

음향적 흐름을 이용한 혈액형 분석을 위한 새로운 방법

최현주¹ · 장웅식^{2,3} · 남정훈^{2,3} · 임채승²

¹고려대학교 의과대학 대학원 의과학과, ²고려대학교 구로병원 진단검사의학과,
³고려대학교 구로병원 응급의학과 외상연구소

A novel Method for Blood Typing using Acoustic Streaming

Hyunjoo Choi¹, Woong Sik Jang^{2,3}, Jeonghun Nam^{2,3} and Chae Seung Lim²

¹Department of Medical Sciences, Graduate School of Medicine, Korea University

²Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Korea University Guro Hospital

³Department of Emergency Medicine, College of Medicine, Korea University Guro Hospital

(Manuscript received 1 October 2018 ; revised 13 November 2018 ; accepted 3 December 2018)

Abstract: Accurate blood typing is the crucial factor for safe and successful blood transfusion and plays a very important role in organ transplantation and genetic information of forensic medicine. Microfluidic devices have been developed to overcome the limitations of the conventional blood typing methods. In this study, we demonstrate a Lamb wave-based device for simple blood typing in a sample droplet and we propose new indices for quantitative and accurate blood typing. Using Lamb wave-induced acoustic streaming in the droplet, the blood sample and the reagent can be mixed rapidly and red blood cells start to form clumps, which is agglutination. Based on the recorded image and video, the intensity of transmitted light through the sample droplet is evaluated to determine the blood type. Effect of the concentration of suspended red blood cells was evaluated and we found that 10% concentration of suspended red blood cells was suitable to observe the difference between aggregated and non-aggregated samples. Finally, sample with blood type A could be determined using anti-A reagent in our Lamb wave-based device. Our device enables simple and accurate blood typing, which can be applied to resource-limited environments.

Key words: Lamb wave, Blood analysis, Blood typing, Agglutination

1. 서 론

정확한 혈액형 분석은 안전하고 성공적인 수혈을 위한 가장 결정적인 요소이며 장기 이식 또는 법의학의 유전학적 정보에 매우 중요한 역할을 한다. 혈액형 분석을 하기 위해

기존에는 주로 슬라이드 법이나 시험관 법을 이용하여 혈액의 응집된 정도를 육안으로 관찰하였다. 그러나 이 방법은 다양한 원인에 의하여 항원이 약화되어 응집 반응이 불안정한 경우 현미경 관찰을 병행해야 하며 보다 객관적인 판단을 위해 두 명의 숙련된 검사자가 이중으로 검사해야 한다는 한계점이 존재한다. 이를 보완하기 위해 미세 원주 응집법 또는 기능성 입자를 적혈구에 붙여 응집 현상을 확인하는 방법을 통한 자동화 기술이 개발되었다. 미세 원주 응집법을 이용한 방식에는 sephadax G100 gel 또는 glass beads 등이 이용되고, 적혈구에 부착하여 응집현상을 일으키기 위한 기능성 입자로는 적혈구 세포막에 흡착될 수 있는 작은 자성체 입자를 사용한다. 이러한 상업용 자동화 의료 기기는 적은 검사 인력만으로 높은 특이도와 민감도 및 효율성을 갖는 객관적인 결과 판독이 가능하다. 그러나 장비가 크고, 장치 자체의 가격이나 유지 및 보수 비용이 크

Corresponding Author : Jeonghun Nam

Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Korea University Guro Hospital, Korea University, Seoul, Korea.

TEL: +82-2-855-5194

E-mail: jhnam77@gmail.com

Corresponding Author: Chae Seung Lim

Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Korea University Guro Hospital, Korea University, Seoul, Korea.

TEL: +82-2-2626-3245

E-mail: malarim@korea.ac.kr

이 성과는 2018년도 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2016R1C1B1014991).

게 발생하며, 시약의 단가가 높으며 유통 기간이 비교적 짧다는 단점이 있다. 또한 기존 방법들에 비해 샘플당 검사 시간이 더 길다.

이러한 한계점들을 극복하기 위하여 최근 미세 유체 소자 기반의 혈액형 분석 기술들이 개발되고 있으며, 그 예로 미세 유체 분배 기법을 이용한 소자[1], 플러그 기반의 미세 유체 기술[2], 폴리에스테르 실을 이용한 혈액형 분석법[3], 다중 채널 도파 관 모드 센서[4], 종이 기반 기반의 혈액형 분석법[5-7] 등이 있다. 미세 유체 소자 기반의 기술들은 대부분 적은 시료를 이용하여 쉽고 빠르게 대상 검체가 분석되는 것을 목적으로 한다. 그러나, 위에 소개한 대부분의 기술은 그 구현을 위해 복잡한 제작 과정 및 전문가가 요구되며[1-4], 제작이 단순한 경우[5-7]에는 고효율 및 고감도의 분석 소자를 구현하기가 여전히 어렵다. 따라서, 누구나 구현할 수 있고, 적은 시료를 이용해서 쉽고 빠르게 분석할 수 있는 기술을 개발하는 것은 여전히 중요한 문제이다.

최근 램 웨이브를 이용한 미세 액적 및 그 내부 유동을 제어할 수 있는 기술에 관한 연구 결과가 보고된 바가 있다 [8-10]. Leslie Y. Yeo 그룹은 이 기술을 이용하여 미세 액적 시료를 빠르게 혼합하고, 액적 내 입자들을 농축하거나

패턴 형성을 할 수 있다는 연구결과를 보고하며, 개념을 증명하였다. 램 웨이브 기술은 기존의 표면 탄성과 기반 액적 제어 기술과는 달리[11-13], 표면 탄성파를 발생시키기 위해 복잡한 공정을 통한 미세 전극 형성을 필요로 하지 않는다는 장점이 있다. 그러나 현재까지는 인공 입자가 부유된 미세 액적을 이용한 개념 증명 관련 기초연구가 대부분이었다. 최근 본 연구팀에서 램 웨이브 기반 액적 제어 소자의 임상적 활용으로서 혈액 응고 과정에서 점성의 변화로 응고 시간을 분석하는 연구가 이루어진 바 있으나[14], 항체-항원의 반응을 빠르게 유도하고 이를 평가하는 혈액형 분석에 있어서는 아직까지 적용된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 램 웨이브 기반 혈액형 분석 기술을 소개하고자 한다. 이를 위해 단순화된 분석 시스템을 구축하고, 응집 정도를 정량적으로 평가할 수 있도록 새로운 지표를 정의하였다. 또한, 특정 혈액형에 대해서 다양한 항원 그룹의 혈액 샘플을 이용하여 적혈구 농도 및 시간에 대한 응집 정도를 관찰 및 비교하여 제안하는 기술이 혈액형 분석에 활용될 수 있다는 가능성을 제시하고자 한다.

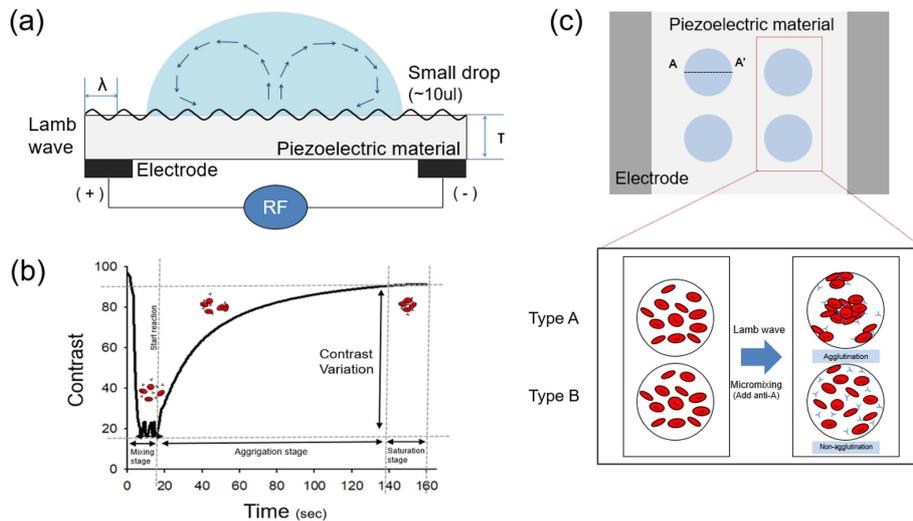


그림 1. 혈액형 분석을 위한 램 웨이브 기반 미세유체소자 작동 원리 개략도 및 새로운 평가 지표의 정의 (a) 미세액적 제어를 위한 램 웨이브의 기본 원리를 나타내며 10 μ l이하의 소량의 액적을 전극 공정 없이 파를 이용해 제어 가능하다. (b) 혈액 샘플과 시약 혼합물의 시간에 따른 광 투과량을 Contrast로 나타내었으며 응집에 의한 광 투과량 변화율에 따라 일반화 된 식을 통하여 새로운 혈액형 분석법의 평가 지표를 정의하였다. (c) 램 웨이브로 인한 혼합을 통해 적혈구의 표면의 항원과 시약 속의 항체가 항원-항체 반응을 통해 응집이 일어나는 원리를 설명한 그림이다.

Fig. 1. Schematic of Lamb wave-based microfluidic device's operation principle and definition of novel evaluation index (a) It shows basic principle of lamb wave for micro-liquid control and it is possible to control small amount of droplet of 10 μ l or less by using wave without electrode process. (b) The light transmittance of the blood sample and the reagent mixture over time was expressed as Contrast. The evaluation index of the novel blood type analysis method was defined through the normalized equation according to the change rate of the light transmission amount by the agglutination. (c) A diagram explaining the principle that the antigen on the surface of erythrocytes and the antibody in the reagent are agglutinated through the antigen-antibody reaction through mixing due to the lamb-wave.

II. 연구 방법

1. 작동원리(Working principle)

그림1은 혈액형 분석을 위한 램 웨이브 기반 미세 유체 소자의 작동 메커니즘 및 새로운 혈액형 분석법의 평가 지표들을 보여 준다. 압전 기판에 램 웨이브를 유도하기 위한 전극은 기판의 양 쪽 끝에 전도성 액체로 그려 이용한다. 이러한 전극에 RF 신호(radio-frequency (RF))를 인가함으로써 압전 기판을 따라 램 웨이브가 발생하고, 이를 통해 압전 기판의 표면에 올린 미세 액적 시료를 제어할 수 있다(그림1(a)).

미세 액적 시료 내의 내부 유동을 발생 및 제어하기 위한 램 웨이브의 작동 주파수는 $f = c/\lambda$ 의 관계식으로부터 결정할 수 있는데, f 는 알고자 하는 작동주파수, c 는 리튬나이오베이트(LiNbO₃)라는 압전 기판의 매질 내 파가 이동하

는 속도, λ 는 파장을 의미한다. 램 웨이브의 작동 주파수는 기판의 두께에만 의존하는데, 압전 기판의 두께(T)는 다음 $T = \lambda/2$ 식을 만족한다. 이에 따른 작동주파수는 $(2n + 1)\lambda/2$ ($n = 0, 1, 2, \dots$)로 계산될 수 있다. 본 연구에서 사용한 압전 기판의 두께가 500 μm 임을 고려하여 작동 주파수는 225.82 MHz로 설정하였다.

그림1(b)는 램 웨이브를 가하였을 때, 혈액 샘플과 시약 혼합물의 시간에 따른 광 투과량을 contrast (C)로 나타낸 것이다. 더 이상 광량이 변화가 없는 시간을 Saturation time으로 설정하고 광량의 변화량을 Contrast variation (CV)으로 설정하였으며, 이를 일반화 시킨 값으로 Normalized contrast variation (NCV)으로 지정하였다. 각 지표의 값은 아래와 같이 정량화 할 수 있다.

(1) Saturation Time (ST): $ST_{max} - ST_0$

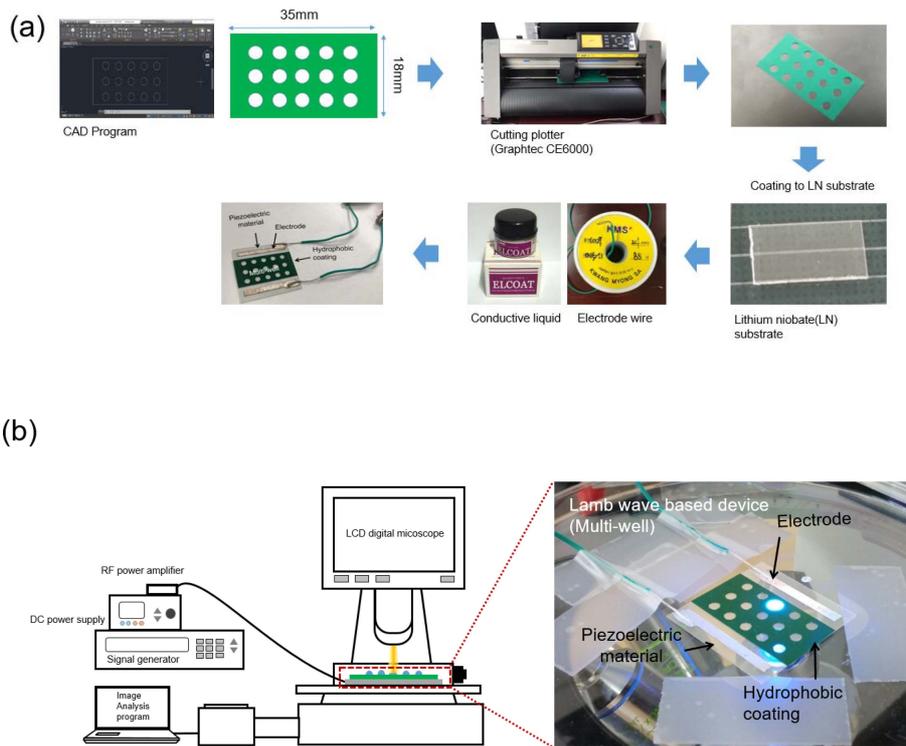


그림 2. 램 웨이브 기반 혈액형 분석 소자 제작 과정 및 실험 셋업. (a) 램 웨이브 기반의 소자는 시료 로딩 부와 전극 부분으로 구성되어 있다. 소수성 코팅을 위한 단면 테잎은 3 mm 지름의 원형 구멍을 갖도록 커팅 플롯터로 제작하였고 제작된 코팅지를 압전기판 위에 부착시켰다. 이후 전극은 압전 기판의 양 끝에 일정한 너비의 직사각형 형태로 그려 졌다. (b) 실제 실험에 사용된 램 웨이브 기반의 장치 실험 셋업 구성그림과 장치의 실제 이미지이다.

Fig. 2. Fabrication process of Lamb wave-based blood typing device and Experimental setup. (a) The lamb wave-based device consists of a sample loading part and an electrode part. Sectional tapes for hydrophobic coating were fabricated with cutting plotters to have circular holes with a diameter of 3 mm, and the prepared coated paper was attached onto the piezoelectric substrate. The electrodes were then drawn in rectangular shapes of constant width at both ends of the piezoelectric substrate. (b) Actual image of a device and an experimental set-up schematic of a device based on a lamb wave used in an actual experiment.

(2) Contrast Variation (CV): $C_{max} - C_0$

(3) Normalized Contrast Variation (NCV): $\frac{C_{max} - C_0}{C_{max}}$

위 식에서의 하 첨자 max는 각 적혈구의 농도 별 실험 조건에 대해서 적혈구가 시약 반응에 의해 완전하게 응집되었을 때의 투과된 광량을, 하 첨자 0은 램 웨이브를 유도하기 시작하기 직전의 광 투과량을 나타낸다.

램 웨이브를 이용한 혈액형 분석의 원리는 그림1(c)와 같이, 압전 기관의 표면에 단면 테잎으로 형성된 well 안에 혈액 시료와 혈액형 분석용 항체 시약을 차례로 적하시킨다. 램 웨이브가 발생하면 미세 액적 내부에 내부 유동이 발생하게 되고, 이를 통해 혈액 시료와 항체 시약이 완전히 혼합된다. 항체가 적혈구 표면의 항원과 반응하면 응집 과정이 시작되고, 응집으로 인해 증가하는 세포 사이의 빈 틈에 의해 미세 액적을 투과하는 광량이 증가함을 이용하여 혈액형을 분석할 수 있다.

2. 소자 제작(Device fabrication)

램 웨이브 기반의 소자는 미세 액적을 위치시키기 위한 단면 테잎 기반의 시료 로딩 부와 전도성 액체를 이용한 전극이 그려진 압전 기관(lithium niobate, LiNbO₃, 128°, Y-cut, X-propagation, NEL Crystal Co., Fukushima, Japan)을 이용한다. 단면 테잎은 직경 3 mm 원형 구멍을 갖도록 커팅 플로터 (Graphtec CE6000-40)를 이용하여 제작하여 압전 기관의 표면에 부착하였다. 전극은 압전 기관의 양 끝에 일정한 너비의 직사각형 형태로 그려졌다 (그림 2(a)).

3. 샘플 준비(Sample preparation)

실험에 사용된 혈액은 어떠한 약제도 복용하지 않은 건강한 지원자의 동의 하에 정맥혈에서 채취하여 EDTA 항응고제 처리가 된 진공관(BD Vacutainer® spray-coated K2EDTA Tubes, 367841, Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, USA)에 수집 후 사용되었다. 수집한 전혈로부터 적혈구 부유액 제조를 위해서 EDTA 항응고제 처리가 된 혈액에 생리 식염수를 혼합하여 부유시킨 후, 1021 g에서 25초간 원심 분리하였다. 상층액을 제거하고 동량의 생리 식염수를 혼합하는 방식으로 3회 세척을 실시하여 농축 적혈구를 준비하였고, 세척한 혈구를 농도에 따른 혈액 응집 반응 강도를 평가하기 위해서 생리 식염수에 0.1, 1, 3, 5, 10, 20, 30%의 농도 조건으로 부유시켜 적혈구 부유액을 만들어 사용하였다. 혈액형 분석을 수행하기 위한 혈액형 분석용 항체시약으로서 항-A, 항-B 를 (Novaclone™ Anti-A, B Murine monoclonal, REF 5175, Dominion biologicals limited, Nova Scotia, Canada) 에서 구입하

여 사용하였다.

혈액형 분석 실험을 진행하기 위해, 4 μl의 적혈구 부유액과 1 μl의 혈액형 분석용 항체 시약을 단면 테잎 기반의 well에 떨어뜨린 다음 램 웨이브를 발생시켜 미세 액적 내의 응집 영상을 관찰 및 녹화하였다. 이를 판독하여 환자의 혈액형 및 반응 강도를 평가하기 위하여 Tracker 프로그램 (Video analysis and modeling tool, compADRE) 으로 액적 내의 RGB영역의 픽셀 변화를 기록하여 미세 액적을 투과하는 광량을 측정하였다. 측정된 광량은 혈액형 분석을 위해 정의된 새로운 평가 지표를 기반으로 계산하여 평가하였다.

4. 실험 셋업 및 절차(Experimental set up & process)

램 웨이브를 발생시키기 위해 23 V의 전압에서 작동 주파수를 갖는 AC전압(RF signal)을 신호 발생기 (Signal Generators, 8657B, Hewlett Packard, Palo Alto, USA)로부터 가하여 DC전원공급기(DC Power Supply, IPS-18B10, VuPOWER, Daejeon, Korea)가 연결된 증폭기(Amplifier, ZHL-12W, Mini-circuits, New York, USA)를 통해 전극에 인가하였다. 또한 액적의 유동과 혈액 응집 과정 관찰 및 분석을 위해 저비용의 USB 카메라가 사용되었다. (800X Digital microscope, PCE Americas Inc., Florida, USA) (그림2(b))

III. 연구 결과 및 고찰

램-웨이브 기반의 새로운 혈액형 분석법의 최적화된 적혈구 농도를 결정하기 위하여 0.1, 1, 3, 5, 10, 20, 30% 농도의 적혈구 부유액을 이용하여 각 농도 별 NCV와 ST를 평가하였다. 액적을 투과하는 광량의 절대값은 적혈구 농도의 영향을 받기 때문에 각 농도별 실험 조건에 대해서 적혈구가 시약 반응에 의해 완전하게 응집되었을 때의 투과된 광량으로 일반화한 NCV를 이용하였다. 그림 3에 보여지는 결과는 각 농도 별로 따라 5회 반복 실험을 통한 평균값과, 표준 편차 값으로 나타내었다. 0.1%의 적혈구 부유액에서는 NCV가 0.01로 매우 낮아 응집 기준 값(0.05이상)에 미치지 못하였고, 적혈구 부유액의 적혈구 농도가 증가함에 따라 NCV 값도 증가하여 10% 적혈구 부유액의 경우 NCV = 0.91로 전체 농도 범위 내에서 가장 높은 값을 가짐을 확인하였다. 여기서 응집 기준 값은 준비된 비 응집 및 응집 샘플에 대해서 이미지 분석에 의해 구분될 수 있는 컷-오프 값(cut-off value)을 의미한다. 농도가 더 증가한 20%와 30% 적혈구 부유액의 경우 NCV = 0.88, 0.81로 값이 약간 감소하였으나, 이는 오차 범위 내에 있는 값으로 10% 이상 농도의 적혈구 부유액에서는 거의 유사한 NCV 값을

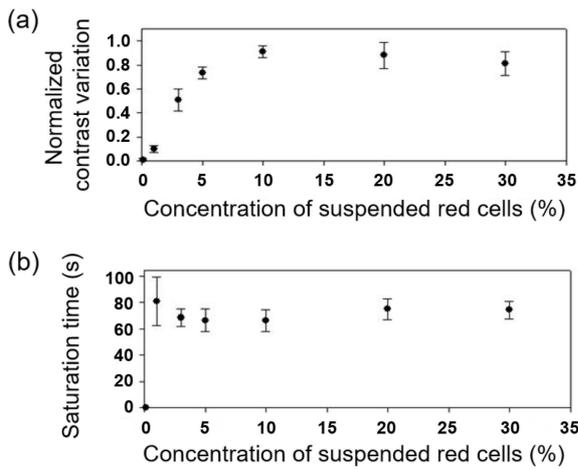


그림 3. 적혈구 부유액 농도에 따른 혈액응집반응평가 (a) 적혈구 부유액 농도에 따른 normalized contrast variation (NCV), (b) 적혈구 부유액 농도에 따른 혈액응집완료 시간 (ST) (n = 5).
 Fig. 3. Evaluation of blood agglutination according to the concentration of suspended red cells. (a) Normalized contrast variation (NCV) and (b) saturation time of blood agglutination depending on the concentration of suspended red cells.

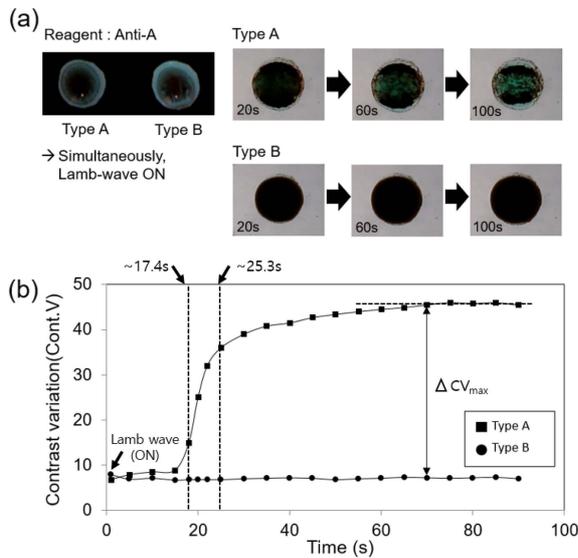


그림 4. (a) 혈액형별 시간에 따른 혈액 응집 이미지 (b) A형과 B형의 혈액 응집 평가 지표 (Contrast variation, CV) 그래프.
 Fig. 4. (a) Image of Blood agglutination of type A and type B blood sample according to time (b) Contrast variation (CV) of type A and type B blood sample according to time.

갖는 것으로 평가할 수 있다. 한편 ST는 조건 범위 내에서 평가 지표로서의 뚜렷한 변별력이 없었으며, 이를 통해 시간에 대한 의존성이 없는 것으로 확인되었다. 따라서 이후 혈액형 분석 연구에서는 평가 시간을 90초로 고정하였다.

그림4(a)는 항-A에 대하여 응집 반응이 있는 양성 검체와

반응이 없는 음성 검체의 차이를 시간의 경과에 따라 나타낸 것이다. 항-A 시약을 통해 A형의 10% 적혈구 부유액과 B형의 10% 적혈구 부유액의 CV에 대해서 영상 분석 툴을 통해 정량적으로 비교한 결과, 램 웨이브 발생 이후 ~17.4초부터 각 검체를 투과하는 광량 값이 뚜렷한 차이를 보이기 시작했다. 시간이 경과할수록 CV_{typeA}와 CV_{typeB} 값의 차이 또한 보다 급격하게 증가하였고, ~25.3초 이후부터 그 증가량은 급격히 감소하였으며, ~70초 이후부터는 두 값의 차이가 더 이상 크게 증가하지 않음을 보였다. (그림4(b)). 현재의 연구에서 A형과 B형을 구분하기 위해 필요했던 최소 요구 시간은 ~17.4초였으나, 이는 램-웨이브와 미세 액적 내 유동 제어에 관여하는 액적의 크기, 접촉 각, 액적의 점성 등과 같은 파라미터들과 함께 최적화 연구를 통해 반응 시간을 단축시킬 수 있다. 또한, 비 예기 항체의 선별과 같은 약한 응집을 검출하기 위하여 혈액의 농도뿐만 아니라 혈액 시료와 혈액형 분석 항체 시약의 농도를 결정하는 연구가 여전히 요구된다.

또한 혈액형 분석을 위한 표준 법에는 시험관 법과 슬라이드 법이 존재하는데 항원-항체 반응을 기본 원리로 시약과 검체를 원심 분리기나 교반기와 같은 외부 장비를 통해 혼합하여 혈구의 표면에 존재하는 항원과 항체의 응집 반응을 확인하는 원초적인 방법이다. 이외에도 앞에서 언급한 Sephadex gel물질이 필터 역할을 하여 항원-항체 응집 반응의 유무를 확인하는 Gel column 방식과 적혈구를 자성체와 혼합하여 적혈구 세포막에 작은 자성체 입자들이 붙게 함으로써 적혈구 자체에 자성을 띠게 하여 응집을 확인하는 적혈구 자성 기술(Erythrocyte-magnetized technology, EMT)이 임상적으로 사용되어 지고 있는데 이러한 임상 혈액형 분석법과 본 연구에서의 분석법과의 유의성 및 신뢰도 판단을 위한 연구가 추가적으로 요구된다.

IV. 결 론

램 웨이브를 기반으로 간단하고 빠르게 시약과 혈액을 혼합하여 미세 액적 내의 응집을 관찰함으로써 혈액형을 분석할 수 있는 소자를 개발하였다. 또한 본 소자를 이용하여 측정된 결과를 통해 미세 액적을 투과하는 광량을 측정, 평가할 수 있는 새로운 평가지표를 정의하였다. 실험적인 결과로서, 적혈구 농도를 조절한 혈액 시료를 이용하여 광 투과량 기반 혈액형 분석에 적합한 농도를 결정하였으며, 다른 혈액형 (type A와 type B)을 갖는 혈액샘플을 이용하여 ~20초 이내에 혈액형 구분이 가능함을 보였다. 램 웨이브 기반 혈액형 분석 소자는 누구나 간편하게 제작이 가능하고, 미세 액적을 이용하기 때문에 적은 시료와 시약을 사용하며, 빠른 시료와 시약의 혼합을 통한 빠른 측정이 가능하다. 또한

정량화된 분석 지표를 이용하기 때문에 정확하고 객관적인 평가가 가능하다는 장점이 있다. 본 연구에서 제안했던 음향 파를 이용한 혈액형 분석 방법은 소자 제작 및 시스템 구현이 어렵지 않기 때문에 스마트폰 혹은 USB타입의 저가형 광학시스템과의 통합을 통해 단일 검사만으로도 다양한 검체들을 동시에 다중 처리를 할 수 있는 기술이 될 것이며, 이는 자원이 제한된 개발 도상국이나 고가의 장비 유지나 전력 공급이 어려운 지역에서 적용될 수 있다.

참고문헌

- [1] In Bum Suh, Sook Won Ryu, Yongku Lee, Dae Sung Hr, Chanil Chung, Jun Keun Chang and Chae Seug Lim, "Development of a new blood typing kit using the microfluidics separation technique," *Korean J Hematol.* vol. 42, no. 4, 2007.
- [2] T. Kline, M. Runyon, M. Pothiawala and R. Ismagilov, "ABO, D Blood Typing and Subtyping Using Plug-Based Microfluidics," *Analytical Chemistry*, vol. 80, no. 16, pp. 6190-6197, 2008.
- [3] A. Nilghaz, D. Ballerini, L. Guan, L. Li and W. Shen, "Red blood cell transport mechanisms in polyester thread-based blood typing devices," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 408, no. 5, pp. 1365-1371, 2015.
- [4] H. Ashiba, M. Fujimaki, K. Awazu, T. Tanaka and M. Makishima, "Microfluidic chips for forward blood typing performed with a multichannel waveguide-mode sensor," *Sensing and Bio-Sensing Research*, vol. 7, pp. 121-126, 2016.
- [5] T. Songjaroen and W. Laiwattanapaisal, "Simultaneous forward and reverse ABO blood group typing using a paper-based device and barcode-like interpretation," *Analytica Chimica Acta*, vol. 921, pp. 67-76, 2016.
- [6] N. Yeow, H. McLiesh, L. Guan, W. Shen and G. Garnier, "Paper-based assay for red blood cell antigen typing by the indirect antiglobulin test" *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 408, no. 19, pp. 5231-5238, 2016.
- [7] H. Zhang, X. Qiu, Y. Zou, Y. Ye, C. Qi, L. Zou, X. Yang, K. Yang, Y. Zhu, Y. Yang, Y. Zhou and Y. Luo, "A dye-assisted paper-based point-of-care assay for fast and reliable blood grouping," *Science Translational Medicine*, vol. 9, no. 381, pp. eaaf9209, 2017.
- [8] A. Rezk, J. Friend and L. Yeo, "Simple, low cost MHz-order acoustomicrofluidics using aluminium foil electrodes," *Lab Chip*, vol. 14, no. 11, pp. 1802-1805, 2014.
- [9] G. Destgeer, B. Ha, J. Park and H. Sung, "Lamb Wave-Based Acoustic Radiation Force-Driven Particle Ring Formation Inside a Sessile Droplet," *Analytical Chemistry*, vol. 88, no. 7, pp. 3976-3981, 2016.
- [10] Amgad R. Rezk and Leslie Y. Yeo, "Lithography-free, crystal-based multiresonant Lamb waves for reconfigurable microparticle manipulation," *Journal of Microelectronics, Electronic Components and Materials*, vol. 46, no. 4, pp. 176-182, 2016.
- [11] R. Shilton, M. Tan, L. Yeo and J. Friend, "Particle concentration and mixing in microdrops driven by focused surface acoustic waves," *Journal of Applied Physics*, vol. 104, no. 1, pp. 014910, 2008.
- [12] Leslie Y. Yeo and James R. Friend, "Surface Acoustic Wave Microfluidics," *The Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 46, pp. 379-406, 2013.
- [13] L. Yeo and J. Friend, "Ultrafast microfluidics using surface acoustic waves," *Biomicrofluidics*, vol. 3, no. 1, pp. 012002, 2009.
- [14] J. Nam, H. Choi, J. Kim, W. Jang and C. Lim, "Lamb wave-based blood coagulation test," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 263, pp. 190-195, 2018.