



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202409264 A

(43)公開日：中華民國 113 (2024) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：112118742 (22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 19 日
(51)Int. Cl. : C12M1/34 (2006.01) G01N21/27 (2006.01)
(30)優先權：2022/08/30 西班牙 P202230778
(71)申請人：西班牙商樂耐斯潘吉亞公司 (西班牙) THENEXTPANGAEA S.L. (ES)
西班牙
(72)發明人：弗南德茲摩里諾 馬塔 FERNANDEZ MORENO, MARTA (ES)；弗南德茲蘇雷
艾莉西亞 FERNANDEZ SUAREZ, ALICIA (ES)；嘉西亞歐索里奧 弗南度 GARCIA
OSORIO, FERNANDO (ES)；曼寧德茲帕瑞迪 紀堯姆 MENENDEZ PAREDES,
GUILLERMO (ES)；瑞可弗南德茲 宙斯 RICO FERNANDEZ, JOSE (ES)；聖斯
摩洛 路易士米戈 SANZ MORAL, LUIS MIGUEL (ES)；索利亞瓦里斯 克萊拉
SORIA VALLES, CLARA (ES)
(74)代理人：林志剛
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：8 項 圖式數：5 共 23 頁

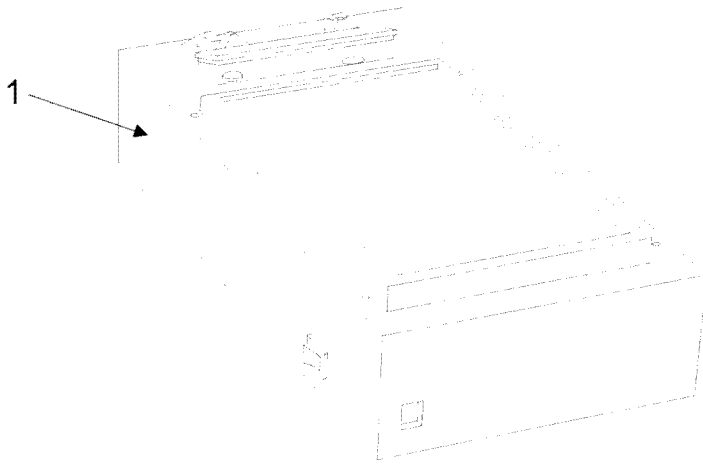
(54)名稱
工業病原體檢測裝置
(57)摘要

一種檢測樣本(2)中病原體的裝置(1)。該裝置(1)包括帶照明源的反應用殼體一(10)和兩個隔室(4)。每個隔室(4)都有反應管(12)固定在照明源可以照到的位置。每個隔室(4)都包括光電探測器，用於模擬檢測由反應管(12)反射的部分光信號。該裝置具備攝像頭(13)，用於同時拍攝安有反應管(12)的兩隔室(4)的數位圖像。此外還有加熱器(17)，用於加熱反應管(12)。利用處理裝置將類比資訊與從各反應管(12)圖像中獲得的數位資訊進行比較，並與表明樣本中存在特定病原體的病原體對應預期值進行比較。

指定代表圖：

符號簡單說明：

1:裝置



【圖 1A】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

工業病原體檢測裝置

【英文發明名稱】

DEVICE FOR DETECTING INDUSTRIAL PATHOGENS

【中文】

一種檢測樣本(2)中病原體的裝置(1)。該裝置(1)包括帶照明源的反應用殼體一(10)和兩個隔室(4)。每個隔室(4)都有反應管(12)固定在照明源可以照到的位置。每個隔室(4)都包括光電探測器，用於模擬檢測由反應管(12)反射的部分光信號。該裝置具備攝像頭(13)，用於同時拍攝安有反應管(12)的兩隔室(4)的數位圖像。此外還有加熱器(17)，用於加熱反應管(12)。利用處理裝置將類比資訊與從各反應管(12)圖像中獲得的數位資訊進行比較，並與表明樣本中存在特定病原體的病原體對應預期值進行比較。

【指定代表圖】圖 1A

【代表圖之符號簡單說明】

1:裝置

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

工業病原體檢測裝置

【英文發明名稱】

DEVICE FOR DETECTING INDUSTRIAL PATHOGENS

【技術領域】

【0001】本發明屬於工業病原體檢測領域，具體而言，是細菌、病毒、原生動物或其他能影響公共健康和/或環境健康的生物體的檢測。本發明涉及一種易於使用的可攜式病原體(如軍團菌或李斯特菌)檢測裝置。

【先前技術】

【0002】工業病原體定義為可在人力作業環境中引起公共健康問題和/或環境問題的微生物。

【0003】因此，這些病原體的檢測是重點工作物件和監管控制物件。下文給出了該定義兩個特別有代表性的示例：軍團菌和李斯特菌。

【0004】(1) 嗜肺軍團菌常稱軍團菌，屬於軍團菌屬菌種。它普遍存在於自然水生環境中，但也可見於建築物給水網路和需要水來運作的系統。

【0005】軍團菌引起的感染稱為軍團病。它可以表現為發熱性疾病，可以是輕症(皮蒂亞克熱)或嚴重的非典型

病原體肺炎(軍團病)。軍團病通過吸入噴霧由呼吸道感染。因此，空調、加濕器、露水機等都是可能的傳染源。由於近期觀察到病例數量顯著增加，當局已採取措施，對立法做出修改，要求提高軍團菌的管控頻率。

【0006】 (2) 單核細胞增生李斯特菌存在於不同環境中，包括土壤、水、植被，甚至動物體內。人類感染通常由食品污染引起，因為這種細菌能在冷藏食品或經過其他保藏方法處理的食品中生存乃至繁殖。

【0007】 感染單核細胞增多李斯特菌會引起李斯特菌病，根據嚴重程度可分為中症(如發燒、肌肉疼痛或噁心)和重症(如頭痛、肌肉僵硬、意識錯亂、失去平衡或驚厥)。李斯特菌病能導致非常年幼者、老年人或免疫系統受損者死亡。

【0008】 工業病原體檢測技術有好幾種，大致可分為三類：

【0009】 微生物培養：這是參比技術，有若干標準試驗。這種技術需要較長的培養期(長達7天)、非常特殊的培養手段、漫長的樣本製備過程等。

【0010】 分子方法(qPCR)：是更快、更靈敏的技術，可以檢測到濃度很低的遺傳物質。然而，目前這種技術需要使用配備專業設備及人員的實驗室。

【0011】 免疫學試驗：以抗原-抗體相互作用為基礎，但這種相互作用必須用到視覺化技術。檢測的具體特徵會根據所使用的視覺化技術而有所不同。在某些情況

下，還需要專業實驗室和更長的含量測定時間，如酶聯免疫吸附測定(ELISA)。但有些情況下可使用側向流試紙條快速獲得結果，儘管這樣靈敏度較低，且無法量化病原體水準。

【0012】人們注意到，目前的技術存在缺陷。大都耗時較久(有時長達2周左右)，人力及設備成本昂貴。有的技術提供的則是定性或不可靠的結果。

【發明內容】

【0013】本發明是一種根據申請專利範圍實現的裝置，其構思考慮到了已知問題。本發明的具體實施方式定義在從屬申請專利範圍中。

【0014】該裝置的一個總體優點是，它可以以雙重方式採集資料。它會記錄兩個不同性質的獨立信號，一個是來自攝像頭的數位信號，另一個是來自光電探測器的類比信號。類比信號之後也會轉成數位信號。

【0015】該裝置的特定實施方式還有一個優點，即允許兩種操作模式。第一種模式用相同濾光片採集兩個隔室的數位及類比圖像。其中一個隔室裝有樣本，另一個裝有無菌物質。這種操作模式最大限度提高了檢測的準確性和穩健性。兩個信號被單獨處理。只有兩者均表明檢測呈陽性，裝置的最終分析結果才會顯示為陽性。或者，在裝置的第二種操作模式下，每個隔室會檢測到兩個獨立的信號。通過使用特定濾光片對每種病原體進行檢測反應，並

允許同時檢測兩種不同的病原體，便能對每個信號單獨操作。

【圖式簡單說明】

【0016】本發明的實施方式僅在附圖中進行了示例性說明。附圖各圖對類似元件採用了相同標號。

【0017】[圖1A]展示了分析裝置的外觀。圖1B-1C是裝置的結構示意圖。[圖1B]為分解圖。[圖1C]展示了裝置內部。

【0018】[圖2A]為裝置反應用殼體的詳細透視平面圖。[圖2B]為平面圖。[圖2C]為剖面圖。

【0019】[圖3]為示意圖，展示了樣本病原體檢測程式中與製備相關的階段。

【0020】[圖4]為示意圖，展示了樣本病原體檢測程式中與資訊採集和分析相關的階段。

【0021】[圖5]展示了裝置的圖形介面。

【實施方式】

【0022】本文參照下述元件編號(但不局限於此)給出了本發明的多種實施方式，以便增進理解。

【0023】圖1A展示了裝置1的外觀。裝置1的尺寸有縮減，如縮減為125×253×50毫米。圖1B-1C展示了裝置的內部結構。該裝置為可攜式，可以快速檢測工業病原體，非專業人員也能輕鬆使用。

【0024】圖1B展示了裝置1的分解圖。設備頂部可以看到頂蓋2和觸控式螢幕3的所在位置，其中觸控式螢幕是使用者介面(如製造商Jun-Saxifragelec的E349_Keyboard型螢幕)，對操作和結果進行顯示和控制。還能看到用於樣本處理的殼體一10、主要用於電子器件的殼體二11，及通斷開關5[如製造商泰科電子(TE Connectivity)/P&B的PRASA1-16F-BB000型開關]。圖中的底蓋6和外框7賦予了裝置結構完整性，電源連接8負責為設備供電。

【0025】圖1C展示了裝置內部。可以看到殼體一10如何被用於反應，如何被分成兩個單獨隔室4。每個隔室4都有樣本托9，用於放置和固定(如通過插入)裝有樣本的管子(未顯示)。殼體一10內還有一對分別指向各隔室4的LED燈15。殼體二11主要用於放置電子元件，如處理器11a。後文各圖更詳細地說明了反應殼體一10的上述及其他元件。

【0026】圖2A-2C是反應用殼體一10的詳細平面圖。圖2A是透視圖。圖2B是平面圖。圖2C是B-B線上的放大剖面圖。三圖一起說明。反應管12位於樣本托9內，它被安裝固定於此。每個樣本托9均與攝像頭13(如製造商Adafruit的Raspberry Pi Camera 3099型攝像頭)保持一定距離。攝像頭13前置有壓克力濾光片14a[如寶克力®(PLEXIGLAS®) ORANGE 2C04 GT]。壓克力濾光片14a允許選擇與檢測機制相容的波長。可以通過改變濾光片特徵對檢測做出改動，使檢測適應不同的病原體檢測反應和樣

本類型。檢測提取自同一來源的兩種不同病原體很有意義。因此，可以用藍色LED二極體15(如Cree LED的C503B-BCN-CV0Z0462型發光二極體)對每個隔室內的樣本4進行照明。光電探測器，尤其是光電二極體16，會產生與檢測到的光信號[如濱松光子(Hamamatsu Photonics)的S1223-01等廣譜LED]強度成比例的電(類比)信號。殼體10底部裝有加熱器17，最好是電阻式矽酮型軟性加熱器[如歐時電子(RS Components)的245-528型加熱器]。一般來說，將樣本溫度提高到25至99°C的範圍就已足夠，但具體可能根據各反應的需要而變化。殼體一內還有放大電信號的放大器18(如金氧半場效電晶體)、兩樣本隔室4間的物理隔牆19，以及帶保護蓋20的透鏡。

【0027】值得一提的是，反應用殼體一10內的部件分佈設計改善了待研究光信號的檢測。部件位置考慮到了主要輪廓條件，以確保各元件和整體元件的優化運行，讓裝置1盡可能緊湊。每個隔室4都裝有反應管12，由相應的LED 15直接提供照明。由透鏡保護蓋20、壓克力濾光片14b、光電二極體16組成的類比光學元件垂直於LED 15和反應管12的連接線。兩個隔室4由牆19隔開。從圖中可以看出，殼體10兩側以上述隔牆19為對稱線呈對稱形狀。

【0028】平面圖提供了多個原型尺寸，殼體10內置有反應管12、攝像頭13、壓克力濾光片14、一對LED 15、一對光電二極體16、加熱器17、放大器18。上述部件可以在這些尺寸下正確運行。各部件間的關聯辦法同樣如圖2A-

2C所示。應當理解的是，這些辦法不是唯一的，還存在其他可能辦法。除上述部件以外，還有其他商用部件適用。

【0029】圖3以流程圖的形式描述了病原體檢測程式20中與分析反應的樣本處理和裝配有關的幾個階段。病原體檢測方法的第一階段是樣本預處理階段21，這是製備樣本的階段。樣本預處理階段21又包括若干階段。首先是混合步驟31：將一組特別配製的試劑和化學溶液混合，以實現必要轉化，使生物檢測測定得以進行。因此，處理階段21的第二步為裂解步驟32，目的是破壞微生物的膜和/或細胞壁，使DNA或其他遺傳物質可在培養基中獲得。

【0030】裂解步驟32的簡單操作流程包括：用一次性塑膠移液管將樣本轉移到內含裂解液(如濃度為100毫摩爾每升的氫氧化鈉)的樣本提取罐上。

【0031】裂解步驟32的另一個備選操作流程主要處理低濃度樣本。為此，裂解步驟32包括將樣本裝入注射器，用0.20至0.50微米的濾膜過濾[如聚偏氟乙烯(PVDF)材質的濾膜]，將裝有裂解液的新預充注射器連接到同一濾膜上，將洗脫液收集到帶滴液分配器的罐子中，用於後續操作。兩個操作流程均可將無菌對照水樣作為陰性對照，對其執行相同程式。

【0032】病原體檢測程式的第二階段為反應階段22，其中包括樣本放置步驟33，該樣本已經與進行生物檢測所需的化學和生物試劑混合。同樣，還有無菌物質放置步驟34，該物質也已為建立陰性對照經過混合。檢測以酶促核

酸擴增反應為基礎。該反應可在恆溫下進行，如重組聚合酶擴增(RPA)或環介導等溫擴增；或利用溫度迴圈，如聚合酶鏈反應(PCR)。所有這些情況都包括螢光標記物，其在一定條件和波長下的螢光發射強度將與樣本中的病原體數量成比例。為了對每種病原體進行特異性檢測，有必要設計製造鏈長介於20到40個鹼基對之間，稱為寡核苷酸和/或探針的DNA短序列。這些序列的正確設計對於正確進行病原體檢測至關重要。這些組分將被添加到其餘的化學試劑中，形成反應混合物，再將樣本或陰性對照物添加進去。

【0033】接下去，圖4延續上述內容，介紹了檢測病原體的幾個流程階段。第三階段為資料獲取階段23，包括類比資訊(由光電探測器產生)收集步驟34和數位資訊(由攝像頭產生)收集步驟35。兩個步驟可同時進行。病原體的存在以特定方式啟動反應，發射出光信號，信號強度與樣本中存在的病原體數量成比例。該裝置配有波長確定的照明源和兩個互補的檢測機制：光電探測器和攝像頭。

【0034】接著進行到第四階段，即資料預處理階段24。其中包括類比雜訊過濾步驟37(光電二極體電壓信號內)和數位雜訊過濾步驟38(攝像頭圖像內)。類比信號在轉換步驟39中數位化。歸一化步驟40在資料預處理階段24後執行，對像素值(數位資訊)和光電探測器測量到的電壓值(類比資訊)應用移動平均法。這些操作的結果在儲存步驟41被儲存到臨時資料庫(如InfluxDB)中。

【0035】接著進行到第五階段，即預測階段25。這個階段會從資料庫收集資料預處理階段24的已儲存資訊。預測階段25包括決策演算法應用步驟42。決策演算法可以結合人工智慧模型(如機器學習類)來提高預測準確性或靈敏性。如已進行陰性對照，則需執行步驟43，測量樣本在實驗過程中相對於陰性對照組所產生的螢光增量。根據螢光水準的增量來確定樣本結果是陽性還是陰性。此外，可以通過信號強度並與該病原體的已知值資料庫進行比較，來確定檢測到的病原體的豐度。

【0036】最後，在第六階段，即視覺化階段26，通過使用者介面顯示檢測結果。

【0037】圖5是視覺化階段結果的圖形表示示例。結果顯示在可觸控螢幕上。螢幕充當使用者介面，方便使用者與設備互動。可以用開始/停止按鈕26a啟動或結束設備測量。狀態26b顯示了裝置所處的狀態。裝置能自動調溫並顯示以下狀態：加熱和就緒。裝置自動調溫以達到最佳反應溫度時顯示加熱。就緒表示裝置已經達到最佳溫度，可以開始測量。測量開始時，過程進度條26c即時更新，螢幕上顯示26d預測階段獲得的測量結果。時間以分鐘為單位顯示在橫坐標軸上，縱坐標軸顯示以相對螢光單位(RFU)測量的螢光強度。實驗完成後，可通過匯出按鈕26e匯出生成資料，生成歷史結果分析。最後顯示測量結果26f。測量結果會指出是否檢測到病原體，並酌情顯示與檢測到的病原體數量成比例的定量值。

【0038】本發明的實施方式包括以下優點：

【0039】便攜：該裝置易於運輸，使用地點無需具備任何特定條件。

【0040】操作自主：該裝置可完成工業病原體分析的完整流程，包括必要時的樣本濃縮。

【0041】分析迅速：可在幾分鐘內獲得可靠結果。

【0042】特異性：使用基因識別技術可以明確確定樣本中的一種或多種特定病原體，如軍團菌種、李斯特菌種、沙門菌種、大腸桿菌、梭菌種、彎曲桿菌種、諾如病毒、弓形蟲、葡萄球菌種、克羅諾桿菌種、弧菌種或耶爾森菌種等。

【0043】操作簡單：分析無需使用任何專業設備或由專業人員進行。

【0044】用途廣泛：可以針對多種樣本(如水、表面或空氣)分析病原體是否存在。

【0045】定量分析能力：該裝置可以通過比較測得的信號強度和已知值來量化特定病原體的豐度。

【0046】技術融合：軟體、硬體和生物技術元素的結合具有協同作用，這種作用提高了設備的分析性能。

【0047】數位化資料：分析結果為數位格式，可以輕鬆分享整合到工業設施管理平臺中。

【0048】模組化：略微改變配置，為各病原體(如兩種不同的細菌)選擇不同光學長度，即可同時分析若干樣本或同一樣本中的不同病原體。

【0049】本文說明了特定實施方式，但不應將本發明解釋為受此局限。本發明的範圍由所附權利要求的範圍決定。

【符號說明】

【0050】

- 1:裝置
- 2:頂蓋
- 3:觸控式螢幕
- 4:樣本隔室
- 5:開關
- 6:底蓋
- 7:外框
- 8:電源連接
- 9:樣本托
- 10:殼體一(反應用)
- 11:殼體二(電子器件用)
- 11A:處理器
- 12:反應管
- 13:攝像頭
- 14a,14b:壓克力濾光片
- 15:發光二極體(LED)
- 16:光電二極體
- 17:加熱器

- 18:放大器
- 19:隔牆
- 20:透鏡保護蓋
- 21:樣本預處理階段
- 22:反應階段
- 23:資料獲取階段
- 24:資料預處理階段
- 25:預測階段
- 26:視覺化階段
- 26a:開始/停止按鈕
- 26b:設備狀態
- 26c:實驗進度條
- 26d:測量視覺化
- 26e:結果匯出按鈕
- 26f:測量結果
- 31:混合步驟
- 32:裂解步驟
- 33:樣本放置步驟
- 34:無菌物質放置步驟
- 35:類比資訊收集步驟
- 36:數位資訊收集步驟
- 37:類比雜訊過濾步驟
- 38:數位雜訊過濾步驟
- 39:轉換步驟

- 40:歸一化步驟
- 41:儲存步驟
- 42:決策演算法應用步驟
- 43:螢光增量測量步驟

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種檢測樣本中病原體的裝置，其包括：

反應用殼體一，其包括：

一個照明源；

兩個隔室，其中，每個隔室都將反應管固定在能被照明源照到的位置，每個隔室都包括一個光電探測器，用於模擬檢測由反應管反射的部分光信號；

一個加熱器，用於加熱反應管；

一個攝像頭，用於同時拍攝兩個隔室的數位圖像，其中，數位圖像包括反應管在內；

該裝置還包括：

一個處理裝置，用於：

將從各反應管反射的部分光信號獲得的類比資訊與從各反應管圖像獲得的數位資訊進行比較；

將數位資訊和已經數位化的類比資訊與對應於特定病原體的預期值進行比較，確定樣本中是否存在病原體。

【請求項2】如請求項1之裝置，其中，照明源包括兩個LED，每個LED為一個隔室提供照明，隔室間由牆隔開，光電探測器包括一個光電二極體和一塊配套濾光片。

【請求項3】如請求項1或2之裝置，其中，攝像頭包括一塊與光電二極體濾光片相同的濾光片。

【請求項4】如請求項1或2之裝置，其中，使用時，

其中一個隔室的反應管包括無菌物質；處理裝置的作用，是通過比較從樣本反應管和無菌物質反應管獲得的數位資訊和類比資訊來進行陰性對照。

【請求項5】如請求項1或2之裝置，其中，使用時，隔室的每根反應管都包括帶有兩種待檢測病原體的樣本。

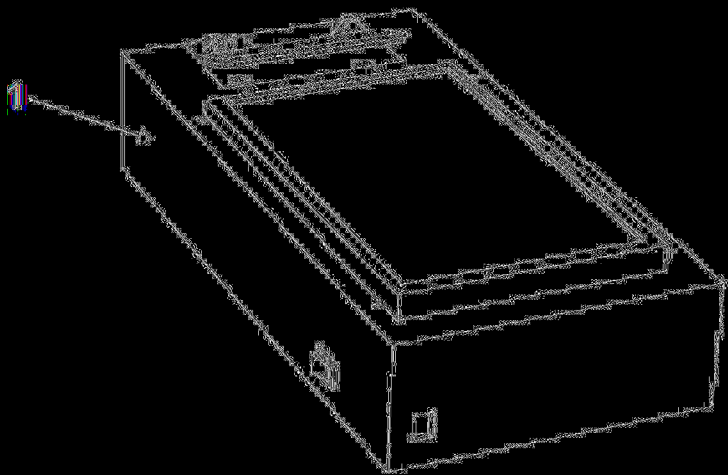
【請求項6】如請求項1或2之裝置，還包括一個使用者介面，用於顯示來自分析圖像的、與樣本檢測相關的視覺資訊。

【請求項7】如請求項1或2之裝置，其中，每個光電二極體的配套濾光片取決於病原體的檢測反應類型。

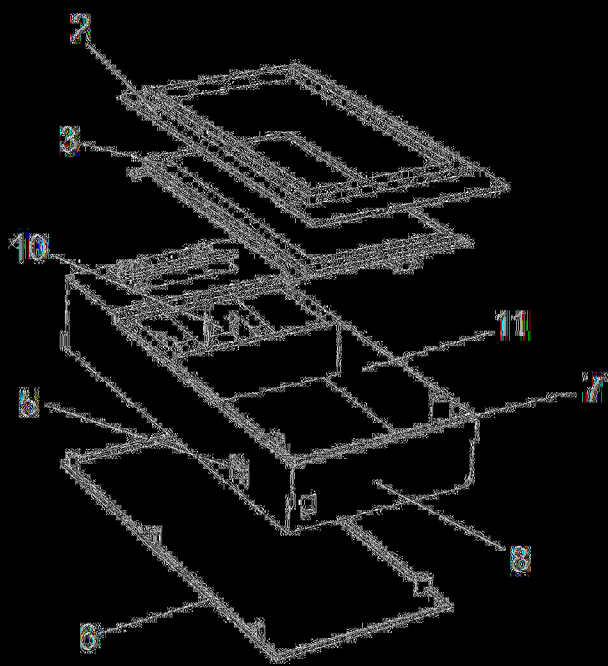
【請求項8】如請求項1或2之裝置，可檢測以下病原體之一或多者：

軍團菌種、李斯特菌種、沙門菌種、大腸桿菌、梭菌種、彎曲桿菌種、諾如病毒、弓形蟲、葡萄球菌種、克羅諾桿菌種、弧菌種、耶爾森菌種。

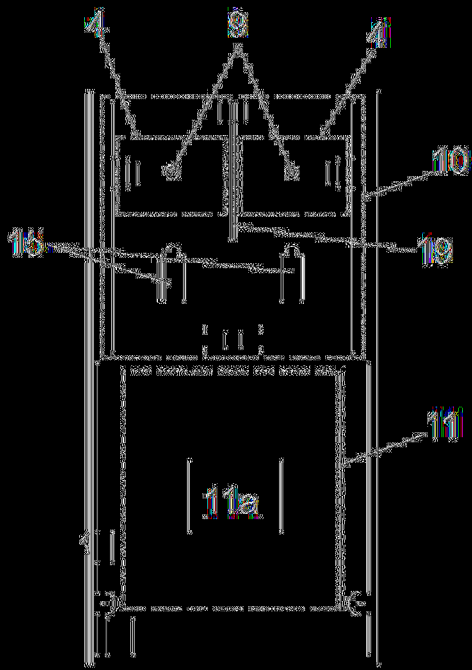
|(發明圖式)|



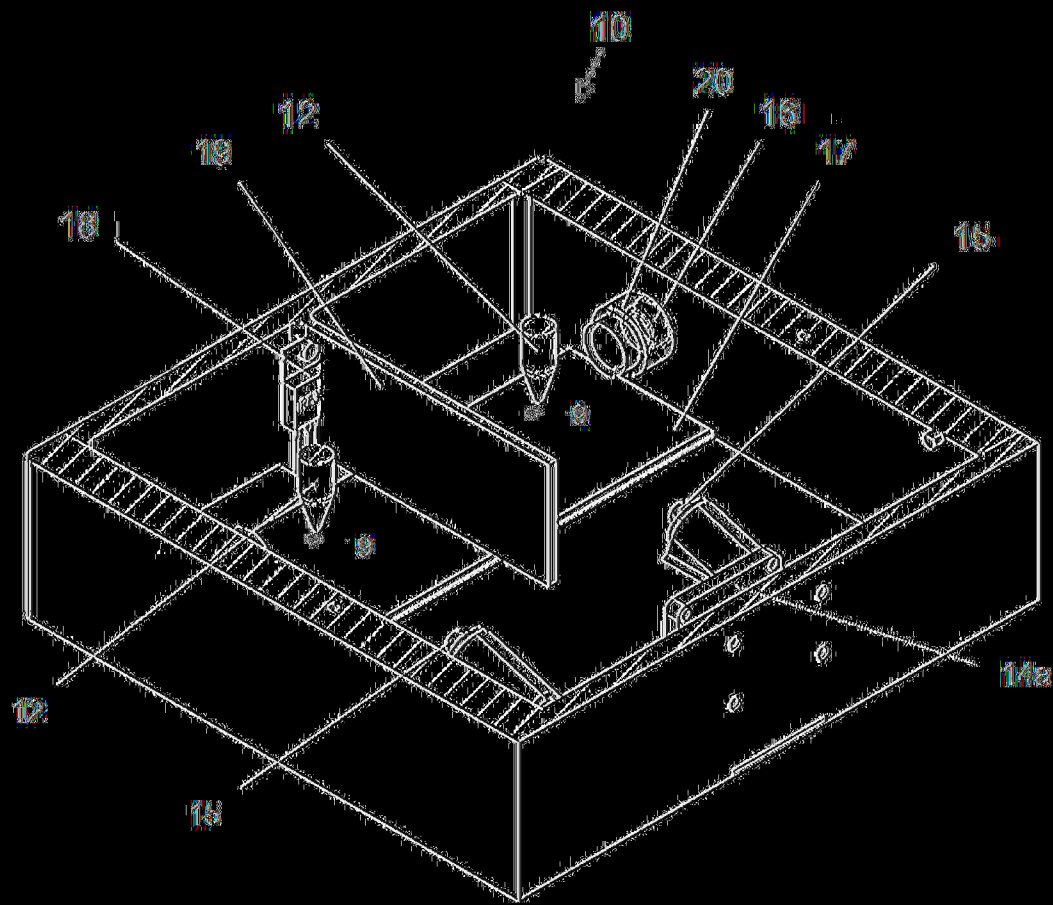
|(圖 1A)|



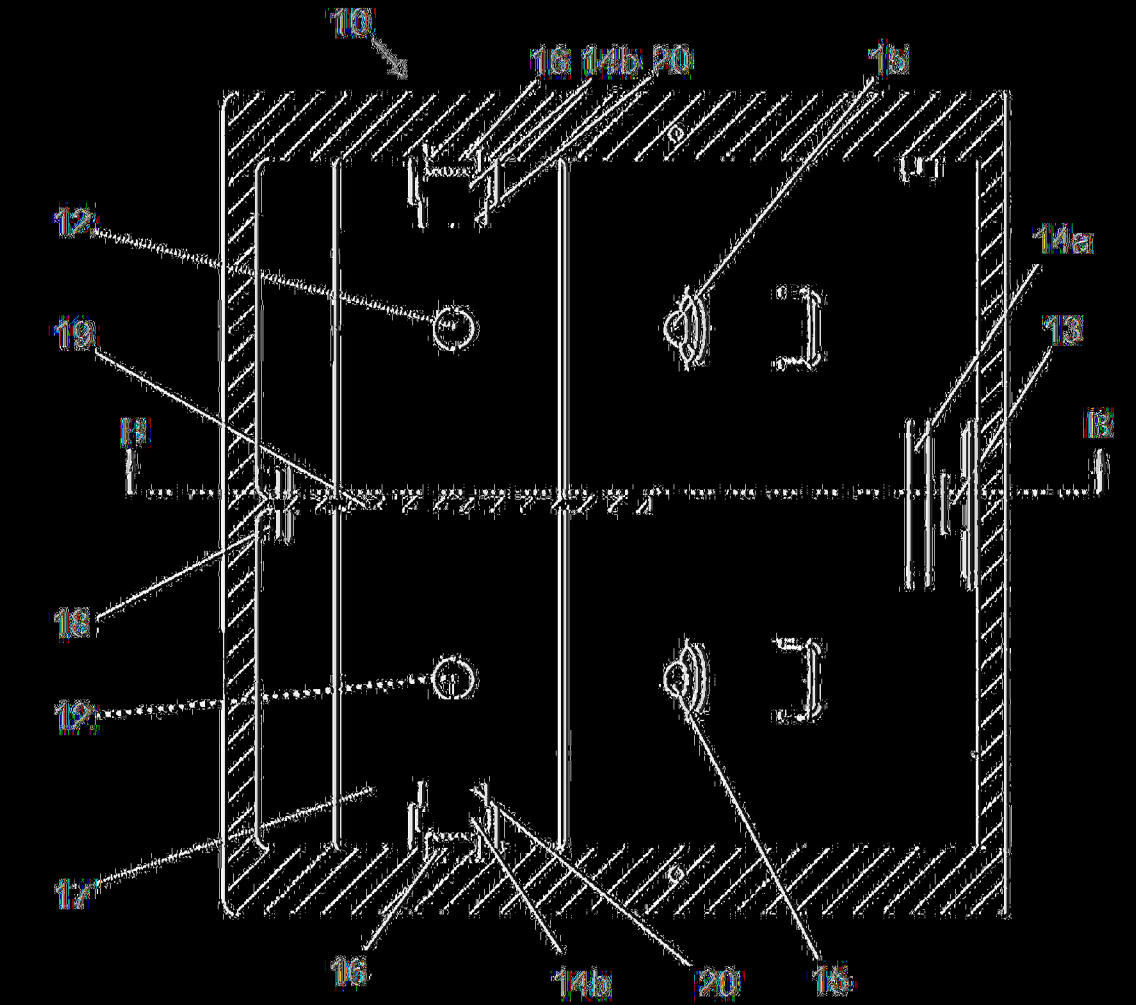
|(圖 1B)|



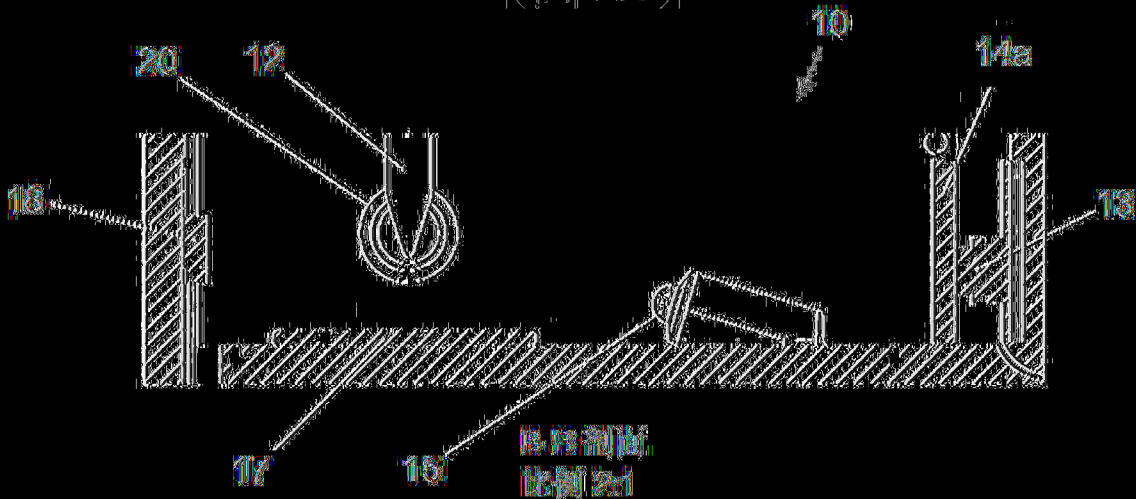
|(圖 1C)|



(圖 2A)



[(图) 2B]



[(图) 2C]

