

(11) 공개번호 10-2023-0149730
(43) 공개일자 2023년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.) G01N 33/49 (2006.01) G01N 15/00 (2017.01)	(71) 출원인 고려대학교 산학협력단
(52) CPC특허분류 G01N 33/4905 (2013.01) G01N 2015/0069 (2013.01)	서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(21) 출원번호 10-2023-0045471	(72) 발명자 신세현
(22) 출원일자 2023년04월06일 심사청구일자 2023년04월06일	서울시 서초구 서운로 62 래미안리더스원 106동 503호
(30) 우선권주장 1020220049167 2022년04월20일 대한민국(KR)	(74) 대리인 최훈식

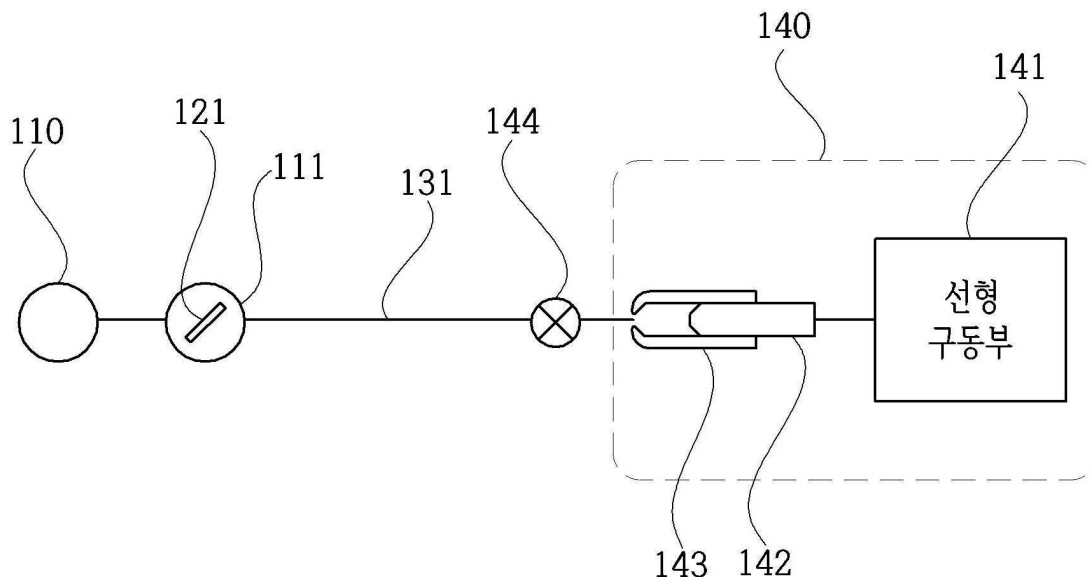
전체 청구항 수 : 총 50 항

(54) 발명의 명칭 혈전탄성도 테스트 장치 및 방법

(57) 요약

본 발명은 혈전생성 및 혈전용해 검사를 연속적으로 수행할 수 있는 혈전탄성도 테스트 장치 및 방법에 관한 것이고, 상기 혈전탄성도 테스트 장치는 혈액 샘플이 주입되고 저장되는 샘플 저장부; 상기 샘플 저장부와 유체 연통되고 상기 샘플 저장부로부터 도입되는 혈액 샘플을 시약과 혼합하여 전처리하는 샘플 전처리부; 상기 샘플 전처리부와 연통되고 상기 혈액 샘플의 이동을 모니터링하기 위한 샘플 검사관; 상기 샘플 검사관과 연결되고 상기 샘플 전처리부로부터 상기 샘플 검사관으로 일정량의 혈액 샘플이 도입되도록 상기 샘플 검사관에 압력을 제공하는 압력 공급부를 포함하고, 상기 혈액 샘플이 압력에 의해 상기 샘플 검사관 내에서 이동하는 혈액 샘플의 주기적 이동특성을 모니터링하는 방식으로 하나 이상의 파라미터 데이터를 획득하는 것을 특징으로 한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 2015/0092 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

혈액 샘플이 주입되고 저장되는 샘플 저장부;

상기 샘플 저장부와 유체 연통되고 상기 샘플 저장부로부터 도입되는 혈액 샘플을 시약과 혼합하여 전처리하는 샘플 전처리부;

상기 샘플 전처리부와 연통되고 상기 혈액 샘플의 이동을 모니터링하기 위한 샘플 검사관; 및

상기 샘플 검사관과 연결되어 요동압력을 제공하는 압력 공급부를 포함하고,

상기 혈액 샘플이 압력에 의해 상기 샘플 검사관 내에서 이동하는 혈액 샘플의 주기적 이동특성을 모니터링하는 방식으로 하나 이상의 파라미터 데이터를 획득하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 혈액 샘플의 주기적 이동특성은 상기 샘플 검사관에서의 혈액 샘플의 이동거리를 모니터링하거나, 또는 상기 압력 공급부로부터 공급되는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 모니터링하여 계측되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 혈액 샘플의 주기적 이동특성은 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서, 또는 상기 압력 공급부로부터 공급되는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 측정하는 압력 측정부를 이용하여 계측되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 4

제2항에 있어서,

압력 공급부는 샘플 저장부의 일단에 연결되고, 압력 측정부는 샘플 검사관의 일단에 연결되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 5

제2항에 있어서,

압력 공급부는 샘플 검사관의 일단에 연결되고, 압력 측정부는 샘플 저장부의 일단에 연결되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서,

상기 샘플 저장부와 상기 샘플 검사관의 사이에는 상기 샘플 검사관으로의 혈액 샘플의 공급 또는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 측정하도록 유동 방향을 전환하는 3웨이 밸브가 구비되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 7

제1항에 있어서,

하나의 샘플 저장부의 일단에는 복수개의 샘플 전처리부가 연결되고,

상기 복수개의 샘플 전처리부에는 각각 샘플 검사관의 일단이 연결되고,

상기 샘플 저장부의 타단에는 메인의 요동압력을 제공하도록 하나의 압력 공급부가 연결되고,

상기 샘플 검사관의 타단에는 보조의 요동압력을 제공하도록 각각의 보조 압력 공급부가 연결되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 샘플 저장부는 중심부에 위치한 중앙 원통관을 포함하는 이중 원통구조(annulus)로 구성되고, 상기 중앙 원통관에 채워진 혈액 샘플만 유입되어 일정 체적의 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관으로 유입되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 샘플 검사관에 유입되는 혈액 샘플은 하나 이상의 샘플 전처리부로 분기되어 하나 이상의 검사를 동시에 수행하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 각 샘플 검사관에 유입되는 혈액 샘플의 체적은 5 μ L ~ 200 μ L 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 샘플 전처리부와 상기 샘플 검사관은 각각 하나 이상 복수개 구비되고, 각각의 샘플 전처리부에는 상이한 시약이 공급되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 시약은 상기 샘플 전처리부 또는 상기 샘플 검사관의 내벽에 코팅되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 시약은 염화칼슘(CaCl_2), 카올린(kaolin), 조직 인자(tissue factor), 헤파리나제(heparinase), 트롬빈(thrombin), ADP(adenosine diphosphate), AA(arachidonic acid), 랩틸레이즈(reptilase), 혈액응고인자 13(Factor XIIIa), 프로스타글란딘 E1(prostaglandin E1), 에피네프린(epinephrine) 및 이들의 조합들 중 어느 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 샘플 전처리부는 자력의 비접촉 방식에 의해 회전되는 교반기를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 시약이 상기 샘플 검사관의 내벽에 코팅되어 있는 경우, 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관의 검사 영역에 위치한 후에, 상기 혈액 샘플이 샘플 검사관 내에서 생성되는 왕복운동에 의해 시약과 혼합되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 16

제11항에 있어서,

상기 샘플 전처리부의 내벽은 소수성 표면(hydrophobic surface)을 형성하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 17

제1항에 있어서,

상기 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관의 검사영역에 위치되면, 상기 압력 공급부는 미리 정해진 한 사이클의 작동 주기로 반복하여 작동하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 압력공급부에 의해 생성되는 파형은 정현파로서 작동 주기의 시간은 1초 ~ 60초의 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율은 $0.1 \sim 60 \text{ s}^{-1}$ 의 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 20

제1항에 있어서,

상기 샘플 검사관의 수력학적 직경(hydraulic diameter)은 $0.1 \text{ mm} \sim 4 \text{ mm}$ 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 21

제20항에 있어서,

혈소판을 활성화시킬 목적을 위해, 상기 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율은 적어도 500 s^{-1} 이상이고, 전단력은 적어도 1 Pa 이상인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 22

제1항에 있어서,

상기 압력 공급부는,

선형적으로 이동하는 선형 구동부와;

상기 선형 구동부의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤과;

상기 피스톤이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 23

제1항에 있어서,

상기 샘플 검사관과 상기 압력 공급부 사이에는 구동 압력의 전달 및 해제를 제어하는 제어밸브가 설치되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 24

제1항에 있어서,

상기 파라미터 데이터는,

혈액 샘플에 요동압력의 입력 압력(Input Magnitude, Imp)이 가해지고, 항응고된 혈액 샘플이 입력 압력에 따라 전후로 움직일 때의 압력을 모니터링함으로써 획득되는데,

혈전 형성을 위한 반응 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/40에 도달하는 시간으로 정의되는 R-시간(min);

혈전이 형성되는데 걸리는 혈전 형성 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/4에 도달하는 시간으로 정의되는 K-시간(min);

혈전 형성 속도로, 상기 R-시간과 상기 K-시간의 곡선을 연결하는 직선의 기울기인 α -각도($^{\circ}$);

요동압력의 변화량이 최대 값을 나타내는 최대 진폭(maximum amplitude)인 MA_p (Pa);

상기 최대 진폭을 입력 압력으로 나누어 얻은 응고 강도(MA_p/Imp);

상기 MA_p 에 도달하는데 필요한 시간인 tMA (min); 및

상기 MA_p 로부터 일정 시간 후의 혈전 용해도(lysis)인 Ly (au) 중 하나 이상을 포함하고,

상기 MA_p (Pa) 값은 공지의 TEG 5000 시스템에 대한 MA 값과의 상관도를 참조하여 MA (mm) 값으로 변환되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 혈전 용해도(Ly)의 측정 시간은 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단물의 값에 따라 결정되고, 상기 MA_p 로부터 1분 ~ 30분 후에 측정되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 장치.

청구항 26

혈액 샘플을 샘플 저장부에 주입하는 단계;

상기 샘플 저장부로부터 도입되는 혈액 샘플을 샘플 전처리부에서 시약과 혼합하여 전처리하는 단계;

상기 샘플 전처리부로부터 상기 샘플 검사관으로 일정량의 혈액 샘플이 도입되도록 압력 공급부에 의해 상기 샘플 검사관에 요동압력을 제공하는 단계; 및

상기 혈액 샘플이 압력에 의해 상기 샘플 검사관 내에서 이동하는 혈액 샘플의 주기적 이동특성을 모니터링하는 방식으로 하나 이상의 파라미터 데이터를 획득하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 27

제26항에 있어서,

상기 혈액 샘플의 주기적 이동특성은 상기 샘플 검사관에서의 혈액 샘플의 이동거리를 모니터링하거나, 또는 상기 압력 공급부로부터 공급되는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 모니터링하여 계측되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 28

제27항에 있어서,

상기 혈액 샘플의 주기적 이동특성은 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서, 또는 상기 압력 공급부로부터 공급되는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 측정하는 압력 측정부를 이용하여 측정되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 29

제27항에 있어서,

압력 공급부는 샘플 저장부의 일단에 연결되고, 압력 측정부는 샘플 검사관의 일단에 연결되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 30

제27항에 있어서,

압력 공급부는 샘플 검사관의 일단에 연결되고, 압력 측정부는 샘플 저장부의 일단에 연결되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서,

상기 샘플 저장부와 상기 샘플 검사관의 사이에는 상기 샘플 검사관으로의 혈액 샘플의 공급 또는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 측정하도록 유동 방향을 전환하는 3웨이 밸브가 구비되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 32

제26항에 있어서,

하나의 샘플 저장부의 일단에는 복수개의 샘플 전처리부가 연결되고,

상기 복수개의 샘플 전처리부에는 각각 샘플 검사관의 일단이 연결되고,

상기 샘플 저장부의 타단에는 메인의 요동압력을 제공하도록 하나의 압력 공급부가 연결되고,

상기 샘플 검사관의 타단에는 보조의 요동압력을 제공하도록 각각의 보조 압력 공급부가 연결되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 33

제26항에 있어서,

상기 샘플 저장부는 중심부에 위치한 중앙 원통관을 포함하는 이중 원통구조로 구성되고, 상기 중앙 원통관에 채워진 혈액 샘플만 유입되어 일정 체적의 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관으로 유입되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 34

제26항에 있어서,

상기 샘플 검사관에 유입되는 혈액 샘플은 하나 이상의 샘플 전처리부로 분기되어 하나 이상의 검사를 동시에 수행하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 35

제34항에 있어서,

상기 샘플 검사관에 유입되는 혈액 샘플의 체적은 5 μ L ~ 200 μ L 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 36

제26항에 있어서,

상기 샘플 전처리부와 상기 샘플 검사관은 각각 하나 이상 복수개 구비되고, 각각의 샘플 전처리부에는 상이한 시약이 공급되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 37

제36항에 있어서,

상기 시약은 상기 샘플 전처리부 또는 상기 샘플 검사관의 내벽에 코팅되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 38

제36항에 있어서,

상기 시약은 염화칼슘(CaCl_2), 카올린(kaolin), 조직 인자(tissue factor), 헤파리나제(heparinase), 트롬빈(thrombin), ADP(adenosine diphosphate), AA(arachidonic acid), 랩틸레이즈(reptilase), 혈액응고인자 13(Factor XIIIIa), 프로스타글란딘 E1(prostaglandin E1), 에피네프린(epinephrine) 및 이들의 조합들 중 어느 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 39

제36항에 있어서,

상기 샘플 전처리부는 자력의 비접촉 방식에 의해 회전되는 교반기를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 40

제37항에 있어서,

상기 시약이 상기 샘플 검사관의 내벽에 코팅되어 있는 경우, 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관의 검사 영역에 위치 한 후에, 상기 혈액 샘플이 샘플 검사관 내에서 생성되는 왕복유동에 의해 시약과 혼합되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 41

제36항에 있어서,

상기 샘플 전처리부의 내벽은 소수성 표면을 형성하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 42

제26항에 있어서,

상기 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관의 검사영역에 위치되면, 상기 압력 공급부는 미리 정해진 한 사이클의 작동 주기로 반복하여 작동하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 43

제42항에 있어서,

상기 압력공급부에 의해 생성되는 파형은 정현파로서 작동 주기의 시간은 1초 ~ 60초의 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 44

제42항에 있어서,

상기 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율은 $0.1 \sim 60 \text{ s}^{-1}$ 의 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 45

제26항에 있어서,

상기 샘플 검사관의 수력학적 직경은 0.1 mm ~ 4 mm 범위인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 46

제42항에 있어서,

혈소판을 활성화시킬 목적을 위해, 상기 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율은 적어도 500 s^{-1} 이상이고, 전단력은 적어도 1 Pa 이상인 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 47

제42항에 있어서,

상기 압력 공급부는,

선형적으로 이동하는 선형 구동부와;

상기 선형 구동부의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤과;

상기 피스톤이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 48

제26항에 있어서,

상기 샘플 검사관과 상기 압력 공급부 사이에는 구동 압력의 전달 및 해제를 제어하는 제어밸브가 설치되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 49

제26항에 있어서,

혈액 샘플에 요동압력의 입력 압력(Input Magnitude, Imp)이 가해지고, 항응고된 혈액 샘플이 입력 압력에 따라 전후로 움직일 때의 압력을 모니터링함으로써 획득되는데,

혈전 형성을 위한 반응 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/40에 도달하는 시간으로 정의되는 R-시간(min);

혈전이 형성되는데 걸리는 혈전 형성 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/4에 도달하는 시간으로 정의되는 K-시간(min);

혈전 형성 속도로, 상기 R-시간과 상기 K-시간의 곡선을 연결하는 직선의 기울기인 α -각도($^{\circ}$);

요동압력의 변화량이 최대 값을 나타내는 최대 진폭(maximum amplitude)인 $MA_p(\text{Pa})$;

상기 최대 진폭을 입력 압력으로 나누어 얻은 응고 강도(MA_p/Imp);

상기 MA_p 에 도달하는데 필요한 시간인 $tMA(\text{min})$; 및

상기 MA_p 로부터 일정 시간 후의 혈전 용해도(lysis)인 $Ly(\text{au})$ 중 하나 이상을 포함하고,

상기 $MA_p(\text{Pa})$ 값은 공지된 TEG 5000 시스템에 대한 MA 값과의 상관도를 참조하여 $MA(\text{mm})$ 값으로 변환되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

청구항 50

제49항에 있어서,

상기 혈전 용해도(Ly)의 측정 시간은 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율의

값에 따라 결정되고, 상기 MA_p로부터 1분 ~ 30분 후에 측정되는 것을 특징으로 하는 혈전탄성도 테스트 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 혈전 생성과정과 혈전 용해과정을 검사하는 혈전탄성도(thromboelastography) 테스트 장치 및 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 소량의 혈액샘플이 미세유동관을 통과할 때 혈액응고가 발생하는 점탄성 특성의 변화에 따라 혈액유동이 정지되는 특성, 그리고 이후에 자연적으로 발생하는 혈전 용해과정에 의하여 혈액유동이 다시 발생하는 특성 등을 이용하여 혈전생성 및 혈전용해 검사를 연속적으로 수행할 수 있는 혈전탄성도 테스트 장치 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 혈액은 액체 형태로서 혈관을 통해 몸 전체를 흘러다니며 산소와 영양분을 공급하고 있다, 그러나, 상처가 혈관 내부에서 발생하는 경우, 혈액은 응고 기작이 시작되어 상처 부위에서의 빠른 혈전을 야기할 수 있다. 그리고, 이러한 혈전이 혈관 통로를 막을 경우, 심근경색이나 뇌졸중과 같은 심각한 병증이 발생하기도 하는데, 사람에 따라 혈전으로 막혔던 혈관유동이 스스로의 용해(lysis) 능력에 따라 효과적으로 다시 뚫리는 경우도 있다. 이런 경우를 환자 스스로가 자각하지 못한 상태에서 넘어갈 수도 있지만, 혈전에 의하여 막힘 현상이 계속 유지되면 즉각적인 시술이 필요하게 된다.
- [0004] 따라서, 적시에 효과적인 방식으로 응고시키고 이후에 용해시키는 환자의 혈액에 대한 능력의 정확한 측정은 일반적인 외과 수술 및 의료 수술에 매우 중요한 정보로 사용되고 있다. 또한, 비정상적인 지혈에 대한 정확한 감지는 혈액 응고 장애를 겪는 환자에게 적절한 치료를 사전에 미리 준비할 수 있도록 해줌으로써 임상적으로 매우 중요한 정보로 다뤄지고 있다.
- [0005] 지혈은 혈액을 액체 상태에서부터 겔(gel) 상태로 변화시키는 매우 복잡하고 복합적인 생화학 연쇄반응의 결과이다. 혈전은 액체상태의 혈액이 겔화 되면서 발생하는 유변학적, 기계적 성질의 변화를 수반하는데, 이를 통해 혈전 강도 및 생성시간 등의 장보를 얻을 수 있으며, 지혈 특성을 결정할 수 있다.
- [0006] 일례로, 응고기전에 의해 형성되기 시작한 혈전의 부착 강도가 순환하는 혈액유동의 전단응력(shear stress)에 저항할 수 있으면, 혈전은 손상된 혈관벽에 부착하여 출혈을 멈추게 할 수 있다.
- [0007] 또 다른 일례로, 혈관벽의 손상이 없는 경우, 혈관의 협착부 등에서 혈전이 형성되어 혈관을 폐색하기도 한다. 이때, 형성되기 시작하는 혈전이 혈액유동의 전단력을 극복하게 되면, 혈전은 매우 빠른 속도로 성장하여 혈관을 막게 되고, 혈전으로 인한 폐색 위치에 따라 심장 마비, 허혈성 뇌졸중(ischemic stroke), 폐색전(Pulmonary Embolism, PE), 또는 심부 정맥 혈전증(Deep Vein Thrombosis, DVT)을 초래한다.
- [0008] 일반적인 혈전탄성도 테스트 장치는 외부로부터 주기적인 회전진동(rotational oscillation) 또는 직선진동(linear oscillation)을 인가하고, 이에 대한 혈액의 반응을 모니터링하여 혈액 샘플의 지혈 특성을 제공한다. 즉, 혈전탄성도 테스트 장치는 혈액 샘플이 응고 및 용해하는 과정동안 반응하는 점탄성(viscoelastic)의 특성을 시간에 따라 기록-분석하여 지혈의 특성 정보를 도출한다. 이를 위해, 혈전탄성도 테스트 장치는 혈액 샘플을 수용하는 컨테이너(container), 혈액 샘플을 주기적으로 발진(oscillation) 또는 진동(vibration) 시키기 위한 셰이커(shaker) 또는 엑사이터(exciter), 및 혈액 샘플의 진폭 결과를 측정하기 위한 센서를 일반적으로 포함한다.
- [0009] 종래의 혈전탄성도(Thromboelastography : TEG) 시스템은 1 mm 간격의 컵과 핀의 세트에 구성된다. 카올린 활성화 혈액(Kaolin activated blood)은 0.1 Hz의 주파수에서 4° 45만큼 진동하는 컵에 배치된다. 컵 또는 핀 중 하나는 고정되고 다른 하나는 회전한다. ROTEM(rotational thromboelastometry) 및 TEG 5000 분석 시스템을 포함한, TEG는 진동 동적 환경(oscillating dynamic environments)에서 지혈의 모든 단계에 대한 포괄적인 정보를 제공할 수 있다. 또한, TEG는 R-시간, K-시간, α-angle, 및 최대 진폭(maximum amplitude : MA)과 같은 파라미터를 사용하여 초기 섬유소(fibrin) 형성, 섬유소-혈소판 플러그 구성, 혈전(clot) 형성 및 혈전 용해를 분석할 수 있다. 또한, TEG 분석은 Ly30으로 표시되는 진폭의 감소를 모니터링하여 섬유소분해(fibrinolysis)를

측정할 수 있다. 이러한 특징으로 인해, TEG는 응고병증 진단(coagulopathy diagnosis), 수혈 치료 안내(transfusion therapeutic guidance), 간 이식 및 심장 수술의 다양한 임상 적용에서 탁월한 성능을 입증했다.

[0010] 최근, 몇 가지 새로운 현장 진료 TEG 기기가 도입되었다. 진동(vibrated) 테스트 셀 및 메니스커스(meniscus) 모니터링 시스템으로 구성되는 TEG6s 시스템(Haemonetics, Braintree, MA)은 인가된 진동(applied vibration)으로 부유된(suspended) 혈액 방울의 공진 주파수를 측정한다. 응고 과정과 함께 공진 주파수를 추적함으로써, 매핑 기능을 사용하여 TEG 등가 파라미터를 도출했다. 레이저, 광학렌즈 및 CMOS 카메라로 구성되는 O-TEG(Optical thromboelastography)는 몇 방울의 혈액에서 일시적인 레이저 스펙클(speckle) 변동을 측정한다. 응고에 따른 스펙클 요동 신호의 감소는 혈액의 점탄성 계수(viscoelastic modulus)로 변환된다. 초음파 트랜스듀서와 프로브로 구성된 공진을 통한 음파 탄성 추정(Sonic estimation of elasticity via resonance : SEER) 소노레오메트리(sonorheometry)에서는 발달 중인 혈전(developing clot)의 음향 변형이 점탄성 특성을 측정하고 응고의 기능적 척도를 추출하는 데 사용된다.

[0011] 그러나, 기존 또는 개선된 TEG 시스템은 응고 과정에서 중요한 역할을 하는 생체 내 혈액학적 전단 환경(vivo hemodynamic shear environments)을 완전히 통합하지 못한다. 실제로, 혈전이 발생하는 혈관 내 유동 환경은 기존의 컵-핀형(cup-and-pin-type) 진동 흐름과는 다른 유동 특성을 가진다. 첫째, 혈관 내 흐름은 반경 방향으로 다양한 전단률(shear-rate) 분포를 생성하는 파이프 흐름(pipe flow)으로 특성화될 수 있다. 정상적인 생리적 흐름 조건에서, 벽 전단률은 정맥에서 약 10 s^{-1} 에서 가장 작은 동맥에서 약 2000 s^{-1} 로 증가한다. 실제로, 전단률은 지혈 거동과 밀접한 관련이 있다. 둘째, 진동 전단(oscillatory shear)은 관상동맥 질환 환자의 병변 진행 패턴 및 플라크 취약성(plaque vulnerability)에 영향을 미치는 우세한 흐름 특성이다. 진동 흐름의 경우, 양방향(또는 진동) 전단 흐름은 단방향 전단 흐름보다 죽상경화성(atherosclerotic) 영역 근처의 혈전 이벤트와 훨씬 더 관련이 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0012] (특허문헌 0001) KR 10-2016-0011622 A1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 따라서 본 발명은 상기 문제를 해결하기 위해 안출한 것으로서, 본 발명의 목적은 혈액응고가 발생하는 점탄성 특성의 변화에 따라 혈액유동이 정지되는 특성이나 혈전 용해과정에 의하여 혈액유동이 다시 발생하는 특성 등을 이용하여 혈전생성 및 혈전용해 검사를 연속적으로 수행할 수 있는 혈전탄성도 테스트 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 다른 목적 및 장점들은 하기에 설명될 것이며, 본 발명의 실시예에 의해 알게 될 것이다. 또한, 본 발명의 목적 및 장점들은 청구범위에 나타난 수단 및 조합에 의해 실현될 수 있다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에 따른 혈전탄성도 테스트 장치는 혈액 샘플이 주입되고 저장되는 샘플 저장부; 상기 샘플 저장부와 유체 연통되고 상기 샘플 저장부로부터 도입되는 혈액 샘플을 시약과 혼합하여 전처리하는 샘플 전처리부; 상기 샘플 전처리부와 연통되고 상기 혈액 샘플의 이동을 모니터링하기 위한 샘플 검사관; 및 상기 샘플 검사관과 연결되어 요동압력을 제공하는 압력 공급부를 포함하고, 상기 혈액 샘플이 압력에 의해 상기 샘플 검사관 내에서 이동하는 혈액 샘플의 주기적 이동특성을 모니터링하는 방식으로 하나 이상의 파라미터 데이터를 획득하는 것을 특징으로 한다.

[0016] 또한, 본 발명에 따른 혈전탄성도 테스트 방법은 혈액 샘플을 샘플 저장부에 주입하는 단계; 상기 샘플 저장부로부터 도입되는 혈액 샘플을 샘플 전처리부에서 시약과 혼합하여 전처리하는 단계; 상기 샘플 전처리부로부터 상기 샘플 검사관으로 일정량의 혈액 샘플이 도입되도록 압력 공급부에 의해 상기 샘플 검사관에 요동압력을 제공하는 단계; 및 상기 혈액 샘플이 압력에 의해 상기 샘플 검사관 내에서 이동하는 혈액 샘플의 주기적 이동특

성을 모니터링하는 방식으로 하나 이상의 파라미터 데이터를 획득하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [0017] 일 실시예에서, 상기 혈액 샘플의 주기적 이동특성은 상기 샘플 검사관에서의 혈액 샘플의 이동거리를 모니터링하거나, 또는 상기 압력 공급부로부터 공급되는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 모니터링하여 측정될 수 있다.
- [0018] 일 실시예에서, 상기 혈액 샘플의 주기적 이동특성은 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서, 또는 상기 압력 공급부로부터 공급되는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 측정하는 압력 측정부를 이용하여 측정될 수 있다.
- [0019] 일 실시예에서, 압력 공급부는 샘플 저장부의 일단에 연결되고, 압력 측정부는 샘플 검사관의 일단에 연결될 수 있다.
- [0020] 일 실시예에서, 압력 공급부는 샘플 검사관의 일단에 연결되고, 압력 측정부는 샘플 저장부의 일단에 연결될 수 있다.
- [0021] 일 실시예에서, 상기 샘플 저장부와 상기 샘플 검사관의 사이에는 상기 샘플 검사관으로의 혈액 샘플의 공급 또는 상기 샘플 검사관에서의 요동압력의 변동을 측정하도록 유동 방향을 전환하는 3웨이 밸브가 구비될 수 있다.
- [0022] 일 실시예에서, 하나의 샘플 저장부의 일단에는 복수개의 샘플 전처리부가 연결되고, 상기 복수개의 샘플 전처리부에는 각각 샘플 검사관의 일단이 연결되고, 상기 샘플 저장부의 타단에는 메인의 요동압력을 제공하도록 하나의 압력 공급부가 연결되고, 상기 샘플 검사관의 타단에는 보조의 요동압력을 제공하도록 각각의 보조 압력 공급부가 연결될 수 있다.
- [0023] 일 실시예에서, 상기 샘플 저장부는 중심부에 위치한 중앙 원통관을 포함하는 이중 원통구조(annulus)로 구성되고, 상기 중앙 원통관에 채워진 혈액 샘플만 유입되어 일정 체적의 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관으로 유입될 수 있다.
- [0024] 일 실시예에서, 상기 샘플 검사관에 유입되는 혈액 샘플은 하나 이상의 샘플 전처리부로 분기되어 하나 이상의 검사를 동시에 수행할 수 있다.
- [0025] 일 실시예에서, 상기 각 샘플 검사관에 유입되는 혈액 샘플의 체적은 5 μL ~ 200 μL 범위일 수 있다.
- [0026] 일 실시예에서, 상기 샘플 전처리부와 상기 샘플 검사관은 각각 하나 이상 복수개 구비되고, 각각의 샘플 전처리부에는 상이한 시약이 공급될 수 있다.
- [0027] 일 실시예에서, 상기 시약은 상기 샘플 전처리부 또는 상기 샘플 검사관의 내벽에 코팅될 수 있다.
- [0028] 일 실시예에서, 상기 시약은 염화칼슘(CaCl_2), 카올린(kaolin), 조직 인자(tissue factor), 헤파리나제(heparinase), 트롬빈(thrombin), ADP(adenosine diphosphate), AA(arachidonic acid), 렙틸레이즈(reptilase), 혈액응고인자 13(Factor XIIIa), 프로스타글란딘 E1(prostaglandin E1), 에피네프린(epinephrine) 및 이들의 조합들 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0029] 일 실시예에서, 상기 샘플 전처리부는 자력의 비접촉 방식에 의해 회전되는 교반기를 포함할 수 있다.
- [0030] 일 실시예에서, 상기 시약이 상기 샘플 검사관의 내벽에 코팅되어 있는 경우, 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관의 검사 영역에 위치한 후에, 상기 혈액 샘플이 샘플 검사관 내에서 생성되는 왕복유동에 의해 시약과 혼합될 수 있다.
- [0031] 일 실시예에서, 상기 샘플 전처리부의 내벽은 소수성 표면(hydrophobic surface)을 형성할 수 있다.
- [0032] 일 실시예에서, 상기 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관의 검사영역에 위치되면, 상기 압력 공급부는 미리 정해진 한 사이클의 작동주기대로 반복하여 작동할 수 있다.
- [0033] 일 실시예에서, 상기 압력공급부에 의해 생성되는 파형은 정현파로서 작동 주기의 시간은 1초 ~ 60초의 범위일 수 있다.
- [0034] 일 실시예에서, 상기 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율은 0.1 ~ 60 s^{-1} 의 범위일 수 있다.
- [0035] 일 실시예에서, 상기 샘플 검사관의 수력학적 직경(hydraulic diameter)은 0.1 mm ~ 4 mm 범위일 수 있다.

- [0036] 일 실시예에서, 혈소판을 활성화시킬 목적을 위해, 상기 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단력은 적어도 500 s^{-1} 이상이고, 전단력은 적어도 1 Pa 이상일 수 있다.
- [0037] 일 실시예에서, 상기 압력 공급부는, 선형적으로 이동하는 선형 구동부와; 상기 선형 구동부의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤과; 상기 피스톤이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함할 수 있다.
- [0038] 일 실시예에서, 상기 샘플 검사관과 상기 압력 공급부 사이에는 구동 압력의 전달 및 해제를 제어하는 제어밸브가 설치될 수 있다.
- [0039] 일 실시예에서, 상기 파라미터 데이터는, 혈액 샘플에 요동압력의 입력 압력(Input Magnitude, Imp)이 가해지고, 항응고된 혈액 샘플이 입력 압력에 따라 전후로 움직일 때의 압력을 모니터링함으로써 획득되는데, 혈전 형성을 위한 반응 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 $1/40$ 에 도달하는 시간으로 정의되는 R-시간(min); 혈전이 형성되는데 걸리는 혈전 형성 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 $1/4$ 에 도달하는 시간으로 정의되는 K-시간(min); 혈전 형성 속도로, 상기 R-시간과 상기 K-시간의 곡선을 연결하는 직선의 기울기인 α -각도($^{\circ}$); 요동압력의 변화량이 최대 값을 나타내는 최대 진폭(maximum amplitude)인 $MA_p(\text{Pa})$; 상기 최대 진폭을 입력 압력으로 나누어 얻은 응고 강도(MA_p/Imp); 상기 MA_p 에 도달하는데 필요한 시간인 $tMA(\text{min})$; 및 상기 MA_p 로부터 일정 시간 후의 혈전 용해도(lysis)인 $Ly(\text{au})$ 중 하나 이상을 포함하고, 상기 $MA_p(\text{Pa})$ 값은 공지의 TEG 5000 시스템에 대한 MA 값과의 상관도를 참조하여 $MA(\text{mm})$ 값으로 변환될 수 있다.
- [0040] 일 실시예에서, 상기 혈전 용해도(Ly)의 측정 시간은 압력공급부에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단력의 값에 따라 결정되고, 상기 MA_p 로부터 1분 ~ 30분 후에 측정될 수 있다.

발명의 효과

- [0042] 이상과 같이, 본 발명에 따르면, 혈전 생성 및 용해 관련 검사를 한 번에 총괄적으로 검사할 수 있게 되는 효과를 얻게 된다.
- [0043] 특히, 본 발명은 생체 내(in-vivo) 혈관운동에서의 혈전이 형성되는 것을 생체 내 환경에서 가장 잘 모사한 특징을 가지고, 환자의 혈액에 따라 혈액 응고 및 혈전 용해도에 대한 능력을 동시에 측정할 수 있는 특징을 가진다.
- [0044] 또한, 본 발명에 따르면, 다양한 조건하에서 혈전생성 및 혈전용해기전을 포함한 혈전탄성도 테스트 검사를 상대적으로 매우 짧은 시간 내에 (< 10 분) 측정오차를 최소화하면서 수행할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0046] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치의 구성도이고,
 도 2는 본 발명에 따른 샘플 저장부의 구성예를 보여주는 도면이고,
 도 3은 본 발명에 따른 샘플 검사관의 구성예를 보여주는 도면이고,
 도 4는 본 발명의 제2 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치의 구성도이고,
 도 5는 본 발명의 제3 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치의 구성도이고,
 도 6 및 도 7은 본 발명의 실시예에 있어서 요동압력의 변동을 측정하기 위한 구성을 설명하기 위한 도면이고,
 도 8 내지 도 17은 본 발명의 다양한 시험예들을 설명하기 위한 도면들이다.
 도 18은 혈전탄성(thromboelastographic) 분석을 위해 개발된 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체 TEG 시스템을 도시한다.
 도 19는 항응고된(anticoagulated) 혈액과 재석회화된(re-calcified) 혈액의 시간에 따른 신호 변화를 나타내는 도면이다.
 도 20(a)는 전형적인 혈전탄성도(Thromboelastography : TEG)로부터 본 발명에 따른 미세유체 TEG 시스템의 파

라미터 정의를 나타내는 도면이다.

도 21(a)는 기존 TEG 5000 및 본 발명에 따른 미세유체 TEG 시스템의 결과에 대한 혈소판 기능장애(platelet dysfunction)의 영향을 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0047] 기타 실시예들의 구체적인 사항은 상세한 설명 및 도면에 포함되어 있다.
- [0048] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 이하의 설명에서 어떤 부분이 다른 부분과 연결되어 있다고 할 때, 이는 직접적으로 연결되어 있는 경우뿐 아니라 그 중간에 다른 매체를 사이에 두고 연결되어 있는 경우도 포함한다. 또한, 도면에서 본 발명과 관계없는 부분은 본 발명의 설명을 명확하게 하기 위하여 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 동일한 도면 부호를 붙였다.
- [0050] 본 발명에서는 소량의 혈액샘플(5 ~ 50 μ L)을, 혈관을 모사한 샘플 검사관에 위치시킨 후, 해당 샘플 검사관에 압력(양압 또는 음압) 진동을 인가 - 해제하는 방식을 취하고 있다.
- [0051] 혈액의 응고과정이 시작되기 전에는 주기적인 압력변동에 따른 혈액의 이송거리 진폭이 규칙적으로 나타나게 된다. 그러나, 혈액의 응고과정이 시작된 후에는 혈액의 점탄성 특성이 두드러지고 겔화 상태로 변화함에 따라 혈액의 이송거리 진폭이 점차 감소하고 정지하기도 한다. 이후, 정지된 혈액은 다시 이송거리의 진폭이 점진적으로 증가하기 시작하기도 하며, 어떤 경우에는 이송거리의 진폭이 완전히 원상회복하는 경우도 발생한다. 따라서, 압력 하에서 혈전 및 용해 과정에 샘플의 이송거리 진폭에 대한 변화의 측정은 혈관내 혈액유통에서의 지혈 또는 혈관 내 폐색의 정보를 제공할 수 있다.
- [0052] 이와 같이, 본 발명에서는 혈액응고가 발생하는 점탄성 특성의 변화에 따라 혈액유통이 정지되는 특성이나 혈전 용해과정에 의하여 혈액유통이 다시 발생하는 특성 등을 이용하여 혈액의 이동거리를 측정하는 방식이나 요동압력의 변동을 측정하는 방식으로 혈전생성 및 혈전용해 검사를 연속적으로 수행할 수 있다.
- [0054] 이하, 첨부된 도면들을 참고하여 본 발명에 대해 설명하도록 한다.
- [0055] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치의 구성도이고, 도 2는 본 발명에 따른 샘플 저장부의 구성예를 보여주는 도면이고, 도 3은 본 발명에 따른 샘플 검사관의 구성예를 보여주는 도면이고, 도 4는 본 발명의 제2 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치의 구성도이고, 도 5는 본 발명의 제3 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치의 구성도이고, 도 6 및 도 7은 본 발명의 실시예에 있어서 요동압력의 변동을 측정하기 위한 구성을 설명하기 위한 도면이며, 도 8 내지 도 17은 본 발명의 다양한 시험예들을 설명하기 위한 도면들이다.
- [0056] 도 18은 혈전탄성(thromboelastographic) 분석을 위해 개발된 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체 TEG 시스템을 도시하는데, 도 18(a)는 정현파 입력 압력을 제공하는 시린지 펌프, 테스트 튜브, 응고 과정에서 혈액의 진동 운동을 모니터링하는 카메라 또는 압력 센서로 구성된 미세유체 TEG 시스템의 개략도이고, 도 18(b)는 재석회화된(recalcified) 혈액에 대한 시간에 따른 압력을 나타내고, 도 18(c)는 초기 압력 진폭에서 압력 차이로 변환된 압력을 나타낸다.
- [0057] 도 19는 항응고된(anticoagulated) 혈액과 재석회화된(re-calcified) 혈액의 시간에 따른 신호 변화를 나타내는데, 도 19(a)는 항응고된 혈액에 대해 측정된 압력이고, 도 19(b)는 항응고된 혈액에 대한 시간에 따른 변환 압력이고, 도 19(c)는 카울린을 첨가하여 재석회화된 혈액에 대한 시간에 따른 압력이고, 도 19(d)는 재석회화된 혈액에 대한 시간에 따른 변환 압력이다.
- [0058] 도 20(a)는 전형적인 혈전탄성도(Thromboelastography : TEG)로부터 본 발명에 따른 미세유체 TEG 시스템의 파라미터 정의를 나타내고, 도 20(b)는 본 발명에 따른 미세유체 TEG 시스템의 MA_p 와 TEG 5000의 MA 사이의 상관도(Correlation)를 나타낸다.
- [0059] 도 21(a)는 기존 TEG 5000 및 본 발명에 따른 미세유체 TEG 시스템의 결과에 대한 혈소판 기능장애(platelet

dysfunction)의 영향을 나타내고, 도 21(b)는 본 발명에 따른 미세유체 TEG 시스템의 MA에 대한 항혈소판(antiplatelet) 농도의 영향을 나타내고, 도 21(c)는 다양한 혈액, 예를 들어 전혈(whole blood : WB), 혈소판-풍부 혈장(platelet-rich plasma : PRP), 혈소판-빈약 혈장(platelet-poor plasma : PPP)의 트롬보엘라스토그램(thromboelastogram)이고, 도 21(d)는 다양한 혈액에 대한 MA의 변동을 나타낸다.

- [0061] 도 1을 참조하면, 본 발명의 제1 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치는 샘플 저장부(110)와, 샘플 전처리부(111)와, 샘플 검사관(131)과, 압력 공급부(140)를 포함하여 구성된다.
- [0062] 상기 샘플 저장부(110)에는 혈액 샘플이 주입되고 저장될 수 있다.
- [0063] 상기 샘플 저장부(110)는 대략 원형의 챔버 형태로 만들어진다. 상기 저장부(110)의 크기는 사용 목적에 따라 다양한 크기로 제작될 수 있다. 또한, 상기 샘플 저장부(110)는 외부에서 쉽게 관찰할 수 있도록 광학적으로 투명하도록 제작됨이 바람직하다.
- [0064] 상기 샘플 저장부(110)는, 도 2에 도시된 바와 같이, 중심부에 위치한 중앙 원통관(110a)을 포함하는 이중 원통 구조(annulus)로 구성되는 것이 바람직하다. 이때, 상기 중앙 원통관(110a)은 상기 샘플 검사관(131)과 유체 연통되도록 연결되며, 따라서 상기 중앙 원통관(110a)에 채워진 혈액 샘플만 유입되어 일정 체적의 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관(131)으로 유입될 수 있다.
- [0065] 상기 샘플 전처리부(111)는 상기 샘플 저장부(110)와 유체 연통되고 상기 샘플 저장부(110)로부터 도입되는 혈액 샘플을 시약과 혼합하여 전처리할 수 있다.
- [0066] 상기 샘플 전처리부(111)에는 혈액 응고를 유도하기 위하여 혈액에 적정 농도의 염화칼슘(CaCl_2)을 제공하며, 필요에 따라서 다양한 시약을 추가적으로 제공할 수 있다. 대표적인 시약으로는 카올린(kaolin), 조직 인자(tissue factor), 헤파리나제(heparinase), 트롬빈(thrombin), ADP(adenosine diphosphate), AA(arachidonic acid), 램틸레이즈(reptilase), 혈액응고인자 13(Factor XIIIa) 및 이들의 조합들 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0067] 또한, 다른 기타 시약으로는, 프로스타글란딘 E1(prostaglandin E1 ; PGE1), 에피네프린(epinephrine)을 포함할 수도 있다.
- [0068] 카올린은 혈액응고 촉진물질로 연구되는 물질 중 하나로서, 혈액 내에서 응고를 촉진시키는데 탁월한 효과가 있다고 알려져 있다.
- [0069] 조직 인자는 혈액응고의 연쇄적인 과정(coagulation cascade)에서 매우 중요한 위치를 담당하는 인자로서, 혈관의 항상성을 유지하는 핵심 단백질이다.
- [0070] 헤파리나제는 헤파린 분해효소이다.
- [0071] 예를 들면, 상기 시약은 상기 샘플 전처리부(111) 또는 상기 샘플 검사관(131)의 내벽에 코팅될 수 있다. 이는 혈액 샘플이 샘플 전처리부(111) 또는 샘플 검사관(131)으로 유입되고 유동할 때 시약이 혈액 샘플에 효과적으로 혼합되도록 할 수 있다.
- [0072] 상기 샘플 전처리부(111)의 내부에는 교반기(121)를 포함할 수 있다. 상기 교반기(121)의 형상은 원형봉 및 원형판 형상 중 어느 하나로 구성될 수 있다.
- [0073] 예를 들면, 상기 교반기(121)는 별도로 설치된 교반유도장치(도시되지 않음)의 자력에 의해 자화되어 기계적인 연결없이 영향을 받을 수 있는 자력의 비접촉 방식에 의해 회전되는 얇은 금속재로 제작된 교반기일 수 있다.
- [0074] 상기 시약이 상기 샘플 검사관(131)의 내벽에 코팅되어 있는 경우, 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관(131)의 검사 영역에 위치한 후에, 상기 혈액 샘플이 샘플 검사관(131) 내에서 생성되는 왕복유동에 의해 시약과 혼합될 수 있다.
- [0075] 또한, 상기 샘플 전처리부(111)의 내벽은 소수성 표면(hydrophobic surface)을 형성할 수 있으며, 따라서 세균 등의 오염원이 샘플 전처리부(111)의 내벽에 부착되지 않도록 할 수 있다.
- [0076] 만약 샘플 전처리부(111)의 내벽이 소수성 표면이 아닐 경우, 혈액 응고물이 샘플 전처리부(111)의 내벽에 달라붙는 현상이 발생하게 되며, 이로 인해 지혈검사에 어려움이 따를 수 있다.

- [0077] 상기 샘플 검사관(131)은 상기 샘플 전처리부(111)와 연통되고 상기 혈액 샘플의 이동을 모니터링하기 위한 것이다.
- [0078] 상기 샘플 검사관(131)의 수력학적 직경(hydraulic diameter)은 0.1 mm ~ 4 mm, 바람직하게는 0.2 mm ~ 2 mm 범위일 수 있다. 상기 샘플 검사관(131)은 원형이 아니라 사각형, 다각형 등 다양한 형상으로 제조가능하며, 이를 고려하여 수력학적 직경이 결정될 수 있다.
- [0079] 상기 압력 공급부(140)는 상기 샘플 검사관(131)과 연결되고 상기 샘플 전처리부(111)로부터 상기 샘플 검사관(131)으로 일정량의 혈액 샘플이 도입되도록 상기 샘플 검사관(131)에 일정한 압력을 제공할 수 있다.
- [0080] 여기서, 상기 압력 공급부(140)는 요동압력(fluctuation pressure)의 기능을 동시에 포함하는 장치일 수 있다. 즉, 상기 압력 공급부(140)는 요동하는 압력을 갖는 요동압력을 제공할 수 있다. 이때, 요동압력의 형태는 사인파, 톱니파, 삼각파, 구형파, 또는 임의의 파형 중 하나를 포함할 수 있다.
- [0082] 도 3을 참조하면, 상기 샘플 검사관(131)의 끝단에는 제어밸브(144)와 연결된 주사 바늘(145)이 관통할 수 있는 고무마개(132)가 제공될 수 있다. 따라서, 상기 샘플 검사관(131)은 상기 주사 바늘(145)을 통해 외부의 압력 공급부(140)와 쉽게 연통할 수 있다. 상기 제어밸브(144)는 후술하는 바와 같이 압력 공급부(140)로부터의 구동 압력의 전달 및 해제를 제어하는 기능을 한다.
- [0083] 바람직하게, 상기 샘플 검사관(131)에 유입되는 혈액 샘플의 체적은 상기 샘플 저장부(110)의 중앙 원통관(110a)의 체적에 기초하여 정해질 수 있다.
- [0084] 예를 들면, 상기 샘플 검사관(131)에 유입되는 혈액 샘플의 체적은 5 μ L ~ 200 μ L 범위일 수 있다.
- [0085] 상기 압력 공급부(140)는 선형적으로 이동하는 선형 구동부(141)와, 상기 선형 구동부(141)의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤(142)과, 상기 피스톤이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더(143)를 포함할 수 있다.
- [0086] 여기서, 상기 선형 구동부(141)는 회전운동을 직선 왕복운동으로 변환시키는 크랭크 장치로 구성할 수 있다.
- [0087] 바람직하게, 혈액 샘플이 상기 샘플 검사관(131)의 검사영역에 위치되면, 상기 압력 공급부(140)는 미리 정해진 한 사이클의 작동주기대로 반복하여 작동할 수 있다.
- [0088] 예를 들면, 상기 작동주기의 한 사이클은, 후진(Withdraw) - 전진(Infusion) 사이클, 전진 - 후진 사이클, 후진 - 정지 - 전진 - 정지 사이클, 전진 - 정지 - 후진 - 정지 사이클 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 이때, 한 사이클에 걸리는 시간은 1초 ~ 60초 범위일 수 있다.
- [0089] 여기서, 후진 사이클은 예를 들어 도면상에서 볼 때 상기 선형 구동부(141)의 구동에 의해 피스톤(142)이 좌측에서 우측으로 이동하는 것일 수 있다. 이와 반대로, 전진 사이클은 도면상에서 볼 때 상기 선형 구동부(141)의 구동에 의해 피스톤(142)이 우측에서 좌측으로 이동하는 것일 수 있다. 물론 그 역도 가능하다.
- [0090] 상기 압력공급부(140)에 의해 생성되는 압력에 의해 혈액 샘플에 인가되는 전단율은 0.1 ~ 60 s^{-1} 의 범위일 수 있다.
- [0091] 특히, 혈소판을 활성화시킬 목적인 경우, 상기 압력 공급부(140)에 의해 발생하는 압력의 전단율은 적어도 500 s^{-1} 이상이고, 이때 전단력은 1 Pa 이상, 바람직하게는 8 Pa 이상일 수 있다.
- [0092] 또한, 상기 샘플 검사관(131)과 상기 압력 공급부(140) 사이에는 구동 압력의 전달 및 해제를 제어하는 제어밸브(144)가 설치될 수 있다.
- [0093] 한편, 선형 구동부(141)는 제어부(도시안됨)와 연결되어, 구동이 제어될 수 있다.
- [0094] 따라서, 본 발명에서는 상기 샘플 검사관(131) 내에서 상기 압력 공급부(140)의 압력에 의해 유동하는 상기 혈액 샘플의 이동거리를 모니터링하거나 상기 샘플 검사관(131)에서의 요동압력의 변동을 측정하는 방식으로 하나 이상의 파라미터 데이터를 획득할 수 있다. 결과적으로, 본 발명에서는 다양한 조건 하에서 혈전생성 및 혈전용해기전을 포함한 혈전탄성도 테스트 검사를 단시간 내에 측정오차를 최소화하면서 수행할 수 있다.
- [0095] 여기서, 상기 파라미터 데이터는 혈액 샘플에 요동압력의 입력 압력(Input Magnitude, IMp)이 가해지고, 항응고

된 혈액 샘플이 입력 압력에 따라 전후로 움직일 때의 압력을 모니터링함으로써 획득되는데, 혈전 형성을 위한 반응 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/40에 도달하는 시간으로 정의되는 R-시간(min); 혈전이 형성되는데 걸리는 혈전 형성 시간으로, 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/4에 도달하는 시간으로 정의되는 K-시간(min); 혈전 형성 속도로, 상기 R-시간과 상기 K-시간의 곡선을 연결하는 직선의 기울기인 α -각도($^{\circ}$), 요동압력의 변화량이 최대 값을 나타내는 최대 진폭(maximum amplitude)인 MA_p (Pa); 상기 최대 진폭을 입력 압력으로 나누어 얻은 응고 강도(MA_p/Imp); 상기 MA_p 에 도달하는데 필요한 시간인 tMA (min); 및 상기 MA_p 로부터 일정 시간 후의 혈전 용해도(lysis)인 $Ly(au)$ 중 하나 이상을 포함하고, 상기 MA_p (Pa) 값은 공지의 TEG 5000 시스템에 대한 MA 값과의 상관도를 참조하여 $MA(mm)$ 값으로 변환될 수 있다.

[0097] 도 4를 참조하면, 본 발명의 제2 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치가 도시되어 있으며, 제1 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치와 비교할 때 샘플 검사관(131)의 배치구성에서만 차이를 가지며, 나머지 구성요소는 모두 동일하다.

[0098] 구체적으로, 본 발명의 제1 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치에서는 상기 샘플 검사관(131)이 지표면에 대해 수평방향으로 배치되는 반면, 본 발명의 제2 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치에서는 상기 샘플 검사관(131)이 지표면에 대해 연직방향으로 U자 모양으로 배치되는 차이를 가진다. 따라서, 상기 샘플 검사관(131) 내의 혈액 샘플은 상기 압력 공급부(140)의 압력이 제공되면 검사영역에서 U자 부분의 가상 수평선을 중심으로 상하로 이동하는 양태를 보여줄 수 있다. 여기서, 연직방향이란 중력이 작용하는 방향과 나란한 방향으로, 지표면에 수직인 방향으로 이해될 수 있다.

[0100] 도 5를 참조하면, 본 발명의 제3 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치가 도시되어 있다.

[0101] 도 5에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제3 실시예에 따른 혈전탄성도 테스트 장치에서는 하나의 샘플 저장부(110)의 일단에는 복수개의 샘플 전처리부(111, 112)가 연결되고, 상기 복수개의 샘플 전처리부(111, 112)에는 각각 샘플 검사관(131, 132)의 일단이 연결될 수 있다. 이때, 각각의 샘플 전처리부(111, 112)에는 상이한 시약이 공급될 수 있고, 이에 따라 하나 이상의 검사를 동시에 수행가능하다.

[0102] 또한, 상기 샘플 저장부(110)의 타단에는 메인의 요동압력을 제공하도록 하나의 압력 공급부(140)가 연결되고, 상기 샘플 검사관(131, 132)의 타단에는 보조의 요동압력을 제공하도록 각각의 보조 압력 공급부(170)가 연결될 수 있다. 이때, 상기 압력 측정부(170)와 보조 압력 공급부(180)는 하나의 연결포트(138)를 통해 상기 샘플 검사관(131, 132)과 각각 연결될 수 있다.

[0103] 여러 개의 샘플 검사관(131, 132)을 포함할 경우, 하나의 압력 공급부(140)만으로 각 샘플 검사관(131, 132)에서 혈액 샘플의 위치를 제어하기 어렵게 된다. 따라서, 이러한 문제를 해소하기 위해서, 본 실시예에서는 메인 이 되는 압력 공급부(140) 이외에, 별도의 보조 압력 공급부(180)가 제공되고 있다.

[0104] 상기 보조 압력 공급부(180)는 예를 들면 시린지 펌프로 구성될 수 있다. 여기서, 시린지 펌프는 각 샘플 검사관(131, 132)에서 혈액 샘플의 위치를 보조 제어하기 위해 공기가 들어있는 주사기를 장착하여 일정량의 공기를 일정한 속도로 밀어내거나 또는 흡입하여 보조적인 유동압력을 각 샘플 검사관(131, 132)에 제공하는 펌프를 말한다.

[0105] 도 5에서, 하나의 샘플 저장부(110)와, 복수개의 샘플 전처리부(111, 112)와, 복수개의 샘플 검사관(131, 132)과, 복수개의 연결포트(138)는 혈전탄성도 테스트를 위한 혈전탄성도 테스트 칩을 구성하고, 압력 공급부(140)와, 압력 측정부(170)와, 보조 압력 공급부(180)는 혈전탄성도 테스트 칩(100)과 별도로 연결될 수 있는 기구부라고 볼 수 있다.

[0106] 상기 샘플 전처리부(111)의 내부에는 교반기(121)를 포함하고, 상기 샘플 전처리부(112)의 내부에는 교반기(122)를 포함할 수 있다.

[0107] 도 5에서와 같이, 샘플 전처리부(111, 112)가 복수개로 마련되는 것을 예로 하고 있으나, 샘플 저장부(110)가 복수개로 마련될 수 있음은 물론이다.

- [0109] 도 6 및 도 7은 본 발명의 실시예에 있어서 요동압력의 변동을 측정하기 위한 구성을 설명하기 위한 도면이다.
- [0110] 본 발명의 실시예에 있어서, 요동압력의 변동을 샘플 검사관과 압력 공급부 사이에서 측정한 결과, 요동압력의 변동을 나타내는 압력 신호가 대단히 복잡하게 검출되었다. 이를 감안하여, 본 발명자는 샘플 저장부와 샘플 검사관 사이에 3웨이 밸브를 제공함으로써 압력이 일정하게 유지되는 방식으로 요동압력의 변동을 나타내는 압력 신호가 또한 일정하게 검출되도록 하였다.
- [0112] 도 6a를 참조하면, 본 발명의 실시예에 있어서 요동압력의 변동을 측정하기 위한 하나의 구성으로서, 샘플 저장부(110)와 샘플 검사관(131)의 사이에는 샘플 검사관(131)으로의 혈액 샘플의 공급 및 샘플 검사관(131)에서의 요동압력의 변동을 측정하도록 유동 방향을 전환하는 3웨이 밸브(150)가 구비될 수 있다. 이때, 3웨이 밸브(150)는 압력 공급부(140)와 협력하여 작동할 수 있고, 제어부(도시안함)에 의해 그 작동이 제어될 수 있다. 여기서, 압력 공급부(140)는 샘플 검사관(131)의 일단에 연결되고, 압력 측정부(pressure sensing part : PS)가 샘플 저장부(110)의 일단에 연결되고 있다, 상기 압력 측정부(PS)는 샘플 검사관(131)에서의 공기 압력의 변동을 모니터링하여 혈액 샘플의 주기적 이동특성을 계측한다.
- [0113] 도 6b를 참조하면, 상기 3웨이 밸브(150)의 제1 포트(150a)에는 상기 샘플 저장부(110)가 연결되고, 상기 3웨이 밸브(150)의 제2 포트(150b)에는 상기 샘플 검사관(131)이 연결되고, 상기 3웨이 밸브(150)의 제3 포트(150c)에는 압력 측정부(150)가 연결될 수 있다. 이때, 상기 샘플 검사관(131)의 타단에는 압력 공급부(140)가 제어밸브(144)를 통해 연결될 수 있다.
- [0114] 이와 같은 구성에서, 상기 3웨이 밸브(150)의 제1 작동시, 3웨이 밸브(150)의 제2 포트(150b)를 개방함으로써 일정량의 혈액 샘플(S)이 계측되고, 계측된 혈액 샘플(S)이 샘플 검사관(131)의 검사위치로 이동하게 되므로(화살표 1의 방향 참조), 샘플 검사관(131)으로의 혈액 샘플(S)의 공급이 수행된다. 이때, 일정량의 혈액 샘플(S)을 계측하기 위해, 혈액 샘플(S)의 이동을 계측할 수 있는 광센서(3)가 추가로 제공될 수 있다.
- [0115] 또한, 상기 3웨이 밸브(150)는 제2 작동시 제3 포트(150c)를 개방함으로써 압력 측정부(150)에 의한 샘플 검사관(131)에서의 요동압력의 변동을 측정할 수 있게 된다(화살표 2의 방향 참조).
- [0117] 도 7a를 참조하면, 본 발명의 실시예에 있어서 요동압력의 변동을 측정하기 위한 다른 구성으로서, 샘플 저장부(110)와 샘플 검사관(131)의 사이에는 샘플 검사관(131)으로의 혈액 샘플의 공급 또는 샘플 검사관(131)에서의 요동압력의 변동을 측정하도록 유동 방향을 전환하는 3웨이 밸브(160)가 구비될 수 있다. 이때, 3웨이 밸브(160)는 압력 공급부(140)와 협력하여 작동할 수 있고, 제어부(도시안함)에 의해 그 작동이 제어될 수 있다. 여기서, 압력 공급부(140)는 샘플 저장부(110)의 일단에 연결되고, 압력 측정부(PS)가 샘플 검사관(131)의 일단에 연결되고 있다,
- [0118] 도 7b를 참조하면, 상기 3웨이 밸브(160)의 제2 포트(160b)에는 샘플 검사관(131)이 연결되고, 상기 3웨이 밸브(160)의 제3 포트(160c)에는 압력 공급부(140)가 연결될 수 있다. 이때, 3웨이 밸브(160)의 제3 포트(160c)과 압력 공급부(140)는 일정한 길이의 연결관(162)으로 서로 연결될 수 있고, 상기 샘플 검사관(131)의 타단에는 압력 측정부(PS)가 연결될 수 있다.
- [0119] 이와 같은 구성에서, 상기 3웨이 밸브(160)의 제1 작동시, 3웨이 밸브(160)의 제3 포트(160c)를 개방함으로써 연결관(152) 내에서 일정량의 혈액 샘플(S)이 계측될 수 있다(화살표 4의 방향 참조). 이때, 연결관(152) 내에서의 일정량의 혈액 샘플(S)을 계측하기 위해, 혈액 샘플(S)의 이동을 계측할 수 있는 광센서(3)가 추가로 제공될 수 있다.
- [0120] 또한, 상기 3웨이 밸브(160)의 제2 작동시, 3웨이 밸브(160)의 제2 포트(160b)를 개방함으로써 연결관(152) 내에서 계측된 일정량의 혈액 샘플(S)이 샘플 검사관(131)의 검사위치로 이동하게 되므로, 샘플 검사관(131)으로의 혈액 샘플(S)의 공급이 수행된다. 이때, 샘플 검사관(131)의 타단에 연결되어 있는 압력 측정부(150)에 의한 샘플 검사관(131)에서의 요동압력의 변동을 측정할 수 있게 된다(화살표 5의 방향 참조).

- [0122] [시험예 1]
- [0124] 도 8에는 본 발명의 시험예 1이 도시되어 있다.
- [0125] 시험예 1에서는 샘플 검사관(131) 내로 일정량(10 μ L)의 혈액 샘플이 도입된 후, 압력 공급부(140)가 한 사이클의 작동주기, 예를 들어 5초 단위의 후진(Withdraw) - 정지 - 전지(infuse) 사이클로 총 15초의 시간간격으로 반복하여 작동한다. 여기서, 상기 압력공급부(140)에 의해 생성되는 파형은 정현파로서, 작동 주기의 시간은 1초 ~ 60초의 범위일 수 있다.
- [0126] 여기서, 상기 샘플 검사관(131)의 전체 길이가 대략 160 mm이었다. 이때, 혈액 샘플(S)이 도입되는 입구영역(L_{ent})의 길이는 20 mm이고, 검사가 수행되는 검사영역(L_{Test})의 길이는 30 mm이었다. 혈액 샘플(S)은 예를 들어 2 mm 단위로 이동하는 것으로 가정하였다.
- [0127] 상기 샘플 검사관(131)의 전체 길이는 바람직하게 70 mm ~ 90 mm, 가장 바람직하게는 80 mm일 수 있다.
- [0128] 시험예 1에서는 샘플 전처리부(111)가 도시되어 있지 않지만, 시약이 혼합되는 경우에는 샘플 전처리부(111)가 포함된 것으로 이해하여야 한다.
- [0129] 혈액의 응고과정이 시작되기 전에는 주기적인 압력변동에 따른 혈액 샘플의 이송거리 진폭이 규칙적으로 나타나게 된다.
- [0130] 그러나, 혈액의 응고과정이 시작된 후에는 혈액의 점탄성 특성이 두드러지고 겔화 상태로 변화함에 따라 혈액의 이송거리 진폭이 점차 감소하고 정지하기도 한다. 이후, 정지된 혈액은 다시 이송거리의 진폭이 점진적으로 증가하기 시작하기도 하며, 어떤 경우에는 이송거리의 진폭이 완전히 원상회복하는 경우도 발생한다. 따라서, 압력 하에서 혈전 및 용해 과정에 샘플의 이송거리 진폭에 대한 변화의 측정은 혈관내 혈액유동에서의 지혈 또는 혈관 내 폐색의 정보를 제공할 수 있다.
- [0131] 도 9a를 참조하면, 혈액응고가 없는 경우, 혈액 유동은 한 사이클의 작동주기 동안 주기적으로 일정거리만큼 이동하고 있음을 알 수 있다.
- [0132] 도 9b를 참조하면, 혈액응고가 시작된 경우(혈액 응고를 유도하기 위하여 혈액에 적정 농도의 칼슘을 제공함), 혈액 유동은 점진적으로 정지되며, 주기적 혈액이동거리는 감소하다가 0값이 되기도 한다. 즉, 주기적 혈액의 이동거리는 점진적으로 감소후 정지되는 특성이 있다.
- [0133] 도 10a 및 도 10b를 참조하면, 혈액 응고 및 용해가 발생한 경우, 정지된 혈액은 다시 이송거리의 진폭이 점진적으로 증가하기 시작함을 알 수 있다. 즉, 혈전용해기전이 작용할 경우에는, 정지된 혈액유동이 다시 주기적 이동이 발생하는 특성을 가진다.
- [0134] 상기와 같은 혈액응고 및 혈액용해와 연관되어 혈액 이동거리의 감소 변화는 도 9에서와 같은 혈전 탄성도의 형태로 분석할 수 있다. 이러한 혈전 탄성도는 기존의 혈전탄성도(Thromboelastography)와 매우 유사하다.
- [0135] 도 11에는 본 발명에서 획득할 수 있는 하나 이상의 파라미터 데이터를 나타내고 있다.
- [0136] 본 발명에서 획득할 수 있는 하나 이상의 파라미터 데이터는 초기 혈전 반응 시간(R-시간), 혈전 형성 시간(K-시간), 혈전 형성 속도(α -각도), 최대 혈전 강도의 최대 진폭(maximum amplitude, MA) 및 혈전 용해도(Ly30) 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0137] 이러한 하나 이상의 파라미터 데이터는 종래기술에 따른 혈전탄성도(Thromboelastography)에서와 같은 등가 파라미터 특성을 모두 포함하고 있다.
- [0138] 따라서, 본 발명에서는 혈액응고가 발생하는 점탄성 특성의 변화에 따라 혈액유동이 정지되는 특성이나 혈전 용해과정에 의하여 혈액유동이 다시 발생하는 특성 등을 이용하여 혈액의 이동거리를 측정하는 방식으로 혈전생성 및 혈전용해 검사를 연속적으로 수행할 수 있다.
- [0140] [시험예 2]

- [0142] 도 12에는 본 발명의 시험예 2가 도시되어 있다.
- [0143] 시험예 2에서는 샘플 검사관(131) 내로 일정량(10 μ L)의 혈액 샘플이 도입된 후, 압력 공급부(140)가 한 사이클의 작동주기, 예를 들어 5초 단위의 후진(Withdraw) (0.12 ml/min) - 전진(infuse) (0.12 ml/min) 사이클로 총 10초의 시간간격으로 반복하여 작동한다.
- [0144] 시험예 2에서도, 시험예 1에서와 같이, 혈액응고 및 혈액용해와 연관되어 혈액 이동거리의 감소 변화는 도 11에서와 같은 혈전 탄성도의 형태로 분석할 수 있었다.
- [0146] [시험예 3]
- [0148] 도 13에는 본 발명의 시험예 3이 도시되어 있다.
- [0149] 시험예 3에서는 샘플 검사관(131) 내로 일정량(25 μ L)의 혈액 샘플이 도입된 후, 압력 공급부(140)가 한 사이클의 작동주기, 예를 들어 5초 단위의 후진 (0.3 ml/min) - 정지 - 전진 (0.3 ml/min) - 정지 사이클로 총 20초의 시간간격으로 반복하여 작동한다.
- [0150] 시험예 3에서도, 시험예 1에서와 같이, 혈액응고 및 혈액용해와 연관되어 혈액 이동거리의 감소 변화는 도 11에서와 같은 혈전 탄성도의 형태로 분석할 수 있었다.
- [0152] [시험예 4]
- [0154] 도 14에는 본 발명의 시험예 4가 도시되어 있다.
- [0155] 시험예 4에서는 샘플 검사관(131)이 지표면에 대해 연직방향으로 U자 모양으로 배치되고, 따라서, 상기 샘플 검사관(131) 내의 혈액 샘플은 주기적 압력이 제공되면 중력(g)이 작용하여 검사영역에서 U자 부분의 가상 수평선(H)을 중심으로 상하로 이동하는 양태를 보여주었다.
- [0156] 시험예 4에서도, 시험예 1에서와 같이, 혈액응고 및 혈액용해와 연관되어 혈액 이동거리의 감소 변화는 도 15에서와 같은 혈전 탄성도의 형태로 분석할 수 있었다.
- [0158] [시험예 5]
- [0160] 도 16에는 본 발명의 시험예 5가 도시되어 있다.
- [0161] 시험예 1 내지 4에서는 혈액 샘플의 주기적 이동특성이 샘플 검사관(131)에서의 혈액 샘플의 이동거리를 모니터링하여 측정되었으나, 시험예 5에서는 혈액 샘플의 주기적 이동특성이 압력 측정부(PS)를 통해 샘플 검사관(131)에서의 공기 압력의 변동을 모니터링하여 측정되는 차이를 가진다.
- [0163] 시험예 5에서도, 시험예 1 내지 4에서와 같이, 혈액응고 및 혈액용해와 연관되어 혈액 이동거리의 감소 변화는 도 17에서와 같은 혈전 탄성도의 형태로 분석할 수 있었다.
- [0165] [구현예]
- [0167] 본 발명은 원형 튜브에서 생체 내 혈액학 환경을 모방하는 혁신적인 미세유체 혈전탄성도(microfluidic thromboelastography : μ -TEG라고 약칭함) 시스템을 제안하고 있다. 정현파 입력 압력(sinusoidal input pressure)을 채택함으로써, 튜브에서 전후로 움직이는 혈액 샘플이 재현되고 모니터링된 압력이 TEG 증가 파라

미터로 변환되었다. 따라서, 우리는 간단한 미세유체 튜브 시스템을 사용하여 혈액 응고 특성을 신속하게 평가하는 새로운 μ -TEG 시스템을 시연했다.

[0169] 샘플 및 재료

[0171] 본 발명은 고려대학교 구로병원 인간사용윤리위원회의 승인을 받았다(IRB No. 2020GR0559). 정맥천자(venipuncture)를 통해 시트르산 나트륨 및 K2EDTA 튜브(BD Vacutainer Systems, Franklin Lakes, NJ, USA)에서 혈액 샘플을 수집했다. 혈액의 시간에 따른 응고 특성의 위험을 최소화하기 위해 모든 테스트를 4시간 이내에 완료했다. 전체 혈구 수는 자동 혈액 분석기(Beckman Coulter, Miami, FL, USA)를 사용하여 측정되었다. μ -TEG 분석 전에, 구연산 혈액 1 mL를 카울린 용액 바이알(40 μ L)에 첨가했습니다. 20 μ L 칼슘 염화물 용액(0.2M)을 다른 바이알에 넣은 다음, 340 μ L의 카울린 혼합 혈액을 첨가했다. 혈액 샘플의 혼합물을 부드럽게 혼합하고 40 μ L의 혼합물을 μ -TEG 측정을 위한 시험관에 즉시 옮겼다. 각 샘플은 TEG 5000을 사용하여 동시에 테스트되었다.

[0173] 전단률(shear rate)의 식별

[0175] 전단률은 혈액 응고에 중요한 인자이다. 사실, 전단률은 혈소판 활성화 및 응집을 유발하는 생물물리학적 작용제이며, 높은 전단률은 증가된 트롬빈(thrombin) 생성과 높은 상관관계가 있다. 또한, 높은 전단률 하에서 동맥 혈전 형성이 광범위하게 연구되었다. 정맥의 정상적인 혈관 흐름은 포물선 속도 프로파일을 가진 원형 튜브의 꾸준한 층류 혈류(steady laminar blood flow)로 단순화될 수 있다. 이 구성에서, 최대 전단률은 벽에서 관찰되었으며(벽 전단률, γ_{wall} 로 알려짐), 이는 $8 V_{avg}/d$ 로 정의되었다. 0.6 mL/min의 시린지(syringe) 펌프 속도를 적용했을 때, 시험관 내 혈액 샘플의 평균 속도는 약 0.75 mm/s이었다. 이를 고려하면, 관벽 부근의 벽 전단률은 정맥류(venous flow)에서 자주 관찰되는 $4.6 s^{-1}$ 이었다. 또한, μ -TEG의 전단률은 시린지 펌프 속도, 스트로크 부피(stroke volume), 튜브 직경 및 주기적 시간을 사용하여 쉽게 변경할 수 있다. 5초 동안 $4^\circ 45'$ 회전하는 TEG 5000의 전단률은 약 $0.03 s^{-1}$ 로, 이는 인체의 생체 내 순환 흐름에서는 거의 관찰되지 않는 체로에 가까운 전단 흐름이다.

[0177] 실험 설정 및 작동 원리

[0179] 도 18은 혈전탄성(thromboelastographic) 분석을 위해 개발된 본 발명의 일 실시예에 따른 미세 유체 시스템을 도시하는데, 도 18(a)는 정현파 입력 압력을 제공하는 시린지 펌프, 테스트 튜브, 응고 과정에서 혈액의 진동 운동을 모니터링하는 카메라 또는 압력 센서로 구성된 μ -TEG 시스템의 개략도이고, 도 18(b)는 재석회화(recalcified) 혈액에 대한 시간에 따른 압력을 나타내고, 도 18(c)는 초기 압력 진폭에서 압력 차이로 변환된 압력을 나타낸다. 이 시스템은 왕복 시린지 펌프, 데드 볼륨(dead volume), 직선형 실리콘 튜브, 압력 변환기(transducer) 및 밸브로 구성된다. 계량된 혈액 시료(40 μ L)를 시린지 펌프(Legato 200, KD Scientific, Seoul, Korea)를 사용하여 실리콘 테스트 튜브($d = 1.3$ mm, $L = 80$ mm)에 흡인하고(aspirated) 시린지 펌프로 테스트 튜브의 특정 위치에 위치시켰다. 다음에, 시험관의 다른 쪽 끝을 압력 변환기에 연결했다. 왕복(reciprocating) 시린지 펌프에 의해 진동 공기압이 발생할 때, 혈액 샘플이 원형 튜브를 통해 주기적으로 전후로 움직였다. 일반적인 주기는 10초($f = 0.1$ Hz)로, 이는 TEG 5000과 동일했다. 혈액 샘플의 진동 거리(oscillating distance)는 1~20 mm 범위였으며, 시린지 펌프의 스트로크 볼륨(stroke volume)에 따라 다르다.

[0180] 데드 볼륨 및 시린지 펌프의 스트로크 볼륨의 적절한 조합으로, 톱니파 압력이 생성되었다. 이 실험에서, 2 mL의 데드 볼륨과 50 μ L의 스트로크 볼륨이 최적화 실험을 통해 신중하게 선택되었다. 시린지 펌프 속도는 후진 및 전진 모드에 대해 0.5 ~ 3.0 mL/min 범위였다. 따라서, "정지 및 이동(stop-and-go)" 작동과 같은 다양한 작동 조건이 설정되었다. 예를 들어, 후진 및 전진 모드에 대해 각각 5초 동안 0.5 mL/min에서 1.2 mL/min까지

램프(ramp mode) 모드의 조합이다. 그런 다음, 정현파형 압력과 프로파일을 얻었다. 본 테스트의 평균 전단율은 $1.2 \sim 24.0 \text{ s}^{-1}$ 범위였다.

[0181] 입력 정현파 압력(input sinusoidal pressure)이 혈액 샘플에 인가되었을 때, 혈액 샘플 전체의 압력은 본 발명에서 고려되지 않은 유체 특성과 관련된 위상 지연(phase lag)을 생성했다. 특히, 압력 센서의 위치에 따라, 전혀 다른 신호가 얻어질 수 있다. 압력 센서가 시린지 펌프와 혈액 샘플 사이에 위치했을 때, 측정된 압력은 시린지 펌프에 의해 생성된 원래 입력 압력과 혈액 샘플에서 반사된 압력과의 중첩되었다. 인간의 혈관 시스템에서 자주 관찰되는 압력과 반사(Pressure wave reflection)는 과도한 대동맥 압력 상승을 유발하고 심혈관 질환의 위험을 증가시킨다. 중첩된 압력 신호를 사용하면, 응고된 혈액의 점탄성 특성을 평가하는 것이 극히 어렵다. 따라서, 본 발명에서, 압력 센서는 도 18(a)에 도시된 바와 같이 시린지 펌프로부터 혈액을 가로질러 배치되었다.

[0182] 다양한 재료 튜브(실리콘, PolyTetraFluoroEthylene(PTFE), 타이곤(Tygon) 튜브)를 조사한 결과, 소수성 재료는 친수성 재료보다 상대적으로 우수한 반복성을 나타내는 경향이 있다. 이것은 응고 동안 표면 장력의 증가 때문일 수 있다. 따라서, μ -TEG 시스템의 테스트 튜브로 실리콘 튜브를 선택했다. 도 18(b)에 도시된 바와 같이, 진동 압력 신호를 20분 동안 모니터링했다. 초기 압력 진폭은 본격적인(full-fledged) 응고 특성이 나타날 때까지 안정적이고 일정한 크기를 보였다. 응고 캐스케이드(cascade)가 점진적으로 진행되는 동안, 진동 압력 진폭은 감소하는 경향이 있다. 변환된 압력으로서 정의된 초기 진폭에서 감소된 압력 차이는 도 18(c)에 다시 표시되었다. 변환된 압력 신호는 초기 값이 제로(0)인 후 점차 증가하는 전형적인 혈전탄력학적 형태를 나타낸다.

[0184] 결과

[0185] 압력 변동 모니터링

[0187] 먼저, 응고 혈액의 점탄성 특성을 평가하기 위해 시간에 따른 압력 변화를 측정하였다. 혈액 샘플에 정현파 입력 압력이 가해지면, 항응고된(anticoagulated) 혈액 샘플이 입력 압력에 따라 전후로 움직이기 시작하고, 해당 압력을 모니터링했다(도 19(a)). 칼슘 이온 결핍으로 인해, 혈액 샘플이 응고되지 않았으며, 혈액 응고와 관련된 시간에 따른 특성을 나타내지 않았다. 따라서, 현재의 μ -TEG 시스템에서, 항응고된 혈액 샘플은 지속적으로 전후로 진동하고, 압력 진폭은 일정한 압력 진폭을 나타낸다. 초기 압력 진폭과의 압력 차이로 정의되는 변환된 압력은 도 19(b)와 같이 항응고제(anticoagulant) 혈액 샘플에 대해 시간에 따라 일정한 제로(0) 값을 산출했다. 물과 미네랄 오일에서도 비슷한 결과가 관찰되었다.

[0188] 항응고제 혈액 샘플이 재석회화되었을 때, 진동 압력 진폭 신호는 도 19(c)와 같이 시간에 따라 변하는 경향이 있었다. 압력 진폭은 처음 몇 분 동안 일정하게 유지되었다가 R-시간으로 알려진 특정 순간부터 눈에 띄게 감소했다. R-시간은 카올린을 첨가하여 재석회화한 후 혈전 또는 피브린(fibrin) 형성이 시작되는 시간을 나타낸다. 정상 R- 시간 값의 범위는 4분에서 10분 사이이다. 압력 진폭이 감소한 후 2~3분 이내에, 압력 진폭이 최소값을 보인 후, 다시 천천히 증가하기 시작했다. 이러한 결과를 변환하면, 변환된 압력 변화는 도 19(d)와 같이 기존 TEG 결과와 매우 유사했다. 피브린 형성이 시작되었을 때, 변환된 압력은 0에 가까운 값을 산출했다. 또한 혈액은 튜브 벽에 달라붙는 경향이 있으며, 결과적으로 변환된 압력이 급격히 증가한다. 증가된 압력은 최대값에 도달한 다음, 약간 감소했다.

[0190] μ -TEG 파라미터의 정의

[0192] 기존의 TEG와 유사하게, 본 발명은 도 20(a) 및 표 1에 나타난 바와 같은 파라미터를 개발했다. 이러한 파라미터는 혈액 샘플에 요동압력의 입력 압력(Input Magnitude, Imp)이 가해지고, 항응고된 혈액 샘플이 입력 압력에 따라 전후로 움직일 때의 압력을 모니터링함으로써 획득될 수 있다.

[0193] 본 발명에 따른 μ -TEG 시스템의 "R-시간"은 혈전 형성의 제1 지표를 나타낸다. R-시간은 "반응 시간(reaction time)"을 의미하고, 이는 혈액이 응고되기 시작하는 데 걸리는 시간을 나타낸다. μ -TEG 시스템의 R-시간은 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/40에 도달하는 시간으로 정의된다. 센서의 내부 지터링(jittering) 신호를 고

려할 때, R-시간에 대한 컷오프 진폭은 지터링 노이즈의 표준 편차의 3배이상의 값으로 노이즈 신호와 분명히 다를 수 있다. R-시간은 INR(International normalized ratio) 및 PTT(Partial Thromboplastin Time)에 해당하는 혈액 응고 초기 단계의 피브린 형성을 나타낸다. 증가된 R-시간은 응고 인자의 결핍, 항응고제(anticoagulant agents)의 작용 및 저피브리노겐혈증(hypofibrinogenemia) 연관성과 상관 관계가 있었다.

[0194] 유사하게, "K-시간"을 요동압력의 변화량이 입력 압력의 1/4에 도달하는 시간으로 정의했다. K-시간은 혈전이 형성되고 응고되는 속도를 의미한다. 단축된 K-시간은 피브린 중합 및 혈소판 응집으로 빠른 혈전 형성을 나타낸다. 시간 R과 시간 K를 연결하는 μ -TEG 곡선에서의 직선의 기울기를 알파(α)-각도로 정의한다. 이 각도는 K-시간과 같이 혈전이 형성되고 응고되는 속도를 나타낸다. K-시간 및 α -각도는 혈전 형성 속도뿐만 아니라 혈전 역학(thrombus dynamics)을 반영한다.

[0195] 압력 변화의 최대 진폭(maximum amplitude : MA)은 최대 피브린-혈소판 상호 작용의 결과인, 최대 혈전 강도(strength)를 나타내는 최대 진폭(MA_p)으로 정의된다. MA_p의 단위가 TEG 5000의 단위와 다르기 때문에, 도 20(b)에서 얻은 상관관계를 이용하여 MA_p 값을 MA로 환산하였다. 또한 tMA는 MA에 도달하는 데 필요한 시간을 나타낸다. 압력 진폭의 피크 값을 산출한 후, 최종 단계는 피브린-혈소판 결합의 피브리노리틱-유도 용해(fibrinolytic-induced dissolution)로 시작된다.

[0196] 한편, 압력 진폭이 기준선으로 감소하면 섬유소용해(fibrinolysis)를 관찰할 수 있다. 피크 후 일정 시간 동안 MA로부터 감소한 비율(percentage reduction)을 일정 시간 후의 용해도(lysis)(Ly)로 정의했다. 기존 장비에서는 대부분 30을 표준의 일정 시간으로 사용하고 있다. 그러나, 본 발명에서는 섬유소용해가 빠르게 진행되는 특성을 갖고있어 30분의 시간 대신에 3분 내지는 15분 내에서 같은 양의 섬유소용해를 관측할 수 있다.

[0197] 또한, 응고 강도(MA_p/Imp)는 상기 최대 진폭을 입력 압력으로 나누어 얻은 값으로 정의했다.

[0199] 표 1은 8회 반복 측정을 통한 μ -TEG의 분석 성능을 나타낸다.

표 1

Tests (n = 8)	R (min)	K (min)	Angle α (degree)	MA (mm)	tMA (min)	Ly30 (au)
μ -TEG	6.4 ± 0.31 (4.8%)	0.7 ± 0.1 (13.9%)	78.2 ± 3.6 (5.0%)	55.2 ± 2.5 (4.8%)	10.7 ± 1.51 (14.2%)	3.6 ± 0.5 ^{주1)} (13.8%)
TEG 5000	6.9 ± 0.2 (3.2%)	2.7 ± 0.4 (16.3%)	55.0 ± 4.0 (7.4%)	53.2 ± 3.8 (7.2%)	23.5 ± 2.3 (9.6%)	3.8 ± 0.8 (20.7%)
RV(%)	7.2% ↓	74.1% ↓	42.2% ↑	3.7% ↑	54.5% ↓	6.1% ↓

[0201] 주1) Ly30은 본 발명의 μ -TEG의 경우, 5분 동안 측정된 양으로 대체한 것이다. 본 발명의 핵심특성으로서, 본 발명에서는 tMA까지 도달하는데 매우 빠르며, 이후 섬유소용해 또한 가속화되어 기존의 30분동안 이루어지는 양이 3-10분 정도에서 얻어질 수 있다. 본 발명에서는 5분 내외의 용해도가 기존 장비의 30분의 용해도와 동일한 값을 보인다.

[0202]

[0203] μ -TEG의 분석 성능

[0205] μ -TEG 시스템을 이용하여 샘플당 8회 반복측정을 실시하였고, 측정된 결과를 μ -TEG 파라미터로 분석하여 표 1에 나타내었다. 또한 μ -TEG 측정값을 TEG5000의 측정값과 비교하였다. 첫째, μ -TEG의 R-시간은 6.4분으로 TEG5000보다 0.5분 짧아 7.2%의 상대변동(relative variation : RV)을 보였다. 두 장치의 R-시간은 우수한 반복성을 보여주었다. R-시간에 대한 변동 계수(coefficient of variation : CV)는 5% 미만이었다. K-시간의 경우, μ -TEG는 TEG5000(2.7분)에 비해 상대적으로 짧은 값(0.7분)을 나타내어, 명백한 RV(74.1%)를 초래했다. K-시간에 대한 변동계수(CV)는 μ -TEG가 13.9%, TEG5000이 16.3%로 약간 큰 값을 보였다. 이는 표준 편차의 크기가 비슷하고 R-시간에 비해 K-시간이 짧기 때문일 수 있다. 감소된 K-시간은 그 정의가 K-시간에 크게 의존하

기 때문에 α -각도에 직접적인 영향을 미친다. μ -TEG 시스템은 TEG5000(53.2°)보다 훨씬 더 가파른 각도(78.2°)를 생성한 반면, 두 장치 모두 α -각도에 대해 우수한 반복성(각각 4.4% 및 6.0%)을 나타냈다. K-시간과 α -각도를 고려할 때, μ -TEG는 TEG 5000보다 빠른 피브린 중합 속도를 나타낸다. 그 이유는 TEG 5000에 비해 전단률이 높기 때문일 수 있다. 이에 대해서는 나중에 설명한다.

[0207] μ -TEG의 MA_p 단위는 압력(Pa)이고, TEG5000의 MA는 진폭 길이(mm)이다. 따라서, 이 두 장치의 MA 값을 직접 비교할 수 없다. 따라서 도 20(b)와 같이 상관 곡선(correlation curve)을 사용하여 μ -TEG의 MA_p 를 TEG 5000의 MA로 변환했다. 단위가 mm인 μ -TEG의 환산 MA는 TEG 5000과 거의 같은 값을 갖는다($RV < 3.7\%$). 한편, μ -TEG는 10.7분에 MA에 빠르게 도달하여 TEG5000(23.5분)보다 13분이 짧았다. μ -TEG의 짧은 tMA의 이러한 특성은 응고 과정과 관련된 전단률 때문인 것으로 생각된다. Ly30의 경우, 두 장치 모두 반복 테스트에서 상당히 큰 편차를 나타냈다(각각 13.0% 및 20.7%). TEG5000의 Ly30과 μ -TEG의 Ly5는 각각 3.8%와 3.6%이었다.

[0209] 혈소판 기능 결핍의 검출

[0211] 다양한 농도의 항혈소판을 사용하여 트롬보엘라스토그램(thromboelastogram)에 대한 혈소판 기능장애(platelet dysfunction)의 영향을 조사했다. 혈소판 기능장애를 만들기 위해, 우리는 생체 외(in vitro) 및 생체 내(in vivo) 모두에서 P2Y12-의존적 메커니즘을 통해 혈소판 기능을 억제하는 2MeSAMP(2-methylthio-AMP)를 채택했다. 도 21(a)에 도시된 바와 같이, ADP-유도된 혈소판 활성화로 인해 트롬보엘라스토그램이 즉시 증가한다. 2MeSAMP의 농도가 증가하면, 도 21(b)와 같이 μ -TEG의 최대 진폭(MA)이 감소한다. 따라서, 혈소판 억제(inhibition)는 응고 강도에 직접적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또한, 우리는 도 21(c)와 도 21(d)에서 전혈, 혈소판-풍부 혈장(platelet-rich plasma : PRP), 혈소판-빈약 혈장(platelet-poor plasma : PPP)에 대한 트롬보엘라스토그램을 비교했다. PRP 샘플은 전혈 샘플에 비해 감소된 MA와 함께 트롬보엘라스토그램의 지연된 증가(즉, 연장된 R-시간)를 보였다. 또한, PPP 샘플은 PRP 샘플에 비해 R-시간이 더 연장되었고 MA는 감소하였다. 이러한 결과는 적혈구와 혈소판이 각각 독립적으로 응고 과정과 결과값(outcome)에 영향을 미친다는 것을 시사한다.

[0212] 일반적으로, TEG는 응고 인자, 항응고제(헤파린(heparin)), 혈소판 기능 및 혈전용해를 포함하여 응고에 대한 보다 통합적인 평가를 제공하고, 이는 기존의 응고 분석을 사용하여 측정할 수 없었다. 그러나, 최근 기존의 TEG는 특정 혈소판 매핑 검사를 시행하더라도 혈소판 기능장애를 감지할 만큼 민감하지 않다는 보고가 있다. 이러한 단점은 주로 표준 활성화 점탄성 검사의 광범위한 트롬빈(thrombin) 생성으로 인해 다른 경로를 우회하여 프로테아제 활성화 수용체(protease activated receptors)를 통해 혈소판을 활성화한다. 또한 기존의 TEG는 혈소판 수(count)와 기능(function)의 각각의 역할을 분리할 수 없지만, 기능보다 수를 더 많이 반영하는 것으로 보인다.

[0214] 논의

[0216] 최근 TEG의 임상적 유용성이 급증하고 다양한 임상 분야에 적용되고 있지만, TEG의 측정 기술은 60년 전에 제안된 기술에서 크게 벗어나지 않았다. 물론, 응고에 대한 혁신적인 정보와 함께 광학 또는 초음파 측정 원리를 도입하여 새로운 시도를 하고 있다. 그러나, 이러한 기술은 기존 TEG의 전단 유동장(shear flow field)을 반영하지 못하여 섬유소분해 현상이 잘 관찰되지 않는다. 따라서, 우리는 생체 내 모방 유동장(in-vivo mimicking flow field)을 제공하는 새로운 미세유체 TEG 시스템을 제안했다. 따라서, 본 미세유체 TEG 시스템에서는 정현파와 압력 프로파일을 적용하여 튜브에서 발생하는 진동 흐름(oscillatory flow)을 채택하였다. 이 시스템은 혈관 흐름의 비균일 전단률 특성뿐만 아니라 맥동 루멘(pulsating lumen)의 진동 속도장(oscillatory velocity field)도 반영한다. 또한, $CaCl_2$, 카올린과 같은 응고 개시제를 진동하는 혈액 샘플에 주입하여 혼합하는 생체 내 혼합 메커니즘(in-vivo mixing mechanism)을 제안했다. 마지막으로, 혈액 샘플과 압력변환기 사이의 공기압을 측정함으로써 점탄성(viscoelastic) 응고 현상을 관찰하였다.

[0217] 변환된 압력 신호는 기존의 트롬보엘라스토그램을 생성하는 경향이 있으며, R-시간, K-시간, α -각도(α -angle), MA 및 Ly30과 같은 TEG 파라미터가 성공적으로 분석되었다. 무엇보다, 본 미세유체 TEG 시스템은 기존 TEG 시스템의 몇 가지 치명적인 단점을 획기적으로 개선하였다. 첫째, 핵심 파라미터인 MA 획득에 필요한 시간(tMA)이 기존 TEG의 경우 약 23분인데 비해, 이 시스템의 경우 약 10분이다. 응급 상황에서 단시간에 응고 특성을 확인하는 것이 매우 중요하므로 μ -TEG 시스템의 테스트 시간 단축은 큰 이점으로 사용될 것으로 예상된다. μ -TEG 시스템의 특성은 기존 TEG(0.03 s^{-1})보다 훨씬 큰 전단률($2 \sim 20 \text{ s}^{-1}$)에 기인할 수 있다. 이 전단률 환경은 혈전증(thrombosis)에 의해 차단될 때까지 높은 전단률이 혈관 흐름에 상대적으로 작용하는 동맥 혈전 환경을 더 잘 시뮬레이션할 수 있다.

[0218] 기존 연구에서, 전단률($15 \sim 100 \text{ s}^{-1}$)은 제로(zero) 전단률보다 피브린 및 피브린 중합의 빠른 형성에 더 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(Tippe, A., Muller-Mohnssen, H Thromb. Res. 1993, 72, 379-388). 이러한 결과는 다양한 전단률에서 응고하는 동안 점도(viscosity) 측정을 사용하여 보고되었다(Ranucci, M., Laddomada, T., Ranucci, M., Baryshnikova, E., Physiol. Rep. 2014, 2, e12065). 전단률이 증가함에 따라, TGP(time-to-gel point)가 크게 단축되었다. 최근 연구에서는 피브리노겐(fibrinogen)에 부착하는 혈소판의 기능에 대한 전단률 구배(gradients)의 영향을 추가로 조사했다(Receveur N, Nechipurenko D, Knapp Y, Yakusheva A, Maurer E, Denis CV, Lanza F, Panteleev M, Gachet C, Mangin PH.. Haematologica. 2020, 105, 105, 2471-2483). 사실, 전단-유도된 혈소판 부착 및 혈소판-피브린 가교(crosslinking)는 K-시간 및 tMA에 영향을 미친다. 따라서, 상승된 전단률은 피브린 형성과 피브린 폴리머 간의 가교를 가속화하여 μ -TEG 측정에서 K-시간과 tMA를 단축시켰다.

[0219] 전단률은 또한 혈전 강도와 섬유소 용해에 영향을 미쳤다. 이전 연구에서는 전단률이 형성된 혈전 근처에서 플라스미노겐(plasminogen) 및 조직 플라스미노겐 활성화제(tissue plasminogen activator : tPA)의 생성을 촉진하여 차례로 섬유소 분해를 강화한다고 보고했다(Li, M., Hotaling, N.A., Ku, D.N., Forest, C.R., PLOS ONE. 2014, 9, e82493). tPA는 플라스미노겐에서 플라스민(plasmin)으로의 전환을 촉매하여(catalyzes), 피브린 응고를 분해할 수 있다. 전단률에 의해 유도되는 상승된 tPA는 빠르고 큰 혈전용해를 초래한다. 따라서, μ -TEG의 Ly30이 크게 증가한 것은 혈액에 적용되는 전단률 때문일 수 있다. 그러나, 과도한 전단은 섬유소 용해에 더 강한 경질 혈전(hard clot)을 형성할 수 있다.

[0221] 결론

[0223] 현장 진료(point-of-care)에서 혈액 응고의 점탄성 특성을 평가하기 위해 새로운 미세유체 TEG 시스템이 도입되었다. 튜브의 단순 왕복 혈액 흐름은 기존 트롬보엘라스토그래피의 특성을 성공적으로 생성한다. μ -TEG 시스템의 주요 특징은 테스트 튜브의 간단한 구조, 비접촉식 측정 및 선형 왕복 전단 메커니즘이다. 특히, 튜브 흐름(tube flow)의 전단률에서의 테스트는 생체 내 혈액학적 환경을 재현할 뿐만 아니라 연장된 테스트 시간을 단축한다. 이 접근법은 이전에 기존 장비를 사용하여 진단할 수 없었던 심장 이벤트(cardiac events)의 원인을 확인할 수 있게 한다. 또한, 본 발명의 방법은 혈액 응고를 위한 정밀 압력 모니터링 시스템을 기반으로 하기 때문에, 본 시스템의 재현성은 기존의 TEG 시스템만큼 우수하다. 결론적으로, 본 미세유체 TEG 시스템은 임상 환경에서 스크리닝(screening) 테스트를 위해 실질적으로 구현될 수 있다.

[0225] 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예는 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구의 범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구의 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

부호의 설명

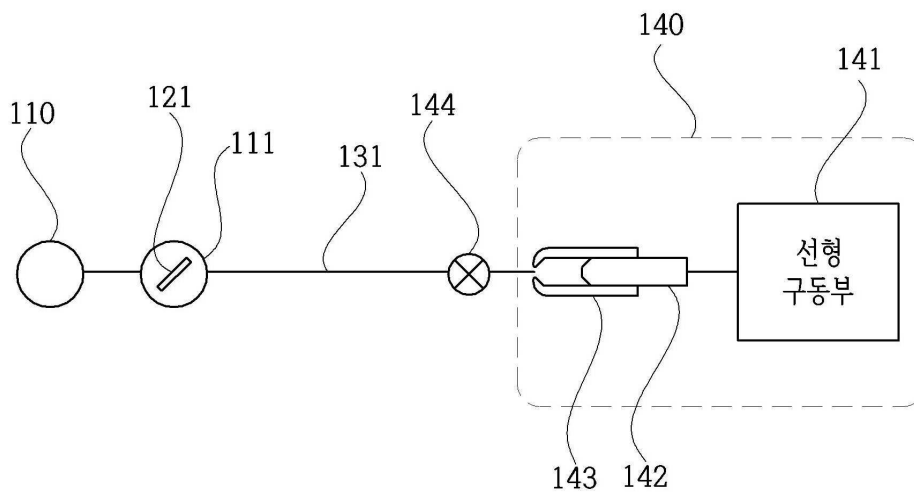
[0226] 110 : 샘플 저장부

111 : 샘플 전처리부

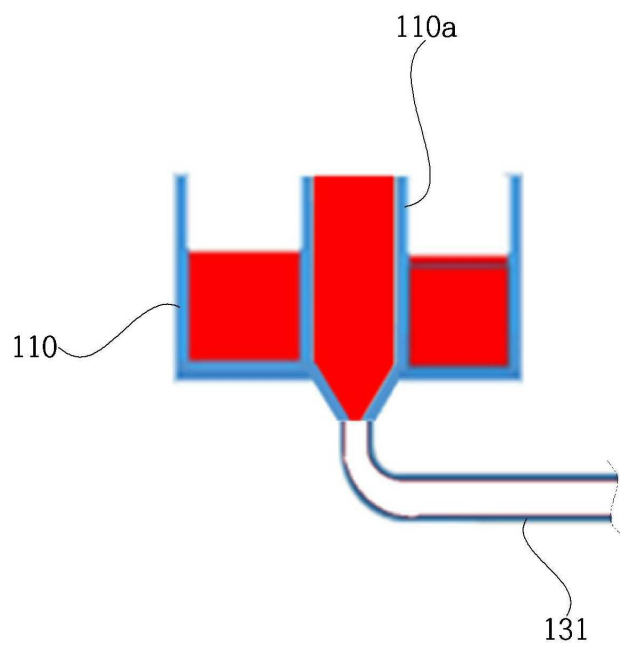
- 131 : 샘플 검사관
 140 : 압력 공급부
 141 : 선형 구동부
 142 : 피스톤
 143 : 실린더
 144 : 제어밸브
 PS : 압력 측정부
 170 : 보조 압력 공급부

도면

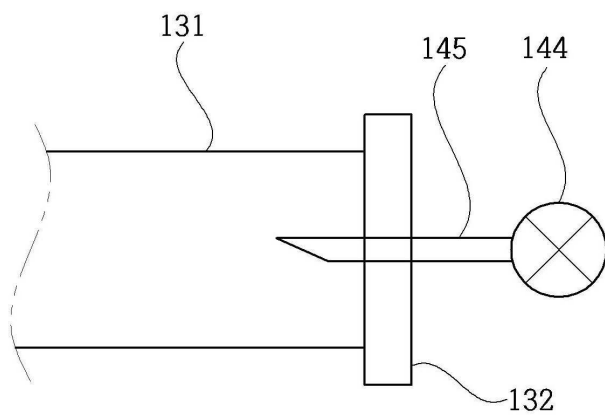
도면1



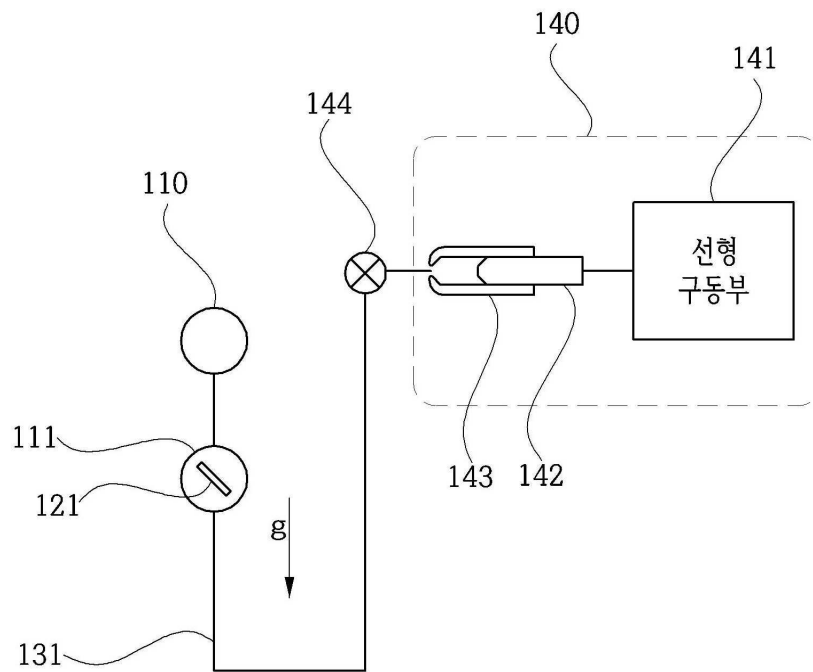
도면2



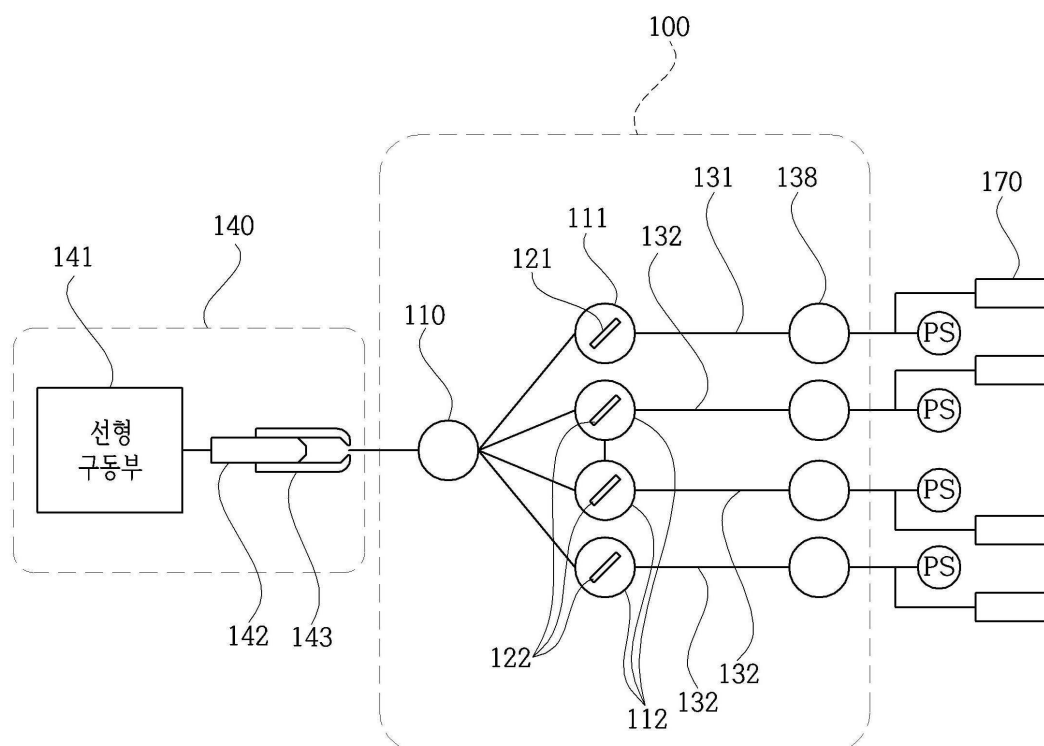
도면3



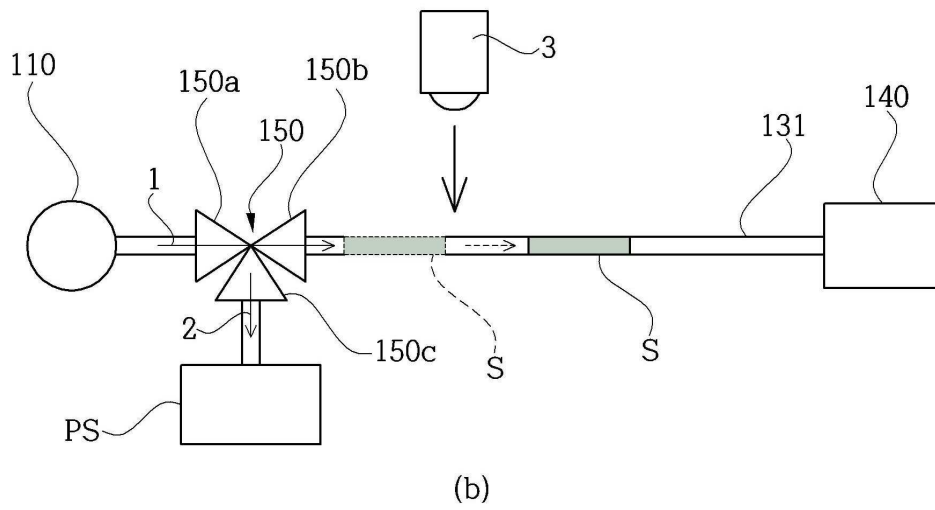
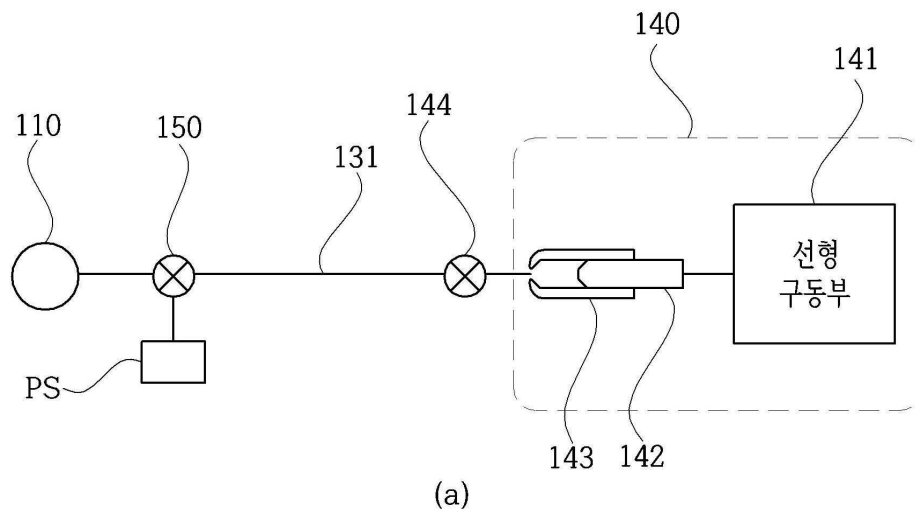
도면4



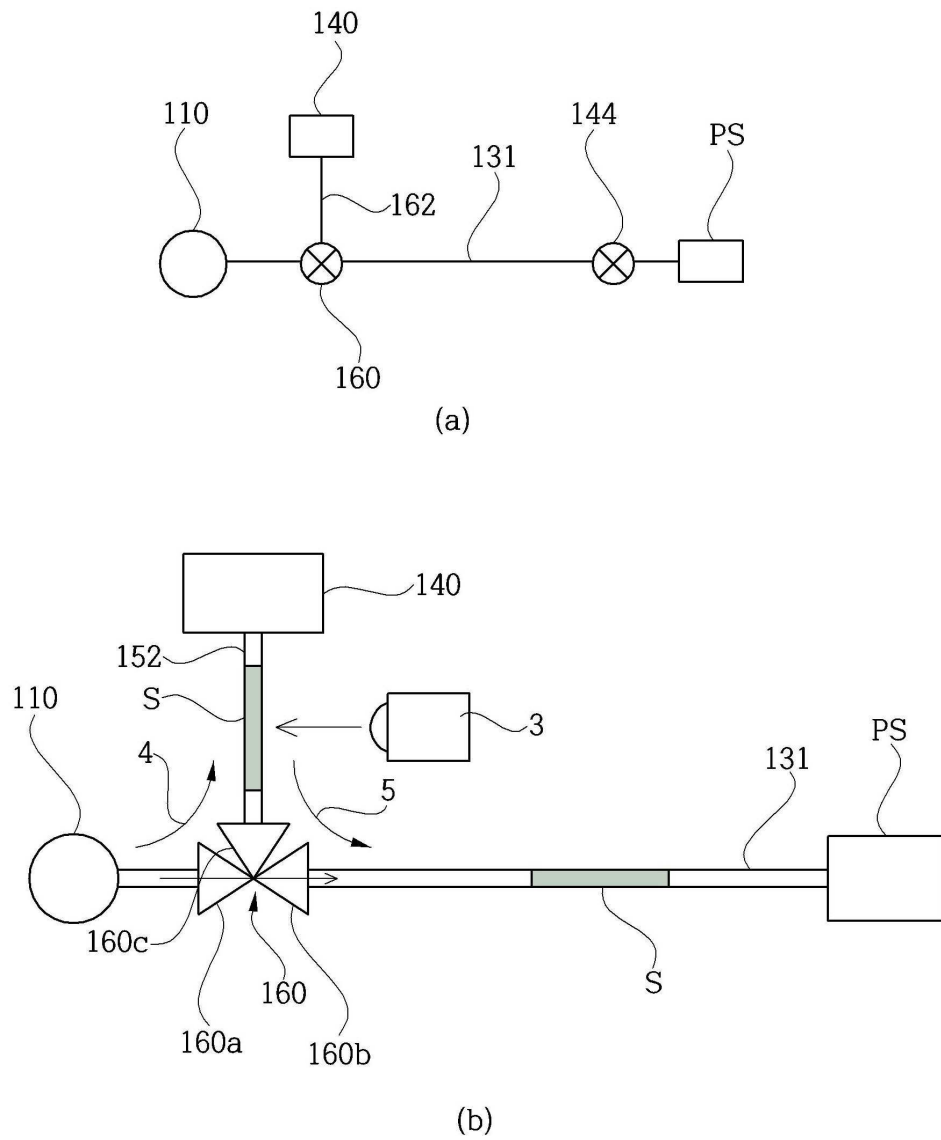
도면5



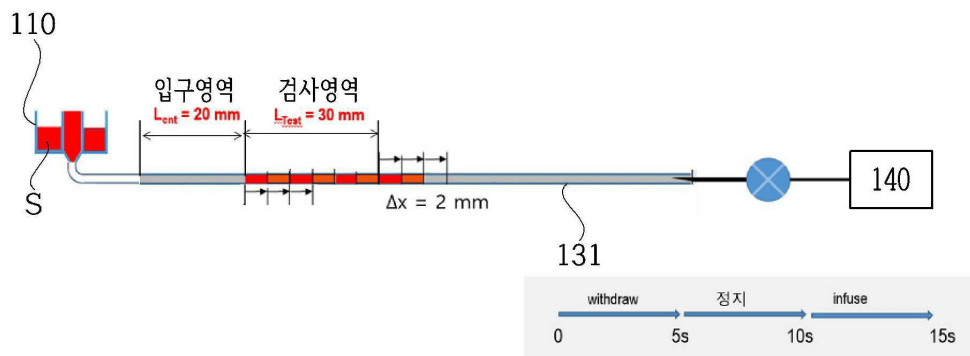
도면6



도면7

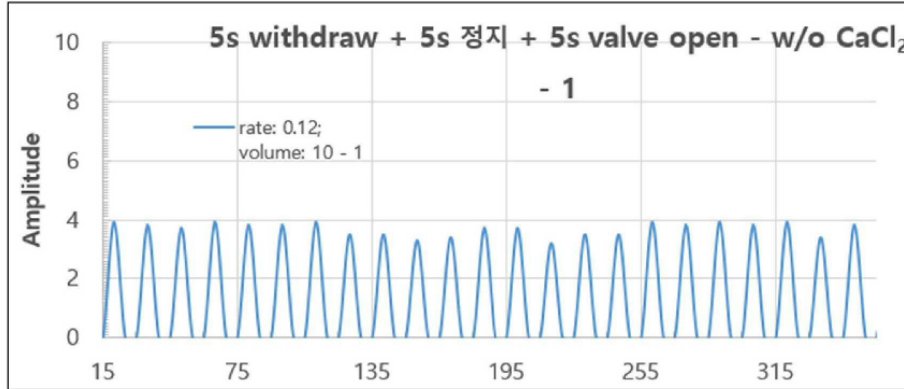


도면8



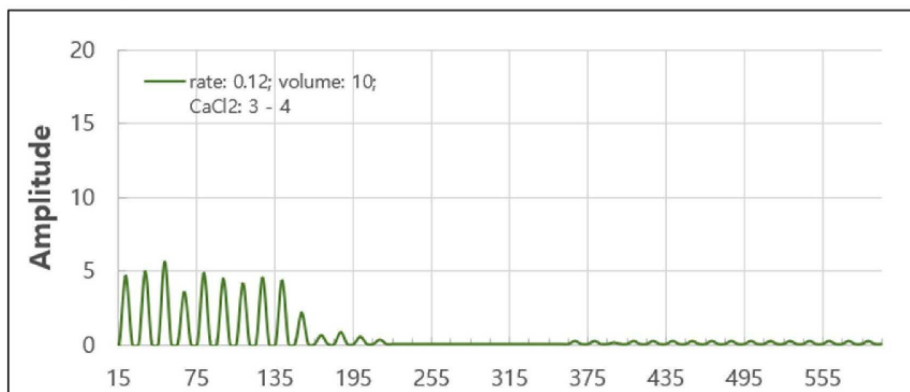
도면9

혈액응고 없는 경우



(a)

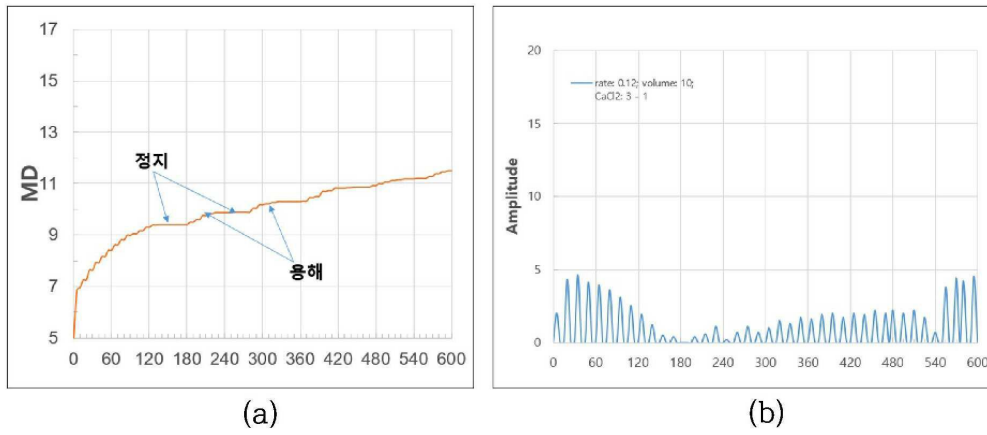
혈액응고 있는 경우



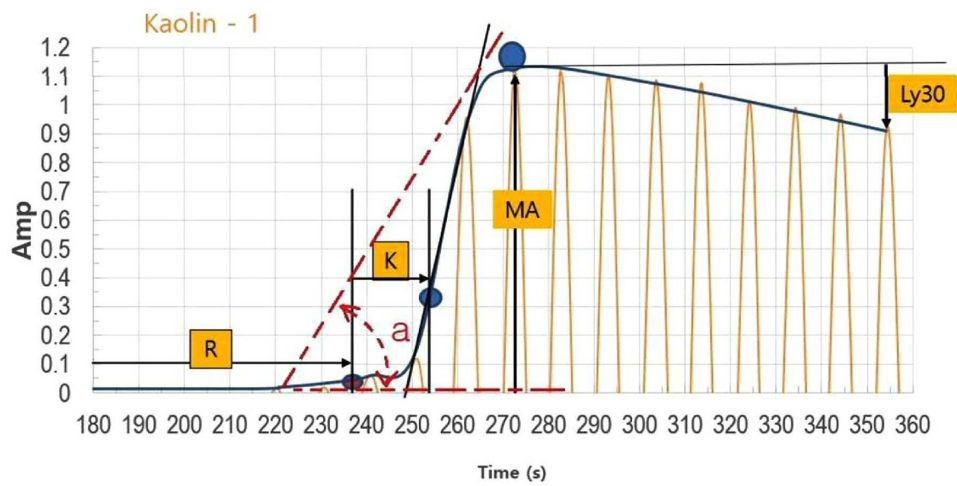
(b)

도면10

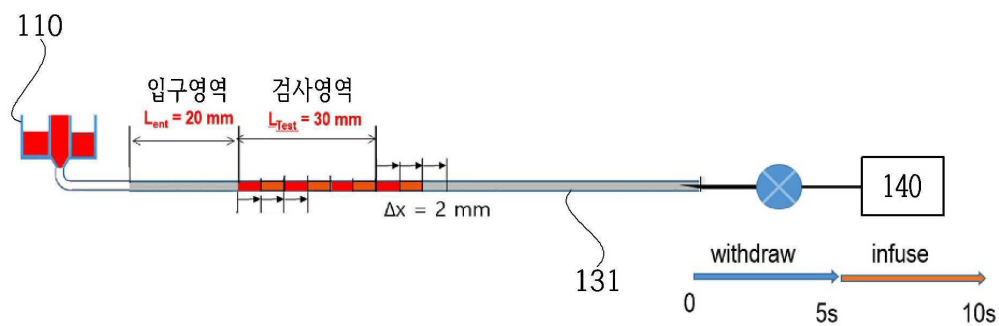
혈액 응고 및 용해(lysis) 발생 경우



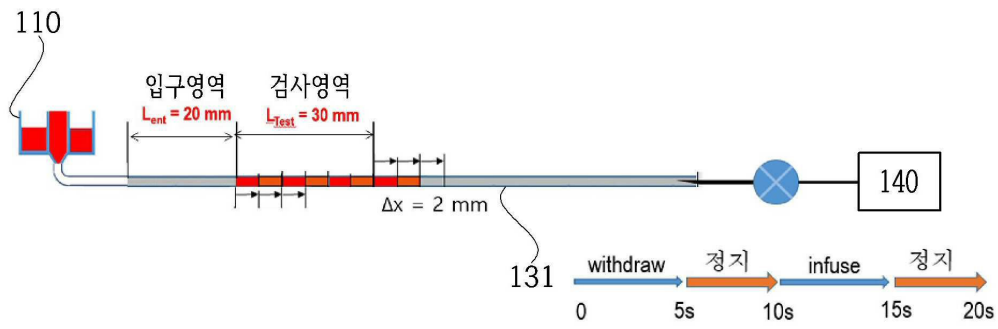
도면11



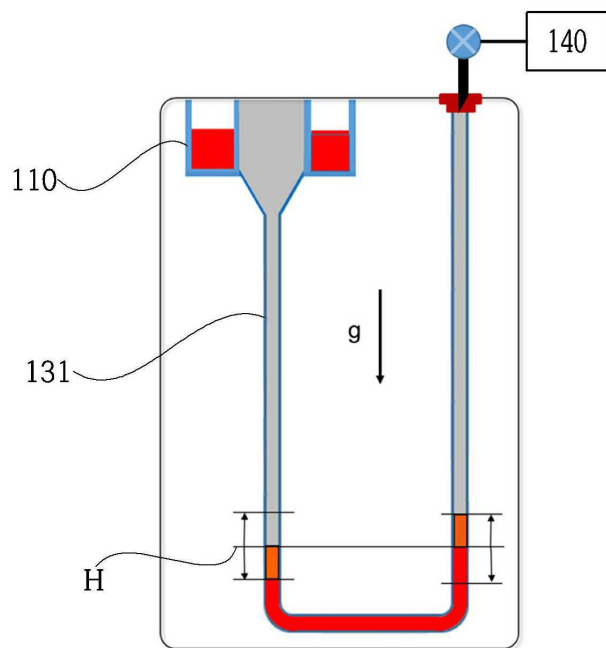
도면12



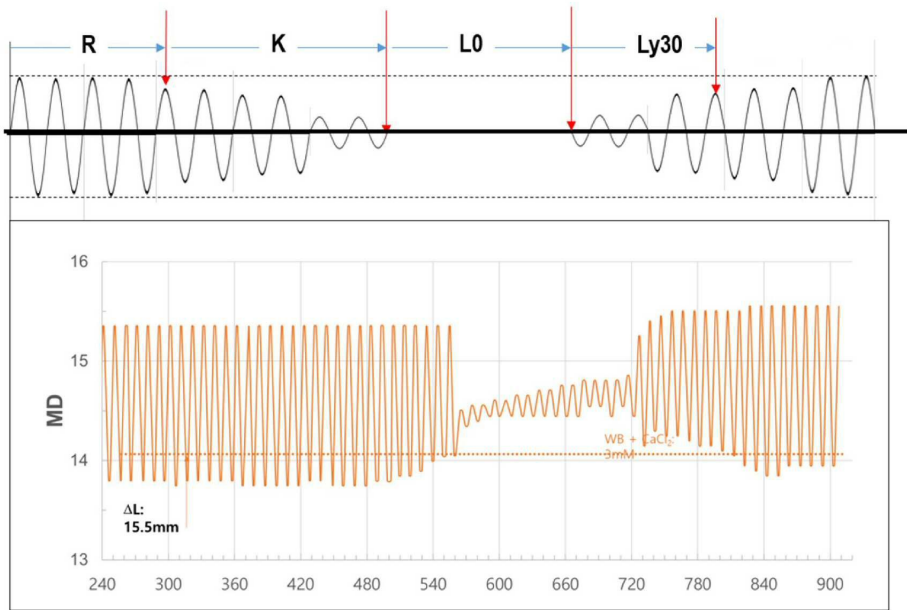
도면13



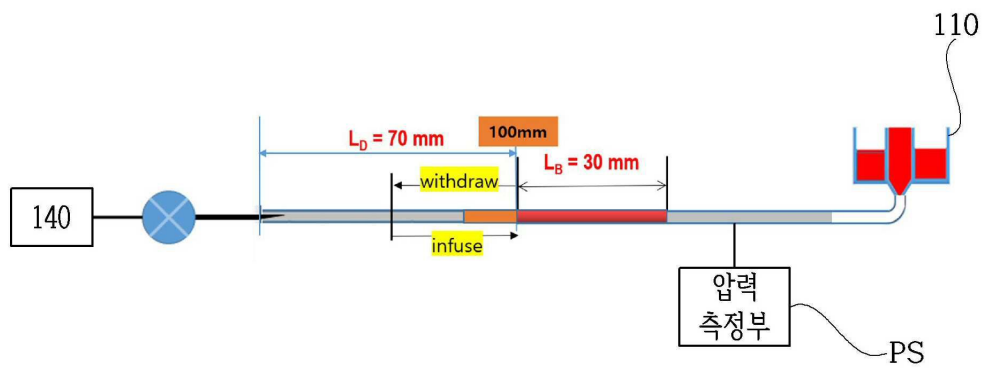
도면14



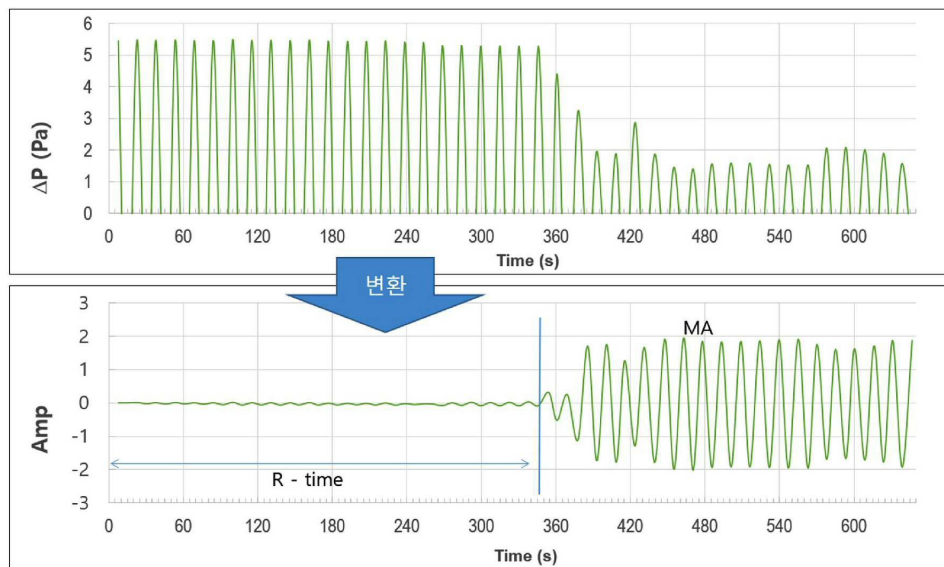
도면15



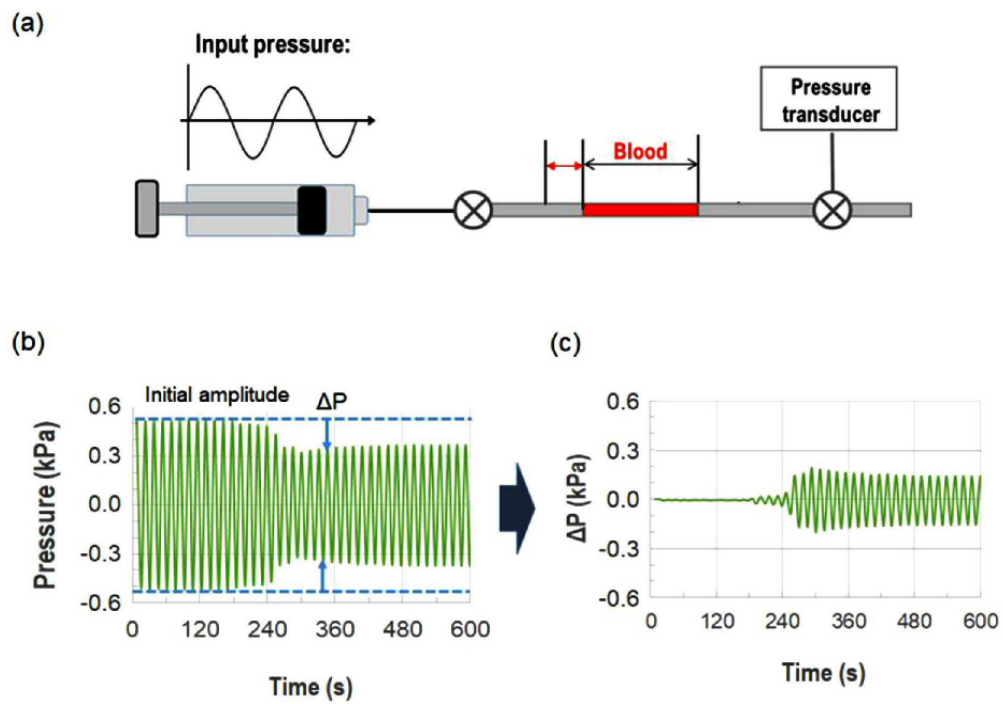
도면16



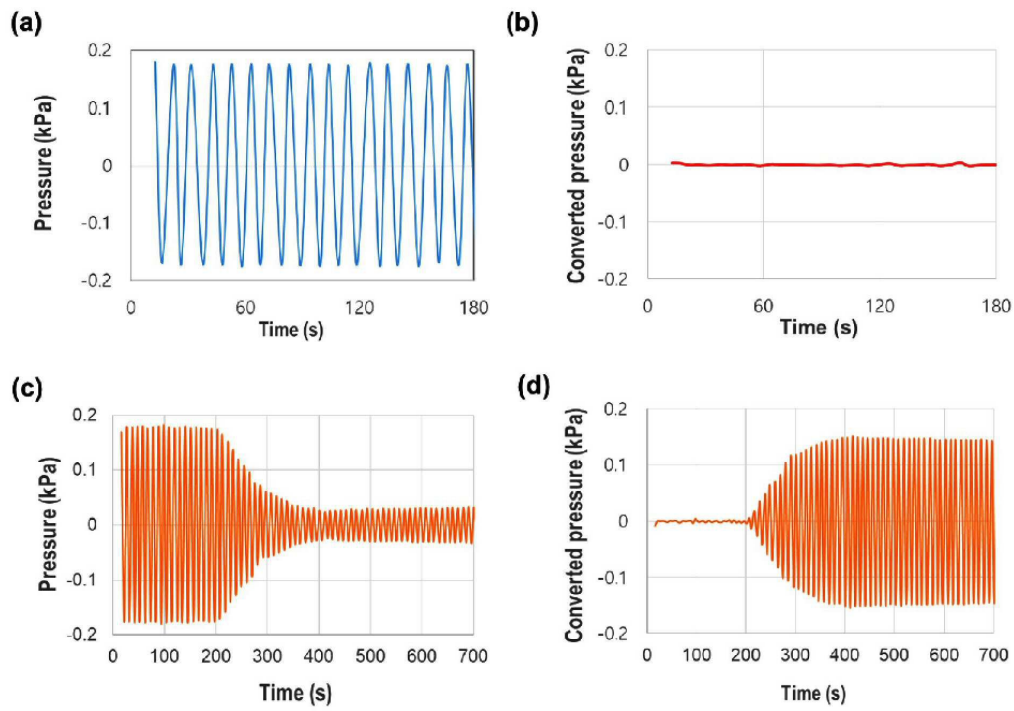
도면17



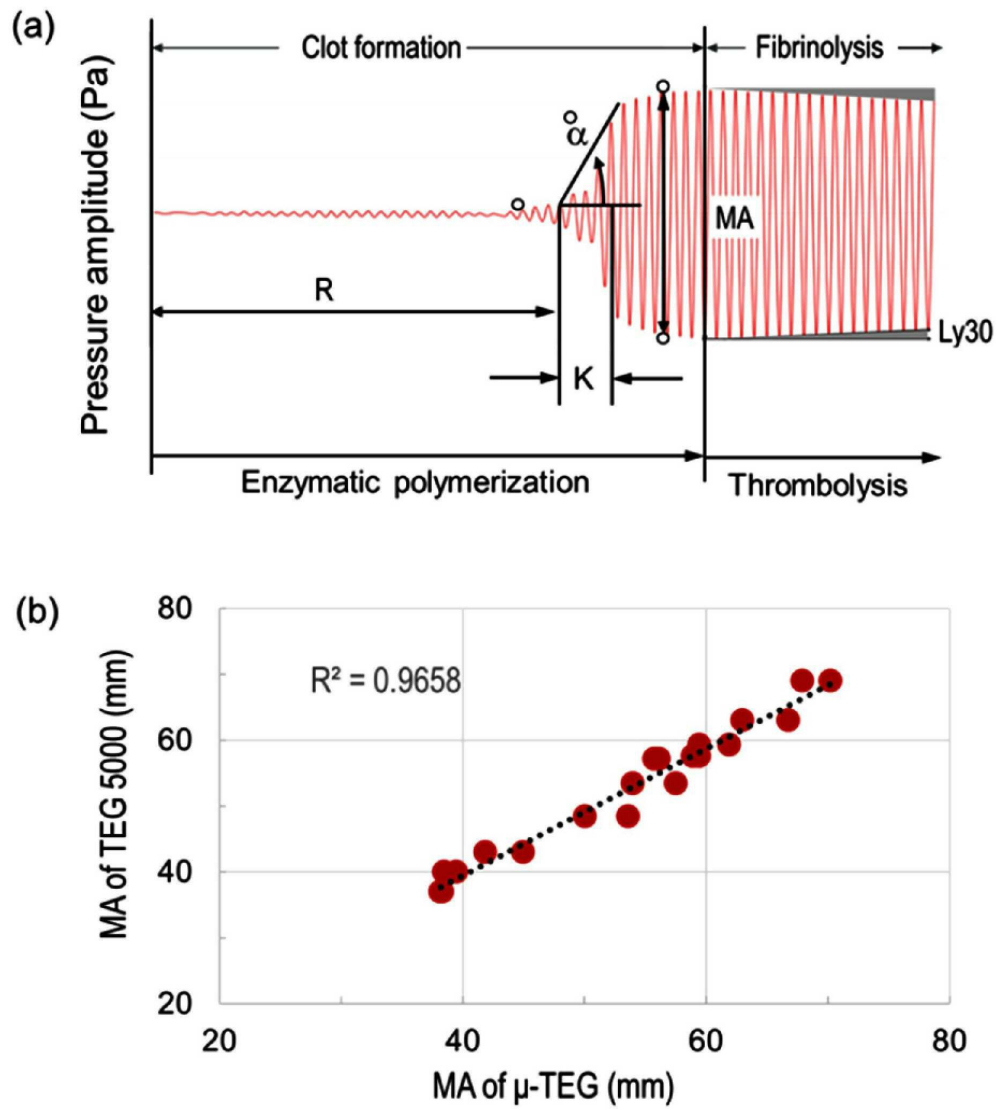
도면18



도면19



도면20



도면21

