

# 자동혈구분석기 Hemavet 950FS를 이용한 돼지 혈액 내 혈구분석의 유효시간 평가

김기현<sup>1</sup>, 김광식<sup>1</sup>, 김두완<sup>1</sup>, 사수진<sup>2</sup>, 김영화<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립축산과학원, <sup>2</sup>농촌진흥청 기술협력국

## Evaluation of valid time for analysis of complete blood cell in pig blood using the Hemavet 950FS

Ki-Hyun Kim<sup>1</sup>, Kwang-Sik Kim<sup>1</sup>, Doo-Wan Kim<sup>1</sup>, Soo-Jin Sa<sup>2</sup>, Young-Hwa Kim<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Animal Science, Rural Development Administration

<sup>2</sup>Technology Cooperation Bureau, Rural Development Administration

**요약** 본 연구는 자동혈구분석기 Hemavet 950FS를 이용한 돼지 혈액 내 혈구분석의 유효성을 검증하고, 정확한 분석을 위한 유효시간을 결정하기 위하여 실시하였다. 분석시료는 체중 60 kg ( $\pm 3.5$ )의 Duroc 종 34두로부터 채취하였으며, 이들 중에서 분석치가 정상범위를 벗어나거나 용혈이 발견된 시료는 연구에서 제외하고 최종적으로 10개의 시료를 본 연구에 이용하였다. 임의의 하나의 시료에 대해 10회 연속분석을 통하여 일내변동을 조사한 결과, leukocytes계 혈구들 중에서 백혈구, 호중구, 림프구에서는 낮은 일내변동으로 분석의 유효성이 인정되었으나, 단핵구, 호산구, 호염구에 있어서는 큰 변동을 나타내었다. 이와 반면에 erythrocytes 및 thrombocytes계 혈구들의 모든 지표들은 안정적인 일내변동이 관찰되었다. 채혈 후 시간 경과에 따른 혈구변화를 분석한 결과 leukocytes계 혈구 및 thrombocytes계 혈구는 시간경과에 따라 검출농도가 유의적으로 감소되는 것으로 관찰되었다. 반면, erythrocytes계 혈구들은 채혈 후 120시간까지는 안정적으로 분석이 가능한 것으로 나타났다. 본 연구의 결과를 종합하면, Hemavet 950FS는 돼지의 혈액 내에서 단핵구, 호산구, 호염구를 제외하고 일반 혈구분석에 유용한 것으로 판단된다. 또한, leukocytes 및 thrombocytes계 혈구들에 대한 정확한 분석을 위해서는 채혈 후 4시간 이내에 분석이 이루어져야하며, erythrocytes계 혈구들은 채혈 후 120시간까지는 안정적으로 검출이 가능한 것으로 사료된다.

**Abstract** This study was conducted to determine the valid time for accurate detection of complete blood cell count (CBC) in pig blood using an automatic blood corpuscle analyzer (Hemavet 950FS). Blood samples were collected from 34 pigs (Duroc) with a 60 kg ( $\pm 3.5$ ) body weight. Ten specimens with CBC parameters in normal range and with no hemolysis were selected among 34 samples and used in this study. Regarding leukocytes parameters, white blood cell (WBC), neutrophil (NE), and lymphocyte (LY) counts showed a low daily variation (coefficient of variation, CV), whereas monocyte (MO), eosinophil (EO), and basophil (BA) CVs were significantly high (19.7, 56.9, and 53.3%, respectively). On the other hand, all parameters of erythrocytes and thrombocytes showed stable daily variation. All parameters of leukocytes and thrombocytes were significantly reduced as storage time passed ( $P < 0.01$  or  $0.001$ ), except for lymphocytes ( $P = 0.535$ ). However, no significant differences were observed in parameters of erythrocytes from blood up to 120 hours. From above results, we assert that Hemavet 950FS is useful in analyzing CBC, except for MO, EO, and BA. For accurate detection of leukocyte and thrombocyte parameters, analysis should be performed within 4 hours after blood collection when using Hemavet 950FS. On the other hand, parameters of erythrocytes could be stably detected for at least 120 hours after blood collection.

**Keywords** : Blood corpuscle analyzer, Erythrocytes, Leukocytes, Pig, Thrombocytes

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

\*Corresponding Author : Young-Hwa Kim (National Institute of Animal Science)

Tel: +82-41-580-3446 email: yhkms@korea.kr

Received September 1, 2016

Revised September 9, 2016

Accepted January 6, 2017

Published January 31, 2017

## 1. 서론

동물체 내에서 혈액은 혈관을 통해 온몸을 돌면서 산소와 영양소 등을 공급하고, 노폐물을 운반하여 신장을 통해 배설될 수 있도록 하며, 그 외에 내분비기관에서 분비되는 호르몬의 운반, 외부의 병원체에 대한 방어 및 체온 조절 등 다양한 기능을 담당한다. 또한, 혈액 내에는 혈구와 각종 체대 대사물질들이 함유되어 있기 때문에 인간의 건강진단 차원에서 개인의 건강상태를 판정하는 중요한 지표가 되고 있으며[1,2], 이와 같은 이유로 혈액은 가축에 있어서도 생리학적, 면역학적, 영양학적 상태, 질병 등을 조사하는 데 가장 널리 사용되는 생체시료이다[3,4].

실험동물로써 돼지를 사용하는 경우에 있어서 혈액학적 및 생화학적 데이터의 기초평가로써 혈구분석의 필요성이 최근에 더욱 강조되고 있는 실정이다[5]. 돼지혈액의 경우, 축사현장에서 시료를 채취해야하는 현실적인 제약과 분석실까지 이동하는 데에 소요되는 시간적인 문제 때문에 채혈 직후 시료를 분석하는 것은 사실상 불가능하다. 연구소유래 시료부터 농장유래 시료에 이르기까지 시료에 따라 분석이 개시되는 데까지 소요되는 시간은 적게는 수 분 이내에서 많게는 2일 정도까지 소요되는 경우가 빈번히 발생한다.

혈액내의 혈구에 대한 지표들으로써는 백혈구(leukocytes)계 혈구, 적혈구(erythrocytes)계 혈구 및 혈소판(thrombocytes)계 혈구에 대한 항목들로 분류된다. 이들 혈구는 동물의 품종, 나이, 성별, 배란, 임신, 발정 등의 생리적인 상태뿐만 아니라 식이, 시료채취시간, 환경온도, 스트레스 등 외인적인 요소에 의해서도 영향을 받는 것으로 알려져 있다[6-10]. 이들 혈구의 경우 채혈 후 저장기간에 따라서도 영향을 받는 데, 채혈 후의 시간 경과에 따라서 막의 온전성이 감소되며, 용혈과 미극립자 등이 형성되어 혈중 농도가 변하게 된다[11-15]. 이러한 변화는 채혈 후 혈액 보관 온도에 따라서도 다르게 관찰되는데, 이와 같은 원인들에 의해 채혈 후 시간경과에 따른 분석결과의 오차가 발생하며, 정확성과 신뢰도가 저하된다. 따라서 혈액시료 채취 후 시간경과에 따른 혈구분석결과의 변이를 탐색하여 정확한 검출이 가능한 최소시간을 설정할 필요성이 있다.

최근에는 혈액내의 혈구를 분석하기 위한 다양한 자동혈구분석기들이 개발 보급되어 있는 데, 각 장비들만

의 분석방법과 검출한계, 정확도의 차이 때문에 같은 시료라도 장비들 사이에 동일한 결과가 도출되지 않는다[16]. 자동혈구분석기 Hemavet 950FS (Drew scientific, Oxford, UK)는 동물진용의 소형벤치탑 분석기로 소, 돼지, 말, 개, 고양이, 마우스 등 다양한 동물에서 혈구를 전자동으로 분석하는 장비이다. Hemavet 950FS는 혈구를 하나씩 분리해 주는 focused-flow system과 전기적 전위차에 의해 혈구를 다섯 부분으로 구분한다. 즉, 각 혈구는 다른 전기적 에너지 차이를 가지고 있는데, Hemavet 950FS는 이 전기적 에너지차이에 기초하여 각 혈구가 두 개의 전극과 개구부를 통과할 때 저항 값의 변화를 감지는 원리를 이용하여 분석한다. 또한, 혈구간의 간섭을 피하기 위하여 전용 lysis reagent를 이용하여 적혈구를 용해한 후에 백혈구의 수치를 계산하며, 헤모글로빈은 분광광도법에 의해 측정한다.

본 연구는 자동혈구분석기 Hemavet 950FS를 이용한 돼지의 혈액 내 혈구분석의 유효성을 검증하고, 더 나아가 채혈 후 시간 경과에 따른 혈구변화를 추적하여 정확한 분석에 필요한 최소 소요시간을 설정하기 위하여 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 공시재료

본 연구에 이용된 혈액시료는 체중 60 kg ( $\pm$  3.5)의 육성돈 (Duroc) 34두로부터 경정맥을 통한 채혈을 실시하여 채취하였다. 채취된 혈액은 K<sub>3</sub>-EDTA (tripotassium ethylenediamine-tetraacetate)가 처리된 튜브에 옮긴 후 분석 전까지 얼음에 보관하였다. 채혈 후 최초 분석 시까지 소요된 시간은 1시간 이내였다. 34개의 시료에 대한 1차 분석 후 혈전 혹은 용혈발생 및 기준범위(Table 1, 2)를 크게 벗어난 시료는 분석에서 제외시켰으며, 최종적으로 10개의 시료가 본 연구에 이용되었다.

### 2.2 분석항목

분석은 일반혈액검사 (complete blood cell count, CBC) 항목으로 leukocytes계 혈구인 백혈구(white blood cell, WBC), 호중구(neutrophil, NE), 림프구(lymphocyte, LY), 단핵구(monocyte, MO), 호산구(eosinophil, EO), 호염구(basophil, BA)의 6종과 erythrocytes계 혈구인 적혈구

(red blood cell, RBC), 헤모글로빈(hemoglobin, Hb), 적혈구 용적율(hematocrit, HCT), 평균 적혈구 용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균 적혈구 혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균 적혈구 헤모글로빈 농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 적혈구 크기 분포(red cell distribution width, RDW)의 7종, thrombocytes계 혈구인 혈소판(platelet, PLT) 및 평균혈소판 용적(mean corpuscular volume, MPV)의 2종을 자동혈구분석기 Hemavet 950FS (Drew scientific, Oxford, UK)를 이용하여 분석하였다.

### 2.3 분석방법

혈액시료는 채혈 후 1.5 mL micro-tube에 각각 1 mL 씩 분주하여 분석 전까지 4°C 냉장고에 보관하였다. 분석장비의 일내변동을 조사하기 위하여 공시재료로 선발된 10개의 시료 중 임의로 1개의 시료를 선발하여 연속적으로 10회 분석을 실시하였으며, 분석된 결과를 이용하여 변동계수(coefficient of variation, CV)를 산출하였다. 혈구분석의 유효시간 평가를 위하여 선발된 혈액시료 10개에 대하여 채혈 직후, 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간, 72시간, 120시간에 각각의 항목에 대한 분석을 실시하였다. 분석된 결과를 이용하여 시간경과에 따른 변동계수 CV를 산출하였다. 또한, 최초 채혈 직후 분석된 결과치를 100으로 환산하여 이후 분석된 값들에 대한 변화를 백분율로 환산하여 변동수준을 계산하였다.

### 2.4 통계분석

본 연구에서 분석된 모든 결과는 통계프로그램 SPSS version 17.0을 이용하여 분석하였다. 혈구분석의 유효시간 평가를 위한 분석에서 시간경과에 따른 분석치 사이의 통계적 유의성은 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance, ANOVA)을 통하여 분석하였다. 유의수준 0.05 이하 통계적 유의성이 인정되었을 때, Duncan [17]의 다중검정을 통하여 시간별 유의차를 나타내었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 일내변동

자동혈구분석기 Hemavet 950FS의 일내변동을 조사하기 위하여 임의의 하나의 혈액시료에 대한 10회 반복

분석 결과를 Table 1 (leukocytes와 thrombocytes)과 Table 2 (erythrocytes)에 나타내었다. 각각의 데이터로부터 산출된 변동계수(CV)를 함께 나타내었다.

총 백혈구(WBC)는 호중구(NE), 림프구(LY), 단핵구(MO), 호산구(EO), 및 호염구(BA)의 합으로 나타내어진다(Table 1). Leukocytes계의 일내변동을 조사한 결과 총 백혈구(WBC)는 4.3%로 관찰되었으며, 호중구(NE)와 림프구(LY)도 각각 7.0과 4.6%로 일내변동이 낮은 수준으로 관찰되었다. 이와 반대로 단핵구(MO), 호산구(EO), 호염구(BA)의 일내변동은 각각 19.7, 56.9와 53.3%로 매우 높은 수준으로 관찰되었다. 단핵구(MO)의 경우에는 분석 회 차마다 음의 기울기(-0.023;  $r^2$ , 0.397)로 감소하는 추세가 관찰되었으며, 호산구(EO)와 호염구(BA)의 경우에는 각각 기울기가 0.053 ( $r^2=0.599$ )과 0.006 ( $r^2=0.703$ )으로 변화의 경향이 증가하는 추세로 나타났다. 이들 세 혈구의 일내변동이 크게 나타난 것은 이들의 혈중 농도가 매우 낮은 수준으로 Hemavet 950FS의 검출한한 이하로 존재했을 가능성을 고려할 수 있다. Putwain 등[18]의 연구에서도 본 연구에서 이용한 자동혈구분석 장비(Hemavet 950FS)와 동일한 장비를 이용하여 canine blood에서 혈구를 분석한 결과, 총 백혈구와 호중구 림프구의 변동계수는 5% 미만이었지만, 단핵구의 변동계수가 47.96%, 호산구와 호염구에서 각각 20.69, 32.94%로 관찰되어 본 연구와 일치하는 결과를 보고하였다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때, Hemavet 950FS를 이용한 혈중 단핵구, 호산구, 호염구의 정량적 분석은 부적합한 것으로 사료된다. 다만, 이들 단핵구, 호산구, 호염구의 유의적인 차이에도 불구하고 총 백혈구의 수준이 유의하게 변하지 않은 것은, 이들 세 혈구의 비율이 총 백혈구의 5% 내외 수준으로 이들의 혈중 농도의 변화는 전체 백혈구 수치에 영향을 미치기에는 불충분했기 때문인 것으로 사료된다. 한편, 혈중 혈소판 농도와 평균혈소판 용적에 있어서 일내변동은 4.4%와 1.8%로 낮은 수준으로 관찰되어 thrombocytes계의 지표들은 안정적인 분석결과를 나타내었다.

Table 2에서는 erythrocytes계 혈구의 지표들에 대한 일내변동을 나타내었다. 헤모글로빈과 적혈구 용적율의 일내변동은 4.4%로 동일한 수준으로 관찰되었으며, 적혈구의 일내변동은 2.13%, 그 이외의 지표들에서는 2% 이하로 관찰되어 erythrocytes계 지표들은 Hemavet 950FS를 이용하여 안정적으로 검출이 가능한 것으로 판단되었다.

**Table 1.** Results and coefficient of variation from one sample run on ten occasions for leukocytes and thrombocytes parameters

| Items <sup>1)</sup> | Leukocytes ( $\times 10^3/\text{ul}$ ) |          |          |         |         | Thrombocytes |                                 |          |
|---------------------|--|----------|----------|---------|---------|--------------|---------------------------------|----------|
|                     | WBC                                    | NE       | LY       | MO      | EO      | BA           | PLT ( $\times 10^3/\text{ul}$ ) | MPV (fL) |
| Normal Range        | 11.0-22.0                              | 3.1-11.2 | 4.3-13.6 | 0.2-2.2 | 0.1-2.4 | 0.0-0.4      | 325-715                         | 5.0-20.0 |
| 1                   | 20.08                                  | 9.03     | 10.20    | 0.53    | 0.31    | 0.01         | 338                             | 12.1     |
| 2                   | 18.72                                  | 8.54     | 9.18     | 0.73    | 0.25    | 0.02         | 320                             | 11.8     |
| 3                   | 17.22                                  | 7.79     | 8.64     | 0.62    | 0.13    | 0.03         | 318                             | 11.7     |
| 4                   | 18.14                                  | 8.01     | 9.25     | 0.67    | 0.18    | 0.02         | 296                             | 11.7     |
| 5                   | 18.76                                  | 8.22     | 9.65     | 0.65    | 0.19    | 0.04         | 324                             | 12.1     |
| 6                   | 18.16                                  | 7.71     | 9.72     | 0.47    | 0.22    | 0.03         | 322                             | 11.9     |
| 7                   | 18.66                                  | 7.89     | 9.56     | 0.61    | 0.52    | 0.07         | 318                             | 11.7     |
| 8                   | 17.60                                  | 7.22     | 9.14     | 0.60    | 0.60    | 0.05         | 327                             | 12.2     |
| 9                   | 17.82                                  | 7.24     | 9.41     | 0.40    | 0.71    | 0.07         | 350                             | 11.8     |
| 10                  | 18.52                                  | 7.65     | 9.86     | 0.41    | 0.55    | 0.05         | 314                             | 12.2     |
| CV, %               | 4.30                                   | 7.03     | 4.62     | 19.70   | 56.86   | 53.31        | 4.43                            | 1.76     |

<sup>1)</sup>WBC, white blood cell; NE, neutrophil; LY, lymphocyte; MO, monocyte; EO, eosinophil; BA, basophil; PLT, platelet; MPV, mean platelet volume; CV, coefficient of variation

**Table 2.** Results and coefficient of variation from one sample run on ten occasions for erythrocytes parameters

| Items <sup>1)</sup> | RBC                         | Hb        | HCT       | MCV       | MCH       | MCHC      | RDW       |
|---------------------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                     | ( $\times 10^6/\text{uL}$ ) | (g/dL)    | (%)       | (fL)      | (pg)      | (g/dL)    | (%)       |
| Normal Range        | 5.00-8.00                   | 10.0-16.0 | 32.0-50.0 | 50.0-68.0 | 17.0-21.0 | 30.0-34.0 | 12.0-27.0 |
| 1                   | 7.99                        | 13.6      | 49.8      | 55.2      | 15.1      | 27.3      | 19.4      |
| 2                   | 7.84                        | 12.5      | 44.4      | 56.6      | 15.9      | 28.2      | 19        |
| 3                   | 7.67                        | 11.9      | 43.7      | 57        | 15.5      | 27.2      | 18.8      |
| 4                   | 7.77                        | 12.1      | 44.1      | 56.7      | 15.6      | 27.4      | 18.6      |
| 5                   | 7.88                        | 12.2      | 45.0      | 57.1      | 15.5      | 27.1      | 19.1      |
| 6                   | 7.97                        | 12        | 45.6      | 57.2      | 15.1      | 26.3      | 18.4      |
| 7                   | 7.85                        | 12        | 44.4      | 56.6      | 15.3      | 27.0      | 18.6      |
| 8                   | 7.53                        | 11.6      | 42.4      | 56.3      | 15.4      | 27.4      | 18.6      |
| 9                   | 7.59                        | 12.1      | 43.7      | 57.6      | 15.9      | 27.7      | 18.7      |
| 10                  | 8.00                        | 12.3      | 45.4      | 56.7      | 15.4      | 27.1      | 18.9      |
| CV, %               | 2.13                        | 4.40      | 4.40      | 1.14      | 1.80      | 1.80      | 1.57      |

<sup>1)</sup>RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin, HCT, hematocrit, MCV, mean corpuscular hemoglobin; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; CV, coefficient of variation

### 3.2 혈구분석 유효시간

Table 3과 Fig. 1에서는 시간 경과에 따른 혈중 leukocytes와 thrombocytes계 혈구의 변화를 나타내었다. Leukocytes계 혈구에 있어서는 림프구를 제외한 나머지 항목(총 백혈구, 호중구, 단핵구, 호산구, 호염구)에서 유의한 차이를 가지며 시간 경과에 따라 변화하는 것으로 관찰되었다. 호중구의 경우 채혈 직후 분석결과에 대비하여 시간경과에 따라 감소하는 것으로 나타났으며, 유의한 변화는 채혈 후 24시간부터 관찰되기 시작하였

다. 채혈 직 후부터 120시간까지의 변동계수는 25.6%였으며, 채혈 직후 대비 120시간 후의 분석치는 약 44% 수준까지 떨어지는 것으로 관찰되었다(Table 3,  $P < 0.001$ ). 한편, 호중구의 변화를 채혈 직후 대비 백분율로 환산하였을 경우에는 유의한 변화가 채혈 후 4시간에 관찰되었다(Fig. 1,  $P < 0.05$ ). 림프구의 시간경과에 따른 혈중 농도의 변화는 변동계수 5.46%수준으로 낮은 변동으로 관찰되었고, 채혈 후 시간 경과에 따라 다소 감소하는 경향이 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 관찰되

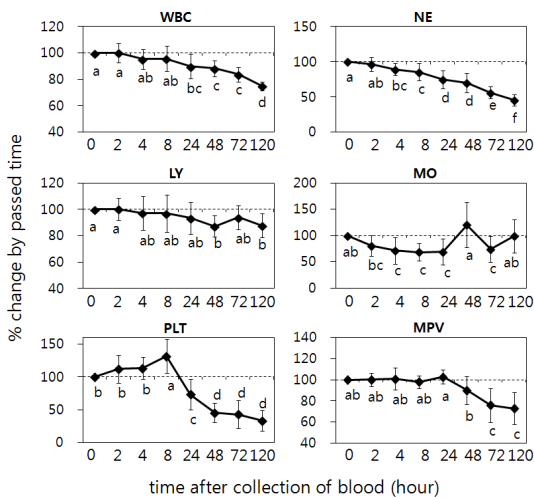
**Table 3.** Changes of leukocytes and thrombocytes parameters in blood by time passed

| Items <sup>1)</sup>               | 0                  | 2                  | 4                  | 8                  | 24                  | 48                  | 72                 | 120                 | CV, % | SEM   | P value |
|-----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|-------|-------|---------|
| <b>Leukocytes</b>                 |                    |                    |                    |                    |                     |                     |                    |                     |       |       |         |
| WBC ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | 15.8 <sup>a</sup>  | 15.9 <sup>a</sup>  | 15.2 <sup>ab</sup> | 15.3 <sup>ab</sup> | 14.3 <sup>abc</sup> | 14.0 <sup>abc</sup> | 13.3 <sup>bc</sup> | 11.9 <sup>c</sup>   | 9.6   | 0.31  | 0.007   |
| NE                                | 5.17 <sup>a</sup>  | 4.87 <sup>a</sup>  | 4.51 <sup>ab</sup> | 4.27 <sup>ab</sup> | 3.73 <sup>bc</sup>  | 3.47 <sup>bc</sup>  | 2.86 <sup>cd</sup> | 2.28 <sup>d</sup>   | 25.6  | 0.16  | < 0.001 |
| LY                                | 9.87               | 9.91               | 9.63               | 9.62               | 9.20                | 8.59                | 9.26               | 8.66                | 5.5   | 0.19  | 0.535   |
| MO                                | 0.51 <sup>ab</sup> | 0.39 <sup>bc</sup> | 0.34 <sup>c</sup>  | 0.34 <sup>c</sup>  | 0.32 <sup>c</sup>   | 0.60 <sup>a</sup>   | 0.37 <sup>bc</sup> | 0.47 <sup>abc</sup> | 24.1  | 0.38  | < 0.001 |
| EO                                | 0.24 <sup>d</sup>  | 0.40 <sup>cd</sup> | 0.60 <sup>bc</sup> | 0.84 <sup>ab</sup> | 0.75 <sup>ab</sup>  | 0.99 <sup>a</sup>   | 0.58 <sup>bc</sup> | 0.34 <sup>cd</sup>  | 43.7  | 0.51  | < 0.001 |
| BA                                | 0.06 <sup>d</sup>  | 0.09 <sup>d</sup>  | 0.12 <sup>cd</sup> | 0.19 <sup>bc</sup> | 0.24 <sup>b</sup>   | 0.33 <sup>a</sup>   | 0.21 <sup>b</sup>  | 0.11 <sup>cd</sup>  | 53.1  | 0.14  | < 0.001 |
| <b>Thrombocytes</b>               |                    |                    |                    |                    |                     |                     |                    |                     |       |       |         |
| PLT, $\times 10^3/\mu\text{L}$    | 211 <sup>b</sup>   | 236 <sup>ab</sup>  | 239 <sup>ab</sup>  | 277 <sup>a</sup>   | 153 <sup>c</sup>    | 96.00 <sup>d</sup>  | 88.67 <sup>d</sup> | 69.56 <sup>d</sup>  | 46.6  | 10.04 | < 0.001 |
| MPV, fL                           | 8.91 <sup>a</sup>  | 8.63 <sup>a</sup>  | 8.97 <sup>a</sup>  | 8.72 <sup>ab</sup> | 9.12 <sup>a</sup>   | 7.97 <sup>b</sup>   | 6.70 <sup>c</sup>  | 6.42 <sup>c</sup>   | 13.0  | 0.15  | < 0.001 |

Data are mean.

<sup>1)</sup>WBC, white blood cell; NE, neutrophil; LY, lymphocyte; MO, monocyte; EO, eosinophil; BA, basophil; PLT, platelets; MPV, mean platelet volume; SEM, standard error mean

<sup>a-d)</sup>Means without same superscript significantly differ ( $P < 0.05$ )



**Fig. 1.** Mean ( $\pm$ SD) change percent observed in complete blood cell count result on storage of blood at 4°C. WBC, white blood cell; NE, neutrophil; LY, lymphocyte; MO, monocyte; PLT, platelets; MPV, mean platelet volume; The x-axis presents the time after collection of blood (hour). The y-axis presents the change of percent from value on time 0.

지 않았다. 다만, 채혈 직후에 비하여 혈중 림프구 수준의 변화를 백분율로 분석한 결과에서는 채혈 후 48시간부터 유의하게 낮아지는 것으로 나타났다(Fig. 1,  $P < 0.05$ ). 호중구의 유의적인 감소에 따라 총 백혈구의 수치도 시간경과에 따라 유의하게 감소되었으며, 채혈 직후 대비 채혈 120시간 후에는 약 75% 수준으로 감소되는

것으로 나타났다(Table 3,  $P = 0.007$ ). 총 백혈구에 대한 변화를 백분율로 환산하여 비교한 결과 채혈 후 24시간부터 유의하게 감소되는 것으로 분석되었다(Fig. 1,  $P < 0.05$ ). 단핵구와 호산구, 호염구의 경우에는 시간경과에 따라 일정한 경향 없이 분석시마다 큰 차이를 나타내며 불규칙한 변화가 관찰되었다. 특히, 호염구의 경우 최소  $0.06 \times 10^3/\mu\text{L}$ 에서 최대  $0.33 \times 10^3/\mu\text{L}$ 까지 변화가 관찰되어 수치가 대 5.5배까지 차이가 발생하는 것으로 나타났다. 이는 위의 일내변동에서 언급되었듯이, 이들 단핵구, 호산구, 호염구에 대한 Hemavet 950FS의 검출능력의 한계로 나타난 결과로 보인다.

Thrombocytes계의 지표에서 혈소판의 경우 4시간까지는 채혈 직후에 비하여 통계적으로 유의한 차이는 아니지만 증가하는 경향으로 나타났으며, 채혈 후 8시간에는 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 이후 24시간부터 120시간까지는 통계적 유의성을 가지며 선형으로 감소되는 경향으로 관찰되었다( $P < 0.001$ ). 평균혈소판 용적 또한 채혈 후 24시간 이내까지는 유의한 변동이 없었으나, 48시간 이후부터 유의한 수준으로 감소되었다( $P < 0.001$ ). 위와 같은 연구결과로 비추어 봤을 때, Hemavet 950FS를 이용하여 돼지의 혈중 leukocytes계 혈구 및 thrombocytes계 혈구에 대한 유효한 분석을 위해서는 채혈 후 4시간 이내에 이루어져야하는 것으로 사료된다.

Erythrocytes계 지표들에 대한 유효 분석시간 검증에서 평균 적혈구 헤모글로빈 농도( $P = 0.007$ ) 이외의 모든 지표들은 시간경과에 따른 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 4).

**Table 4.** Changes of erythrocytes parameters in blood by time passed

| Items <sup>1)</sup>       | 0                  | 2                  | 4                  | 8                   | 24                  | 48                  | 72                 | 120                 | CV, % | SEM  | P value |
|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|-------|------|---------|
| RBC, ×10 <sup>6</sup> /uL | 8.24               | 8.09               | 8.07               | 8.05                | 8.07                | 8.07                | 7.86               | 7.95                | 1.37  | 0.07 | 0.967   |
| Hb, g/dL                  | 12.76              | 12.65              | 12.86              | 12.96               | 12.86               | 13.31               | 12.93              | 13.12               | 1.60  | 0.08 | 0.628   |
| HCT, %                    | 40.93              | 40.41              | 40.95              | 40.18               | 39.83               | 41.37               | 38.85              | 39.82               | 2.00  | 0.34 | 0.703   |
| MCV, fL                   | 49.73              | 50.04              | 50.82              | 49.95               | 49.41               | 51.57               | 49.45              | 50.21               | 1.46  | 0.28 | 0.556   |
| MCH, pg                   | 15.52              | 15.68              | 15.95              | 16.12               | 15.96               | 16.55               | 16.59              | 16.69               | 2.71  | 0.14 | 0.272   |
| MCHC, g/dL                | 31.22 <sup>b</sup> | 31.34 <sup>b</sup> | 31.43 <sup>b</sup> | 32.28 <sup>ab</sup> | 32.30 <sup>ab</sup> | 32.20 <sup>ab</sup> | 33.52 <sup>a</sup> | 32.19 <sup>ab</sup> | 2.33  | 0.16 | 0.007   |
| RDW, %                    | 20.74              | 20.85              | 20.80              | 20.84               | 20.87               | 20.72               | 20.95              | 20.94               | 0.40  | 0.10 | 0.999   |

Data are mean.

<sup>1)</sup>RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin, HCT, hematocrit, MCV, mean corpuscular hemoglobin; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; SEM, standard error mean

<sup>a-d)</sup>Means without same superscript significantly differ (P<0.05)

따라서 본 논문에서는 별도의 백분율 변화에 대한 결과는 나타내지 않았다. Erythrocytes계 지표들 중 평균 적혈구 헤모글로빈 농도만이 시간이 경과함에 따라 유일하게 유의한 수준으로 증가하는 것으로 관찰되었는데(P = 0.007), 변동수준은 2.33%로 낮았으며 채혈 직후 대비 120시간 후 분석치의 환산 백분율은 103.1% 이내로 낮은 수준이었다(data non-shown). 위와 같은 결과는 Hemavet 950FS를 이용한 돼지의 혈중 erythrocytes계의 분석은 채혈 후 120시간까지 유효한 것으로 사료된다.

Hemavet 950FS는 본래 수의분야에서 동물의 혈액학적 진단을 위한 장비로써, 동물의 종류에 따라 전용 control 지시제를 사용하여 reference 값을 설정하고 정상범위 내에서 혈구를 진단할 수 있다. 특히, 인간과 돼지를 포함하는 포유동물의 혈중 혈구는 비슷한 조성을 가지므로[19]이 장비를 활용하여 돼지뿐만 아니라 소, 닭, 쥐, 사슴 등 다양한 가축 및 실험동물의 혈구분석이 가능하며, 인간의 혈액 분석을 위한 전용 지시제를 사용할 경우 인간의 혈액에서도 유효한 혈구분석이 가능하다. 다만, 앞선 설명에서와 같이 혈중 혈구조성은 다양한 내외인성 요인에 의하여 변화하게 되므로[6-10], 본 연구에서 얻어진 분석유효성 및 유효시간에 대한 결과가 인간을 포함한 다른 모든 축종에서 동일하게 적용된다고 판단할 수 없다. 따라서 앞으로의 연구에서 동물의 종류에 따른 혈구분석 유효성과 유효시간을 검토할 필요가 있다.

#### 4. 결론

Hemavet 950FS의 돼지 혈구에 대한 일내변동을 조사한 결과, leukocytes계 혈구 중 총 백혈구, 호중구, 림프구의 경우 낮은 수준의 일내변동이 관찰되어 이들 항목에 대한 분석유효성이 인정되었으나, 단핵구, 호산구, 호염구에서는 높은 수준의 변동이 관찰되어 이들 항목에 대해서는 부적합한 것으로 판단된다. 반면 erythrocytes계 혈구의 지표들에서는 매우 낮은 수준의 변동으로 안정적인 검출이 가능한 것으로 판단되었다. Thrombocytes인 혈소판 및 평균혈소판 용적 또한 일내변동이 낮은 수준으로 관찰되어 분석장비의 유효성이 인정되었다. 한편, 유효시간 평가에 대한연구결과 leukocytes계 혈구와 thrombocytes계 혈구는 채혈 후 4시간 이내가 적합한 것으로 나타났으며, erythrocytes계 혈구는 채혈 후 120시간까지는 안정적인 분석이 가능한 것으로 판단된다.

#### 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ00997102)의 지원에 의해 이루어진 것임. 본 연구는 2016년도 농촌진흥청 국립축산과학원 박사후 연수과정 지원사업에 의해 이루어진 것임.

## References

- [1] K. R. Park, Y. C. Cho, The Association of Blood Pressures and Blood Biochemical Properties with BMI in Health Checkup Examinees. *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.*, 12, 3072-3081, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2011.12.7.3072>
- [2] K. J. Moon, H. Y. Kim, Effects of brown rice-vegetable school meal program on subjective health status, BMI and hematological parameters among high school students. *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.*, 16, 7385-7393, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2015.16.11.7385>
- [3] M. A. Lichtman, E. Beutler, T. J. Kipps, U. Seligsohn, K. Kaushansky, J. T. Prchal, 'Williams Hematology', 7th Ed., McGraw-Hill, New York, 2006.
- [4] M. A. Islam, C. Grobe-Brinkhaus, M. J. Proll, M. J. Uddin, S. A. Rony, D. Tesfaye, E. Tholen, M. Holker, K. Schellander, C. Neuhoff, Deciphering transcriptome profiles of peripheral blood mononuclear cells in response to PRRSV vaccination in pigs. *BMC Genomics*, 17, 641-658, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-016-2849-1>
- [5] P. Dubreuil, Y. Couture, C. Farmer, D. Petitclerc, Hematological and biochemical changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 73, 241-252, 1993.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.4141/cjas93-026>
- [6] Y. Nishiyama, H. Niiyama, H. Harada, A. Katou, N. Yoshida, H. Ikeda, Effect of Exercise Training on Red Blood Cell Distribution Width as a Marker of Impaired Exercise Tolerance in Patients With Coronary Artery Disease. *Int. Heart J.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1536/ihj.16-015>
- [7] M. J. Jo, J. K. Ma, A. R. Shin, F. Dong, K. B. Song, Y. H. Choi, H. K. Lee, Relationship between periodontal status and blood count and anemia in adults: Based on the 5th Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *J. Korean Acad. Oral Health*, 39, 152-157, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11149/jkaoh.2015.39.2.152>
- [8] K. R. Park, Y. C. Cho, The abnormal rates of blood pressures and blood biochemical properties with BMI in health checkup examinees. *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.*, 11, 4843-4853, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2010.11.12.4843>
- [9] M. F. Burks, M. E. Tumbelson, K. W. Hicklin, D. P. Hutcheson, C. C. Middleton, Age and sex related changes of hematologic parameters in Sinclair (S-1) miniature swine. *Growth*, 41, 51-52, 1977.
- [10] T. B. Klem, E. Bleken H. Morberg, S. I. Thoresen, T. Framstad, Hematologic and biochemical reference intervals for Norwegian crossbreed grower pigs. *Vet. Clin. Pathol.*, 39, 221-226, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00199.x>
- [11] J. T. Latham, J. R. Bove, F. L. Weirich, Chemical and Hematologic Changes in Stored Cpd-1 Blood. *Transfusion*, 22(2), 158-159, 1982.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1537-2995.1982.22282177126.x>
- [12] J. P. Aubuchon, T. N. Estep, R. J. Davey, The Effect of the Plasticizer Di-2-Ethylhexyl Phthalate on the Survival of Stored Rbcs. *Blood*, 71(2), 448-452, 1988.
- [13] U. Salzer, R. Zhu, M. Luten, H. Isobe, V. Pastushenko, T. Perkmann, P. Hinterdorfer, Giel J.C.G.M. Bosman, Vesicles generated during storage of red cells are rich in the lipid raft marker stomatin. *Bosmanet, Transfusion*, 48(3), 451 - 462, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01549.x>
- [14] T. J. Greenwalt, C. G. McGuinness, U. J. Dumaswala, Studies in Red-Blood-Cell Preservation. 4. Plasma Vesicle Hemoglobin Exceeds Free Hemoglobin. *Vox Sang*, 61(1), 14 - 17, 1991.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1423-0410.1991.tb00920.x>
- [15] N. Robinson, A. Kirchbichler, O. Banuls, M. Mader, R. Aikin, P. E. Sottas, G. D'Onofrio, Validation of a Blood Stability Score as an easy-to-use blood sample quality index. *Int. J. Lab. Hematol.*, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ijlh.12557>
- [16] E. G. Welles, A. S. Hall, D. M. Carpenter, Canine complete blood counts: a comparison of four in-office instruments with the ADVIA 120 and manual differential counts. *Vet. Clin. Pathol.*, 38, 20-29, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-165X.2008.00084.x>
- [17] D. B. Duncan, Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1-42, 1955.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.2307/3001478>
- [18] S. L. Putwain, E. J. Villiers, J. Archer, Validation of the Hemavet HV950FS multispecies haematology analyser for analysis of canine blood. *Comp. Clin. Pathol.*, 17, 1-8, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00580-007-0708-9>
- [19] U. Windberger, A. Bartholovitsch, R. Plasenzotti, K. J. Korak, G. Heinze, Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data. *Exp. Physiol.*, 88, 431-440, 2003.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1113/eph8802496>

김기현(Ki-Hyun Kim)

[정회원]



- 2009년 8월 : 한경대학교 동물낙농생명과학전공 (농학석사)
- 2013년 3월 : 교토대학교 응용생물과학전공 (농학박사)
- 2013년 4월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 박사후 연구원

<관심분야>  
동물영양, 가축사양

**김 광 식(Kwang-Sik Kim)**

[정회원]



- 2016년 2월 : 충북대학교 축산학과 (농학석사)
- 2012년 10월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>  
동물영양, 가축사양

**김 영 화(Young-Hwa Kim)**

[정회원]



- 1997년 2월 : 전남대학교대학원 축산학과 (농학석사)
- 2002년 2월 : 경상대학교대학원 축산학과 (농학박사)
- 1987년 5월 ~ 1991년 12월 : 영천군농촌지도소 농촌지도사
- 1992년 1월 ~ 현재 : 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>  
동물영양, 가축사양

**김 두 완(Du-Wan Kim)**

[정회원]



- 1998년 2월 : 전남대학교 농과대학 축산학과 (축산학학사)
- 2016년 2월 : 전북대학교 축산학과 (식육가공석사)
- 2010년 4월 ~ 현재 : 국립축산과학원 양돈과 농업연구사

<관심분야>  
가축사양, 식육

**사 수 진(Soo-Jin Sa)**

[정회원]



- 2002년 2월 : 강원대학교 축산학과 (농학석사)
- 2006년 2월 : 강원대학교 축산학과 (농학박사)
- 2007년 2월 ~ 2009년 1월 : Nottingham University, 박사후연구원
- 2009년 2월 ~ 현재 : 농촌진흥청 농업연구사

<관심분야>  
동물번식학, 생명공학