면역혈액학 자동화 장비 DAYmate S를 이용한 ABO/RhD 혈액형 검사 및 비예기항체 선별검사의 최소검체량 평가

김태열^{1,2} · 신동우^{1,2} · 손병희² · 강지상² · 정유선³ · 고대현⁴ · 홍윤지^{1,5} · 김형석^{1,2} · 박경운^{1,5} · 한규섭^{1,2}

서울대학교 의과대학 검사학교실¹, 서울대학교병원 진단검사의학과², 강동성심병원 진단검사의학과³, 서울아산병원 진단검사의학과⁴, 분당서울대학교병원 진단검사의학과⁵

Minimum Specimen Volume Analysis of ABO/RhD Typing and Unexpected Antibody Screening Using an Automated Immunohematology System DAYmate S

Tae Yeul Kim^{1,2}, Dong Woo Shin^{1,2}, Byeong-Hui Son², Ji-Sang Kang², Yousun Chung³, Dae-Hyun Ko⁴, Yun Ji Hong^{1,5}, Hyungsuk Kim^{1,2}, Kyoung Un Park^{1,5}, Kyou-Sup Han^{1,2}

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine¹, Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Hospital², Department of Laboratory Medicine, Kangdong Sacred Heart Hospital³, Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center⁴, Seoul, Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Bundang Hospital⁵, Seongnam, Korea

Background: Phlebotomy performed for laboratory testing has the potential to cause anemia in newborns and infants. This study investigated the minimum specimen volume required for an automated immunohematology analyzer DAYmate S.

Methods: Three combinations of tubes were evaluated: I. 6 mL EDTA tube, II. 0.5 mL microtainer (on top of 3 mL EDTA tube), and III. 1 mL sample cup (on top of 6 mL EDTA tube). ABO/RhD cell typing was done using centrifuged red cells; unexpected antibody screening was carried out using plasma, and Type & Screening was conducted using whole blood samples. The lowest specimen volume capable of performing 10 repetitive tests without errors was investigated. **Results:** ABO/RhD cell typing could be performed from I. 30 μ L, II. 25 μ L, and III. 25 μ L. Unexpected antibody screening could be performed from I. 170 μ L, II. 150 μ L, and III. 140 μ L. According to the hematocrit levels, Type & Screening could be performed from 30%, I&III 650 μ L, II. 800 μ L; 40%, I&III 650 μ L, II. 900 μ L; and 50%, I&III 1,000 μ L, II. Testing using specimen volumes below 1,000 μ L was difficult.

Conclusion: By separating red cells and plasma, pre-transfusion testing of ABO/RhD cell typing and unexpected antibody screening could be conducted with very small specimen volumes using DAYmate S compared to Type & Screening using whole blood. The application of small-sized sample tubes was more competitive and this is expected to be very useful for preventing iatrogenic anemia in neonates and infants less than 4 months old. (Korean J Blood Transfus 2018;29:159-170)

Key words: DAYmate S, Type and screening, Pre-transfusion testing, Neonate, Anemia

Received on July 3, 2018. Revised on July 24, 2018. Accepted on July 30, 2018

Correspondence to: Hyungsuk Kim

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Hospital, 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 03080, Korea

Tel: 82-2-2072-3500, Fax: 82-2-747-0359, E-mail: hyungsuk.kim79@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0574-9200>

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright ©2018 The Korean Society of Blood Transfusion

서론

수혈 전 검사는 면역매개성 용혈수혈반응을 야기할 수 있는 부적합 혈액의 수혈을 예방하기 위해 시행된다[1]. ABO/RhD 혈액형 검사 및 비예기항체 선별검사 등 수혈 전 검사는 전통적으로 시험관법으로 시행되어 왔고 현재에도 여전히 활용되고 있다. 그러나 저결합활성을 가진 항체가 세척 과정에서 용출되거나 관찰자 간에 판독의 불일치도가 높다는 점 등이 시험관법의 신뢰성과 재현성을 감소시키는 주요 요인으로 지적되기도 한다[2]. 시험관법이 가진 한계를 극복하기 위해 원주응집법(column agglutination technology), 고정상적혈구부착법(solid-phase red cell adherence assay), 적혈구자기화법(erythrocyte magnetized technology) 등이 개발되었고, 이러한 방법들을 기반으로 한 다양한 자동화장비들이 수혈 전 검사에 도입되고 있다[3]. 자동화장비를 이용한 수혈 전 검사는 기존의 수기법에 비해 인적 오류를 감소시키고, 검사 소요시간 단축 및 인력 비중 감소 등 검사 처리량을 증가시킬 수 있는 이점을 가지고 있어 최근 자동화장비를 사용하는 검사실이 증가하고 있다[4].

한편, 수혈 전 검사를 비롯하여 질병의 진단 및 치료를 위해 시행되는 다양한 검사를 위한 반복적인 채혈로 인해 발생하는 의인성 빈혈에 대해 지속적으로 문제가 제기된 바 있다[5-7]. 특히, 신생아나 소아와 같이 혈관 내 혈액량이 성인에 비해 현저히 낮은 경우 반복 채혈로 인해 의인성 빈혈에 노출될 위험성이 크다[8,9]. 이러한 의인성 빈혈을 감소시키기 위해서는 처방의들의 불필요한 검사를 최소화하려는 노력이 필수적이겠으나, 검사실 자체적으로도 해당 검사의 최소 검체요구량을 정확히 평가하여 검체량 부족으로 검사를 거절하거나 재채혈을 요구하는 사례를 줄이려는

노력이 필요하겠다.

DAYmate S (DAY medical SA, Avenches, Switzerland)는 원주응집법을 이용한 방식으로 ABO/RhD 혈액형 검사, 비예기항체 선별 및 동정 검사를 포함한 다양한 면역혈액학적 검사가 가능한 자동화장비이다[10]. DAYmate S의 가장 큰 특징은 검사 시 해당되는 시약과 젤을 비어있는 미세원주에 바로 분주하기 때문에, 사용자의 필요에 따라 다양한 구성으로 검사를 설계하여 시행할 수 있어 자유도가 높다는 것이다. 본 연구는 자동화장비 DAYmate S가 검체 용기의 종류에 따라 인식할 수 있는 ABO/RhD 혈액형 검사와 비예기항체 선별검사의 최소검체량을 평가하여, 신생아 혹은 4개월 미만의 영아에서 환자 채혈과 관련된 의인성 빈혈의 발생을 예방하는데 있어서 유용성을 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

본 연구는 서울대학교의과대학/서울대학교병원 의학연구윤리심의위원회의 승인을 받아 진행되었다(E-1805-119-948). 2018년 5~6월 서울대학교어린이병원 진단검사의학과 혈액은행 검사실에 의뢰된 EDTA 전혈 검체 중 A형, RhD+로 확인된 잔여 검체와 출고 후 폐기되어 남은 A형, RhD+ 신선동결혈장을 사용하여 검사를 시행하였다.

2. 방법

1) 용기 조합

본 검사실에서는 소아에서의 소량검체를 담는 용도로 BD Microtainer K2 EDTA 500 µL Reference # 365974 (BD Life Sciences, microtainer로 약함)과 1 mL sample cup (메디랜드, 서울, 대

한민국, sample cup로 약함)을 활용하고 있다. 그러나 용기의 크기가 작아 바코드를 여기에 직접 부착하거나 이를 대부분의 혈액은행 자동화장비에 직접 장착할 수 없었다. DAYmate S는 검체 용기의 모양이나 크기에 따라 전용 랙을 구분하여 사용할 필요 없이 기본 공용 랙에 다양한 형태의 용기를 장착할 수 있다. 소량검체 용기를 DAYmate S에서 인식할 수 있는 형태로 활용하기 위해 소량검체 용기를 바코드가 부착된 직경이 알맞은 일반 크기의 빈 EDTA 용기에 얹어 장비에 장착할 수 있었고, 일반 EDTA 용기와 소량검체 용기 중에서 최소량의 검체로 검사를 시행하는데 더 유리한 조건을 확인하고자 하였다. 평가에 사용한 용기의 조합은 3가지로 다음과 같다; I. BD Vacutainer K2 EDTA 6 mL Reference # 367863

Fig. 1. Combination of sample tubes used for evaluation. I. 6 mL EDTA tube, II. 0.5 mL microtainer on top of 3 mL EDTA tube, III. 1 mL sample cup on top of 6 mL EDTA tube.

(BD Life Sciences, Franklin Lakes, NJ, USA, 6 mL EDTA 로 약함), II. 0.5 mL microtainer+BD Vacutainer K2 EDTA 3 mL Reference # 367835 (BD Life Sciences, 3 mL EDTA로 약함), III. 1 mL sample cup+6 mL EDTA (Fig. 1).

2) ABO/RhD 혈구형 검사

3가지 용기 조합에 대해 A형, RhD+ 검사 후 잔여 검체를 원심분리(1620 g, 5분)하여 획득한 적혈구(적혈구용적률 약 80%)를 각각 15 μ L, 20 μ L, 25 μ L, 30 μ L, 35 μ L, 40 μ L, 50 μ L씩 넣어 ABO/RhD 혈구형 검사 가능여부를 1차로 5회씩 확인하였다. 검체 부족으로 검사가 정상적으로 진행되지 않았거나 기타 다른 이유로 결과 판정이 되지 않는 경우 부적격으로 판정하였다. ABO/RhD 혈구형 검사를 시행하기 위해 장비에서는 적혈구를 10 μ L 채집하여 적혈구부유액을 만들어 사용하며, 4개의 원주에서 anti-A, anti-B, anti-D, 자가대조 검사가 시행되었다. 각 용기 조합에서 검체가 채집되는 pipette 위치는 SMART 프로그램 설정에서 용기의 아래쪽으로부터 지정된 높이(bottom height)에 따라 시행되었다(I. 6 mL EDTA, 35 mm; II. 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA, 520 mm; III. 1.0 mL sample cup+6 mL EDTA, 830 mm).

3) 비예기항체 선별검사

3가지 용기 조합에 대해 출고 후 폐기되는 A형, Rh+ 신선동결혈장을 각각 130 μ L, 140 μ L, 150 μ L, 160 μ L, 170 μ L, 180 μ L씩 넣어 비예기항체 선별검사 가능여부를 1차로 5회씩 확인하였다. 검체 부족으로 검사가 정상적으로 진행되지 않았거나 기타 다른 이유로 결과 판정이 되지 않는 경우 부적격으로 판정하였다. 비예기항체 선별검사를 시행하기 위해 장비에서는 3가지 종류의 선별용 혈구와의 반응을 확인하기 위해 혈장 120 μ L를 채집하여 각 원주에 20 μ L씩 분주하여 검사가 시행

되었다. 각 용기 조합에서 검체가 채집되는 pipette 위치는 위쪽에서부터 장비가 자동으로 인식하여 시행됨에 따라 별도의 설정을 바꿀 필요가 없었다.

4) Type & Screening

잔여 검체에서 원심분리하여 획득한 혈구와 폐기 신선동결혈장을 각각 35:65, 50:50, 65:35의 비율로 혼합하여 최종 적혈구용적률이 약 30%, 40%, 50%가 되도록 합성혈액을 제조하였고, 합성혈액의 실제 적혈구용적률을 검사하여 확인하였다(XE-2100, Sysmex Corporation, Kobe, Japan). 3가지 적혈구용적률 농도의 합성혈액을 대상으로 3가지 용기 조합에 대해 각각 평가하였으며, 검체량은 1000 μ L 이하의 적정 범위에서 50 μ L씩 차등을 두어 Type & Screening 검사 가능여부를 1차로 5회씩 확인하였다. 검체 부족으로 검사가 정상적으로 진행되지 않았거나 기타 다른 이유로 결과 판정이 되지 않는 경우 부적격으로 판정하였다. Type & Screening 검사 시행 시 각 용기 조합에서 검체가 채집되는 pipette 위치는 혈구의 경우 앞서 ABO/RhD 혈구형 검사에서 설명한 설정에 따라 시행되었고, 혈장은 위쪽에서부터 장비

가 자동으로 인식하여 시행됨에 따라 별도의 설정을 바꿀 필요가 없었다.

5) 검사 시행 및 판정

각 용기 조합에 대하여 1차 5회 검사가 모두 정상적으로 시행되는 가장 낮은 2단계의 검체량에 대해서, 2차로 5회씩 검사를 추가로 시행하였다. 2차 추가 검사에서 부적격 판정이 나오는 경우 검체량을 한 단계씩 올려서 5회 추가 검사를 시행하였다. 두 단계 연속 10회 반복 측정에서 모두 검사가 정상적으로 시행되는 구간의 낮은 검체량을 검사 가능한 최소검체량으로 판정하였기에 그 이상의 검체량 그리고 부적격 판정이 나온 검체량에 대해서는 추가 반복 측정을 실시하지 않았다.

결 과

1. ABO/RhD 혈구형 검사

6 mL EDTA 용기(I)에서는 30 μ L와 35 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어

Table 1. Analysis frequency (passed/total number) for ABO/RhD cell typing by the minimum specimen volume

Sample* volume (μ L)	6 mL EDTA tube		0.5 mL Microtainer (on top of 3 mL EDTA tube)		1 mL sample cup (on top of 6 mL EDTA tube)	
	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional
15	NT	NT	5/5	5/5	5/5	3/5
20	NT	NT	5/5	3/5	5/5	4/5
25	1/5	NT	5/5	5/5	5/5	5/5
30	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
35	5/5	5/5	5/5	NT	5/5	NT
40	5/5	NT	5/5	NT	5/5	NT
50	5/5	NT	5/5	NT	5/5	NT

*Concentrated red cells by centrifugation (hematocrit 70~80%).

Abbreviation: NT, not tested.

30 μ L를 최소검체량으로 판정하였다. 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II)와 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합에서는 25 μ L와 30 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 25 μ L를 최소검체량으로 판정하였다(Table 1).

2. 비예기항체 선별검사

6 mL EDTA 용기(I)에서는 170 μ L와 180 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 170 μ L를 최소검체량으로 판정하였다. 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II) 용기 조합에서는 150 μ L와 160 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 150 μ L를 최소검체량으로 판정하였다. 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합에서는 140 μ L와 150 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 140 μ L를 최소검체량으로 판정하였다(Table 2).

3. Type & Screening

1) 목표 적혈구용적율 30%

혈구와 혈장을 35:65의 비율로 혼합한 합성혈액의 실제 적혈구용적율은 28.2%로 확인되었다.

6 mL EDTA (I)와 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합에서는 650 μ L와 700 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 650 μ L를 최소검체량으로 판정하였다. 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II) 용기 조합에서는 800 μ L와 850 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 800 μ L를 최소검체량으로 판정하였다(Table 3).

2) 목표 적혈구용적율 40%

혈구와 혈장을 50:50의 비율로 혼합한 합성혈액의 실제 적혈구용적율은 39.6%로 확인되었다. 6 mL EDTA (I)와 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합에서는 650 μ L와 700 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 650 μ L를 최소검체량으로 판정하였다. 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II) 용기 조합에서는 900 μ L와 950 μ L 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되어 900 μ L를 최소검체량으로 판정하였다(Table 4).

3) 목표 적혈구용적율 50%

혈구와 혈장을 65:35의 비율로 혼합한 합성혈액의 실제 적혈구용적율은 52.2%로 확인되었다.

Table 2. Analysis frequency (passed/total number) for antibody screening by the minimum specimen volume

Sample* volume (μ L)	6 mL EDTA tube		0.5 mL Microtainer (on top of 3 mL EDTA tube)		1 mL sample cup (on top of 6 mL EDTA tube)	
	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional
130	0/5	NT	2/5	NT	2/5	NT
140	0/5	NT	4/5	NT	5/5	5/5
150	0/5	NT	5/5	5/5	5/5	5/5
160	2/5	NT	5/5	5/5	5/5	NT
170	5/5	5/5	5/5	NT	5/5	NT
180	5/5	5/5	5/5	NT	5/5	NT

*EDTA plasma.

Abbreviation: NT, not tested.

Table 3. Analysis frequency (passed/total number) for type and screening by the minimum specimen volume (hematocrit 28.2%)

Sample* volume (μL)	6 mL EDTA tube		0.5 mL Microtainer (on top of 3 mL EDTA tube)		1 mL sample cup (on top of 6 mL EDTA tube)	
	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional
350	0/5	NT	0/5	NT	0/5	NT
400	0/5	NT	0/5	NT	2/5	NT
450	0/5	NT	2/5	NT	5/5	NT
500	2/5	NT	1/5	NT	5/5	4/5
550	2/5	NT	3/5	NT	5/5	5/5
600	5/5	4/5	3/5	NT	4/5	3/5
650	5/5	5/5	2/5	NT	5/5	5/5
700	5/5	5/5	4/5	NT	5/5	5/5
750	NT	NT	3/5	NT	NT	NT
800	NT	NT	5/5	5/5	NT	NT
850	NT	NT	5/5	5/5	NT	NT

*EDTA whole blood.

Abbreviation: NT, not tested.

Table 4. Analysis frequency (passed/total number) for type and screening by the minimum specimen volume (hematocrit 39.6%)

Sample* volume (μL)	6 mL EDTA tube		0.5 mL Microtainer (on top of 3 mL EDTA tube)		1 mL sample cup (on top of 6 mL EDTA tube)	
	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional
550	0/5	NT	NT	NT	NT	NT
600	2/5	NT	NT	NT	4/5	NT
650	5/5	5/5	NT	NT	5/5	5/5
700	5/5	5/5	NT	NT	5/5	5/5
800	NT	NT	3/5	NT	NT	NT
850	NT	NT	2/5	NT	NT	NT
900	NT	NT	5/5	5/5	NT	NT
950	NT	NT	5/5	5/5	NT	NT

*EDTA whole blood.

Abbreviation: NT, not tested.

6 mL EDTA (I)와 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합에서는 1000 μL 단계에서 10회 반복검사가 모두 정상적으로 시행되었고, 1000 μL

이상의 검체량에 대해서는 추가 검사를 시행하지 않아 1000 μL를 최소검체량으로 판정하였다. 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II) 용기 조합에서

Table 5. Analysis frequency (passed/total number) for the type and screening using the minimum specimen volume (hematocrit 52.2%)

Sample* volume (μL)	6 mL EDTA tube		0.5 mL Microtainer (on top of 3 mL EDTA tube)		1 mL sample cup (on top of 6 mL EDTA tube)	
	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional	Preliminary	Additional
800	3/5	NT	NT	NT	1/5	NT
850	3/5	NT	NT	NT	2/5	NT
900	1/5	NT	1/5	NT	4/5	4/5
950	3/5	NT	2/5	NT	3/5	3/5
1000	5/5	5/5	2/5	1/5	5/5	5/5

*EDTA whole blood.

Abbreviation: NT, not tested.

는 1000 μL 이하의 검체량에서는 검사를 정상적으로 시행할 수 없었다(Table 5).

고 찰

진단이나 치료에 영향을 주는 의학적 결정의 70~80%는 임상검사실에서의 검체검사 결과에 영향을 받는다고 보고된 바 있다[11]. 정확한 진단 및 치료를 위해 혈액검체를 이용한 다양한 검사의 시행이 필수적이나, 불필요하거나 잦은 채혈로 인해 의인성 빈혈을 초래할 수 있다[5-9]. 한 보고에 따르면, 검사를 위해 채혈되는 혈액 중 불필요한 검체량은 실제 검사에 꼭 필요한 혈액량의 55~375%에 달했고, 이는 채혈로 인한 총 혈액손실량의 50%를 초과하였다[8]. 빈혈은 입원환자, 특히 심부전으로 입원한 환자들의 사망률, 재입원을 등을 증가시키는 위험요인이다[12]. 또한 빈혈을 교정하기 위해 시행되는 적혈구 수혈은 용혈수혈반응, 수혈관련 급성폐손상, 수혈관련 순환량과다를 비롯한 다양한 수혈 후 이상반응을 야기할 가능성이 있으며[13], 이는 추가적인 치료 및 입원 기간의 연장으로 인해 불필요한 의료비

발생으로 이어질 수 있다.

과다채혈로 인한 빈혈은 적절한 조치가 취해진다면 상당 부분 예방할 수 있다. 성인환자에서는 검사를 시행하는데 최소로 요구되는 검체의 필요량과 관계 없이 일반 용기를 완전히 채울 정도로 채혈하는 것이 일반적인 관행이지만, 소아용 용기를 사용한 소량 채혈을 시행한 결과 검체 부족으로 인한 재채혈 증가 없이 혈액손실량을 줄일 수 있었다[14-15]. 또한, 병원에서 실시하는 검사의 빈도에 대한 보고 및 평가가 이루어진다면 불필요한 검사와 그로 인한 채혈의 감소를 가져올 수도 있다[16]. 과다한 채혈을 줄이기 위한 조치는 검사실에서도 충분히 기여할 수 있는 부분도 있다. 신생아 선별검사에서 주로 사용되는 건조혈반(dried blood spot)을 이용한 검사는 일반적인 용기 채혈에 비해 채혈량이 상대적으로 적게 요구되는 장점이 있는 좋은 예시이다[17]. 자동화장비가 검사를 정상적으로 시행할 수 있는 최소검체량을 평가하고, 그것을 기반으로 채혈량을 산정하는 것도 환자의 혈액손실량을 최소화하는데 도움을 주는 하나의 방법이 될 수 있을 것이다.

DAYmate S는 한 시간에 ABO/RhD 검사 24건 (혈구형검사만은 36건), 비예기항체 선별검사 48건, Type & Screening 검사 16건을 수행할 수 있는 혈액은행 자동화장비이다. 디스크 하나에 18개의 비어있는 원주가 존재하고, 그 원주에 사용자가 필요한 종류의 젤과 시약을 채워 넣을 수 있기 때문에 자유롭게 다양한 조합의 검사가 가능하다. 대조적으로, 미리 충전된 젤과 시약이 담긴 미세원주카드를 사용하는 기존의 여러 자동화장비는 사용자의 필요에 따라 검사 항목의 조합을 바꾸는 것이 어렵고, 필요치 않은 검사를 불가피하게 시행해야 하는 경우가 있다. 미리 충전된 미세원주카드를 동시에 여러 개 사용하는 경우 대조군 검사를 불필요하게 중복으로 시행해야 하는 경우가 생기기도 한다. DAYmate S는 사용자가 원하는대로 검사 항목을 자유롭게 구성하는 것이 가능하며 대조군의 개수도 필요한 만큼 설정할 수 있어 효율적이다. 특히, 신생아 또는 4개월 미만 영아의 ABO 혈액형 검사에 있어서 혈청형 검사는 일반적으로 시행할 필요가 없기 때문에[18], 이런 환자들에 있어서 DAYmate S가 혈구형 검사만 시행하도록 설정된다면 비용 효율적인 검사가 가능할 뿐만 아니라 검사에 사용되는 검체량도 줄일 수 있다. ABO 아형이 의심되는 경우에도 anti-A₁, anti-H, anti-A,B 시약 등 추가로 확인이 필요한 항목에 대해서만 검사를 수행하여, 이미 시행된 anti-A, anti-B 시약을 이용한 혈구형 검사를 불필요하게 중복 시행하지 않고 ABO 아형의 표현형을 동정하는 것이 가능하다. DAYmate S는 사용자의 필요에 따라 꼭 필요한 검사만 진행할 수 있게 함으로써, 적은 비용과 검체로 사용자가 원하는 결과를 효율적으로 얻을 수 있게 하는 데 장점이 있다.

DAYmate S는 사용되는 용기에 따른 별도의 전용 랙을 구매하지 않더라도 다양한 종류의 용기

가 장비에 투입될 수 있다. 랙에 용기를 장착하는 부위는 용기의 지름에 대응해 유연하게 반응하여 여러 크기의 용기를 고정시킬 수 있다. Pipette이 혈구를 흡인하는 높이는 장비의 SMART 프로그램 설정에서 검사 용기의 'bottom height' 값에 따라 조정할 수 있다. 혈장은 pipette이 내려오면서 자동으로 인식하여 검체를 흡인하기 때문에 별도의 설정이 필요하지 않다. 본 연구에서 사용된 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II), 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합은 일반적으로 자동화장비에 장착하기 어려운 작은 크기의 microtainer와 sample cup을 일반 EDTA 용기 윗부분에 꽂고, 각각 bottom height 값을자로 측정하여 520 mm, 830 mm로 설정해 어려움 없이 검사를 시행할 수 있었다(Fig. 1). 다른 기관에서도 각자 사용하는 임의의 소량검체 용기 조합에 맞게 bottom height를 설정하여 다양하게 활용할 수 있을 것이다. 또한 본 연구에서 사용된 microtainer 및 sample cup과 같은 작은 크기의 용기는 바코드를 직접 붙일 수 없지만, 일반 EDTA 용기에 바코드를 붙이고 그 위에 작은 용기를 얹을 경우 사용자가 별도로 바코드를 일일이 찍을 필요 없이 장비에서 다른 일반 용기와 마찬가지로 자동으로 인식할 수 있어 사용자 입장에서 매우 편리하다.

앞서 언급한 바와 같이 DAYmate S는 검사 항목을 사용자가 원하는 대로 구성할 수 있기 때문에 ABO 혈액형 검사 시 혈청형 검사를 생략하도록 할 수 있다. 이러한 검사 항목 구성 및 검체 용기 조합의 자유로운 설정은 신생아와 4개월 미만 영아에서 매우 적은 검체량으로 검사를 시행할 수 있는데 크게 기여할 수 있다. 보통 전혈 검체를 사용하는 다른 자동화장비들과 달리, DAYmate S는 혈구형 검사를 위해 적혈구 층만 또는 혈청형 검사를 위해 혈장만 분리하여 따로 장비에 투입할 수 있다. 본 연구에서 사용한 0.5

mL microtainer+3 mL EDTA (II)와 1 mL sample cup+6 mL EDTA (III) 용기 조합은 6 mL EDTA (I) 용기보다 검체가 담긴 용기의 직경이 짧고 바닥이 좁기 때문에, 같은 부피의 검체를 투입했을 때 높이가 증가되는 현상이 발생한다. 이는 소위 불용체적(dead volume)을 줄여 pipette이 검체를 채집하는데 유리한 조건을 제공할 수 있으며, 본 연구에서 시행한 ABO/RhD 혈구형 검사 및 비에기항체 선별검사에서도 최소검체량이 일반 용기보다 낮아지는 결과를 나타내는데 기여했을 것이라고 추정된다. 또한, DAYmate S는 각 원주에 투입되는 혈장량이 20 μ L로 국내에서 유통되는 미세원주 방식의 다른 주요 회사 제품(25~40 μ L)과 비교했을 때 적은 장점을 가지고 있다. 이러한 특징들로 인해, ABO/RhD 혈구형 검사는 tube 조합에 따라 25~30 μ L의 매우 적은 검체량으로도 검사가 가능했고, 3 종류의 선별세포를 사용하는 비에기항체 선별검사는 tube 조합에 따라 140~170 μ L 검체량으로 검사를 정상적으로 진행할 수

있었다. 신생아 혹은 4개월 미만의 영아에서 EDTA 전혈 원심분리 후 혈구와 혈장을 분리하여 장비에 투입하는 상기 방법으로 ABO/RhD 혈구형 검사와 비에기항체 선별검사를 시행할 경우, 적혈구용적률 50%를 가정했을 때 용기 조합에 따라 약 300~400 μ L의 전혈로 검사가 가능할 것으로 예상되며, 적혈구용적률 30%를 가정한다면 용기 조합에 따라 약 200~250 μ L의 전혈만으로도 검사가 가능할 것으로 추정된다.

혈구와 혈장만을 따로 분리하여 투입하지 않고, 전혈 검체를 사용하여 일반적인 Type & Screening 검사를 시행할 경우, microtainer 및 sample cup처럼 소량검체 용기를 사용하는 용기 조합이 일반적인 6 mL EDTA 용기(I)에 비해 더 뛰어난 모습을 보여주지 못했다. 1 mL sample cup + 6 mL EDTA (III) 용기 조합은 6 mL EDTA (I) 용기와 유사한 결과를 보여주었으나 0.5 mL microtainer+3 mL EDTA (II) 용기 조합은 오히려 혈 쉼 뒤떨어지는 성능을 보여주었다. 검사가 정상

Fig. 2. Example of ‘not interpretable’ results for type and screening. The plasma was not separated adequately from the red cells and test wells using plasma because the sample (A₁, B, I, II, III) showed erroneous results, which could not be interpreted according to the standard hemagglutination grading scale from negative to + + + +.

적으로 시행되지 못한 주된 원인은, 장비 내에서 원심분리 후 혈구와 혈장이 완전히 분리되지 않아 혈장을 사용하는 검사에서 적혈구 오염이 심해 검사는 끝까지 진행되었지만 결과 판독이 불가능했기 때문이었다(Fig. 2). 0.5 mL microtainer + 3 mL EDTA (II)와 1 mL sample cup + 6 mL EDTA (III) 용기 조합의 경우 검체가 위치한 높이가 6 mL EDTA (I)에 비해 상단에 있기 때문에 장비 내에서 원심분리 때 중심으로부터 거리가 짧아 동일한 회전수에서 원심력이 상대적으로 낮아질 수 있겠으나, bottom height가 더 낮은 0.5 mL microtainer + 3 mL EDTA (II)가 1 mL sample cup + 6 mL EDTA (III)보다 오류가 더 많았던 것을 고려하면 이것만으로 해당 현상을 설명할 수는 없을 것이고 검체가 담긴 용기의 모양 등 다른 변수들도 원인으로 작용했을 것으로 추정된다. 또 다른 특징으로는, 전혈 검체의 적혈구용적률이 높아질수록 검사를 시행하는데 필요로 하는 최소검체량이 많아진다는 점을 들 수 있다. 적혈구용적률이 높으면 혈액의 점성이 증가하기 때문에 원심분리의 효율이 떨어져서 동일한 용기 조건 하에서 Type & Screening 검사에 필요한 검체 요구량이 증가한 것으로 판단된다. 신생아는 일반적으로 성인보다 적혈구용적률이 높기 때문에 [19], 혈구와 혈장을 미리 분리하지 않고 전혈을 투입하는 Type & Screening 검사에서는 6 mL EDTA (I), 1 mL sample cup + 6 mL EDTA (III) 용기 조합이 더 적합하다고 할 수 있다. 그러나 DAYmate S는 혈구와 혈장을 별도로 분리하여 ABO/RhD 혈구형 검사와 비예기항체 선별검사를 따로 시행하는 것이 검체량을 최소화하는데 장점이 많으므로 신생아에서는 수혈 전 검사를 위해 전혈 검체로 Type & Screening을 시행하는 것보다 검체를 미리 원심분리하여 따로 검사하는 방법을 택하는 것이 합리적이라고 생각한다. 만약

ABO 혈청형 검사까지 꼭 확인하고자 하는 경우라면, 이를 별도의 검사 프로그램으로 구성하여 혈장 검체를 사용해 진행할 수 있을 것이다.

자동화장비 DAYmate S를 이용한 최소검체량 평가연구를 통해 ABO/RhD 혈구형 검사와 비예기항체 선별검사에서, 혈구와 혈장을 분리해서 투입한다면 소량검체 용기 뿐만 아니라 일반 EDTA 용기를 사용하는 경우라 하더라도 매우 적은 양의 검체로 검사가 가능할 수 있다는 것이 확인되었다. 또한, 0.5 mL microtainer 및 1.0 mL sample cup 소량검체 용기를 활용해 별도로 구성한 용기 조합이 기존에 사용하던 일반적인 6 mL EDTA 용기보다 최소검체량을 감소시키는 데 더 효율적임을 알 수 있었다. 본 연구에서 평가한 것과 다른 종류의 소량검체 용기를 사용하는 기관에서도 bottom height를 적절히 조정하여 유사한 방법으로 활용해볼 수 있을 것으로 생각한다. 다만 전혈을 투입하는 Type & Screening 검사에서는 높은 적혈구용적률을 가진 검체가 투입될 경우 원심분리가 제대로 되지 않아 검사의 실패가 증가하는 경향이 있을 수 있으며, 특히 microtainer를 사용하는 경우 이에 더욱 취약하였다. 따라서 ABO/RhD 혈구형 검사와 비예기항체 선별검사 시 혈구와 혈장을 미리 분리하는 방법으로 DAYmate S를 사용할 경우, 전혈 검체로 Type & Screening을 시행하는 것에 비해 매우 적은 검체량으로 수혈 전 검사를 원활하게 시행할 수 있었으며, 이는 ABO 혈청형 검사를 생략할 수 있는 신생아 혹은 4개월 미만의 영아에서 환자 채혈과 관련된 부담을 줄이고 의인성 빈혈을 예방하는데 매우 유용하게 활용할 수 있을 것으로 생각한다.

요 약

배경: 검사를 위해 시행되는 채혈은 신생아 및

영아에게 빈혈을 야기할 수 있는 위험성이 있다. 본 연구에서는 면역혈액학검사 자동화장비 DAYmate S를 사용하여 검사를 시행할 수 있는 최소검체량을 평가하였다.

방법: 대상 검체 용기는 I. 6 mL EDTA 용기, II. 0.5 mL microtainer (3 mL EDTA 용기 상단에 장착), III. 1 mL sample cup (6 mL EDTA 용기 상단에 장착) 3가지 조합으로 이들의 검사가 가능한 최소검체량을 조사하였다. ABO/RhD 혈구형 검사는 원심분리한 혈구 검체, 비예기항체 선별 검사는 원심분리한 혈장 검체, Type & Screening은 전혈 검체를 사용하였다. 오류 없이 10회 반복 측정 검사가 정상적으로 시행되는 가장 낮은 검체량을 조사하였다.

결과: ABO/RhD 혈구형 검사의 최소검체량은 I. 30 μ L, II. 25 μ L, III. 25 μ L부터 검사가 가능하였다. 비예기항체 선별검사의 최소검체량은 I. 170 μ L, II. 150 μ L, III. 140 μ L부터 검사가 가능하였다. 적혈구용적률에 따른 Type & Screening 검사의 최소검체량은 30%, I & III 650 μ L, II. 800 μ L; 40%, I & III 650 μ L, II. 900 μ L; 50%, I & III은 1000 μ L, II. 1000 μ L 이하에서는 검사가 불가능하였다.

결론: 혈구와 혈장을 분리하여 DAYmate S를 사용해 ABO/RhD 혈구형 검사와 비예기항체 선별검사를 따로 시행할 경우, 전혈 검체로 Type & Screening을 시행하는 것에 비해 매우 적은 검체량으로 수혈 전 검사를 시행할 수 있었다. 특히 소량검체 용기를 활용할 경우 더 유리하였으며, 이는 ABO 혈청형 검사가 불필요한 신생아와 4개월 미만 영아의 의인성 빈혈을 예방하는데 매우 유용할 것으로 예상된다.

감사의 글

연구에 필요한 시약, 소모품, 장비를 제공하여 본 연구가 진행되는데 많은 도움을 주신 미르씨 이텍(주)의 정혜란 과장님과 김희범 이사님께 감사드립니다. 본 연구의 기획 및 설계에는 회사에서 관여하지 않았으며, 저자들은 본 연구와 관련된 어떠한 이해관계 충돌이 없음을 밝힙니다.

References

1. Fung MK, Eder A, Spitalnik SL, Westhoff CM, American Association of Blood Banks. Technical manual. 19th ed. Bethesda, Md: American Association of Blood Banks, 2017: 457-63
2. Rumsey DH, Ciesielski DJ. New protocols in serologic testing: a review of techniques to meet today's challenges. *Immunohematology* 2000;16:131-7
3. Bajpai M, Kaur R, Gupta E. Automation in immunohematology. *Asian J Transfus Sci* 2012;6:140-4
4. Park Y, Kim SY, Koo SH, Lim J, Kim JM, Lim YA, et al. Evaluation of the automated blood bank systems IH-500 and VISION Max for ABO-RhD blood typing and unexpected antibody screening. *Lab Med Online* 2017; 7:170-5
5. Cioc A, Fodor R, Benedek O, Moldovan A, Copotoiu SM. Blood sampling as a cause of anemia in a general ICU - a pilot study. *Rom J Anaesth Intensive Care* 2015;22:13-6
6. Corwin HL, Parsonnet KC, Gettinger A. RBC transfusion in the ICU. Is there a reason? *Chest* 1995;108:767-71
7. Salisbury AC, Reid KJ, Alexander KP, Masoudi FA, Lai SM, Chan PS, et al. Diagnostic blood

- loss from phlebotomy and hospital-acquired anemia during acute myocardial infarction. *Arch Intern Med* 2011;171:1646-53
8. Valentine SL, Bateman ST. Identifying factors to minimize phlebotomy-induced blood loss in the pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2012;13:22-7
9. Jakacka N, Snarski E, Mekuria S. Prevention of iatrogenic anemia in critical and neonatal care. *Adv Clin Exp Med* 2016;25:191-7
10. Yoo J, Yu H, Choi H, Lee GW, Song YS, Lee S, et al. Evaluation of the automated immunohematology analyzer DAYMATE M. *Lab Med Online* 2017;7:163-9
11. Beastall GH. The modernisation of pathology and laboratory medicine in the UK: networking into the future. *Clin Biochem Rev* 2008;29:3-10
12. Hamaguchi S, Tsuchihashi-Makaya M, Kinugawa S, Yokota T, Takeshita A, Yokoshiki H, et al. Anemia is an independent predictor of long-term adverse outcomes in patients hospitalized with heart failure in Japan. A report from the Japanese cardiac registry of heart failure in cardiology (JCARE-CARD). *Circ J* 2009;73:1901-8
13. Sahu S, Hemlata, Verma A. Adverse events related to blood transfusion. *Indian J Anaesth* 2014;58:543-51
14. Sanchez-Giron F, Alvarez-Mora F. Reduction of blood loss from laboratory testing in hospitalized adult patients using small-volume (pediatric) tubes. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132:1916-9
15. Jensen PR, Markewitz BA. Safe reduction of blood volume in the blood gas laboratory. *Lab Med* 2016;47:326-9
16. Corson AH, Fan VS, White T, Sullivan SD, Asakura K, Myint M, et al. A multifaceted hospitalist quality improvement intervention: decreased frequency of common labs. *J Hosp Med* 2015;10:390-5
17. Kothare PA, Bateman KP, Dockendorf M, Stone J, Xu Y, Woolf E, et al. An integrated strategy for implementation of dried blood spots in clinical development programs. *AAPS J* 2016;18:519-27
18. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC, Hicks JM. *Pediatric reference intervals*. 6th ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry Press, 2007:228-9
19. Cerneca F, de Vonderweid U, Simeone R, Forleo V. The importance of hematocrit in the interpretation of coagulation tests in the full-term newborn infant. *Haematologica* 1994; 79:25-8