

# 檢測試片於長照方面之應用

## Development of Diagnostic Devices Applied in Long-term Care

王玟心、傅筠、鄭兆珉

Wen-Hsin Wang, Yun Fu, Chao-Min Cheng

在人口結構快速老化的情況下，長期照顧成為現今相當重要的議題之一，但在預算及照顧服務員（簡稱照服員）有限的情況下，即便中央及地方政府大力推動相關政策，能夠照顧到的對象仍遠不及所需民眾。因此若能將檢測試片帶入長期照顧的範疇中，不僅能降低長期照顧所需的龐大經費，也能增加照服員照顧時的便利性，使照服員能夠快速且準確的了解每個被照顧者當下的身體狀況及所需的服務與照顧。

In the rapidly aging population structure, long-term care has become one of the most important topics to date. However, with a limited budget and staff attendance, even the central and local governments are making vigorous efforts to promote relevant policies, they are still far behind the people needed. Therefore, if the test strip can be brought into the field of long-term care, it not only can reduce the huge expense required for long-term care but also increase the convenience of the caretaker so that the attendant can quickly and accurately understand the current physical condition and the services required of each patient.

### 一、什麼是「長照」？

「長期照顧是對失能長輩及身心功能障礙（不全、失能或殘障）者，提供一套包含長期性醫療、保健、護理、生活、個人與社會支持之照護，以改善、維持或恢復他們的正常生活。」（新竹市長期照顧管理中心<sup>(1)</sup>）。

長照一直以來是一項重要的社會議題，隨著臺灣人口結構老化，將從高齡化社會邁入高齡社會，並估計在 2026 年進入超高齡社會階段，長期照顧變成刻不容緩、急需解決的社會問題。

在 2007 年中央政府開始推動長照政策，行政院核定《長期照顧十年計劃》，即是「長照

1.0」，其服務內容為提供日常生活功能受損的失能老人及其家庭實物或經濟上的幫助，主要可分為兩大類：機構式社區服務及居家服務，其中包含照顧服務（居家服務、日間照顧、家庭托顧）、居家護理、社區及居家復健服務、喘息服務、交通接送、輔具提供及無障礙環境修繕、營養餐飲、機構服務等八大項長照服務。

但在臺灣人口快速老化，資格限制、服務項目限制及照服員缺乏的情況下「長照 1.0」已然無法提供大眾健全的長期照顧服務。

2016 年中央政府為因應此問題提出「長照 2.0」政策，「長照 2.0」改善了「長照 1.0」中預算不足及限制過多的問題，且擴展了服務範圍，包

含擴大服務對象、增加服務項目、服務提供單位掛牌、核銷規定鬆綁等四大重點，希望能夠提供更完善的長期照顧服務。

長期照顧服務對象大多是失能、失智或身心功能障礙者，這些患者大多無法精準表達自己的目前的身體狀況及所需的醫療照顧，當生醫工程中的「重點照顧診斷 (point-of-care testing)」技術帶入長期照顧時，能夠輔助照服員及醫療人員快速了解病患目前的狀況，進而提供相對應的醫療協助及照顧。

## 二、重點照顧診斷 (Point-of-care Testing, POCT)

「重點照顧診斷」是指在任何地方都可以對病患執行的一種診斷方式，省去來回醫院或實驗室的時間、節省專業診斷人員的時間及等待實驗結果的時間，降低每次診斷所需的費用，讓病患或地方的醫務人員可以即時即地的得知診斷結果，這種診斷方式源自於醫療人員到府診療的服務。而「重點照顧診斷設備」就是結合上述特質的診斷設備，隨著生醫工程技術的發展，現今已有許多可攜式的診斷設備，讓患者可以自行檢測並判讀結果，常見的重點照顧診斷設備有：血糖機、驗孕棒、廣用試紙等。(2-4)

一個好的重點照顧診斷設備需要具備幾種特質：價格可負擔、使用好上手、具有穩定的靈敏度與專一性及快速得知結果。因此在研發時必須注意是否符合這幾項特質。

我們將介紹重點照顧診斷設備中的生醫檢測試片，這項技術是用一特殊檢測試片 (材料常以塑膠、紙為主)，利用材料間不同的親疏水性的特性互相搭配，設計出想要的檢測流道或區域，因檢體 (血液、尿液、淚液等) 常為液態，因此在設計時檢測區應為親水性材料，區域外圍則使用疏水性材料讓檢體只在檢測區內流動。

製造及使用的方式如下：在檢測區上修飾與待測物相對應的化學物質或抗體後，將檢體放在指定區域上，檢體內的待測物會與化學物質或抗體結合並產生反應，待反應後我們可以藉由測定物質變化

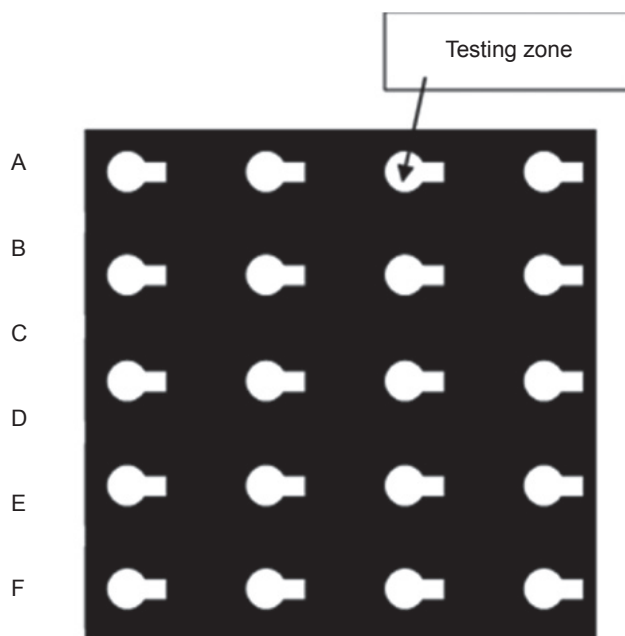


圖 1. 蠟印流道示意圖。黑色區域用黑色蠟塊蠟印出來，經適度烘烤後會形成疏水區，中間白色區域為親水區，為檢體放置區。

量，例如：顏色變化，判斷檢體內待測物的有無或是含量。

生物醫學工程研究中包括以紙基材料製成的重點照顧診斷試片，因紙的親水性可讓檢體均勻流動在親水區，而紙的多孔性可將目標蛋白或抗體固定在檢測區待後續標記抗體定量 (圖 1)，所以只要利用紙的親水性與多孔性，配合蠟印表機將設計好的流道蠟印製在紙上 (圖 2) 後進行適度的烘烤，便可快速且低成本的製造紙基檢測試片。此實驗技術主要使用 Whatman Grade No.1 定性濾紙，不同等級的定性濾紙擁有不同的孔徑大小及厚度，可根據不同的檢測目標更換不同等級的濾紙，也可依不同檢測需求印製在不同大小或不同的紙基材料上 (圖 3)。以下將介紹紙基檢測試片在長期照護的應用實例。

## 三、尿布檢測貼片

紙基檢測試片是以化學指示劑或酵素與檢體中待測物結合後產生肉眼可見的顏色變化得知檢測結果。我們先在紙基檢測試片上加入與待測物相對應的化學指示劑，檢體流經指定區域時會產生顏色變

紙基材料放至蠟印機



利用電腦軟體列印出蠟印孔盤



蠟印出不同圖型

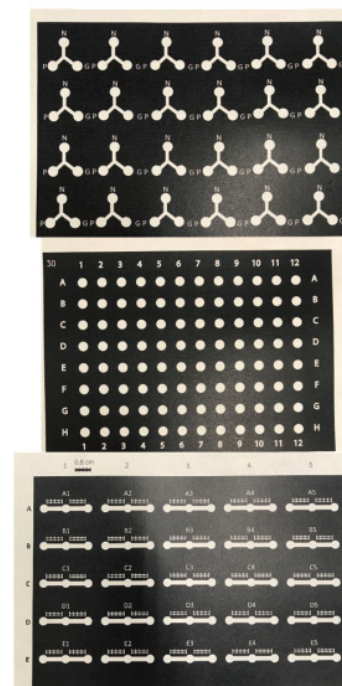


圖 2. 紙基材料蠟印流程。

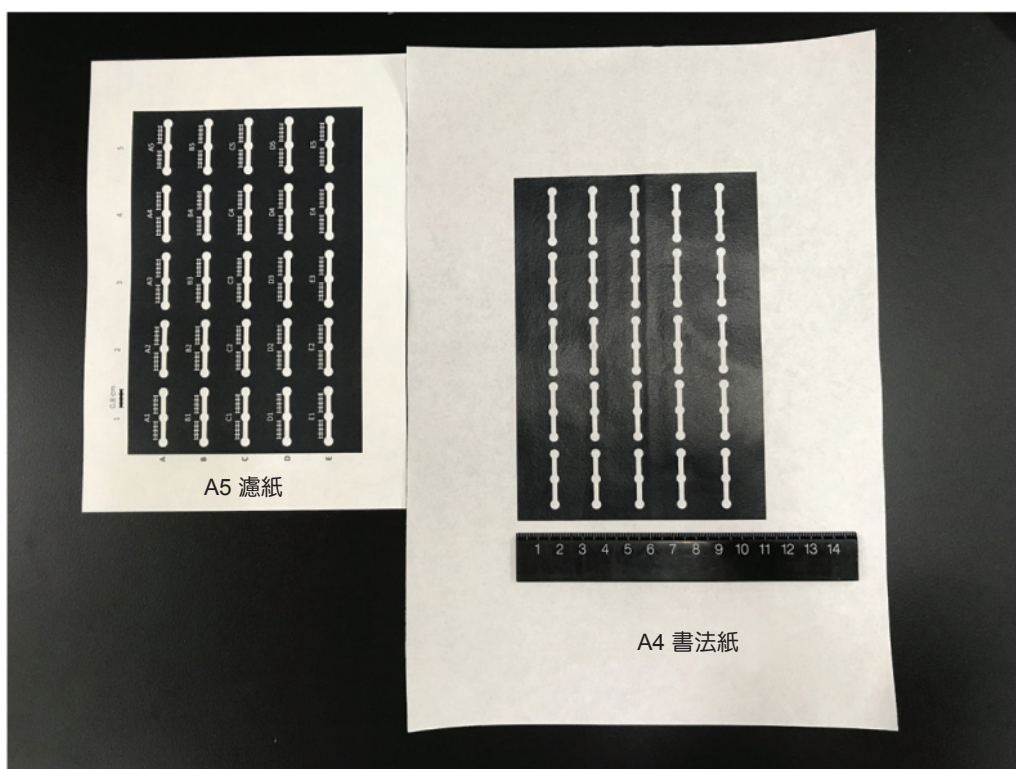


圖 3. 不同大小及不同紙基材料的檢測試紙。

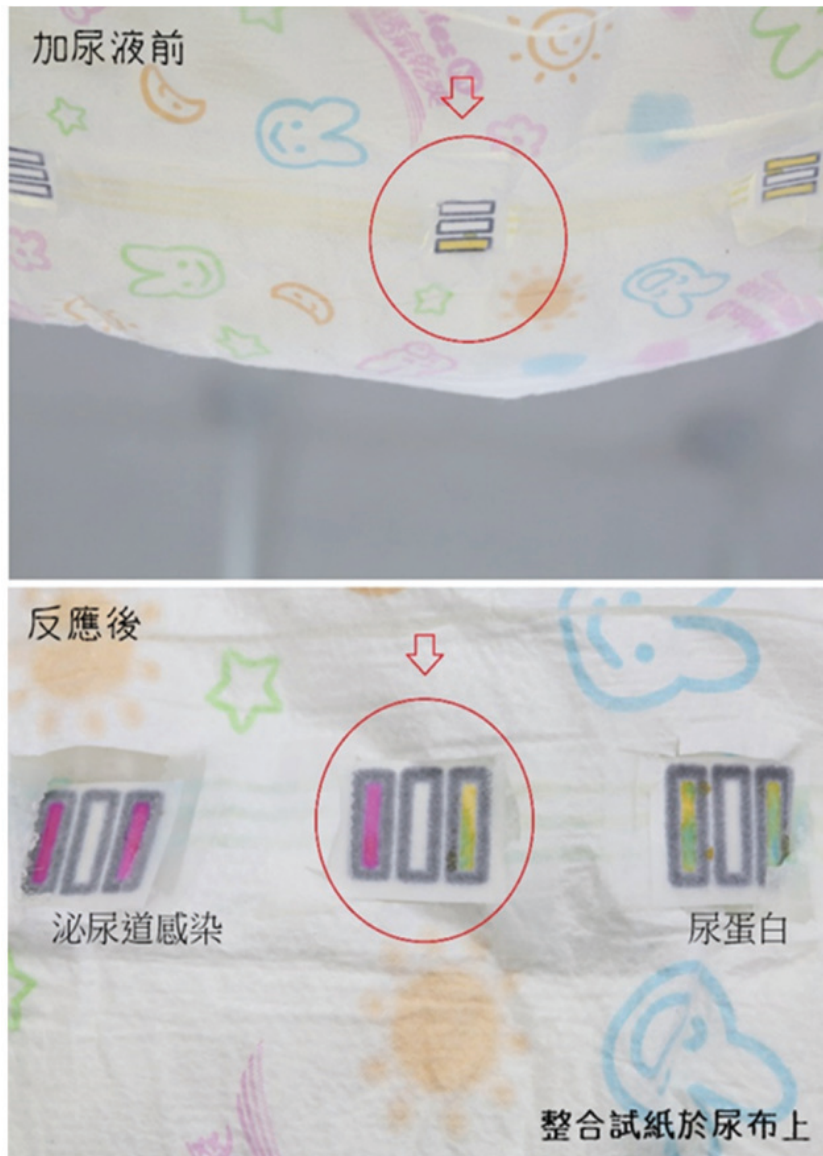


圖 4. 尿布檢測貼片實際圖；詳見中時電子報 (2015.11.13)。

化，根據化學指示劑與檢體結合後產生的顏色變化程度，我們可以知道待測物的含量或有無。

紙基檢測試片應用於長期照顧的實例為尿布檢測貼片 (圖 4)。泌尿道感染的盛行率隨著年齡的增加而升高，老年泌尿道感染的症狀通常不典型或是不明顯，故時常無法單以臨床症狀而診斷泌尿道感染，必須經由尿液分析才能確診。

許多居家護理長者或長期照護機構住民有泌尿道感染的問題，因機構中長照對象多半有失智或失能的情形，生活無法自理，需長期依賴照顧者。然而因居家護理長者的照顧者繁忙或機構內看護比嚴

重失衡，照顧上往往無法面面俱到，且因這些長者大多行動不便，無法定期前往醫院做身體檢查，若有泌尿道感染的問題，因症狀不典型或不明顯，在無法明確表達身體不適的狀況下，照顧者常常沒有發現長者泌尿道感染的問題，錯失治療先機。若平時就能簡單的做尿液檢測便可早期發現泌尿道感染的情形，降低感染惡化的風險，此外也可以藉由尿液檢測監控住民身體狀況，早期診斷相關疾病。

在這樣的條件下，我們研發出可以檢測尿液 pH 值、尿蛋白、葡萄糖、膽紅素、膽素原、潛血、亞硝酸鹽、酮體等物質的尿液檢測試片 (表 1)，

表 1. 常見尿液檢測項目。

檢測項目	檢測指示劑	檢測結果
pH 值	Resazurin, Bromothymol blue	尿液 pH 值由低到高的指示劑顏色變化由橘紅色到紫色再到藍色
尿蛋白	Tetrabromophenol blue	在適當的 pH 值環境下，尿中之白蛋白會與四溴酚藍反應從黃色變成綠色
葡萄糖	Glucose oxidase, Peroxidase, Potassium iodide	葡萄糖被葡萄糖氧化酶氧化後會產生過氧化氫，過氧化氫再與存在於過氧化酶中的碘化鉀基質反應，產生棕色
膽紅素	Diazonium salt	膽紅素與在酸性中重氮化磺胺酸產生偶合化反應，在尿液中不同的膽紅素濃度將會產生粉紅色
膽素原	4-Dimethylaminebenzaldehyde	在酸性環境下 4-dimethylaminebenzaldehyde 與尿膽素原會產生粉紅色
潛血	Tetramethylbenzidine, Hydrogen peroxide	由血紅蛋白和肌紅蛋白上的類過氧化氫酶的活性，將過氧化氫及指示劑催化後產生顏色變化
亞硝酸鹽	Sulfanilamide, N-(1-naphthyl)ethylenediamine	由於尿中的硝酸鹽經革蘭陰性菌還原成亞硝酸鹽，在酸性下亞硝酸鹽與磺胺形成重氮化合物後，會與 N-(1-naphthyl)ethylenediamine 產生紫紅色
酮體	Sodium nitroprusside	由 Legal's test 反應原理，乙醯乙酸與丙酮在鹼性下會與硝普納反應產生紫色

只要將檢測試片貼在尿布上，當照服員替長照住民換尿布時，便可以同時監測他的尿液是否正常。生醫工程與長照的結合，幫助照顧者早期發現泌尿道感染的情形，減少嚴重併發症的產生，以達到公共衛生三段五級中的早期診斷；另一方面尿液檢測試片可省下來回醫院及等待的時間並減少不必要的住院而減少醫療資源的浪費，將有限的資源做更有效的利用。圖 5 為尿布檢測貼片示意圖。

#### 四、紙基酵素免疫分析 (Paper-based ELISA)

酵素免疫分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay) 是利用抗原抗體專一鍵結性的分析方法，主要在特殊塑膠孔盤中進行，分析的對象可以是蛋白

質、抗原、抗體、賀爾蒙等可以與抗體結合的分子，檢測物與抗體結合後配合酵素呈色反應可得檢測物的濃度或含量。

常見的酵素免疫分析法分成以下幾種：

##### 1. 間接型酵素免疫分析法

間接型酵素免疫分析法的檢測步驟為放入待測物後加入第一種抗體，稱為一抗，一抗因抗原抗體的專一性會結合在待測物中的目標分子，接著再加入經由酵素作用過的第二種抗體，稱為二抗，二抗若成功接在一抗上後，當我們給予讓酵素反應的呈色劑時，酵素便有呈色反應，根據顏色的深淺或吸光值判定目標分子的濃度。間接型酵素免疫分析法可以用來檢測類天皰瘡，這是一種好發於老年人的疾病，詳細的檢測步驟之後會再介紹。

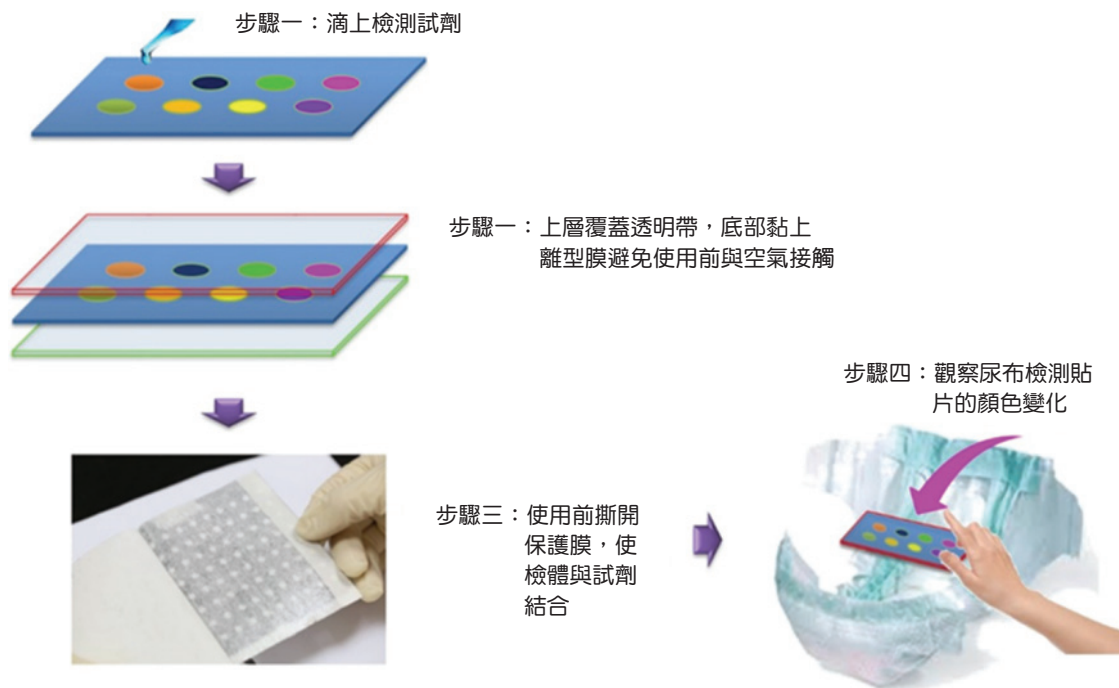


圖 5. 尿布檢測貼片示意圖。首先將檢測指示劑放在蠟印紙基試片的檢測區中，再將透明膠帶貼在上方防止空氣接觸，並把檢測試片黏貼在尿布上，使用前將透明膠帶撕除後便可使用。

## 2. 直接型酵素免疫分析法

直接型酵素免疫分析法簡化間接型酵素免疫分析法的步驟，再放入待測物後直接加入經過酵素修飾的抗體，讓目標分子與抗體結合後再加入呈色劑觀察呈色反應。此種檢測方式可應用於老年性黃斑部病變，在後面的章節我們將詳細介紹。

## 3. 三明治型酵素免疫分析法

三明治型酵素免疫分析法改變間接型酵素免疫分析法的步驟，先加入一抗，再加入待測物，最後加入經酵素修飾的二抗，進行呈色反應。此反應的特色是將目標分子固定在兩個抗體之間，強化專一性，但抗原本身必須要有兩個結合點才能用此方法。此種分析法常用於側層流試片中<sup>(8)</sup>，生活中常用的驗孕棒即是使用三明治型檢驗方式的側層流試片，因懷孕時所產生的特徵賀爾蒙具有兩個與抗體的結合點，所以我們將驗孕棒放入尿液後，可使尿液經由毛細作用往特定方向流動，並與紙基上的抗體結合並產生顏色變化，得知懷孕與否。<sup>(9)</sup>

## 4. 競爭型酵素免疫分析法

競爭型酵素免疫分析法適用於小分子抗原，其步驟為先加入一抗，再加入待測物使目標分子與一抗結合，再加入接上酵素的抗原或抗體與目標分子競爭，當待測物中的目標分子越多，與其競爭的抗原抗體能與一抗結合的位置就越少，呈色反應越弱，所以得到的訊號與濃度呈反比。目前給實驗室使用的商品中有可以檢測黃體素的酵素免疫分析套組，即是以競爭法檢測黃體素的濃度。

紙基酵素免疫分析源自於傳統酵素免疫分析，傳統酵素免疫分析通常是在 96 孔盤中操作，用酵素免疫分析測讀儀或分光光度計讀出檢測數據，這種檢測方式需要專業人員才能進行，且相關器材花費較高，無法提供民眾居家檢測。

因此在重點照顧診斷的概念上，研發出紙基酵素免疫分析法 (Paper-based ELISA)，此種技術是將傳統必須在 96 孔盤中操作的酵素免疫分析轉到紙上操作，以降低成本及節省分析時間。且傳統酵素免疫分析每個檢測區所需的檢體量大約是 20—200

$\mu\text{L}$ ，但紙基酵素免疫分析只需  $3\ \mu\text{L}$ ，藉由此特性微量的檢體也能檢測。(圖 6)

紙基酵素免疫分析基本上為以濾紙取代塑膠製 96 孔盤，利用蠟印表機蠟印出我們想要的樣式，適度烘烤讓蠟完整滲透紙張，製造出親水區與疏水區。將抗原放在檢測區後加入連接酵素的抗體，進行呈色反應後便可藉由掃描器把顏色變化存成圖檔，進一步用軟體分析精確的顏色變化量，比較標準線得知抗原含量(圖 7)。

老年性黃斑部病變是發生在年長者的一種退化性視網膜病變，一開始看到的物品會放大、縮小或變形，隨著病情加重，最終可能導致失明，在台灣的老年族群中盛行率約高達 30%。老年性黃斑部病變依照有無形成脈絡膜新生血管分為乾式與濕式，乾式對視力影響較少，但也可能惡化成較嚴重的濕式黃斑部病

變。濕式黃斑部病變是因血管內皮生長因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的分泌，讓脈絡膜血管增生，這種黃斑部病變可能會讓患者快速進展到失明，因此在濕式黃斑部病變患者的淚液中，可檢測出比正常人高的血管內皮生長因子濃度，此外血管內皮生長因子的濃度也可反映出疾病的嚴重程度或受治療之後的改善程度，血管內皮生長因子濃度越高，代表疾病越嚴重或是治療效果較差。

因血管內皮生長因子與黃斑部病變嚴重度息息相關，因此常見的濕式黃斑部病變治療方法是用玻璃體內注射的方式將抗血管內皮生長因子藥物注射進眼球內，降低血管內皮生長因子濃度，以達到控制症狀及治療疾病，但有些病人對此種治療無反應或是疾病復發，因此，如何監控療效及掌握病人的病變程度就成為重要的課題。

紙基酵素免疫分析可以檢測液態的血管內皮生長

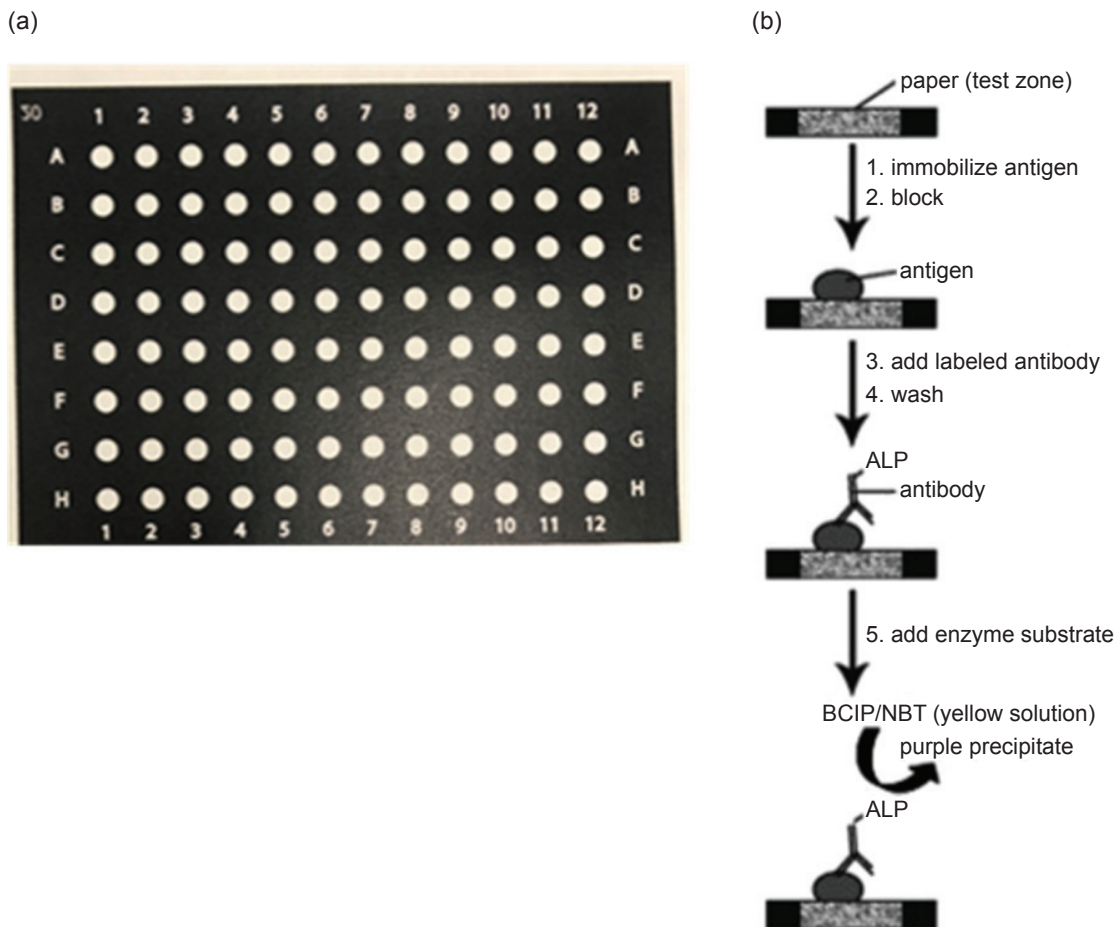


圖 6. 紙基酵素免疫分析示意圖 (a) 紙基蠟印圖形 (b) 紙基酵素免疫分析流程<sup>(5)</sup>。

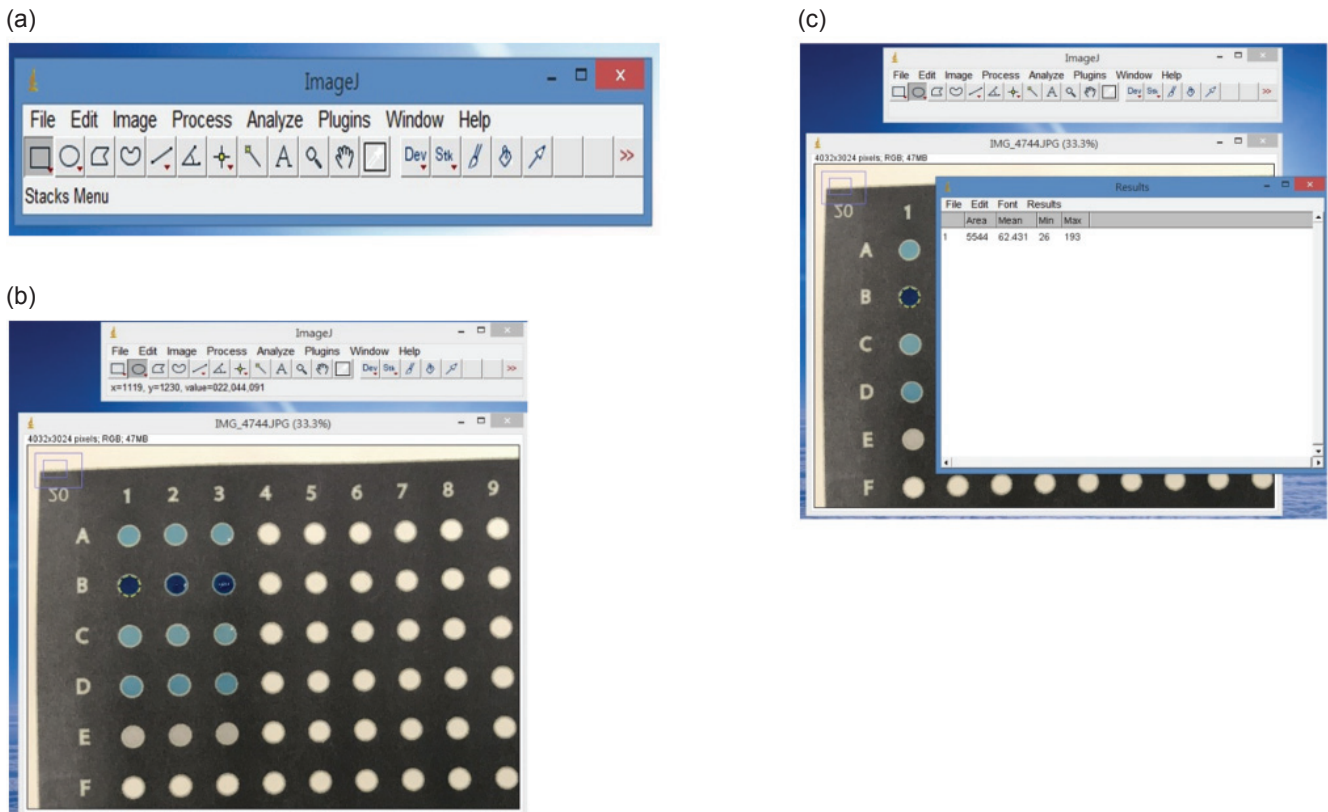


圖 7. 分析顏色變化量流程。(a) 開啟分析軟體 (b) 開啟圖檔並選取分析範圍 (c) 取得數據並分析

因子，其檢測步驟是將液態血管內皮生長因子滴入檢測區後，加入結合 HRP 酵素的 Avastin 抗體，以 TMB 使 HRP 呈色，分析顏色變化得知血管內皮生長因子濃度。藉由紙基酵素免疫分析可快速檢測老年患者的眼睛病變情形，降低惡化及失明風險。(圖 8)

目前研究顯示可用房水 (aqueous humor) 作為檢測的標的，藉由房水檢測試片監測治療後的血管內皮生長因子濃度，讓醫師可藉由試片結果了解患者治療情形，若發現血管內皮生長因子濃度沒有明顯下降時可提早尋求其他治療方式或做進一步的評估與處置。

儘管房水的抽取對眼科醫師來說並不困難，但抽取房水仍有一定程度的侵入性，因此，未來發展朝向分析取得十分容易且採取過程完全不具侵入性的淚液，若是未來發展出淚液檢測試片後，可藉由分析淚液監控病情，提前預防黃斑部病變惡化。

前述應用於眼科的紙基酵素免疫分析為直接型酵素免疫分析，除此之外也可以在紙基上進行間接

型酵素免疫分析，間接型的優點為專一性較高、所需標定抗體較少，但可能造成較大的背景雜訊值，或未預期的反應作用。在進行酵素免疫分析時需針對不同的抗原或抗體運用不同的分析方法，使結果有較高的準確度。

此種檢測方式可應用於檢測好發於老年人的水泡病—類天皰瘡 (bullous pemphigoid)，此病為全身起泡性自體免疫疾病，症狀為皮膚上出現緊繃性水泡，疾病診斷需與其他皮膚水泡病如：天皰瘡 (pemphigus vulgaris)、皰疹樣皮炎 (dermatitis herpetiformis)、表皮溶解水泡症 (epidermolysis Bullosa) 等水泡病做鑑別。紙基酵素免疫分析是皮膚水泡病診斷新利器，不同的自體免疫水泡病血清中或水泡裡有不同的抗體，可藉由抗體分析做為診斷輔助。如上述所提到的類天皰瘡患者的血清中和基底膜處存在 IgG 型的類天皰瘡抗體，紙基酵素免疫分析可快速檢測出此種抗體，有助於醫師確診疾病並早期診斷、早期治療。(圖 9)<sup>(7)</sup>



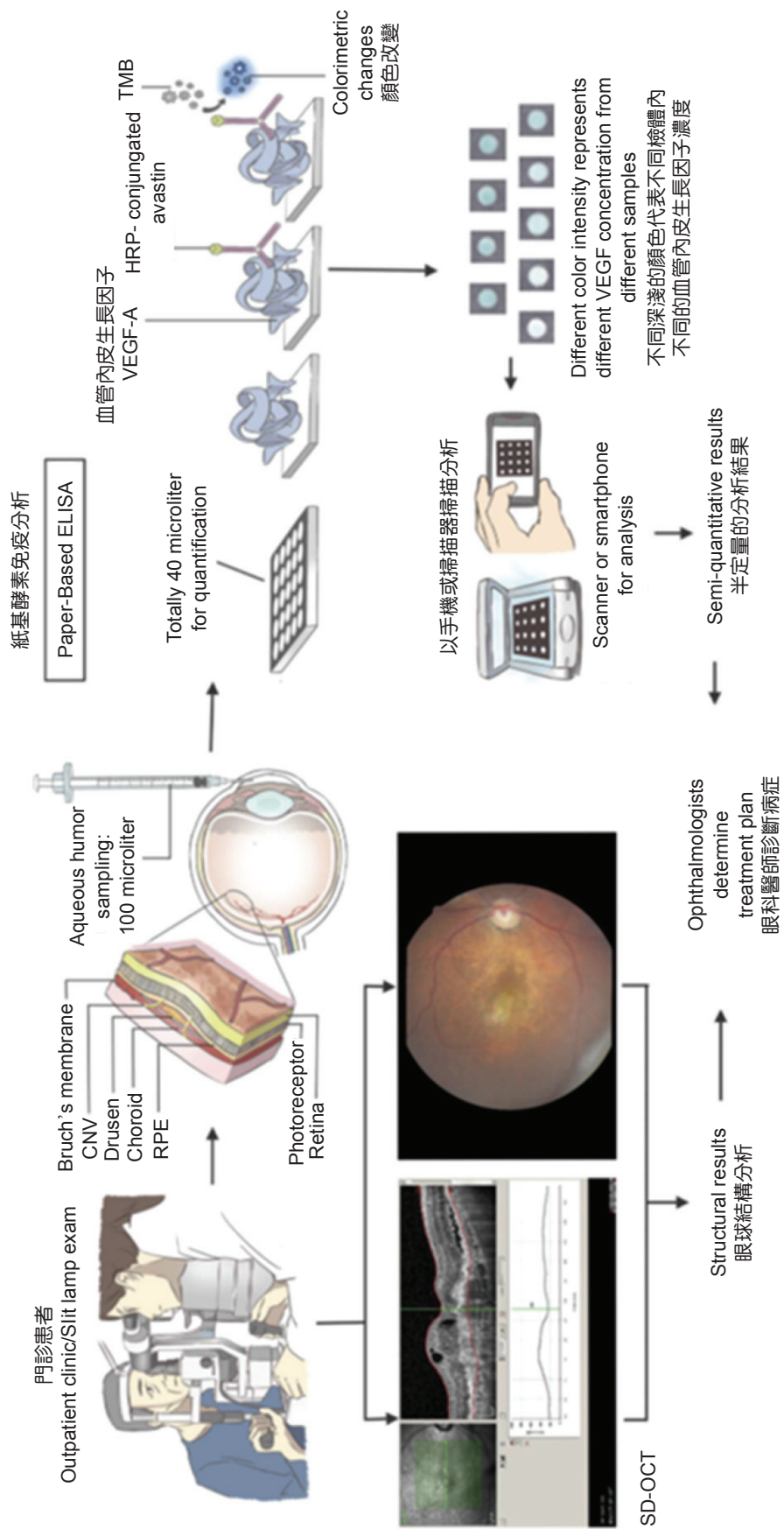


圖 8. 血管內皮生長因子紙基酵素免疫分析示意圖<sup>(6)</sup>。

## Paper-based ELISA procedure

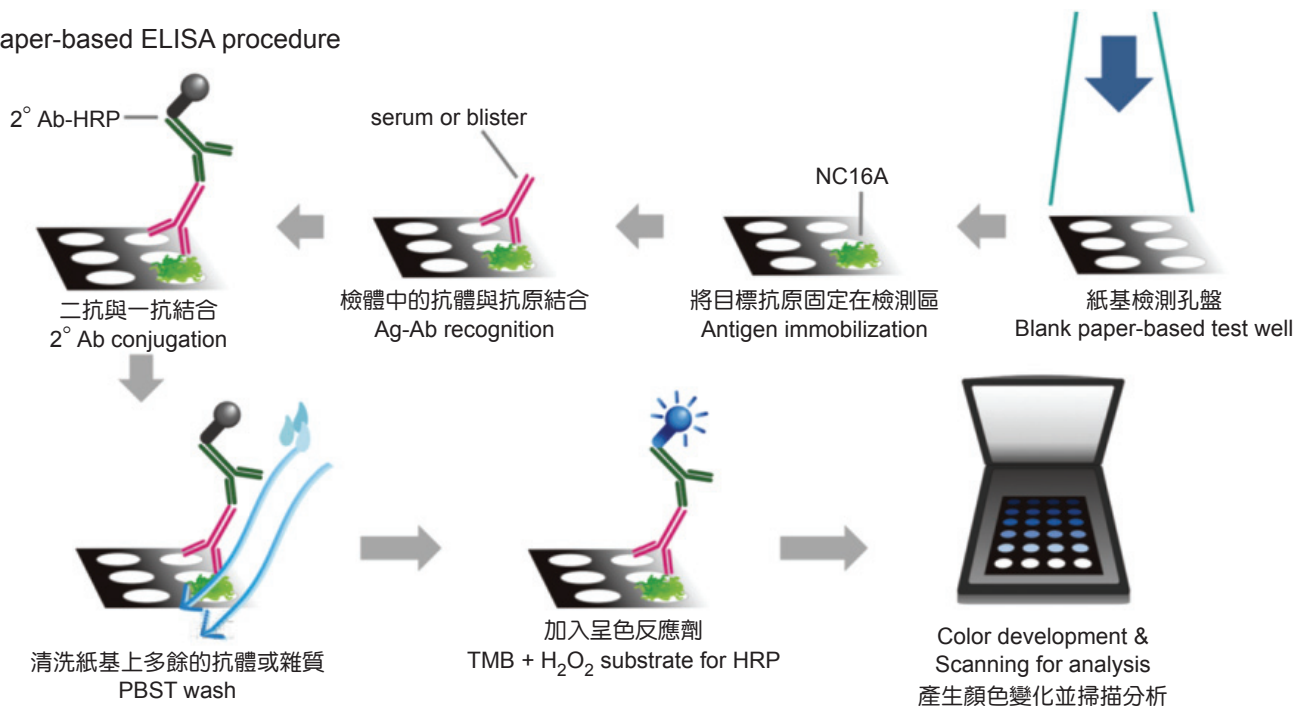


圖 9. 類天皰瘡檢測示意圖<sup>(7)</sup>。

## 五、結論

藉由上述介紹可知紙基重點診斷照顧技術的檢測方式及檢測項目多元，可結合許多老年疾病的診斷或預防，如尿液檢測、老年性黃斑部病變、類天皰瘡等，在長照機構及居家護理都有快速、方便、低成本的特性，可預防老人失能或增加照服員照顧時的便利性。

未來可望將此種技術與手機應用程式結合，開發可分析試片顏色變化的軟體，形成一醫療物聯網，架構長照系統的數據資料庫，方便照服員或醫療人員取得患者資料，或更進一步的研究相關的老人疾病。

生物醫學工程與長期照顧有著密不可分的關係，隨著生醫工程的技術發展，可望降低臺灣邁入高齡或超高齡社會時的負擔，提供良善的長照環境高齡族群。

## 參考文獻

1. <http://www.hcchb.gov.tw/hlct/newhlct/>, 新竹市長照中心網頁.
2. C. M. Cheng, C. M. Kuan and C. F. Chen, *In-vitro Diagnostic*

*Devices*, Berlin:Springer Verlag, 106 (2016).

3. K. Tonyushkina, M.D. and J. H. Nichols, Ph.D., DABCC, FACB, *Journal of Diabetes Science and Technology*, **3** (4), 971 (2009).
4. C. Gnoth, and S. Johnson, *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, **74** (7), 661 (2014).
5. C. M. Cheng, A. W. Martinez, J. Gong, C. R. Mace, S. T. Phillips, E. Carrilho, K.A. Mirica, and G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie International Edition*, **49**, 4771 (2010).
6. M. Y. Hsu, Y. C. Hung, D. K. Hwang, S. C. Lin, K. H. Lin, C. Y. Wang, H. Y. Choi, Y. P. Wang, and C. M. Cheng, *Sci. Rep.*, **6**, 34631 (2016).
7. C. K. Hsu, H. Y. Huang, W. R. Chen, W. Nishie, H. Ujiie, K. Natsuga, S. T. Fan, H. K. Wang, J. Lee, W. L. Tsai, H. Shimizu, and C. M. Cheng, *Anal. Chem.*, **86**, 4605 (2014).
8. B. Ngom, Y. Guo, X. Wang, and D. Bi, *Anal Bioanal Chem*, **397**, 1113 (2010)
9. T.Chard, *Human Reproduction*, **7** (5), 701(1992).



王玟心小姐現為國立清華大學生物醫學工程研究所碩士生

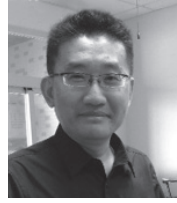
Wen-Hsin Wang is currently a M.S. student in the Institute of Biomedical Engineering at National Tsing Hua University.



傅筠小姐現為林口長庚醫院皮膚科住院醫師

Yun Fu is currently a resident in the Department of Dermatology at Chang Gung Memorial Hospital Linkou

Medical Center.



鄭兆珉先生為美國卡內基美隆大學生物醫學工程所博士，現為國立清華大學生物醫學工程所教授

Chao-Min Cheng received his Ph.D. from Biomedical Engineering

Department at Carnegie Mellon University, USA. He is currently a professor in the Institute of Biomedical Engineering at National Tsing Hus University.