

## 비예기항체 동정검사 시 효소법 추가 검사의 진단적 유용성

부산대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실, <sup>1</sup>내과학교실, <sup>2</sup>국군수도병원 진단검사의학과  
이대동 · 오승환 · 신호진<sup>1</sup> · 정주섭<sup>1</sup> · 조군제<sup>1</sup> · 박태성<sup>2</sup> · 이은엽 · 손한철 · 김형회

### Diagnostic Usefulness of Antibody Identification Test Including Enzyme Method

Dae Dong Lee, M.D., Seung Hwan Oh, M.D., Ho Jin Shin, M.D.<sup>1</sup>, Joo Seop Chung, M.D.<sup>1</sup>,  
Goon Jae Cho, M.D.<sup>1</sup>, Tae Sung Park, M.D.<sup>2</sup>, Eun Yup Lee, M.D.,  
Han Chul Son, M.D. and Hyung Hoi Kim, M.D.

Departments of Laboratory Medicine and <sup>1</sup>Internal Medicine, Pusan National University School of Medicine, Busan,  
<sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine, Armed Forces Capital Hospital, Seongnam, Korea

**Background:** Many medical institutions in Korea have recently been performing an antibody screening test as one of the essential elements of a pre-transfusion test. In this study we will determine the advantage and clinical significance of adding an enzyme method to the antiglobulin method while conducting the antibody identification test.

**Methods:** We performed antibody identification tests between December 2002 and December 2005, for a total of 37 months at Pusan National University Hospital. In this study we have analyzed 550 cases that were conducted by both the antiglobulin method and the enzyme method at the same time.

**Results:** A total of 111 of the results were cases of detection using the adding an enzyme method. Among these results, Rh antibodies that included the anti-E had the highest number of results 77 (69.4%), 28 antibody (25.2%), 2 anti-P1 (1.8%) and one anti-Jk<sup>b</sup> (0.9%).

**Conclusion:** Using the enzyme method in the antibody identification test proved to us that there were more clinically significant warm antibodies than cold antibodies. In order to have a more secured transfusion, it is required to identify a clinically significant antibody using the additional enzyme method during the antibody identification test. (*Korean J Hematol* 2006;41:167-171.)

**Key Words:** Antibody identification test, Antiglobulin method, Enzyme method

### 서 론

수혈 전 검사는 ABO 혈액형검사, RhD 혈액형검

사, 항체선별검사 및 교차시험으로 구성된다.<sup>1)</sup> 이 중 항체선별검사는 환자의 혈액 내에 존재하는 비예기항체를 찾아내어 동종항체에 의한 용혈성 수혈반응을 막아주는 역할을 한다.

접수 : 2006년 4월 20일, 수정 : 2006년 8월 29일

승인 : 2006년 9월 12일

교신저자 : 김형회, 부산광역시 서구 아미동 1-10

☎ 602-739, 부산대학교 의과대학 진단검사의학교실

Tel: 051-240-7414, Fax: 051-247-6560

E-mail: hhhkim@pusan.ac.kr

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

Correspondence to : Hyung Hoi Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Pusan National University College of Medicine

1-10, Ami-dong, Seo-gu, Busan 602-739, Korea

Tel: +82-51-240-7414, Fax: +82-51-247-6560

E-mail: hhhkim@pusan.ac.kr

국내에서는 1990년대 후반부터 원주응집법이 보급되면서 판독의 용이성 때문에 중소 의료기관에서도 수혈 전 항체선별검사를 시행하기 시작하였고, 1998년도에 비예기항체 선별검사가 수혈 전 검사로 보험급여가 이루어지면서 전국으로 확산되었다. 또한 원주응집법 검사 후 시험관법으로 시행하던 시기에 비해 임상적으로 의미있는 온난항체의 검출 빈도도 5.8~20%에서 50~85%로 높아지게 되었다.<sup>2-5)</sup> 그러나 통상적으로 시행되고 있는 항글로불린 단계까지의 비예기항체 검출은 역가가 낮은 Rh 및 Kidd 계열에 대해서는 항글로불린 단계 검사만으로는 놓칠 수 있다는 보고가 있어 본 연구에서는 효소처리된 동정혈구를 이용하여 비예기항체를 검출하는 경우 추가적으로 검출할 수 있는 비예기항체의 빈도 및 임상적 의의를 평가하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2002년 12월부터 2005년 12월 사이에 부산대학교 병원에서 항체선별검사 결과 양성이었던 885명 중

항체동정검사 시 효소법을 첨가하여 실시한 550명의 환자 검체를 대상으로 혈액은행에 보관된 검사결과 기록과 환자의 의무기록을 후향적으로 조사하여 분석하였다.

### 2. 방법

**1) LISS/Coombs 방법을 이용한 항체선별 및 동정검사:** 항체선별검사를 위해 1.0% 적혈구 부유액이며 선별혈구인 panel DiaCell I, II, Di<sup>a+</sup> (DiaMed AG, Cresier, Morat, Switzerland)를 각각 LISS/Coombs' card에 50  $\mu$ L씩 넣고 환자 혈청 25  $\mu$ L를 첨가하였다. 이를 37°C에서 15분간 반응시킨 후 ID-centrifuge 12S (DiaMed AG)로 910 rpm에서 10분간 원침하였다. 결과는 제조사의 판독 지침에 따라 음성에서부터 4+까지 나누어 판정하였다. 자가대조 검사는 미리 만들어둔 환자의 1.0% 적혈구 부유액 50  $\mu$ L를 LISS/Coombs' card에 넣고 환자 혈청 25  $\mu$ L를 첨가한 후 위와 동일한 방법으로 시행하였다.

LISS/Coombs 항체동정검사를 위해 1.0% 적혈구 부유액 11개(1~11)의 Set ID-DiaPanel (DiaMed AG)을 각각 LISS/Coombs' card (DiaMed AG)에 50  $\mu$ L씩 넣

**Table 1.** The analyzed results of distribution of unexpected antibodies by antibody identification test including antiglobulin method and enzyme method in 550 patients

	Group I	Group II	Group III	Group IV
Rh	1	138	38	39
Anti-c		1	1	
Anti-C		3	4	
Anti-C, e		8	1	8
Anti-D		5	2	
Anti-D, E		2		
Anti-E	1	107	29	
Anti-E, c		12	1	31
Diego		21	1	
Duffy	8			
Kidd		4	1	
Lewis	4	26	28	
MNS	18			
P			2	
Xg	4			
Autoantibody	14	36		
Unidentified antibody	78	76	2	
Negative		11		
Total 127	312	72	39	

Group I-IV are carefully described in the Materials and Methods of this paper.

고 환자 혈청 25  $\mu$ L를 첨가한 후 위와 동일한 방법으로 시행하였다.

**2) 효소처리 혈구를 이용한 항체동정검사:** 효소법을 위해 papain 처리된 1.0% 적혈구 부유액 11개(1~11)의 Set ID-DiaPanel P (DiaMed AG)를 각각 NaCl/Enzyme card (DiaMed AG)에 50  $\mu$ L씩 넣고 환자 혈청 25  $\mu$ L를 첨가하였다. 이를 LISS/Coombs 방법과 동일한 방법으로 검사하고 판독하였다.

### 3. 반응성에 대한 정의

항글로불린법과 효소법을 이용한 항체동정검사 결과에 근거하여 다음과 같이 4가지 그룹으로 구분하였다.

Group I: +/- 항글로불린법에서 항체가 동정되고 효소법에서 소실되는 경우.

Group II: ++ 항글로불린법에서 항체가 검출되고, 같은 항체가 효소검사법에도 나오는 경우.

Group III: -/+ 항글로불린법에서 놓친 것을 효소법에서만 찾아낸 경우.

Group IV: ++ 항글로불린법에서 한가지 항체가 검출되었고 효소법으로 새로운 항체가 더 검출된 경우.

## 결 과

대상환자 550명의 검사결과를 항글로불린법으로 동정한 결과와 효소법에 의한 반응소실 및 추가동정결과를 그룹별로 분석하면 Table 1과 같다.

1. Group I은 총 127예로 이 중 MNS 계열 18예, Duffy 계열 8예, Xg 계열 4예였다. 그리고 몇몇 드문 예로써, Lewis 계열 항체는 4예로 항-Le<sup>a</sup> 3예, 항-Le<sup>b</sup> 1예였다. Rh 계열의 항-E 1예, unidentified antibody 78예, autoantibody 14예가 있었다.

2. Group II는 총 312예로 Rh 계열 138예, Lewis 계열 26예, Diego 계열 21예, Kidd 계열 4예 등이었다.

3. Group III은 총 72예로 Rh 계열이 38예, Kidd 계열 28예 등이었다. 항글로불린법의 비특이적인 반응이 효소법에서 소실되면서 항체동정된 Diego 계열 항체와 항-E+항-c 각각 1예도 있었다.

4. Group IV는 총 39예로 Rh 계열 중 항-E+항-c에서 항-c가 추가로 동정된 것이 31예, 항-C+항-e에서 항-e가 추가로 동정된 것이 8예였다.

항글로불린법에서 불확실한 반응을 보였으나, 효소법에서 비예기항체가 동정된 11명의 환자에서의 임신, 수혈력 및 비예기항체를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 그룹 III, IV와 같이 효소법만으로 검출할

**Table 2.** The characteristics of the eleven unexpected identified by enzyme method only

Gender	Male	2
	Female	9
Transfusion History	No	1
	Yes	8
	Not known	2
Antibody (ies) identified	Anti-E	6
	Anti-C	2
	Anti-C, e	1
	Anti-Le <sup>a</sup>	2

수 있는 비예기항체에 임상적으로 중요한 항체가 포함되어 있다.

## 고 찰

최근 10여 년간 국내에서 비예기항체에 대한 많은 관심과 항체검출기술의 발전으로 항체선별검사를 포함한 수혈전검사 영역에 많은 발전이 있었다. 초창기에는 시험관법을 이용한 연구들이 대부분이었고, 이때 동정된 비예기항체들은 임상적으로 큰 문제가 없는 항-Le<sup>a</sup>, 항-Le<sup>b</sup>, 항-P1 등의 한랭항체가 대다수를 차지하였으나, 이후에 원주응집법을 이용한 연구에서는 항-E와 항-c 등 임상적으로 의미있는 온난항체가 높은 빈도로 발견되었다.<sup>2-13)</sup>

비예기항체는 수혈받는 환자에서 급성 또는 지연성 용혈성수혈반응을 야기할 수 있기 때문에 임상적으로 중요하다.<sup>14)</sup> 비예기항체에 의한 수혈부작용을 예방하기 위해서는 항체선별검사 또는 항글로불린법을 이용한 교차시험이 필수적이다.<sup>1)</sup> 항체동정검사 역시 항체선별검사가 이루어지는 기관에서 대부분 시행하고 있으며, 기본적으로 항글로불린법을 이용한 동정검사가 대부분을 차지하고 있다. 그러나 효소법이나 추가적인 검사법을 이용한 항체동정검사의 경우 의료수가를 인정받지 못하고 있어 많은 기관들에게 적용하기에는 현실적으로 어려움이 있다.

항체동정검사 시 항글로불린법을 이용한 검사는 표준적인 방법으로 여겨지고 있으며, 효소법을 이용한 비예기항체 동정검사에 대해서는 연구 결과마다 다양한 결론을 나타내고 있다.<sup>13,15-21)</sup> 하지만, 효소법을 이용한 비예기항체 동정검사는 임상적 의의를 가지는 비예기항체를 추가적으로 동정할 수 있다는 장점이 있다. 이러한 항체 중 대표적인 종류는 Rh

및 Kidd 계열의 비예기항체이다.<sup>14,22-24)</sup> 이들 항체는 대부분 수혈이나 임신 등의 면역반응에 의해서 생성되는 온난항체들로 항체가 형성된 환자에게 해당 항원 음성인 혈액을 수혈하지 않으면 심각한 용혈성 수혈반응이 일어난다.<sup>7-9,14)</sup> 또한, 항글로불린법에서 동정된 비예기항체가 효소법에서 완전하게 반응이 사라짐으로써 해당 항체를 한번 더 간접적으로 확인할 수 있는데 이러한 항체의 대표적인 예가 Duffy, MNSs 및 Xg 계열의 항체이다.<sup>14,22-24)</sup> 더욱이, 효소법에 의해서 반응이 증강되는 항체와 반응이 사라지는 항체가 공존하는 경우 항글로불린법 및 효소법을 동시에 이용하지 않으면 정확한 비예기항체 동정에 어려움을 겪을 수 있다.

본 연구에서는 효소법의 추가로 기존의 다수 보고<sup>5,14,15-24)</sup>에서처럼 Rh 계열의 비예기항체를 높은 빈도로 추가적으로 동정할 수 있었다. 특히, 항-C+항-e, 항-E+항-c처럼 2가지 이상의 항체가 동정되는 경우에 검출 비율이 높아져 원주응집법을 이용한 효소법 추가의 중요성을 다시 한 번 확인할 수 있다.

항글로불린법과 효소법을 모두 사용하여도 동정이 되지 않는 항체들의 비율이 높다는 사실도 주목할 만하다. 단순히 효소법만을 이용한 항체동정검사가 항글로불린법보다 우월하거나 단독으로 의의를 가질 것으로 생각되지는 않으나, 본 연구를 통해서 다음과 같은 경우에 항글로불린법에 효소법을 추가적으로 검사하는 것이 필요할 것으로 판단된다. 첫째, Rh 계열의 항체가 검출된 경우에 둘 이상의 동종항체가 존재하는지(항-C+항-e 또는 항-E+항-c)의 여부를 확인하기 위해서 필요하다. 둘째, Duffy, MNSs, Xg 계열의 항체가 동정되었을 경우 이들 항체의 특이성을 확인하기 위해서 효소법을 이용한 반응소실을 확인할 필요가 있다. 셋째, 항글로불린법으로 명확하게 동정되지 않는 항체가 존재하는 경우 효소법을 이용해서 임상적으로 유의한 비예기항체의 존재 여부를 확인할 필요가 있다.

최근 수년간 국내 여러 기관들의 노력에 의해서 항체선별검사가 기본적인 수혈 전 검사로서 정착해가고 있다.<sup>25)</sup> 하지만, 아직도 항체동정검사를 실시하지 않는 기관들이 많고, 실시하는 대부분의 기관들도 항글로불린법만을 이용하고 있기 때문에 상당수가 정확한 결과를 얻는 데 어려움을 겪고 있다. 국내의 많은 의료기관들은 수혈 대상 환자의 0.5~1% 빈도로 존재하는 비예기항체를 찾아서 이 항체들에 의한 용혈성수혈반응을 피하고자 많은 노력을 해 오고 있

다.<sup>2-13,25)</sup> 그러나 항체가 검출된 환자에서 보다 적극적인 동정검사가 이루어지지 않는다면 비예기항체를 선별해 놓고도 용혈반응을 피하지 못하는 모순된 현상이 생길 수 있다. 이러한 점들을 보완하기 위해서 항체동정검사 시 항글로불린법뿐만 아니라 효소법 등의 다른 항체동정검사를 추가적으로 시행할 수 있도록 국가에서는 의료수가를 현실화하고, 각 의료 기관에서도 이에 대해서 보다 적극적인 관심을 가지고 검사를 시행하는 것이 반드시 필요하다 고 생각한다.

## 요 약

**배경:** 최근 많은 의료기관에서 항체선별검사를 수혈전검사로 실시하고 있다. 본 연구는 항체동정검사 시 항글로불린법에 효소법을 추가함으로써 얻을 수 있는 이점 및 임상적 의의를 평가하고자 시행되었다.

**방법:** 부산대학교병원에서 2002년 12월부터 2005년 12월까지 총 37개월간 실시된 항체동정검사 중 항글로불린법과 효소법이 동시에 시행된 550예를 분석 대상으로 하였다.

**결과:** 효소법을 추가해서 동정이 가능한 경우는 111예로 이 중 항-E를 포함한 Rh 계열 항체가 77예(69.4%)로 가장 흔하였고, Lewis 계열 항체가 28예(25.2%), P1이 2예(1.8%), 항-Jk<sup>b</sup> 항체는 1예(0.9%) 순이었다.

**결론:** 효소법에 의한 항체동정검사 시 검출된 항체는 한랭항체보다는 임상적 의의가 높은 Rh 계열의 온난항체가 많았다. 보다 안전한 수혈을 위해 항체동정검사 시 효소법을 추가하여 검사하는 것이 임상적으로 의의있는 비예기항체의 정확한 동정을 위해 반드시 필요한 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

- 1) Brecher ME. Technical manual. 15th ed. Bethesda, Maryland: American Association of Blood Banks, 2005:271-360.
- 2) Lee WH, Kim SY, Kim HO. The incidence of unexpected antibodies in transfusion candidates. Korean J Blood Transfusion 2000;11:99-103.
- 3) Cho YK, Kim DS, Lee HS, Choi SI. The frequency and distribution of unexpected antibodies in surgical patients at Chonbuk National University Hospital. Korean J Lab Med 2004;24:67-71.

- 4) Oh GY, Huh JW, Lee MA, Chung WS. Usefulness of column agglutination test for irregular antibody screening and identification. *Korean J Clin Pathol* 2000;20:98-102.
- 5) Jung TK, Lee NY, Bae HG, Kwon EH, Park SH, Suh JS. Unexpected antibody positivity with the Use of the LISS/Coombs gel test. *Korean J Clin Pathol* 2001;21:422-5.
- 6) Han KS, Han BY. Antibody Screening Test, low-ionic-strength salt solution, Unexpected Antibodies. *Korean J Clin Pathol* 1994;14:212-6.
- 7) Park TS, Kim KU, Kim HH, et al. Acute hemolytic transfusion reactions due to multiple alloantibodies including anti-E, anti-c and anti-Jk<sup>b</sup>. *J Korean Med Sci* 2003;18:894-6.
- 8) Kim HH, Park TS, Oh SH, Lee EY, Son HC. Naturally-occurring anti-Mi<sup>a</sup> in a 16-year-old Korean man: a case study and a review of the literature. *Korean J Lab Med* 2004;24:146-8.
- 9) Park TS, Hwang SY, Kim HH, et al. Transfusion therapy in a patient with hemolytic transfusion reaction due to anti-Jk<sup>a</sup>. *Korean J Blood Transfusion* 2003;14:60-4.
- 10) Park TS, Oh SH, Choi JC, et al. The clinical significance of antibody screening test including di<sup>a</sup> panel cell in Asian-mongoloid populations. *J Korean Med Sci* 2003;18:669-72.
- 11) Park TS, Oh SH, Choi JC, et al. A case of anti-Xg<sup>a</sup> in a young man without previous transfusion. *Korean J Lab Med* 2002;22:437-40.
- 12) Sung NH, Jeon TY, Lee EY, Chung JS, Cho GJ, Kim HH. Prevalence and specificity of unexpected antibody using antibody screening test including Di<sup>a</sup> and Mi<sup>a</sup> cells. *Korean J Lab Med* 2005;25:340-6.
- 13) Shin JW, Jeong SH, Nahm CH, Kim HO, Kwon OH. The direct antiglobulin test and antibody screening test based on the antiglobulin gel technique. *Korean J Clin Pathol* 1996;16:411-8.
- 14) Han KS, Park MH, Kim SI. Transfusion medicine. 2nd ed. Seoul: Korea Medical Publishing Co, 1999: 83-252, 364-6.
- 15) Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft SJ, et al. Lack of clinical significance of "enzyme-only" red cell alloantibodies. *Transfusion* 1993;33:284-93.
- 16) Reisner R, Butler G, Bundy K, Moore SB. Comparison of the polyethylene glycol antiglobulin test and the use of enzymes in antibody detection and identification. *Transfusion* 1996;36:487-9.
- 17) Van Dijk BA. Lack of clinical significance of "enzyme-only" red cell alloantibodies. *Transfusion* 1993; 33:960.
- 18) Pereira A, Mazzara R. Enzyme techniques in pre-transfusion testing. *Transfusion* 1993;33:884.
- 19) Abou-Jabal A, Shubeilat T, Hajjiri F. Evaluation of 2-column agglutination versus conventional tube technique for antibody screening. *East Mediterr Health J* 2003;9:407-12.
- 20) Walewska I, Kusnierz-Alejska G, Michalewska B. Value of the LEN (LISS-enzyme) technic in detection of alloantibodies to erythrocytes. *Acta Haematol Pol* 1989; 20:214-22.
- 21) Hundric-Haspl Z, Jurakovic-Loncar N, Grgicevic D. Evaluation of the enzyme test for the detection of clinically significant red blood cell antibodies during pregnancy. *Acta Med Croatica* 1999;53:125-8.
- 22) Beadling WV, Cooling L. Immunohematology. In: Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:661-717.
- 23) Klein HG, Anstee DJ. Mollison's blood transfusion in clinical medicine. 11th ed. Malden, Massachusetts: Blackwell Science, 2005:299-351.
- 24) Daniels G. Human blood groups. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science, 2002:59-386.
- 25) Kwon SW, Kim DW, Han KS, et al. Annual report on external quality assessment in blood bank tests in Korea (2005). *J Lab Med Quality Assurance* 2006;28 (supple 1):S111-117.