

可攜式血液凝固時間測定儀之原理及新技術開發

Principles and New Developed Techniques of Portable Devices for Determining Blood Coagulation Time

陳家成、林尊湄、張憲彰

Chia-Chern Chen, Tsun-Mei Lin, Hsien-Chang Chang

隨著醫學的進步、生活型態的改變及老年人口的增加，心臟血管疾病與血液凝固功能過高的疾病愈盛行之外，侵襲性的醫療手段及抑制凝血功能的藥物也愈發達，因此檢測血液凝固功能之可攜式床邊檢測儀器的開發益形重要。此類儀器的開發，應強調可攜性、快速檢測、使用簡易、多功能、安全及低廉的操作成本。本文先釐清開發可攜式血液凝固時間測定儀器所需之背景知識，並就現今的檢測法和產品之設計理念進行介紹，最後提供一些未來的展望以供參考。

The need of an ideal point-of-care (POC) blood coagulation analyzer increases rapidly due to the increased invasive medical procedures and the prescription of both antiplatelet agents and anticoagulants. A POC coagulation analyzer features its portability, easy to use, providing rapid results, multifunction, safe and low equipment and operating costs. This article provides the basic principles and knowledge for designing an ideal portable blood coagulation analyzer and the future view on the techniques and markets of it.

一、前言

早期由於對血液凝固的本質完全無知，加上缺乏血型分類的知識，因此無法使用調節血液凝固的藥物及運用輸血的技術來拯救生命。隨著醫學的進步，血液凝固的本質漸漸被瞭解，加上輸血技術及抗凝血藥物的發現，人類逐漸能掌握住控制血液凝

固的知識，但這同時卻也須具有先進的監測知識及方法技術始能為功。整個血液凝固時間檢查的核心技術，不外乎在合理的添加物混合下之血液凝固狀態的量測，而開發出簡易、方便、可靠的血液凝固時間之測定儀器，著實為其中最重要的關鍵。傳統實驗室中用以測量血液凝固時間的方法大致已十分成熟，正統的血液凝固測定儀器也十分穩定，並已

高度自動化。一切看似美好，但若冷靜視之，我們可明白有關血液凝固時間測量之真正需求處，並不在實驗室，而是在使用者或受測者的當下需求之中產生，亦即在臨床工作地點之病人或照顧者的身上產生。因此，可攜式血液凝固時間測定儀即為滿足此一真正需求而出現，並將會快速取代傳統實驗室中的類似檢測方法，也必成為血液凝固檢測市場中的主流。本文簡述了可攜式血液凝固時間測定之原理，並提及新技術開發所需的理論，以提供即將進入此類儀器設計的工程師必備的知識背景和設計理念。最後也比較幾種現行的量測儀器，進而提出一些未來的展望以供參考。

二、血液凝固的基礎知識

血液凝固機制非常的複雜，事實上尚有許多部分仍未被充分了解。對開發血液凝固時間測定儀器的工程師而言，雖然不見得需要瞭解所有關於血液凝固的全盤知識，但是確實的掌握其核心理論仍屬必要，尤其是與臨床工作及實驗室工作有關的部分，更是與血液凝固儀器的設計息息相關。這些知識除包括對血液凝固的引發、凝固的過程，以及凝固的機制有概念性的瞭解之外，尚須瞭解一些代表性的藥物對血液凝固系統的影響。此類藥物包含阿斯匹林 (aspirin)、肝素 (heparin) 及香豆素 (coumarin)，因它們也是臨床醫師常用來改變血液凝固的代表用藥品。

1. 血液凝固機制綜觀

血液凝固的引發可自然發生在人體血管之中 (圖 1)，也可使用人工引發的方式透過接觸活化系統⁽¹⁾ (contact activation system, CAS) 的作用在體外的某些帶負電荷的材料表面發生 (圖 2)。正因血液凝固可由人工引發，因此目前檢驗血液凝固功能，病人血液樣本會被在採取後加入抗凝劑 (3.2% sodium citrate) 以阻止其凝固，等送至實驗室之後，再以人工方式引發凝血過程並測量血液凝固時間。

(1) 自然狀態下的血液凝固

在自然生理條件之下，當血管壁因外力而受傷

時 (圖 1)，會引起管壁上平滑肌細胞的收縮，進而使血管的管徑變小，以利血液凝固的發生。同時因受傷而暴露在外的內皮細胞下膠原蛋白纖維 (subendothelial collagen fibers) 及受傷的組織細胞所釋放的組織凝血活酶 (tissue thromboplastin) 會在 15—30 秒內分別召來血小板形成初步的血栓，並引發血漿內的血液凝固機制 (clotting mechanism)。正常血漿中的血液凝固過程會於 5—10 分鐘內完成而形成堅實的血栓，同時啟動纖維蛋白溶解系統 (fibrinolytic system)，數日後血栓會再溶解，血管遂再重新被疏通打開而恢復血流。

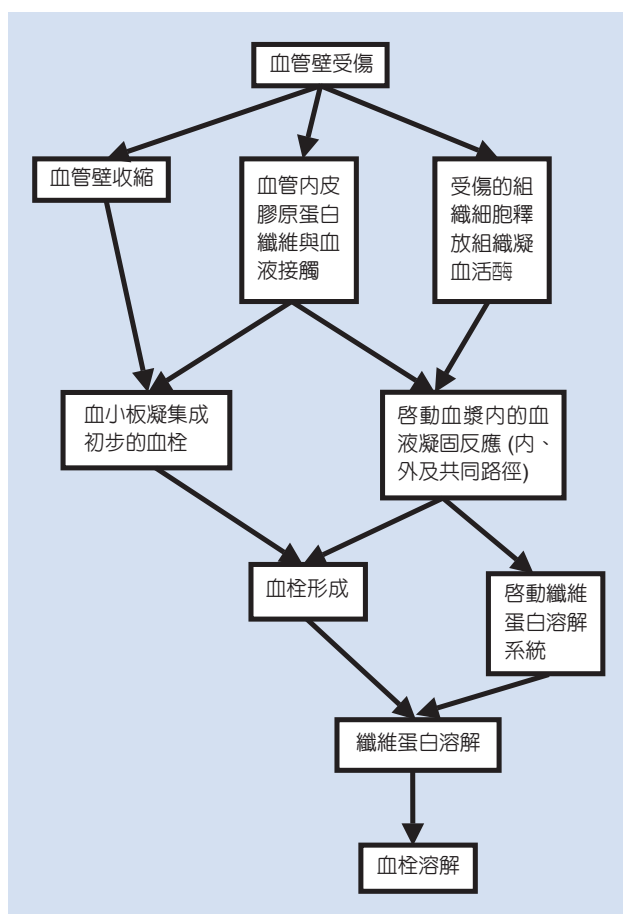


圖 1. 血液凝固的引發可以自然的發生在人體血管之中。血小板、血管壁、及血漿中的血液凝固機制三者共同作用，形成了血栓使出血停止。纖維蛋白溶解系統在血液凝固之後啟動，將堵塞的血管重新打開，恢復血液流動。

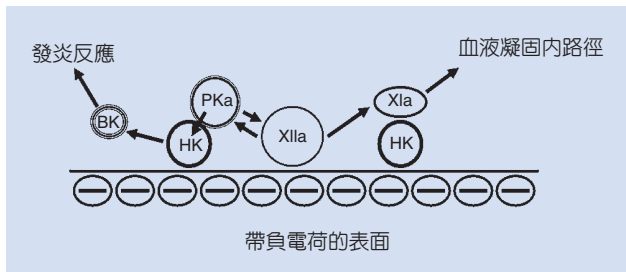


圖 2.接觸活化系統。血液凝固過程也可以使用人工引發的方式透過接觸活化系統在體外的某些帶負電荷的材料表面發生。接觸活化系統是一個自我組裝的系統，總共有三個蛋白質及一個輔酶參與反應。三個蛋白質為：血液凝固第十二因子 (XII)、血液凝固第十一因子 (XI)、及血漿激肽釋放酶 (PK)。輔酶為：高分子量激肽原 (HK)。緩動素 (BK) 是高分子量激肽原受激之後所釋放之物質。

(2) 血液凝固機制概觀

血液凝固機制十分複雜，但可依其生理學上之功能之不同，將其分割成數部分：血管壁收縮、血小板凝集及收縮、凝血內路徑 (intrinsic clotting pathway)、凝血外路徑 (extrinsic clotting pathway) 及接觸活化系統 (CAS) 等五部分 (圖 3)。其中，血管壁的作用在血液凝固生理學及血液凝固時間的測定上較不受重視，臨床上，醫師會使用腎上腺素 (adrenalin) 局部接觸使血管壁收縮或使用對血管壁直接壓迫，來達到止血的目的。接觸活化系統在引發凝血過程 (透過啟動凝血內路徑，圖 2)、自體免疫疾病的診斷上、引發過敏反應之機制、及血液凝固時間的測定上佔有相當重要性，故有必要深入了解。另外在傳統的血液凝固時間的實驗室測定上，主要以內、外路徑較為重要，此理論同時也是測量血液的活化凝固時間 (activated clotting time, aCT)、凝血酶原時間 (prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶時間 (activated partial thromboplastin time, aPTT) 的理論依據 (圖 3)。血小板的功能測試其實也相當重要，雖因檢體收集不易且操作程序複雜，臨床上較不常使用，但隨著抗血小板藥物的使用量逐年增加，可攜式血小板功能測試裝置也很可能成為今後熱門的研發目標。

2. 血小板的功能與角色

血小板 (platelet) 又稱栓細胞 (thrombocyte)，雖稱作細胞，但實際上只是骨髓中成熟的巨核細胞 (megakaryocyte) 的碎片。無細胞核，卻有發達的細胞膜、高爾基氏體 (Golgi apparatus)、粒腺體 (mitochondria) 及豐富的管狀系統，由此可見血小板是個非常活絡的細胞。血小板一脫離巨核細胞後就進入血液中，平均壽命為十天左右，最後在脾臟中破壞⁽²⁾。血小板的功能十分複雜，在血液凝固的初期，血小板會聚集 (aggregation) 在血管壁受傷的位置，並粘著 (adhesion) 在該處以形成止血栓 (hemostatic plug)，並同時釋放出血小板因子 (platelet factors) 加速血液凝固，最後血小板收縮，導致血塊收縮，形成堅固的血栓塊 (clot) (圖 1)。影響血小板作用的因素包含血小板的質與量，正常的血小板數量約為 250,000–450,000 cells/ μ L，當功能正常時，數量少於 100,000 cells/ μ L 就可能會引起皮下出血⁽³⁾。在某些狀況之下，如使用抗血小板藥物或腎臟功能不良的病人，其血小板的數量雖在正常範圍之內，但卻無法維持正常的凝血功能。一

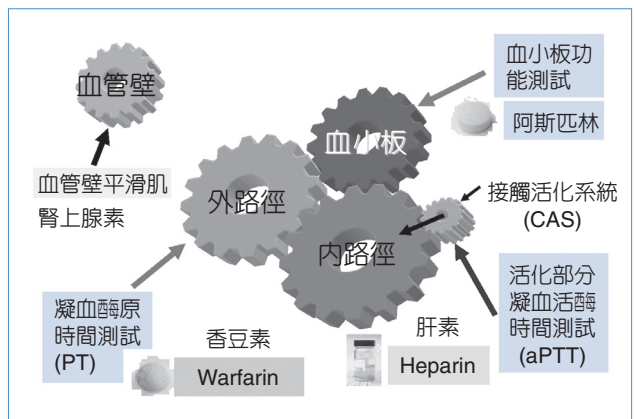


圖 3.血液凝固機制及相對應的凝固時間檢查與影響血液凝固之相關藥物。血管壁的作用在血液凝固生理學及血液凝固時間的測定上較不受重視。接觸活化系統在引發凝血過程、自體免疫疾病的診斷上及血液凝固時間的測定上佔有相當的重要性。在傳統的血液凝固時間的測定上，主要以內、外路徑較為重要。血小板的功能測試其實相當重要，但因昂貴及不普及，因此並不常使用。

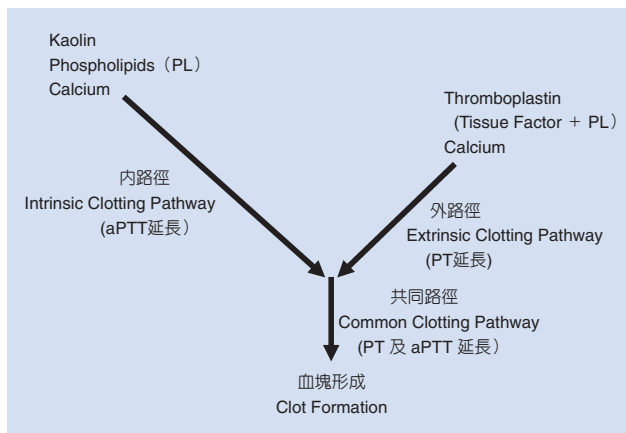


圖 4. 血液凝固路徑示意圖。血液凝固路徑可以理論上分為內、外及共同路徑等三部分。當血液凝固時間延長係因內路徑有缺陷時，aPTT 會延長；當外路徑有缺陷時，PT 會延長；當共同路徑有缺陷時，aPTT 及 PT 都會延長。

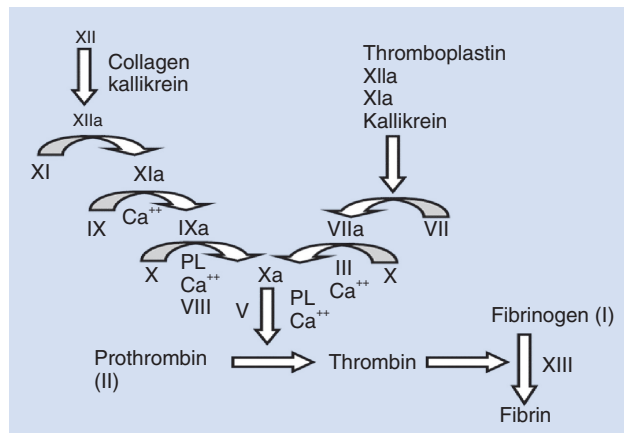


圖 5. 血液凝固路徑詳圖。內、外路徑作用的最終產物均為凝血第十因子 (factor X)，因此內、外路徑藉由共同產物合併成共同路徑。藉由共同路徑的作用，將凝血酶原 (prothrombin) 轉變為凝血酶 (thrombin)，以利纖維蛋白 (fibrin) 的生成。

一般而言，最基本的血小板檢查必須包含血小板的數量及功能。

3. 凝血路徑概說

血管受傷之後，血管壁收縮及血小板凝集扮演初步止血的第一道防線。其後，則有賴於發生在血漿之中的血液凝固路徑 (clotting pathways) 來達成進一步的血液凝固步驟。血液凝固路徑理論上可以分為內 (intrinsic clotting pathway)、外 (extrinsic clotting pathway) 及共同路徑 (common clotting pathway) 等三部分 (圖 4 與圖 5)。血管受傷之後，血液接觸到受傷的組織後，立刻引發較強烈但短暫的外路徑以完成初步之止血，其作用時間短於 15 秒。由於其引發是因為血液接觸到血漿以外的物質 (受傷的組織)，故命名為「外」路徑，又稱為外因性路徑。外路徑發生後，其作用雖較強烈，但持續的時間較短，會受到抑制因子立刻阻止，以防止其過度作用，取而代之是由持續時間較長、較溫和而穩定的內路徑繼續完成血液凝固的任務。故凝血外路徑有缺陷時，其臨床嚴重性比內路徑有缺陷時要輕微得多。內路徑才是血液凝固的主角，舉個例，如血友病 A 係內路徑中的第八因子 (factor VIII) 有缺陷所致。

內路徑作用的時間大約 5—10 分鐘，且是由接觸活化系統所引發。因其發生在血管之內 (由血管內皮下膠原蛋白表面的負電荷引發)，故稱為「內」路徑，又稱內因性路徑。在體外，內路徑可由帶負電荷的表面所引發 (如玻璃、高嶺土、長鏈脂肪酸等)，而外路徑在體外可由磨碎的動物組織 (例如磨碎的兔腦組織) 所引發。內、外路徑作用的最終產物均為凝血第十因子 (factor X)，故內、外路徑藉由共同產物合併成共同路徑 (圖 5)。藉由共同路徑的作用，將凝血酶原 (prothrombin) 轉變為凝血酶 (thrombin) 以利纖維蛋白 (fibrin) 的生成。共同路徑作用的時間非常短暫，僅數秒鐘。

4. 凝血功能的監測

凝血功能依理論可分成血小板的作用、血漿的凝血內路徑、外路徑及共同路徑等四部分。對於診斷性的檢驗來說，須做到能檢測出每一凝血反應步驟或分子層級上的缺陷 (例如想診斷出某型態的血友病) 始可。但對快速的篩檢 (如開刀前凝血功能的評估) 及某些有特定臨床用途的監測而言 (如抗凝血藥物的作用監測)，則不要求知道問題出在凝血的哪一個步驟，也不需知問題出在哪一個蛋白質

表 1.
常用之血液
凝固篩檢性
檢查。

Tests	Abbreviations	Factors involved	Comments
Bleeding time test	BT	Platelet count, Platelet function, Vascular integrity, and von Willebrand factor (vWF)	Screening test for platelet number and function
Prothrombin time test	PT	I, II, V, VII, X	Measuring of extrinsic and common pathway factors
Activated partial thromboplastin time test	aPTT	I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII, prekallikrein, high molecular weight kininogen	Measuring of intrinsic and common pathway factors. Forming the basis of one-stage clotting factor assays
activated clotting time test	aCT	As above + Platelet count and function	Is often running in point-of-care situations. Wide normal range due to variable activation of platelets and contact system. Often used in point-of-care situations.

Modified from Hutton RA, “Normal Haemostasis,” in Postgraduate Hematology, 3rd ed. Oxford, Heinemann Professional Publishing; 1989. pp 595-597.

上；未來的診斷技術會達到床邊診斷 (point-of-diagnosis)，隨著 lab-on-a-chip 及微奈米機電 (NEMS) 技術的發展，想達成這一理想的日子絕非不可能。就篩檢性的檢查而言，其要求在於快速、方便、便宜及床邊照顧 (point-of-care, POC) 的適用。事實上，研發出符合上述條件的可攜式血液凝固時間測定儀器已是當前許多醫療儀器科技公司的主要目的 (例如 HP、Bayer 等等)，甚至是某些國家 (例如愛爾蘭) 整體醫療器材研發之國家型計畫的重點核心。

臨床儀器的設計須以臨床醫護人員及病人的需求為中心才有意義，因使用者才是決定產品是否成功的關鍵⁽⁵⁾。臨床上，醫師使用 PT 來監測外路徑的功能、aPTT 監測內路徑的功能、aCT 監測整個凝血路徑 (含血小板) 的功能以及使用出血時間 (BT) 來檢測血小板及血管壁的功能。綜合表 1 所述，可使用這四項檢查快速篩檢出血液凝固的問題所在。以上檢驗除 BT 是在床邊所做之外，其餘檢查均需先抽取靜脈血再送至傳統實驗室完成檢查。一般而言，正常的 BT 約為 1—5 分鐘，可很快的在床邊完成，其他的檢查最快需 40 分鐘以上才能知道結果 (含抽血、運送、實驗室操作、發送報告)，故傳統或現行的方法仍難滿足 POC 的理想及條件。為能設計出理想的可攜式血液凝固時間檢測

儀器，有必要重新檢討凝血路徑的監測項目 (有別於傳統實驗室法)。在考慮臨床需求及 POC 的要求之後，即能明白只要能將 PT、aPTT 及血塊收縮試驗 (clot retraction test，代表血小板的功能) 整合在一起即可滿足臨床上大部分的篩檢性需求⁽⁶⁾。

5. 接觸活化系統

接觸活化系統 (CAS，可在體內及體外引發凝血內路徑) 總共有三個蛋白質及一個輔酶參與反應 (圖 2)。三個蛋白質為：血液凝固第十二因子 (XII)、血液凝固第十一因子 (XI)、及血漿激肽釋放酶 (PK)。輔酶為：高分子量激肽原 (HK)。緩動素 (BK) 是高分子量激肽原受激之後所釋放之物質。血液凝固第十二因子 (XII) 靠近帶負電的表面時，會因為其分子的電荷空間結構受帶負電荷的物質表面上電場的影響而改變，改變的同時 XII 被活化成 XIIa。故第十二因子須以特定的方向排列於帶負電荷的表面上。HK 分子隨即以同樣的原理以特定的空間方向排列與 XIIa 整合，其後 XI 分子接到 HK 分子上面，同時自我活化成 XIa 並引發凝血內路徑。

CAS 系統引發凝血內路徑的能力會因人而異，因測量活化凝固時間 (activated clotting time, aCT) 或 aPTT 時係利用 CAS 來引發內路徑，因此

必須將其功能列入考慮。要了解某個病人的 CAS 功能，可以使用同一個血液樣本分別測試 aCT 及 CT 或同時測試 PTT 及 aPTT，並觀察此二者間的差異大小，即可對此人的 CAS 引發內路徑之能力有初步之了解。CAS 的功能眾多，除引發凝血內路徑外，尚有引發過敏系統及血壓調節等共約六項重要功能。每一種帶負電的材料表面對 CAS 的引發能力大大的不同。且不同的材料對診斷不同的疾病上意義不同，如高嶺土適用於診斷抗磷脂症候群 (antiphospholipid syndrome, APS) 及因某些自體免疫疾病所引起的凝血功能異常。而玻璃是個弱的 CAS 引發劑，即使將其研磨成奈米顆粒也只能縮短約 30% 的凝血時間⁽⁷⁾，故商業上尚無使用玻璃粉末引發 CAS 之例。

三、血液凝固時間的臨床意義及其重要性

1. 臨床重要性

血液凝固時間的測定在臨床工作上非常重要而且是不可或缺的檢查。在許多的狀況之下，血液凝固時間的測定可以拯救病人的生命。隨著醫學的進步，侵襲性的治療程序 (例如心導管) 使用率越來越高，而此類的治療一方面提高病人的存活率，同時卻也增加病人因接受治療而產生血栓併發症死亡的機會。心臟血管疾病的盛行率增加也使得內科醫師大量使用抗凝血藥劑。因此不論在急診室、開刀房、病房、門診、甚至居家照顧上，血液凝固時間的測定都佔有越來越重要的地位⁽⁸⁾。預估在不久的將來，血液凝固時間的測定將成為僅次於血糖測試的最常用測試之一。基於此趨勢，發展設計良好的可攜式血液凝固時間測試儀器成為許多廠商及大型計畫的重要目標。

2. 臨床意義

臨床上常用的血液凝固時間測量項目 (表 1) 之中以 PT、aPTT 及 BT 最常被使用。其中，BT 主要被用於測試血管壁功能、von Willebrand factor (vWF)、及血小板的功能；PT 用於監測凝血外路徑及共同路徑的功能；aPTT 用於監測凝血內路徑

及共同路徑的功能。ACT 較不敏感，故較少使用，通常會以 aPTT 取代之。利用以上檢查，臨床醫師可篩檢出凝血功能不正常的部分，以作為醫療決策的參考。

(1) 臨床上常用之抗凝劑之作用原理及監測

臨床上常使用抗凝藥物進行血栓性疾病的治療，目前常用的抗凝藥物可分為三大類，包括阿斯匹林 (aspirin)、肝素 (heparin) 及香豆素 (coumarin) 分別作用於血小板、內路徑及外路徑。阿斯匹林為抗血小板藥物的代表，於服用後數十分鐘內 (六十分鐘內)，就會對血小板產生不可逆的影響。其影響血液凝固的機制為透過將血小板的 cyclooxygenase 做不可逆的乙醯化而阻止 thromboxane A_2 的合成，以抑制血小板的分泌 (secretion) 及凝集 (aggregation) 功能。服用一次阿斯匹林大約可以有一週的功效。每天服用 80–100 mg 就有不錯的效果。阿斯匹林主要使用於動脈系統的血栓症 (thromboembolism)，例如不穩定形心絞痛 (unstable angina)、心肌梗塞 (myocardial infarction)、腦中風 (stroke) 及週邊血管疾病 (peripheral vascular disease) 的預防及治療。另外還有其他類的抗血小板藥物，例如：dipyridamole 透過對 phosphodiesterase 的作用、ticlopidine 透過對 ADP-induced aggregation 及 fibrinogen receptor expression 的抑制達成抗血小板的功用⁽⁹⁾。血小板功能檢查可分為間接檢查、直接檢查及特殊檢查等三大類⁽¹⁰⁾。

肝素為注射用 (靜脈或皮下投予) 之抗凝劑，主要作用為與 antithrombin III (AT III 為一種 serine protease inhibitor) 共同作用，使已被活化的血液凝固蛋白酶 (activated coagulation protease，例如 Xa 及 thrombin) 不可逆的失去活性，其結果使血液凝固時間延長。雖然肝素的使用會使 PT、aPTT、CT 等延長，但大部分的學者建議使用 aPTT 作為監測肝素藥效的常規檢查⁽¹¹⁾。臨床上有兩種使用肝素的適應症：使用高劑量治療血栓症及使用較低劑量用於預防血栓症的發生。另外，肝素亦被使用於維持植入體內之管路的暢通，以免血液在其中凝固而阻塞。洗腎的過程中，亦須在血中加入肝素以防止血

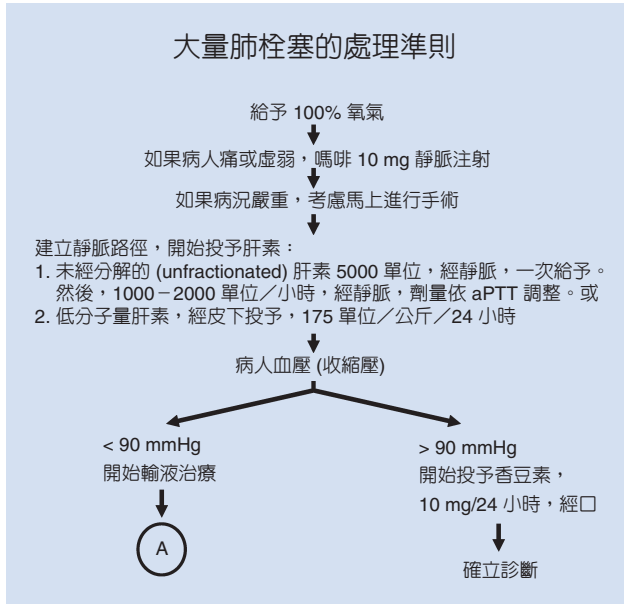


圖 6. 大量肺栓塞的臨床治療準則⁽¹³⁾。當經靜脈投予肝素時，使用 aPTT 監測血液凝固時間，用以調整肝素的使用劑量。當病況平穩之後，改經口投予香豆素時，改測量 PT，依 INR (international normalized ratio) 值調整香豆素用量。

液在機器中凝固。同理，開心手術時使用體外循環 (extracorporeal circulation) 須在病人的血中混入肝素，以防止血栓之發生。肝素的血中半衰期為 60–90 分鐘，血漿中濃度需維持在 0.3–0.6 units/mL 才有治療的效果，而實驗室 aPTT 測定必須延長 1.5–2 倍以上。臨床上為維持適當的肝素濃度，即時性的監測有其必要性，這也正是發展可攜式血液凝固時間測定儀的重要原因之一。

香豆素為口服形式的抗凝血藥物，其作用為抑制 epoxide reductase 及 vitamin K reductase，使維他命 K 的合成受阻。因凝血因子 II、VII、IX、X 的合成需要維他命 K 參與，故這些凝血蛋白在血中的含量，會間接受制於維他命 K 的合成減少而下降，最後導致凝血功能的降低⁽¹²⁾。正規的香豆素使用為每天 5–10 mg 口服使用。使用 1–2 天即可使 PT 延長，但臨床上有效的治療需時 4–5 天以上始可達成。因此臨床上使用 PT 來監測香豆素的藥效。

(2) 血液凝固時間測量對侵入式醫療程序及血栓症治療之重要性

隨著醫學的進步，侵入式的檢查及治療程序越來越普遍。例如，對心絞痛的病人施以心導管的檢查及急救、冠狀動脈支架的放置等等，一方面可提高病人的存活率，但也同時增加病人產生血栓症死亡或重殘的機會。為防止血栓症的產生，醫生必須使用抗凝血的藥劑，於手術前、中、後使用，使病人的血液處於較低凝固功能的狀態，以防止血栓的產生。使病人的血液處於較低凝固功能的狀態，有時必須維持一段很長的時間，此時若凝血功能過低，病人有可能內出血而死；但若凝血功能過高，病人又會產生血栓而死或有嚴重的後遺症。一般而言，侵入性手術時最常使用肝素作為調整血液凝固的抗凝劑，故 aPTT 的測量常用於此種情況下。另外若病人發生血栓症，如深層靜脈栓塞 (deep vein thrombosis)、肺栓塞 (pulmonary embolism)，一般而言，臨床醫師多會依照臨床上既定的治療指引來治療病人。由圖 6 可知在治療靜脈系統的血栓症時，PT 及 aPTT 的測量對藥量調整是非常重要的指標。

另一方面，對於動脈系統血栓症的預防，例如腦中風或心肌梗塞的預防，阿斯匹林經口投予被證實效果非凡，但有時候血小板會對阿斯匹林產生耐受性。醫生在此狀況之下，必須改用不同種類的抗血小板藥物才能發揮功效。事實上在臨床上，因沒有方便的血小板功能測試，醫師時常未經檢測而直接投藥，故在可攜式血液凝固時間測試儀上增加血小板功能測試，絕對是未來的發展趨勢。基於上述所舉，若能將 PT、aPTT 及 CRT 同時整合於一可攜式血液凝固時間測試儀上，將會對血液凝固的臨床檢測提供非常多的便利性。

四、測定血液凝固時間的理論與方法

本文所要探討的重點檢測為目前已經商品化的可攜式血液凝固時間測定儀所能檢測的項目及有潛力成為未來檢測的項目。這些項目包括：aCT、aPTT、PT 及 CRT 等四項。前三項為現今所有已經商品化的可攜式血液凝固時間測定儀所能檢測的項目⁽¹⁴⁾，CRT 則為未來最有可能加入的項目。

1. 傳統實驗室

(1) aCT 程序及注意事項

活化凝固時間可使用全血 (whole blood) 或血漿 (plasma) 作為試驗的樣本。自然狀況之下的全血凝固時間 (whole blood clotting time, WBCT) 約需時 4—8 分鐘，可用來評估內路徑及共同路徑的功能，故理論上可使用 aPTT 來取代 CT。因為 CT 全程需時 5—12 分鐘，因此常以較為快速的活化血液凝固時間 (aCT) 取代 CT。aCT 比 aPTT 有利之處即不需特殊的反應劑 (reagent)，其成本較低，但 CT 的敏感度比 aPTT 差。使用血漿作為樣本的血漿凝固時間 (plasma coagulation time，或稱 plasma clotting time) 因在檢測的過程只需加入鈣離子，亦稱 plasma recalcification time。CT 的標準測試法為試管法 (即 Lee & White method)，又稱靜脈血法。測試時先取靜脈血，依序注入數支試管中令其凝固並記錄時間。所得之時間即為 CT^(15,16)。所需的試劑及參考之正常值範圍請見表 2。

(2) aPTT

aPTT 在臨床上被用來評估內路徑的功能。aPTT 試劑中含有磷脂質 (phospholipid, PL)，因 PL 具有部分的 (partial) 凝血活酶 (thromboplastin) 的功用，故將加入 PL 所引發的血液凝固時間稱作部分凝血活酶時間 (partial thromboplastin time, PTT)。若進一步加入高嶺土或其他活化劑 (activator)，使反

應更充分更快 (經由 CAS)，則稱為活化部分凝血活酶時間 (aPTT)。因 PL 係由血小板提供，故做 PTT 或 aPTT 量測時，一定要使用去血小板血漿 (platelet-poor plasma, PPP)，以免血漿中的血小板影響 PTT 或 aPTT 的時間。aPTT 的實驗室程序即為：過量的經活化的部份凝血活酶 (activated partial thromboplastin, APT) 與去血小板血漿混合並加入適量的鈣離子之後，量取其凝固所需的時間^(17,18)。

(3) PT

凝血酶原時間 (prothrombin time, PT) 於臨床用於監測凝血外路徑。PT 的測定原理為在去血小板血漿中加入凝血活酶及適量之鈣離子，引發凝血外路徑及共同路徑之反應，量取其凝固所需的時間⁽¹⁹⁾。凝血活酶存在於人體各組織內，因此又稱為組織凝血活酶 (tissue thromboplastin)。PT 試劑因製造時每一批號的效價不同 (原料為生體組織)，因此購買時，廠商會給予每一批號的產品一個國際敏感度指數 (international sensitivity index, ISI)。配合 ISI 可在測量過程中求出國際正常化比值 (international normalized ratio, INR, INRatio)，其目的乃在於標準化由不同批號的試劑 (不同效價) 所測得的 PT 值，作為投藥劑量的重要指參考。INR 的求法為：

$$INR = \left[\frac{\text{PatientPT}}{\text{ControlPT}} \right]^{ISI}$$

類別	凝固時間
全血	4—8 分鐘 (WBCT)
全血 + EDTA 或檸檬酸	不凝固 (去鈣離子)
檸檬酸化全血 + 鈣離子	5—12 分鐘 (CT)
檸檬酸化全血 + 高嶺土 + 鈣離子	14—28 秒鐘 (aCT)
檸檬酸化去血小板血漿 + 鈣離子	90—120 秒鐘 (plasma recalcification time)
檸檬酸化去血小板血漿 + 磷脂質 + 鈣離子	60—85 秒鐘 (PTT)
檸檬酸化去血小板血漿 + 高嶺土 + 磷脂質 + 鈣離子	21—32 秒鐘 (aPTT)
檸檬酸化去血小板血漿 + 凝血活酶 + 鈣離子	11—16 秒鐘 (PT)

WBCT : Whole blood clotting time
aCT : Activated clotting time
aPTT : Activated partial thromboplastin time
Plasma recalcification time : Plasma clotting time

CT : Clotting time
PTT : Partial thromboplastin time
PT : Prothrombin time

表 2.
常用之血液凝固篩檢性
檢查之實驗室程序、名
稱及參考正常值。

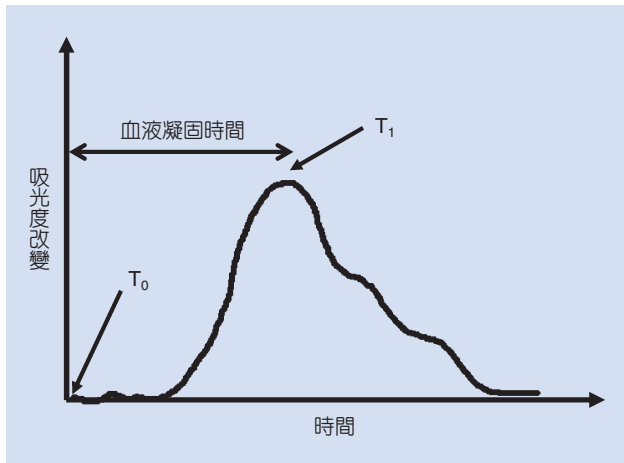


圖 7. 使用吸光度改變原理測量血液凝固時間。曲線上有明顯的特徵可供辨認。

其中，「PatientPT」為病人血漿所測得的該次 PT 值；「ControlPT」為對照組血漿庫中取得之樣本所測得的 PT 值。

(4) CRT

血塊收縮試驗 (clot retraction test, CRT) 又稱為血餅退縮試驗。正常人的全血在玻璃試管中自然凝固約需時 4—8 分鐘 (10 分鐘內)，約 15—30 分鐘後血塊開始收縮，把血清 (serum) 逐步由血塊中擠出，大約 4 小時後完成血塊收縮。單試管法 (single tube method) 的血塊收縮試驗係指完成上述過程所需之時間。另外 Macfarlane 法為將完成收縮後的試管離心，以求出被擠出的血清之百分比。血塊收縮完成時間如果大於 4 小時就算不正常。正常血塊收縮後，血清量應佔有 40%—60% 的體積⁽²⁰⁾。自然狀態下的 CRT 耗時數小時，但若使用活化劑可加速整個過程，以利快速檢測。唯有在數分鐘 (少於 10 分鐘) 內能完成的測試才有轉移至可攜式平台的價值。

(5) 傳統實驗室中血液凝固時間的測量方法

在自動化之下，aCT、aPTT 及 PT 的測量策略其實都是相同的，可分成兩大類：測量血液凝固過程中吸光度的改變及測量血液凝固過程中由液相轉變成為固相的過程 (表 3)。其中 (a) 為測量血液在凝

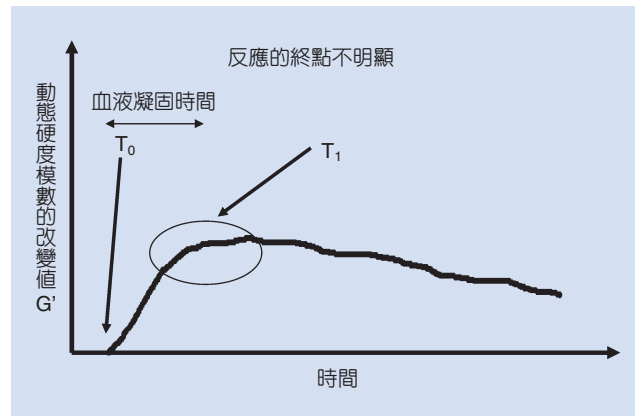


圖 8. 測量血液凝固過程中血塊硬度的改變。其曲線在接近反應終點處卻變化緩慢，因此較難有明確的指標可供參考。

固的過程中吸光度的改變，所依據的原理為 Beer's law。吸光度改變的方法只能適用於以血漿作為樣本的檢測，無法使用在全血凝固時間的檢測上。以吸光度法所測得的訊號相當容易處理⁽²¹⁾，其曲線上的變化特徵相當明顯 (圖 7)，非常容易計算血液的凝固時間。使用吸光度法非常便利，但因吸光度計體積龐大，雖仍可將此原理運用於可攜式裝置，但體積仍然過大，重量稍重。(b)、(c) 及 (d) 其實均為測量血液凝固過程中黏彈度改變。測量黏彈度的改變可以有效的求出血液凝固時間⁽²²⁾。(b) 與 (d) 其實是測量血液凝固過程中動態硬度模數 (dynamic rigidity modulus, G') 的改變，其曲線特徵明顯 (圖 8)，但接近反應終點 (end-point) 處卻變化緩慢，故較難有明確的指標可供參考。(c) 可看成是測量血液凝固過程中黏彈性 (viscoelasticity) 的改變，可經由測量對數阻尼因子 (logarithmic damping factor,

表 3. 血液凝固時間的測量方法舉例。

儀器名稱及製造商	血液凝固時間測量原理
General Diagnostics, Coag-A-Pet	(a) 吸光度改變
Hyland, Clotek	(b) 軸承轉動停止
Sarstedt, Biomatic	(c) 黏滯度改變
Thrombolytic Assessment System	(d) 鐵珠移動停止

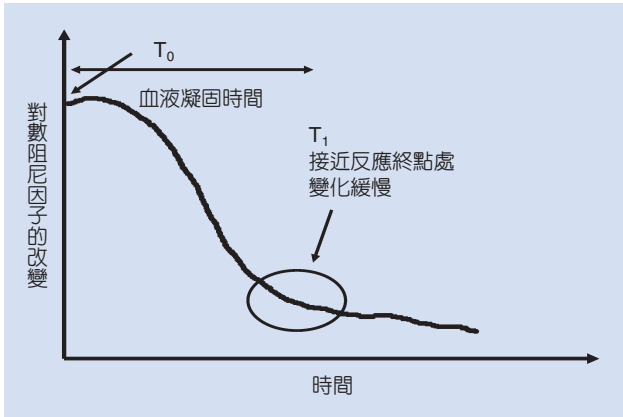


圖 9. 測量血液凝固過程中黏彈性的改變，可經由測量對數阻尼因子的改變求得。其曲線特徵為 S 形線，接近反應終點處變化緩慢。

LDF) 的改變求得。其曲線特徵為 S 形線，接近反應終點處變化緩慢 (圖 9)。另在 1970 年代，尚有使用電阻抗原理所設計出的血液凝固儀，但因體積龐大、使用不便及穩定性不夠，幾年內就從市場中消聲匿跡⁽²³⁾。

2. 可攜式血液凝固儀

目前市場上所見到的可攜式血液凝固儀器所使用的測量方式，基本上與傳統實驗室法並未有太大的差異，仍需輸送管線、樣本與試劑的混合及測量凝固過程中血塊黏彈度或吸光度的改變。目前可攜式血液凝固儀器設計的主流仍然追隨傳統做法，只是將其縮小化。這些設計堅持使用傳統式的試劑，因測試本身必須符合正統的血液凝固理論，雖然為了小型化、增進樣本與試劑混合的效率及免去輸送管線，有了乾式試劑 (dry reagent) 的發明 (Bayer 公司及 A&T 公司內部資料)，但基本上仍然追隨傳統實驗室，使用化學反應的測定方式。儘管如此，因可攜式設計強調簡單、快速及可攜性，兩者之間還是有基本的差異 (表 4)。可攜式設計使用全血直接操作，不需將樣本離心成去血小板血漿；因可直接操作，故不需加入抗凝劑；亦無樣本必須送至實驗室才能檢驗的問題，所以不會有檢驗前的時間延遲。市面上可購得的可攜式血液凝固儀的主要特徵及性能差異極大，但所能做的檢驗種類卻大同小

表 4. 傳統實驗室與可攜式血液凝固儀器測在測試方法上的不同。

傳統實驗室	可攜式裝置
去血小板血漿	全血
所需樣本體積較大：2—4 mL	較小：10—2000 μ L
加入檸檬酸鈉抗凝劑	不加抗凝劑
樣本稀釋成 1：9	不稀釋
需要不同程度的檢驗前時間延遲	無檢驗前時間延遲

異，均為 aCT、aPTT 及 PT。目前尚無將血小板功能測試整合其中的可攜式儀器，其原因為血小板功能測試的方式與血漿凝固過程的測試方式完全不同所致。使用可攜式血液凝固測試儀所測得的數據與實驗室法所測得的數據之間，大小無法吻合，有時甚至差距很大。即使在設計時，可攜式血液凝固測試儀盡可能的遵循傳統實驗室的方法，但兩者之間是否相同仍有爭議。不過幸運的是兩者之間基本上還有非常良好的線性回歸關係。

3. 其他具有潛力的血液凝固時間量測方式

除上述傳統的測試方法以及先前已經討論過的吸光度法和測量黏彈性的改變之外，還有許多測量血液凝固時間的方法具有潛力，將來可能應用到可攜式血液凝固儀的設計上，簡述如下。

(1) 電阻抗分析法

使用電阻抗分析法 (impedance analysis) 測量血液凝固時間的研究發展得很早 (西元 1905 年)，但直到 65 年後才由 A. Ur 教授作出關鍵性突破⁽²⁴⁾。量測的曲線特徵明顯，於反應終點處有明顯指標可供參考 (圖 10)。

(2) 表面電漿共振法

表面電漿共振法 (surface plasmon resonance) 提供光線與凝固中的血液之間的干涉，可經由觀察共振角度 (resonance angle) 的變化測得血塊性質的變化，藉以測量血液凝固時間⁽²⁵⁾。所得之曲線在反應終點處並無明顯指標可供參考 (圖 11)，需要作資料處理及曲線逼近 (curve fitting) 以求得結果。

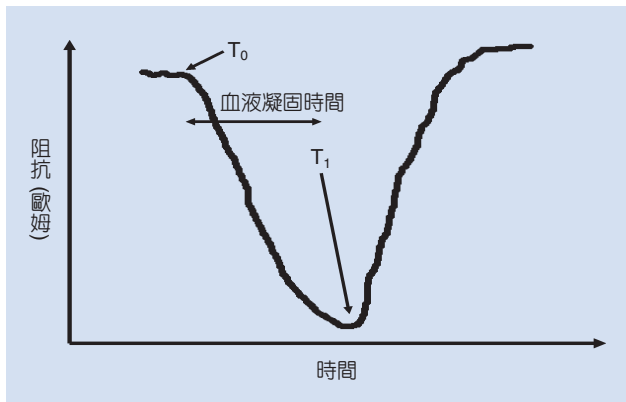


圖 10. 使用電阻抗分析法測量血液凝固時間。曲線特徵明顯，於反應終點處有明顯指標可供參考。

(3) 聲波血液分析法

使用聲波對凝固中的血液進行偵測，包括表面聲波感知器 (surface acoustic wave, SAW) 等，均可有效的測量血液凝固時間。Drexel 大學生物醫學工程研究所的 Dr. Ryszard 設計出聲波血液分析儀 (acoustic blood analyzer, ABA)，除可測量血液凝固時間之外，亦可同時具有許多其他的診斷功能。

(4) 脈衝超音波

使用超音波對凝固中的血液進行研究，紀錄入射及離開聲波之間的速度差並對時間做圖，可以測得血液凝固時間及血餅的收縮狀態⁽²⁶⁾，故除測量血液凝固時間外，對血小板的收縮能力測量也有很好的結果 (圖 12)。

(5) 壓電石英晶體感測

本法使用石英晶體微量天平 (quartz crystal microbalance, QCM) 測量血液凝固時間。經由分析血液凝固過程中石英晶體振動頻率的改變，可測量出血液凝固的時間⁽²⁷⁾。雖然所得到的曲線在接近反應終點時未有明顯的指標，但其使用了資料處理的方式求得血液凝固時間 (圖 13)。QCM 法所測的其實應為血塊黏彈性之改變。

(6) 磁性彈性感測

使用磁性彈性感測器 (magnetoelastic sensors)

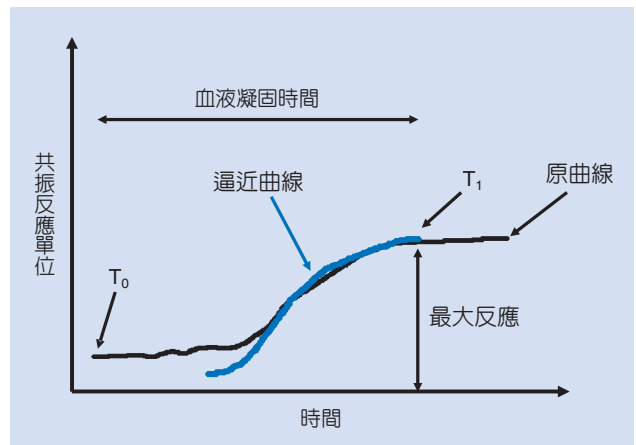


圖 11. 表面電漿共振法提供光線與凝固中的血液之間的干涉，藉以測量血液凝固時間。需要作資料處理及曲線逼近以求得結果。

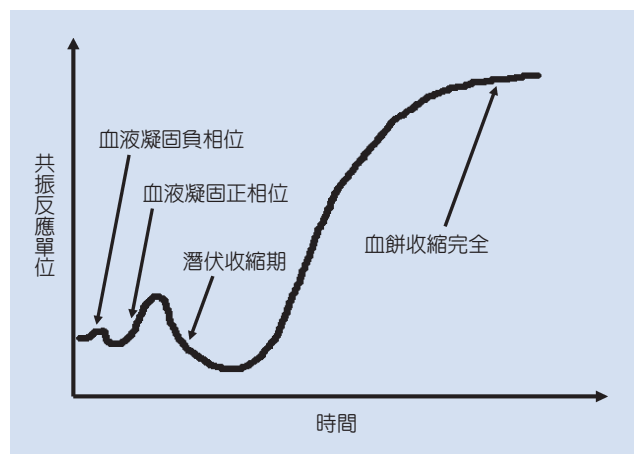


圖 12. 脈衝超音波對凝固中的血液進行研究，紀錄入射及離開聲波之間的速度差並對時間做圖，可以測得血液凝固時間及血餅的收縮狀態。

測量血液凝固時間的原理為：血塊在凝固的過程會改變黏滯度 (viscosity)，進而改變血塊與磁性彈性感測器間的共振頻率，藉由分析所測得之曲線，可求得血液凝固時間⁽²⁸⁾。本法所得曲線缺乏指標可供使用，故使用於定性測量較佳。且本法所測得之雜訊太大，需使用信號處理技巧消去雜訊方可使用。

(7) 其他的方法

某些測量的結果未能直接求得血液凝固時間，

但可使用信號處理的技巧或某些特殊的轉換技巧處理所測得之資訊後也可能間接求得血液凝固時間，這些技術如：斑紋分析法 (speckle analysis)⁽²⁹⁾、波形分析法 (waveform analysis)⁽³⁰⁾、神經網路分析法 (neural network analysis)⁽³¹⁾ 等等。

4. 使用全血或血漿樣本之利弊

使用全血作為樣本有實質上的好處：符合血液的生理狀況、直接使用，無需再經處理、可以測量血小板功能。全血樣本的缺點為：血比容 (Hct) 會影響血液凝固時間的長短、影響血液的黏彈性、阻抗值、血餅收縮體積；紅血球會阻隔某些信號、對光及聲波產生散射；血色素會減少透光。使用血漿作為樣本可以除去上述全血樣本所造成的干擾，可使樣本單純化，提高數據的精確度。缺點為：非生理狀況、需額外的處理以去除紅血球、無法測量血小板功能、成本較高。傳統實驗室使用離心法 (2500 rpm, 10 分鐘) 將血球及血小板除去。可攜式環境之下，除可使用微機電技術製作微過濾器之外⁽³²⁾，使用直流電⁽³³⁾ 或交流電介電泳⁽³⁴⁾ 原理亦可有效分離血球及血漿。

五、可攜式血液凝固時間測定儀的設計規格與要求

在設計可攜式儀器時，除須符合法規、臨床規範及工業規格 (含通訊) 之外，儀器本身的邏輯架構更會影響市場的佔有率。以下即簡述重要的法規、標準、及品管要求。

1. 法規

法規 (catch) 所影響的範圍可分兩大類：管理性規範 (regulatory compliance) 及通訊連接法規 (connectivity)。製作法規的機構繁多，主要的為 Joint Commission on Accreditation of Health Care Organizations (JCAHO)、College of American Pathologists (CAP)、Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health (FDA/CDRH)、Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS) 及 Centers for Disease Control

(CDC)，設計儀器前要先上網到上列機構下載法規。另外各個國家或地區如有個別規範 (如歐洲地區)，在商品行銷至該區之前應先符合該區規範 (含專利及相關法律)。美國食品及藥物管理局 (FDA) 的 CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) 規範是所有檢驗或檢查必須遵守的，它是品管的標準指標⁽³⁵⁾。它的適用範圍包括中央實驗室、衛星實驗室 (含加護病房及開刀房中的簡單實驗室)、門診、醫師辦公室及床邊所做的檢驗。CLIA 規範中與血液凝固試驗有關的規定主要有三個重點：中央實驗室要具備 CLIA 執照，衛星實驗室可以使用中央實驗室的執照，也可以單獨使用獨立的執照；中等複雜的檢查不包含某些可攜式血液凝固儀 (例如 ProTime[®]、CoaguChek[®])，另外，INRatio 的計算也排除在外；必要的項目包含實驗室主任必須考試及格、檢驗數據的保存規範、人員的訓練標準及品管政策。

CLIA 規範中與可攜式血液凝固試驗有關的規定主要重點為：

- (1) 檢驗方法的效度 (validation)、準確度 (accuracy) 及與現行標準之比較，依 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) 的準則 EP-09 建議要有 40 個樣本數。如無現行標準時，可使用線性化 (linearity) 原則。是否適合臨床使用。
- (2) 檢驗方法的精確度 (precision) 所需的控制組數據之取得方式。
- (3) 操作人員的訓練紀錄、最低學歷 (高中以上)、

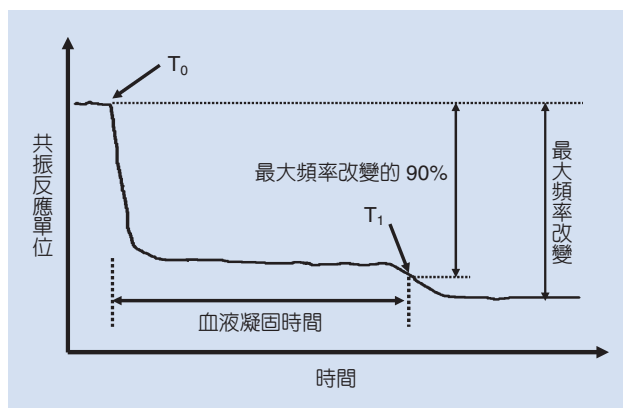


圖 13. 使用石英晶體微量天平測量血液凝固時間。

定期實地操作考核。

- (4) 檢量線不必一定是線性，不適用於不可調整的單位測試系統 (unit test system)，每年須兩次藉兩種以上不同的測試方法互相驗證。至少需三個檢查點。

通訊連接法規中規定儀器與電腦或週邊設備、儀器與儀器之間的單雙向溝通、資訊的結構、硬體的邏輯架構、使用者介面、所使用的語言等等規格，尤其是一些開放式的規格設計，希望達到儀器與儀器之間的整合。封閉式的系統或規格對使用上及市場佔有上來說，其實受歡迎的程度比不上開放式的設計。

2. 可攜式設計的基本要求

理想及具市場將來性的可攜式血液凝固時間測試儀必須滿足許多的要求，除上述所提到的法規及規格之外，還須滿足下列理念性的要求⁽⁴⁾：

- (1) 可攜帶性 (portability)。小體積及重量輕對可攜式設計而言是最基本的要求，使用者可以放入口袋，並且方便於出門旅行時攜帶使用。
- (2) 合於生理條件 (achieves physiological condition)。將檢驗過程及條件盡量保持於生理狀態之下，例如反應溫度保持於 37 °C，或使用未檸檬酸化的全血作為檢驗所需的樣本。雖由靜脈抽血可以減少組織受傷，較合於生理條件，但使用手指皮膚穿刺法取樣卻較簡單，有時候須做全盤性的考量。
- (3) 易於使用 (easy to use)。可攜式血液凝固時間測試儀適用的對象包括獨居老人或學齡兒童，因此操作必須簡單。樣本最好完全無需處理即可使用，因此使用手指皮膚穿刺法取樣的全血樣本較合於理想。儀器的操作也須做到只需輕輕的碰觸一下按鈕 (one touch) 即可完成檢驗並自動分析儲存。
- (4) 快速檢驗 (provides rapid results)。快速得到結果可以使醫師快速下判斷及快速處置以拯救病人的生命。病人及醫師在門診時，通常都不願久等，快速獲得結果絕對是非常重要的考量。一般而言，5 分鐘內得到結果最為理想。
- (5) 可對所測量的數據作統計分析及方便列印

(provides statistics and hard copies of data)。對所測的數據分析並作圖及列印，方便病人於門診時與醫師討論病情，另外也對流行病學的研究提供了便利性。

- (6) 只有可拋棄的耗材會接觸血液 (only disposable parts contact blood samples)。例如乾式試劑技術 (dry reagent technique)，可使儀器設計免除輸送管路，不但不用大量的溶液沖洗機器，也杜絕血液傳染疾病，更可節省反應的時間及降低成本。此類設計可符合經濟、環保、衛生、省時、方便等多重好處。
- (7) 單一樣本同時接受多種檢查 (use the same sample to run multiple tests at the same time)。將臨床上所需的數種檢驗整合成套裝檢查，單一血液樣本，一次完成。例如將 aPTT、PT 及 CRT 三個檢驗一次同時完成。如此方便臨床鑑別診斷及評估病人的整體狀況之用。
- (8) 允許使用經標準化的試劑以提供 INR (provide International Normalized Ratio)。臨床上對 INR 的使用，依賴甚深，因此可攜式血液凝固時間測試儀必須滿足 INR 之使用。
- (9) 低廉的儀器及操作成本 (low equipment and operating costs)。價格低廉通常是敲開市場大門的利器，不但儀器本身要便宜，耗材更要便宜。以現今的可攜式血液凝固時間測試儀而言，機器本身價格大約由美金 3000 元至 8000 元不等，耗材以每次使用成本約為美金 1.05 元至 3.25 元之間。由於微機電製程的進步，價格可望下降。惟有降低成本才能普及。

六、可攜式血液凝固時間測定儀的市場規模及未來展望

可攜式血液凝固時間測定儀的設計是以使用者 (病人及照顧者) 為中心的設計，而傳統實驗室的血液凝固時間測定方式卻是以實驗操作者為中心的設計，根據 Frost & Sullivan 在 2003 年第四季所做的調查報告 (point of care coagulation testing in Europe) 顯示：這種以使用者為中心的設計在未來很有可能大量取代傳統實驗室的血液凝固時間檢驗。加上侵

入性治療的市場大量成長、老年人口的增加、心血管疾病的盛行率提高等等，都使得可攜式血液凝固時間測定儀的重要性與日俱增。根據 HBS Consulting 於 2004 年第一季所做的調查報告 (opportunities for point of care testing in several European countries) 顯示：可攜式血液凝固時間測定儀的市場 (每年 5% 成長) 的重要性、成長及規模將僅次於核酸探針 (每年 20% 成長) 及血糖儀 (每年 15% 成長)，而其他的可攜式檢驗市場幾乎都達到飽和。至於市場的大小，以美國為例，根據 2003 年第四季的 Theta Reports 所做的報告 (Point-of-Care Testing : U.S. Markets and Progress) 顯示：全美的床邊照顧檢驗市場，預計到 2008 年時達到市場規模超過每年九億美元，而大部分的 POC 市場，到時候又幾乎由血糖儀、核酸探針及可攜式血液凝固時間測定儀三者所佔有。目前，可攜式血液凝固時間測定儀的產品其實都還有很大的改良空間，因此，將來的發展及機會絕對是各家生醫科技公司所不能忽視的。

七、結語

由於科技的進步及市場的需求，可攜式血液凝固時間測定儀在篩檢性的血液凝固檢驗市場上將佔有非常重要的地位。使用小體積 ($< 10 \mu\text{L}$) 的全血 (採自指尖) 作為檢驗的樣本，單一樣本單次檢驗可同時檢查 aPTT、PT 及 CRT、單次檢測時間不超過 5 分鐘、體積小、重量輕，可直接放入外衣口袋之中，可輕易與電腦溝通，使用容易，即使老人及小孩也可輕易學會如何使用。由於以上的優點，可攜式血液凝固時間測定儀將會取代大部分的實驗室操作，成為未來床邊照顧系統中監視抗凝血藥物使用、提高侵入性手術成功率及拯救病人生命不可或缺的工具，其市場的規模及成長也都為各方所看好。

參考文獻

1. R. A. Hutton, *Normal Haemostasis in Postgraduate Haematology*, 3rd ed., London : Heinemann Medical Books, 575 (1989).
2. 何敏夫, 血液學, 第三版, 台北市: 合記, 403 (2002).
3. W. F. Ganong, *Review of Medical Physiology*, 11th ed., Taipei : Lange Medical publications, 421 (1983).
4. D. M. Carville and K. E. Guyer, *IVD Tech*, **4** (4), 59 (1998).
5. "Point-of-Care Coagulation Testing in Europe," Frost & Sullivan (2003).
6. 陳家成, 以電阻抗分析法測量人類全血凝固時間, 國立成功大學微機電系統工程研究所碩士論文, 21 (2005).
7. 陳家成, 以電阻抗分析法測量人類全血凝固時間, 國立成功大學微機電系統工程研究所碩士論文, 72 (2005).
8. R. D. Hull, V. V. Kakkar, and G. E. Raskob, *Thrombosis in Cardiovascular Disorders*, Philadelphia: Saunders, 451 (1992).
9. K. L. Melmon, H. F. Morrelli, B. B. Hoffman, and D. W. Nierenberg, *Clinical Pharmacology*, 3rd ed., New York : McGraw-Hill, 580 (1992).
10. 何敏夫, 血液學, 第三版, 台北市: 合記, 825 (2002).
11. K. L. Melmon, H. F. Morrelli, B. B. Hoffman, and D. W. Nierenberg, *Clinical Pharmacology*, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, 558 (1992).
12. K. L. Melmon, H. F. Morrelli, B. B. Hoffman, and D. W. Nierenberg, *Clinical Pharmacology*, 3rd ed., New York: McGraw-Hill, 563 (1992).
13. M. Longmore, I. Wilkinson, and E. Torok, *Oxford Handbook of Clinical Medicine*, 5th ed., New York : Oxford University Press, 801 (2001).
14. D. M. Carville and K. E. Guyer, *IVD Tech*, **4** (5), 33 (1998).
15. B. A. Brown, *Hematology: Principles and Procedures*, Philadelphia : Lea & Febiger, 124 (1980).
16. B. A. Brown, *Hematology: Principles and Procedures*, Philadelphia : Lea & Febiger, 132 (1980).
17. B. A. Brown, *Hematology: Principles and Procedures*, Philadelphia : Lea & Febiger, 130 (1980).
18. 何敏夫, 血液學, 第三版, 台北市: 合記, 875 (2002).
19. B. A. Brown, *Hematology: Principles and Procedures*, Philadelphia: Lea & Febiger, 127 (1980).
20. 何敏夫, 血液學, 第三版, 台北市: 合記, 831 (2002).
21. N. A. Goldenberg, W. E. Hathaway, L. Jacobson, and M. J. Manco-Johnson, *Thrombosis Research*, **116**, 345 (2005).
22. M. Kaibara, *Biorheology*, **33** (2), 101 (1996).
23. K. N. von Kaulla, *Journal of Medicine*, **6** (1), 73 (1975).
24. A. Ur, *Nature*, **266**, 269 (1970).
25. T. P. Viking, K. M. Hansson, and J. Benesch, *Journal of Biomedical Optics*, **5** (1), 51 (2000).
26. J. C. Machado, *Journal of Acoustical Society of America*, **90** (4), 1749 (1991).
27. T. J. Cheng, H. C. Chang, and T. M. Lin, *Biosensors and Bioelectronics*, **13** (2), 147 (1998).
28. L. G. Puckett, G. Barrett, and L. G. Bachas, *Biosensors and Bioelectronics*, **18**, 675 (2003).
29. Y. Piederriè re, J. Cariou, and J. Lotrian, *Journal of Biomedical Optics*, **9** (2), 408 (2004).
30. C. H. Toh and A. R. Giles, *Clinical and Laboratory Haematology*, **24**, 321 (2002).

31. T. B. Givensa, P. Brauna, and T. J. Fischera, *Computers in Biology and Medicine*, **26** (6), 463 (1996).
32. D. Irimia and M. Toner, *Lab on a Chip*, **6** (3), 345 (2006).
33. K. H. Kang, Y. Kang, X. Xuan, and D. Li, *Electrophoresis*, **27** (3), 694 (2006).
34. A. Minerick, P. Takhistov, R. Zhou, and H. C. Chang, *Electrophoresis*, **24**, 3703 (2003)
35. <http://www.fda.gov/cdrh/clia>

-
- 陳家成先生為國立成功大學醫學工程研究所博士班學生，現任財團法人天主教聖馬爾定醫院家庭醫學科主治醫師及懷正紀念病房主治醫師。
 - 林尊湄女士為國立成功大學基礎醫學研究所博士，現任成功大學醫學檢驗生物技術學系副教授。
 - 張憲彰先生為日本東北大學應用化學博士，現任國立成功大學醫學工程研究所教授。

- Chia-Chern Chen is a Ph.D. student in the Institute of Biomedical Engineering, National Cheng Kung University. He is currently a visiting staff in the Department of Family Medicine and the Department of Hospice Palliative Care at St. Martin de Porres Hospital.
- Tsun-Mei Lin received her Ph.D. in basic medical sciences from National Cheng Kung University. She is currently an associate professor in the Department of Medical Laboratory Science and Biotechnology at National Cheng Kung University.
- Hsien-Chang Chang received his Ph.D. in applied chemistry engineering from Tohoku University, Japan. He is currently a professor in the Institute of Biomedical Engineering at National Cheng Kung University.