

國立交通大學

機械工程學系

碩士論文

反射式雷射光學感測系統應用於凝血檢測研究

**Evaluation of blood coagulation by reflective laser
measurement analysis**

研究生：顏士傑

指導教授：鄭泗東 博士

中華民國一百零二年八月

反射式雷射光學感測系統應用於凝血檢測研究

Evaluation of blood coagulation by reflective laser measurement analysis

研 究 生：顏士傑

Student : Shih-Chieh Yen

指 導 教 授：鄭泗東

Advisor : Stone Cheng

國 立 交 通 大 學

機 械 工 程 學 系

碩 士 論 文

A Thesis

Submitted to Department of Mechanical Engineering

National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master

In Department of Mechanical Engineering

Science

August 2013

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中 華 民 國 一 百 零 二 年 八 月

反射式雷射光學感測系統應用於凝血檢測研究

研究生:顏士傑

指導教授:鄭泗東

摘要

血液凝血檢測分析，仍是目前外科手術、心血管疾病、慢性病併發症及血友病的重要依據。傳統檢測血液凝血酶原時間，一般使用自動凝血分析儀來做檢測，但是儀器設備系統昂貴、體積龐大、成本較高且檢測時間過長。近年來，各界研究方向以穿透式光學系統檢測血液樣本的凝血動態，但實驗的器材與環境所需體積較為龐大，此外，穿透式光學系統檢測常使用 CCD camera 作為接收端，其訊號都需匯入電腦做數值處理才可繪出動態曲線。

因此本論文研究主要以反射式光學檢測系統對人的全血進行血液凝固檢測。使用雷射照射反射鏡面上的全血人類血滴，藉由反射光回授至光偵測器，將光強度轉換成電壓，再計算電壓變化趨勢，並分析凝血功能異常與否及凝血時間長短，以達成凝血檢測的目標。此外，本光學檢測系統血液樣本需求量較少且血液樣本可使用全血樣本或血漿樣本，而非接觸式檢測減少對凝血機制之影響，對生醫領域提供一快速、方便簡單及低成本的光學生物檢測技術。

關鍵字：凝血時間、凝血機制、生物感測器、反射式光學系統。

Evaluation of blood coagulation by reflective laser measurement analysis

Student : Shih- Jie Yan

Advisor : Stone Cheng

Abstract

The analysis of blood coagulation tests is an important basis for surgery, cardiovascular disease, chronic disease complications and hemophilia. It's always use the automatic coagulation analyzer to detect the blood prothrombin time in tradition. But, the automatic coagulation analyzer is so expensive, bulky, higher costs, and the long duration of detection. In recent years, the direction of research in the optical biosensor is to test dynamic blood coagulation from a standard blood sample, but it's required fairly wide space to set the experimental equipment and environment. Further, it's often use the CCD camera be receiver in a penetration type optical measurement system. In order to show the dynamic curve, these signals need numerical calculation in computer analysis.

Therefore, this research is mainly using reflective optical system to detect the human whole blood coagulation. A 635nm red laser is to irradiate the whole blood of human on the reflective mirror, and the feedback light is received by the photodiode. Finally, the light intensity is converted into voltage, and then calculated the trend of the voltage change. We can achieve the purpose is the coagulation test by analysis of abnormal coagulation and clotting time length. In addition, our optical detection system is less demand in both whole-blood and plasma samples. The most important is that non-contact detection can reduce the effect of clotting mechanism. It provides a fast, convenient and low-cost optical bio-detection technology to the biomedical sphere.

Keywords: clotting time, clotting mechanism, reflective optical system, bio-detector

誌 謝

兩年時間咻的一聲就過去了，從一開始進研究所的懵懂，到現在能夠擁有獨立思考解決問題的能力，這是在交大機械所兩年間最大的收穫，畢竟專業部分用於未來職場上亦是未知數，獨立思考及解決問題才能廣泛用於各行各業及未來生涯。

在此感謝我的指導教授：鄭泗東教授。教授總是在我的研究出現瓶頸或突破時給予鼓勵，且在研究的細節上勾勒出該有的細膩度；並藉由教授在業界打滾多年的經驗，時時以主管的角度提醒及教導我們該如何在職場上生存。

感謝周柏謙學長不時提醒我，要能夠從研究所畢業是有難度的。

感謝林育丞學長在我的研究生涯中扮演著亦師亦友的身分，帶領我進入生醫的領域並給予我宏觀的視野應用於研究上；在日常生活中，學長的幽默點綴著平淡無奇的日子，使整間實驗室熱絡了起來。

感謝家宏、奇穎、小游、咨宏學長在同屆女性當道中，陪我了解實驗室的天南地北並帶領我了解新竹美食。

感謝婕安、慧珊、琺竹、甄寧、歆莘、仲翔在我的研究生活中，安排了許多不一樣的小插曲，豐富了我的內在，你們影響了我並改變了我，讓我勇於找出自己的理想並慢慢靠近。

感謝柏丞、智偉、嘉翔、定諺、柏霖、家瑋、安翔、敬書...等學弟妹們，忍受學長平時的幼稚行為及無理霸道，且無時無刻的提醒學長姐們要準時畢業，不要一起辦慶功宴。

最後感謝我的家人，在我就學的路上給予我鼓勵支持，你們教給我的是做人該有的態度。感謝父親給予我實驗上製具的意見及協助；感謝母親在我心情低落的時候，不厭其煩地聽我訴苦；感謝弟弟在夜晚時，享受著我的協奏曲入睡。

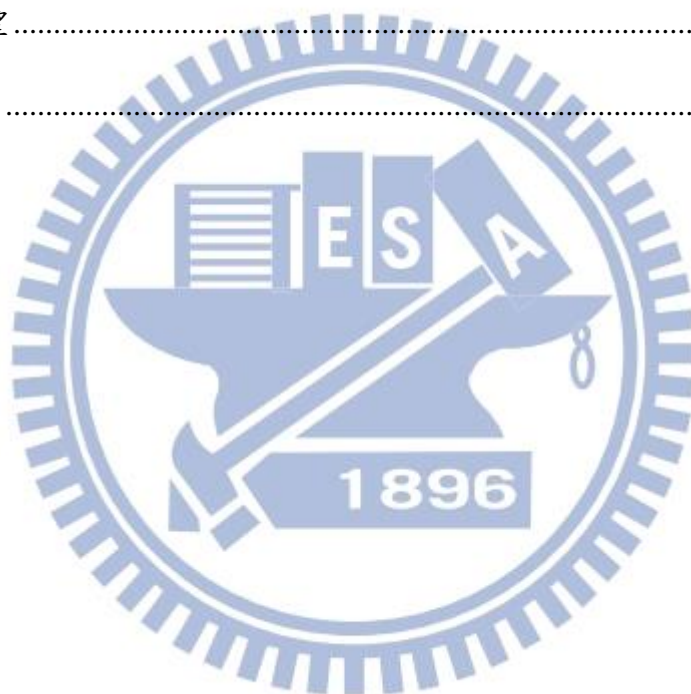
感謝各位一路的陪伴讓我完成這本論文，我，由衷感謝。

目錄

摘要	i
Abstract.....	ii
誌謝	iii
目錄	iv
圖目錄	vii
表目錄	xii
第一章 緒論	1
1-1 前言	1
1-2 研究動機	2
1-3 文獻回顧	3
1-4 文獻整理	5
1-5 論文架構	5
第二章 血液凝血機制與檢測方法介紹	6
2-1 血液簡介	6
2-2 血液栓塞相關疾病	7
2-2-1 血栓(thrombus)	7
2-2-2 靜脈血栓栓塞(Venous Thromboembolism, VTE)	7
2-2-3 深層靜脈栓塞(Deep Vein Thrombosis, DVT)	7
2-2-4 肺栓塞(Pulmonary Embolism, PE)	7
2-2-5 血栓和心房顫動(Atrial Fibrillation, AF)	8
2-2-6 血栓和冠狀動脈疾病(Coronary Artery Disease, CAD)	8
2-3 血液凝血機制	9
2-4 血液相關時間定義	12
2-4-1 凝血時間 (Coagulation Time, CT)	12
2-4-2 活化凝血時間 (Activated Clotting Time, ACT)	12
2-4-3 活化部分凝血活酶時間 (Activated Partial Thromboplastin Time, APTT)	13
2-4-4 凝血酶原時間 (Prothrombin Time, PT)	15
2-4-5 國際標準化比值 (International Normalized Ratio, INR)	16

2-4-6 正常凝血時間參考值	18
2-5 血液檢測方法介紹	19
2-5-1 手工法 (Method for Manual Technique)	19
2-5-2 比濁法	19
2-5-3 壓電石英感測器分析 (Piezoelectric Quartz Crystal, PQC)	23
2-5-4 表面電漿共振法 (Surface Plasmon Resonance, SPR)	24
2-5-5 雷射光散射動態分析 (Dynamic Laser Scattering, DLS)	26
2-5-6 光斑波動量測 (Speckle Fluctuation Measurement, SFM)	28
2-5-7 多重散射光分析 (Multiple Scattering Analysis, MSA)	30
2-6 各種檢測使用樣本量統計	32
第三章 光學理論及實驗架構	33
3-1 光學理論	33
3-1-1 光反射與折射	33
3-1-2 光散射現象	35
3-1-3 光吸收現象	38
3-2 實驗儀器介紹	40
3-2-1 實驗光源	40
3-2-2 放大器	40
3-2-3 光偵測器	41
3-2-4 Labview 架構	43
3-2-5 乘載試片簡易架構	44
3-2-6 反射鏡平台架構-1	46
3-2-7 反射鏡平台架構-2	47
3-2-8 血漿樣本及凝血劑製備	49
3-3 實驗試片介紹	51
3-3-1 蓋玻片-載玻片	51
3-3-2 PDMS 簡易製作	53
3-3-3 PDMS-T 型試片	55
3-3-4 PDMS-圓型試片	57
3-4 實驗平台介紹	61
3-4-1 反射式光學檢測系統-1	61
3-4-2 反射式光學檢測系統-2	62
3-4-3 穿透式光學檢測系統	63

第四章 結果與討論	64
4-1 實驗結果	65
4-1-1 實驗結果判定	65
4-1-2 蓋玻片-載玻片實驗結果	66
4-1-3 PDMS-T 型試片實驗結果	72
4-1-4 PDMS-圓型試片實驗結果	78
4-2 實驗結果討論	84
第五章 結論與未來展望	88
5-1 結論	88
5-2 未來展望	89
第六章 參考文獻	90



圖目錄

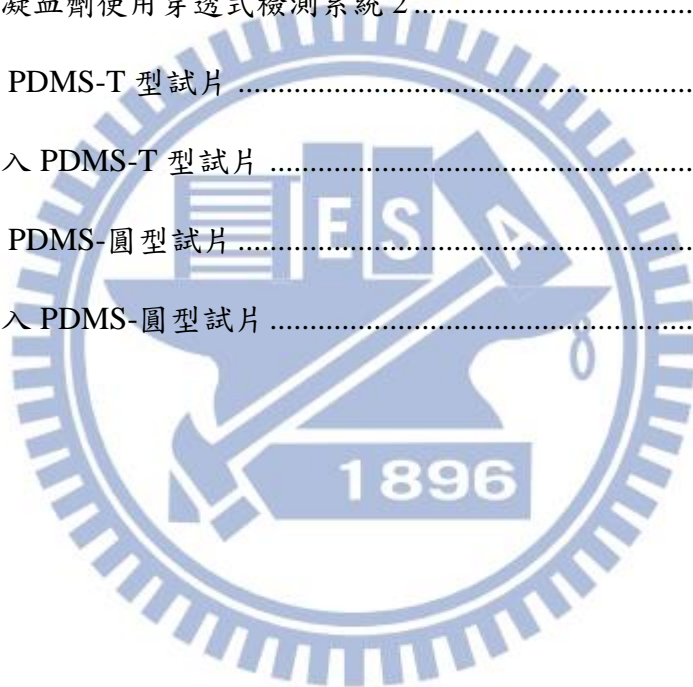
圖 1.1 全自動凝血分析儀(Rayto Rac-120)	3
圖 2.1 血液成分	6
圖 2.2 內源性凝血路徑	10
圖 2.3 外源性凝血路徑	10
圖 2.4 共同凝血路徑	11
圖 2.5 APTT 試驗方法	13
圖 2.6 凝血酶原時間機制	15
圖 2.7 散射比濁法實驗架構	19
圖 2.8 散射比濁法實驗過程及曲線	20
圖 2.9 透射比濁法實驗架構	21
圖 2.10 透射比濁法實驗過程及曲線	22
圖 2.11 PQC 樣品製備	23
圖 2.12 PQC 實驗結果曲線	23
圖 2.13 表面電漿共振法實驗架構	25
圖 2.14 SPR 實驗結果	25
圖 2.15 機械式阻塞	26
圖 2.16 DLS 實驗架構	26
圖 2.17 雷射光動態散射分析結果	27
圖 2.18 光斑測試圖	28
圖 2.19 SFM 實驗架構	28
圖 2.20 SFM 動態凝血結果	29
圖 2.21 MSA 實驗架構	30

圖 2.22 MSA 凝血動態曲線圖	30
圖 2.23 全血與血漿曲線比較圖	31
圖 3.1 反射定律	33
圖 3.2 鏡面反射及漫反射	33
圖 3.3 斯乃爾定律推導	34
圖 3.4 Bouguer – Lambert 定律推導	39
圖 3.5 放大器電路圖	41
圖 3.6 放大器實驗電路圖	41
圖 3.7 S4349 光偵測器外型	42
圖 3.8 光偵測器波長感測範圍	43
圖 3.9 Labview 架構	43
圖 3.10 有日光燈無雷射波形圖	44
圖 3.11 乘載試片簡易架構展開圖與 3D 圖	44
圖 3.12 乘載試片簡易架構拆解圖	45
圖 3.13 乘載試片簡易架構組合圖	45
圖 3.14 反射鏡平台架構展開圖	46
圖 3.15 反射鏡平台架構平面圖	46
圖 3.16 反射鏡平台架構組合圖	47
圖 3.17 反射鏡平台架構-2 工程圖	48
圖 3.18 反射鏡平台架構-2-3D 圖	48
圖 3.19 反射鏡平台架構-2 組合圖	49
圖 3.20 蓋玻片-載玻片	51
圖 3.21 蓋玻片乘載全血血液樣本	51

圖 3.22 載玻片-蓋玻片	52
圖 3.23 載玻片-蓋玻片乘載血液樣本	52
圖 3.24 PDMS 膠與固化劑	53
圖 3.25 加熱基板與加熱器	54
圖 3.26 精密電子天秤 (精度至 mg)	54
圖 3.27 抽真空所用壓縮機與壓力鍋	54
圖 3.28 PDMS-T 型試片規格	55
圖 3.29 PDMS-T 型試片母模 3D 圖	56
圖 3.30 PDMS-T 型試片母模	56
圖 3.31 PDMS-T 型試片黏貼於載玻片	56
圖 3.32 PDMS-T 型試片加入全血血液樣本示意圖	57
圖 3.33 PDMS-圓型試片規格	58
圖 3.34 PDMS-圓型試片母模 3D 圖	58
圖 3.35 PDMS-圓型試片母模	59
圖 3.36 PDMS-圓型試片	59
圖 3.37 PDMS-圓型試片加入全血血液樣本示意圖	60
圖 3.38 反射式光學系統-1 流程	61
圖 3.39 反射式光學檢測系統實驗平台	61
圖 3.40 反射式光學系統-2 流程	62
圖 3.41 反射式光學系統檢測平台-2	62
圖 3.42 穿透式光學系統流程	63
圖 3.43 穿透式光學檢測系統實驗平台	63
圖 4.1 白板筆補充液	64

圖 4.2 壓克力水彩顏料	64
圖 4.3 全血使用反射式檢測系統 1	66
圖 4.4 全血使用反射式檢測系統 2	67
圖 4.5 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 1	67
圖 4.6 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 2	68
圖 4.7 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 1	68
圖 4.8 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 2	69
圖 4.9 全血使用穿透式檢測系統 1	70
圖 4.10 全血使用穿透式檢測系統 2	70
圖 4.11 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 1	71
圖 4.12 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 2	71
圖 4.13 全血使用反射式檢測系統 1	72
圖 4.14 全血使用反射式檢測系統 2	73
圖 4.15 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 1	73
圖 4.16 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 2	74
圖 4.17 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 1	74
圖 4.18 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 2	75
圖 4.19 全血使用穿透式檢測系統 1	76
圖 4.20 全血使用穿透式檢測系統 2	76
圖 4.21 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 1	77
圖 4.22 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 2	77
圖 4.23 全血使用反射式檢測系統 1	78
圖 4.24 全血使用反射式檢測系統 2	79

圖 4.25 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 1	79
圖 4.26 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 2	80
圖 4.27 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 1	80
圖 4.28 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 2	81
圖 4.29 全血使用穿透式檢測系統 1	82
圖 4.30 全血使用穿透式檢測系統 2	82
圖 4.31 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 1	83
圖 4.32 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 2	83
圖 4.33 全血注入 PDMS-T 型試片	84
圖 4.34 凝血劑注入 PDMS-T 型試片	84
圖 4.35 全血注入 PDMS-圓型試片	85
圖 4.36 凝血劑注入 PDMS-圓型試片	85



表目錄

表 1.1 民國 83 年及 100 年十大死因對照表	1
表 2.1 十二種凝血因子	9
表 2.2 PT 及 APTT 症狀分析	16
表 2.3 各適應症之 INR 範圍	17
表 2.4 正常凝血時間參考值	18
表 2.5 實驗方法與儀器所需樣本量	32
表 3.1 雷射都卜勒測振儀規格(感測器)	40
表 3.2 S4349 光偵測器元件參數	42
表 3.3 凝血劑保存時間	49
表 3.4 血漿樣本保存時間	50
表 4.1 各實驗結果之 INR 值	86
表 4.2 各實驗方法之成功率	86
表 4.3 各試片之優缺點	87

第一章 緒論

1-1 前言

由於現代醫藥科技的進步及生活環境的改善，突發性的疾病所引起的死亡率逐年下降，取而代之的是慢性疾病。飲食習慣的改變、生活方式的便利造成現代人容易擁有三高(高血壓、高血糖、高血脂)現象，預防慢性疾病也就成為當前重要的課題。以衛生署所統計的 83 年及 100 年國人 10 大死因。

表 1.1 民國 83 年及 100 年十大死因對照表

民國 83 年(1994 年)			民國 100 年(2011 年)		
死亡原因		死亡百分比	死亡原因		死亡百分比
1.	惡性腫瘤	19.90%	1.	惡性腫瘤	28.0%
2.	腦血管疾病	12.55%	2.	心臟疾病	10.9%
3.	意外事故及不良影響	12.29%	3.	腦血管疾病	7.1%
4.	心臟疾病	10.64%	4.	糖尿病	6.0%
5.	糖尿病	5.40%	5.	肺炎	6.0%
6.	慢性肝病及肝硬化	3.76%	6.	事故傷害	4.4%
7.	腎炎、腎徵候群及腎變性病	2.86%	7.	慢性下呼吸道疾病	3.9%
8.	肺炎	2.54%	8.	慢性肝病及肝硬化	3.4%
9.	高血壓性疾病	1.91%	9.	高血壓性疾病	3.0%
10.	支氣管炎、肺氣腫及氣喘	1.75%	10.	腎炎、腎病症候群及腎病變	2.9%

由上表可知，慢性疾病的死亡率逐年遞增。其中，惡性腫瘤[1]、心血管疾病[2]、高血壓[3]及糖尿病[4]...等皆可藉由血液凝固時間長短來檢測跡象及病情。醫生可藉由血液凝固時間長短並配合國際訂定的 INR 值(International Normalized Ratio)，給予病人相

關處方籤以達到控制病情。然而，慢性疾病容易導致身體器官機能不正常，尤其是在重大手術時，血液凝固時間的長短攸關於是否大量出血或是血栓堵塞，任何一項都會危及病人的生命，故快速、精確的凝血檢測顯得更為重要。

1-2 研究動機

現今市面上已經有測量凝血酶原時間的儀器，目前只有大規模的醫院採買，原因是設備過於昂貴，如圖 1.1。而體積過於龐大且此檢測機器必須先將待檢測血液放置於離心機，分離出血漿才可以分析凝血酶原時間，如此繁複的過程並不適合用於大量出血的緊急處理、急診、臨床實驗室及醫生辦公室使用。此外，一般的檢測儀器檢測方式為侵入性檢測，其檢測結果必須經過演算，最後計算結果通常需要花費 80 秒~5 分鐘(檢測機器不同而有所差異)。

本論文研究主旨為尋找一種凝血檢測技術，可由低抽血量之全血樣本，經非接觸式檢測機制，在短時間內顯示凝血檢測結果，並簡化系統設計，達到方便、快速、即時性及家庭普及化。本研究以反射式光學檢測系統為基礎，設計一種凝血檢測儀器，使得患者的自我檢測亦或是健康的人能在第一時間得到所需的資訊。

反射式光學檢測系統，除了有效縮短光路、放大凝血訊號，還可以達到血液凝固即時動態分析。此外，反射式光學檢測系統所需的全血樣本量極少，且非接觸式檢測減少對凝血機制之影響，在生醫領域提供一快速、方便簡單及低成本的光學生物檢測技術。



圖 1.1 全自動凝血分析儀(Rayto Rac-120)

1-3 文獻回顧

1. Yann Piederrière, Jack Cariou, Yves Guern, Guy Le Brun “Evaluation of blood plasma coagulation dynamics by speckle analysis” *Journal of Biomedical Optics* 9(2), 408–412 (March/April 2004) [5] 此篇論文主要是藉由光斑現象，對血漿的凝血過程做即時的動態觀察與研究。在文中亦介紹兩種方式來做血液凝血檢測，分別為光斑波動量測 (Speckle Fluctuation Measurement, SFM) 及粘度偵測系統 (Viscosity-Based Detection System, VBDS)。
2. Magalie Faivre, Philippe Peltière, Anne Planat-Christien, Marie-Line Cosnier, Myriam Cubizolles, Christophe Nougier, Claude Négrier, Patrick Pouteau, “Coagulation dynamics of a blood sample by multiple scattering analysis”, *Journal of Bio. Opt.*, Vol. 16 (5), 2011 [6] 此篇論文使用多重散射光分析 (Multiple Scattering Analysis, MSA) 血液凝血動態研究。文中主要使用全血樣本直接檢測，不用以往方式使用血漿樣本，MSA技術會比傳統檢測更快、更為方便。
3. Vyacheslav Kalchenko, Alexander Brill, Michael Bayewitch Ilya Fine, Vladimir Zharov, Ekaterina Galanzha, Valery Tuchin, Alon Harmelin, “In vivo dynamic light scattering imaging of blood coagulation”, *Journal of Biomedical Optics* 12(5),

052002(September/October 2007) [7] 此篇論文使用雷射光散射動態分析 (Dynamic Laser Scattering, DLS) 監測體內紅血球的流動作為凝血指標。文中主要使用老鼠耳朵作為樣本，因為在實驗顯示檢測深度只能達到0.3mm，但DLS是一種無創傷且可視化的實驗方法去觀察紅血球的運動。

4. Kenny M. Hansson a, Knut Johansen, Jonas Wetterö, Goran Klenkar, Johan Benesch, Ingemar Lundström, Tomas L. Lindahl, Pentti Tengvall, “Surface plasmon resonance detection of blood coagulation and platelet adhesion under venous and arterial shear conditions”, *Biosensors and Bioelectronics* 23 (2007) 261–268, 16 April 2007 [8] 此篇論文使用表面電漿共振法 (Surface plasmon resonance, SPR) 量測血液凝血酶原時間 (Prothrombin Time, PT)。文中使用血漿樣本與氯化鈣溶液混合滴至感測器上進行量測。
5. Duo Lin, Shangyuan Feng, Jianji Pan, Yanping Chen, Juqiang Lin, Guannan Chen, Shusen Xie, Haishan Zeng and Rong Chen, “Colorectal cancer detection by gold nanoparticle based surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum and statistical analysis”, *Opt. Exp.*, vol. 19, no. 14, 2011 [9] 此篇論文以拉曼共焦顯微鏡分析血液凝血、血清與癌症關聯性。
6. Po-Chien Chou, Yu-Cheng Lin, and Stone Cheng, “Enhancement of Optical Adaptive Sensing by Using a Dual-Stage Seesaw-Swivel Actuator with a Tunable Vibration Absorber”, *Sensors* 11, 4808-4829, 2011 [10] 此篇論文主要由一半導體雷射(Laser Diode, LD)、光偵測器(Photo Diode, PD)及45度轉折鏡(turning mirror) 鑲嵌之矽基板(substrate)，兩端分別為45度角傾斜反射鏡 (45° prism)，上方加上全像光學元件(Holographic Optical Element, HOE) 以及微物鏡 (objective lens)，雷射光激發後由 turning mirror兩次反射，並穿透HOE元件，藉由物鏡聚焦至量測表面，反射時再透過HOE產生散射光及兩次傾斜反射，最後聚焦於光偵測器上。

7. 張詠銘, 黃崧任, “Investigation of Micro Blood Coagulation Bio-Chip”, 國立中正大學, 1 June 2006 [11] 此篇碩士論文利用血漿、凝血劑與微流道間的表面張力為驅動力並設計一生物晶片，探討血漿與凝血劑的混合反應情形。

1-4 文獻整理

由上述的文獻回顧可知：第一，用光學的方式去檢測血液凝血動態是可行的。第二，目前市面上除了表面電漿共振法 (SPR)[8,12~15] 之外，其餘方法皆為穿透血液樣本的檢測。第三，多重散射光分析 (MSA)[7]使用全血樣本，但其接收端為 CCD Camera，需再經由數值分析過後才能呈現動態結果。第四，藉由微血液凝血生物晶片之研究[11]的實驗內容，了解當血液與凝血劑接觸，其凝血反應相當快速。

因此本研究規劃一種反射式光學檢測系統，藉由反射光回授至感測器，並分析凝血功能異常與否及凝血時間長短，以達成凝血檢測的目標。

1-5 論文架構

本論文安排架構如下：

第一章中，簡介血液凝血檢測的重要性、研究動機與文獻回顧。

第二章中，簡介血液、凝血機制、相關凝血時間定義及各檢測方法介紹。

第三章中，簡介光學理論、實驗光學系統架構。

第四章中，初步結果及討論。

第五章中，未來研究計畫與展望。

第二章 血液凝血機制與檢測方法介紹

2-1 血液簡介

血液是一種結締組織，流動於循環系統、心臟和血管中。血液組織由血液細胞(紅血球、白血球、血小板)及血漿(血漿蛋白、水)所構成。哺乳類的血液具有凝血機制，當血小板破裂時，會將血漿中的纖維蛋白結合鈣離子形成不可溶性纖維蛋白(血餅)。生物體的生理變化和病理變化往往引起血液成分的改變，所以血液成分的檢測有重要的臨床意義。血液約占人體體重 7%，其中有 45% 為血液細胞，55% 為血漿，圖 2.1 為血液內容簡介(1 公升為例) [16]。

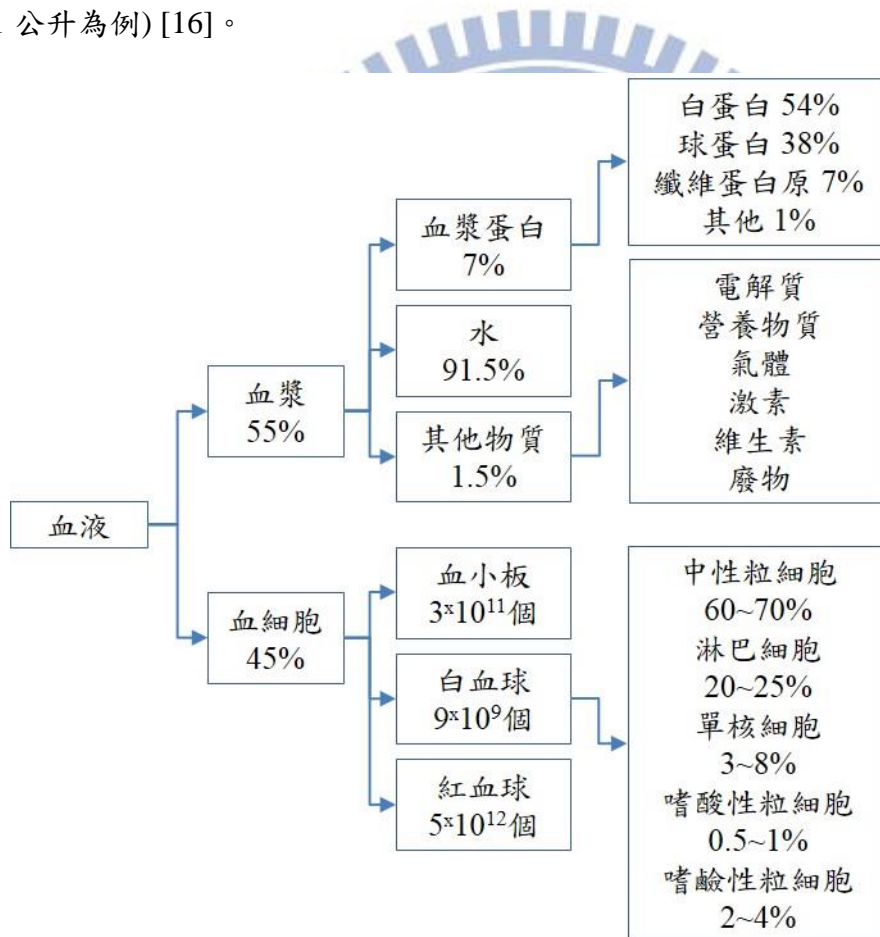


圖 2.1 血液成分

2-2 血液栓塞相關疾病

2-2-1 血栓(thrombus)

血栓是在血管中形成血塊，在身體循環系統中會妨礙或阻斷血流。血栓較易發生於靜脈，靜脈的血壓比動脈低且流速較慢，因此容易形成血栓。血栓有可能從血管壁脫落，隨血液流動卡在肺臟或其他重要的器官的動脈中，造成致命的血栓危機。血栓容易造成以下五種潛藏致命危機的疾病：靜脈血栓栓塞(Venous Thromboembolism, VTE)、深層靜脈栓塞(Deep Vein Thrombosis, DVT)、肺栓塞(Pulmonary Embolism, PE)、血栓和心房顫動(Atrial Fibrillation, AF)及血栓和冠狀動脈疾病(Coronary Artery Disease, CAD)。

2-2-2 靜脈血栓栓塞(Venous Thromboembolism, VTE)

當血液由微血管流入靜脈時，管徑變大且血液流速下降，或是靜脈瓣膜造成紊流，使血球撞擊血管壁，造成血管上有微損傷，觸發凝血機制，進而引發靜脈血栓栓塞。

2-2-3 深層靜脈栓塞(Deep Vein Thrombosis, DVT)

深層靜脈栓塞是在深層靜脈形成的血栓，通常形成於下肢或骨盆部位深處的靜脈。深層靜脈栓塞發生時，會引起下肢疼痛、腫脹、發紅或發熱，亦使淺層靜脈脹大。

2-2-4 肺栓塞(Pulmonary Embolism, PE)

肺栓塞是一個死亡率相當高的疾病，主要是異物卡在肺部的血管中，造成肺部吸入的氧氣無法跟血管中的血液交換氣體，最後造成病人缺氧，甚至死亡。一般最常見造成肺栓塞的原因，包括靜脈栓塞，剝落的血栓隨血液流至肺部造成栓塞。此外，骨科手術

造成骨頭內的脂肪流出，隨血液流至肺部，造成栓塞。再者孕婦在開刀過程中，羊水中的東西流到血管裡，流至肺部血管，亦會造成栓塞。

2-2-5 血栓和心房顫動(Atrial Fibrillation, AF)

心房顫動是最常見且較為嚴重的心律異常之一。發生原因是心房內不同部位形成不協調的電氣活動，造成心臟上部腔室跳動過快且不規則，進而使得心臟跳動過快、節律不協調，因此減少心臟流出的血液量。長期的心房顫動易造成心房內產生血栓，所以需要服用一些抗凝血藥物。

2-2-6 血栓和冠狀動脈疾病(Coronary Artery Disease, CAD)

冠狀動脈疾病指的就是，因供給心臟血液和養分的冠狀動脈，產生了狹窄或阻塞，導致心肌損傷所造成的心臟疾病。冠狀動脈心臟病的盛行率和致死率都相當高，原因是國人的生活飲食習慣日漸西化，使得一些冠狀動脈疾病的危險因子，包括高血壓、高血脂、糖尿病、抽菸等發生的比例逐漸上升，冠狀動脈疾病也就隨著增多，並越來越被社會大眾所重視。

2-3 血液凝血機制

當血管有破損時，血液中的凝血因子會啟動凝血機制，然而血液凝固是一個複雜的過程，大致上血液凝血機制可分為三種路徑：內源性凝血路徑、外源性凝血路徑與共同凝血路徑。表 2.1 為十二種凝血因子 [16]。

表 2.1 十二種凝血因子

凝血因子	組成成分
因子 I	纖維蛋白原
因子 II	凝血酶原
因子 III	組織因子
因子 IV	鈣離子(Ca^{2+})
因子 V	促凝血球蛋白原、易變因子
因子 VII	轉變加速因子前體、促凝血酶原激酶原、輔助促凝血酶原激酶
因子 VIII	抗血友病球蛋白 A(AHGA), 抗血友病因子 A (AHFA), 血小板輔助因子 I, 血友病因子 VIII 或 A
因子 IX	抗血友病球蛋白 B(AHGB)、抗血友病因子 B(AHFB)、血友病因子 IX 或 B
因子 X	STUART(-PROWER)-F、自體凝血酶原 C
因子 XI	ROSENTHAL 因子、抗血友病球蛋白 C
因子 XII	HAGEMAN 因子、表面因子
因子 XIII	血纖維穩定因子

※因子 VI 只是活化的因子 V，故取消因子 VI 的命名。缺乏因子 VIII 稱為 A 型血友病，缺乏因子 IX 則稱為 B 型血友病。亦有少數的病患缺乏因子 VII 或因子 XI，他們的症狀比較輕微。

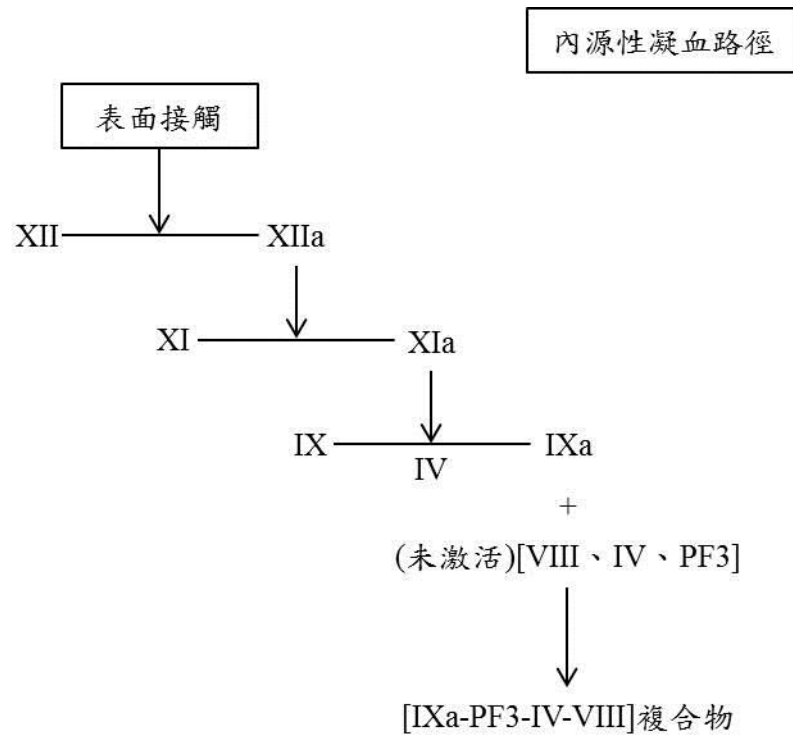


圖 2.2 內源性凝血路徑

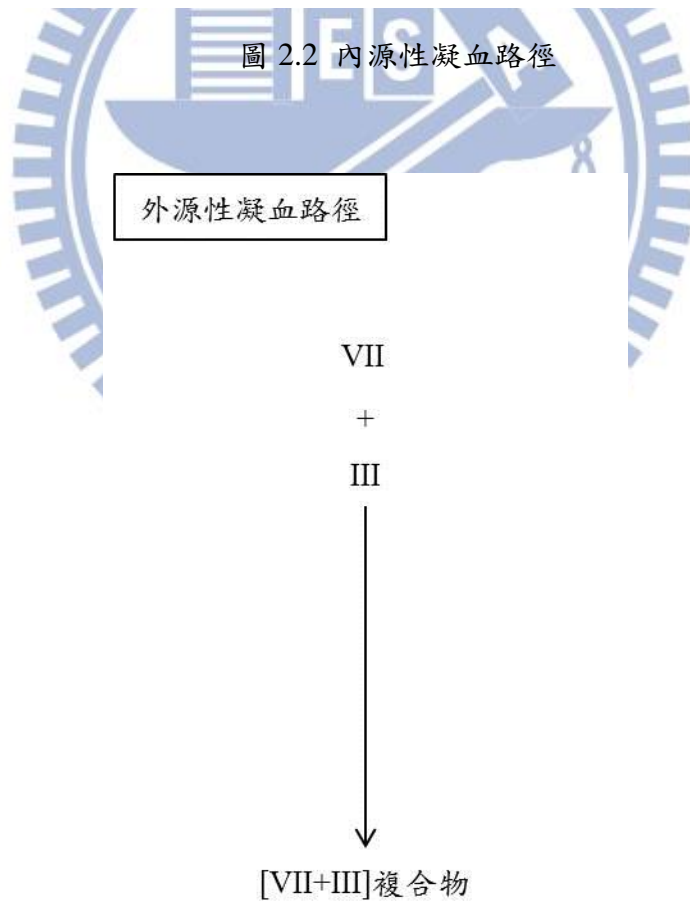


圖 2.3 外源性凝血路徑

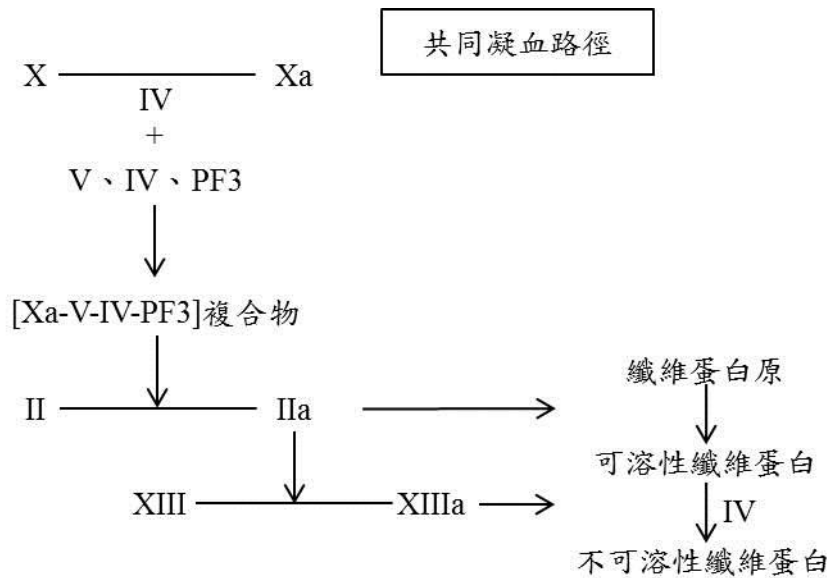


圖 2.4 共同凝血路徑

※a 是酵素的激活態(Active Type)、血小板因子 3(Platelet Factor 3, PF3)

內源性凝血路徑是指凝血因子全部來自血液。當心血管內膜受損，或血液流出體外通過與異常表面接觸而激活因子 XII 形成因子 XIIa，因子 XIIa 又激活因子 XI 形成因子 XIa，因子 XIa 在因子 IV 存在下又使因子 IX 激活，形成因子 IXa。活化因子 IXa 在因子 IV、因子 VIII 及 PF3 存在下，形成複合物[IXa-PF3-IV-VIII]，然後進入共同凝血路徑使因子 X 激活，形成因子 Xa。

外源性凝血路徑是指當組織有破損時，會釋出因子 III。在 Ca^{2+} 的存在下，因子 III 能與血液中的因子 VIII 形成複合物[VIII+III]，然後進入共同凝血路徑使因子 X 激活，形成因子 Xa。

共同凝血路徑大致上又可分為三個階段：纖維蛋白原、可溶性纖維蛋白及不可溶性纖維蛋白。藉由因子 X 的激活態因子 Xa，在因子 V、因子 IV 及 PF3 的存在下形成複合物[Xa-V-IV-PF3]，此複合物會將因子 II(凝血酶)激活為因子 IIa(凝血酶原)，促使纖維蛋白原聚合為可溶性纖維蛋白。可溶性纖維蛋白生成後，可促使因子 II 對因子 XIII 的激活，在因子 XIIIa 與因子 IV 的參與下，相鄰的纖維蛋白發生快速共價交聯，形成不可溶性纖維蛋白。纖維蛋白與因子 II 有高親和力，因此纖維蛋白生成後即能吸附因子 II，有助於局部血凝塊的形成。

2-4 血液相關時間定義

2-4-1 凝血時間 (Coagulation Time, CT)

凝血時間 (Coagulation Time, CT) [16, 17] 又稱為全血凝固時間 (whole blood clotting time)，是指離體靜脈血與體外異物表面接觸後，體內內源性凝血路徑被激活，最後生成纖維蛋白而使血液凝固這段時間。凝血時間的測定方法目前常用有三種，普通試管法、硅管法、活化凝血時間法 (Activated Clotting Time, ACT)。普通試管法是由靜脈抽血 3mL 並等量注入 3 支玻璃試管中，當離體的靜脈血與試管接觸後，激活凝血因子開始引發內源性凝血路徑，最終形成不可溶性纖維蛋白，這一段時間即成為凝血時間。但普通試管法極為不敏感，目前趨於淘汰。硅管法的測定方法與普通試管法相同，唯一有區別的是在管壁上塗上硅油。由於硅管內壁不易使內壁凝血因子接觸活化，故凝血時間比普通試管法長。

2-4-2 活化凝血時間 (Activated Clotting Time, ACT)

活化凝血時間法[16, 17]最初在 1966 年由 Hattersley 發表。活化凝血時間主要是用來監測大劑量肝素抗凝血治療的實驗。肝素是抗凝血劑，適量的肝素可用於防範或治療血栓。然而在適度劑量，肝素亦可用部分凝血活酶時間 (Partial Thromboplastin Time, PTT) 或肝素抗因子 Xa 監測，由於肝素對人都略有不同，故肝素濃度的監測是抗凝血治療中重要的部分。

ACT 的檢測方法為，在待檢測的全血樣本中加入含有活化劑 (矽藻土、玻璃珠或高嶺土) 的試管中，接著計算凝血時間，使用活化劑的種類不同，量測出的活化凝血時間也就不同。

ACT 在手術中須保持在低限之上，該值是大多數人不會形成血栓的值。根據不同醫院間 ACT 檢測方法不同該值也不同，評定患者對 ACT 的低限值及所給予的肝素劑量反

應是非常重要的。手術後，在患者的情況穩定前，要將 ACT 值保持在一定的較小範圍。

2-4-3 活化部分凝血活酶時間 (Activated Partial Thromboplastin Time, APTT)

活化部分凝血活酶時間 (Activated Partial Thromboplastin Time, APTT) [16, 17] 主要是用來檢測內源性凝血路徑。其檢測方法為在抗凝血漿中，加入足量的活化接觸因子和部分凝血活酶，再加入適量的鈣離子以達到內源性凝血路徑的條件。從加入鈣離子到血液凝固所需的時間即稱為活化部分凝血活酶時間。這是目前判斷內源性凝血因子缺乏最可靠、最常用、最敏感的篩選試驗，也是監護肝素用量的良好指標。APTT 試驗方法如圖 2.5。

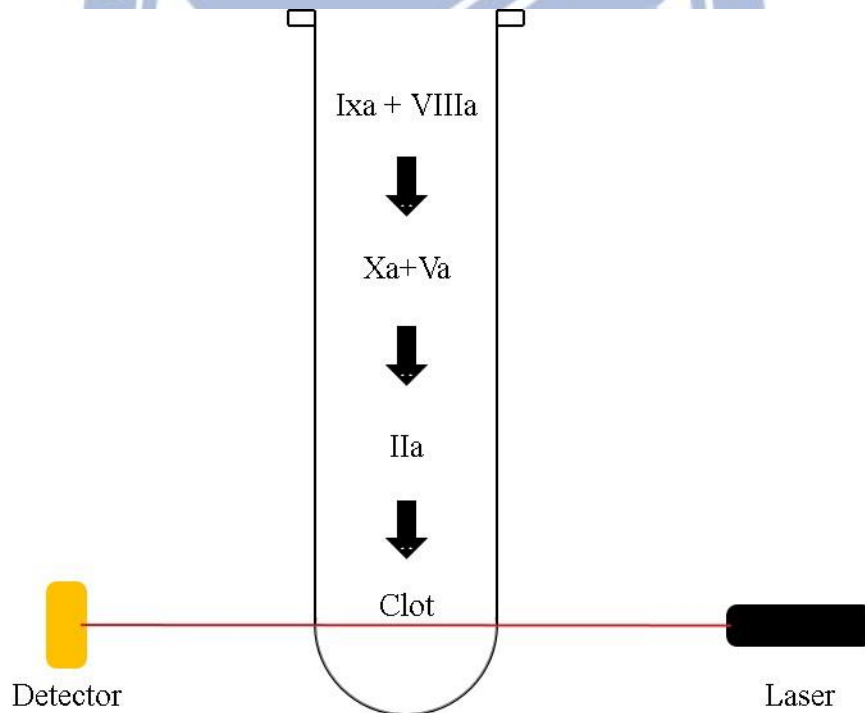


圖 2.5 APTT 試驗方法

APTT 試驗通常與凝血酶原時間 (Prothrombin Time, PT) 試驗一起進行，PT 可對凝血機制的外源性路徑進行檢測，APTT 用於檢測出血或血栓的原因。當患者出現不明原因的出血、瘀血、血栓以及患有如血管內瀰漫性凝血反應 (Disseminated Intravascular Coagulation, DIC) 這樣由於凝血因子快速消耗所致出血和血栓的急性疾病，亦或是如肝臟疾病的慢性疾病時，就需進行 APTT 檢測。

APTT 與 ACT 一樣，都是檢測肝素或是其他抗凝血藥物對人體凝血系統的抑制效果，而不是測定血液中肝素的實際濃度。ACT 實驗可以即時監測肝素輸送過程中凝血系統的變化，因此可以保持抗凝血水平的恆定；當手術結束患者狀態穩定後，通常會降低肝素劑量，此時會用 APTT 代替 ACT 作為監測指標。

然而在某些情況下，APTT 試驗不可用於肝素治療監測：1. 當使用大劑量肝素時，APTT 敏感度下降，血液樣本不會凝固，所以此時會使用 ACT 替代 APTT 作為監測工具。2. 使用低分子量肝素 (Low Molecular Weight Heparin, LMWH) 用於其他治療時，通常不需進行劑量監測。

※LMWH 用於預防手術後血栓堵塞、預防深靜脈血栓形成、肺栓塞、血液透析時體外循環的抗凝劑、末梢血管病變等。

2-4-4 凝血酶原時間 (Prothrombin Time, PT)

凝血酶原 (Prothrombin) [16, 17]是整個凝血機制中最重要凝血因子。凝血酶原主要是由肝臟合成維生素 K 的依賴因子之一，在激活的凝血因子 V 和由血小板或其他細胞提供的磷脂表面存在的條件下，被激活的因子 X 激活形成凝血酶，進入共同凝血路徑。其機制如圖 2.6。

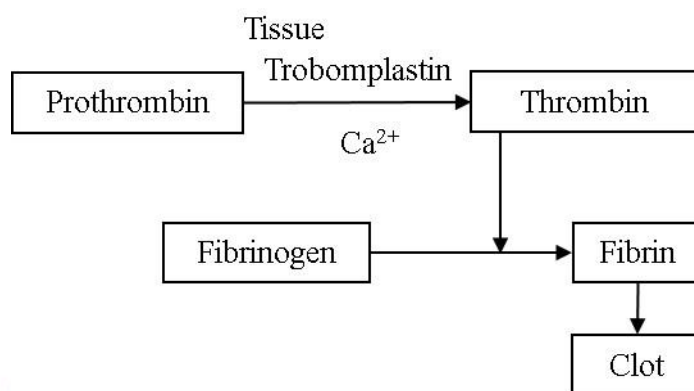


圖 2.6 凝血酶原時間機制

凝血酶原時間(Prothrombin Time, PT)是指在血液中加入凝血劑(組織因子)後，凝血酶原轉化至凝血酶，使血液凝固所需的時間。一般正常值為 12 ~ 14 秒，但是每一家儀器或方法所使用的凝血劑都不同，正常值也會因此而改變，故國際間訂定了標準值 INR，醫生可藉由此標準值提供相對應處方籤，病患也得以控制病情。凝血酶原時間主要是檢測外源性凝血途徑的凝血因子是否異常，如先天性凝血因子缺乏 II、V、VII 及 X 的檢測，凝血酶原時間亦是口服抗凝血劑治療中的重要指標。

※表 2.2 是對有出血綜合症的病人 PT 值和 APTT 值結果的解釋。

表 2.2 PT 及 APTT 症狀分析

PT 值	APTT 值	可能存在的狀況
延長	正常	肝臟疾病、維生素 K 減少、VII 因子減少或缺陷
正常	延長	VIII、IX、XI 因子減少或缺陷、存在狼瘡抗凝血物
延長	延長	I、II、V 或 X 因子減少或缺陷、血管性血友病、肝臟疾病、DIC
正常	正常	血小板功能下降、血小板減少症、XIII 因子缺乏、其他凝血因子輕度缺乏、輕度血管性血友病

2-4-5 國際標準化比值 (International Normalized Ratio, INR)

1980 年起，世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 提供檢體給各儀器製造商，要求其進行凝血酶原時間的測試比較時，校正各廠牌的國際敏感指數 (International Sensitivity Index, ISI)，並將 ISI 值套入 INR 公式[16, 17]。公式如下：

$$INR = \left[\frac{PT_{\text{patient}}}{PT_{\text{reference}}} \right]^{ISI}$$

其中 INR = 國際標準化比值， PT_{patient} = 病患凝血酶原時間， $PT_{\text{reference}}$ = 正常對照凝血酶原時間，ISI = 國際敏感指數。

國際標準化比值主要是用來評估凝血功能。正常人 INR 為 0.8~1.2，病患有服用口服抗凝血劑其 INR 應介於 2~4 之間，當 $INR > 4$ 則會造成身體組織出血的危險，若 $INR < 2$ 則會造成血液凝固的危險。表 2.3 為病患理想的 INR 值。

表 2.3 各適應症之 INR 範圍

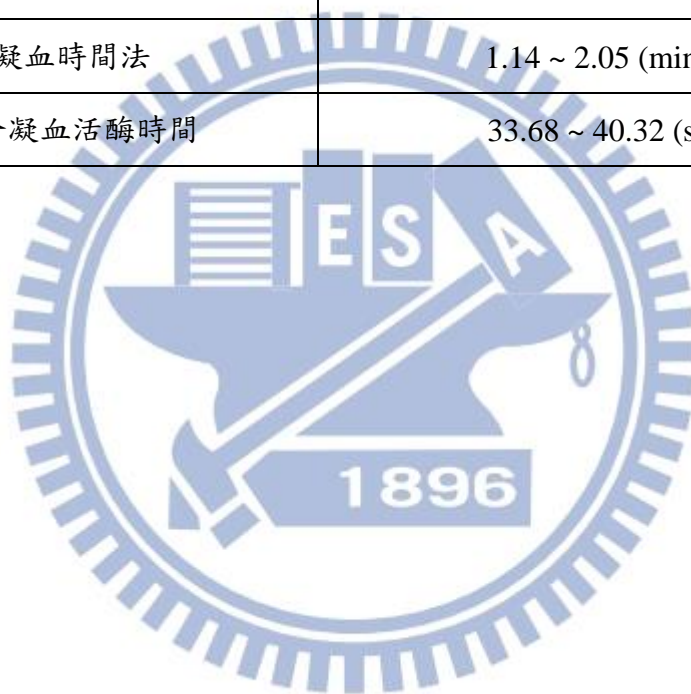
適應症		理想之 INR 範圍	監控時間	
心栓塞性 中風	重度中風	2.0 - 3.0	長期	
	輕度 - 中度中風	2.0 - 3.0	長期	
	有抗凝血作用仍發生栓塞情形	2.5 - 3.5	長期	
心肌梗塞	持續性心肌梗塞	2.5 - 3.5	三個月	
	內因性心肌梗塞合併血栓栓塞之危險	心房顫動、鬱血性心衰竭、左心室功能不全、心壁血栓、血栓栓塞	2.5 - 3.5	三個月
	心肌梗塞合併危險因子	心房顫動、左心室功能不全、心壁血栓	2.0 - 3.0	長期
血栓栓塞	治療/預防復發	2.0 - 3.0	三個月	
	抗凝血治療期間復發	2.5 - 3.5	長期	
	合併危險因子存在	AT-III、蛋白質 C 或 S 缺乏、抗凝血劑惡化之狼瘡	2.0 - 3.0	長期

2-4-6 正常凝血時間參考值

表 2.4 為正常凝血時間參考值：

表 2.4 正常凝血時間參考值

檢測方法	時間
試管法	4 ~ 12 (min)
硅管法	15 ~ 32 (min)
玻片法	2 ~ 5 (min)
活化凝血時間法	1.14 ~ 2.05 (min)
活化部分凝血活酶時間	33.68 ~ 40.32 (s)



2-5 血液檢測方法介紹

2-5-1 手工法 (Method for Manual Technique)

此法測定溫度為 37°C ，凝血劑與血漿樣本皆須預溫。凝血劑須預溫 2 分鐘以上，不超過 30 分鐘，血漿樣本預溫 3 ~ 5 分鐘，但不超過 10 分鐘。血漿樣本 0.1mL 加入含有凝血劑 0.2mL 的試管中混合，開始計時，直到纖維凝固形成，即為凝血酶原時間。此法須對同一血漿樣本檢測兩次且兩次測定時間不超過 1 秒，並與標準血漿樣本作為對照 [18]。

2-5-2 比濁法

目前光學法血凝儀主要是根據血液凝固過程中濁度的變化來檢測血液功能。依照不同的光學原理，此法又可分為散射比濁法及透射比濁法兩種。

散射比濁法是在凝血過程中，藉由散射光的變化檢測。實驗架構中，光源使用單色光源(雷射)，光偵測器與光源和試管成 90° 。實驗架構如圖 2.7[18]。

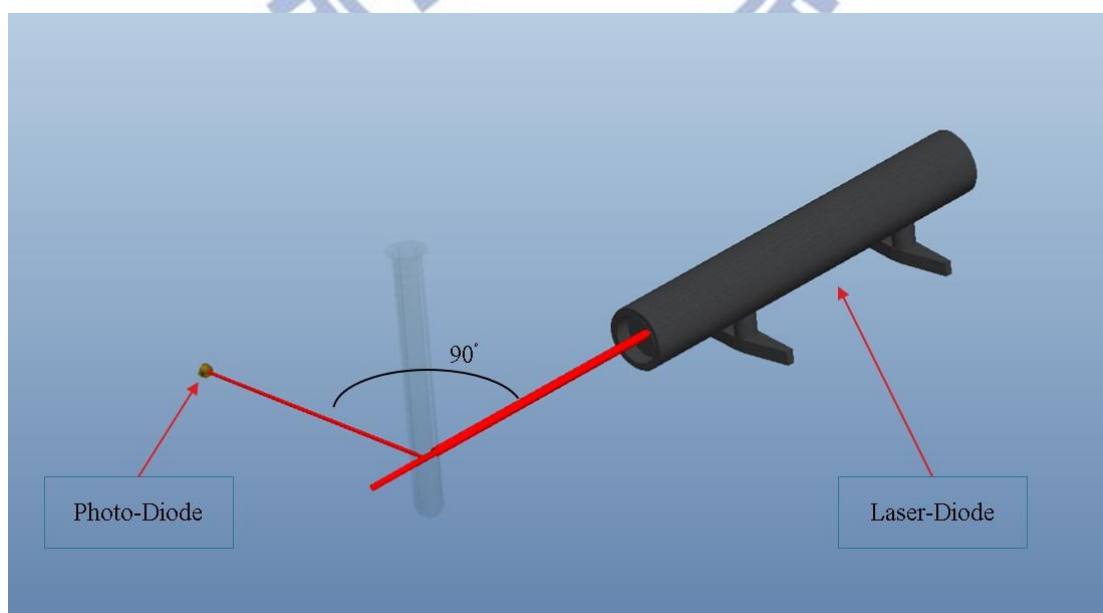


圖 2.7 散射比濁法實驗架構

檢測開始時，散色光強度判斷為 0%，當血漿樣本置入凝血劑後，纖維蛋白逐漸產生，血漿樣本散色光越來越強，直至凝血結束，散色光強度不再變化，此時散色光強度判斷為 100%，把強度 50%作為血液凝固時間。藉由光偵測器將光訊號轉為電訊號，經由放大並繪出曲線。如圖 2.8。

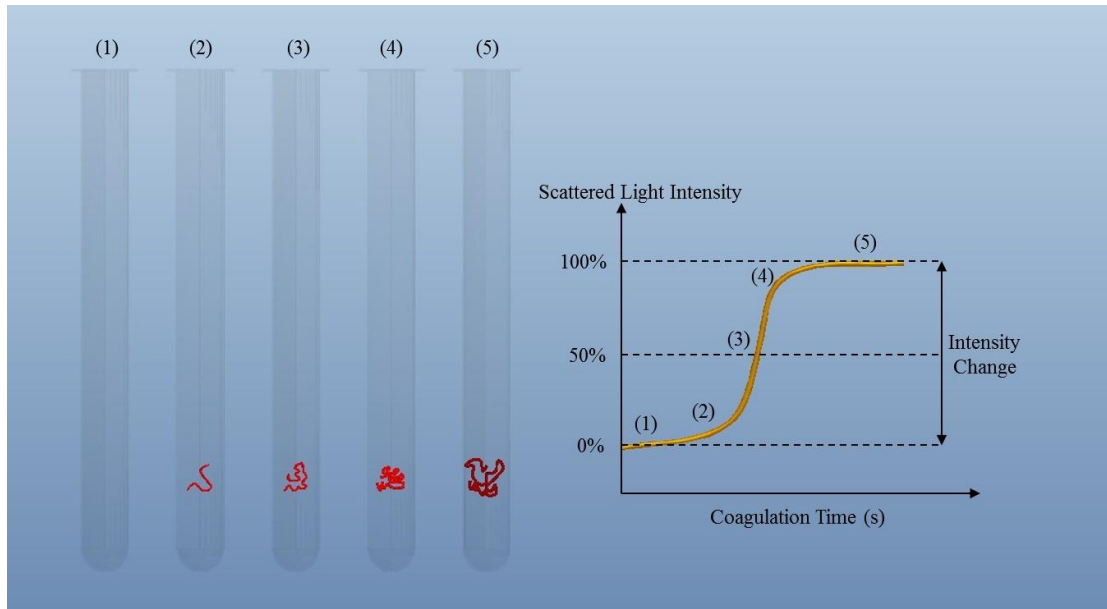


圖 2.8 散射比濁法實驗過程及曲線

- (1) 加熱至 37° 的血漿及凝血劑混合後，纖維素原 (Fibrinogen) 轉化為纖維素(Fibrin) 的階段。雷射直接穿透，光偵測器的散射光強度最弱。
- (2) 轉化開始，光強度逐漸增強。
- (3) 轉化加速進行。
- (4) Fibrinogen 減少，轉化趨於和緩
- (5) 反應結束，散射光強度不在變化。

全自動血液凝血分析儀 (Sysmex CA-1500) 所使用的散射比濁法可檢測出光強度變化小之檢體，亦或是乳糜狀之高濁度檢體，藉由光偵測器的高敏感度，可判讀出光強度的絕對變化量；且 Sysmex CA-1500 可一次分析多筆檢體，縮短檢測時間，穩定度高，因此大型醫院經常使用，但價格趨於昂貴，故無法家庭普及化。

透射比濁法是在凝血過程中，藉由吸光度的變化檢測血液凝固時間。其實驗架構與散射比濁法不同的是此方法的光路均呈平行。檢測開始時，含有凝血劑的試管其吸光度非常弱，此時將血液樣本置入凝血劑後，纖維蛋白逐漸產生，樣本吸光度逐漸增強，當血漿凝固結束，吸光度趨於恆定，血凝儀可描繪吸光度的曲線，判別出凝固時間。其實驗架構如圖 2.9[18]。

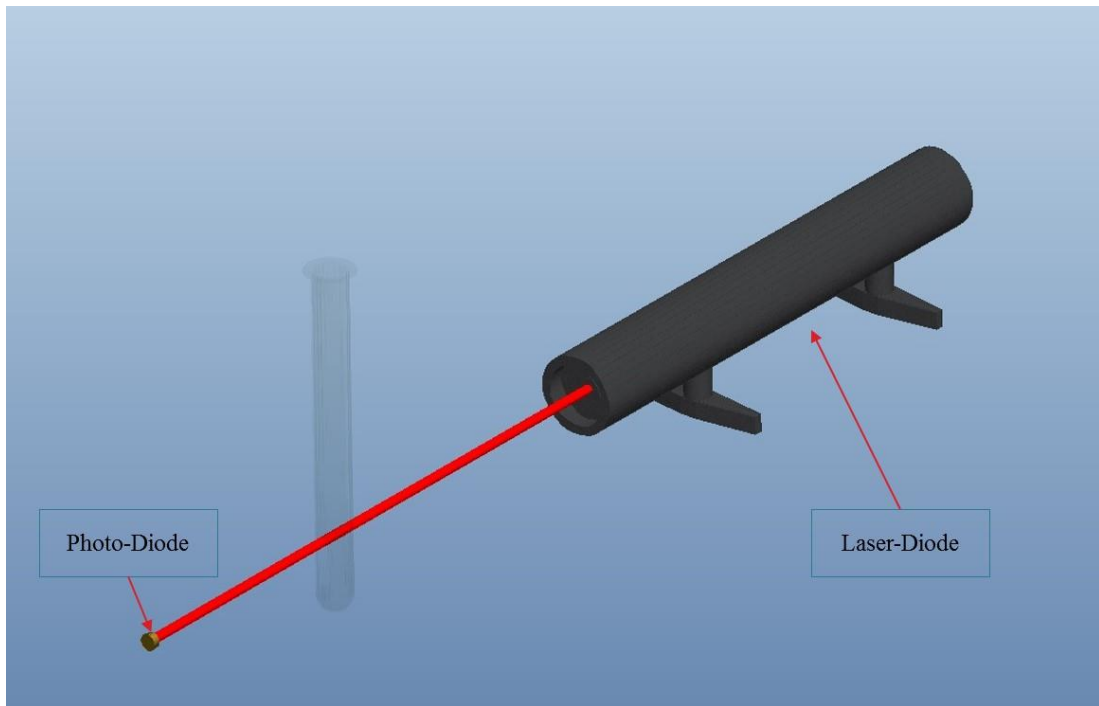


圖 2.9 透射比濁法實驗架構

檢測開始時，吸收光強度判斷為 100%，當血漿樣本置入凝血劑後，纖維蛋白逐漸產生，血漿樣本散色光越來越強，光偵測器吸收的光強度越來越弱，直至凝血結束，吸收光強度不再變化，此時吸收光強度判斷為 0%，把強度 50%作為血液凝固時間。藉由光偵測器將光訊號轉為電訊號，經由放大並繪出曲線。如圖 2.10。

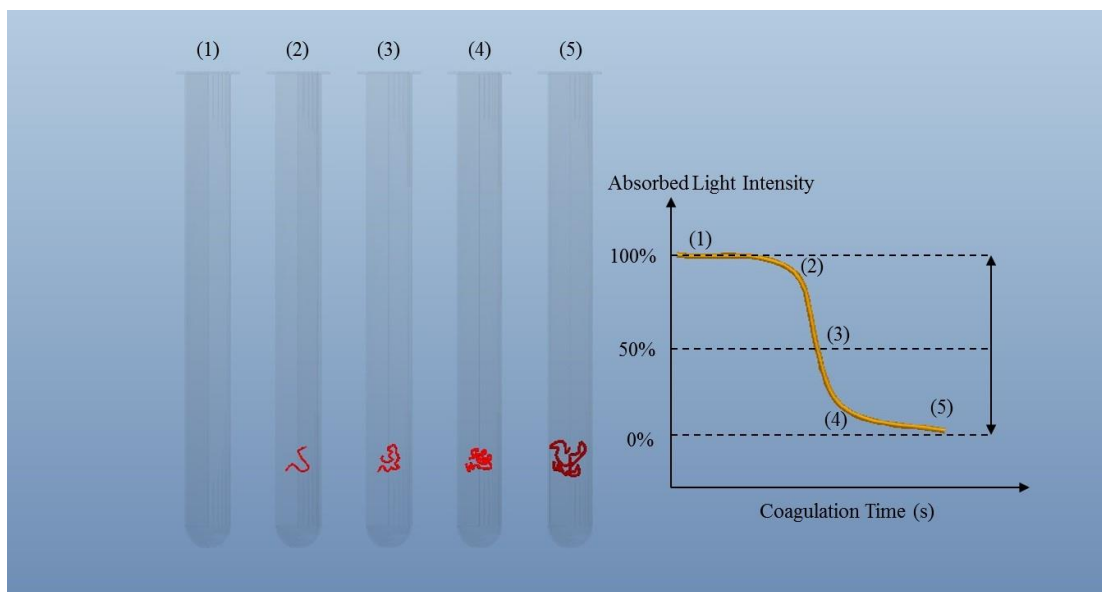


圖 2.10 透射比濁法實驗過程及曲線

- (1) 加熱至 37° 的血漿及凝血劑混合後，纖維素原 (Fibrinogen) 轉化為纖維素(Fibrin) 的階段。雷射直接穿透，光偵測器的吸收光強度最強，此時定義為 100%。
- (2) 轉化開始，Fibrin 慢慢形成，吸收光強度開始減弱。
- (3) 轉化加速進行
- (4) Fibrinogen 減少，轉化趨於和緩
- (5) 反應結束，吸收光強度將不在變化，此時定義為 0%。

2-5-3 壓電石英感測器分析 (Piezoelectric Quartz Crystal, PQC)

Tzong-Jih Cheng[19]等人，在 1988 年利用壓電石英感測器分析去血液凝固變化，並量測凝血酶原時間 (Prothrombin Time, PT)。其原理為藉由壓電基板上方的指叉電極通過一定電流，此電流引發壓電效應轉換為壓力波，並由基板傳遞通過感測區上的待測試劑，變化後的壓力波經由另一端的指叉電極轉換為電流，經過檢測儀器並讀取儀器上的數據，此為凝血酶原時間。

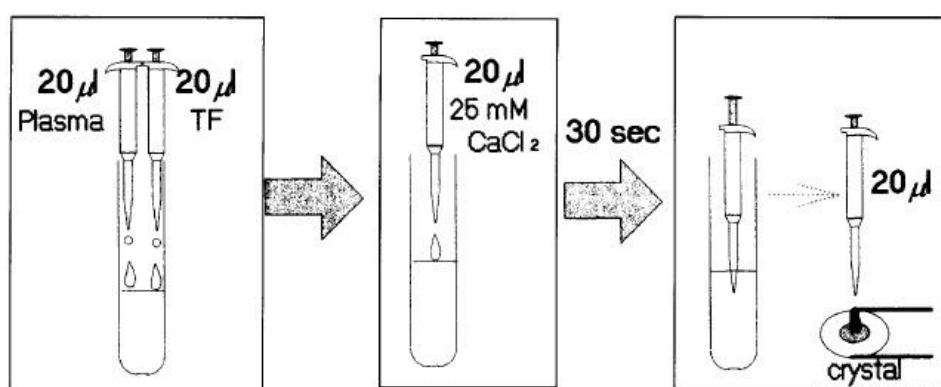


圖 2.11 PQC 樣品製備

其樣品製備如圖 2.11：先將 20 μL 的反抗凝血漿樣本及 20 μL 的 Tissue Thromboplastin (TF) 倒入試管中混合，再加入 20 μL 的氯化鈣 (CaCl₂) 經過 30 秒，將待測試劑滴入 PQC 上量取凝血酶原時間。

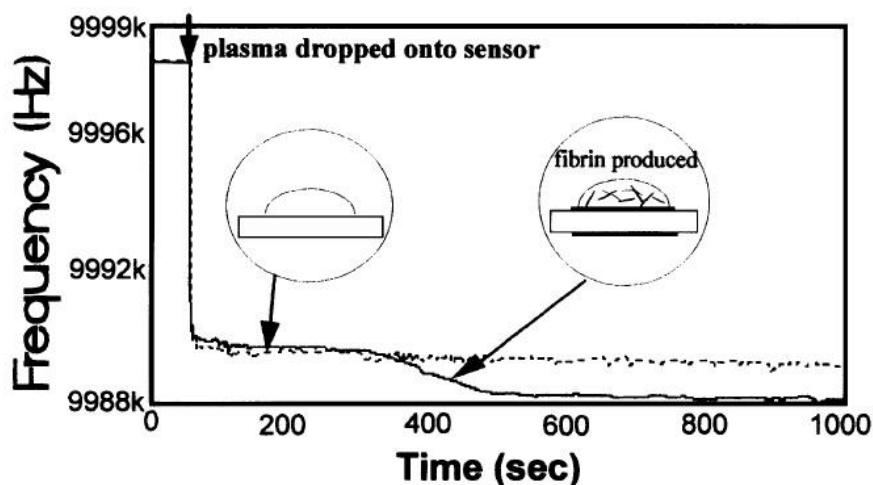


圖 2.12 PQC 實驗結果曲線

圖 2.12 為壓電石英感測器分析的結果。在箭頭處是血漿滴至 PQC 上，導致品率迅速下降。在 270 秒時，將 Tissue Thromplastin 滴入混合後的樣品，曲線便開始持續下降約 250 秒，然後恢復到穩定狀態。一般情況下，血液凝固約 300 秒。

2-5-4 表面電漿共振法 (Surface Plasmon Resonance, SPR)

近十年來，表面電漿共振法 (Surface Plasmon Resonance, SPR) [8, 12~15, 24] 被廣泛應用做為一生物感測器，近來更用來做為凝血檢測的技術之一，其構造如圖，主要由一片 45 度的三角稜鏡，附蓋於金箔 (metal layer)，金屬層與稜鏡間內含有介電流體 (dielectric layer)。並使用 PDMS 高分子材料製作成之微流道引導測試血液樣本再使用幫浦將樣本沿金屬層下方表面通過，當一特定波長雷射光源經由偏光板 (polarizer) 形成同調後，進入光稜鏡投射至金屬及介電流體表面並且達全反射，會激發金屬及介電層表面間的表面電漿，而延著沿著介電質/金屬介面，產生之電磁場使表面電漿共振，造成表面極化電荷密度不均勻而形成沿著表面傳播之縱波 (疏密波)，並且在垂直方向上消散 (Evanescent)。假使血液凝血機制啟動後，血液纖維蛋白會附蓋於金屬層上，並且改變金屬表面的折射率及介電常數，此時藉由攝影機偵測其反射光源角度及強度變化，用來判斷血液凝血過程以及經過的時間，達成凝血時間的檢測，如圖 2.13。

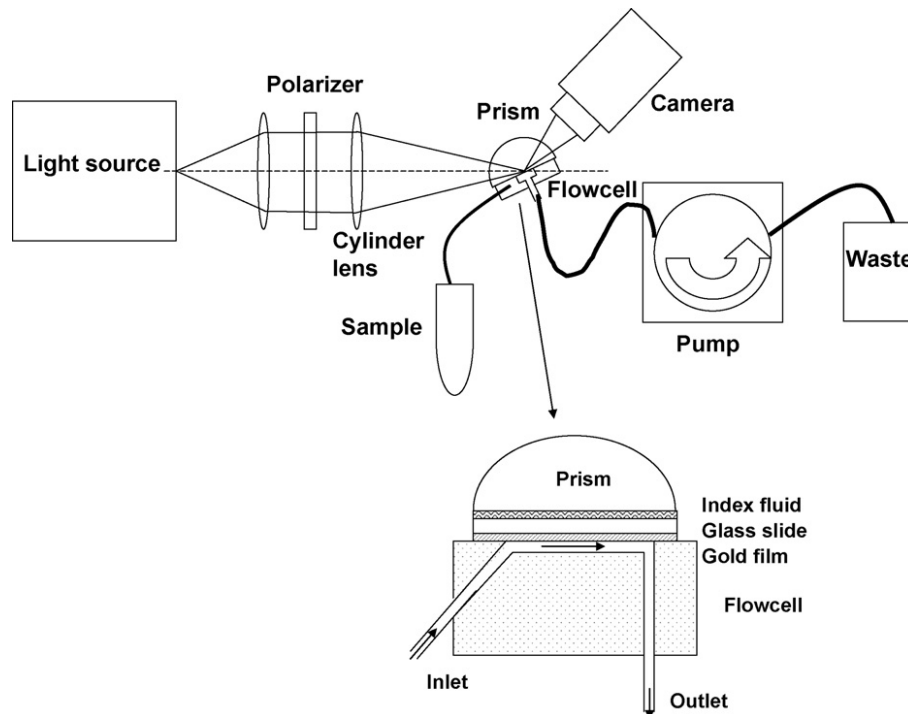


圖 2.13 表面電漿共振法實驗架構

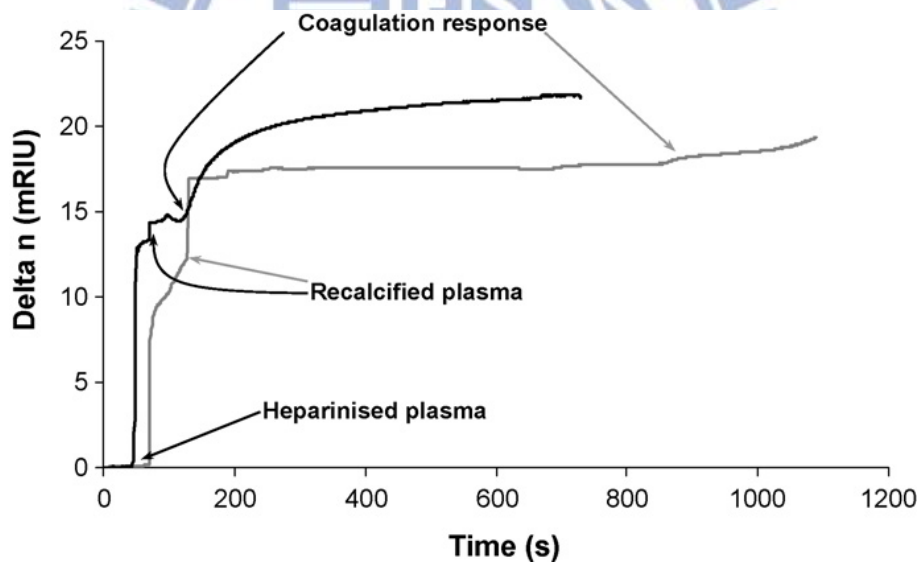


圖 2.14 SPR 實驗結果

SPR 實驗結果如圖 2.14 所示，橫軸為時間，縱軸為折射率變化，兩曲線差別在於金箔有無鍍上薄膜之結果(黑色:鍍膜、灰色:無鍍膜)，第一階段當加入肝素(抗凝血劑)時，折射率極有明顯變化並趨緩，在將血漿加入鈣離子後，及進入第二上升階段並收斂到最後，此為動態凝血過程，此過程時間及為凝血時間。

2-5-5 雷射光散射動態分析 (Dynamic Laser Scattering, DLS)

Vyacheslav Kalchenko[7, 25]等人，在 2007 年利用雷射光動態散射分析去監測體內紅血球的流動作為凝血指標。DLS 主要用於開發一種無創可視化的實驗方法去觀察紅血球的運動。在檢測過程中，要先使用機械式阻塞的方法去阻斷血液流動，而血液停止流動有助於血液的凝固。但實驗發現，血管閉塞後的耳朵，血液中仍有流動現象，即使將機械阻塞調到最大，紅血球還是會繼續流動，約一小時後，紅血球才停止流動。圖 2.15 為機械式阻塞開始的前 3 秒，可觀察出紅血球的運動是單向的，而血液中的凝血可以防止紅血球的流動。

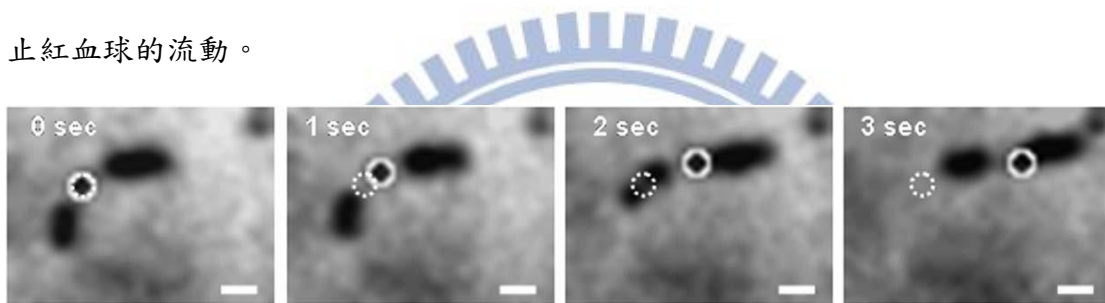


圖 2.15 機械式阻塞

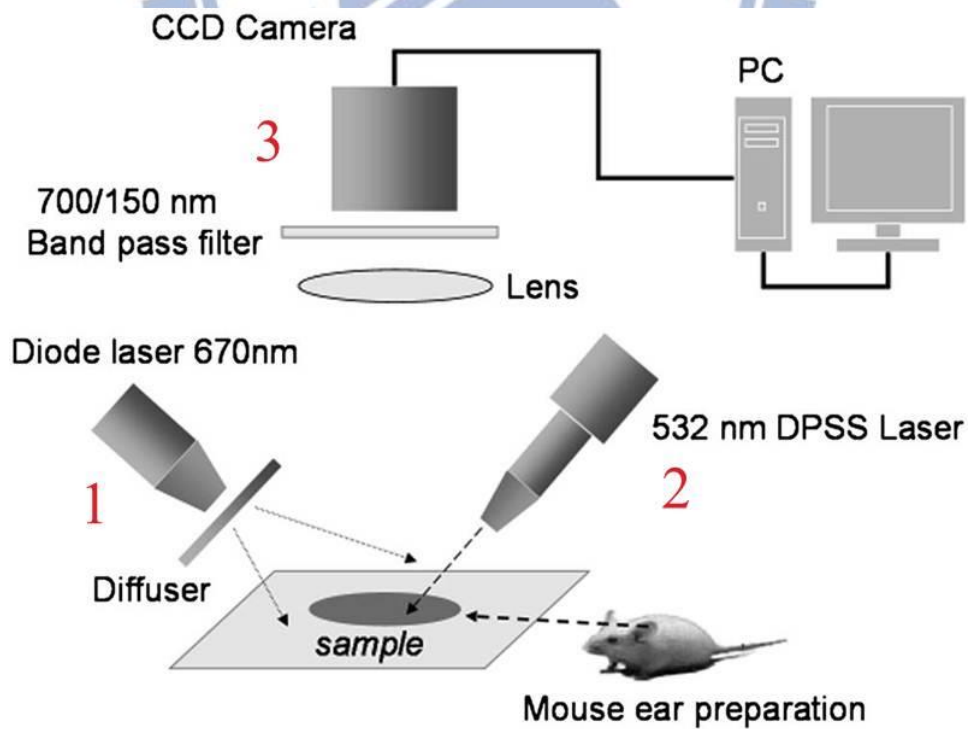


圖 2.16 DLS 實驗架構

經由機械式阻塞後，其實驗架構如圖 2.16。實驗光源使用 670nm 雷射(紅光, 10mW) 並在前放置擴散器，使雷射能完整照射樣本。固態雷射 (Diode Pumped Solid State Laser, DPSS Laser)(綠光, 100mW)的功用是在老鼠耳朵的血管上給予輕微的損傷，予以啟動凝血機制。在 CCD Camera 前放置一帶通濾光器是避免 DPSS Laser 二次照射。最後使用電腦做動態分析並觀察紅血球的流動。下圖為此方法實驗結果。

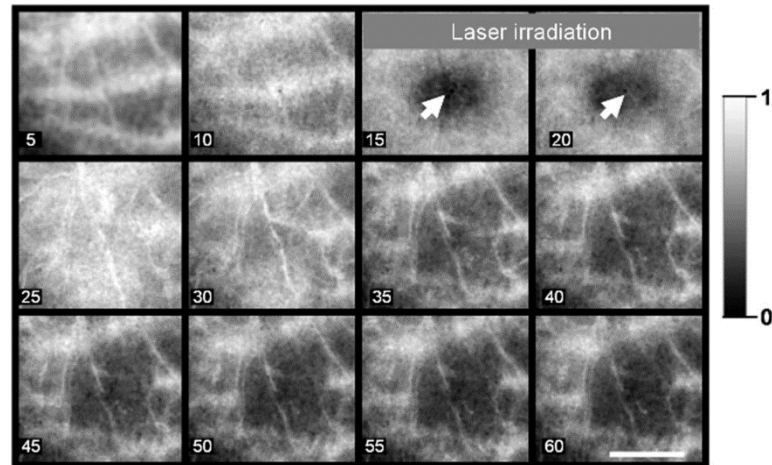


圖 2.17 雷射光動態散射分析結果

圖 2.17 中，右下角的白線為比例尺 1:1mm，每一格的左下角為秒數。0~10 秒時，DPSS Laser 尚未照射。11~20 秒時，開啟 DPSS Laser 照射使老鼠耳朵造成微損傷。21~60 秒時，纖維蛋白逐漸形成。雷射光動態散射分析的好處是避免使用任何螢光或人工合成的化學物質，達到非侵入性。但目前實驗中，其實際檢測的深度僅有 0.3mm，需要在更進一步的發展。

2-5-6 光斑波動量測 (Speckle Fluctuation Measurement, SFM)

Yann Piederre[5]等人，在 2004 年使用光斑波動量測以非侵入性的方法對血漿的凝血過程做即時的動態觀察與研究。在一開始先使用雷射照射血小板、蛋白質等物質，經由一次或多次的散射會有光斑的產生，在混合的液相中，光子的布朗運動導致光斑的產生，藉由光斑動態變化可以檢測出血液凝固動態分析。

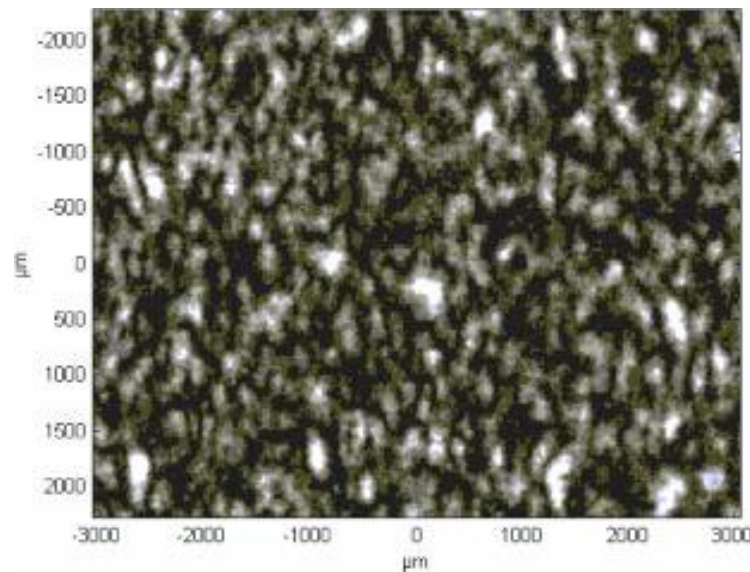


圖 2.18 光斑測試圖

※布朗運動(Brownian motion)過程是一種常態分佈的獨立增量連續隨機過程，通過布朗運動的現象可以間接證明分子的無規則運動。

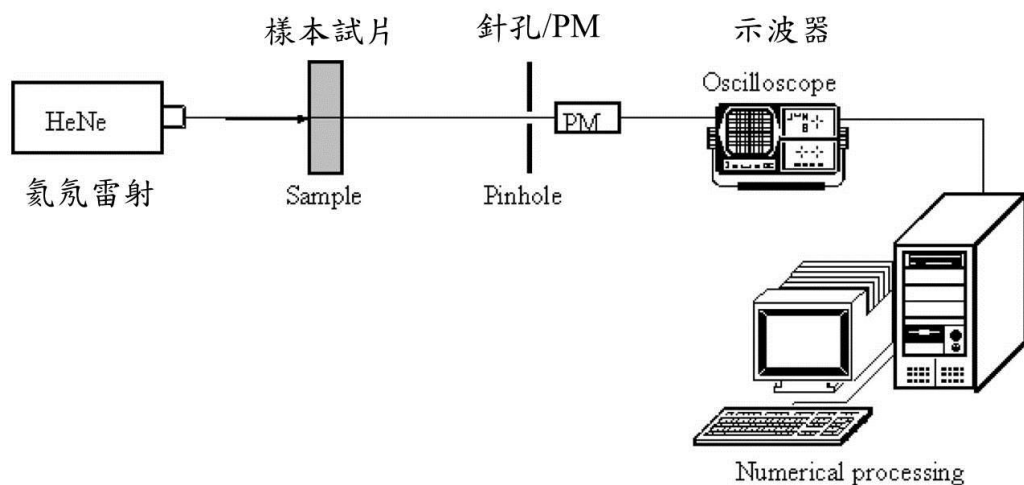


圖 2.19 SFM 實驗架構

※PM(photomultiplier)光電倍增: 對紫外光、可見光和近紅外光極其敏感的特殊真空管。它能使進入的微弱光信號增強至原本的 10^8 倍, 使光訊號能被測量。

圖 2.19 為 SFM 實驗架構。實驗光源使用 He-Ne Laser (632.8nm) 並以穿透式光學路徑穿透血漿樣本通過針孔 (針孔孔徑必須小於光斑大小) 進入光電倍增管, 連接示波器觀測凝血動態變化。此外, 血漿樣本與凝血劑均需加熱至 37°C 。

圖 2.20 為 SFM 實驗結果, 橫坐標為時間(s), 縱座標為光強度(a.u.)。32 秒加入凝血劑, 65 秒凝血結束。凝血結束時光斑不再變化, 故曲線持平即為凝血結束。

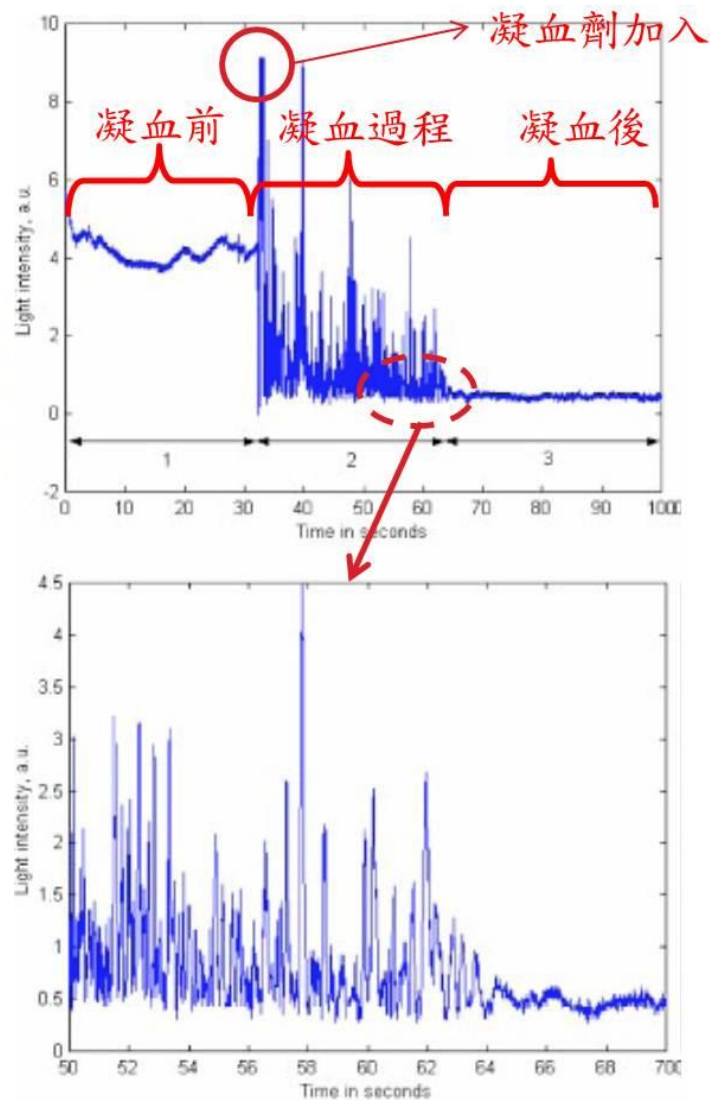


圖 2.20 SFM 動態凝血結果

2-5-7 多重散射光分析 (Multiple Scattering Analysis, MSA)

Magalie Faivre[6]等人，在 2011 年提出多重散射光分析。此研究的主要目的是簡化血液檢測步驟，以全血為樣本直接檢測，不用以往傳統的方式使用血漿樣本才可檢測，所以 MSA 會比傳統檢測更快、更為方便。圖 2.21 為 MSA 的實驗架構及全血光斑圖。

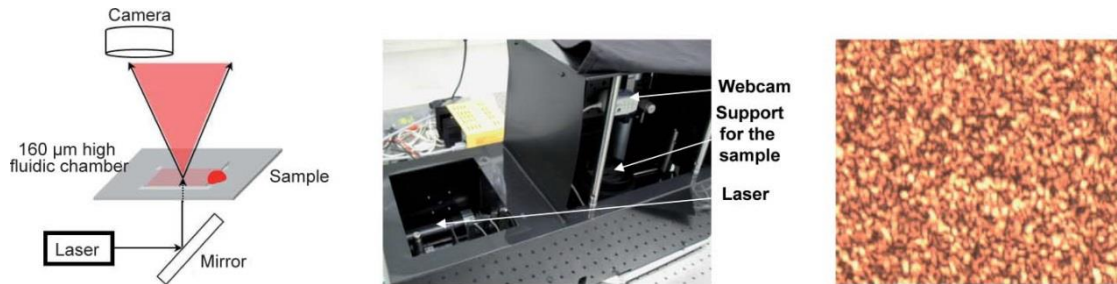


圖 2.21 MSA 實驗架構

MSA 所使用實驗光源為 He-Ne Laser (690nm, 10 ~ 20mW)，經由反射鏡使雷射光穿透全血樣本，以 CCD Camera 作為接收端，藉由公式運算繪出凝血曲線。其全血樣本藉由毛細作用進入 160μm 夾層中，以控制全血厚度。MSA 計算公式如下：

$$R = \frac{\sum_{i=1}^N (I_i - \bar{I}) \times (J_i - \bar{J})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (I_i - \bar{I})^2} \times \sqrt{\sum_{i=1}^N (J_i - \bar{J})^2}}$$

其中 R=相關係數，N=像素總數，I、J 為光強度

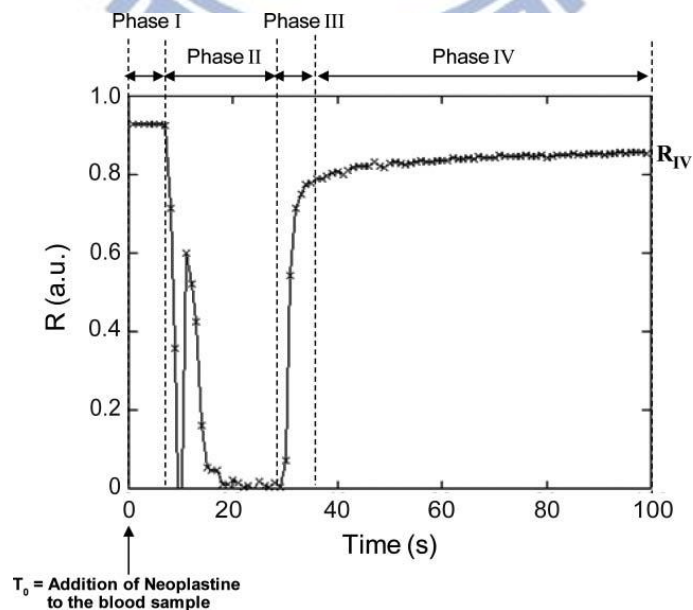


圖 2.22 MSA 凝血動態曲線圖

Phase I: 凝血劑 (Neoplastine) 加入。

Phase II: 全血藉由毛細作用達到均勻分佈的效果。

Phase III: 凝血中。

Phase IV: 凝血結束。

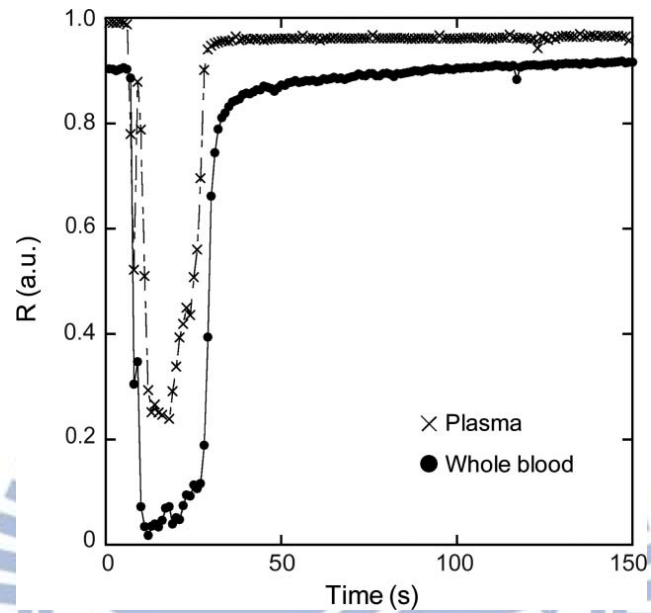


圖 2.23 全血與血漿曲線比較圖

圖 2.23 以血漿及全血作為比較，顯現出全血曲線趨勢的走向，跟一般傳統使用血漿樣本做檢測曲線趨勢相同。

2-6 各種檢測使用樣本量統計

表 2.5 為各種實驗方法與儀器所需樣本量。

表 2.5 實驗方法與儀器所需樣本量

實驗方法及儀器	血液樣本量
比濁法	2mL
手工法	0.1mL
SFM	0.1mL
MSA	0.01mL
ACL FUTURA	1.8mL
SYSMEX CA-550	0.05mL
SYSMEX CA-7000	0.05mL
本研究之光學檢測方法	<0.005mL

第三章 光學理論及實驗架構

3-1 光學理論

3-1-1 光反射與折射

反射定律 (The Law of Reflection)[21]：第一，入射光線、反射光線及法線都在同一平面上。第二，入射光線、反射光線分居於法線兩側。第三，反射角(θ_r)等於入射角(θ_i)。如圖 3.1 所示。

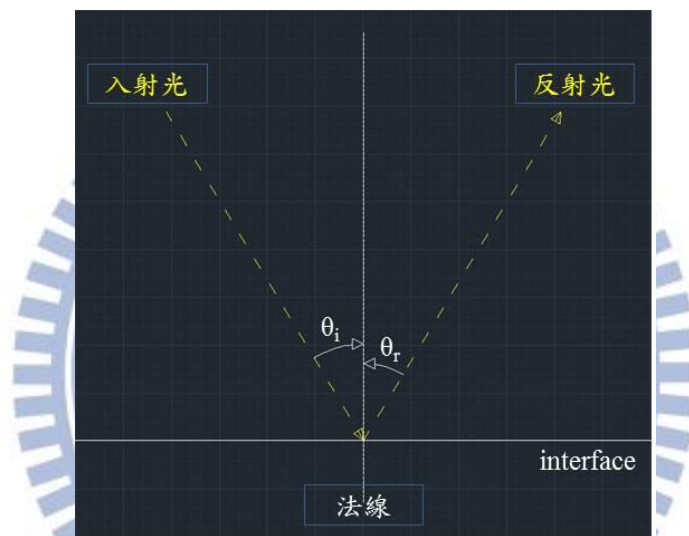


圖 3.1 反射定律

光有兩種反射現象，鏡面反射及漫反射。當一平行光經反射後沿某一方向平行射出，只在某一方向接收到反射光即為鏡面反射。平行光經介面反射後由不同方向反射出去，能在各個方向接收到反射光即為漫反射。

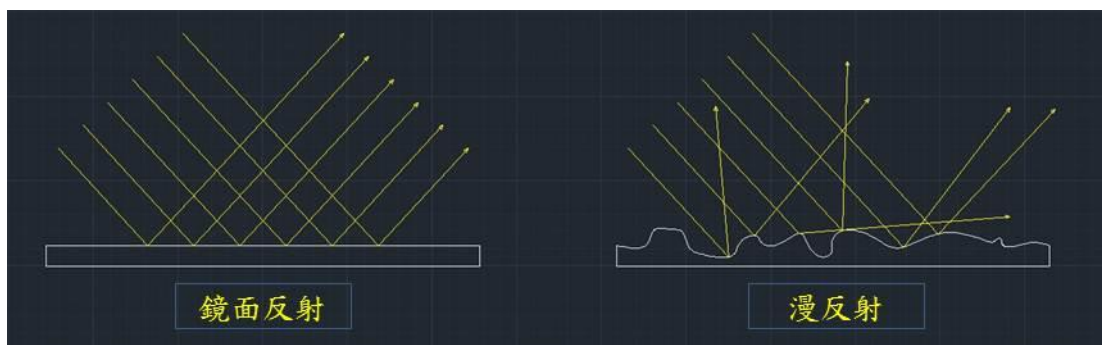


圖 3.2 鏡面反射及漫反射

折射定律 (The Law of Refraction)：光在穿透不同介質時，其入射角與反射角會符合斯乃爾定律 (Snell's Law)。其公式推導如下：

假設 $n_t > n_i$ 、 $v_t < v_i$ 及 $\overline{AE} < \overline{BD}$

$$\frac{\sin \theta_i}{\overline{BD}} = \frac{\sin \theta_t}{\overline{AE}}$$

$$\overline{BD} = v_i \Delta t \quad \overline{AE} = v_t \Delta t$$

$$\frac{\sin \theta_i}{v_i} = \frac{\sin \theta_t}{v_t}$$

$$n_i = c/v_i \quad n_t = c/v_t$$

$$n_i \sin \theta_i = n_t \sin \theta_t$$

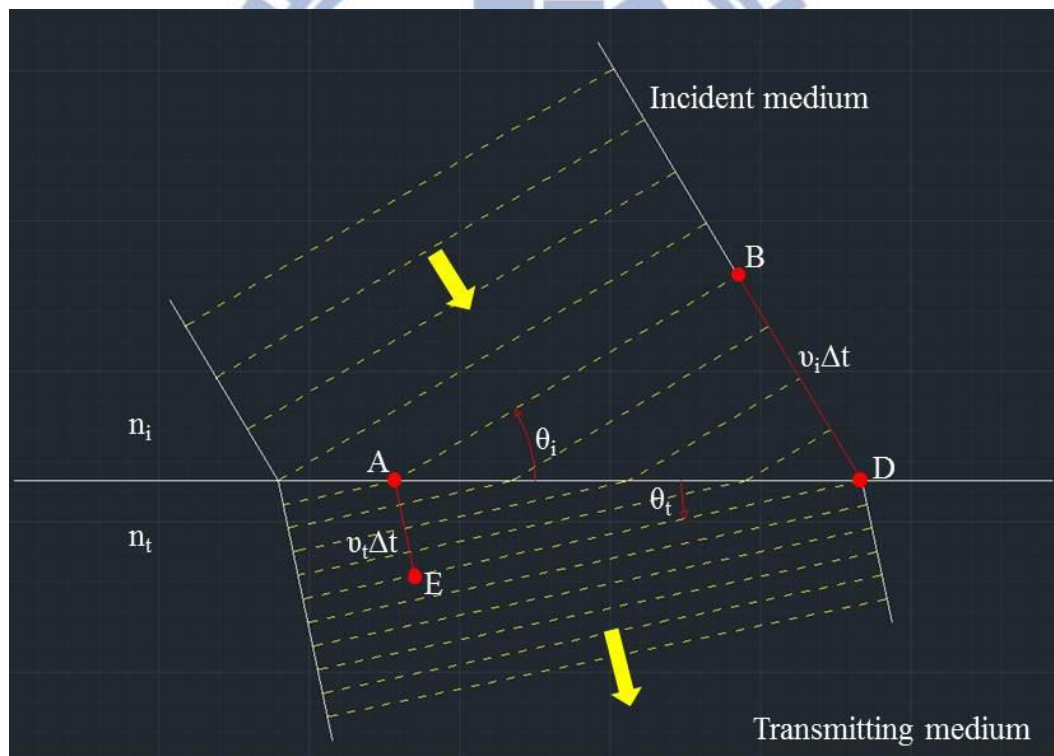


圖 3.3 斯乃爾定律推導

折射定律除了以上推導方式之外，惠更斯原理 (Huygen's Principle)、費馬原理 (Fermat's Principle) 及馬克士威爾方程組 (Maxwell's Equations) 都可藉由不同的觀點推導出斯乃爾定律。

3-1-2 光散射現象

當光通過不均勻介質（如微小水滴、空氣中的懸浮微粒等）時，可從各個方向看見光，此種現象稱為光散射現象 [21]。

光的散射主要是光與物質相互作用的結果。介質的光學性質不均勻是其均勻介質中散佈著雜質微粒，此又稱為庭德爾（Tyndall）散射。大氣中含有塵埃、煙、霧及乳狀液...等渾濁介質的散射皆屬於庭德爾散射。

光的散射主要分為 4 種，瑞利散射（Rayleigh Scattering）、米氏散射（Mie Scattering）、布里淵散射（Brillouin Scattering）及拉曼散射（Raman Scattering），而此 4 種散射又可分成彈性散射及非彈性散射。瑞利散射及米氏散射屬於彈性散射，布里淵散射及拉曼散射屬於非彈性散射。彈性散射及非彈性散射主要分別為入射光與散色光的波長有無變化。若入射光通過介質時，其散射出的散射光波長與入射光波長相同時即為彈性散射，反之則為非彈性散射。以下簡單探討 4 種散射方式：

瑞利散射在 1871 年由英國物理學家瑞利所提出。瑞利散射可以解釋白天的天空呈藍色。當日光經過大氣層時，與空氣分子發生瑞利散射，因藍光比紅光波長短，瑞利散射較為強烈，被散射的藍光佈滿整個天空。

瑞利散射主要是由比光波長還要短的氣體分子所引起。其散射光的強度和入射光波長 λ 的 4 次方成反比，簡單來說，波長較短的藍光比紅光更容易散射。其公式推導如下：
大氣中的離子可視為偶離子，其震盪會輻射能量。輻射功率為：

$$\bar{P} = \sqrt{\frac{\mu_0}{\epsilon_0}} \frac{\omega^4}{12\pi c^2} |p|^2$$

其中，單個原子的偶極為：

$$p = \frac{q^2}{m(\omega_0^2 - \omega^2)} E \approx \frac{q^2}{m\omega_0^2} E \quad \text{if } \omega_0 \gg \omega$$

其中 ω_0 是原子的自然頻率。

整體的輻射強度為：

$$I = (1/2)\epsilon_0 c E_0^2$$

按輻射強度定義有：

$$dI = -n\bar{P} dx$$

其中 n 是每單位體積內的原子數。於是：

$$\frac{dI}{I} = -\gamma dx$$

其中：

$$\gamma \propto \omega^4 \propto \lambda^{-4}$$

因為 $I = I_0 e^{-\gamma}$ ，所以距離越遠，波長短的強度越低。

$$I(\lambda)_{scattering} \propto \frac{I(\lambda)_{incident}}{\lambda^4}$$

米氏散射理論在 1908 年由德國物理學家 G.Mie 所提出。當入射光波長小於或接近於微粒的半徑大小，大部分的入射光會沿著前進方向散射，此現象即稱為米氏散射。米氏散射理論是將平面電磁波入射至一個半徑為 a 的均勻介電質球體，便可由馬克斯威爾方程式 (Maxwell's Equation) 推導得到解析體。散射光的電場可表示為

$$E_p = S_2(\theta) \cdot E_{p0} \frac{e^{-ikr} + e^{ikz}}{ikr}$$

$$E_s = S_1(\theta) \cdot E_{s0} \frac{e^{-ikr} + e^{ikz}}{ikr}$$

其中 E_p 與 E_s 是方向相互垂直的電場分量、 E_{p0} 與 E_{s0} 為電場振幅、 S_2 與 S_1 為振幅函數、 θ 為散射角(散射角的定義為入射光與散射光的夾角)。而振幅函數為一無窮級數之和

$$S_2(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} [a_n(x, m)\pi_n(\theta) + b_n(x, m)\tau_n(\theta)]$$

$$S_1(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} [a_n(x, m)\pi_n(\theta) + b_n(x, m)\tau_n(\theta)]$$

x 為尺寸係數： $x=2\pi a/\lambda$ ，也就是粒子周長對入射光波長的比例、 m 為折射率(Index of Reflection)、 π_n 與 τ_n 角度係數以 Legendre 函數 P_n^1 表示成

$$\pi_n(\theta) = \frac{1}{\sin(\theta)} P_n^1(\cos \theta)$$

$$\tau_n(\theta) = \frac{d}{d\theta} P_n^1(\cos \theta)$$

a_n 與 b_n 係數則以 Riccati-Bessel 函數 Ψ 與 ζ 表示

$$a_n(x, m) = \frac{\Psi'_n(mx)\Psi(x) - m\Psi_n(mx)\Psi'_n(x)}{\zeta'_n(mx)\Psi(x) - \zeta_n(mx)\Psi'(x)}$$

$$b_n(x, m) = \frac{\Psi'_n(mx)\Psi(x) - m\Psi_n(mx)\Psi'_n(x)}{\zeta'_n(mx)\Psi(x) - \zeta_n(mx)\Psi'(x)}$$

在米氏散射計算中，最主要的就是要求得削弱效率係數 Q_e 、散射效率係數 Q_s 、以及散射矩陣 $P(\theta)$ 的計算。各項公式之推導過程亦相當複雜，因此我們僅簡介至此而不詳加敘述。當粒子越大時，米氏散射計算的解析解收斂速度相當慢，因此現今進行相關研究者通常仰賴電腦來處理此類計算。

布里淵散射在 1922 年由法國物理學家布里淵所提出。可以研究氣體、液體和固體中的聲學振動。布里淵散射亦屬於拉曼散射的一種，主要是光通過介質時，受到各種元激發的非彈性散射，頻率的變化代表了元激發的能量。與拉曼散射不同的是，布里淵散射用來研究能量較小的元激發，如聲學聲子、磁振子。

※元激發：固體中具有確定能量和相對動量或準動量的基本激發單元。

拉曼散射在 1928 年由由印度物理學家拉曼提出。主要是指光入射介質後頻率發生變化的現象。一般散射現象絕大多數都為瑞利散射，但仍有一小部分的光子（約千萬分之一的機率），散射後會產生頻率的變化，其主要原因是入射光子與介質分子產生了能量的交換，此一現象又稱為拉曼效應。

本研究實驗主要是用米氏散射理論。由於全血內含物紅血球的細胞半徑約為 6 ~ 8 μm 比實驗光源所使用的波長較大(632.8nm)，且其散射光會沿著光學路徑前進，符合本研究規劃的反射式檢測光學系統的路徑，故使用米氏散射理論予以探討。

3-1-3 光吸收現象

當光通過介質時，其光強度會有所衰減。能量衰減原因有三種：色散、介質材料吸收能量及介質材料的不均勻性所引起的散射。光在通過介質時，由於光吸收現象，光能量都會不同程度的被介質所吸收而導致光強度的減弱。光強度減弱的程度會因經歷的路程、介質的性質及光波波長有關。光吸收現象又分為以下兩種：一般吸收及選擇吸收 [20, 21]。

一般吸收其特點是吸收量極少且吸收係數不會隨波長而改變。例如，空氣、水、無色玻璃等介質在可見光範圍內都產生一般吸收，當可見光通過這些介質後只稍微減弱光強度而不會改變其顏色。

選擇吸收的特點就是對某些特定區段的波長，光吸收現象較為強烈。例如，白光穿透綠色玻璃時，透過的光呈現綠色。選擇吸收主要發生原因是介質裡原子或分子中的電子在某些波長下的光引起共振，從光吸收了能量。

Bouguer – Lambert 吸收定律確立於 1760 年。如圖 3.4 所示當一入射光強為 I_i 沿 X 方向平行通過均勻介質距離 x 後，其光強度減為 I_0 ；再通過 dx ，光強度減少 dI 。薄層吸收的光強度與薄層的厚度成正比，故公式如下：

$$\frac{dI}{I} = -\alpha dx$$

α 為該介質的吸收係數，將上式積分 (I 的範圍： $I_i \sim I_o$ 、x 的範圍： $0 \sim L$)

$$I_o = I_i e^{-\alpha L}$$

Bouguer – Lambert 吸收定律表示，物質的吸收係數僅取決於該物質的性質且與入射光的波長有關，而與物質的厚度無關。

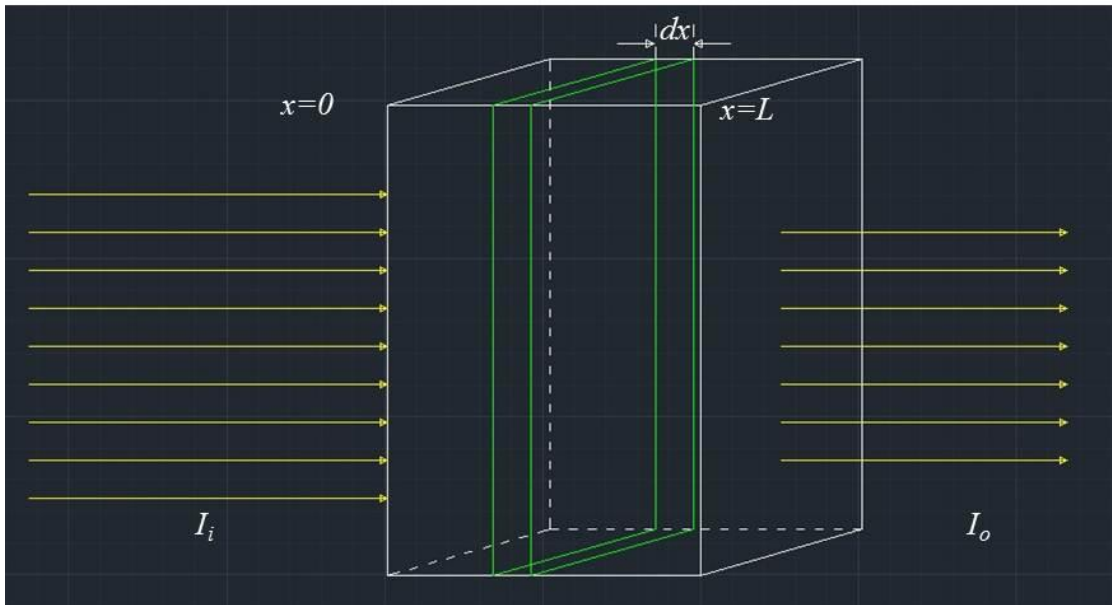


圖 3.4 Bouguer – Lambert 定律推導

3-2 實驗儀器介紹

本論文反射式檢測系統及穿透式檢測系統所使用的實驗儀器如下：實驗光源、放大器、光偵測器、DAQ 卡、乘載試片簡易架構、反射鏡平台架構、血漿樣本及凝血劑製備。

3-2-1 實驗光源

本研究所使用的實驗光源為雷射都卜勒測振儀 (Laser Doppler vibration meter, LDV meter)的傳感器部分，其感測器規格如下表 3.1 [20]。

表 3.1 雷射都卜勒測振儀規格(感測器)

Product Model	Onosokki Laser Vibrometer Lv-1720A
Detection demodulation system	Velocity demodulation using optical heterodyne detection
Light source	He-Ne laser (632.8 nm wavelength)
Reflected light output	Within 1 mW (conforming to Class 2 JIS C6802 standard)
Laser spot	20 μ m or less (at the shortest measurement distance)

使用雷射都卜勒測振儀的雷射作為實驗光源最主要的原因是，LDV 可直接控制雷射光斑大小，聚焦於全血樣本（或血漿樣本）血液凝固位置，其中 LDV 的功率回授部分，可觀察實驗架構的光學路徑傾斜與否。

3-2-2 放大器

本實驗使用放大器 (LM301AN) 最主要的目的為放大光偵測器所接收到的訊號並抑制雜訊。圖 3.5 為本研究所使用的電路。

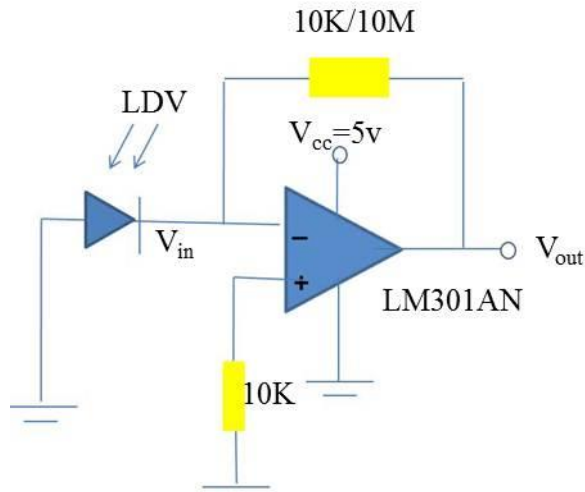


圖 3.5 放大器電路圖

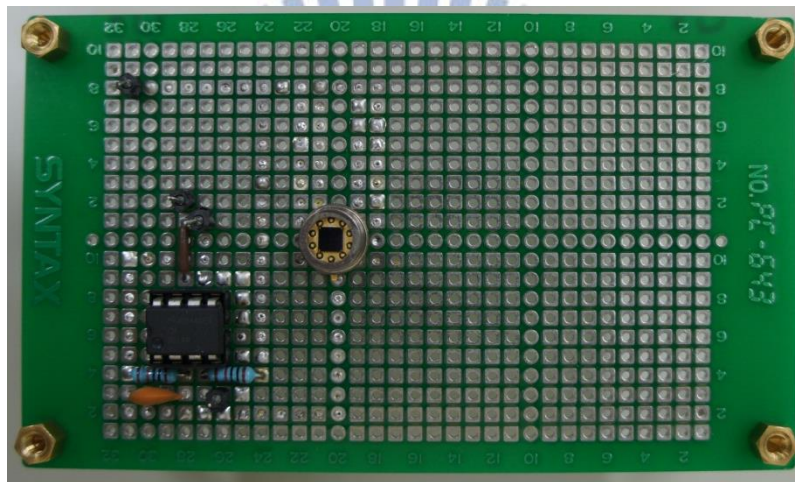


圖 3.6 放大器實驗電路圖

※在 V_{out} 和 V_{in} 間跨接一電容 (陶瓷電容 $0.1\mu\text{F}/50\text{V}$) 可有效抑制雜訊產生。

3-2-3 光偵測器

本論文所使用的光偵測器(Si PIN photodiode S4349)如圖3.7所示，為一四方形陣列(2x2區塊)，其規格，如尺寸、外型、靈敏度、截止頻率如表3.2，此外，由圖3.8顯示本光偵測器波長與靈敏度關係曲線，由於紅光的波長介於620nm~770nm之間，即為S4349光偵測器的靈敏度較大處，因此使用此偵測器作為量測訊號接收部分所用 [20, 22, 23]。

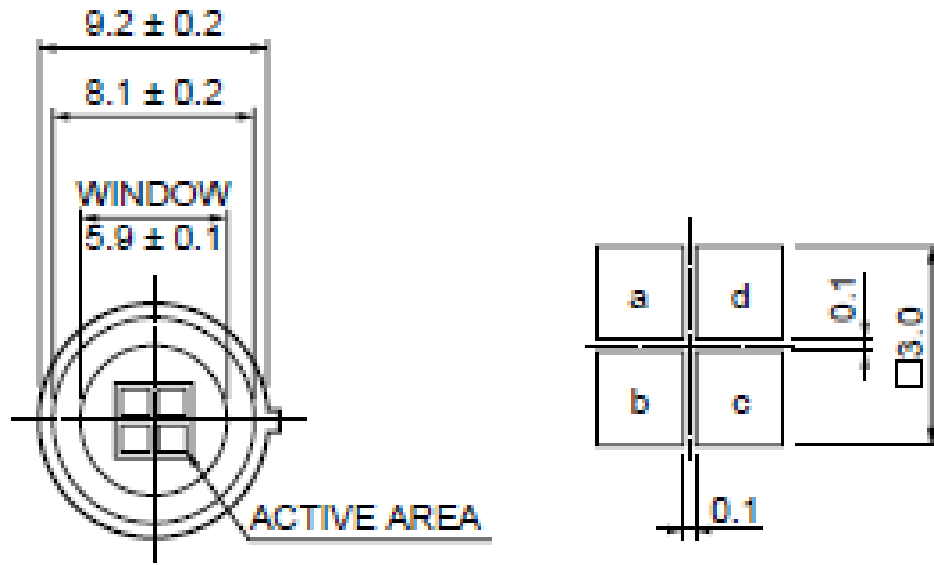


圖 3.7 S4349 光偵測器外型

表 3.2 S4349 光偵測器元件參數

Parameter	Symbol	Value	Unit
Window material	-	Quartz glass with TO-5 metal package	-
Active area	A	□3.0/4, Quadrant (2 × 2) element	mm
Element gap	-	100	μm
Spectral response range	λ	190 to 1000	nm
Peak sensitivity wavelength	λ_p	720	nm
Cut-off frequency	f_c	20 (VR=5 V, RL=50 Ω, $\lambda=780$ nm, -3 dB)	MHz
Photo sensitivity	S	0.45($\lambda=\lambda_p$)	A/W

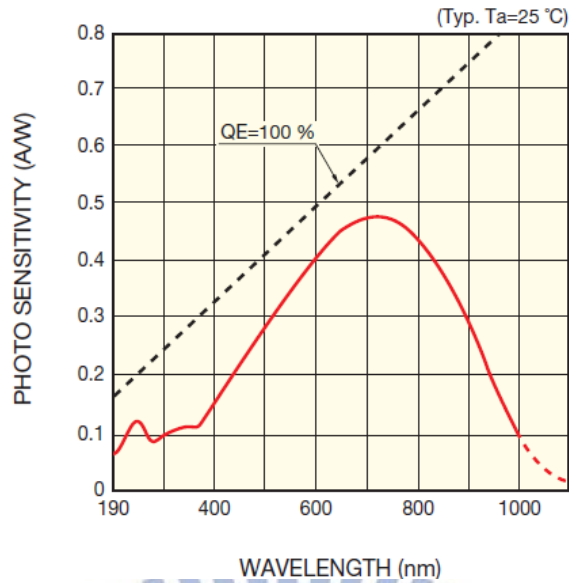


圖 3.8 光偵測器波長感測範圍

3-2-4 Labview 架構

本論文所使用的 DAQ 卡為 National Instruments NI9205，主要用來擷取訊號並將資料匯入電腦，由 Labview 做初步處理，其架構如下圖 3.9。

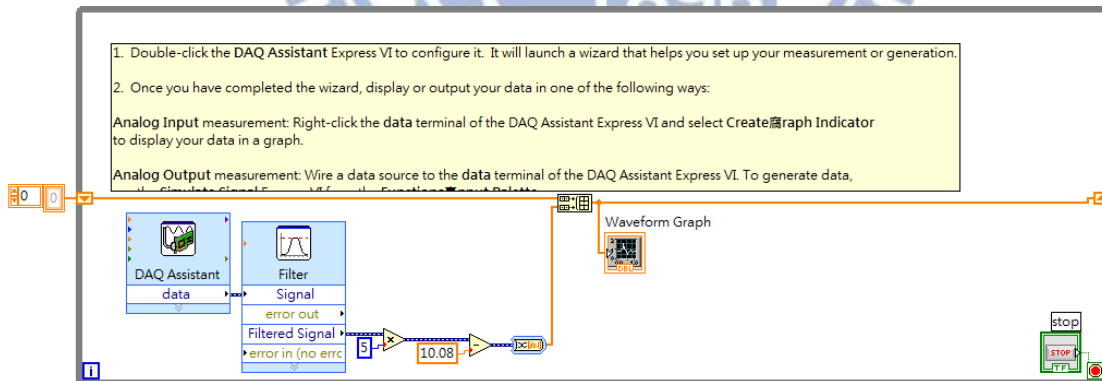


圖 3.9 Labview 架構

使用 Labview 內建的 DAQ Assistant 設定擷取頻率(100 次/s)，將擷取的訊號匯入濾波器，經由放大、平移並加入矩陣，令初始值為 0，做疊加的動作，使 Waveform Graph 能夠繪出連續曲線予以觀察。圖 3.10 為有日光燈且無實驗光源所呈現的 Waveform Graph (縱軸為電壓/橫軸為秒)。

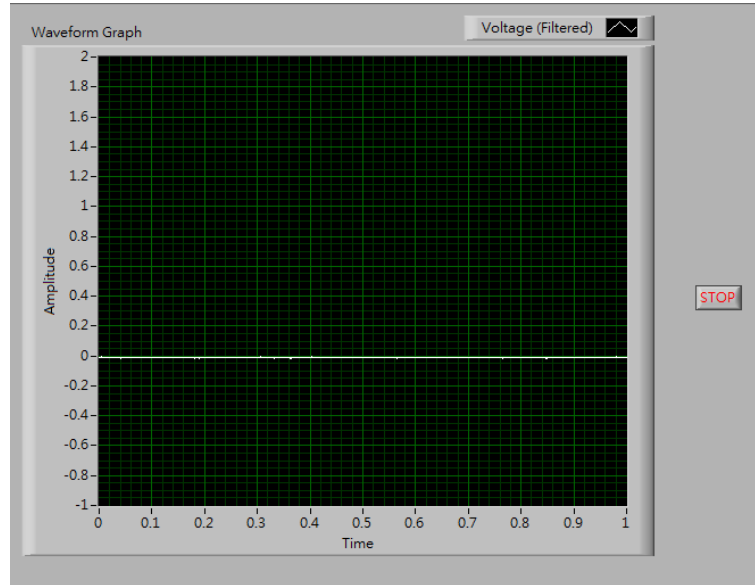


圖 3.10 有日光燈無雷射波形圖

※濾波器使用低通濾波器 (50Hz)，最主要是過濾日光燈所產生的雜訊，日光燈閃爍頻率約為 60Hz。

3-2-5 乘載試片簡易架構

乘載試片簡易架構最主要是用來乘載試片且要易於更換。如圖 3.11。

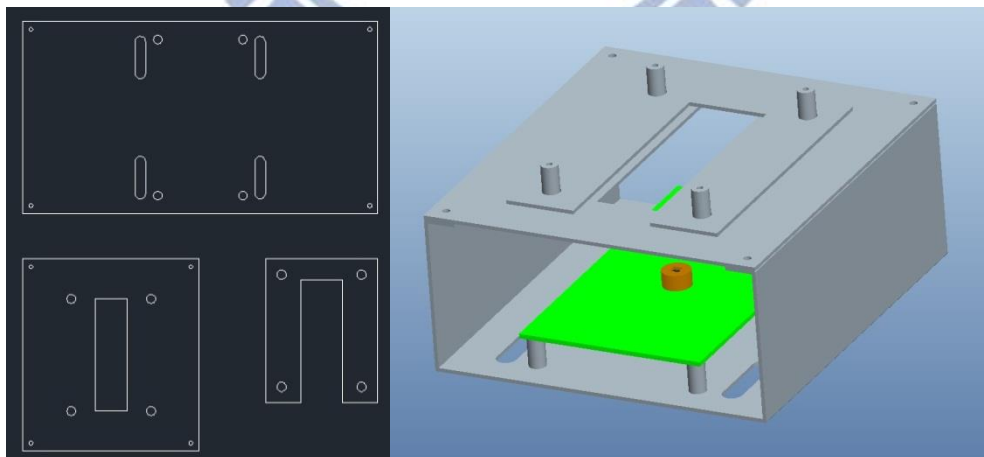


圖 3.11 乘載試片簡易架構展開圖與 3D 圖

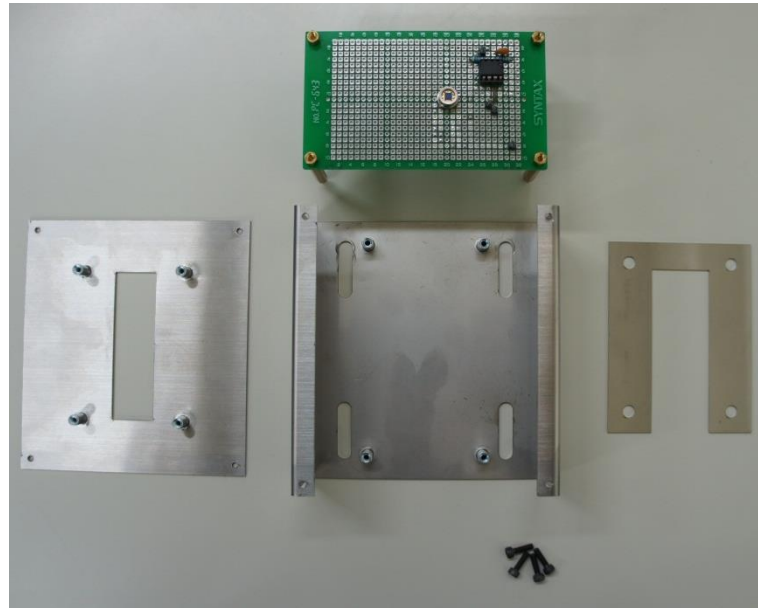


圖 3.12 乘載試片簡易架構拆解圖

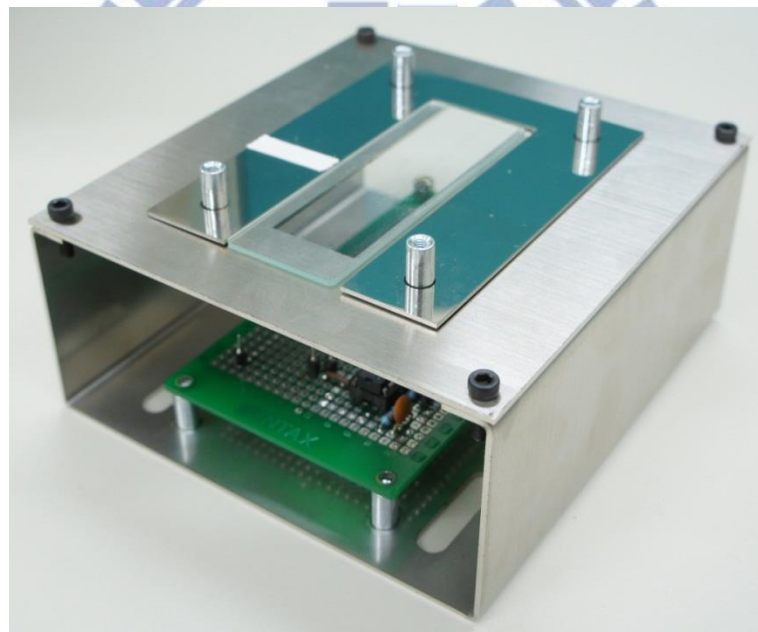


圖 3.13 乘載試片簡易架構組合圖

此設計概念為結合放大器電路、光偵測器及生物試片於同一架構中，有效縮小實驗所須環境，並且易於執行穿透式檢測系統。圖中 3.12 架構底部有 4 條長圓孔，此功用為固定於光學桌上，使實驗平台呈現水平狀態。頂部中間部分有 4 根攻牙過的母孔，以利於之後實驗平台改變，可架設額外設備於生物試片上。

3-2-6 反射鏡平台架構-1

此反射鏡平台架構主要用來固定反射鏡(10mm*10mm) 及防止灰塵沾染反射鏡，用於本論文的蓋玻片試片及 PDMS-T 型試片。圖 3.15 底座 4 條長圓孔可固定於光學桌，中間 8 個直角標記為固定圖 3.14 左邊兩塊小板。左上小板中間正方孔為放置反射鏡，左下小板中間部分為放置載玻片。

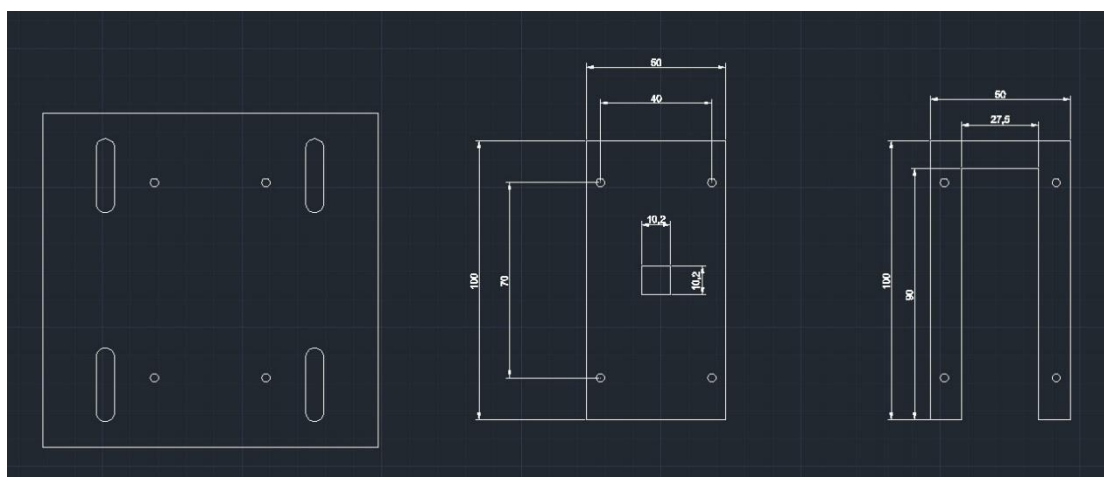


圖 3.14 反射鏡平台架構展開圖

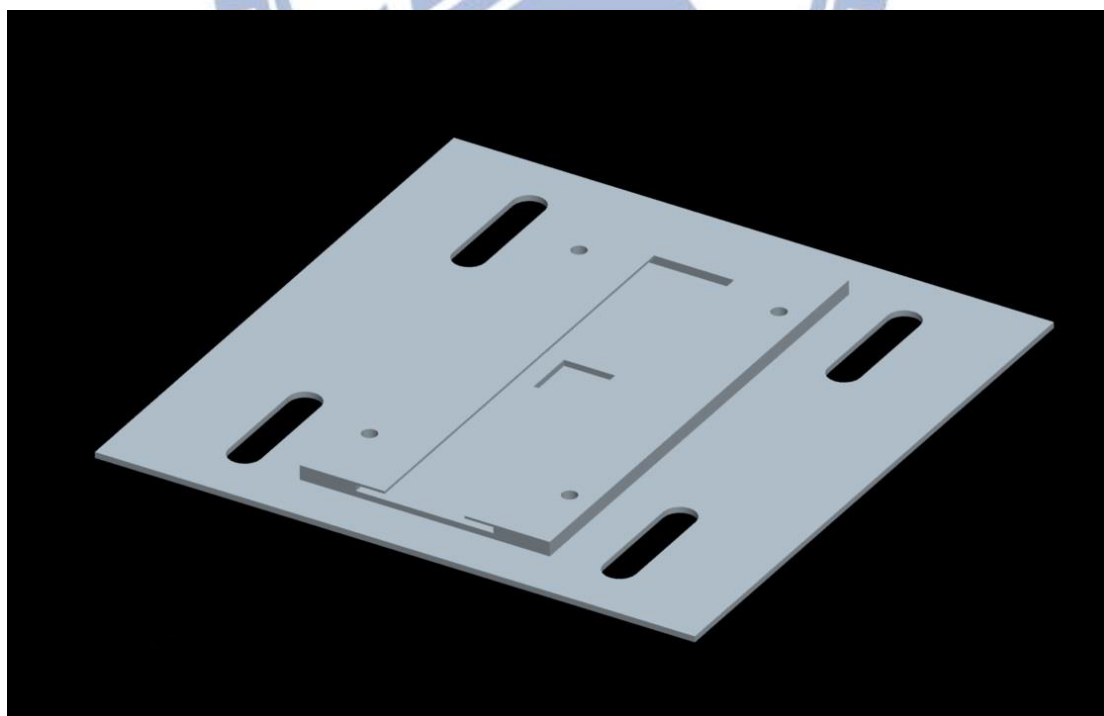


圖 3.15 反射鏡平台架構平面圖



圖 3.16 反射鏡平台架構組合圖

3-2-7 反射鏡平台架構-2

設計此反射鏡平台架構主要是用來乘載 PDMS-盤型試片及反射鏡，並搭配馬達旋轉此架構，促使血液樣本及凝血劑混合。圖 3.17 即為本論文所設計之反射鏡平台架構的工程圖。右下角的四個正方形孔為放置反射鏡的地方，左上角的環型圓孔是為了減輕旋轉所負荷的重量，左下角的紅線為鈹金加工折床所試別的反折、綠線為正折而黃線為雷射雕刻線，用於標記放置位置。

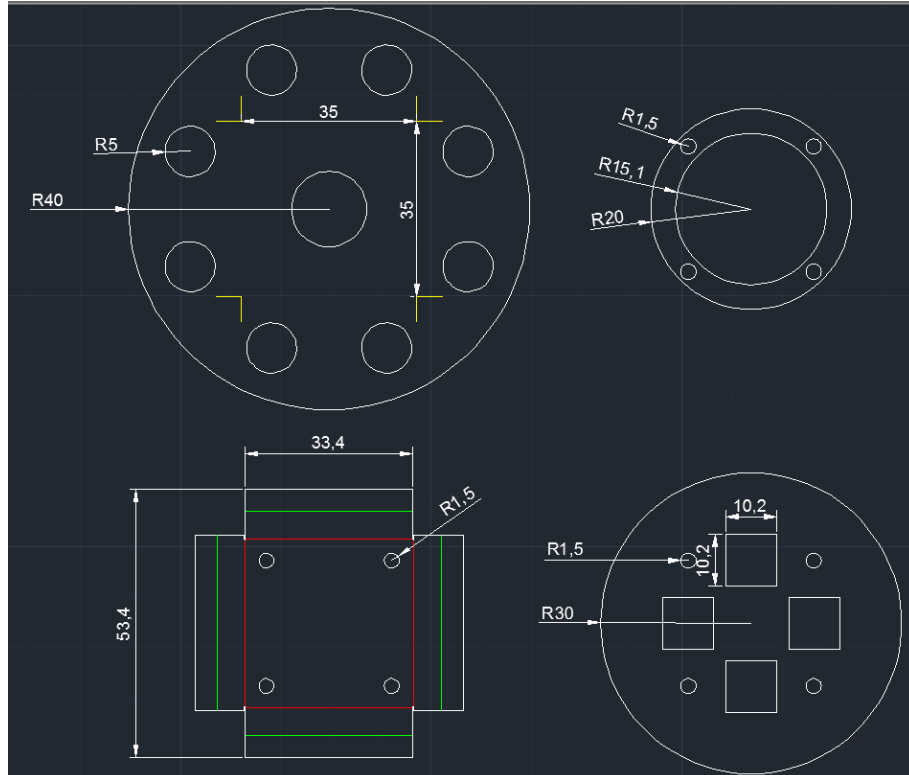


圖 3.17 反射鏡平台架構-2 工程圖

圖 3.18 為試片乘載的 3-D 圖及組合圖。

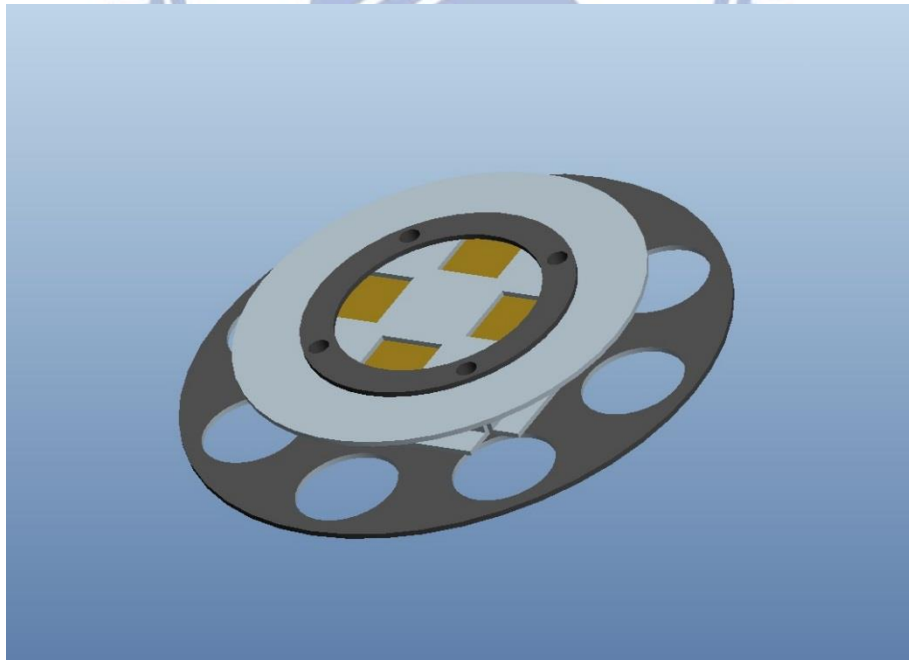


圖 3.18 反射鏡平台架構-2-3D 圖

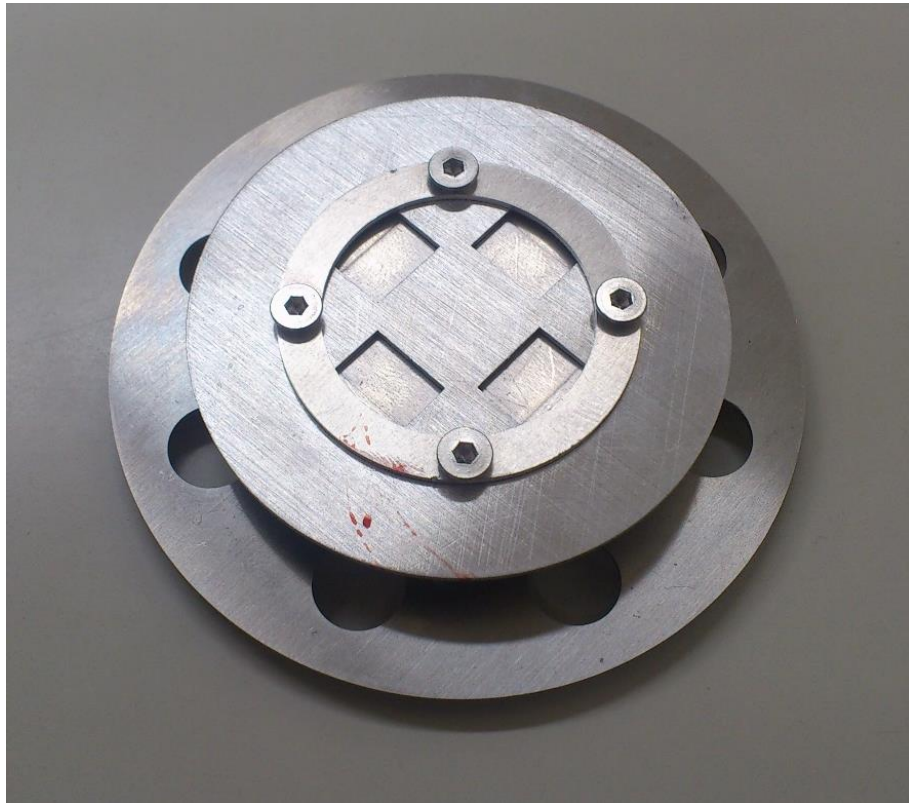


圖 3.19 反射鏡平台架構-2 組合圖

3-2-8 血漿樣本及凝血劑製備

血漿樣本用於模擬前人研究並與其結果曲線討論；凝血劑則用於加快實驗進行，本凝血劑的標準凝血酶原時間介於 8 至 12 秒。

凝血劑(Siemens Dade Innovin)：以 4mL 去離子水泡製冷凍乾燥的 Innovin，並在室溫下靜置 30 分鐘後方可使用。其保存方法如表 3.3。

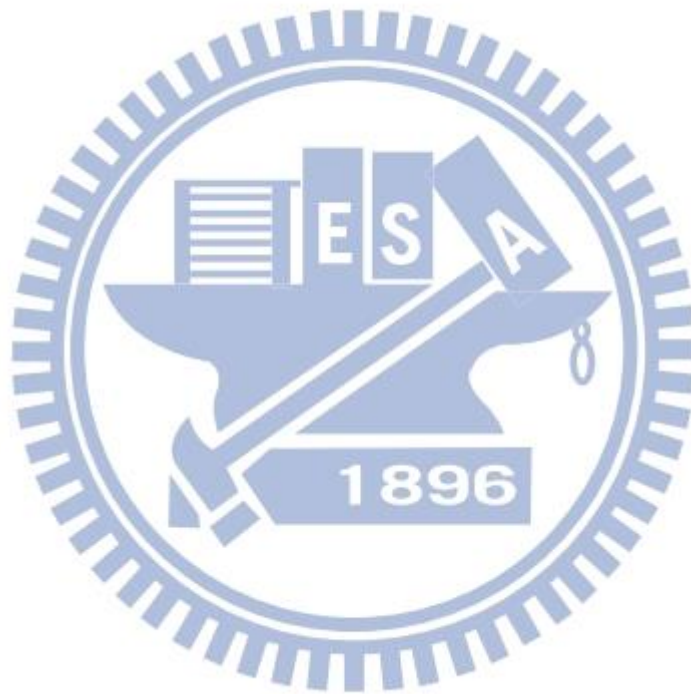
表 3.3 凝血劑保存時間

保存溫度	保存期限
+2 to +8°C	10 days
+15 to 25°C	5 days
+37°C	24 hours

血漿(Siemens Dade CiTrol 1)：以 1mL 去離子水泡製冷凍乾燥的 CiTrol 1 ，並在室溫下靜置 30 分鐘後方可使用。其保存方法如表 3.4。

表 3.4 血漿樣本保存時間

保存溫度	保存期限
+2 to +8°C	16 hours
+15 to 25°C	8 hours



3-3 實驗試片介紹

3-3-1 蓋玻片-載玻片

本論文最一開始的血液樣本搭載器具為蓋玻片-載玻片，藉由此試片做初步量測每種實驗架構的可行性，並探討影響實驗結果的因素。



圖 3.20 蓋玻片-載玻片



圖 3.21 蓋玻片乘載全血血液樣本



圖 3.22 載玻片-蓋玻片



圖 3.23 載玻片-蓋玻片乘載血液樣本

3-3-2 PDMS 簡易製作

PDMS 為矽膠的一種，其特性有抗化學腐蝕、良好的透光率（透光率：70%~95%）、生物相容性佳及低材料成本（遠低於矽晶圓），由 PDMS 的特性可知，其在生醫及光學方面為良好的試片材料。

以下為 PDMS 製作簡易過程：

1. PDMS Elastomer : PDMS Curing Agent = 10 : 1
2. 均勻攪拌(約 10 分鐘)
3. 放置於乾燥器皿並抽真空(約 30 分鐘，氣泡消失即可)
4. 均勻塗布在公模上
5. 放置於加熱板(約 150°C，PDMS 固化無粘性)
6. 翻模，黏貼於載玻片上

圖 3.24 為製作 PDMS 所使用的材料及器具。

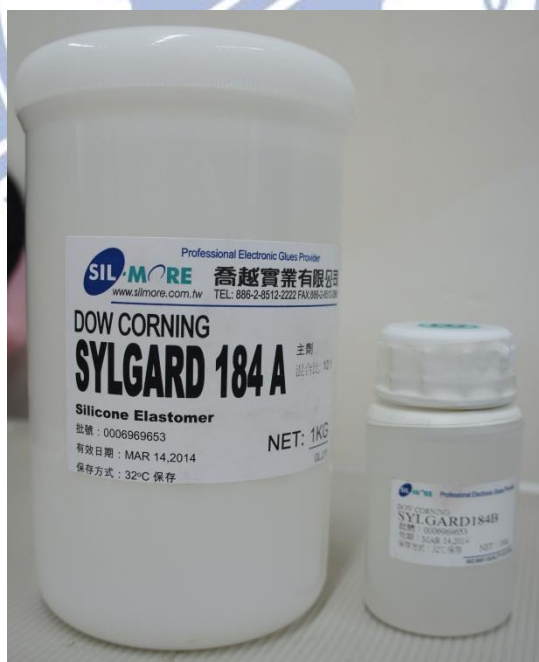


圖 3.24 PDMS 膠與固化劑



圖 3.25 加熱基板與加熱器



圖 3.26 精密電子天秤 (精度至 mg)



圖 3.27 抽真空所用壓縮機與壓力鍋

3-3-3 PDMS-T 型試片

由蓋玻片-載玻片的結果 (第四章 結果與討論) 可知血液樣本的定量及凝血位置固定是非常重要的課題，故設計一生物試片有其必要性。本論文初步決定使用聚二甲基矽氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS) 製作血液樣本的乘載試片。

本論文所設計如圖 3.28 的 PDMS-T 型試片，並在試片中刻畫出雙通道，並將試片用打孔機打兩個注射孔，以便使用吸注器加入凝血劑及血液樣本 (全血及血漿)。

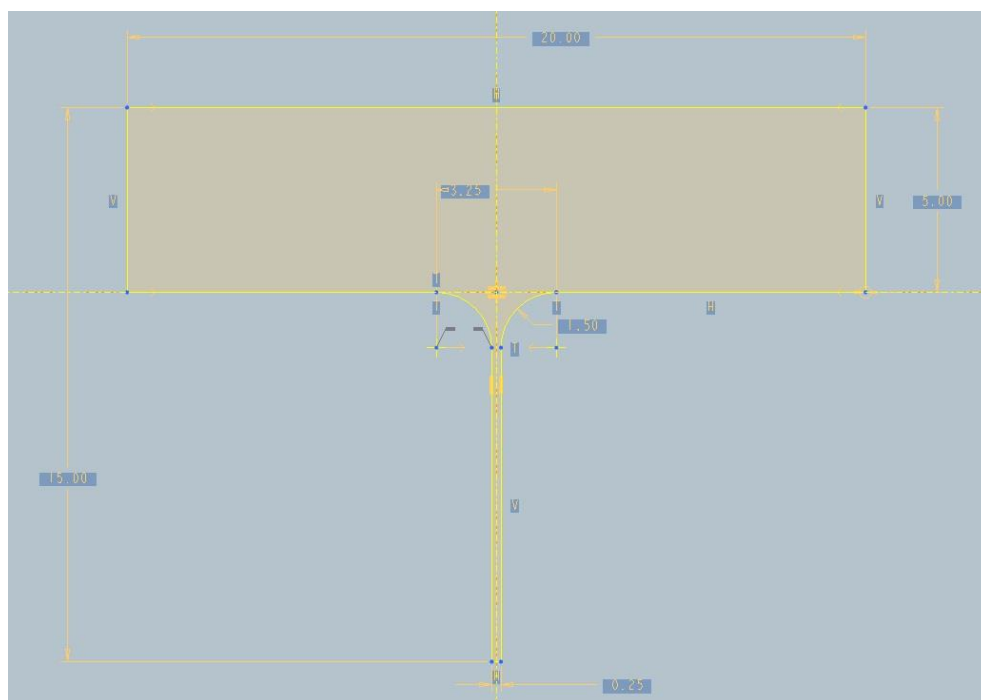


圖 3.28 PDMS-T 型試片規格

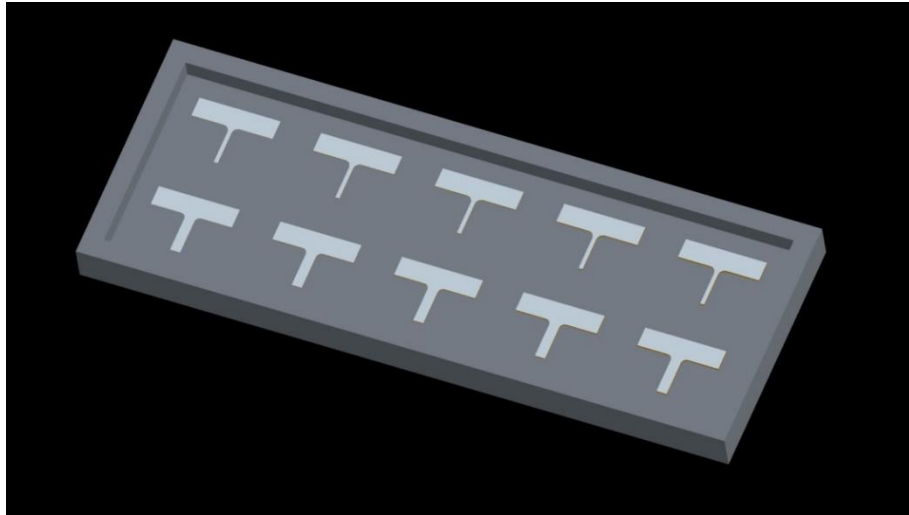


圖 3.29 PDMS-T 型試片母模 3D 圖



圖 3.30 PDMS-T 型試片母模

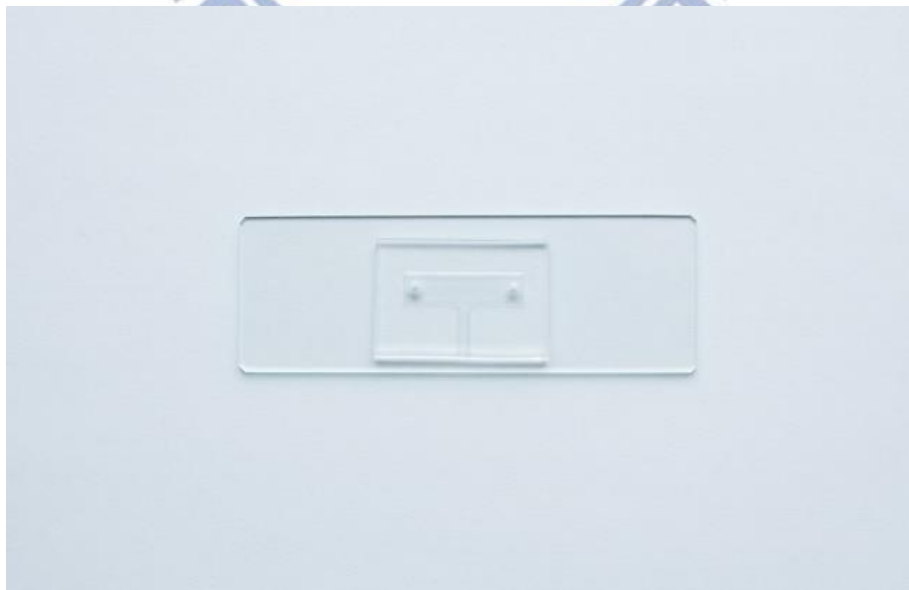


圖 3.31 PDMS-T 型試片黏貼於載玻片



圖 3.32 PDMS-T 型試片加入全血血液樣本示意圖

3-3-4 PDMS-圓型試片

經由 PDMS-T 型試片初步的實驗結果，本論文針對實驗動機的低抽血量及短時間內顯示凝血檢測結果兩項，再次設計 PDMS-圓型試片。PDMS-圓型試片的設計要點為開啟多通道，以利一次的實驗有多筆的量測數據做比較、分析。另一設計要點為控制血液樣本量，須由試片本身的體積來做量化控制。此外，本論文所使用的 PDMS-圓型試片目前測試方法為：在待測位置滴入凝血劑，並由中心點使用吸注器注入血液樣本使其混合。

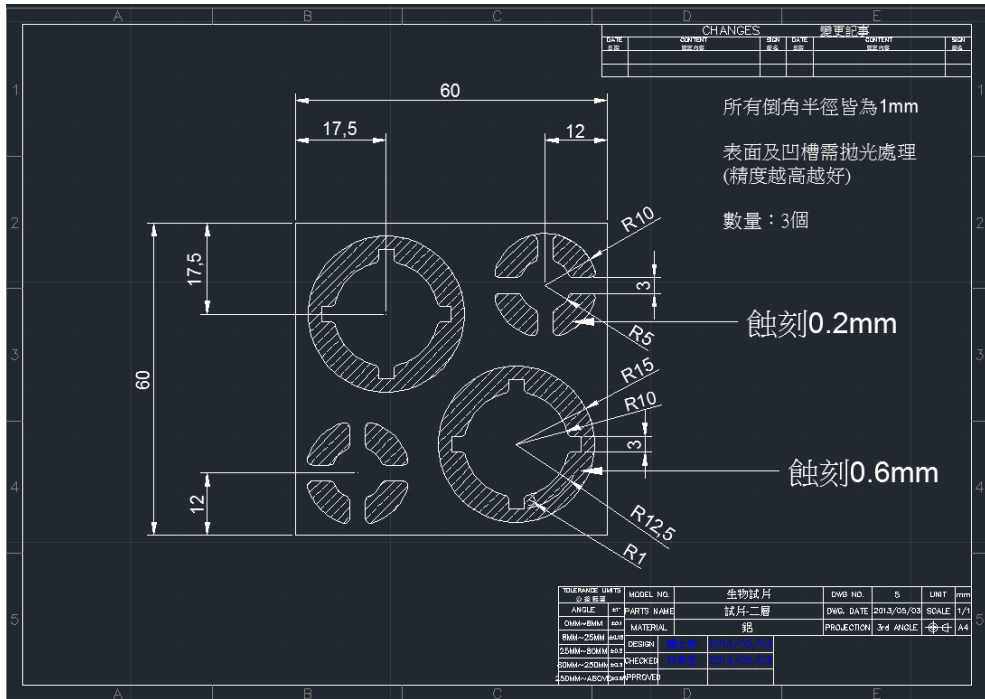


圖 3.33 PDMS-圓型試片規格

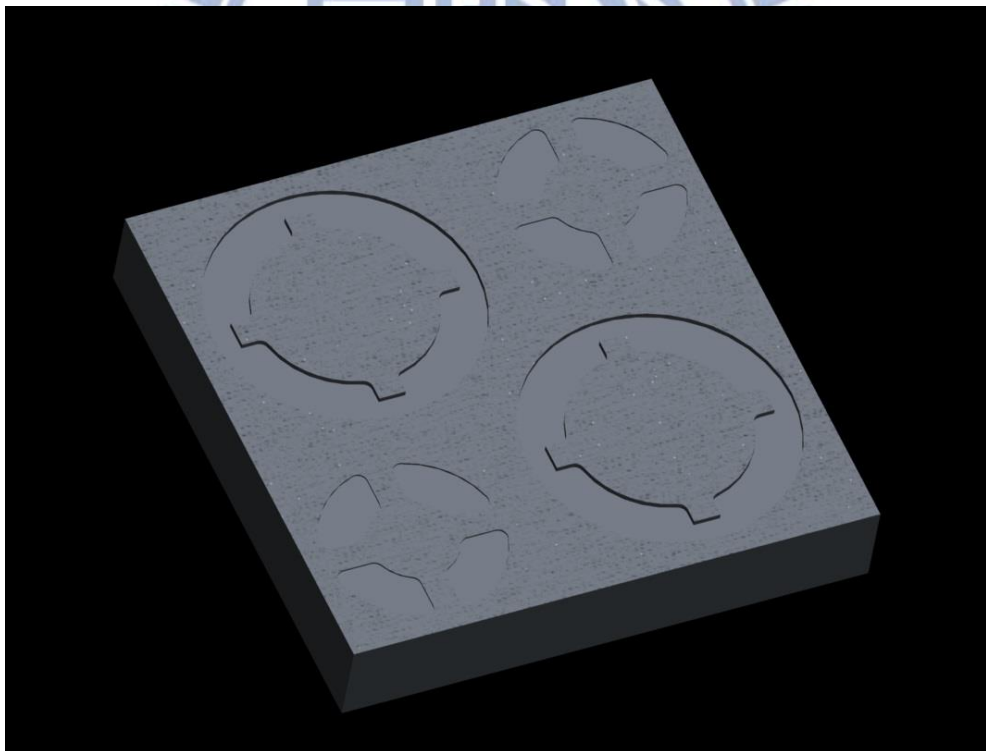


圖 3.34 PDMS-圓型試片母模 3D 圖



圖 3.35 PDMS-圓型試片母模



圖 3.36 PDMS-圓型試片



圖 3.37 PDMS-圓型試片加入全血血液樣本示意圖



3-4 實驗平台介紹

3-4-1 反射式光學檢測系統-1

為了達到即時性，在此反射式光學系統使用光感測器來執行接收訊號的部分，下圖 3.38 為反射式光學系統的實驗流程。一開始使用 He-Ne 雷射作為檢測的實驗光源，並藉由分光鏡的分光效果，讓雷射光照射在全血樣本 (或血漿樣本) 上，在藉由反射鏡反射雷射光，使用凸透鏡的聚焦效果，使雷射光束集中在光偵測器。藉由 Labview 的 DAQ 卡擷取訊號，傳入電腦做數值分析，並藉由曲線解讀測得血液凝固時間。

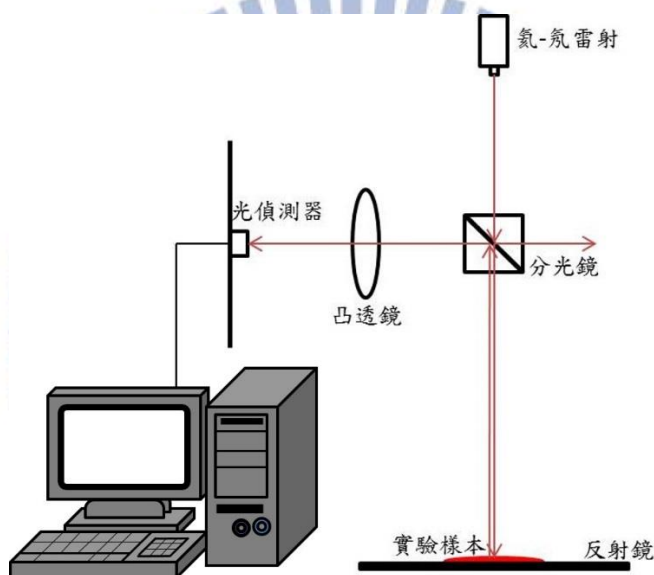


圖 3.38 反射式光學系統-1 流程

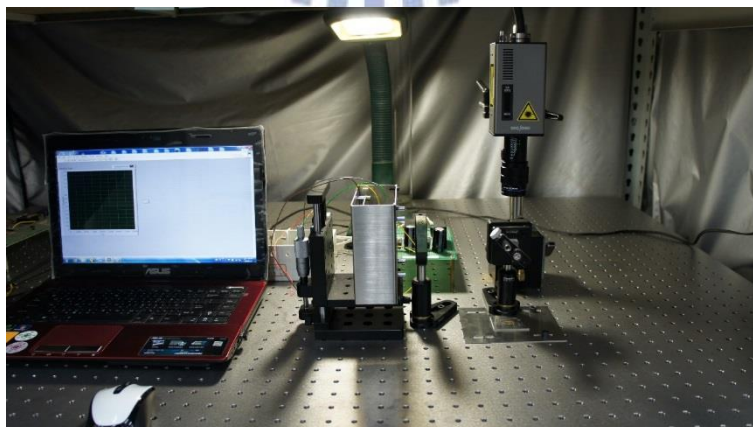


圖 3.39 反射式光學檢測系統實驗平台

3-4-2 反射式光學檢測系統-2

為了提高實驗的準確性及實驗速率，本論文設計 PDMS-圓型試片及反射鏡平台架構已達到目的。圖 3.40 為此系統的實驗流程圖，整體如同反射式光學檢測系統-1，只有反射鏡平台架構不同。

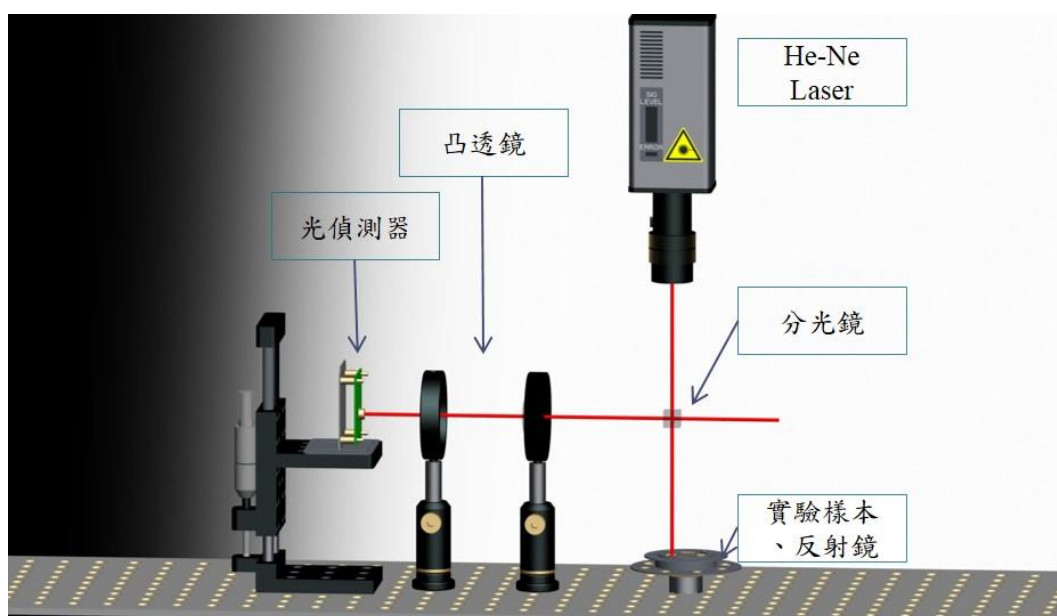


圖 3.40 反射式光學系統-2 流程

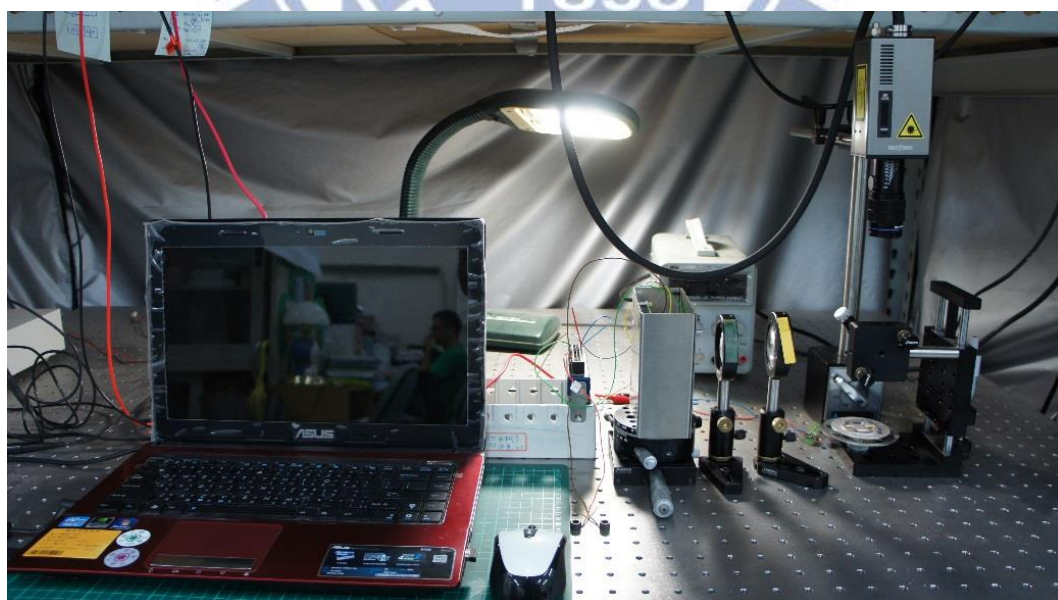


圖 3.41 反射式光學系統檢測平台-2

3-4-3 穿透式光學檢測系統

為了與前人實驗方法比較，在檢測系統方面除了反射式光學系統，我們也架設穿透式光學系統，方便驗證實驗結果正確與否。

如圖 3.42 為穿透式光學系統的流程圖。一開始是以 He-Ne 雷射為檢測的實驗光源，直接穿透由載玻片所乘載的全血樣本或血漿樣本，然後使雷射光照射在光偵測器上，再藉由 Labview 的 DAQ 卡擷取訊號，匯入電腦做數值分析，並藉由曲線解讀測得血液凝固時間。

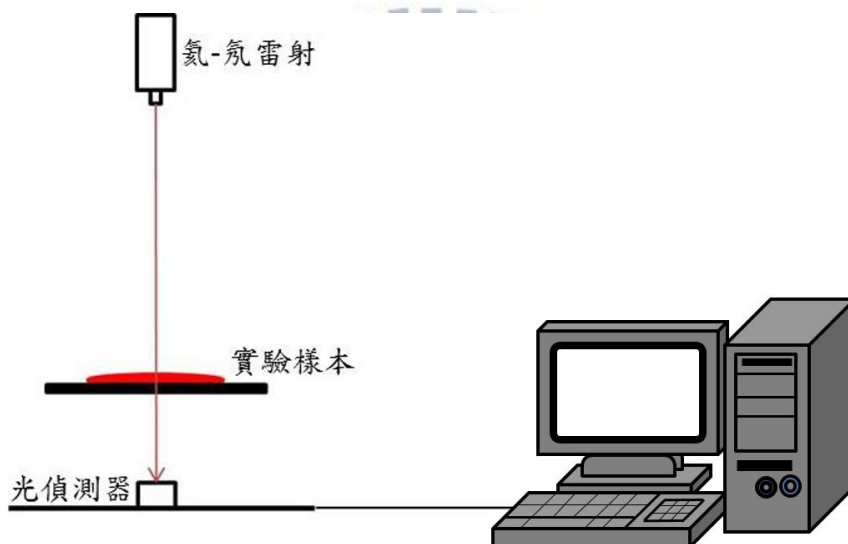


圖 3.42 穿透式光學系統流程

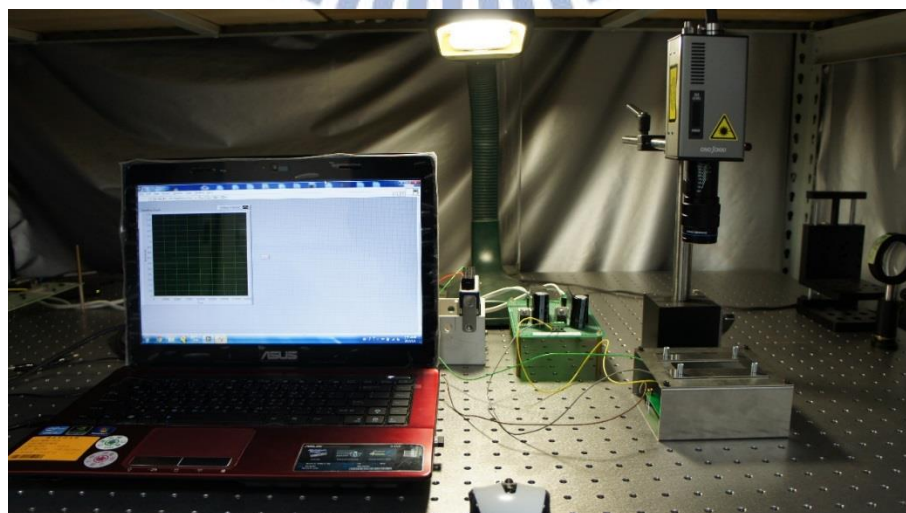


圖 3.43 穿透式光學檢測系統實驗平台

第四章 結果與討論

本論文實驗一開始，先使用顏色類似全血的紅墨水來做簡單的反射式光學檢測路徑測試。首先，檢測墨水乾前跟乾後，其光強度的動態曲線有無差別。圖 4.1 及圖 4.2 為白板筆補充液及壓克力水彩顏料的動態曲線圖 (橫軸為 DAQ 卡擷取訊號次數：1000 次/s，縱軸為電壓：V)

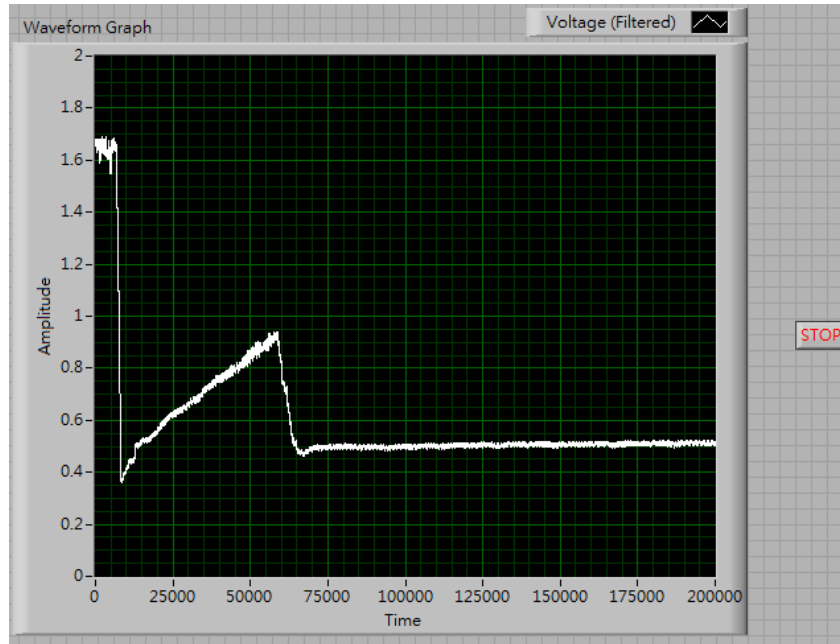


圖 4.1 白板筆補充液

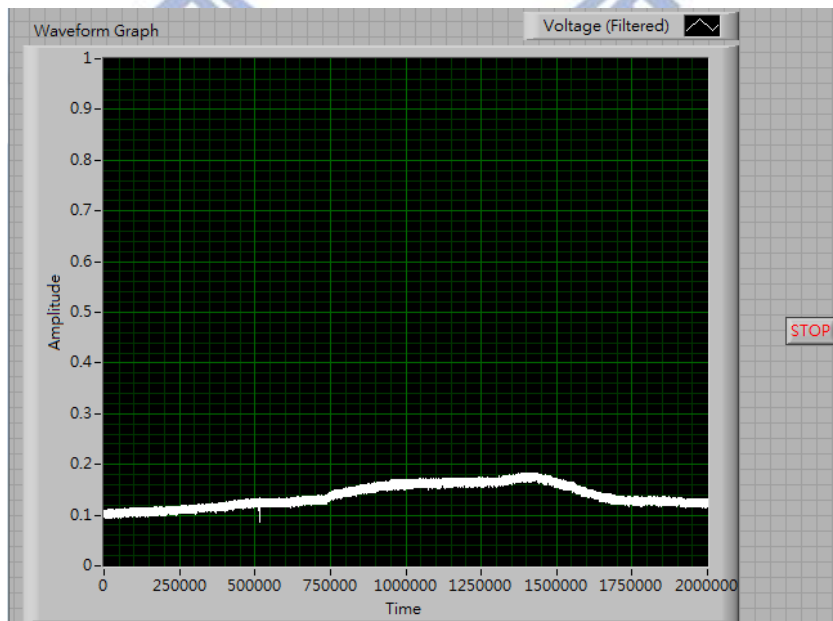


圖 4.2 壓克力水彩顏料

4-1 實驗結果

4-1-1 實驗結果判定

本論文研究所使用之凝血劑其正常值範圍為 8~12 秒之間。鑑於所讀文獻，當血液凝血結束時，其光強度將不再變化。故本論文取數據穩態部分求得平均，並將凝血過程中的動態曲線擷取出電壓最大值及最小值差值的 10%，並以數據穩態平均 $\pm 10\%$ 差值與動態曲線的交會點定義為凝血時間結束，並算出凝血酶原時間。全血數據中第一條線的取法為斜率上升，血液樣本加入凝血劑的第一條線為加入凝血劑的時間。

實驗初步結果，分別探討全血樣本、全血樣本加入凝血劑及血漿樣本加入凝血劑在反射式檢測系統及穿透式檢測系統中，其動態曲線的變化，由 DAQ 卡擷取出訊號存在 excel 並匯入 OriginLab 整理數據，共有以下 15 種結果呈現：

1. 蓋玻片-載玻片

- (1) 反射式檢測系統；全血樣本
- (2) 反射式檢測系統；全血樣本加入凝血劑
- (3) 反射式檢測系統；血漿樣本加入凝血劑
- (4) 穿透式檢測系統；全血樣本
- (5) 穿透式檢測系統；全血樣本加入凝血劑

2. PDMS-T 型試片

- (1) 反射式檢測系統；全血樣本
- (2) 反射式檢測系統；全血樣本加入凝血劑
- (3) 反射式檢測系統；血漿樣本加入凝血劑
- (4) 穿透式檢測系統；全血樣本
- (5) 穿透式檢測系統；全血樣本加入凝血劑

3. PDMS-圓型試片

- (1) 反射式檢測系統；全血樣本
- (2) 反射式檢測系統；全血樣本加入凝血劑
- (3) 反射式檢測系統；血漿樣本加入凝血劑
- (4) 穿透式檢測系統；全血樣本
- (5) 穿透式檢測系統；全血樣本加入凝血劑

4-1-2 蓋玻片-載玻片實驗結果

在反射式檢測系統中，本論文實驗目前針對全血、全血加入凝血劑及血漿加入凝血劑都有初步的實驗結果。

- 1：將全血滴於蓋玻片上並放置反射鏡上。
- 2：全血樣本開始凝血。
- 3：全血樣本血液凝固結束。

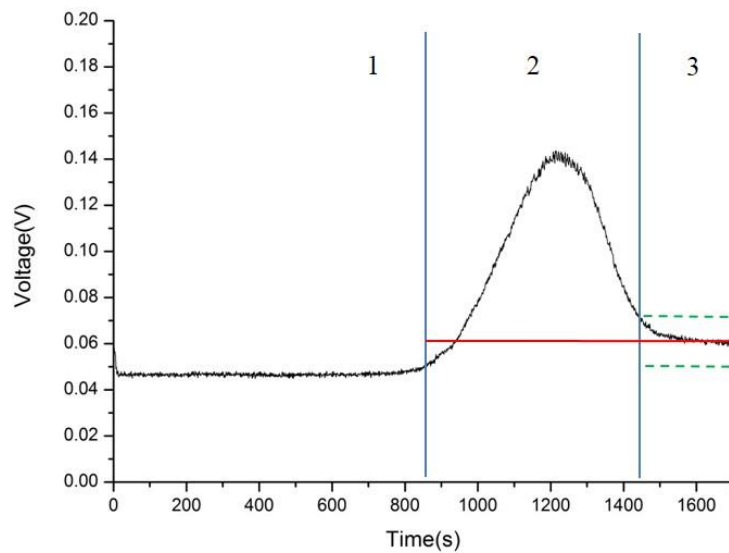


圖 4.3 全血使用反射式檢測系統 1

圖 4.3：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間

大約 1445 秒。

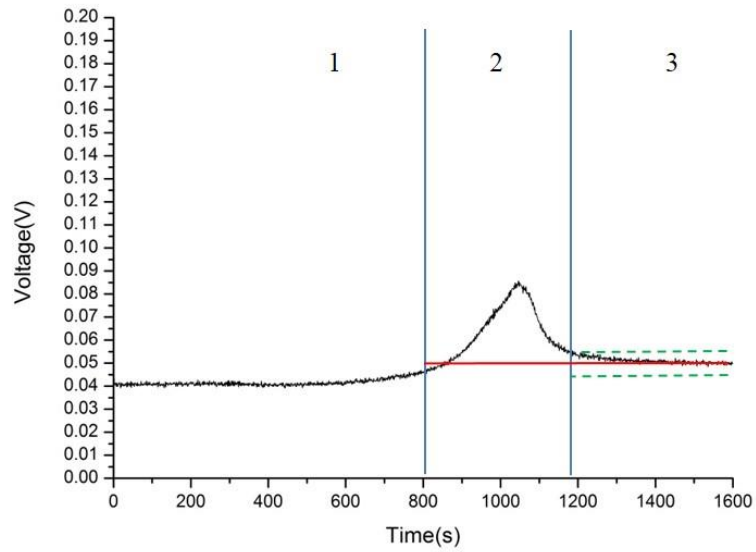


圖 4.4 全血使用反射式檢測系統 2

圖 4.4：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1183 秒。

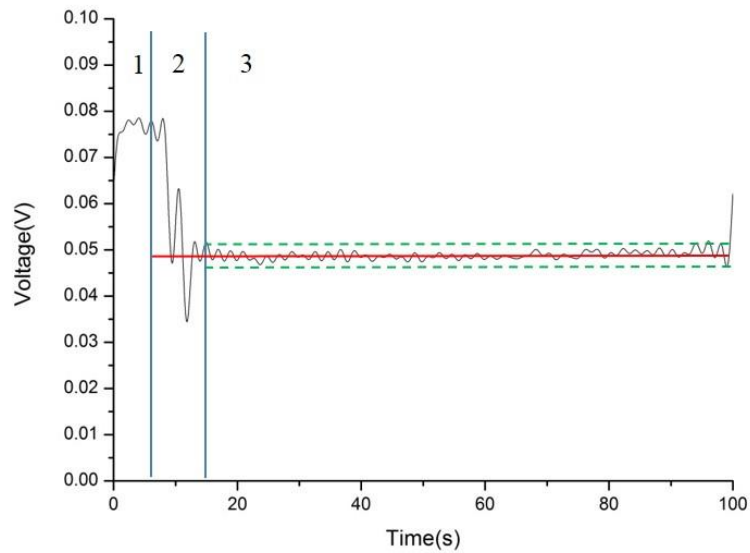


圖 4.5 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 1

圖 4.5：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 9.71 秒。

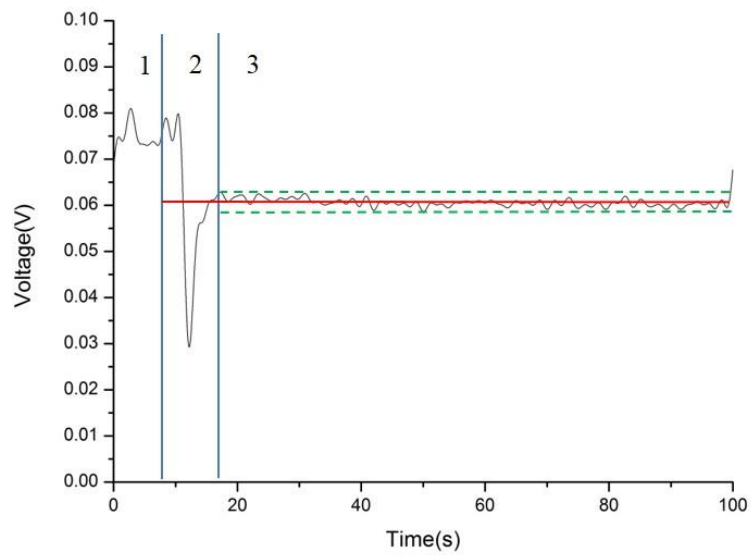


圖 4.6 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 2

圖 4.6：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 9.66 秒。

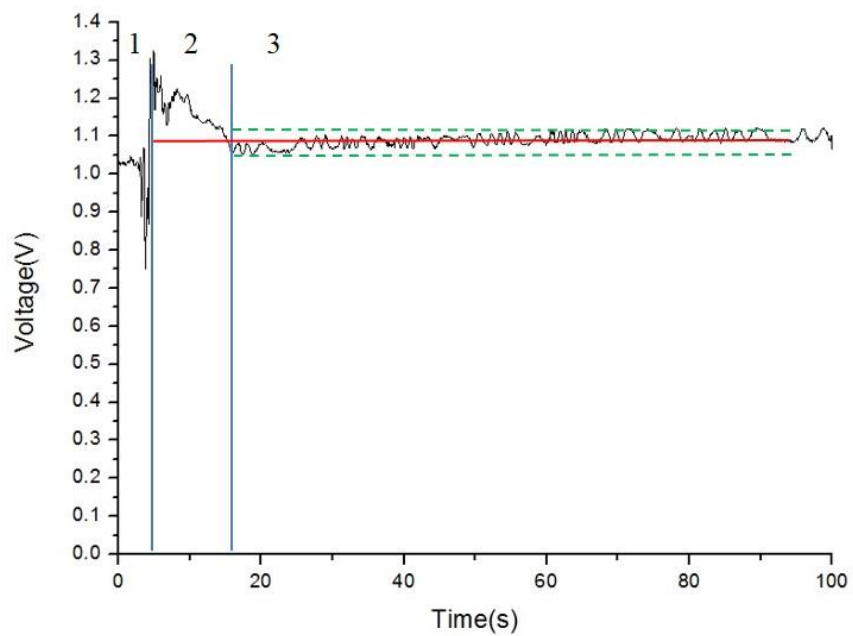


圖 4.7 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 1

圖 4.7：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 10.32 秒。

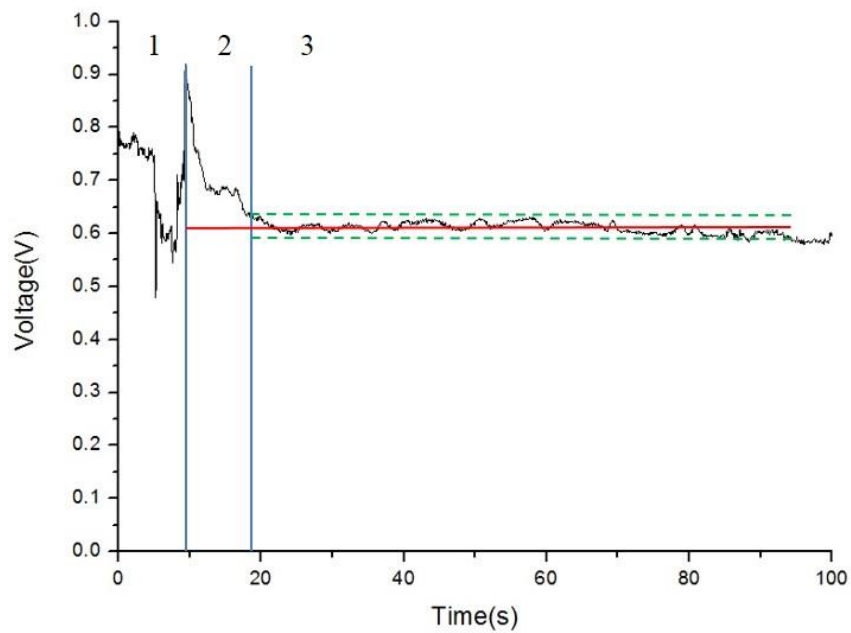


圖 4.8 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 2

圖 4.8：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 8.41 秒。

在穿透式檢測系統中，本論文實驗目前僅針對全血及全血加入凝血劑有以下初步的實驗結果。

- 1：將全血滴於載玻片上並放置試片乘載架構上
- 2：全血樣本開始凝血。
- 3：全血樣本血液凝固結束。

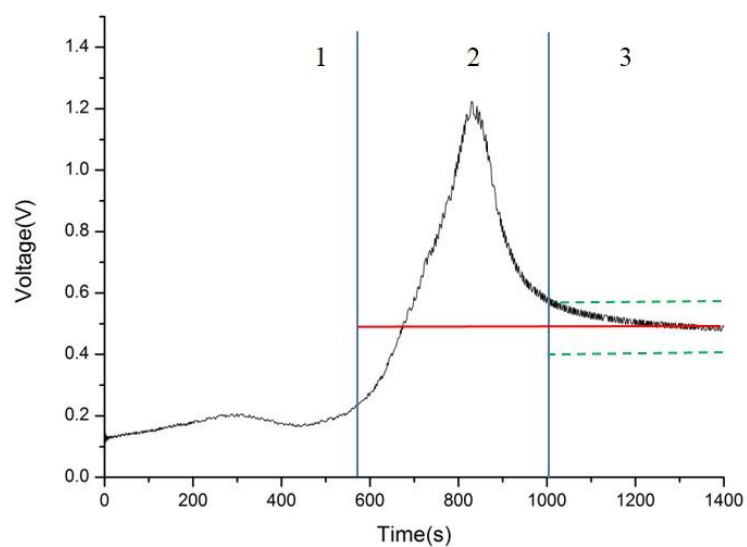


圖 4.9 全血使用穿透式檢測系統 1

圖 4.9：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1008 秒。

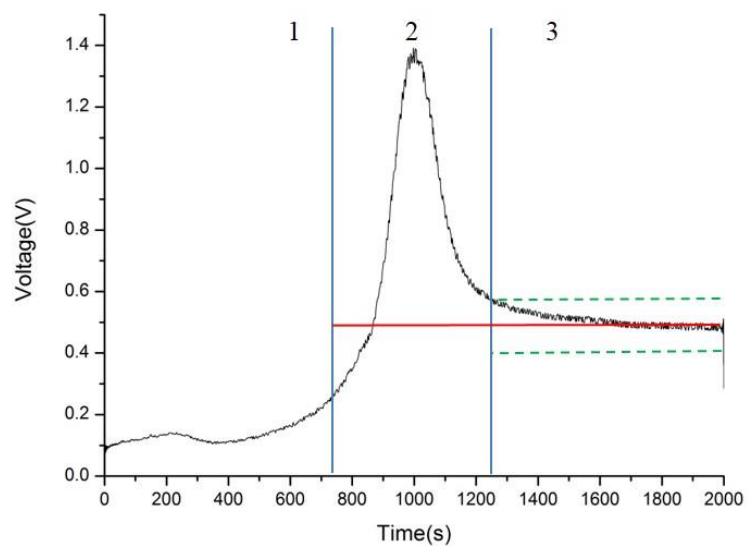


圖 4.10 全血使用穿透式檢測系統 2

圖 4.10：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1251 秒。

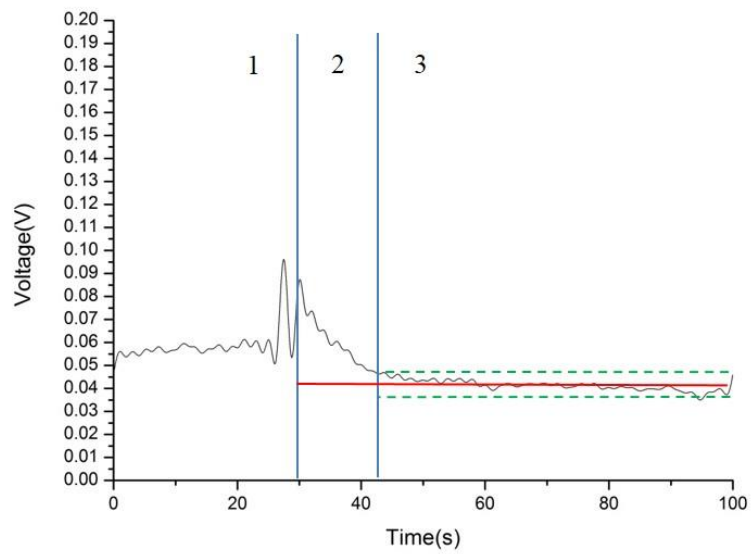


圖 4.11 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 1

圖 4.11：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 12.09 秒。

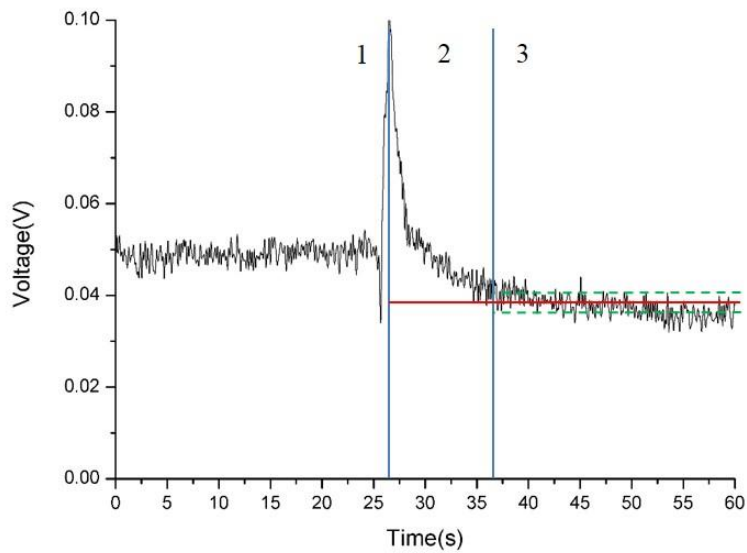


圖 4.12 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 2

圖 4.12：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 11.91 秒。

4-1-3 PDMS-T 型試片實驗結果

在反射式檢測系統中，本論文實驗目前針對全血、全血加入凝血劑及血漿加入凝血劑都有初步的實驗結果。

- 1：將全血滴於 PDMS-T 型試片上並放置反射鏡上。
- 2：全血樣本開始凝血。
- 3：全血樣本血液凝固結束。

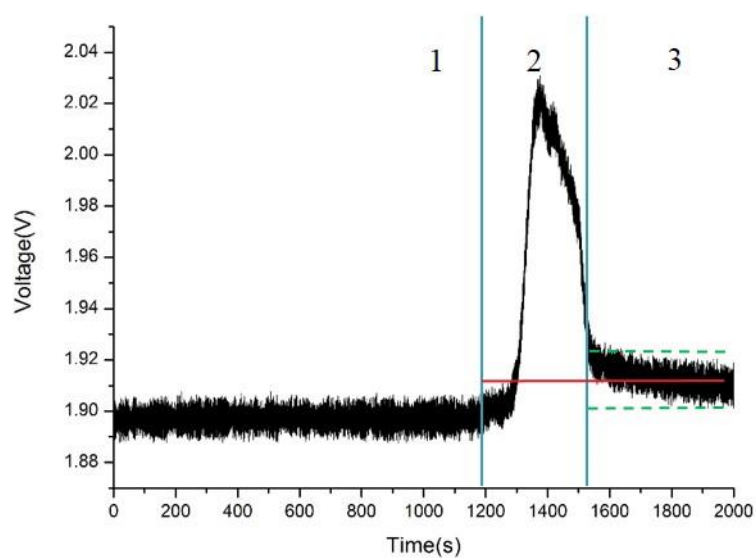


圖 4.13 全血使用反射式檢測系統 1

圖 4.13：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1519 秒。

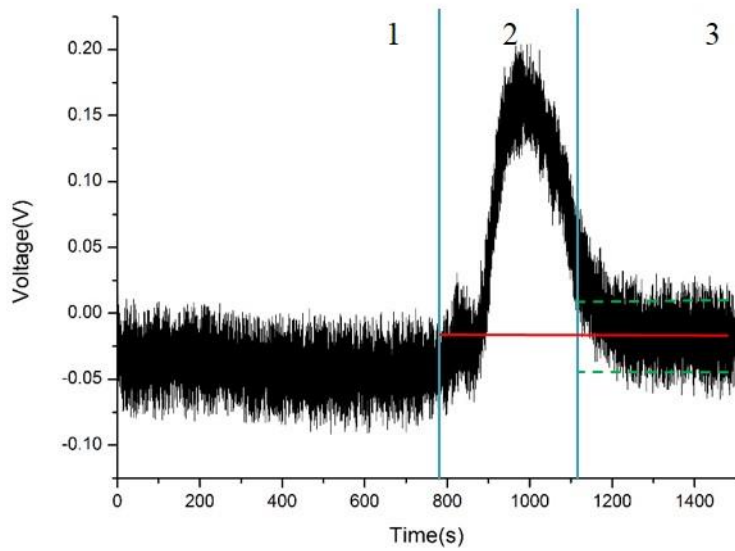


圖 4.14 全血使用反射式檢測系統 2

圖 4.14：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1113 秒。

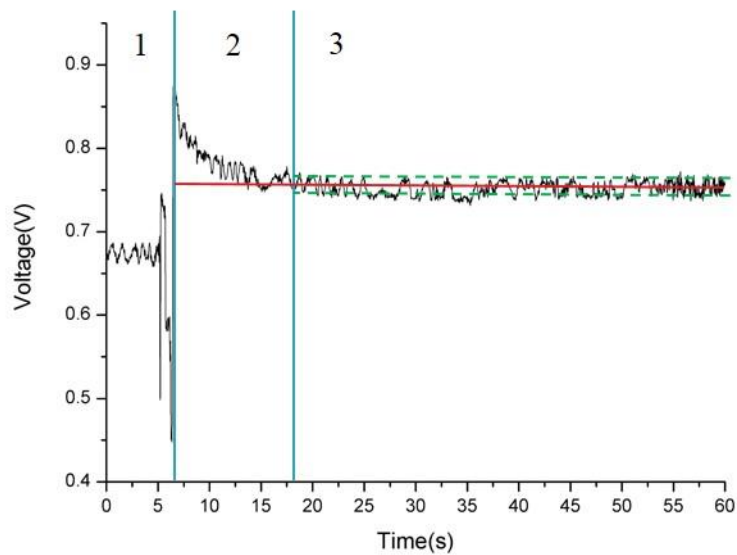


圖 4.15 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 1

圖 4.15：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 9.02 秒。

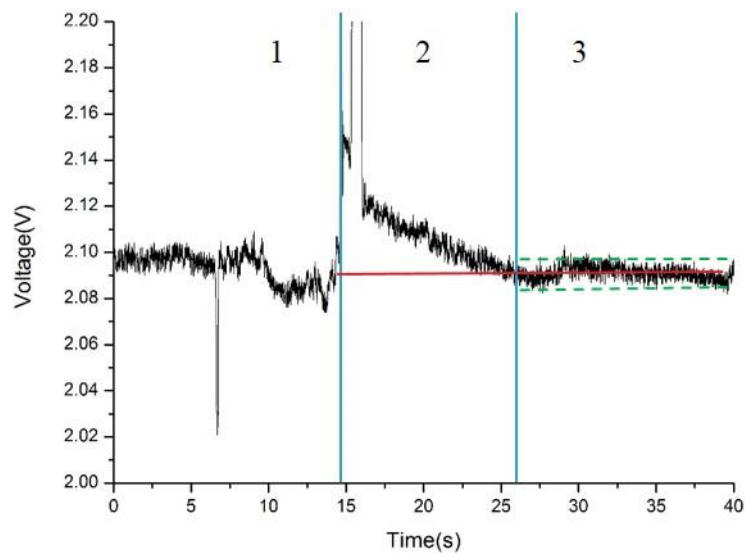


圖 4.16 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 2

圖 4.16：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 11.89 秒。

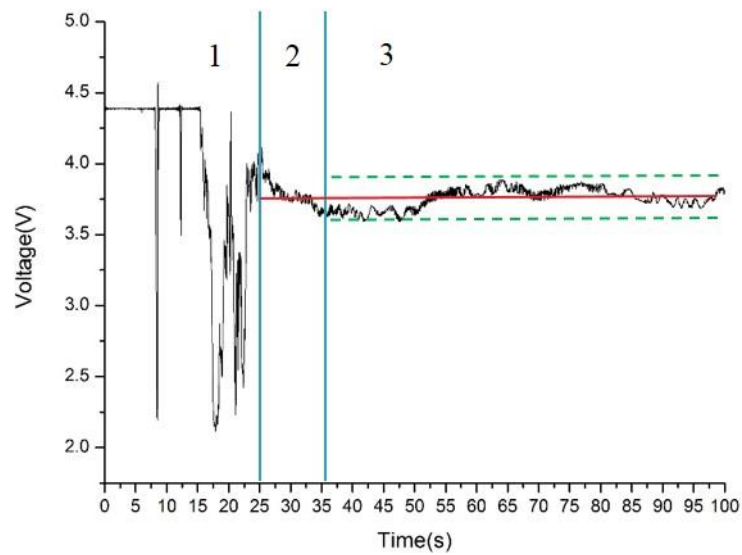


圖 4.17 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 1

圖 4.17：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 11.81 秒。

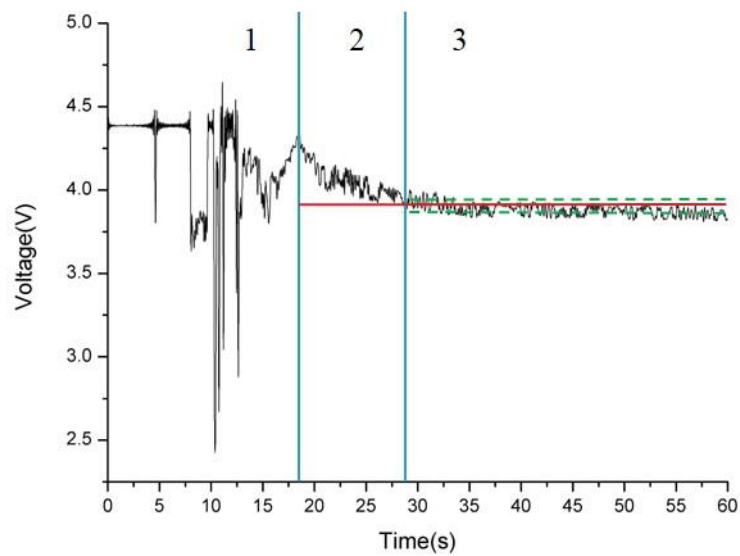


圖 4.18 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 2

圖 4.18：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 8.52 秒。

在穿透式檢測系統中，本論文實驗目前僅針對全血及全血加入凝血劑有以下初步的實驗結果。

- 1：將全血滴於 PDMS-T 型試片上並放置試片乘載架構上
- 2：全血樣本開始凝血。
- 3：全血樣本血液凝固結束。

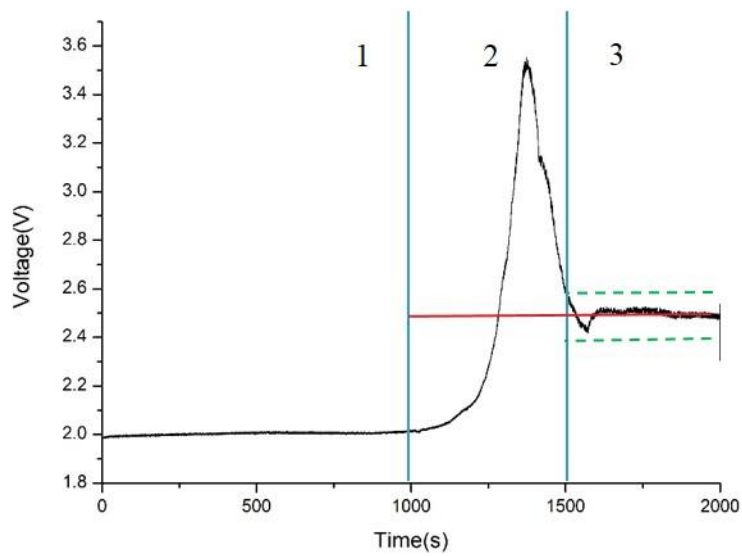


圖 4.19 全血使用穿透式檢測系統 1

圖 4.19：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1503 秒。

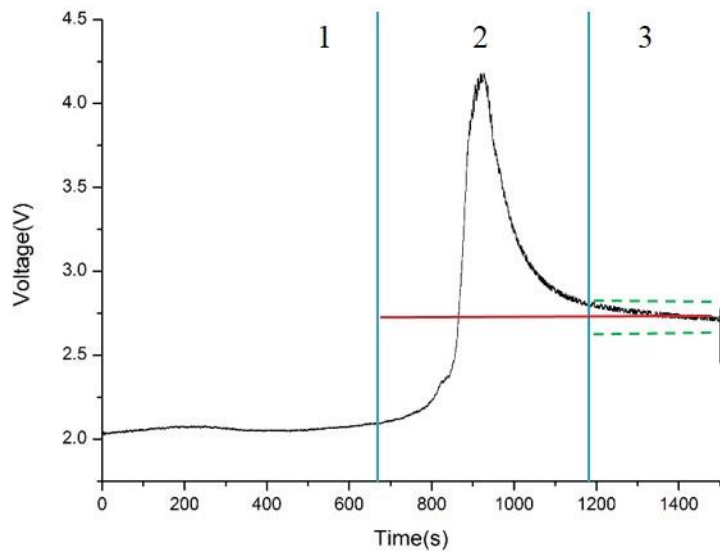


圖 4.20 全血使用穿透式檢測系統 2

圖 4.20：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1186 秒。

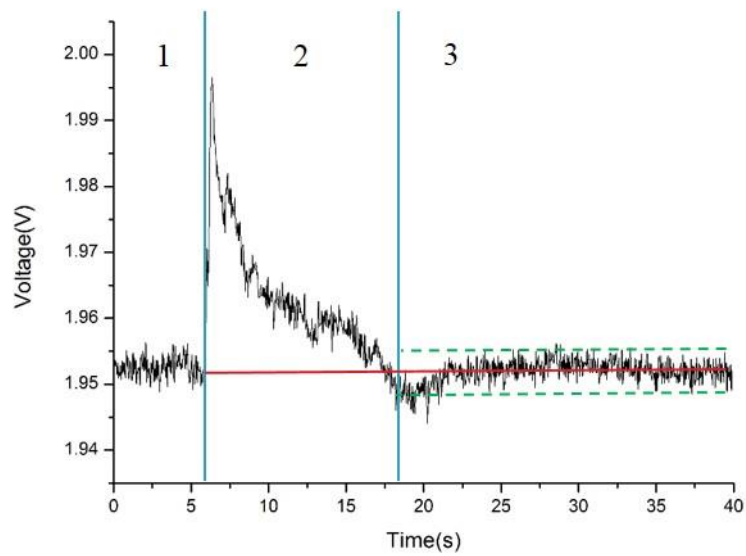


圖 4.21 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 1

圖 4.21：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 10.65 秒。

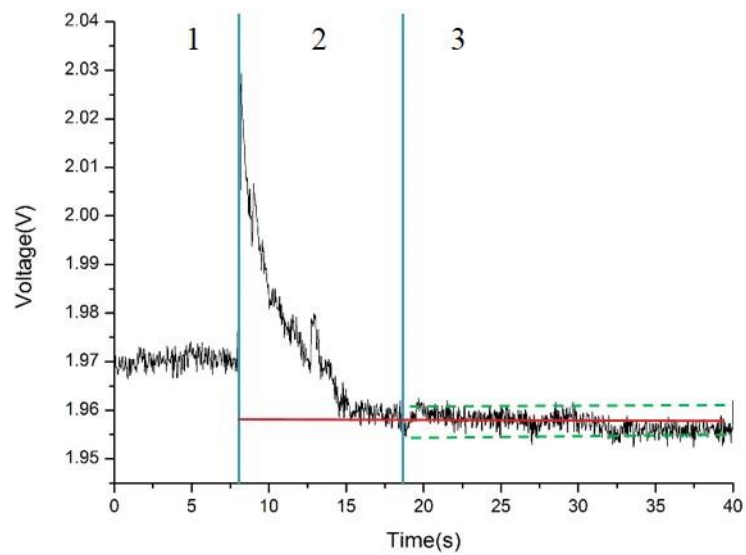


圖 4.22 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 2

圖 4.22：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 11.52 秒。

4-1-4 PDMS-圓型試片實驗結果

在反射式檢測系統中，本論文實驗目前針對全血、全血加入凝血劑及血漿加入凝血劑都有初步的實驗結果。

- 1：將全血滴於 PDMS-圓型試片上並放置反射鏡上。
- 2：全血樣本開始凝血。
- 3：全血樣本血液凝固結束。

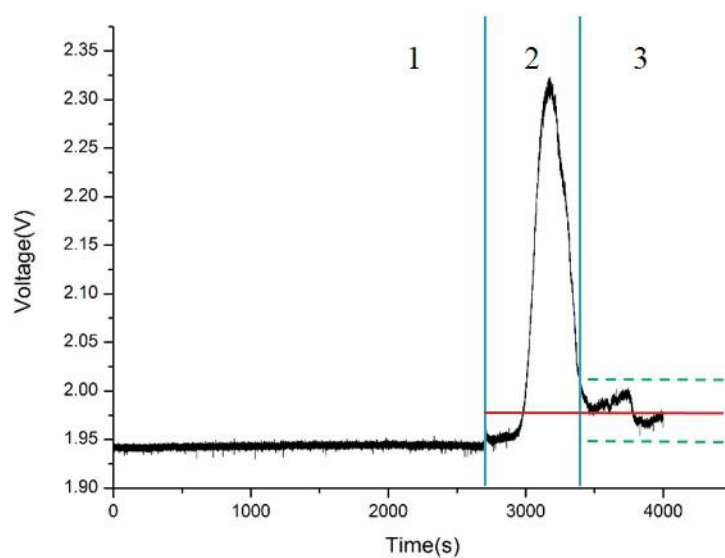


圖 4.23 全血使用反射式檢測系統 1

圖 4.23：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 3394 秒。

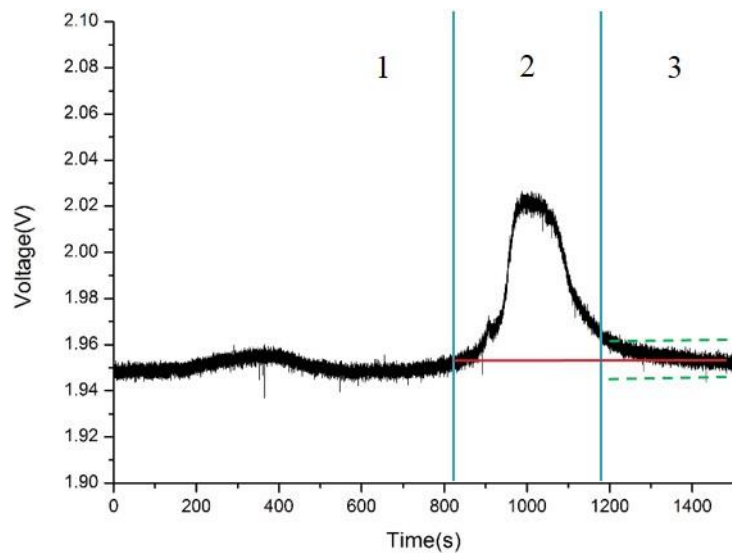


圖 4.24 全血使用反射式檢測系統 2

圖 4.24：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1185 秒。

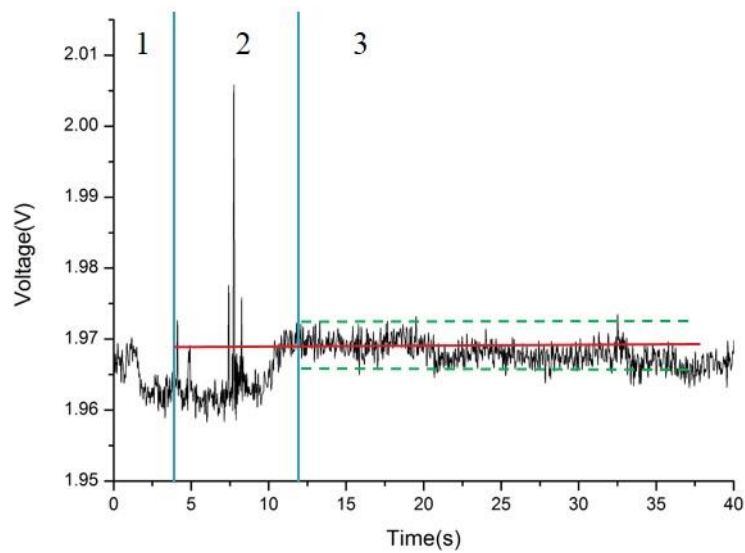


圖 4.25 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 1

圖 4.25：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 8.52 秒。

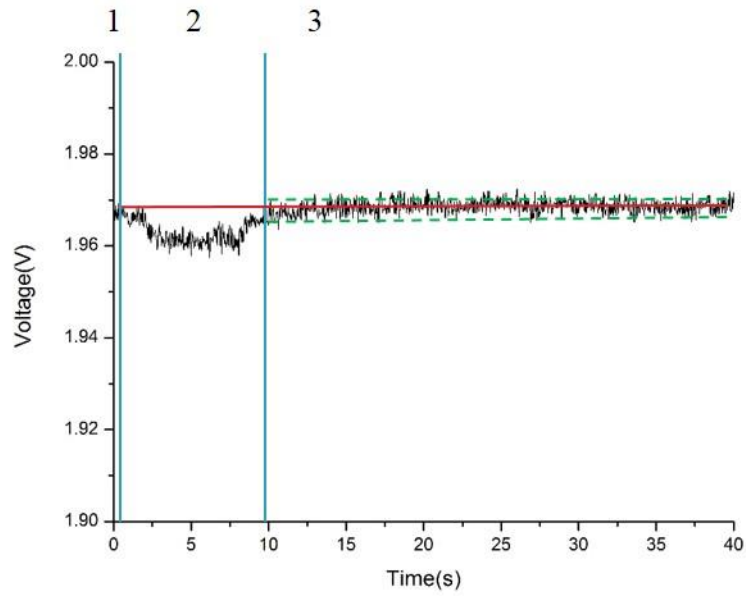


圖 4.26 全血加入凝血劑使用反射式檢測系統 2

圖 4.26：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 9.01 秒。

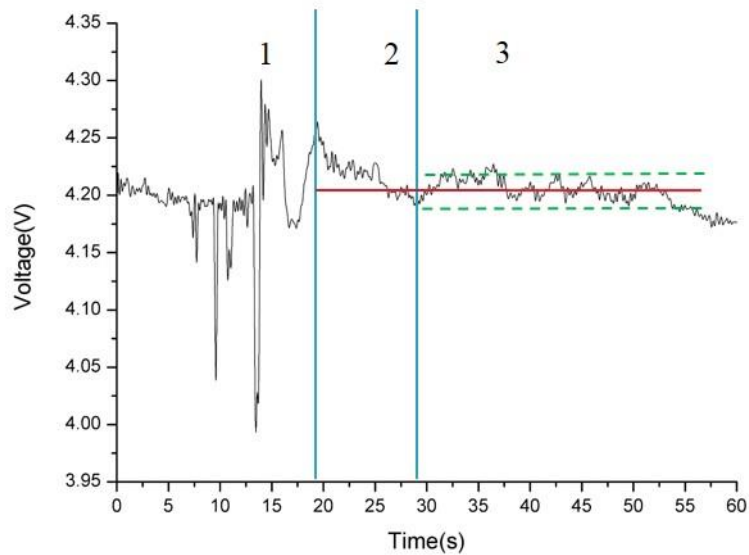


圖 4.27 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 1

圖 4.27：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 9.86 秒。

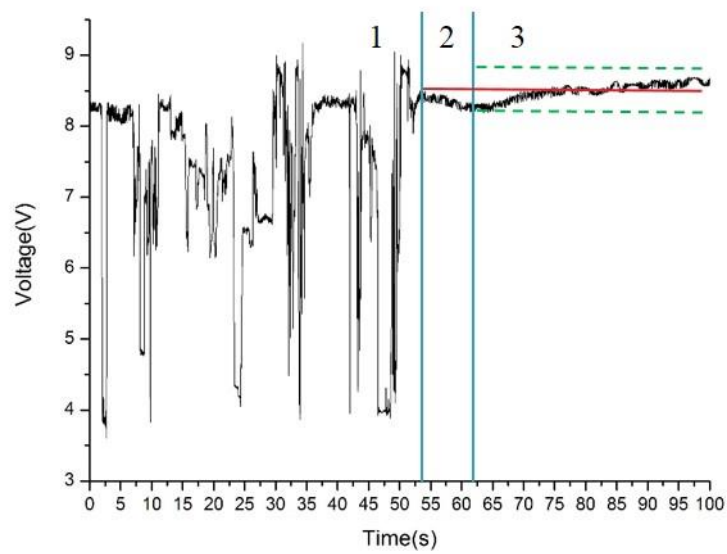


圖 4.28 血漿加入凝血劑使用反射式檢測系統 2

圖 4.28：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 10.24 秒。

在穿透式檢測系統中，本論文實驗目前僅針對全血及全血加入凝血劑有以下初步的實驗結果。

- 1：將全血滴於 PDMS-圓型試片上並放置試片乘載架構上
- 2：全血樣本開始凝血。
- 3：全血樣本血液凝固結束。

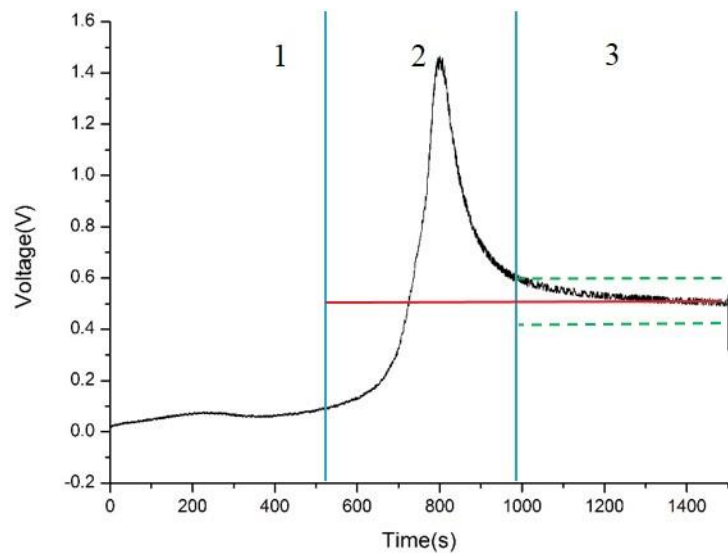


圖 4.29 全血使用穿透式檢測系統 1

圖 4.29：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 981 秒。

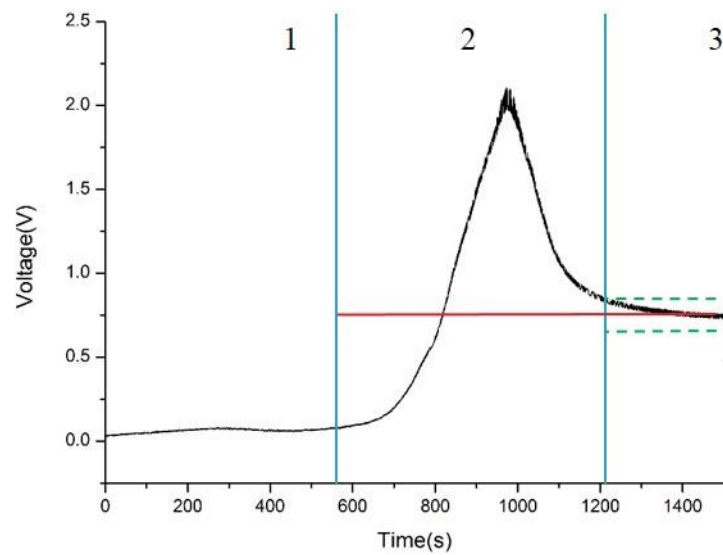


圖 4.30 全血使用穿透式檢測系統 2

圖 4.30：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血時間大約 1223 秒。

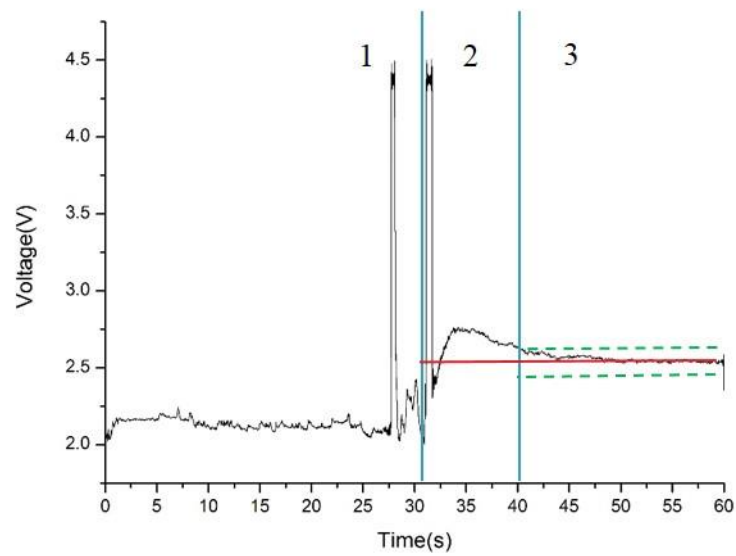


圖 4.31 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 1

圖 4.31：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 9.34 秒。

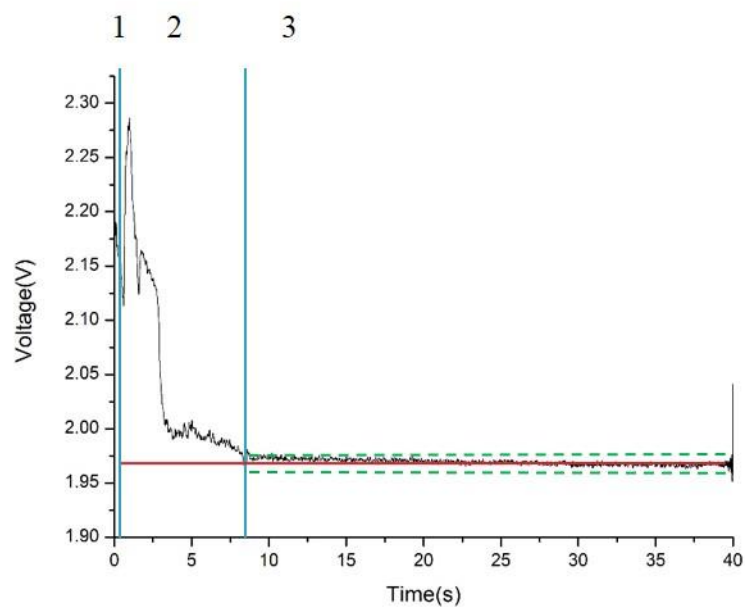


圖 4.32 全血加入凝血劑使用穿透式檢測系統 2

圖 4.32：x 軸為時間(s)，y 軸為電壓(V)，DAQ 卡擷取樣本 100 次/秒。此次凝血酶原時間大約 8.13 秒。

4-2 實驗結果討論

本論文實驗結果目前以反射式光學檢測系統及穿透式光學檢測系統呈現。藉由量測全血樣本的凝血時間及全血樣本的凝血酶原時間與血漿樣本的凝血時間做為比較。實驗一開始先將樣本放置在待測平台並用吸注器吸取凝血劑，以 1:2 的量 (樣本:凝血劑) 加入樣本中，使樣本開始產生血液凝固反應，透過光偵測器將光強度訊號轉換成電壓訊號，利用 DAQ 卡擷取訊號並繪出血液凝固動態曲線。

上述每一次實驗的曲線中皆可分為 3 個部分。第一部分為將樣本放置待測平台上，第二部分為血液凝血系統觸發，未加凝血劑的實驗其為內源性凝血路徑，所測得為凝血時間；有加凝血劑的實驗其為外源性凝血路徑，所測得的為凝血酶原時間。第三部分為凝血結束，光強度不再有變化。

圖 4.33 至圖 4.36 為實驗過程中的照片。



圖 4.33 全血注入 PDMS-T 型試片

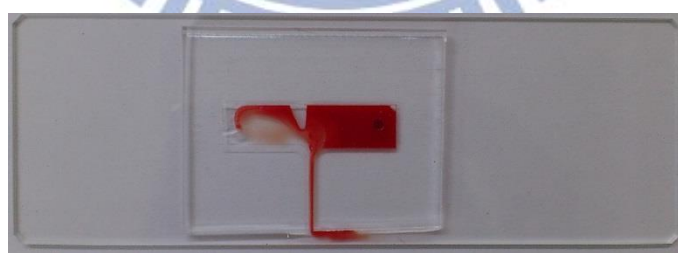


圖 4.34 凝血劑注入 PDMS-T 型試片

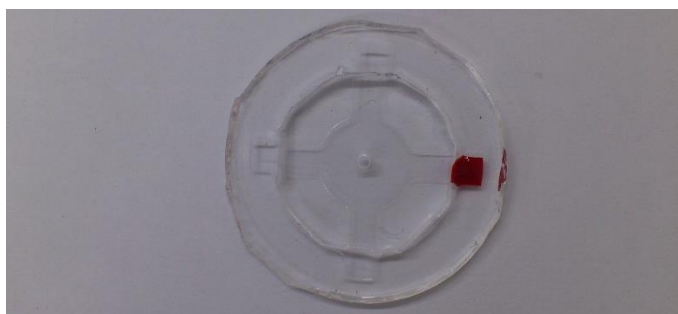


圖 4.35 全血注入 PDMS-圓型試片

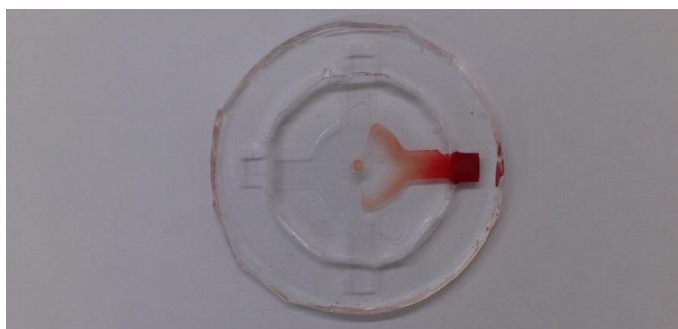


圖 4.36 凝血劑注入 PDMS-圓型試片

圖 4.33 及圖 4.35 為將待測血液樣本藉由吸注器注入 PDMS 試片的待測位置，並由注入孔一端注入凝血劑，如圖 4.34 及圖 4.36，使血液樣本開凝血已測得凝血酶原時間。藉由不同實驗方法及不同試片所測得的凝血酶原時間，介於 8 至 12.5 秒之間，本論文所使用的凝血劑 (Siemens Dade Innovin) 所測定的正常凝血酶原時間為 8 至 12 秒。表 4.1 為將其結果帶入 INR 公式 (2-4-5) 並算出其值 (取 $PT_{reference}$ 為 10 秒、ISI 為 1)，正常人之 INR 值介於 0.8 至 1.2 之間。

表 4.1 各實驗結果之 INR 值

試片種類	實驗方法	INR				
蓋玻片-載玻片	反射式-全血加入凝血劑	0.97	0.96	0.85	1.13	0.94
	反射式-血漿加入凝血劑	1.03	0.84	1.01	0.87	0.95
	穿透式-全血加入凝血劑	1.21	1.19	1.14	0.85	0.93
PDMS-T 型試片	反射式-全血加入凝血劑	0.90	1.19	1.08	0.85	0.90
	反射式-血漿加入凝血劑	1.18	0.85	1.12	1.07	0.95
	穿透式-全血加入凝血劑	1.07	1.15	1.03	0.94	0.85
PDMS-圓型試片	反射式-全血加入凝血劑	0.85	0.90	1.09	0.82	0.96
	反射式-血漿加入凝血劑	0.99	1.02	1.10	1.14	1.07
	穿透式-全血加入凝血劑	0.93	0.81	1.00	0.91	0.88

本論文針對每種實驗方法皆量測 20 次，並統計實驗成功率，如表 4.2。

表 4.2 各實驗方法之成功率

試片種類	實驗方法	成功率
蓋玻片-載玻片	反射式-全血加入凝血劑	90%
	反射式-血漿加入凝血劑	80%
	穿透式-全血加入凝血劑	70%
PDMS-T 型試片	反射式-全血加入凝血劑	85%
	反射式-血漿加入凝血劑	75%
	穿透式-全血加入凝血劑	65%
PDMS-圓型試片	反射式-全血加入凝血劑	80%
	反射式-血漿加入凝血劑	80%
	穿透式-全血加入凝血劑	65%

由表 4.2 可知，所有實驗呈現出的結果成功率皆大於六成，其中三種不同試片又以蓋玻片-載玻片的實驗成功率較高，其原因為玻璃表面透光度高且較為平整，不容易有散射光產生。

全血樣本加入凝血劑的實驗方法比血漿樣本加入凝血劑的實驗方法的成功率較高，主要原因為全血樣本之光吸收率高於血漿樣本，高的光吸收率使動態曲線變化明顯，更易於判讀結果。

穿透式光學檢測系統成功率較低主要為穿透式光學檢測系統只穿透一次樣本而反射式光學檢測系統穿透樣本兩次，因此反射式光學檢測系統凝血前後動態曲線差異較大，不會被雜訊蓋過，故本論文所用的反射式光學檢測系統優於穿透式光學檢測系統。

此外，本結果並未顯示穿透式光學檢測系統檢測血漿加入凝血劑，其原因即為血漿及凝血劑的透光率遠高於全血樣本，故光偵測器所匯出的動態曲線不易判別出凝血酶原時間，因此使用穿透式系統檢測血漿樣本凝血酶原時間不可行。

表 4.3 各試片之優缺點

	蓋玻片-載玻片	PDMS-T 型試片	PDMS-圓型試片
優點	<ul style="list-style-type: none"> 方便滴定樣本 成功率高 	<ul style="list-style-type: none"> 樣本定量準確 減少外界接觸 	<ul style="list-style-type: none"> 樣本需求量低 待測區位置準確
缺點	<ul style="list-style-type: none"> 血液不易定量 血液表面張力影響過大 試片成本高於 PDMS 	<ul style="list-style-type: none"> 表面易有髒汙難去除 無明顯待測區定位 	<ul style="list-style-type: none"> 成功率較差 製作時間久
成功率	高(90%)	低(85%)	低(80%)
試劑量	多(20 μ l)	少(10 μ l)	最少(<5 μ l)

由表 4.3 可知，蓋玻片-載玻片雖然成功率高，但是有定量、定位的問題，故本論文製作 PDMS 試片，以達到極低的抽血量，加上微流道引導，使雷射光點精準穿透凝血劑及血液接觸點，正確量測到凝血點。

第五章 結論與未來展望

本論文研究目的為使用反射式光學檢測技術為基礎，建立一套全血樣本凝血檢測平台，並且能以低抽血量、即時、靈敏為目的，檢測出血液凝血酶原時間，並分別對不同試片及不同檢測方法做進一步的探討，以便往後研究參考。

5-1 結論

1. 本論文研究設計一反射式光學檢測技術平台，藉由凝血劑觸發全血樣本外源性凝血路徑的凝血機制，使纖維蛋白原轉換為不可溶性纖維蛋白，並使用高靈敏度的光偵測器偵測出凝血動態曲線，判讀血液凝血酶原時間。
2. 本論文研究藉由不同試片種類（蓋玻片-載玻片、PDMS-T 型試片、PDMS-圓型試片），分別探討其對實驗結果影響，並且推斷出 PDMS 試片較適用於全血樣本及血漿樣本的凝血檢測。
3. 參考文獻資料，設計一穿透式光學檢測系統，做為實驗參照，由實驗結果得知，反射式與穿透式檢測系統皆可實現凝血檢測，然而，不同之處在於，反射式系統皆適用於任一試片及樣本，而穿透式實驗無法達成血漿檢測，因此本論文使用反射式系統做為檢測基礎平台。
4. 本論文研究使用的反射式光學檢測系統及 PDMS 試片具有微小化、低成本、即時性與低抽血量等特性，提供市場一檢測技術，進而實現家庭普及化，使病患能夠自主管理凝血機制是否正常。

5-2 未來展望

1. 由於目前檢測凝血酶原時間皆以人為操作判定作為依據，設計軟體人機介面，自動判定凝血酶原時間，可使凝血酶原時間更為精準。
2. 未來研究將 PDMS-圓形試片搭配馬達控制旋轉，以離心力做為血液樣本流動之驅動力，使血液樣本流至四個待測區域，並與凝血劑混合，產生四條凝血動態曲線於同一樣本，以提升實驗準確度。
3. 本論文研究所使用的全血樣本數不夠多，故未來可與生醫實驗室或醫院合作增加臨床實驗，並可深入探討全血樣本的凝血特性，使本論文的反射式光學檢測系統泛用於各種凝血時間測量。
4. 未來若搭配微型化光學模組，整體機電硬體系統整合，可使系統輕量化，完整性及強健性，邁向生醫檢測領域一套完善的微凝血檢測儀為目標。



第六章 參考文獻

1. Isabelle Gouin-Thibault, Meyer M. Samama, “Laboratory Diagnosis of the Thrombophilic State in Cancer Patients”, Thieme Medical Publishers, Inc., 10.1055/s-2007-994918, 2007
2. Meyer Friedman, M.D.; Ray H. Rosenman, M.D., “Association of Specific Overt Behavior Pattern with Blood and Cardiovascular Findings Blood Cholesterol Level, Blood Clotting Time, Incidence of Arcus Senilis, and Clinical Coronary Artery Disease”, Journal of the American Medical Association, 169(12), 1286-1296, 1959
3. Rajzer M., Undas A., Wojciechowska W., Kameczura T., Kawecka-Jaszcz K., “Fibrin Clot Properties in Arterial Hypertension and Their Modification By Antihypertensive Treatment: 2B.01”, Journal of Hypertension, June 2011 - Volume 29 - Issue - p e23, 2011
4. Michael S. Lee, Varinder Singh, Salvatore Rametta, Tom Nero; Marshal Fox, James R. Wilentz, “Diabetics achieve lower activated clotting time when given the same dose of heparin as nondiabetics during percutaneous coronary intervention FREE”, Journal of The American College Of Cardiology, 41(6s1):12-12, 2003
5. Yann Piederre`re, Jack Cariou, Yves Guern, Guy Le Brun “Evaluation of blood plasma coagulation dynamics by speckle analysis” Journal of Biomedical Optics 9(2), 408–412, March/April 2004
6. Magalie Faivre, Philippe Pelti ´e, Anne Planat-Chr ´etien, Marie-Line Cosnier, Myriam Cubizolles, Christophe Nougier, Claude N ´egrier, Patrick Pouteau, “Coagulation dynamics of a blood sample by multiple scattering analysis”, Journal of Bio. Opt., Vol. 16 (5), 2011
7. Vyacheslav Kalchenko, Alexander Brill, Michael Bayewitch Ilya Fine, Vladimir Zharov, Ekaterina Galanzha, Valery Tuchin, Alon Harmelin, “In vivo dynamic light scattering imaging of blood coagulation”, Journal of Biomedical Optics 12(5), 052002, September/October 2007

8. Kenny M. Hansson a, Knut Johansen, Jonas Wetterö, Goran Klenkar, Johan Benesch, Ingemar Lundström, Tomas L. Lindahl, Pentti Tengvall, “Surface plasmon resonance detection of blood coagulation and platelet adhesion under venous and arterial shear conditions”, *Biosensors and Bioelectronics* 23 (2007) 261–268, 16 April 2007
9. Duo Lin, Shangyuan Feng, Jianji Pan, Yanping Chen, Juqiang Lin, Guannan Chen, Shusen Xie, Haishan Zeng and Rong Chen, “Colorectal cancer detection by gold nanoparticle based surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum and statistical analysis”, *Opt. Exp.*, vol. 19, no. 14, 2011
10. Po-Chien Chou, Yu-Cheng Lin, and Stone Cheng, “Enhancement of Optical Adaptive Sensing by Using a Dual-Stage Seesaw-Swivel Actuator with a Tunable Vibration Absorber”, *Sensors* 11, 4808-4829, 2011
11. 張詠銘, 黃崧任, “Investigation of Micro Blood Coagulation Bio-Chip”, 國立中正大學, 1 June 2006
12. J. Homola, S.S. Yee and G. Gauglitz, “Surface plasmon resonance sensors: review,” *Sensors and Actuators B* 54, pp.3-15, 1999
13. Trine P. Vikinge, Kenny M. Hansson, Johan Benesch, Knut Johansen, Mats Rånby, Tomas L. Lindahl, Bo Liedberg, Ingemar Lundström and Pentti Tengvall, “Blood plasma coagulation studied by surface plasmon resonance,” *J. of Bio. Opt.* 5 (1), pp.51–55, 2000
14. K.M. Hansson, T.P. Vikinge, M. Rånby, P. Tengvall, I. Lundström, K. Johansen and T.L. Lindahl, “Surface plasmon resonance (SPR) analysis of coagulation in whole blood with application in prothrombin time assay,” *Biosensors and Bioelectronics* 14, pp.671–682, 1999

15. T. P. Vikinge, K. M. Hansson, P. Sandström, B. Liedberg, T. L. Lindahl, I. Lundström, P. Tengvall and F. Höök, "Comparison of surface plasmon resonance and quartz crystal microbalance in the study of whole blood and plasma coagulation," *Biosensors & Bioelectronics* 15, pp.605-613, 2000
16. A.V. Hoffbrand, J.E. Pettit, "Essential Hematology 6th", Wiley, March 2011
17. American Association for Clinical Chemistry, In Lab Tests Online, Retrieved from <http://labtestsonline.org/>
18. Hsu Chia Chung, Aug 2008, In Platelet Perspectives, Retrieved from http://www2.edah.org.tw/cp/study/02_970827hemostasis.pdf
19. T.-J. Cheng, H. C. Chang and T. M. Lin, "A piezoelectric quartz crystal sensor for the determination of coagulation time in plasma and whole blood," *Biosensors & Bioelectronics*, vol.13, no.2 pp.147-156, 1998
20. S.O.Kasap, "Optoelectronics and Photonics Principles and Practices", 全威圖書有限公司, September 2003
21. Eugene Hecht, "Optics fourth edition International edition", Addison Wesley, 2002
22. Xiangqun Xu, Jia Lin, and Feifei Fu Zhejiang Sci-Tech University, School of Science, Hangzhou 310018, China "Optical coherence tomography to investigate optical properties of blood during coagulation" *J. Biomed. Opt.* 16(9), 096002, September 02, 2011
23. Xiangqun Xu, Jia Lin, and Feifei Fu Zhejiang Sci-Tech University, School of Science, Hangzhou 310018, China "Evaluation of whole blood coagulation process by optical coherence tomography", *Optics in Health Care and Biomedical Optics IV*, 784508, November 08, 2010

24. Duo Lin, Shangyuan Feng, Jianji Pan, Yanping Chen, Juqiang Lin, Guannan Chen, Shusen Xie, Haishan Zeng and Rong Chen, "Colorectal cancer detection by gold nanoparticle based surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum and statistical analysis", *Opt. Exp.*, vol. 19, no. 14, 2011
25. Şahin Kaya Özdemir, Shigenobu Shinohara, Sotetsu Takamiya, Hirofumi Yoshida, "Noninvasive blood flow measurement using speckle signals from a self-mixing laser diode: in vitro and in vivo experiments", *Opt. Eng.* 39 (9), 2574–2580, 2000

