had high sensitivity in the low flow rate range of 5.0 g/min or less. We also evaluated the flow rate detection using five types of liquids having the same properties as the drip infusion solution under the conditions of the driving temperature of 40° C or less and confirmed that the flow sensor could sufficiently measure each solution within the set flow rate range.

要旨

本研究では、医療用点滴システムに用いるためのMEMS流量センサの開発を行った。開発したセンサは、シリコーンゴム層、流量計測素子を備えたフィルムセンサ、液体流路を形成したPDMS層からなり、それらをプラスチック基板上に形成している。本流量センサは、点滴システムに高精度な流量計測機能を提供するため、低温度駆動条件で低流量範囲に高感度な特性を有する必要がある。そこで、センサの流量計測原理としてカロリメトリック法を採用し、また、薬液劣化を防ぐためにセンサ駆動温度を40°C以下に設定した。上記条件にてセンサを駆動し、実際の点滴に用いる薬液と同特性の液体を使用して流量計測機能の評価したところ、これらの流量計測が十分に可能であることを確認した。

1. まえがき

Micro Electro Mechanical Systems (MEMS) 技術の発展に伴い、多くのMEMSセンサが産業界にて使用されるようになってきている。センサ要素の小型化が可能なMEMS技術は、センサの低消費電力化を可能とし、また、複数の機能を一つのデバイス内に統合した高機能なセンサを実現することができる^{(1)~(4)}。フォトリソグラフィ技術を用いたバッチ生産による製造コスト低減も大きな特徴で、現在では圧力、加速度、ジャイロセンサやマイクロフォンなどの各種セ

ンサが、自動車、スマートフォン、ウェアラブルデバイスを始めとした各種機器で当たり前のように使用されるようになった。またこれらの応用は、社会インフラやヘルスケア分野にまで及んできている。更にこれらのMEMSデバイスは、一般のユーザーもウェブサイトなどを通じて手軽に入手できるようになっており、Raspberry pi や Arduino などのシングルボードコンピュータと組み合わせてMEMSシステムが構築されている例が多数報告されている^{(5)~(6)}。MEMSセンサがあらゆる分野で使用されたことでMEMSセンサの信頼性も飛躍的に向上しており、最近ではこれらのセンサの応用は、信頼性が最も要求されるバイオテクノロジー分野や医療分野にまで広がってきている^{(7)~(8)}。

点滴は、現在の医療現場において最も一般的に用いられている薬液送達手段の一つである。点滴は、薬液投与速度を維持管理しながら一定時間内に薬液の投与が行う^{(9)~(11)}。特に抗がん剤を用いた化学療法では静脈から薬液が投与されるが、薬効と副作用を考慮して、投与量及び投与速度が厳密に定められている^{(12)~(13)}。現在の点滴システムでは、点滴筒とクレンメと呼ばれるクランプを用いて薬液の投与速度制御を行っている(図1(a))。具体的には、薬液の入った点滴バッグからチューブ内に流れる薬液を点滴筒で液滴状にし、一定時間内に滴下する液滴数を数えることで投与速度を計測している。そして投与

* 助成決定時所属 広島市立大学情報科学研究科 助教

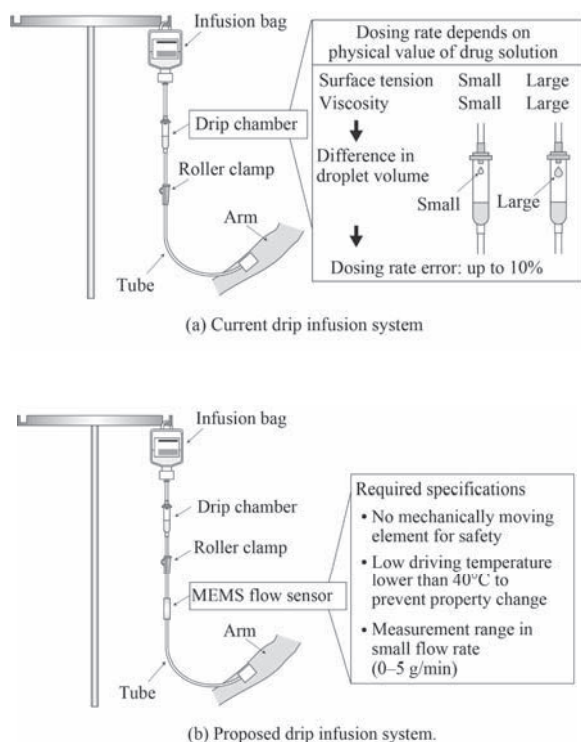


図1 現行の点滴システムの課題と提案するMEMS流量センサを

速度の調整は、クレンメでチューブを絞ることで行う。使用する点滴チューブの製品毎に、点滴箇所で滴下する1滴あたりの体積が示されているが、実際には、薬液に含まれる成分の違いなどにより、薬液の化学的性質や物理的性質（粘度や表面張力など）が変わり、1滴の体積は変化する。より厳密に薬液投与量を制御するために輸液ポンプを用いる手法も使われている。本手法では、ポンプで点滴チューブを抜くことで薬液を移動させ、投与量の制御を行う。よって投与速度はポンプでチューブを抜く圧力及びその回数で決まる。しかし、チューブは樹脂材料からなる弾性体であるため、連続的な駆動によってチューブの剛性は変化していき、時間とともに薬液投与量が変動してしまう。このように、現行の点滴薬液投与システムでは、様々な薬液に対して投与量を高精度に維持管理することは困難であり、投与量の誤差は薬液種の違いにより最大で±10%あると言われている^{(14)~(25)}。一方で、工業用の流量計測技術では、流路内に設けた浮子の運動を利用した手法が用いられている。しかしこの手法では、流路内に浮子などの可動部を設ける必要があり、作製できる大きさには限界がある。よって、点滴用途の小径チューブへ機械的計測手法を適用することは技術的な困

難を伴う。

本研究では、点滴の薬液流れを計測可能な点滴用マイクロ流量センサの開発を行った^{[1][2]}。具体的には、点滴流量計測用途に、センサの小型化が可能なMEMS技術を適用し、点滴チューブに接続可能な小径流路構造を有するマイクロ流量センサを作製した。医療用途に用いる本センサは、安全性を重視した可動部を必要としない熱式原理による計測手法を採用し、また樹脂素材を使用することで安価で使い捨て可能な構造とした。また、熱式センサの駆動温度は薬液の変質防止のために40°C以下と定めた。その低温動作下で薬液の微小流れを高精度に計測するために、カロリメトリック法を用いることで低流量域での検出感度を向上させた。更に、実際に様々な薬液を用いて流量計測を行い、本手法の計測性能を評価した。

2. 点滴用MEMS流量センサ

本研究では、点滴システム用MEMS流量センサを開発した(図1(b))。開発したセンサは、点滴チューブに直接接続可能な流路を有する。またセンサは、患者に接続する針部とクレンメの間に設置し、点滴の流量をリアルタイムに計測可能である。更にその計測した流量値に基づいてクレンメを調整することで、点滴の流量制御が可能となっている。今回、点滴に高精度薬液投与機能を付与するために、開発するセンサには下記3つの要求仕様を定めた。

- ① 薬液の変質を避けるため、センサ駆動温度は40°C以下
- ② 5g/分の低流量範囲において高感度な検出が可能
- ③ 信頼性向上のため、機械的駆動部なし

図2に作製したセンサの(a)拡大図、(b)断面図、(c)センサパターン、(d)センサ動作原理を示す。薬液流れの検出方法として、本研究では、可動部を必要としない熱式原理を採用した。流量センサは、プラスチック基板、シリコンゴム層、フィルムセンサ、流路を備えたポリジメチルシロキサン(PDMS)樹脂層の4つで構成されている。図2(a)に示すように、シリコンゴム製の中間層がプラスチック基板に貼り付けられており、その上に流路構造を備えたPDMS層が積み重ねられてい

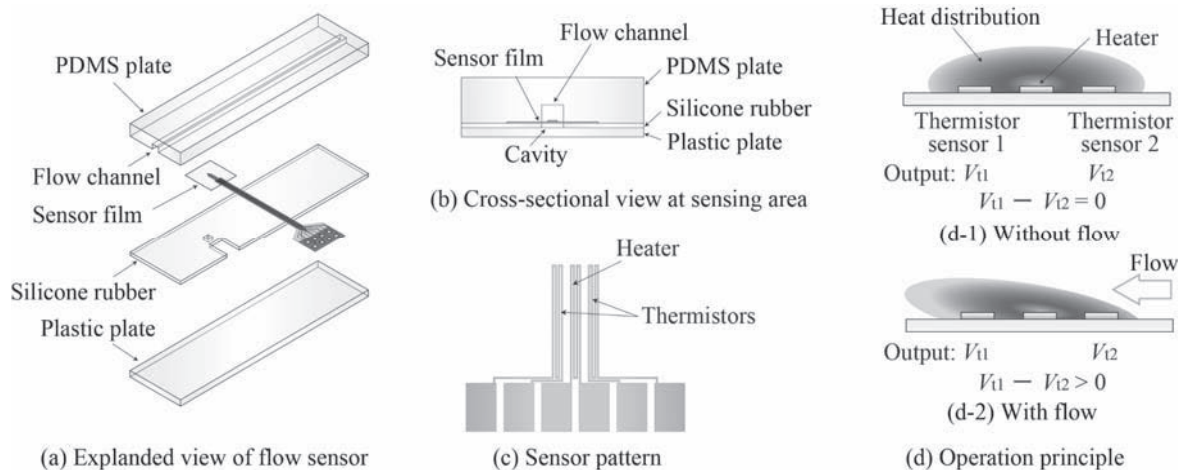


図2 点滴計測用流量センサ構造および動作原理

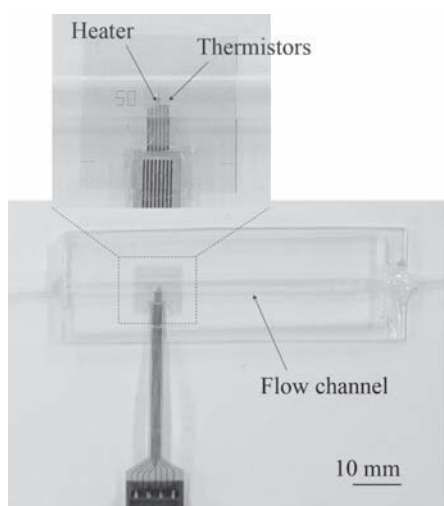


図3 作製した流量センサ写真

る。また、流量計測素子を形成したフィルムセンサがシリコンゴム層とPDMS層の間に挟まれている

(図2 (b))。流量計測素子は、図2 (c) に示すように、中央の金属ヒータとその両脇に設置した2つの温度センサで構成されている。本センサの作製プロセスについて説明する。流量計測素子である金属ヒータ、温度センサを備えたフィルムセンサは、フォトリソグラフィ技術、金属スパッタリング技術、リフトオフ技術を用いて作製した。まず、基板材料として $7.5\ \mu\text{m}$ のポリイミドフィルム上に感光性のフォトレジスト(日本ゼオン, ZPN-1150)を塗布する。その後、センサパターンが描かれたフォトマスクを介して紫外線を照射したあと現像液で現像し、フォトレジストにセンサパターンの型となる形状を形成する。次に、スパッタリング装置を用いて密着層としてクロム $10\ \text{nm}$ 、センサ材料として

金 $250\ \text{nm}$ をフォトレジストパターンが描かれたポリイミドフィルム上に成膜する。最後にセンサ素子部以外のフォトレジストを超音波洗浄しながら除去することで、基板には図2 (c) に示すパターン形状の金属素子(ヒータ、温度センサ)が形成される(リフトオフ法)。作製したヒータおよび温度センサの3つのセンサパターンは同形状であり、配線幅が $10\ \mu\text{m}$ 、長さが $780\ \mu\text{m}$ 、作製したセンサの素子の抵抗値は約 $50\ \Omega$ であった。本研究では、ヒータと温度センサの距離を 50 、 100 、 $150\ \text{nm}$ と3条件のセンサを作製した。センサ素子への信号入出力のための電気接続は、異方性導電接着剤(ACF)とフレキシブル配線基板(FPC)を用いて取り出した。この作製したフィルムセンサをプラスチック樹脂層に貼り付けたシリコンゴム層上に配置した。本センサは熱式原理であるため、センサ素子の熱容量がセンサの応答性に影響する。そのため、シリコンゴム層には、センサ素子の下部にあたる位置に開口が設けてあり、それが熱式流量センサの熱絶縁のためのキャビティとして機能する。PDMS樹脂層に設けた流路は、モールドイング法にて形成した。まずガラス板上に形成する流路部と同形状に切り出したシリコンゴム板を配置し、その上に剥離層としてパリレンC樹脂を成膜した。パリレンCは、生体適合性及び電気絶縁性を有する樹脂材料であり、常温真空下で成膜可能である。具体的には、ダイマーと呼ばれる固体の顆粒状原材料を真空化で加熱して、ダイマーを気化させる。更にこれを熱分解したモノマーが常温の真空チャンバ内に誘導され、チャンバ内全ての表面で重合するため、真空チ

チャンバ内に入れた材料の表面に均一にパリレンC膜が成膜される。また、パリレン表面は不活性な性質を持つため、剥離層としても使用することができる。次にパリレンCを成膜した板材を設置したガラス板を型に入れ、液状のPDMS（東レ・ダウコーニング、SILPOT184 W/C）を流し込み、60°Cで1時間加熱して硬化させた。流路形状の型として用いたシリコンゴム板はパリレンC膜が剥離層として機能するため、硬化したPDMSから容易に取り除くことが可能である。よって上記工程により流路構造が形成されたPDMS樹脂層が形成される。流路の形状は、幅2.4mm、高さ2.0mmの直方体形状である。これは、接続部で流速が急激に変化することを避けるために、実際の点滴チューブ（直径2.5mm）の断面積と同じになるように設計した。また、作製したセンサは、最後に全体をパリレンC膜でコーティングすることで、センサに生体適合性及び電気絶縁性を付与した。

次に作製したセンサの動作原理を説明する。センサは、ヒータが作る熱分布の変化をヒータ両脇に設置した温度センサで検出することで流量計測を行う（図2（d））。具体的には、ヒータは定温度駆動回路にて定温駆動する。金属線で形成された温度センサの抵抗値は、温度変化とともに変化するが、無風状態ではヒータ周囲の温度分布は対称であるため、ヒータに対して対称に設置された温度センサの温度は同じ値を取る。従って、各温度センサの抵抗値から計測された電圧は同じ値となる。一方で流体が流れると、ヒータ周辺の熱分布は下流側にシフトする。具体的には、下流側の温度センサが温められて抵抗値が増加する一方で、上流の温度センサの抵抗値は変化しない。よって、上流および下流の温度センサの抵抗値の差を電圧値の変化として計測することで流量計測を行う（カロリメトリック法）。このとき、センサの感度はヒータと温度センサの距離に依存する。すなわち、距離が近いほど温度センサが温まりやすくなり、感度が向上する。図3にヒータ及び温度センサを形成したフィルムセンサとセンサ全体の写真を示す。次節にて、作製したセンサ特性の評価、ヒータと温度センサ間の距離の影響について評価する。

3. センサ評価

3.1 TCR、ヒータと温度センサの距離の影響

流量特性評価の前に、センサ素子の温度に対する抵抗値変化の関係（抵抗温度係数：TCR）を実験的に取得した（図4）。具体的には、センサを恒温炉に入れ、温度を変えながら抵抗値を測定した。図4に示す関係を使用することで、ヒータの駆動温度を決定することができる。次に、流量に対するセンサ出力の関係を評価した。図5に実験装置の概略を示す。図5に示すように、純水を満たしたタンクに点滴チューブを接続し、作製した流量センサをそのチューブの下流側に接続した。タンクは高い位置に設置し、点滴と同様に重力を用いて点滴チューブ内に純水を流し込んだ。点滴筒およびクレンメを用いて流量制御を行い、一定時間に流れる純水をカップ内に貯めて秤を用いて重量を計測した。そして、得られたセンサ出力と純水の重量の関係から、センサ出力と流量の関係を取得した。図6は、ヒータと温度センサの距離が異なる3条件のセンサでのセンサ出力と流量値の関係を示す。この結果から、ヒータと温度センサの距離が近いほど、ヒータの熱が低流量領域でも伝達しやすくなるため、検出感度が高くなることを示している。従って以下の実験では、ヒータと温度センサの距離は50μmのセンサを使用した。

3.2 センサ駆動方法とセンサ感度の関係

次に、センサ駆動方法の違いによるセンサ感度の関係を調査した。本研究では、図4で示したTCRの関係を使用して、ヒータの駆動温度を46.7°Cに固定した条件で実験を行った。図7に2種類の駆動方法（a）ヒータのみを用いたアネモメトリ法、（b）ヒータと温度センサを用いたカロリメトリック

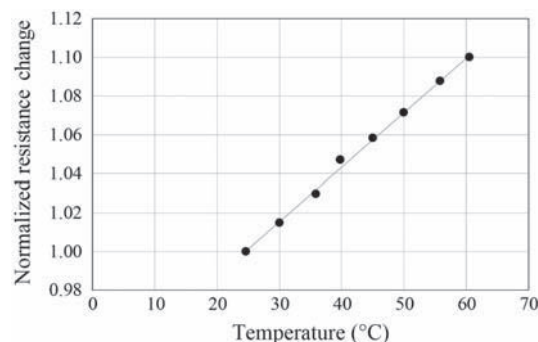
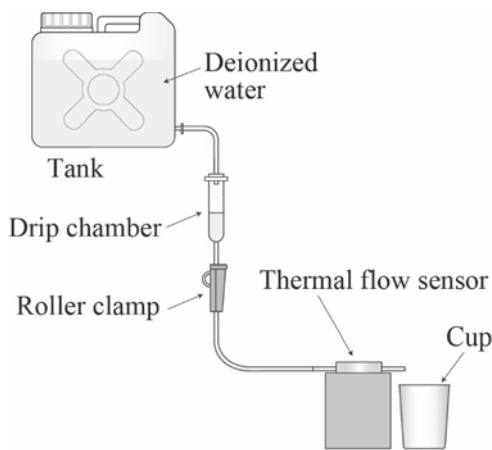
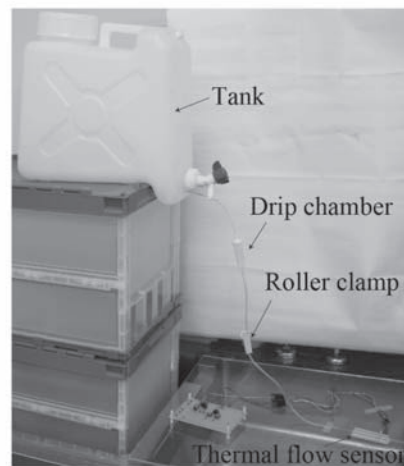


図4 抵抗温度係数



(a) Schematic view of experimental setup



(b) Photograph of experimental setup

図5 実験装置概略および写真

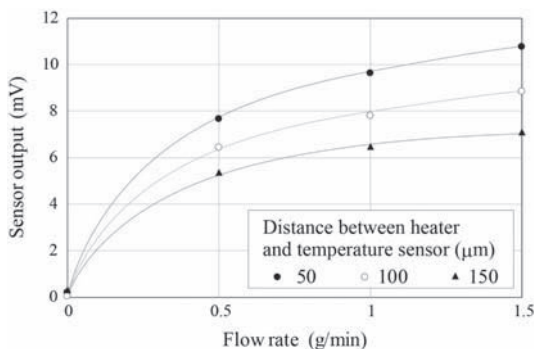


図6 ヒータと温度センサを変えた場合の流量計測結果

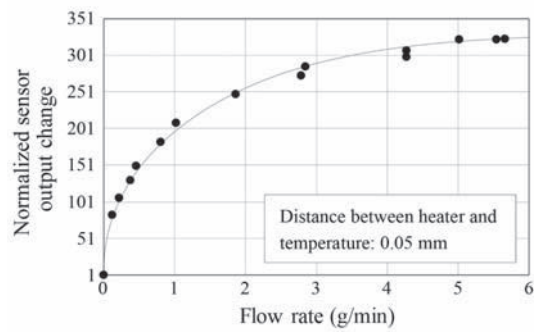
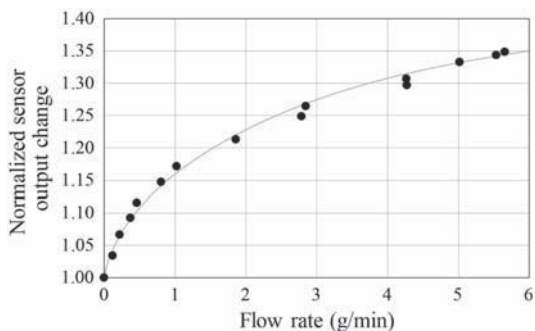


図7 駆動方式の違いによる流量計測結果

ク法の流量計測結果を示す。アネモメトリ法では、ヒータのみが流量センサ素子として使用される。このとき、ヒータが奪われる熱は流速に依存する。従って、流量はヒータ自体の抵抗値変化による電圧値変化として計測され、センサ出力には直流成分のオフセットが重畳される。一方でカロリメトリック法では、ヒータの両脇に形成した温度センサの抵抗値の差から流量が計測される。従ってこれらの差動出力を増幅して計測することができるため、アネモメトリ法と比較して低流量範囲においてもセンサ感度の向上が可能となる。図7は、各駆動方法での流量に対するセンサ出力を流量0のときの値で正規化した関係を示している。この結果から、カロリメトリック法がアネモメトリ法より感度に優れていることを確認した。

3.3 ヒータ駆動温度によるセンサ感度

次に、ヒータの駆動温度の違いによるセンサ感度の評価を行った。具体的には、純水の温度を23℃一定に保ち、ヒータの温度を変更することで、ヒータと流体との温度差に対する流量とセンサ出力の関係を評価した。ヒータ駆動温度と流体温度の差はそれぞれ、12.1, 7.5, 2.6℃の3条件で行った。それぞれの条件でのヒータの駆動温度は、35.1, 30.5, 25.6℃である。図8に示すように、温度差が大きいほど（ヒータの駆動温度が高いほど）、センサの検出感度が高いことがわかった。しかしながら、カロリメトリック法を採用した

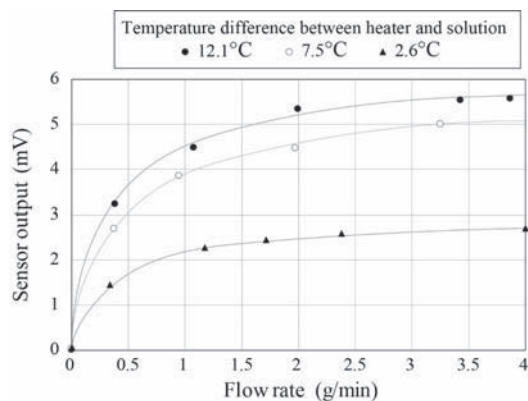


図8 センサ駆動温度を変えた条件での流量計測結果

結果、たとえ温度差が2.6°Cと小さい条件においても、作製したセンサは4.0 g/分未満の低流量範囲においても流量計測が可能であることを確認した。

3.4 様々な液体を用いた流量計測

最後に、物理量の異なる5種類の液体を使用して、流量とセンサ出力の関係を評価した。表1に使用した5種類の液体の物性値を示す。この5種類の液体は、実際に点滴で使用される薬液と同等の特性を持つものを選んだ。具体的には、純水、0.9%の食塩水（生理食塩水）、5%および10%の砂糖水（5%、10%のブドウ糖液）、そして体液の浸透圧に等しい等張液を使用した。センサの駆動温度は、液体の化学的性質の変化を防ぐために40°C以下の条件とし、本実験では駆動温度を35°C、液体温度は24°Cとした。図9に得られた流量とセンサ出力の関係を示す。使用する液体の種類に関係なく、作製したセンサは、ヒータの駆動温度が40°Cの条件下でも、特に5.0 g/分の低流量範囲において十分な流量検出性能を示した。今後は、センサ出力と液体の物性値との関係について検討していく。

4. あとがき

我々は、点滴システムにMEMS技術を適用することで、点滴投与量の高精度制御を可能とする点滴用MEMS流量センサを作製した。作製したセンサは、シリコーンゴム層、流量計測素子を備えたフィルムセンサ、流路構造を形成したPDMS層からなり、それらが基板であるプラスチック樹脂板上に積層された構造となっている。センサのサイズは70 mm × 25 mm、流路は幅2.4 mm、高さ2.0 mmの

直方体で、点滴チューブと同じ断面積となっている。流量計測素子は、金属ヒータとその両脇に設置した温度センサから構成されており、流量計測法には、流体が流れることで起こるヒータの熱分布の変化を2本の温度センサで差分検出し、低流量範囲で高感度なセンサが実現できるカロリメトリック法を用いた。また、点滴で使用する薬液の変質を避けるためにセンサの駆動温度を40°C以下に設定したが、作製したセンサは、例え駆動温度と流体温度の差が2.6であっても、5.0 g/分以下の低流量範囲で十分に流量計測可能であることを確認した。最後に、実際に点滴で使用する液体と同等の性質を有する5種類の液体を用いて流量計測機能を評価したところ、何れの液体においても作製したセンサは、40°C以下の駆動温度で5.0 g/分以下の低流量範囲の計測が可能であることを実証した。

発表論文

- [1] C. Shimohira, Y. Hasegawa, K. Taniguchi, M. Matsushima, T. Kawabe, M. Shikida, Thermal flow sensor operated under 40 degrees Celsius for controlling small dosing rate in drip infusion system, Tech. Dig. of 45th International Conference on Micro & Nano Engineering (MNE2019), Rhodes, Greece, Sep. (2019), PC65., 2019年9月
- [2] 下平 千尋, 長谷川 義大, 谷口 和弘, 松島 充代子, 川部 勤, 式田 光宏, 点滴システムへの応用を目指したマイクロ流量センサの開発, 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム」2019年11月
- [3] C. Shimohira, Y. Hasegawa, K. Taniguchi, M. Matsushima, T. Kawabe, M. Shikida, Development of micromachined flow sensor for drip infusion system, 2020年3月投稿 (投稿中)

参考文献

- (1) R.S. Muller, R.T. Howe, S.D. Senturia, R.L. Smith, R.M. White, "Microsensors", IEEE Press, New York, 1991.
- (2) L. Ristic, "Sensor Technology and Devices", Artech House, Inc., Norwood, 1994.
- (3) S.D. Senturia, "Microsystem design", Kluwer Academic Publishers, Boston / Dordrecht / London, 2001.
- (4) Y.B. Gianchandani, O. Tabata, H. Zappe,

表1 使用した5種類の液体の物性値

Solution	Density (g/cm ³)	Viscosity (mPa·S)	Thermal conductivity (W/m·K)
Deionized water	0.998	1.002	0.602
0.9 % sodium chloride solution	1.004	1.018	0.599
5% sugar water	1.016	—	—
10% sugar water	1.036	—	—
Isotonic solution	—	—	—

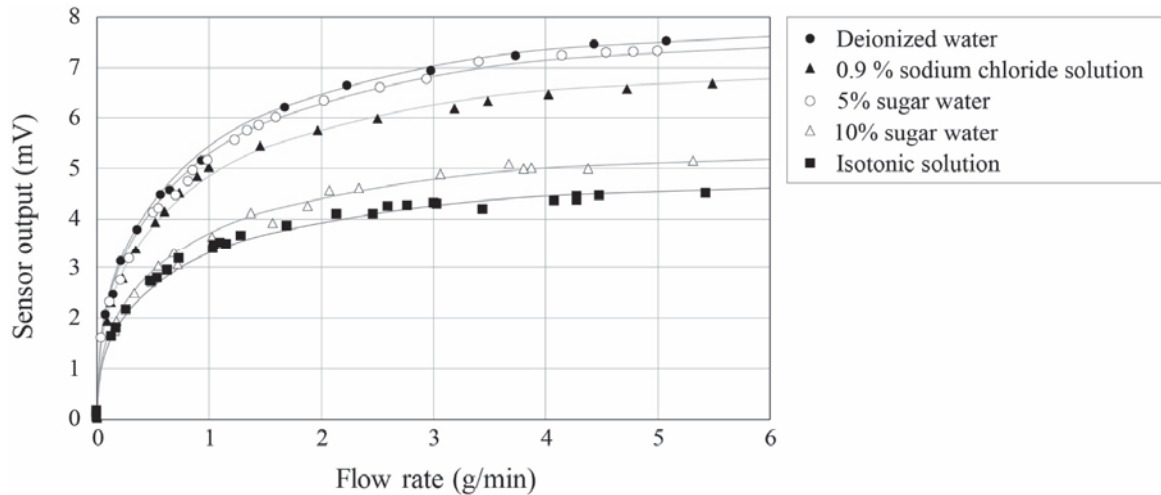


図9 5種類の液体を用いた流量計測

- “Comprehensive Microsystems, vol.2-3, Elsevier B.V., Amsterdam, 2008.
- (5) B. Idjeri, M. Laghrouche, J. Boussey, “Wind measurement based on MEMS micro-anemometer with high Accuracy using ANN technique”, IEEE Sensors Journal, 17, 13, (2017), pp. 4181-4188.
- (6) Yashdeep, G.R. Biswal, T. Choudhury, T. Islam, S.C. Mukhopadhyay, “Design and Modeling of MEMS-Based Trace-Level Moisture Measurement System for GIS Applications in Smart Grid Environment”, IEEE Sensors Journal, 17, 23, (2017), pp. 7758-7766.
- (7) Chun-Hao Chen, Rong-Zhang Hwang, Long-Sun Huang, Shi-Ming Lin, Hsiao-Chin Chen, Yu-Che Yang, Yu-Tso Lin, Shih-An Yu, Yo-Sheng Lin, Senior Member, IEEE, Yiao-Hong Wang, Nai-Kuan Chou, and Shey-Shi Lu, “A Wireless Bio-MEMS Sensor for C-Reactive Protein Detection Based on Nanomechanics”, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 56, 2, (2009), pp.462-470.
- (8) Gisela Lin, R.E. Palmer, K.S.J. Pister, K.P. Roos, “Miniature heart cell force transducer system implemented in MEMS technology”, IEEE Transactions on Biomedical Engineering”, 48, 9, (2001), pp.996-1006.
- (9) R. Ausman, “Intravascular Infusion Systems: Principles and Practice”, Springer, (2012), p. 50.
- (10) Y. Sawada, H. Harashima, M. Hanano, Y. Sugiyama, T. Iga, “Prediction of the plasma concentration time courses of various drugs in humans based on data from rats”, Journal of Pharmacobio-Dynamics, 8, 9
- (11) K. Raymond, D.J. Morgan, “The effect of infusion time on the time course of drug concentration in blood”, Journal of Pharmacokinet Biopharm, 8, 6, (1980), pp. 573-582.
- (12) A. G. Perry, P. A. Potter, W. Ostendorf, Clinical Nursing Skills and Techniques, Mosby, (2013), p. 361.
- (13) R. J. Mason, V. C. Broaddus, T. Martin, Jr. K. Talmadge, D. Schraufnagel, J. F. Murray, J. A. Nadel, “Murray and Nadel’s Textbook of Respiratory Medicine”, Saunders, (2010), p. 1345.
- (14) R. Leor, B. Rabinowitz, E. Kaplinsky, “A system for the measurement of drop volume of intravenous

- solutions”, Proceedings. Computers in Cardiology, (1989).
- (15) X. Zhang, O. A. Basaran, “An experimental study of dynamics of drop formation”, Physics of Fluids 7, 1184, (1995)
- (16) S. Leon, B.C. Andrew, “Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics”, McGraw-Hill Education, (2004).
- (17) G. Doyle, J. McCutcheon, “Clinical procedures for safer patient care”, BCcampus open textbook, (2015).
- (18) H. Plagge, J. Golmick, D. Bornand, S Deuster, “Evaluation of the dead volume in intravenous shortterm infusion”, European Journal of Hospital Pharmacy, 16(2), (2010), pp.31-37.
- (19) K. Yoshida, M. Fukusaki, M. Sato, “The Evaluation of Infusion Volume Error in Drip Control System of an Infusion Pump on Catecholamine”, Japanese society of occupational medicine and traumatology, 59, 4,
- (20) 吉岡憲昭, 堀内邦雄, 点滴口傾斜による液下体積変化に関する研究, 医療機器学, Vol. 79, No. 4, p. 244
- (21) 堀内邦雄, 点滴口傾斜による液滴の体積変化に関する研究, 医機学, 2018, Vol. 88, No. 4, p. 426
- (22) 江崎隆, 越智せりか, 波止元裕美, 山本智恵, 松谷郁美, 村上美香, 貝原恵子, 小野川靖二, 高カロリー点滴の流量誤差, 静脈経腸栄養, Vol. 27, No. 1, p. 511, 2012年
- (23) 伊坂智光, 日高尚子, 小針聡司, 長嶋浩貴, 点滴注射薬の臨床試験における輸液ポンプの流量誤差に関する検討と対策, 臨床薬理, Vol. 47, p. S282, 2016年
- (24) Hao Fangfang, Liu Wenjuan, Pan Xinting, Sun Yunbo, Relationship between dropping rate and droplet coefficient and its influence on calculation accuracy of intravenous infusion speed, Hulixue Zazhi, Vol. 34, No. 9, pp. 47-50, (2019).
- (25) NORGIA Michele, MAGNANI Alessandro, MELCHIONNI Dario, MELCHIONNI Dario, PESATORI Alessandro, Drop Measurement System for Biomedical Application, IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, Vol. 64, No. 9, pp. 2513-2517, (2015).