

혈액응고 검사용 유리 CTAD 채혈관와 플라스틱 Sodium Citrate 채혈관의 비교

국립암센터 진단검사의학과

강수진, 박정수, 송윤경, 공선영, 이도훈

Comparison of Glass CTAD Tube and Plastic Sodium Citrate Tube for Coagulation Test

Su-Jin Kang, Jeong-Su Park, Yoon-Kyung Song, Sun-Yong Kong, and Do-Hoon Lee

Research Institute and Hospital, National Cancer Center, Goyang 411-764, Korea

We evaluated the newly developed plastic sodium citrate tubes for routine coagulation test by direct comparison with glass citrate theophylline adenosine dipyridamole (CTAD) tubes. Blood was drawn from 100 patients into glass CTAD tubes and plastic sodium citrate tubes. After collection, samples were centrifuged at 1500 ×g for 15 min at 22°C. Prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen were measured by using the Coagrex-800 (IRC, Japan). We used comparison plot by linear regression model and difference plot graphs to compare the results of the independent measurements of PT, aPTT, fibrinogen between glass CTAD tubes and plastic sodium citrate tubes. On the comparison study between glass CTAD tubes and plastic sodium citrate tubes, the correlation coefficients (R) were 0.99 for PT, 0.97 for aPTT and 0.97 for fibrinogen. This results implicated good correlation of each parameter between two tubes. Although the difference plot graph analysis showed statistically significant differences between glass and plastic tubes for PT, aPTT and fibrinogen, the range of difference was acceptable according to the CLSI/NCCLS guideline. The plastic sodium citrate tubes showed good correlation with the glass CTAD tubes, so it can substitute glass citrate tube for routine coagulation tests.

Key Words : Coagulation, Glass CTAD tube, Plastic sodium citrate tube, PT, aPTT, Fibrinogen

I. 서 론

Prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time(aPTT), fibrinogen은 혈액응고 과정을 반영하는 지표

교신저자 : 강수진, (우) 411-351. 경기도 고양시 마두동 809번지,
국립암센터 진단검사의학과
Tel : 010-2046-4299 FAX : 031) 920-1339
E-Mail : susanna@ncc.re.kr

로 혈액응고 질환을 진단하고, 항응고제 치료 효과를 관찰하기 위한 검사이다(Suchman 와 Grimer, 1986). 이러한 혈액응고 검사들은 측정기거나 사용시약, 검체채취 및 보관 조건에 따라 검사 결과에 다양한 영향을 줄 수 있고(홍과 박, 1985; 전 등, 1999), 특히 혈액 채취 과정, 채혈관의 항응고제와 혈액의 혼합 과정, 검체 전처리 과정에서 발생하는 여러 가지 문제는 부정확한 결과의 원인이 된다(Lippi와 Guidi, 2004).

저자들은 기존에 BD Vacutainer™ 2.7 mL partial draw glass CTAD tube(이하 유리 CTAD 채혈관)를 사용하여 검사를 시행하였으나, 채혈 시 진공 상태 유지가 약해 적절한 양의 검체 채취가 어렵고, 채혈관 파손이 잦아 이를 개선하기 위해 0.109 M BD Vacutainer™ 2.7 mL full draw Plus Plastic Sodium Citrate tube(이하 플라스틱 sodium citrate 채혈관)로의 교체를 검토하게 되었다. 이에 새로운 검체용기를 도입하기 전 기존의 유리 CTAD 채혈관과 새로 도입하려는 플라스틱 sodium citrate 채혈관을 이용한 응고검사 결과에 차이가 있는지 동일 환자의 검체로 비교, 분석하여 판단하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

본원 내원 환자 중 무작위로 선별된 환자 100명을 대상으로 21 G 주사기로 채혈하여, 검체용기 종류에 따른 주사기로 혈액을 분주하는 순서에 맞춰 항응고제 sodium citrate가 들어 있는 용기인 유리 CTAD 채혈관과 플라스틱 sodium citrate 채혈관에 먼저 분주하였다. 이때 두 채혈관의 항응고제와 혈액 양이 1:9의 비율이 되도록 채취한 혈액을 2.7 mL 씩 분주하였다. 이를 22°C 1500×g에서 15분간 원심 분리하여 상층의 혈장으로 검사하였다.

2. 시약 및 기기

Coagrex-800(International reagents Corporation, Japan) 혈액응고자동분석기를 이용하여 PT, aPTT, fibrinogen을 측정하였다. PT시약은 Thromboplastin C·Plus(Dade Behring, Germany), aPTT시약은 Actin(Dade Behring, Germany), fibrinogen시약은 Thrombin Reagent(Dade Behring, Germany)를 사용하였다.

3. 통계

유리 CTAD 채혈관과 플라스틱 Sodium Citrate 채혈관의 PT, aPTT, fibrinogen 결과 비교를 위해 선형 회귀 모

델과 difference plot graph를 이용하여 상관관계를 구하였다(Bland와 Altman, 1983; 1986).

III. 결 과

1. PT

플라스틱 sodium citrate 채혈관 결과 값이 기존 유리 CTAD 채혈관 결과 값에 비해 평균 0.1초 길었다. 평균 총 오차는 1.3%로, CLSI/NCCLS에서 규정하는 두 검사 간의 결과 값에 대한 허용 오차인 평균값 $\pm 10\%$ 내에 해당하는 양호한 결과를 보였다. 기울기는 1.07, 상관계수(R)는 0.99 이상이었다(Fig. 1).

2. aPTT

플라스틱 sodium citrate 채혈관 결과 값이 유리 CTAD 채혈관 결과 값에 비해 평균 1.6초 짧았다. 평균 총 오차는 4.8%로 CLSI/NCCLS에서 규정하는 오차범위 $\pm 10\%$ 내에 해당하는 결과를 보였다. 기울기는 1.01, 상관계수(R)는 0.98 이상이었다(Fig. 2)

3. Fibrinogen

플라스틱 sodium citrate 채혈관 결과 값이 유리 CTAD 채혈관 결과 값에 비해 평균 10.5 mg/dL 높았다. 평균 총 오차는 3.8%로 CLSI/NCCLS에서 규정하는 오차범위 $\pm 10\%$ 내에 해당하는 결과를 보였다. 기울기는 1.03, 상관계수(R)는 0.99 이상이었다(Fig. 3)

IV. 고 찰

선천적 및 후천적으로 발생한 혈액응고질환의 진단과 항응고제 치료효과의 감시, 수술 전 응고인자 결핍을 선별하는 기본 검사인 PT, aPTT, fibrinogen 검사는 사용하는 시약과 측정기기, 검체 상태에 매우 다양한 영향을 받게 된다. 따라서 채혈관과 검체 채취 및 처리 과정은 이

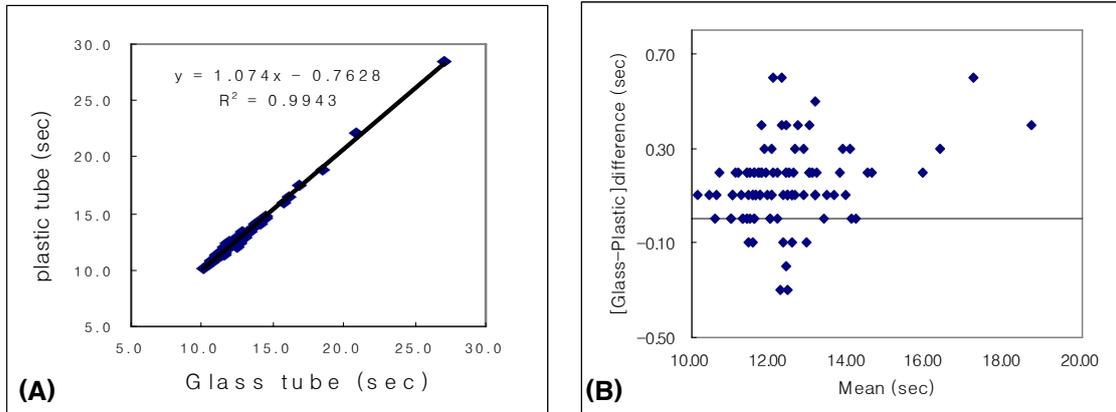


Fig. 1. Comparison of PT between glass tube and plastic tube.
(a) Comparison plot & linear regression model, (b) Difference plot graph

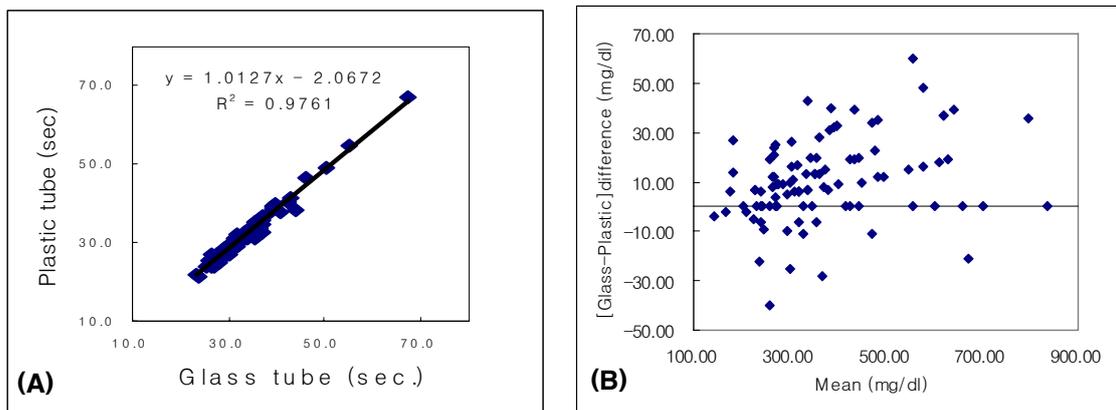


Fig. 2. Comparison of aPTT between glass tube and plastic tube.
(a) Comparison plot & linear regression model, (b) Difference plot graph

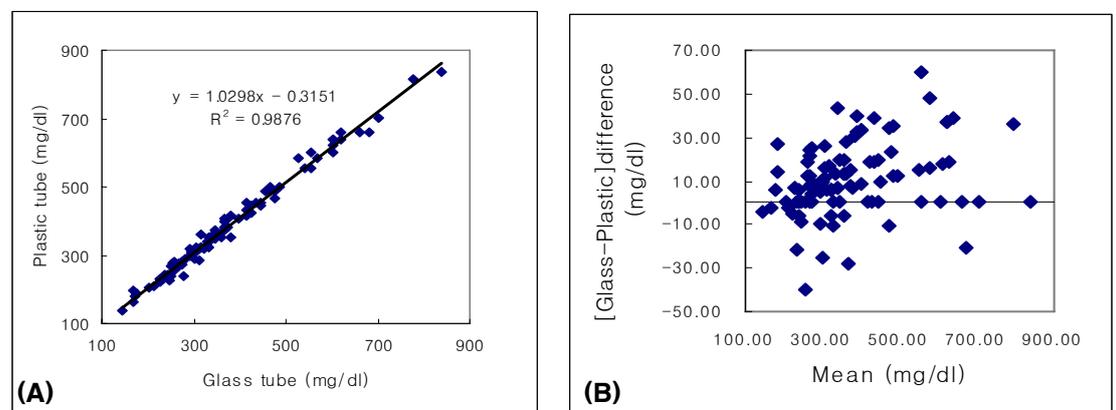


Fig. 3. Comparison of fibrinogen between glass tube and plastic tube.
(a) Comparison plot & linear regression model, (b) Difference plot graph

러한 분석적 변화를 일으키는 중요한 결정 인자로 작용하여 결과의 신빙성에 큰 영향을 미친다(전 등, 1999; Lippi와 Guidi, 2004).

선형 회귀 모델을 이용해서 구한 두 채혈관 간 PT, aPTT, fibrinogen 검사 결과의 상관계수는 0.97 이상으로 높은 상관관계를 보였다. 반면 채혈관 간의 결과 일치 정도를 보는 difference plot graph에서는 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 유리 CTAD 채혈관과 비교해 플라스틱 sodium citrate 채혈관에서 PT 검사 결과 값이 평균 0.1초 높게 나왔고, aPTT 검사 결과 값은 평균 1.7초 낮게 나왔다. Fibrinogen 검사 결과 값은 평균 10.5 mg/dL 높은 결과를 보였다. 이러한 결과는 기존의 연구 결과와 유사한 결과로 지금까지의 여러 연구 결과들이 유리 채혈관과 플라스틱 채혈관 간의 혈액 응고 검사 결과 값의 차이가 통계적으로 유의하지만 임상적으로는 허용 가능하다고 보고한 바 있다(Kratx 등, 2006). Tripodi 등(2002)은 유리 채혈관과 플라스틱 채혈관 간에 international normalized ratio(INR) 값을 비교하여 10% 이내의 차이를 보여 임상적으로 허용 가능한 차이가 있었다고 보고한 바 있다. 또한 Leroy-Matheron와 Gouault-Heicmann(1994)도 유리와 플라스틱 채혈관 간에 응고 활성 표지자 값을 비교하여 차이가 없다고 밝힌 바 있다.

하지만, 기존의 연구 결과에서 유리 채혈관에 비해 플라스틱 채혈관에서 응고 시간이 연장되고 heparin 흡수나 fibrinogen 검사에서 간섭 등이 일어난다고 보고한 바도 있다(D'Angelo와 Villa, 1999; Biron-Andreani 등 2000; van den Besselaar 등, 2000).

본 연구 결과에서는 플라스틱 sodium citrate 채혈관에서 aPTT 검사 결과 값이 유리 CTAD 채혈관에 비해서 상대적으로 낮게 나타났고 fibrinogen 결과 값은 더 높게 나타났다. 반면 PT 검사 결과 값은 두 채혈관 간에 큰 차이가 없었다.

이런 차이가 나타난 이유는 두 채혈관의 항응고제가 서로 다른 응고 억제 기전을 가진 것으로 설명할 수 있다. CTAD는 세포내 cyclic adenosine monophosphate(cAMP) 농도를 높게 유지하여 혈소판 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 활성화 혈소판은 platelet factor 4(PF4)를 분비하여 heparin을 불활성화 시키고 이로 인해 aPTT 결과 값이 감소하게 된다. CTAD 내의 theophylline과 dipyri-

damole이 phosphodiesterase에 의한 cAMP의 분해를 막고, adenosine이 adenylyl cyclase를 활성화 시켜 ATP로부터 cAMP의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있다. cAMP는 세포내 기관에서 칼슘 sequestration을 조절하여 혈소판을 안정 상태로 유지하는 역할을 한다(Contant 등, 1983; Vermynen와 Deckmyn, 1993; Narayanan, 1995).

기존 연구에 따르면 CTAD는 sodium citrate보다 혈소판 활성 억제 효과가 더 강한 것으로 알려져 있다(Contant 등, 1983; Kingston 등, 2001; Kim 등, 2002). 따라서 유리 CTAD 채혈관에 비해 플라스틱 sodium citrate 채혈관에서 aPTT 검사 결과 값이 상대적으로 낮고 fibrinogen 검사 결과 값이 높은 것은 CTAD가 sodium citrate 보다 혈소판 활성화를 더 강하게 억제하였기 때문으로 사료된다.

그러나 두 검체 용기 간에 나타난 결과 값의 차이는 CLSI/NCCLS에서 권장하는 오차범위 $\pm 10\%$ 내에 해당되므로 임상적으로 의미를 두지 않아도 될 것으로 사료된다(CLSI/NCCLS document H30-A, H47-A, 1996). 한편 두 검체 용기 간에 PT 검사 결과 값에는 상대적으로 큰 차이가 없었던 것은 aPTT에 비해 PT는 생화학 반응을 더 적게 거치기 때문인 것으로 사료된다. aPTT는 PT에 비해 상대적으로 혈소판 활성화에 영향을 받는 생화학 반응을 더 많이 거치게 된다.

결론적으로 BD Vacutainer™ 2.7 mL partial draw 유리 CTAD 채혈관의 단점을 보완한 0.109 M BD Vacutainer™ 2.7 mL full draw Plus 플라스틱 Sodium Citrate 채혈관은 검체채취 및 보관이 쉽고, 결과 값이 기존 유리 채혈관과 임상적으로 의미 있는 차이를 보이지 않으므로 기존 유리 채혈관을 대체할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Biron-Andréani C, Mallol C, Séguret F, Schved JF. Plastic versus siliconized glass tubes: evaluation in current laboratory practice. *Thromb Haemost* 83(5): 800-801, 2000.
2. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistician* 32:307-317,

- 1983.
3. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1(8476):307-10, 1986.
 4. CLSI/NCCLS. Procedure for the determination of fibrinogen in plasma; Approved guideline. CLSI/NCCLS document H30-A. CLSI/NCCLS, Wayne, PA, 1996.
 5. CLSI/NCCLS. One-stage prothrombin time(PT) test and activated partial thromboplastin time(aPTT) test; Approved guideline. CLSI/NCCLS document H47-A. CLSI/NCCLS, Wayne, PA, 1996.
 6. Contant G, Gouault-Heilmann M, Martinoli JL. Heparin inactivation during blood storage: its prevention by blood collection in citric acid, theophylline, adenosine, dipyridamole-C.T.A.D. mixture. *Thromb Res* 31(2):365-374, 1983.
 7. D'Angelo G, Villa C. Measurement of prothrombin time in patients on oral anticoagulant therapy: effect of two different evacuated tubes. *Haematologica* 84(7):656-657, 1999.
 8. Kim HK, Song KS, Lee ES, Lee YJ, Park YS, Lee KR, Lee SN. Optimized flow cytometric assay for the measurement of platelet microparticles in plasma: pre-analytic and analytic considerations. *Blood Coagul Fibrinolysis* 13(5):393-397, 2002.
 9. Kingston JK, Bayly WM, Sellon DC, Meyers KM, Wardrop KJ. Effects of sodium citrate, low molecular weight heparin, and prostaglandin E1 on aggregation, fibrinogen binding, and enumeration of equine platelets. *Am J Vet Res* 62(4):547-554, 2001.
 10. Kratz A, Stanganelli N, Van Cott EM. A comparison of glass and plastic blood collection tubes for routine and specialized coagulation assays: a comprehensive study. *Arch Pathol Lab Med* 130(1):39-44, 2006.
 11. Leroy-Matheron C, Gouault-Heilmann M. Influence of conditions of blood sampling on coagulation activation markers (prothrombin fragment 1 + 2, thrombin-antithrombin complexes and D-dimers) measurements. *Thromb Res* 74(4):399-407, 1994.
 12. Lippi G, Guidi GC. Effect of specimen collection on routine coagulation assays and D-dimer measurement. *Clin Chem* 50(11):2150-2, 2004.
 13. Narayanan S. Preanalytical aspects of coagulation testing. *Haematologica* 80(suppl 2):1-6, 1995.
 14. Suchman AL, Griner PF. Diagnostic uses of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time. *Ann Intern Med* 104(6):810-816, 1986.
 15. Tripodi A, Chantarangkul V, Bressi C, Mannucci PM. How to evaluate the influence of blood collection systems on the international sensitivity index. Protocol applied to two new evacuated tubes and eight coagulometer/thromboplastin combinations. *Thromb Res* 108(1):85-89, 2002.
 16. van den Besselaar AM, Chantarangkul V, Tripodi A. A comparison of two sodium citrate concentrations in two evacuated blood collection systems for prothrombin time and ISI determination. *Thromb Haemost* 84(4):664-667, 2000.
 17. Vermynen J, Deckmyn H. Antiplatelet agents: pharmacology and clinical use. In Poller L (ed). *Recent advances in Blood Coagulation*. Number 6. p125-144, Churchill Livingstone, Edinburgh, UK, 1993.
 18. 전현배, 이영경, 이광희, 박지영, 조현찬. 자동응고측정기 STA Compact의 평가. *임상병리와정도관리* 21: 349-353, 1999.
 19. 홍진숙, 박혜란. 김체 채취 후 보관조건이 PT 및 aPTT에 미치는 영향. *대한임상병리학회지* 5:355-359, 1985.