

혈소판치 산정법의 비교 검토

국립의료원 임상생화학과

박혜란 · 정경은 · 손숙자 · 이종석 · 조명준

= Abstract =

A Comparative Evaluation of Platelet Counting Methods

H.R. Park, M.D., K.E. Cheong, M.D., S.J. Soon, M.D., C.S. Lee, M.D. and M.J. Cho, M.D.

Department of Clinical Biochemistry, National Medical Center, Seoul, Korea

A comparative evaluation of automated and manual platelet counting methods, and the influence of sample standing and continuous agitation on the platelet counts have been performed.

The material used in this study consist of 60 cases of EDTA anticoagulated blood showing hematologically normal findings.

The results was follows,

- 1) Generally, manual counting showed lower than automated counting values in normal ranges.
- 2) The differences of count between methodes using whole blood(Coulter Model S-Plus) and method using platelet rich plasma(Coulter Thrombocounter-C) were not significant, but the former was more time saving and reproducible.
- 3) The differences of count between standing and continuous agitation of blood samples for 20 hours in room temperature revealed no statistically significant changes, and they showed lower values than initial counts.

서 론

말초혈액에서의 혈소판 수는 혈액세포산정법중 가장 재현성이 적고¹⁾ 산정법에 따라 오차가 많아^{2~4)} 정도관리상 문제가 되어왔다. 산정법에는 용수법과 자동법이 있는데 용수법에는 혈소판과 적혈구와의 비례관계로 산출하는 간접법과 직접법, 그중에도 광학현미경을 쓰는법과 위상차현미경을 쓰는법 등이 있고^{5,6)} 자동산정법에는 산정방법에 따라서 광학과동에 의한 계수법(optical pulse counting)과 전자과에 의한 계수법(electronic pulse counting)이 있으며 계수에는 전혈을 그대로 사용하는 방법과 혈소판풍부혈장(PRP)을

만들어서 검사하는 방법등이 있다^{2,7~12)}. 자동산정법은 용수법보다 더 정밀하다고 알려져왔고²⁾ 현재의 많은 전수의 혈소판측정을 하는 검사실에서 널리 사용되고 있다. 혈소판은 또한 저장조건에 따라서도 산정치의 변화가 온다고 하였는데^{13,14)} 이에 저자들은 본원에서 사용중인 자동기기 두종류의 산정치를 용수법과 비교 검토하였고, 양 기기로서 실온에서 일정시간동안 계속 교반한 군과 실온방치한 군으로 나누어 저장한 것을 측정하여 초기의 산정치와 비교하여 보았으므로 그 성적을 정리 보고한다.

실험재료 및 방법

1) 실험재료

1981년 7월에 본원에서 건강진단을 받은 17세~53세

본 논문은 국립의료원의 1982년도 임상연구비의 보조로 이루어 졌음

접 수 : 1982년 2월 25일

사이의 60명의 정맥혈을 사용하였는데 모두 EDTA를 함유한 plastic 재질시험관에 채취하였다. 남녀의 비율은 43 : 17이었으며 비교한 세가지 혈소판 계수가 가능하였던 예들이었다.

2) 사용한 자동기기의 일반적 원리

자동산정법에는 크게 두가지 원리가 있는데^{12,13)} 광학파동에 의한 계수법(optical pulse counting method)과 전자파에 의한 계수법(electronic pulse counting method)이 있다. 전자에는 혈구이동형과 혈구고정형이 있고 후자에는 정전용량검출형과 전기저항검출형이 있다. 본원에 있는 Coulter Thrombocounter-C와 Coulter Model S-plus는 전기저항검출형으로서 전해질속에 부유되어 있는 입자(혈소판)가 일정한 정전류가 흐르는 구경을 통과하면 동일한 양의 전해질을 대체하면서 저항이 증가되고 전압이 떨어진다. 이 변화의 진폭은 입자의 용적에 비례하고 pulse의 수는 입자의 수에 비례하므로 일정한 크기의 입자는 모두 계수하게 된다.

3) 각각의 방법

(1) 용수법 : Rees-Ecker 법^{16,17)}에 의해 전혈로써 광학현미경을 사용하여 측정하였으며 각종 혈액검사에 숙달된 동일한 검사기사에 의하여 산정되었다.

(2) Coulter Thrombocounter-C : Coulter™ Thrombo-fuge로써 칩강과정을 촉진시킨 다음 6.6 μl의 혈소판풍부혈장을 20 ml Isoton II에 희석시킨후(1 : 3,000희석) 측정한다. 기기측정에 소요되는 시간은 약 8초간이다¹⁸⁾. 그런후에 HCT selector control을 돌림으로써 “기기 혈소판 수”가 “전혈 혈소판 수”로 전환되는 장치로서 단일시료검사에 소요되는 시간은 약 3분이다.

(3) Coulter Model S-plus: 적혈구가 있는 상태에서 다른 혈액성분을 측정하는 것 외에 혈소판 수를 측정한다. 전혈의 1.6 μl가 흡입되고 1 : 6,250으로 희석된 후 혈소판/적혈구 bath로 들어간다. 부유액은 3

개의 구경을 통해 흡입되는데 혈소판 농도에 따라 4~20초간 지속된다. 2~20 fl 내의 범위에 있는 모든 입자들이 혈소판으로 분류계수되어^{7,19,20)} 자동인쇄기에 의하여 결과가 인쇄된다.

4) 시료저장조건

plastic 시험관에 채혈된 혈액을 전술한 세가지 방법에 의해 혈소판 수를 산정한 후 전혈을 실온에서 20시간동안 계속 교반한 군과 방치한 군으로 나눈다음, Coulter Thrombocounter-C와 Coulter Model S-plus로써 각각 다시 산정하여 처음의 산정치와 비교하였다.

5) 통계학적 관찰

각각 쌍으로 된 결과치의 차이의 평균과 표준편차를 계산하고 방법간의 상관관계를 각각 비교하였다(t-test).

실 험 결 과

1) 혈소판 계수결과

용수법으로는 평균 $230.2 \times 10^3/\mu l$, 표준편차 $61.0 \times 10^3/\mu l$, Coulter Thrombocounter-C로는 평균 $261.5 \times 10^3/\mu l$, 표준편차 $70.9 \times 10^3/\mu l$, Coulter Model S-plus로는 평균 $253.6 \times 10^3/\mu l$, 표준편차 $57.3 \times 10^3/\mu l$ 이며 Coulter Model S-plus에 의한 변이계수(CV)가 22.6으로 가장 낮다(Table 1).

2) 방법간의 비교

세가지 방법에 의한 혈소판 수치를 각각 용수법과 Coulter Thrombocounter-C, 용수법과 Coulter Model S-plus, Coulter Thrombocounter-C와 Coulter Model S-plus의 쌍으로 하여 차이의 평균치와 표준편차를 계산하였고(Table 2) 회귀방정식과 상관계수를 계산하였다(Fig. 1~Fig. 3).

각각의 쌍의 상관계수는 모두 비교적 우수한 상관을

Table 1. Platelet counts by methods

	Sample (No.)	Mean ($\times 10^3/\mu l$)	SD ($\times 10^3/\mu l$)	SE ($\times 10^3/\mu l$)	CV (%)
Manual method	58	230.2	61.0	8.0	26.5
Coulter Thrombocounter-C	57	261.5	70.9	9.4	27.1
Coulter Model S-plus	54	253.6	57.3	7.8	22.6

Table 2. Comparison of differences between each paired platelet counts by methods

	Sample (No.)	\bar{D} ($\times 10^3/\mu l$)	SDd ($\times 10^3/\mu l$)	P value
Manual method vs. Coulter Thrombocounter-C	57	-31.4	45.5	$p < 0.05$
Manual method vs. Coulter Model S-plus	54	-23.4	40.3	$p < 0.05$
Coulter Thrombocounter-C vs. Coulter Model S-plus	54	7.9	44.5	$p > 0.05$

* \bar{D} : The former minus the latter

Table 3. Influence of 20 hour standing and continuous agitation in room temperature on platelet count with EDTA blood by Coulter Thrombocounter-C

	Sample (No.)	\bar{D} ($\times 10^3/\mu l$)	SDd ($\times 10^3/\mu l$)	P value
Initial count vs. after 20 hr. cont. agit.	54	22.0	65.9	$p < 0.05$
Initial count vs. after 20 hr. stand	54	8.6	62.5	$p > 0.05$
After 20 hr. cont. agit. vs. after 20 hr. stand	57	-10.9	42.5	$p > 0.05$

* \bar{D} : The former minus the latter

Table 4. Influence of 20 hour standing and continuous agitation in room temperature on platelet count with EDTA blood by Coulter Model S-plus

	Sample (No.)	\bar{D} ($\times 10^3/\mu l$)	SDd ($\times 10^3/\mu l$)	P value
Initial count vs. after 20 hr. cont. agit.	54	12.9	36.8	$p < 0.05$
Initial count vs. after 20 hr. stand	54	12.8	36.5	$p < 0.05$
After 20 hr. cont. agit. vs. after 20 hr. stand	60	0.1	16.2	$p > 0.05$

\bar{D} : The former minus the latter

보였다. 이중 용수법과 Coulter Thrombocounter-C ($\bar{D} = -31.4 \times 10^3/\mu l$, $SD = 45.5 \times 10^3/\mu l$, $p < 0.05$), 용수법과 Coulter Model S-plus ($\bar{D} = -23.4 \times 10^3/\mu l$, $SD = 40.3 \times 10^3/\mu l$, $p < 0.05$)의 결과로서 양 기기에 의한 산정치가 용수법보다 유의있는 높은치를 나타내었으나 Coulter Thrombocounter-C와 Coulter Model S-plus 계수치와의 검정결과는 95%신뢰도로 볼 때 통계학적 차가 없었다.

3) 저장조건에 따른 비교

혈소판붕부혈장을 사용하여 Coulter Thromboco-

unter-C 로써 정한 산정치차이의 평균치와 표준편차를 계산하였고 (Table 3) 저장방법에 따라 쌍으로 하여 각각 회귀방정식 및 상관계수를 계산하였다 (Fig. 4~Fig. 6).

초기산정치와 20시간 실온저장한 군의 산정치의 상관관계는 계속 교반시가 $r = 0.483$ 으로서 비교적 낮은 상관을 보였으며 ($p < 0.05$), 교반치 않고 저장한 군과 초기산정치사이 ($r = 0.620$, $p > 0.05$) 및 교반치 않고 실온저장한 군의 산정치사이에는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않는다 ($p > 0.05$).

또한 Coulter Model S-plus 로써 산정한 실험결과는

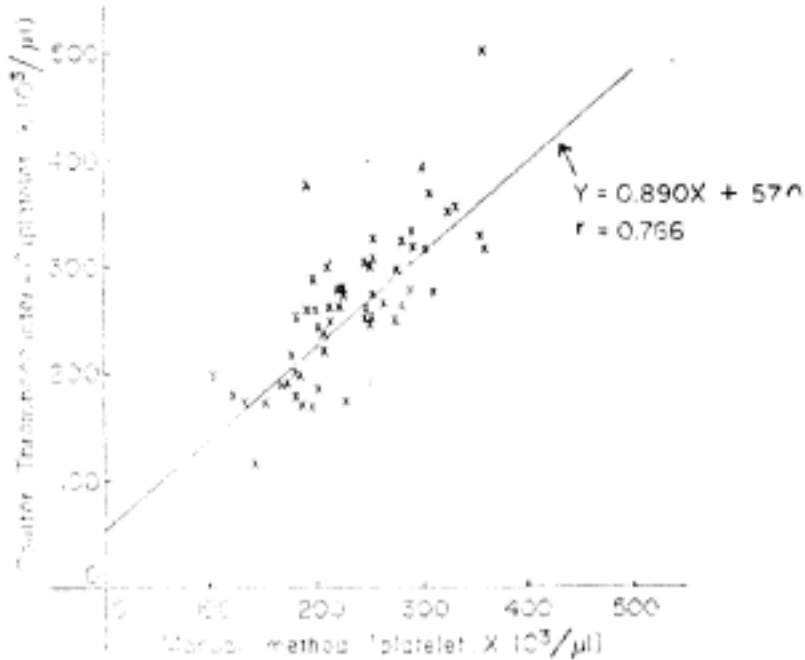


Fig. 1. Correlation between manual and Coulter Thrombocounter-C values

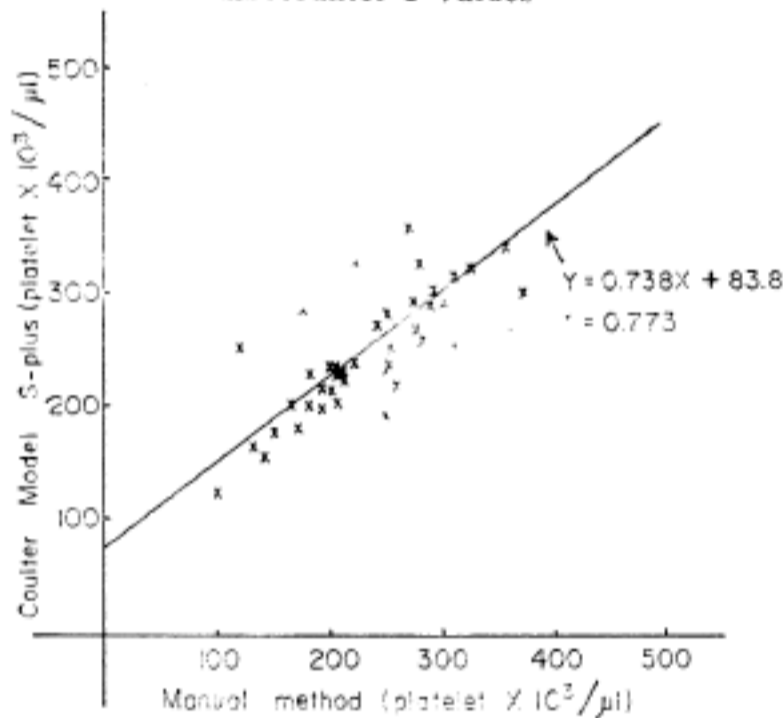


Fig. 2. Correlation between manual and Coulter Model S-plus values.

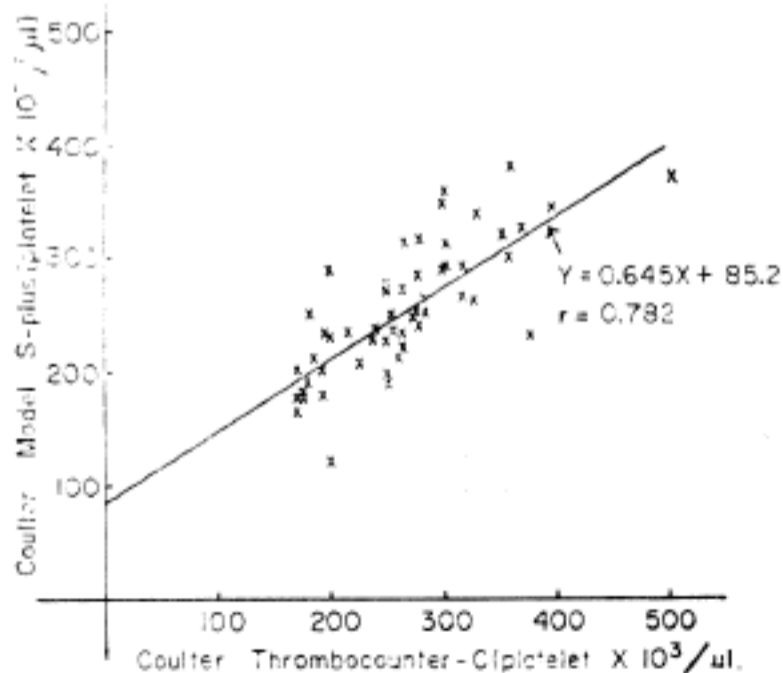


Fig. 3. Correlation between Coulter Thrombocounter-C and Coulter Model S-plus values.

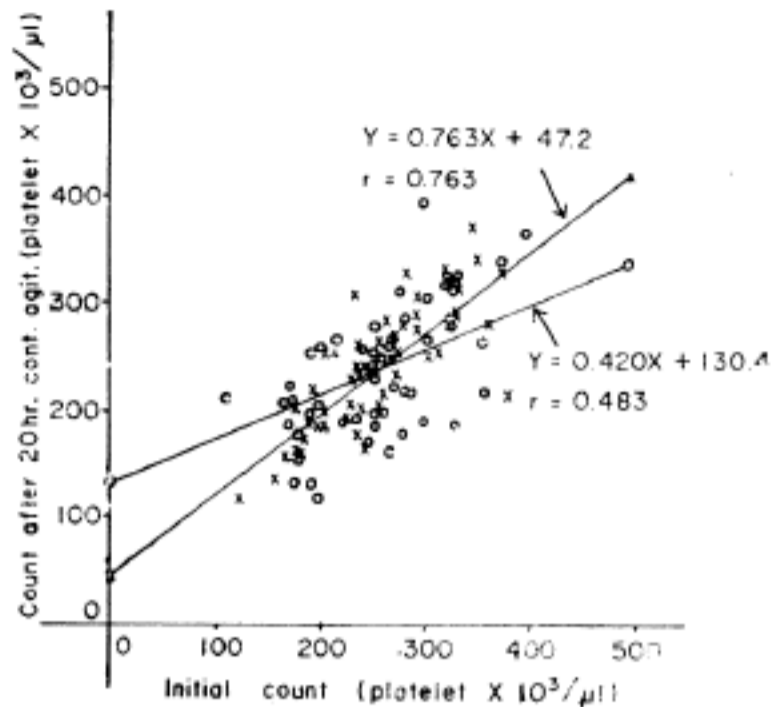


Fig. 4. Correlation between initial count and count after 20 hr. continuous agitation of whole blood in room temperature.

○—○: Coulter Thrombocounter-C
×—×: Coulter Model S-plus

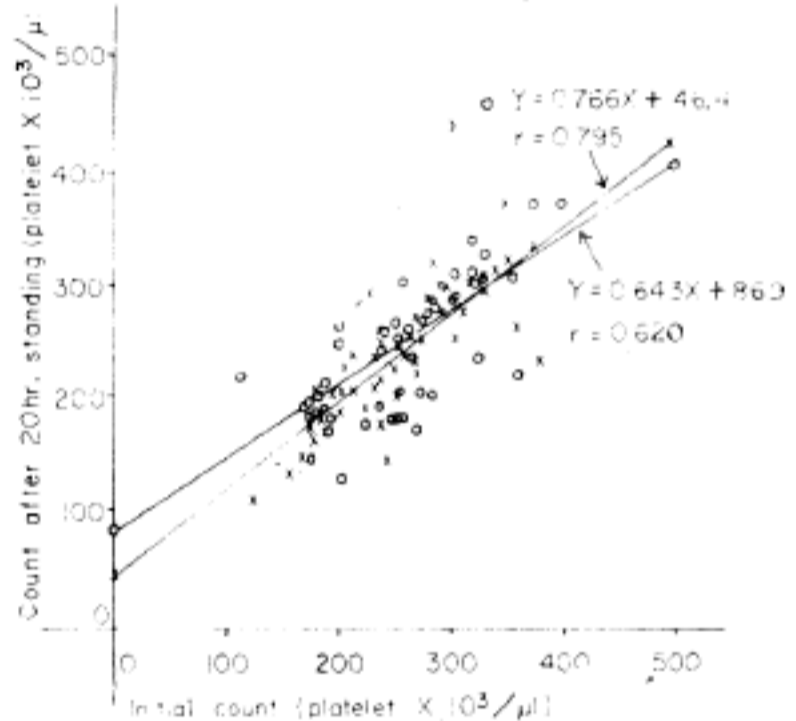


Fig. 5. Correlation between initial count and count after 20 hr. standing of whole blood in room temperature.

○—○: Coulter Thrombocounter-C
×—×: Coulter Model S-plus

Table 4 및 Fig. 4~Fig. 6에서 보는 바대로 교반시키면서 20시간 저장한 군이나 교반치 않고 실온저장한 군 모두 즉시 한 군보다 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 교반치않고 둔 군과 교반시키면서 둔 군과의 관계는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

총괄 및 고찰

임상적인 결정은 기본적으로 임상검사 성적에 의하여 좌우되는 일이 많이 있는데 그중에서도 현액검사결

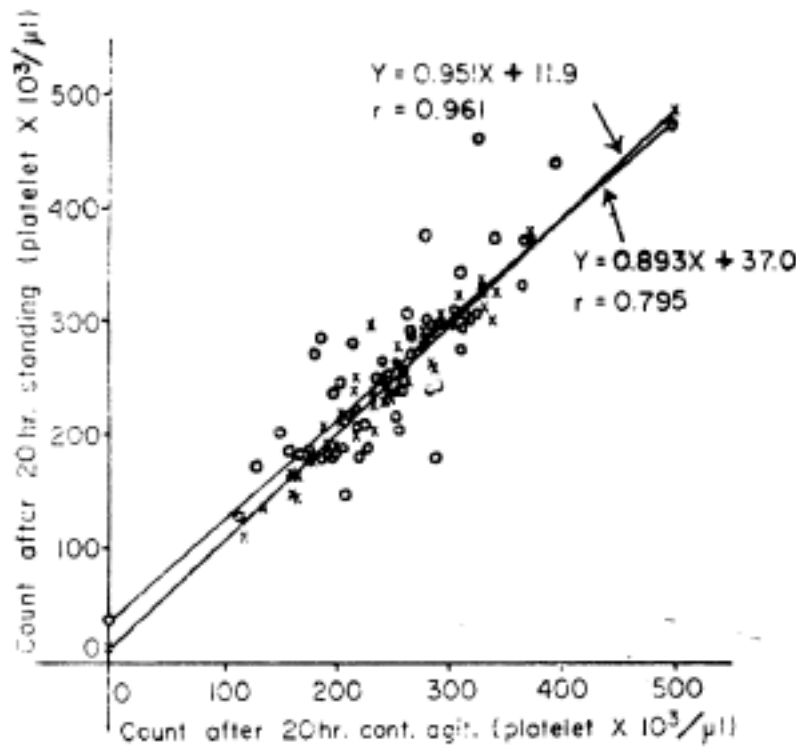


Fig. 6. Correlation between count after 20 hr. continuous agitation and count after 20 hr. standing of whole blood in room temperature.
 ○—○: Coulter Thrombocounter-C
 ×—×: Coulter Model S-plus

과는 가장 기초적인 것으로서 환자에게 숨어있는 병소를 발견하는데 중요한 기본역할을 할 때가 많다. 그러나 혈소판 수는 혈액세포산정치중 재현성이 우수하지 못한 경우가 많으므로 금방 재혈한 것으로서 모든 과정에서 숙련된 기술이 요구되고 어떤 방법을 사용하였던간에 동시에 준비된 도말표본검경을 병행하므로써^{15,21)} 수적인 것과 동시에 형태상의 변화등을 관찰하여 산정치에 대한 정드관리에 만전을 가할 수 있다고 할 정도로 임상검사중 비교적 많은 오차를 보이는 검사항목으로 지목받고 있다. 혈소판산정의 시작적 방법중 가장 좋은 것은, Wertz 등¹⁰⁾은 광학현미경과 위상차현미경사이에 뚜렷한 차를 인정치 않고 있으나 일반적으로 위상차현미경을 이용한 법이고¹²⁾, 하루에 20건 이상 행하는 검사실에서는 전자파에 의한 계산법(electronic platelet counting)을 적용하는 편이 경제적인 것으로 되어있는 바 일반적으로 용수법보다 자동산정법이 더 정확하고 빠르다고 알려져왔다^{2,7~9,11,15)}. 그러므로 자동검사법을 사용하는 빈도가 늘어나고 있는 오늘날 자동검사기에 의한 검사치의 신빙성에 대하여 임상검사실에서는 물론, 임상 의사들도 알아두는 것이 유익하다고 하겠다. 특히 Mayer⁸⁾등은 혈소판 수의 감소, 증가 등 모든 경우에 정확한 결과를 보일 수 있는 기기는 있을 수 없다고는 하지만 기기의 발전은 확실

히 혈소판 수 계산법과 기술의 큰 발전이라고 하였다. 혈구계산판을 사용하여 행하는 용수법에서의 오차의 원인을 보면 기구, 시약, 온도, 시간 및 기타 개인적 기술, 또한 기타 많은 오차의 원인을 들 수 있는데 이는 혈구계산판의 세포분포에 의존하므로 피할 수는 없지만 가능한 한 많은 세포를 산정하므로써 감소시킬 수 있다²²⁾. 전자기기로서 나타나는 오차의 원인에는 linearity의 결여, calibration의 변동, 부정확한 calibration, carry-over, coincidence loss, 응괴에 의한 flow system의 전색, 예기치 못한 기능부전 등을 들 수 있다¹⁵⁾. 또한 혈소판중부혈장을 사용하는 방법에서는 전혈 혈소판수에 도달하기 위해 raw count는 coincidence effect, 희석, 전기문제, 구경을 통해 흡입되는 실제용량, 적혈구용적(HCT)등이 반드시 교정되어야 한다고 하여^{1,2,16,21)} 모든 방법이 각각 장단점을 갖고 있음을 알 수 있다.

본 실험에서 나타난 초기 혈소판 산정결과를 보면 Coulter Thrombocounter-C와 Coulter Model S-plus 모두 용수법보다 높게 나왔는데, 타 문헌들 중 용수법이 높은치를 보인다는 것¹⁰⁾, 자동기기계수법에서 낮은치를 보인다는 것²³⁾, 혈소판 감소가 심한 예에서 자동기기계수법이 높게 나온다는 보고⁸⁾등이 있다. 그러나 본 실험에서 보인 용수법과 자동기기 간의 상관계수가 각각 Coulter Thrombocounter-C($r=0.766$), Coulter Model S-plus($r=0.773$)등으로 Mayer 등⁸⁾이 제시한 Coulter Model S-plus($r=0.973$), ELT-8($r=0.981$), MK-4($r=0.980$), Ultra Flo 100($r=0.948$)보다 상관계수가 낮기는 하나 대상수가 비교적 적었고 이들이 사용한 위상차현미경과 본 실험에서의 광학현미경에 의한 차이가 아닐까하는 추리를 하게 하였으나 전자기기에 의한 산정치가 일반적으로 높으며 비교적 재현성에도 큰 문제가 없음을 나타낸다고 하겠다.

EDTA 혈액은 채혈한 후 4°C에선 24시간, 20°C에선 5시간동안 영향을 받지 않고 교반할 경우 8시간까지도 혈소판산정에 영향을 안 끼친다고 하였는데^{1,13)}, 본 실험에서는 Coulter Thrombocounter-C에서는 계속 교반시키면서 20시간 둔 군이 즉시 한 군보다 낮게 나왔으며 ($p<0.05$) 교반치않고 실온보관한 군과 즉시 한 군, 교반하면서 둔 군과 교반치않고 둔 군사이에는 유의한 차이를 보이지 않았다($p>0.05$).

Coulter Model S-plus에서도 교반시키면서 20시간 둔 군이 즉시 한 군보다 낮은 검사치를 보였으며 교반없이 둔 군도 즉시 한 군보다 낮았다. 교반없이 실온보관한 군과 교반하면서 둔 군과의 관계는 통계학적

의의가 없었다($P > 0.05$). 이상의 결과에서 볼때 Coulter Thrombocounter-C에서는 혈소판중부혈장을 사용하므로서 전혈을 사용하는 Coulter Model S-plus 보다는 조작과정 혹은 교정계수(correction factor)등으로 인해서 산정에 좀더 영향을 끼치는 듯한 결과를 얻었다. 또한 양 기기를 이용하여 측정된 바와같이 20시간 실온에 두면 교반시키거나 혹은 안시키건간에 별 관계없이 혈소판산정에 감소영향을 준다는 것을 알 수 있었다.

요 약

다른 혈액검사 소견이 정상이었던 60명의 EDTA 혈액을 사용하여 혈소판의 산정을 용수법, Coulter Thrombocounter-C, Coulter Model S-plus 로써 비교 검토하고 시료의 장시간 방치로 인한 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 정상범위내에서 용수계수법은 자동계산기기에 의한 것보다 낮은 혈소판검사치를 나타내었다.
- 2) 전혈을 이용하는 법이나 혈소판중부혈장(PRP)을 이용하는 법간의 차이는 인정할 수 없었으나 전혈을 사용하는 법이 시간적으로 신속하고, 교정계수의 영향을 받는 일이 적어서 재현성이 우수한 듯하였다.
- 3) 20시간의 실온방치나 계속 교반한 구간에는 검사치에 유의한 차이가 없었고 초기 계수치보다는 감소되었다.

참 고 문 헌

- 1) Henry JB: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 16th edition. Philadelphia, WB Saunders, 1979, p885
- 2) Bull BS, Schneiderman MA, Brecher G: *Platelet counts with the Coulter counter*. *Am J Clin Pathol* 44:678, 1965
- 3) Biggs R, MacMillan RL: *The errors of some hematological methods as they are used in a routine laboratory*. *J Clin Pathol* 1:269, 1948
- 4) Brecher G, Schneiderman M, Cronkite EP: *The reproducibility and constancy of the platelet count*. *Am J Clin Pathol* 23:15, 1953
- 5) Dameshek W: *A method for simultaneous enumeration of blood platelets and reticulo-*

- cytes*. *Arch Intern Med* 50:579, 1932
- 6) Brecher G, Cronkite EP: *Morphology and enumeration of human blood platelets*. *J Appl Physiol* 3:365, 1950
- 7) Dalton WT, Bollinger P, Drewinko B: *A side-by-side evaluation of four platelet-counting instruments*. *Am J Clin Pathol* 74:119, 1980
- 8) Mayer K, Chin B, Magnes J, Thaler HT, Lotspeich C, Baisley A: *Automated platelet counters. A comparative evaluation of latest instrumentation*. *Am J Clin Pathol* 74:135, 1980
- 9) Day HJ, Young E, Helfrich M: *An evaluation of a whole blood platelet counter*. *Am J Clin Pathol* 73:588, 1980
- 10) Wertz RK, Koepke JA: *A critical analysis of platelet counting methods*. *Am J Clin Pathol* 68:195, 1977
- 11) Ross DW, Ayscue L, Gulley M: *Automated platelet counts. Accuracy, precision, and range*. *Am J Clin Pathol* 74:151, 1980
- 12) Rowan RM, Medonald GA, Nicoll WD: *Automated platelet counting*. *Br J Haematol* 35:666, 1977
- 13) Lampasso JA: *Changes in hematologic values induced by storage of ethylenediamine tetraacetate human blood for varying periods of time*. *Am J Clin Pathol* 49:443, 1968
- 14) Simmons A: *Technical hematology*. 2nd edition. Philadelphia, JB Lippincott, 1976, p 216
- 15) Sonnenwirth AC, Jarett L: *Graddwohl's clinical laboratory methods and diagnosis*. 8th edition. St. Louis, CV Mosby, 1980, p785
- 16) Bauer JD, Ackerman PG, Toro G: *Clinical laboratory methods*. 8th edition. St. Louis, CV Mosby, 1977, p166
- 17) Tocantins LM: *Technical methods for the study of blood platelets*. *Arch Pathol* 23:850, 1937
- 18) Instruction manual for the Coulter Thrombocounter-C, 6th issue.: Coldharbour, Coulter Electronics, 1979, p19
- 19) Instruction manual for the Coulter Model S

- plus. 4th issue. Northwell, Coulter Electronics, 1980, p 3-4
- 20) Bessman JD: *Evaluation of automated whole blood platelet counts and particle sizing. Am J Clin Pathol* 74:137, 1980
- 21) Hyun BH, Ashton Jk, Dolan K: *Practical hematology. 1st edition. Philadelphia, WB Saunders, 1975, p222*
- 22) Raphael SS: *Lynch's Medical laboratory technology. 3rd edition. Philadelphia, WB Saunders, 1976, p1080*
- 23) Kjeldsberg CR, Hershgold EJ: *Spurious thrombocytopenia. JAMA* 227:628, 1974
-