

## 혈액원 대상 ABO 및 D 혈액형 외부 숙련도 조사사업 보고(2012, 2013)

임영애<sup>1</sup> · 최영실<sup>2</sup> · 김현옥<sup>3</sup> · 이동한<sup>2</sup> · 장충훈<sup>2</sup> · 이미남<sup>2</sup> · 권정란<sup>2</sup>

아주대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>1</sup>, 질병관리본부 혈액안전감시과<sup>2</sup>, 연세대학교 의과대학 진단검사의학과<sup>3</sup>

### Report on External Proficiency Testing for the ABO and D Blood Typing in Blood Centers in 2012 and 2013

Young Ae Lim<sup>1</sup>, Young Sill Choi<sup>2</sup>, Hyun Ok Kim<sup>3</sup>, Dong Han Lee<sup>2</sup>, Choong Hoon Jang<sup>2</sup>, Mi Nam Lee<sup>2</sup>, Jeong Ran Kwon<sup>2</sup>

Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine<sup>1</sup>, Suwon, Division of Human Blood Safety Surveillance, Korea Centers for Disease Control and Prevention<sup>2</sup>, Cheongwon, Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine<sup>3</sup>, Seoul, Korea

**Background:** It was reported that a continuous education program and external proficiency testing (PT) for blood grouping test (BGT) might be necessary because some blood centers of medical institutions could not correctly examine ABO subtype and D variant, according to the results of the first year project in 2011. Therefore, the results of PT for BGT in blood centers in 2012 and 2013 were compared to those in 2011 in order to assess the impact of projects during a period of three years and to help in planning the future PT for BGT.

**Methods:** Whole blood survey samples composed of three panels for ABO grouping and three panels for D typing were sent to 74 and 71 institutes in 2012 and 2013, respectively. Evaluation criteria for BGT were as follows: 'Good' for the answers matched with intended results, 'Acceptable' for the correct answers other than that of 'Good', and 'Unacceptable' for the answers other than those of 'Good+acceptable' as correct answers.

**Results:** The answer rates of 'Unacceptable' for ABO subtype were 1.4% in 2012 and 4.2% in 2013. However, the answer rate of 'Good' increased from 44.6% in 2012 to 83.1% in 2013. The answer rate of 'Unacceptable' for D variants showed a marked decrease, from 16.2% in 2012 to 1.4% in 2013.

**Conclusion:** Projects for PT for BGT during a period of three years have improved laboratory quality in blood centers. However, the acquisition and change of the materials for PT would be necessary in order to continuously and practically provide help to blood centers. (Korean J Blood Transfus 2014;25:41-52)

**Key words:** External proficiency testing, ABO grouping, D typing, Blood center

Received on March 20, 2014. Revised on April 3, 2014. Accepted on April 7, 2014

Correspondence to: Hyun Ok Kim

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea  
Tel: 82-2-2228-2444, Fax: 82-2-313-0956, E-mail: hyunok1019@yuhs.ac

Co-correspondence to: Dong Han Lee

Division of Human Blood Safety Surveillance, Korea Centers for Disease Control and Prevention, Osongsaengmyeong2-ro, Yeonje-ri, Osong-eup, Cheongwon 363-951, Korea  
Tel: 82-43-719-7660, Fax: 82-43-719-7679, E-mail: ldhmd@korea.kr

This study was supported by a grant of the Korea Centers for Disease Control and Prevention, Republic of Korea (00134005400).

© 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.  
Copyright ©2014 The Korean Society of Blood Transfusion

## 서론

헌혈혈액 혈액형검사 숙련도 조사는 국내 혈액원의 혈액형 검사 숙련도조사를 시행하기 위하여 2011년부터 시행한 질병관리본부 혈액안전감시과의 위탁사업이다. 이 사업의 목적은 국내 혈액원의 혈액형 검사 정확도의 현황을 살펴보고 안전한 수혈을 위한 헌혈 혈액을 제공할 수 있도록 혈액원의 품질을 향상하기 위한 것이다. 특히 헌혈혈액 혈액형검사 숙련도 조사에서 중점적으로 다루고 있는 사항은 항원성이 약한 혈액형 검출에 관한 부분이다. 왜냐하면 혈액원에서 항원성이 약한 ABO 아형이나 D변이형을 제대로 검출하지 못하여 O형이나,<sup>1-3)</sup> 혹은 D 음성으로 판정되어<sup>4,5)</sup> O형이나 D음성환자에게 수혈될 경우 이들 환자에게 항체를 유발하거나 용혈수혈부작용을 초래할 수 있기 때문이다. 이러한 목적에서 위탁사업에서는 ABO 아형이나 D변이형의 검체 포함을 요구하게 되었다. 500여개 이상의 국내 혈액은행 및 혈액원 검사실에 참여하는 대한임상검사정도관리협회에서 주관하는 혈액은행검사신빙도 조사 중 ABO와 D 혈액형 검사는 이러한 검체 확보의 어려움과 수탁기관 인증 부여 여부와 밀접한 관련이 있으므로 국내 혈액원의 혈액형 검사 숙련도조사의 목적을 만족하기에는 현실적인 어려움이 있다.

2011년도의 1차년도 사업의 결과는 약한 항원이 표현되는 ABO 및 D 혈액형에 대해서는 일부 의료기관 혈액원에서 혈액형을 제대로 판정하지 못하고 있는 것으로 조사되었기 때문에 혈액원의 품질 향상을 위하여 이들에 대한 집중적인 교육과 지속적인 혈액원의 혈액형 외부 숙련도 조사가 필요할 것으로 보고되었다.<sup>6)</sup>

이에 본 연구에서는 2012년도와 2013년도에 실시한 2차년도와 3차년도의 국내 혈액원의 혈액

형 검사 숙련도조사 결과를 1차년도 결과와 비교해 보아 3년 동안의 헌혈혈액 혈액형검사 숙련도 조사가 혈액원에 미친 영향을 평가하여, 향후 진행되는 헌혈혈액 혈액형검사 숙련도 조사 사업을 진행하는데 도움을 주고자 하였다.

## 대상 및 방법

공급혈액원 및 의료기관의 혈액원 등을 포함하여 헌혈혈액 선별검사 외부 숙련도조사를 위하여 검체를 발송한 일수와 기관수는 2차년도는 2012년도 10월 9일 76기관, 3차년도는 2013년도 9월 30일 71기관이었다. 발송 기관은 3개의 혈액검사센터가 포함된 공급혈액원 4기관과 나머지는 의료기관 혈액원으로 구성되었다.

### 1. 숙련도물질용 패널 제조 및 품질 평가

혈액형검사는 실제 혈액원에서 다루고 있는 검체의 성상과 유사하게 하고자 대한적십자사 혈액관리본부 연구윤리심의위원회에서 연구용으로 승인 허가된 헌혈 혈액을 이용하여 ABO 혈액형 검사를 위하여 3개의 패널, D혈액형 검사를 위해서는 1차년도에 비하여 한 개의 패널이 추가된 3개의 패널을 포함하여 총 6개의 전혈로 물질패널을 구성하였다. 패널 전혈은 1차년도와 동일하게 ABO 아형을 제외하고는 모두 ABO 동일한 혈액형의 1단위의 농축적혈구와 1단위의 신선동결혈장을 혼주하여 재조합하였다. Bw형과 ABw형의 농축적혈구에는 각각 B형과 AB형의 신선동결혈장을 혼주하여 제조하였다.

균질성 분석은 2차년도는 1차년도와 유사하게 검사기관 두 곳에서 각 패널로부터 무작위의 3개씩의 검체에서 일회씩 혈액형 검사를 실시하였는데,<sup>6)</sup> 3차년도에는 질병관리본부 생물안전평가과의 요청에 의하여 각 패널로부터 무작위의 5개씩

의 검체에서 3회씩 반복적으로 혈액형 검사를 실시하였다. 재현성 분석은 2차년도와 3차년도 모두 1차년도와 유사하게 검사기관 두 곳에서 각 패널의 혼주 검체로부터 1~6일 간격으로 6~7회 혈액형 검사를 실시하였다.<sup>6)</sup> 응집결과에 따른 허용범위는 1차년도와 동일하게 동일 기관내에서의 응집정도 차이가 1+ 차이 이내로 간주하였다.

혈액형 검사방법으로는 검사기관 두 곳에서 통상적으로 사용하고 있는 검사법인 시험관법 ABO 시약과(Bioscot, Millipore, Livingston, UK) D 시약(Bioscot, Millipore, Livingston, UK)과 자동화 원주응집법(Ortho BioVue system, Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, USA US)으로 각각 실시하였다.

패널의 안정성 평가는 혈액배양과 LD, potassium 측정하여 용혈 정도를 평가하였다. 혈액배양은 1차년도와 동일하게 패널로부터 무작위로 채취한 검체에서 3 mL를 채취하여 소아용 배지인 Bactec PEDS PLUS (BD, USA)에 접종하여 5일 관찰한 후 최종 보고하였다. 냉장보관중인 분주된 검체를 원심분리한 후 상층액을 취하여 혈장 LD와 potassium을 검사기간 두 곳에서 1~2일간격으로 6~7회씩 측정하였고, 보관일에 따른 기관간의 혈중 농도 차이는 SPSS 12.0 for Window (SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 repeated measures ANOVA test를 실시하였다.

## 2. 혈액원 혈액형검사 숙련도조사 평가

ABO 혈액형검사의 최종 결과 선택란에는 A, Aw, B, Bw, AwB, ABw, O형의 7개의 혈액형 이외에 2차년도부터 AB형과 판정불가를 추가하였다. 혈액원으로부터의 결과 수집 및 검사법은 2차년도에는 서면 결과지로 답변을 받았으나 3차년도에는 혈액안전사업단(<http://safeblood.or.kr/>) 사이트에 접속하여 전산 입력하도록 하였다. 혈액형 검사결과 분석시 판정기준 등은 1차년도와 동일하게 의도한 결과와 일치할 경우에는 ‘Good’, ‘Good’은 아니지만, 혈액원에서 혈액제제 출고시 표기될 혈액형으로 간주할 경우 문제가 없다고 판단하는 경우는 ‘Acceptable’로 ‘Good+Acceptable’은 정답으로 간주하였고, 이 이외는 ‘Unacceptable’로 오답으로 간주하였다.

## 결 과

2차년도에는 76기관 중 2기관이 검체 발송 후 폐업 신고를 하여 74개 기관, 그리고 3차년도에는 71기관 모두 회신하여 2개년도 모두 100%의 참여율을 나타냈다.

### 1. 숙련도물질용 패널 제조 및 품질 평가

2차년도에는 Bw형, AB형, A형, 3차년도에는

**Table 1.** Two panels for external proficiency test for ABO & D typing

Year	Panel (n)	ABO blood group			D blood type		
		1	2	3	1	2	3
2012	A (n=39)	Bw	AB	A	Positive	Negative	Variant
	B (n=35)	A	BwW	AB	Variant	Positive	Negative
2013	A (n=34)	A	ABw	O	Variant	Positive	Negative
	B (n=37)	ABw	O	A	Positive	Negative	Variant

ABw형, O형, A형의 검체와 D 혈액형은 2개년도 모두 양성, 음성 및 변이형을 각각 한 개씩 2가지 종류의 패널로 무작위로 혈액원에 발송하였다 (Table 1).

1) 균질성과 재현성 분석

2차년도 숙련도 물질 중 AB형과 A형은 혈구형과 혈청형에서 전형적인 양상을 보이는 검체였으나, Bw형 검체는 두 곳의 검사기관에서 다음의 차이를 보였다. 즉, 혈구형에서 anti-B에 시험관 수기법으로 검사를 시행하던 한 기관은 균질성과 재현성 검사에서 모두 2+로 현미경 관찰상 혼합시야(mixed filed)를 보였으나, 다른 한 기관의 균질성 검사는 시험관 수기법으로 시행하여 3+로 현미경 관찰상 혼합시야를 보였고, 재현성 검사

시는 혈액형 자동화장비를 이용하였는데, 혈구형에서 3-4+의 비교적 강한 응집을 보이고 혼합시야 반응이 나타나지 않았던 비교적 B 항원성이 강한 Bw형 검체였다. Anti-D 검사에서는 양성은 4+의 응집, 음성은 응집이 없었으며 변이형 D는 약 D 검사에서만 기관마다 ±1+와 1-2+의 응집 차이를 보인 검체였다.

3차년도 숙련도 물질 중 O형과 A형은 혈구형과 혈청형에서 전형적인 양상을 보이는 검체였으나, ABw형 검체는 두 곳의 검사기관에서 다음의 차이를 보였다. 즉, 혈구형에서 anti-B에 시험관 수기법으로 검사를 시행하던 한 기관은 균질성과 재현성 검사에서 모두 1+로 현미경 관찰상 약한 응집이 관찰되었다. 그러나, 자동화 미세원주응

**Table 2.** Range of grade of RBC agglutination of blood grouping test for studies of homogeneity and reproducibility in two institutes for 2 years

Sample	Blood group tying	2012 year		2013 year		
		Homogeneity	Reproducibility	Homogeneity	Reproducibility	
ABO-1	Cell typing	anti-A	N	N	4+	4+
		anti-B	2-3+MF*	2-4+MF*	1-2+MF*	1-2+MF*
	Serum typing	A cell	4+	3+	N	N
		B cell	N	N	N	N
ABO-2	Cell typing	anti-A	4+	4+	N	N
		anti-B	4+	4+	N	N
	Serum typing	A cell	N	N	4+	4+
		B cell	N	N	4+	4+
ABO-3	Cell typing	anti-A	4+	4+	4+	4+
		anti-B	N	N	N	N
	Serum typing	A cell	N	N	N	N
		B cell	4+	3+	3-4+	4+
D-1		4+	4+	4+*	4+	
D-2	anti-D	N	N	N	N	
D-3	anti-D	N	N	N	2+	
	Weak D test	±-2+	±-2+	MF-2+	Not done	

Abbreviations: N, no agglutination; MF, mixed field.

\*Not done in a institute due to inadequate specimen.

집법을 이용하였던 다른 한 기관은 균질성 검사는 혼합시야와 더불어 1~2+ 응집, 안정성 검사에서는 1-2+의 응집을 보여 수기법보다는 더 강한 응집을 보였으나 응집 양상에 다소의 변이를 나타내었다. Anti-D 검사에서는 양성은 4+의 응집, 음성은 응집이 없었으며 변이형 D는 수기법을 사용하는 기관에서는 약 D 검사에서만 2+의 응집을 보인 반면, 자동화장비를 사용한 기관에서는 항글로불린 단계가 포함되지 않은 anti-D 검사에서도 혼합시야부터 2+의 응집을 보인 검체였다(Table 2).

3차년도에는 한 기관에서 검체가 부족하여 패널마다 5개 검체마다 3회씩 모두 반복하여 측정할 수는 없었지만, 2개년도의 조사한 패널 검체들은 ABO형과 D형 혈액형의 응집정도 차이가 기관내에서 1+ 차이 이내여서 모두 ABO형과 D형 항원이 균질하고 재현성을 보임을 확인할 수 있었다.

**2) 안정성 분석**

2개년도 혈액배양검사 두 기관 모두에서 모든 검체에서 세균이 오염되지 않았음을 확인하였다.

2차년도에 기관마다 검사일자에 따라 패널 검체의 LD ( $P < 0.001$ ) 평균은 886~1,055 U/L와 1,355~1,679 U/L의 결과와 potassium ( $P < 0.001$ )은 24.7~31.3 mMol/L와 23.1~29.7 mMol/L의 결과를 보여 두 기관 모두 시간의 변화에 따라 증가하는 유의한 차이를 보였다. 3차년도의 패널 검체의 LD 평균값은 855.2~894.2 U/L와 1061.8~1112.3 U/L의 결과와 potassium은 21.8~28.7 mMol/L와 18.4~27.1 mMol/L의 결과로 오직 potassium ( $P < 0.001$ )만이 시간의 변화에 따라 증가하는 유의한 차이를 보여 재조합 혈액에서 보관시간이 경과할수록 용혈이 발생하였음을 알 수 있었다(Table 3). 그러나 이러한 용혈의 영향은 재현성 검사를 통하여 혈액형의 응집을 판정하는 데는 지장을 주지 않을 정도임을 확인할 수 있었다.

**Table 3.** Concentrations of LD (U/L) and K (mMol/L) of panel samples according to the storage days in two institutes for 2 years

Institute	Day	2012 year				Day	2013 year			
		LD (U/L)		K (mMol/L)			LD (U/L)		K (mMol/L)	
		Mean	SD	Mean	SD		Mean	SD	Mean	SD
A	0	932.7	634.6	24.7	4.2	4	855.2	216.2	21.8	2.0
	2	958.0	470.0	26.5	4.5	6	868.0	185.0	23.2	2.0
	4	960.0	445.3	28.0	4.9	8	876.2	171.5	24.7	2.2
	6	914.0	522.2	29.0	5.3	10	893.7	143.1	27.5	2.6
	8	886.7	537.2	30.5	5.4	16	894.2	157.5	28.7	3.4
	10	1,055.0	462.7	31.3	5.6					
B	1	1,355.3	260.1	23.1	4.9	4	1,061.8	113.9	18.4	2.0
	3	1,426.7	272.8	24.3	5.5	6	1,087.5	105.5	20.0	2.1
	6	1,518.0	279.6	26.4	5.8	8	1,096.2	89.3	22.0	2.3
	7	1,607.0	278.3	27.7	5.8	10	1,082.2	95.1	23.5	2.3
	8	1,571.0	243.2	27.8	5.8	16	1,112.3	81.6	27.1	2.3
	10	1,679.2	294.7	29.7	6.4					

## 2. 혈액원 혈액형검사 숙련도조사 평가

### 1) ABO 혈액형 검사

참여기관들이 보고한 ABO 혈액형 검사 결과는 Table 4와 Table 5와 같다. 아형 검체의 오답율은 2차년도 1.4%, 3차년도 4.2%였는데, 이는 Bw형을 AwB형으로 보고한 기관과 ABw형을 AwB형으로 보고한 2 기관과 판정불가 한 기관으로 모두 4기관이었다. ABO 아형을 'Good'으로 판정한 기관율은 2차년도 44.6% (33/74)이나 3차년도에는 83.1%로(59/71) 크게 증가하였다. 전형적인 혈액형 양상을 보인 나머지 2개년도 검체 모두는 2차년도의 AB형을 Bw으로 보고한 것을 제외하고는 모두 100%의 정답율을 보였다.

### 2) D 혈액형 검사

참여기관들이 보고한 2개년도에 대한 D 혈액형 검사 결과는 Table 6과 같다. 2차년도에 사무적 착오가 의심되는 한 기관을 제외하고 D 양성

과 음성은 2개년도 모든 기관에서 정답을 보였다. 변이형 D형인 경우의 오답율은 2차년도 16.2%에서 3차년도에는 1.4%로 급격히 감소하였다.

### 3) 혈액형 검사법 및 시약 분석

ABO 혈액형검사법에 대한 2차년도와 3차년도 결과는 1차년도와 마찬가지로 각각 시험관법으로 혈구형과 혈청형 검사를 실시하는 기관이 50% (37/74)와 54.9% (39/71)로 가장 많이 사용하는 검사법으로 나타났고, 그 다음은 혈구형은 슬라이드법, 혈청형은 시험관법으로 하는 기관이 35.1% (26/74)과 38% (27/71)으로 나타났으며, 혈구형과 혈청형 모두 원주응집법을 사용하는 기관도 4.1% (3/74)와 5.6% (4/71), 2차년도의 혈구형과 혈청형 모두 슬라이드법을 사용한 기관도 2.7% (2/74)였으며, 2개년도 모두 혈청형 검사를 시행하지 않는 기관이 동일한 1 기관 있었다.

D 혈액형검사법에 대한 2차년도와 3차년도 결

**Table 4.** Results (%) of external proficiency testing for ABO blood grouping and evaluation criteria at blood centers in Korea, 2012

ABO Group	Decision	Result			N of participants (%)
		Cell typing	Serum typing	Interpretation	
Bw	Good	Bw	B	Bw	33 (44.6)
		B	B	B	28 (37.9)
	Acceptable	Bw	Bw	Bw	8 (10.8)
		Bw	B	B	2 (2.7)
		B	ND*	B	1 (1.4)
		B	B	Bw	1 (1.4)
		AwB	B	AwB	1 (1.4)
AB	Good	AB	AB	AB	72 (97.3)
	Acceptable	AB	ND*	AB	1 (1.4)
	Unacceptable	Bw	Bw	Bw	1 (1.4)
A	Good	A	A	A	73 (98.6)
	Acceptable	A	ND*	A	1 (1.4)

Abbreviation: \*ND: not done.

**Table 5.** Results (%) of external proficiency testing for ABO blood grouping and evaluation criteria at blood centers in Korea, 2013

ABO Group	Decision	Result			N of participants (%)	
		Cell typing	Serum typing	Interpretation		
ABw	Good	ABw	AB	ABw	59 (83.1)	
		AB	AB	AB	3 (4.3)	
	Acceptable	ABw	ABw	ABw	2 (2.8)	
		ABw	AB	AB	2 (2.8)	
		ABw	ND*	ABw	1 (1.4)	
		AwB	AB	AB	1 (1.4)	
		Unacceptable	AwB	AB	AwB	1 (1.4)
			ABw	AB	AwB	1 (1.4)
ABw	A		NA <sup>†</sup>	1 (1.4)		
O	Good	O	O	O	70 (98.6)	
	Acceptable	O	ND*	O	1 (1.4)	
A	Good	A	A	A	70 (98.6)	
	Acceptable	A	ND*	A	1 (1.4)	

Abbreviations: \*ND, not done; <sup>†</sup>NA, not available for interpretation.

**Table 6.** Results (%) of external proficiency testing for D blood typing and evaluation criteria at blood centers in Korea for 3 years

D blood type	Decision	Results	N of participants		
			2011 <sup>6)</sup>	2012	2013
Positive	Good	Positive	0	73 (98.6)	71 (100)
	Unacceptable	Negative	0	1 (1.4)*	0
Negative	Good	Negative	81 (100.0)	73 (98.6)	71 (100)
	Unacceptable	Positive	0	1 (1.4)*	0
Variant D	Good	Variant	68 (84.0)	62 (83.8)	68 (95.8)
	Acceptable	Positive	0	0	2 (2.8)
	Unacceptable	Negative	13 (16.0)	12 (16.2)	1 (1.4)

2011<sup>6)</sup>, from reference<sup>6)</sup> in 2011; \*same institute.

과는 각각 시험관법으로 검사를 실시하는 기관이 62.2% (46/74)와 69.0% (49/71)로 가장 많았고, 슬라이드법 17.6% (13/74), 원주응집법 6.8% (5/74)와 4.2% (3/71) 순이었다. 약 D 검사법에 대해서는 3차년도부터 조사가 가능하였는데, 변이형D

를 음성으로 보고한 1기관은 약 D 검사법을 실시하지 않았으며, 시험관법 66.2% (47/70), 원주응집법 32.4% (23/70) 그리고 슬라이드법이라고 응답한 기관도 한 곳이 있었는데, 이는 사무적 착오이거나 혹은 제대로 실시하지 않았을 가능성으로

보여진다.

혈액형 시약 종류 분석은 3차년도부터 조사 가능하였는데, ABO 혈액형검사의 혈구용 시약은 monoclonal IgM 90.1% (64/71)로 가장 많이 사용되고, monoclonal IgM-IgM blend 9.9% (7/71)로 조사되었다. D 혈액형검사용 시약은 monoclonal IgM-IgG blend 73.2% (52/71)로 가장 많이 사용되고, monoclonal IgM 14.1% (10/71), combined monoclonal IgM-polyclonal Ab (IgG) 8.5% (6/71), monoclonal IgM-IgM blend 2.8% (2/71), 그리고 polyclonal Ab (IgG) 1.4% (1/71)로 조사되었다.

## 고 찰

참여기관의 수는 1차년도 81개 기관에 비하여 사업 년차가 증가할수록 점점 감소하였는데, 특히 의료기관의 혈액원 수가 감소하여 3차년도에는 1차년도에 비하여 87%만이(71/81) 참여하였다. 이러한 현상은 헌혈혈액 혈액형검사 숙련도 조사가 의료기관 혈액원에 어느 정도 부담을 주기 때문에 실적이나 필요성이 없는 의료기관 혈액원이 휴업이나 폐업을 하였기 때문으로 여겨졌다.

패널 검체의 재현성 검사 종목으로는 1차년도에 시행하던 혈장 Hb 대신 2차년도부터는 LD와 potassium을 측정하였다. 그 이유는 혈장 Hb는 수기법으로 시행하여 자동화 검사 종목에 비하여 번거롭고 개인별 오차가 더 클 수 있을 뿐만 아니라, 국내 외부정도관리 숙련도 조사 프로그램이 없어 검사기관별 오차도 더 클 수 있기 때문이었다. 혈장 Hb 대신 자동화장비를 이용하여 측정 가능한 LD와 potassium은 이러한 단점을 보완하므로 검체 보관 중 용혈을 반영할 수 있는 좋은 검사 종목으로 여겨졌다. 본 연구에서 2개년도 동안 LD와 potassium 혹은 potassium만이 시간의

변화에 따라 증가하는 유의한 차이를 보여 재조합 혈액에서 보관시간이 경과할수록 용혈이 발생하였음을 알 수 있었다. 그러나 이러한 용혈의 영향은 재현성 검사를 통하여 검체 보관중에는 혈액형의 응집을 판정하는 데는 전혀 지장을 주지 않을 정도였으며, 이는 적혈구내 함유된 ABO 및 D형 혈액형 항원량이 상당히 풍부하므로 일부 적혈구 용혈이 혈액형 항원을 판정하는 데 문제가 되지 않음을 알 수 있었다.

적혈구당 A항원량은 A1형 성인의 경우  $0.81 \sim 1.17 \times 10^6$ , 신생아의 경우  $0.25 \sim 0.37 \times 10^6$ 이며 A2형 성인의 경우  $0.24 \sim 0.29 \times 10^6$ , B항원량은 B형 성인의 경우  $0.75 \times 10^6$ 로 보고되었다.<sup>7)</sup> 이러한 사실은 비록 A1형의 신생아와 A2형 성인의 A 항원량이 A1 항원량의 대략 1/3 정도 이하임에도 불구하고 ABO 혈구형 검사상 A1형과 A2형 구분이 불가능한 3+ 이상의 응집을 보이고 있으므로 보관중 발생하는 용혈 정도로는 시약 항체와 반응할 적혈구 항원량이 감소하여 아형이 아닌 정상 ABO 혈구형 판정에 영향을 미치기는 어려울 것으로 여겨졌다. 반면 적혈구당 D 항원량은 동반하는 C, c, E, 그리고 e 항원량에 따라 9,900~33,300로 보고되었으며,<sup>8)</sup> 약 D형은 이의 1/10의 항원량을 보이므로<sup>9)</sup> D 혈액형 검사시도 보관중 발생하는 용혈 정도는 D 양성을 약 D형으로 판정할 정도의 영향은 주지 않는 것으로 확인할 수 있었다. 다만, 본 연구에서는 영향이 없었으나 약 D형의 검체가 용혈에 의하여 D 음성으로 판정될 경우 어느 정도의 용혈에서 가능한지에 대해서는 조사가 더 필요할 것으로 여겨졌다.

3차년도의 균질성 분석은 무작위의 5개씩의 검체에서 3회씩 반복적으로 혈액형 검사를 실시하는 것이었다. 그러나 앞서 언급하였듯이 ABO와 D 항원은 적혈구당 일정하고 풍부한 항원수를 가지고 있으며, 패널 물질의 구성이 여러 현혈

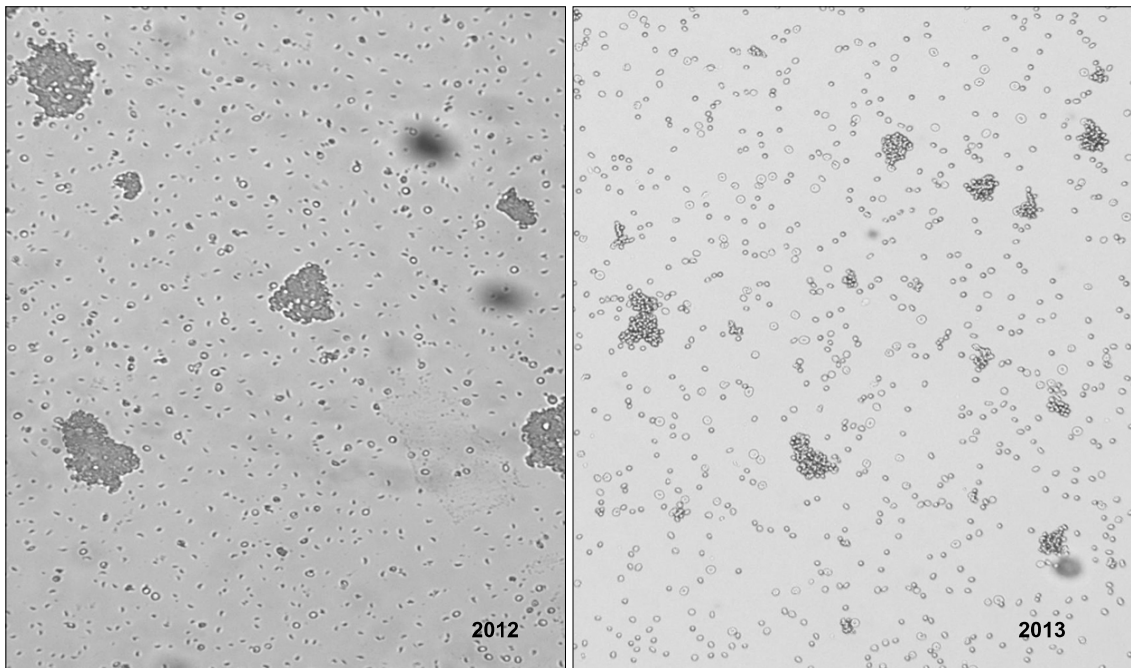


자에서 얻어진 적혈구를 혼주한 것이 아니라 동일한 한 명의 현혈자에서 얻어진 적혈구제제를 이용하고 있다. 따라서 여러 명으로부터 유래된 검체를 혼주하여 제조된 숙련도물질 검증을 위한 균질성 분석법을 혈액형 검사에도 동일하게 적용하는 것은 무리가 있는 것으로 판단되었다. 더욱이 A형의 검체인 경우 구하기가 어려우므로 동일 혈액형의 혼주가 불가능하여 한 단위만을 이용할 수 있는데, 숙련도 물질로 참여기관에 검체를 발송하고 남은 검체량으로는 생물안전평가과가 요청하는 균질성 분석을 그대로 시행하기에 불가능한 어려움이 있었다. 따라서 한 명의 현혈자에서 유래한 혈액형 검사용 패넬 검체에 대한 균질성 분석은 혼주 검체의 검증을 위한 균질성

분석법과 달리 적용할 필요가 있다고 사료된다.

ABO 아형을 ‘Good’으로 판정한 기관율은 2차년도 44.6%로 1차년도의 54.3%에 비하여 낮았지만 3차년도에는 83.1%로 크게 증가하였고, D변이형의 오답율도 2차년도 16.2%로 1차년도의 16.0%와 유사하였으나 3차년도에는 1.4%로 급격히 감소하였다. 이처럼 3차년도의 숙련도조사 결과는 1차년도와 2차년도 비하여 상당히 많이 향상되었는데, 이는 다음 세 가지 이유로 분석할 수 있다.

첫 번째는 3년 동안 시행한 외부숙련도 조사 및 워크숍 교육이 혈액원 검사실의 질을 향상시키는데 많은 공헌을 하였을 것으로 여겨졌다. 따라서 지속적인 외부숙련도 조사 및 워크숍 교육



**Fig. 1.** Microscopic findings (×200) of red blood cell agglutinations by anti-B in external proficiency testing for the blood grouping tests in blood centers in 2012 and 2013.

이 필요할 것으로 여겨졌다.

두 번째는 ABO 아형의 경우 2차년도 Bw형을 B형으로 보고한 기관이 41.9%로 3차년도 ABw형을 정상 AB형으로 보고한 기관의 8.6%보다 높은 이유는 Fig. 1에서 보듯이 anti-B에 대한 응집 강도가 2차년도에 훨씬 강하기 때문인 것도 한 이유일 수 있다. D 변이형 경우도 2차년도에는 정확한 동정은 하지 못하였으나 3차년도의 DFR형보다도(자료 제시하지 않음) 항원성이 약한 부분 D형으로 약 D 검사를 제대로 못할 경우 놓칠 가능성이 더 높기 때문에 패널 검체의 항원 성상도 정답율이 영향을 미치는 것으로 여겨졌다. 따라서 ABO 아형은 항원성이 강할수록 정답율이 낮아지고, D 변이형은 항원성이 낮을수록 오답율이 높아짐을 염두하여 결과를 해석할 필요가 있겠다.

세 번째는 3년 동안 5~6개씩의 검체 중 하나의 ABO 아형 검체와 D 변이형 검체가 반드시 포함되어 있다는 일종의 규칙을 참여기관이 인지하고 숙련도조사에 임하였기 때문에 높은 정답율을 제공하는데 기여하였을 가능성도 완전히 배제할 수는 없는 것으로 사료되었다. ABO 아형 검체와 D 변이형 검체는 동시에 수집하기도 어려워 숙련도 물질 확보에도 어려움이 있을 수 있으므로 헌혈자 혈액 이외의 자원자로부터 혈액을 확보하거나 혹은 다른 방법을 강구할 필요가 있을 것으로 보여졌다. 또한 이러한 패널 구성에 대하여 참여 기관에서 이에 대한 높은 정답율을 보이고 있으므로, 향후에는 오히려 패널 검체중 하나의 ABO 아형 검체와 D 변이형 검체가 반드시 포함되어 있다는 일종의 규칙없이 진행하는 것이 혈액원 검사실의 질을 정확히 평가하는데 더 도움을 줄 것으로 사료되었다.

ABO 아형 검체의 오답율은 2차년도 1.4%, 3차년도 4.2%로 1차년도의 0%에 비하여 감소하지

않았다. 오답 기관의 사유는 아형을 잘못 판정하거나 판정불가 그리고 ABw형을 AwB형으로 보고하는 사무적 착오로 사료되었다. D 혈액형 검사에서도 2차년도에 한 기관에서 혈액형을 바꾸어 기입하여 사무적 착오가 의심되었는데, 이러한 사무적 착오는 참여기관들이 외부숙련도 조사의 안내문 미숙지와 검사자들의 부주의에 기인한 것으로 여겨져 이에 안내문이나 입력 시스템에 참여기관의 주의를 요하는 문구를 강화할 필요가 있을 것으로 보여졌다.

3차년도에 DFR로 밝혀진 D 변이형 검체는 단클론항체 IgM과 원주응집법을 사용하였던 의료기관 혈액원에서는 D 혈액형검사서 응집을 보여 약 D 검사 없이도 D 양성으로 판정하여 헌혈자 혈액형 검사로는 문제가 없는 것으로 보여진다. 그러나 동일 시약을 사용하는 의료기관 혈액원에서 DFR형인 수혈 환자를 D 양성으로 간주할 경우 anti-D를 생성할 수 있으므로<sup>10)</sup> 이를 감별할 수 있는 체계가 필요할 것으로 여겨졌다. 왜냐하면 DFR이외에도 anti-D를 생성할 수 있는 D 변이형도 혈청학 검사에서는 일부 시약에서 D 양성을 보이는 것으로 보고되기 때문이다.<sup>11)</sup> 따라서 D 혈액형검사서, 특히 원주응집법에서, 응집을 보이더라도 2+ 이하의 응집을 보이는 경우에는 시약마다 다른 반응을 나타낼 수 있는 부분 D형일 가능성도 있으므로, 반드시 다른 시약으로 확인하거나 D 변이형을 의심해 볼 필요가 있겠다.

결론적으로 3차년도의 결과를 볼 때 3년 동안 시행한 혈액형 외부숙련도 조사 사업은 의료기관 혈액원 수를 감소시키기는 하였으나 혈액원 검사실의 질을 향상시키는데 많은 도움을 주었다. 또한 혈액원 검사실의 지속적이고 실제적인 도움을 주기 위해서는 참여기관의 질 향상을 유도할 뿐만 아니라 외부숙련도 사업도 패널 검체의 확보나 구성 변경 등의 변화가 필요할 것으로 사료

되었다.

### 요 약

**배경:** 2011년도의 1차년도 사업의 결과는 일부 의료기관 혈액원에서 ABO 아형이나 D 변이형의 혈액형을 제대로 판정하지 못하므로 지속적인 교육과 혈액원의 혈액형 외부 숙련도조사가 필요한 것으로 보고되었다. 이에 2012년도와 2013년도의 국내 혈액원의 혈액형 검사 외부 숙련도조사 결과를 2011년도 결과와 비교해 보아 3년 동안의 외부 숙련도조사 사업의 영향을 평가하고 향후 외부숙련도 조사를 진행하는데 도움을 주고자 하였다.

**방법:** 2012년도와 2013년도에 3개의 ABO 혈액형과 3개의 D 혈액형 패널용 진혈 검체를 74개와 71개의 혈액원에 각각 발송하였다. 혈액형 검사 결과 분석시는 의도한 결과와 일치할 경우에는 'Good', 이외의 정답은 'Acceptable'로 간주하였고, 정답인 'Good+Acceptable' 이외는 'Unacceptable'로 간주하였다.

**결과:** ABO 아형 검체의 'Unacceptable' 율은 2012년 1.4%, 2013년 4.2%였으나, 'Good'으로 판정한 기관율은 2012년 44.6%, 2013년도에는 83.1%로 크게 증가하였다. 변이형 D형의 'Unacceptable' 율은 2012년도 16.2%에서 2013년도에는 1.4%로 급격히 감소하였다.

**결론:** 3년간의 외부숙련도 조사 사업은 혈액원 검사실의 질을 향상시키는데 많은 도움을 주었으나, 혈액원 검사실의 지속적이고 실제적인 도움을 주기 위해서는 외부숙련도 사업도 패널 검체의 확보나 구성 변경 등의 변화가 필요할 것으로 사료되었다.

### References

1. Oh HB, Han KS, Kim BK, Han BY, Cho HI. A case of Bm. Korean J Blood Transfus 1993;4:97-101
2. Whang DH, Shin BM, Lee HS, Hur M, Han BY, Han KS. Unusual phenotype expression in a Cis-AB trait: Cis-AB child from a Group A father and a Group O Mother. Korean J Blood Transfus 2000;11:169-75
3. Cho D, Jeon MJ, Song JW, Lee JS, Choi HW, Kwon SY, et al. Serologic variability of the A(var) (784G>A) and its property of different expression depending on Co-inherited ABO allele. Korean J Blood Transfus 2006;17:61-70
4. Lee NY, Kwon SW, Han KS, Kim SI. Presence of anti-D in the patient with the D/u phenotype: case report. Korean J Blood Transfus 1991;2:215-7
5. Cho D, Oh BJ, Kim KS, Gu NY, Oh KG, Cho YK, et al. Two cases of partial-D showing different reactivity to various anti-D reagents. Korean J Blood Transfus 2003;14:55-9
6. Lim YA, Cha YJ, Kim JQ, Lee MN, Shin JY. Report on external proficiency testing for blood grouping tests in blood centers (2011). Korean J Blood Transfus 2012;23:38-47
7. Economidou J, Hughes-Jones NC, Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. Vox Sang 1967;12:321-8
8. Rochna E, Hughes-Jones NC. The use of purified 125-I-labelled anti-gamma globulin in the determination of the number of D antigen sites on red cells of different phenotypes. Vox Sang 1965;10:675-86
9. Tazzari PL, Bontadini A, Belletti D, Malferrari F, Conte R. Flow cytometry: a tool in immunohematology for D+W (Du) antigen evaluation? Vox Sang 1994;67:382-6

10. Lomas C, Grässmann W, Ford D, Watt J, Gooch A, Jones J, et al. FPTT is a low-incidence Rh antigen associated with a “new” partial Rh D phenotype, DFR. *Transfusion* 1994;34:612-6
11. Denomme GA, Wagner FF, Fernandes BJ, Li W, Flegel WA. Partial D, weak D types, and novel RHD alleles among 33,864 multiethnic patients: implications for anti-D alloimmunization and prevention. *Transfusion* 2005;45:1554-60