

# 항암치료를 받고 있는 혈액종양질환 환자에서 CELL-DYN Sapphire CD61 표지 면역형광법을 이용한 혈소판측정의 유용성

## Evaluation of Platelet count by the CELL-DYN Sapphire CD61 Immunoplatelet Method in Patients with Hematologic Diseases Receiving Chemotherapy

김보람<sup>1</sup> · 최재림<sup>1</sup> · 김지은<sup>1</sup> · 우광숙<sup>1</sup> · 김경희<sup>1</sup> · 김정만<sup>1</sup> · 김성현<sup>2</sup> · 한진영<sup>1</sup>

Bo-Ram Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jae-Lim Choi, M.D.<sup>1</sup>, Ji-Eun Kim, M.D.<sup>1</sup>, Kwang-Sook Woo, M.D.<sup>1</sup>, Kyeoung-Hee Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jeong-Man Kim, M.D.<sup>1</sup>, Sung-Hyun Kim, M.D.<sup>2</sup>, Jin-Yeong Han, M.D.<sup>1</sup>

동아대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>1</sup>, 내과학교실<sup>2</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, Division of Hematology-Oncology, Department of Internal Medicine<sup>2</sup>, Dong-A University College of Medicine, Busan, Korea

**Background:** The automated hematologic analyzer has increased the precision and accuracy for platelet counting. However, spurious elevations of automated platelet counts occur occasionally in patients receiving chemotherapy or radiotherapy for solid organ tumors, leukemia, and other lymphomas. The CELL-DYN Sapphire analyzer (Abbott, USA) detects platelets with a CD61 monoclonal antibody and uses both impedance and optical technologies; thus, it is expected to present more accurate platelet counts.

**Methods:** We evaluated platelet counts obtained with the CELL-DYN Sapphire impedance, optical, and CD61 methods and compared them with the results obtained with the XE-2100 analyzer (Sysmex, Japan). We analyzed 111 samples from hospitalized patients with various hematologic diseases, who were receiving chemotherapy or radiotherapy.

**Results:** The results from the impedance, optical, and CD61 methods of CELL-DYN Sapphire and those from XE-2100 showed significant linearity, with correlation coefficients greater than 0.99. Three cases had significantly different platelet counts among the different methods used. Microscopic examination of these three cases showed very low platelet counts that corresponded with the low counts from the CD61 methods. It should be noted that because the automated blood counter assesses cell populations by their dimensions, many cellular fragments that were of the same size or smaller than platelets were thus counted as platelets.

**Conclusions:** The CELL-DYN Sapphire analyzer has good precision, linearity and performance, comparable with the XE-2100 analyzer. As the CD61 methods of CELL-DYN Sapphire is specific for platelet, this method may reduce the interference from other blood components and count the exact platelet numbers.

**Key Words:** CD61, Automated platelet count, Immunoplatelet

Corresponding author: Jin-Yeong Han

Department of Laboratory Medicine, Dong-A University College of Medicine,  
26 Daesingongwon-ro, Seo-gu, Busan 602-715, Korea  
Tel: +82-51-240-5323, Fax: +82-51-255-9366, Email: jyhan@dau.ac.kr

\*This research was supported by thesis Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology(2012R1A1A3010802).

Received: February 23, 2014

Revision received: December 26, 2014

Accepted: January 25, 2015

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2015, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 서론

일반혈액검사는 모든 환자의 진단과 치료에 기초가 되며, 자동혈구분석기의 발전으로 신속하고 정확한 결과를 얻을 수 있게 되었다. 자동혈구분석기를 이용하여 측정된 혈소판 수는 정확성이 높은 것으로 알려져 있으나, 검체 채취방법, 검체상태, 환자의 병태생리, 기기 자체의 기술적 한계 등에 의해 실제 혈소판 수와 다른 결과가 보고되기도 한다[1]. 현재 널리 이용되는 자동혈구분석기의 혈소판 수의 측정 원리는 전기저항과 광산란의 원리이다[2]. 이 원리는 혈액 내에 존재하는 백혈구와 적혈구의 조각이나 다른 간섭물질에 영향을 받는 한계를 가지고 있다. 항암요법이나 방사선 치

료를 받은 백혈병, 림프종, 고형종양 환자에서 발견되는 백혈구 조각은 자동혈구분석기에서의 혈소판 수의 거짓증가를 야기한다[3-7]. 이러한 오류를 개선하고자 International Society of Laboratory Haematology (ISLH)는 혈소판에 형광물질을 붙여 유세포분석기를 통해 혈소판 수를 산정할 것을 권장하였다[8]. 혈구자동분석기 기인 CELL-DYN Sapphire (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA)는 CD61 단클론항체를 이용한 면역형광법과 전기저항 및 광산란 원리를 이용하여 혈소판 수를 측정함으로써 혈소판수의 정확성을 높일 수 있을 것으로 기대된다.

이 연구는 항암치료를 받고 있는 혈액종양환자를 대상으로 하여 CELL-DYN Sapphire와 현재 널리 이용되는 자동혈구분석기인 XE-2100 (Sysmex, Kobe, Hyogo, Japan)에 의한 혈소판 수를 측정하여 비교 평가하였다.

## 대상 및 방법

동아대학교병원 혈액종양내과에 입원하여 항암치료를 방사선 치료를 받고 있는 환자 중 전혈구계산이 의뢰된 총 111검체를 대상으로 하였다. 검체는 K<sub>3</sub>EDTA 진공채혈관(Greiner Bio-One, Frickenhausen, Germany)에 채혈한 전혈을 이용하였고, 모든 검체는 3 시간 이내에 검사하였다. CELL-DYN Sapphire (Abbott)가 제공하는 3가지 방법으로 혈소판 수를 측정하였으며 이는 광산란법, 전기저항법, CD61 단클론항체를 이용한 면역형광법이다. CELL-DYN Sapphire의 광산란법은 세포 부유액에 수직방향의 빛을 쏘여 혈소판의 크기와 과립성에 따라 산란되는 광산란을 7도와 90도 각도에서 수집하여 검출한다. 전기저항법은 전류의 흐름에서 발생한 저항을 분석하여 혈소판 수를 측정하며, 면역형광법은 FITC가 접합된 CD61 단클론항체를 사용하여 혈소판 수를 측정한다. 정밀도는 CELL-DYN 29 Plus Control with Retic (Abbott)의 정상농도( $220 \times 10^9/L$ ), 저농도( $59 \times 10^9/L$ ), 고농도( $513 \times 10^9/L$ )의 3가지 물질을 각 20회 반복하여 검사를 시행하여 구하였다. CELL-

DYN Sapphire (Abbott)로 측정한 혈소판 수를 기존에 검사실에 사용하고 있던 XE-2100로 측정한 결과와 상관성을 평가하였다. 또한 다른 혈구자동분석기와 차이점인 CD61을 이용한 면역형광법에 대하여 환자의 검체를 희석하여 직선성을 평가하였는데, 이는 CELL-DYN Sapphire (Abbott) 기기 자체의 희석액을 사용하여 평가하였다. 통계분석은 MedCalc, version 12.7.0.0 (MedCalc software, Ostend, Belgium)을 이용하였다.

## 결 과

3가지 농도에 대한 CELL-DYN Sapphire (Abbott)의 정밀도는 모두 우수하였다. 저농도에서의 광산란법, 전기저항법, CD61 표지 면역형광법의 혈소판 측정의 변이계수는 각각 2.50%, 2.98%, 1.96%였으며, 정상농도에서는 3.76%, 3.41%, 2.56%였고, 고농도에서는 2.98%, 2.72%, 1.83%였다.

전기저항법과 광산란법을 이용하는 CELL-DYN Sapphire (Abbott)로 CD61 표지를 이용한 면역형광법의 혈소판 수와 XE-2100으로 측정한 결과는 3가지법 모두에서 상관계수(r)가 0.99 이상으로 우수한 상관성을 보였다(Fig. 1).

총 111검체 중 3검체에서만 혈소판 수의 유의한 차이를 보였으며, CD61 단클론항체를 이용하여 측정한 혈소판 수는 다른 방법들에 비해 낮은 혈소판 수를 보였다(Table 1). 혈소판 수의 정확한 판정을 위하여 혈구계를 이용한 수기법[9]을 시행하였으며, 수기법

Table 1. Three cases showing significantly different platelet counts

| Case No. | Diagnosis | Platelet count ( $\times 10^9/L$ ) |       |          |         |             |
|----------|-----------|------------------------------------|-------|----------|---------|-------------|
|          |           | PLTi                               | PLTo  | CD61 PLT | XE-2100 | Microscopic |
| 1        | MDS       | 22.40                              | 9.60  | 8.33     | 17.00   | 7.35        |
| 2        | AML       | 17.20                              | 7.80  | 4.95     | 13.00   | 4.20        |
| 3        | AML       | 30.60                              | 19.40 | 2.87     | 26.00   | 3.15        |

Abbreviations: PLT, platelet count; PLTo, optical method; PLTi, impedance method; CD61, CD61 labeled immunoplatelet method.

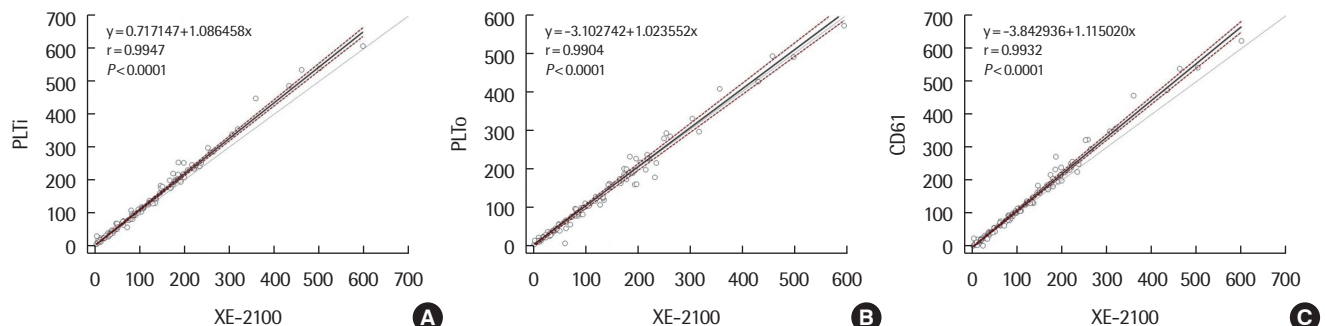


Fig. 1. Regression analysis and distribution of differences between the CELL-DYN Sapphire (Abbott, USA) methods and the XE-2100 (Sysmex, Japan) analyzer. (A) Impedance method, (B) optical method, and (C) CD61 immunoplatelet method.

으로 측정한 혈소판 수와 CD61 단클론항체 혈소판 수가 가장 근접한 결과값을 보였다. CD61 표지 면역학적 방법의 직선성은 혈소판 수( $2.59\text{--}621.69 \times 10^9/\text{L}$ )에서 기대되는 값과 측정값 간의 상관관계 수 0.97로 유의한 직선성을 보였다.

## 고 찰

급성백혈병이나 파종혈관내응고 환자에서 자동혈구분석기를 통한 혈소판 수 측정은 부정확하다는 것이 여러 차례 보고된 바가 있다. 이러한 부정확한 혈소판 수의 측정은 임상에게 잘못된 정보를 주게 되어 치료에 영향을 미칠 수 있다[3-7, 10]. 혈구계를 이용한 전통적인 수기법은 시간이 많이 걸리며, 검사자에 따라 영향을 받을 수 있다. 또한 혈소판 수 측정의 정확성을 높이고자 ISLH에서 권고한 방안을 검사실에서 수행하는 것이 쉽지 않다[11]. 따라서 자동혈구분석기의 정확성을 높이기 위하여 세포화학적 염색이나 유세포분석 등의 원리를 추가하거나, 여러 원리를 동시에 적용하는 사례들이 시도되고 있다[12]. CELL-DYN Sapphire (Abbott)는 전기저항 및 광산란 원리와 면역형광법에 의한 유세포분석원리를 추가한 분석기로, 본 연구에서는 CELL-DYN Sapphire (Abbott)의 혈소판 측정의 유용성에 대하여 평가하였다. CELL-DYN Sapphire (Abbott)에서 제공하는 혈소판 측정법은 3가지 방법 모두 모든 농도에서 허용 가능한 정밀도를 보였다. 또한 현재 많이 사용되는 자동혈구분석기인 XE-2100 결과와 비교하여 상관성이 우수하였다.

심한 혈소판감소를 보이는 3개의 검체에서 검사방법 간 측정값의 유의한 차이가 있었다. 정확도 평가를 위해 수기법을 시행한 결과 CD61을 이용한 면역형광법이 가장 높은 상관성을 보였다. CELL-DYN Sapphire (Abbott)는 혈소판 특이단당백 IIIa를 인지하는 CD61을 사용한 면역형광법을 이용함으로써 다른 영향을 받지 않고 혈소판을 정확히 측정한다. 이는 CD61을 이용한 면역형광법과 ISLH 기준법인 유세포분석법과의 상관성을 평가한 여러 연구 [2, 10, 13]와 일치하는 결과이다. 특히 Grimaldi 등[2]은 CD61을 이용한 면역형광법이 혈소판감소증에서 가장 정확하게 혈소판 수를 측정한다고 보고하였다. 이 또한 본 연구와 일치하는 결과이다. 항암치료나 방사선 치료를 받는 혈액종양환자의 경우 혈소판감소증이 흔히 동반되며[14], 종양용해에 의해 거짓 증가된 혈소판 수 또한 종종 보고되므로[3-6], CELL-DYN Sapphire (Abbott)의 CD61을 이용한 면역형광법으로 혈소판을 측정하는 것이 현재의 환자상태의 평가, 치료방향의 결정에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 또한 CELL-DYN Sapphire의 면역형광법의 정밀도, 직선성이 우수하였으므로, 일반검사실에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

## 요 약

**배경:** 자동혈구분석기는 높은 수준의 정밀도와 정확성으로 혈소판 수를 측정하나, 항암치료나 방사선 치료를 받고 있는 혈액종양 환자에서는 높은 혈소판 수치를 보고하기도 한다. CELL-DYN Sapphire (Abbott, USA)는 전기저항법, 광산란을 이용하는 원리와 더불어 CD61을 이용한 면역형광법으로 혈소판 수를 측정하여, 정확한 혈소판 수치를 보고할 것으로 예상된다.

**방법:** CELL-DYN Sapphire (Abbott, USA)의 3가지 혈소판 분석 수행능력을 XE-2100 (Sysmex, Japan)과 비교하여 평가하였다. 항암 치료 또는 방사선 치료를 받고 있는 혈액종양환자 중 일반혈액검사가 의뢰된 환자의 검체 111개를 대상으로 하였다.

**결과:** CELL-DYN Sapphire (Abbott)의 전기저항법, 광산란법, CD61 면역형광법은 XE-2100과 상관관계수 0.99 이상으로 유의한 상관성을 보였다. 전기저항법, 광산란법, CD61 면역형광법에서 상이한 결과를 보이는 3검체를 대상으로 현미경을 이용한 수기법을 이용하여 혈소판 수를 측정하였고, 이는 CD61을 이용한 면역형광법으로 얻은 결과와 가장 근접하였다. 세포 조각은 그 크기가 혈소판과 비슷하거나 더 작기 때문에, 자동혈구분석기에서는 이들을 혈소판으로 측정하는 오류를 보인다.

**결론:** CELL-DYN Sapphire (Abbott)는 허용가능한 정밀도와 직선성을 보이며, XE-2100과 유의한 상관성을 보였다. 또한 혈소판 특이항체인 CD61을 이용함으로써, 다른 인자에 의한 간섭을 줄여 더 정확한 혈소판 수치를 보고할 수 있을 것으로 생각된다.

## 검사의 글

This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2012R1A1A3010802).

## REFERENCES

1. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol* 2007;29:4-20.
2. Grimaldi E, Del Vecchio L, Scopacasa F, Lo Pardo C, Capone F, Pariente S, et al. Evaluation of the platelet counting by Abbott CELL-DYN SAPHIRE haematology analyser compared with flow cytometry. *Int J Lab Hematol* 2009;31:151-60.
3. Malcolm ID, Monks P, Katz M. Spurious thrombocytosis in acute my-

- elocytic leukemia. *N Engl J Med* 1978;298:1260.
4. Ballard HS and Sidhu G. Cytoplasmic fragments causing spurious platelet counts in hairy cell leukemia: ultrastructural characterization. *Arch Intern Med* 1981;141:942-4.
  5. Hammerstrom J. Spurious platelet counts in acute leukaemia with DIC due to cell fragmentation. *Clin Lab Haematol* 1992;14:239-43.
  6. Li S and Salhany KE. Spurious elevation of automated platelet counts in secondary acute monocytic leukemia associated with tumor lysis syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:1111-4.
  7. van der Meer W, MacKenzie MA, Dinnissen JW, de Keijzer MH. Pseudoplatelets: a retrospective study of their incidence and interference with platelet counting. *J Clin Pathol* 2003;56:772-4.
  8. International Council for Standardization in Haematology Expert Panel on Cytometry; International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet counting by the RBC/platelet ratio method. A reference method. *Am J Clin Pathol* 2001;115:460-4.
  9. World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology International Council for Standardization in Haematology. Expert Panel on Cytometry. Recommended methods for the visual determination of white blood cell count and platelet count. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/66241> (Updated on 2000).
  10. Kim SY, Kim JE, Kim HK, Han KS, Toh CH. Accuracy of platelet counting by automated hematologic analyzers in acute leukemia and disseminated intravascular coagulation: potential effects of platelet activation. *Am J Clin Pathol* 2010;134:634-47.
  11. Harrison P, Ault KA, Chapman S, Charie L, Davis B, Fujimoto K, et al; International Society of Laboratory Hematology Task Force for the Reference Platelet count. An Interlaboratory Study of a candidate reference method for platelet counting. *Am J Clin Pathol* 2001;115:448-59.
  12. Buttarello M and Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol* 2008;130:104-16.
  13. Park Y, Song J, Song S, Song KS, Ahn MS, Yang MS, et al. Evaluation of the Abbott Cell-Dyn Sapphire hematology analyzer. *Korean J Lab Med* 2007;27:162-8.
  14. Vadhan-Raj S. Management of chemotherapy-induced thrombocytopenia: current status of thrombopoietic agents. *Semin Hematol* 2009;46:26-32.