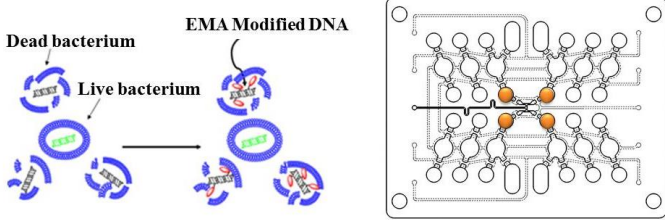
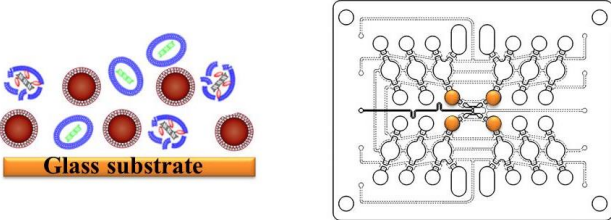
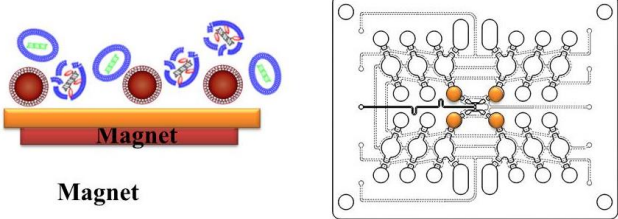
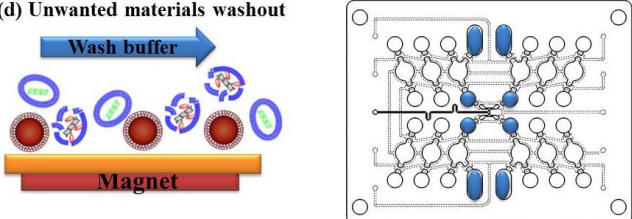
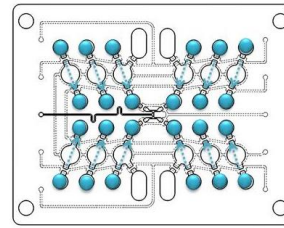
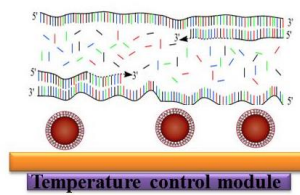


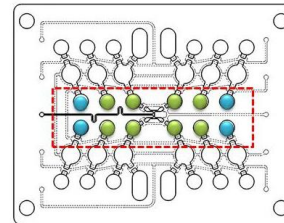
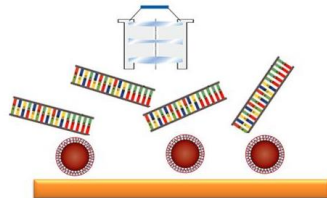
微流體產學技術聯盟可移轉技術摘要表

類別	<input checked="" type="checkbox"/> 技術(knowhow) <input type="checkbox"/> 專利
技術名稱	快速分離及偵測活菌之整合式微流體系統
技術所屬領域	檢測儀器製造業、生物科技業、醫療器材產業。
技術簡介 (請加圖片)	<p>(a) EMA addition and visible light exposure</p>  <p>(b) Bacteria captured by magnetic beads coated with Vancomycin</p>  <p>(c) Bacteria-magnetic beads complexes collection by the magnet</p>  <p>(d) Unwanted materials washout</p> 

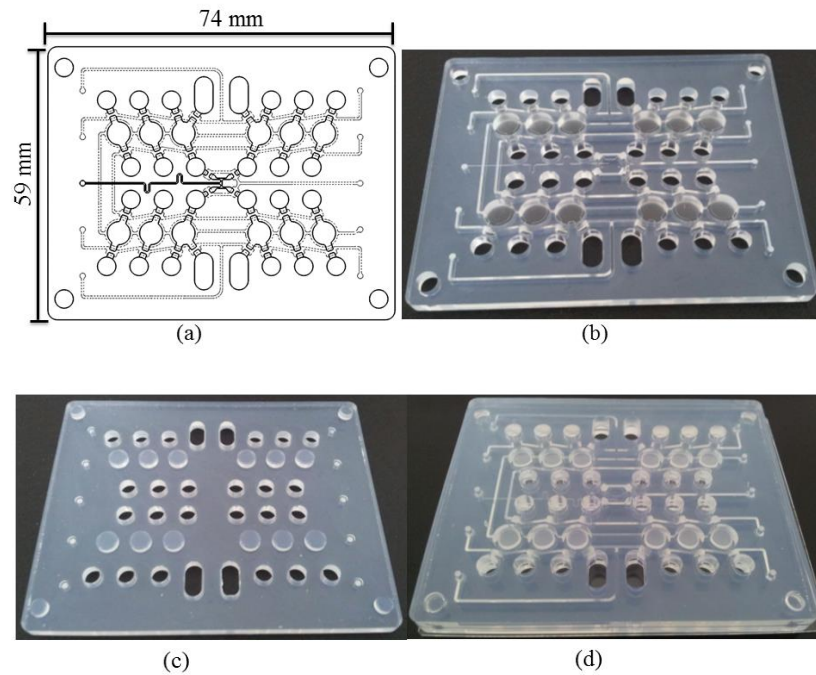
(e) PCR reaction



(f) On-chip fluorescence detection



上圖為本技術之微流體晶片流程圖，於一片晶片上可一次偵測四個樣本，或針對同一樣本進行四種病原菌偵測。晶片照片如下圖所示。

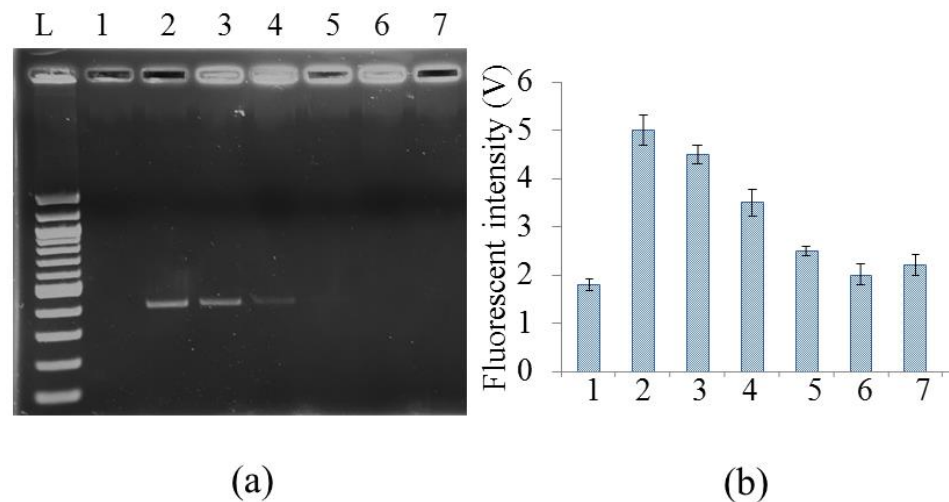


晶片上每個模組皆整合有氣動式微閥門、微幫浦、反應槽等微結構以自動化地進行活死菌區別(a)、病原菌純化(b)(c)、雜質清洗(d)、聚合酶鏈鎖反應(e)、反應結果判讀(f)等實驗室步驟。本方法結合分子生物診斷技術、磁珠探針及程式化微流體晶片技術，整合出核糖核酸提取、聚合鍊反應、反應結果判讀等多個複雜步驟，可於 60 分鐘內可以即時得到細菌偵測結果。目前分子生物診斷技術以可進行聚合酶鏈鎖反應以偵測細菌之 16s rRNA 來判別是否有細菌存在，但對臨床醫師來說，是否有具感染性之活菌存在更為重要，若以 DNA 為模板進行聚合酶鏈鎖反應則無法判別細菌的存活與否，以 RNA 為模板雖可判別細菌的存活與否，但 RNA 萃取處理不易且非常容

易降解，造成反應上的困難。本方法使用溴化乙錠 (ethidium monoazide,EMA) 此種化學藥劑來判別細菌之存活與否，EMA 只會嵌合進死菌 DNA 而使得聚合酶鏈鎖反應無法放大死菌 DNA，因此可判別細菌之存活與否。另抗生素的選用對臨床醫師診斷來說非常重要，若能於用藥前就確認患者體內是否有某些具抗藥性之細菌存在，可針對病症及時給予適當的用藥，以免延誤病情。

本技術之實施例

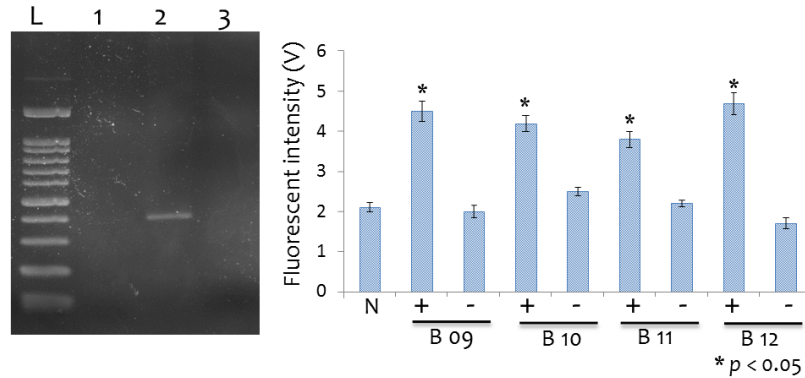
下圖為本方法之偵測極限測試結果，本方法所得之螢光結果與傳統電泳膠圖一致，且其偵測極限為 10^4 CFU/mL。



LOD of the integrated microfluidic system; (a) The results from gel electrophoresis; (b) Fluorescent signals of PCR products obtained from different amounts of *E. coli*. Lane 1: negative control using distilled water, lane 2-7: 10-fold serial dilutions of *E. coli* starting with 10^6 CFU/mL.

下圖為本方法之臨床檢體測試結果，證明此平台可用於關節液檢體。

Clinical sample test-B09~B12



L: 100-bp ladder, lane 1: negative control (ddH₂O), lane 2: 16S rRNA RT-PCR products of spiked sample B09, lane 3: 16S rRNA RT-PCR products of sample B09

技術特點

本技術將實驗室的所有處理步驟，透過邏輯的整合及最優化的流程整合在微流體晶片之上，並使用控制系統進行自動化偵測。目前分子生物診斷技術已可進行聚合酶鏈鎖反應以偵測細菌之 16S rRNA 來判別是否有細菌存在，但對臨床醫師來說，是否有具感染性之活菌存在更為重要，若以 DNA 為模板進行聚合酶鏈鎖反應則無法判別細菌的存活與否，以 RNA 為模板雖可判別細菌的存活與否，但 RNA 萃取處理不易且非常容易降解，造成反應上的困難。本技術使用溴化乙錠 (ethidium monoazide, EMA) 此種化學藥劑來判別細菌之存活與否，EMA 只會嵌合進死菌 DNA 而使得微流體系統深具潛力切入細菌檢測市場，並取代現有細菌快速篩檢產品。

現階段醫院對於細菌等微生物的檢測有以下幾種，(1)採集關節組織液或周圍組織作為檢體，進行檢體處理、細菌培養、菌種確認、藥物敏感實驗、抗藥性檢測等等步驟，一般而言至少需要 5-7 天以上的時間才能得到初步的檢查結果，(2)放射線照射，可依據 X 光片看出組織是否有感染，但無特異性和靈敏度，(3)生化指標，可以 C 反應蛋白或紅血球沉降速率之指數了解是否有感染，但亦無特異性，因此臨床上對於選用抗生素的決策，必須仰賴醫師的猜測與使用廣效性之抗生素，觀察病人的反應，適時調整抗生素，最終再根據細菌之藥敏報告選擇真正適當的抗生素，如此不但曠日廢時更會因為選擇不當的抗生素造成病人的病情惡化，遑論因為過當使用抗生素而造成抗藥基因的傳遞，引起公共衛生的危機。更有甚者、現今因為抗生素的濫用，許多病人在接受標準的治療之前或許已經接受不同劑量的抗生素治療，因此在進行細菌培養檢驗時，細菌活性因為減低而產生「偽陰性」之反應，以人工關節感染為例，「偽陰性」的比例可以高達 40% 至 50%，因此更造成臨床治療上進退失據

	<p>的困境。因此許多科學家改用分子診斷技術來檢驗細菌的存在與否，16 S rRNA 為細菌微生物所獨有，宿主（人類）不會合成 16S rRNA，故為一良好之細菌檢測標的，但 RNA 之萃取、處理及保存不易，因此本技術之判別活死菌機制可簡化實驗流程，更可於研發出之微流體平台上進行全自動化之偵測，可以突破現階段檢驗「偽陰性」之瓶頸，而且能夠快速的得到細菌檢測的結果（可於 60 分鐘內完成），不但可縮短反應時間，減少檢體和試劑的用量，更可避免人為因素造成的誤差。</p> <p>雖然微流體系統必須搭配儀器使用，但其儀器成本遠低於分子診斷系統的儀器成本。除此之外微流體系統的卡匣式操作方式簡便且易懂，操作人員經過簡易的教育訓練即可上手，較目前分子診斷容易許多。此外微流體系統的檢測速度雖然略低於現有酵素免疫法之檢測試劑，但其靈敏度與精準度確是酵素免疫法所望塵莫及的。聚合酶鏈鎖反應無法放大死菌 DNA，因此可判別細菌之存活與否。另抗生素的選用對臨床醫師診斷來說非常重要，若能於用藥前就確認患者體內是否有某些具抗藥性之細菌存在，可針對病症及時給予適當的用藥，以免延誤病情。</p>								
市場與應用									
可應用範圍	使用範圍和對象：各大醫院、醫療機構等。								
競爭力分析 (SWOT 分析)	<p style="text-align: center;">微流體系統切入細菌篩檢市場的 SWOT 分析</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr style="background-color: #008080; color: white;"> <th style="width: 50%; text-align: center;">Strength</th> <th style="width: 50%; text-align: center;">Weakness</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="vertical-align: top;"> 靈敏度高/確診率高 LOD(limit of detection)低-初期診斷效果佳 微量檢測，減少試劑成本 操作簡便，減少操作人員訓練成本 </td> <td style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> ● 需機台，建置成本略高 </td> </tr> <tr style="background-color: #008080; color: white;"> <th style="text-align: center;">Opportunity</th> <th style="text-align: center;">Threat</th> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> 已納入健保給付系統，檢測端使用意願高 醫師逐漸重視在投藥前進行篩檢 確診 全球檢測量有上升趨勢 </td> <td style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> ● 產品受法規的影響大 ● 產品銷售值會依每年進行手術人數變動 ● 新的醫療行為 </td> </tr> </tbody> </table>	Strength	Weakness	靈敏度高/確診率高 LOD(limit of detection)低-初期診斷效果佳 微量檢測，減少試劑成本 操作簡便，減少操作人員訓練成本	<ul style="list-style-type: none"> ● 需機台，建置成本略高 	Opportunity	Threat	已納入健保給付系統，檢測端使用意願高 醫師逐漸重視在投藥前進行篩檢 確診 全球檢測量有上升趨勢	<ul style="list-style-type: none"> ● 產品受法規的影響大 ● 產品銷售值會依每年進行手術人數變動 ● 新的醫療行為
Strength	Weakness								
靈敏度高/確診率高 LOD(limit of detection)低-初期診斷效果佳 微量檢測，減少試劑成本 操作簡便，減少操作人員訓練成本	<ul style="list-style-type: none"> ● 需機台，建置成本略高 								
Opportunity	Threat								
已納入健保給付系統，檢測端使用意願高 醫師逐漸重視在投藥前進行篩檢 確診 全球檢測量有上升趨勢	<ul style="list-style-type: none"> ● 產品受法規的影響大 ● 產品銷售值會依每年進行手術人數變動 ● 新的醫療行為 								
預估市場價值	<p>人工關節感染率一般而言介於 1% 至 2% 之間，根據健保局資料來預估，台灣在 2015 年人工關節置換案例會突破 4 萬例，進行人工關節置換時皆須篩檢是否有具感染性力之活菌的存在，目前進行一例細菌篩檢費用健保給付 1000 元，故產值初估為 4 千萬元。</p>								

初次置換人工關節的費用，依照健保給付到 2020 年預估會達到新台幣 75 億元，在台灣人工關節感染的案例個案費用約介於 20 萬至 30 萬台幣，因此每年花費估計為 2 至 3 億元台幣，由於治療的成功率在 80%~93%，因此其中約 3 千萬元將會因為失敗而需要再次手術治療，這些失敗的案例原因不一而足，但是其中有相當大的部分可能與細菌感染的菌種診斷、清創的徹底程度、抗生素的選擇與使用、宿主免疫力與抵抗力、再次置換的時機有關，如果能透過更敏感、更迅捷、更方便的診斷工具，協助臨床決策，應可再次提高治療的成功率，從而降低醫療費用的支出與浪費。

在北美，預估到 2030 年每年需要接受人工關節置換的案例會達到 4 百萬人次，現階段在北美初次置換個案住院費用約為美金 2 萬 2 千元（台幣 60 萬元），門診費用約 8519 元美金；而發生感染的個案住院費用約為美金 9 萬 6 千元（台幣 280 萬元），門診費用約 48348 元美金，因此在醫療經濟的資源使用上會產生極大的排擠現象。在中國，2012 年接受人工關節置換的案例數約為 3 萬 4 千人次，而目前預估每年的成長率會以超過 19% 的速度進行，初次置換案例的費用約為 55813 元人民幣（約 279000 元台幣），因感染而再次置換的費用根據文獻估計個案費用約為 267900 元人民幣（約 1340000 元台幣）。這些費用僅只是醫療費用，並不包括因為接受治療而失能的社會成本，以及喪失生產能力的經濟成本。

綜而言之，人工關節感染所造成的醫療、經濟、社會成本非常昂貴，本計畫所提出的診斷輔助平台與生物晶片，對於提高診斷率、治療成功率有直接的成效，而對於所有初次置換人工關節的案例，如果在植入人工關節的同時，能夠即時得到是否有潛在的感染病原而能夠避免在感染的情形下植入人工關節，從理論上而言，有可能將現狀的感染機率由 1% 至 2% 降到更低的水平，如此，技術將有機會成為標準治療之必要流程，依照估計到 2050 年全球每年約有 6 百 30 萬人需要接受人工關節置換，本技術未來因應市場需求，在骨科人工關節領域保守預估每年可創造至少 1600 萬元美金之市場需求。另本技術不僅只可應用於人工關節感染之偵測，更有機會廣泛地運用於各種細菌感染症的偵測，隨著細菌篩檢已納入健保給付系統，檢測端使用意願高，因為系統本身的優勢，以微流體系統切入細菌檢測市場具有相當大的潛力。

專利組合(無專利者免填)

專利名字	快速分離及偵測活菌之整合式微流體系統
專利國家	中華民國
專利權人	國立清華大學
發明人	李國賓 李炫昇 王志宏 張文馨
申請號	N/A

公開號	N/A
狀態	<input checked="" type="checkbox"/> 審核中 <input type="checkbox"/> 已獲證