

자동혈구분석기 ProCyte Dx를 활용한 개 혈액 저장시간에 따른 혈구 지표 변화 조사

조현우, 서강민, 천주란, 김기현*
농촌진흥청 국립축산과학원

An investigation of hematological variations in dog blood by storage time using the ProCyte Dx analyzer

Hyun-Woo Cho, Kangmin Seo, Ju Lan Chun, Ki Hyun Kim*
National Institute of Animal Science, Rural Development Administration

요 약 저장된 혈액은 저장 병변이 발생하기 때문에 정확한 전혈구검사를 위해서는 보관 시간에 따른 다양한 혈구들의 변화에 대한 검증이 선행되어야 한다. 본 연구는 자동혈구분석기(ProCyte Dx)를 활용하여 개의 혈액 샘플 저장 시간에 따른 혈구지표의 변화를 조사하여 저장 유효시간을 결정하기 위해 수행하였다. 혈액 시료는 10마리의 비글에서 채혈하였으며, 채혈 후 저장시간 경과별(0, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96시간)로 백혈구계, 적혈구계, 혈소판계의 혈구 지표를 분석하였다. 채혈 후 저장 시간별 혈구 지표 변화를 분석한 결과, 백혈구계 혈구에서는 96시간까지 시간경과에 따른 저장 병변이 관찰되지 않았다. 하지만 적혈구계의 HCT (hematocrit)와 MCV (mean corpuscular volume)는 8시간부터 유의하게 증가하였고, MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration)는 4시간부터, RDW (red cell distribution width)는 72시간부터 유의적으로 감소하였다. 또한 PLT (platelet)의 농도는 8시간부터 유의한 감소를 보였다. 이상의 결과를 종합해보면, 개 혈액 내 혈구조성의 정확한 진단을 위해서는 채혈 후 2시간 이내에 분석하는 것이 적합하며, 백혈구계의 경우에는 96시간까지 시간경과에 따른 변화없이 안정적인 분석이 가능한 것으로 판단된다.

Abstract To arrive at an accurate complete blood cell count (CBC), it is necessary to verify the changes in blood cells with time because stored blood results in storage lesions. This study was performed to determine the effective time for an accurate and optimum CBC analysis by analyzing the changes in the CBC of a dog blood sample at various storage intervals using an automatic hematocytometer (ProCyte Dx). Blood samples were collected from 10 healthy beagles, and the leukocytes, erythrocytes, and platelets in the blood were analyzed at different storage time intervals (0, 2, 4, 8, 24, 48, 72, and 96 hours) after blood collection. As a result of the analysis, no storage lesions were observed in the leukocytes until 96 hours of storage. However, hematocrit (HCT) and mean corpuscular volume (MCV) of the erythrocytes significantly increased from 8 hours onwards, and the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and red cell distribution width (RDW) significantly decreased from 4 hours and 72 hours, respectively. Also, the concentration of PLT (platelets) decreased from 8 hours onwards. In summary, it is suitable to analyze CBC within 2 hours of blood collection for an accurate analysis of the blood cells, and stable analysis of leukocytes is possible up to 96 hours.

Keywords : Beagle, Complete Blood Cell Count, Dog, ProCyte Dx, Storage Time

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01569902)의 지원에 의해 이루어진 것임. 본 연구는 2021년도 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구위원 과정 지원사업에 의해 이루어진 것임.

ICho, H.W. and Seo, K.M. contributed equally as a first author in this study

*Corresponding Author : Ki Hyun Kim(National Institute of Animal Science)

email: kihyun@korea.kr

Received August 2, 2021

Revised August 25, 2021

Accepted September 3, 2021

Published September 30, 2021

1. 서론

과학기술의 발전과 분석 기계의 발달은 결과를 얻기 위한 복잡하고 다양한 과정을 단순화 및 자동화하여 결과 생산성의 향상뿐만 아니라, 질적으로도 크게 향상시켰다[1]. 또한, 분석의 자동화는 분석 과정 중에 발생할 수 있는 변수와 오류를 최소화함으로써, 분석 결과에 대한 정확성 및 신뢰성을 향상시켰다[2]. 이러한 과학적 진보의 산물 중 하나인 자동혈구분석기(automated blood cell analyzer)는 혈액 내 적혈구계, 백혈구계, 혈소판계 혈구 등 다양한 혈구에 대해 개수를 자동으로 정량화하고 여러 가지 혈구 지표를 계산하여 수치화 할 수 있다. 간편하게 채혈만으로 전반적인 건강상태의 파악, 질병의 진단, 신체의 변화 등을 확인 할 수 있어서 전혈구검사(CBC: Complete Blood Cell Count, 이하 CBC)의 목적으로 혈액 검사에 널리 이용되고 있다[3-5]. 하지만 CBC 분석의 자동화에도 불구하고 분석 전 샘플의 채혈 과정, 분석을 위한 샘플의 전처리 과정, 분석 전 샘플의 저장 방법 및 저장 환경 등에 따라 분석 결과에 영향을 줄 수 있는 변수는 여전히 남아있다[6]. 그리고 혈액샘플을 채혈하는 장소와 샘플 분석실의 공간적 차이에 따른 제약[7], 채혈 후 분석실로 이동하기까지의 시간적 제약[8] 등 현실적인 문제로 인한 혈액샘플의 분석 개시가 지연되는 것은 빈번하다[9,10]. 이처럼 분석 시간의 지연이 과도할 경우, 채혈 후 혈액 내에서는 적혈구의 변형[11], 백혈구의 미극립자 형성[12] 같은 저장 병변을 일으켜 생물학적 변화를 초래하고 분석 결과에도 영향을 줄 수 있다[13-15]. 상기와 같은 이유로 혈액샘플 관리기준을 두기 위해 다양한 연구들이 진행 중이다. 대표적으로 국제 혈액학 표준화 위원회(ICSH: International Council for Standardization in Hematology)에서 저장·관리에 대한 여러 가지 지침을 설립하고 혈액 분석 결과의 신뢰성을 높이기 위해 지속적으로 보완해나가는 노력이 활발하게 진행 중이다[16,17]. 하지만 사람 혈액에서 주로 연구되고 지침이 설립되고 있어서 생물학적으로 차이가 있는 실험동물을 포함한 다른 동물에서 ICSH 기준을 접목하는 것은 한계점이 있다.

개에서도 사람과 마찬가지로 혈구 분석을 통해 도출된 지표들의 수치를 분석하여 빈혈, 세균 감염, 종양, 백혈병 등의 임상학적 진단뿐만 아니라, 기본적인 건강 진단을 위해 CBC는 널리 사용되고 있다[18-20]. 하지만, 장비들의 다양화로 분석 결과가 차이 나는 경우가 야기될 수 있고 이는 결과에 대한 신뢰도를 감소시킬 수 있다

[21]. 따라서 정확하고 올바른 진단을 위해서 개의 혈액 샘플에서 자동혈구분석기 장비에 대한 유효성 평가와 적정 보관 시간에 대한 병행 연구가 필요하다. 다양한 자동혈구분석기들 중, ProCyte Dx (IDEXX laboratories Inc., USA)는 동물용 자동혈액분석기로 설치류, 고양이, 돼지, 말 등 다양한 종에서 연구, 진단의 목적 널리 사용되고 있다[22-25]. ProCyte Dx는 혈구 세포를 단일 세포로 흘려보내 레이저를 가해서 형광의 차이로 백혈구계의 혈구를 분류, 파장의 차이로 혈소판계를 분류, 전류를 흘려보내 생기는 전기적 전위차를 활용한 적혈구계를 분류하고 정량하여 여러 가지 혈구 지표를 분석 장비이다.

따라서 본 연구는 개에서 전혈구검사시 발생할 수 있는 오류를 최소화하기 위해 자동혈구분석기 ProCyte Dx로 정상 비글견의 혈액 내 혈구를 분석하여 개 샘플에 대한 ProCyte Dx의 유효성을 확인 후, 혈액 샘플 저장 시간 경과에 따른 혈구들의 변화 확인을 통한 혈액 샘플 적정 보관 시간을 설정하기 위해 수행하였다.

2. 연구방법

2.1 실험동물

본 연구를 위해 10마리의 비글(2.9±0.05년; 수컷 5마리, 암컷 5마리)을 공시동물로 배치하였다. 모든 개들은 각각의 독립된 방(가로 170 cm × 세로 210 cm)에서 온도(22±1 ℃)와 습도(50±10 %)가 일정하게 유지되는 환경에서 분리 사육하였다. 사육관리는 영양소요구량을 충족하는 시판사료(Iskhan All-life 33, Daehan, Korea)를 이용하여 각 공시동물의 체중에 기초한 1일 급여량을 하루 2회에 나누어 급여하였으며, 음수는 자유 음수를 실시하였다.

2.2 시료채취 및 분석방법

혈액시료는 채취 전 12시간 이상 절식을 실시한 이후, 전지 요추피정맥에서 1 ml씩 채혈하였으며, 채취된 혈액은 K₂-EDTA(dipotassium ethylene- diaminetetraacetic acid)가 처리된 튜브에 옮긴 후, 자동혈구분석기로 분석 전까지 4 ℃에 보관하였다. 채혈 후 자동혈구분석기에 최초 분석 개시까지 소요된 시간은 10분 이내였으며, 분석 개시 샘플로 변동계수(coefficient of variation, CV)를 산출하여 집단 내 개체간의 차이와 분석 안정성을 평가하였다. 이후, 분석 개시 시간을 기준으로 4 ℃에 보관한

혈액샘플을 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96시간 후 각각의 혈구 지표의 변화를 분석하여 적정 보관 시간을 평가하였다. 추가적으로 시간 경과에 따라 통계적으로 유의차가 있는 혈구 지표들의 변화를 확인하기 위해 분석 개시 샘플에서 분석된 각 혈구 지표들의 정량 수치를 기준으로 하여 변화수준을 백분율로 환산하여 산출하였다.

2.3 전혈구검사

전혈구의 분석은 자동혈구분석기 ProCyt Dx (IDEXX laboratories incoperation, USA)를 이용하여 분석하였다. 여러 가지 혈구 지표 중, 혈액 내 소량으로 존재하여 검출한도에 의해 값이 0으로 도출된 지표는 분석에서 제외하였다. 총 15종의 혈구를 분석하였으며, 백혈구계(leukocyte)에서 백혈구(WBC: White Blood Cell, 이하 WBC), 호중구(NEU: Neutrophil, 이하 NEU), 림프구 (LYM: Lymphocyte, 이하 LYM), 단핵구 (MONO: Monocyte, 이하 MONO), 호산구 (EOS: Eosinophil, 이하 EOS)까지 총 5종을 분석하였다. 혈소판계(thrombocytes)에서는 혈소판(PLT: Platelet, 이하 PLT) 1종을 분석하였다. 적혈구계 (erythrocyte)는 적혈구(RBC: Red Blood Cell, 이하 RBC), 헤모글로빈 (HGB: Hemoglobin, 이하 HGB), 적혈구 용적율(HCT: Hematocrit, 이하 HCT), 평균 적혈구 용적(MCV: Mean corpuscular volume, 이하 MCV), 평균 적혈구 혈색소량(MCH: Mean corpuscular hemoglobin, 이하 MCH), 평균 적혈구 헤모글로빈 농도(MCHC: Mean

corpuscular hemoglobin concentration, 이하 MCHC), 적혈구 크기 분포(RDW: Red cell distribution width, 이하 RDW), 망상적혈구 농도(RETIC: Reticulocyte, 이하 RETIC), 망상적혈구 혈색소 함량(RETIC-HGB: Reticulocyte hemoglobin, RETIC-HGB)까지 총 9종을 분석하였다.

2.4 통계분석

본 연구에서 분석된 모든 통계분석은 SPSS version 17.0 (IBM SPSS Statistics, USA, 2009)를 이용하여 분석하였다. 본 연구에서는 암수가 공히 공시되어 성별요인을 공변량으로 하여, 시간 경과에 따른 전혈구의 정량 농도를 개시시점을 기준으로 시간대별 농도에 대하여 반복측정 공변량분산분석(R-ANCOVA: Repeated-Analysis of Covariance)으로 통계분석을 실시하였다. 통계적인 유의성은 p 값이 0.05이하인 경우에 인정하였으며, tukey's HSD (HSD: Honest significant difference) test로 사후검정을 실시하였다.

3. 연구결과 및 고찰

3.1 전혈구검사

혈액샘플의 저장 시간에 따른 혈구 지표 변화를 확인하기 전에 각 혈구 지표 수치들이 정상 범위 인지 확인하고, 개체 집단의 분산정도를 검토하였다(Table 1, 2).

Table 1. Leukocytes and thrombocytes parameters in blood of ten beagles

No.	Leukocytes ($\times 10^3/\text{ul}$)					Thrombocytes ($\times 10^3/\text{ul}$)
	WBC	NEU	LYM	MONO	EOS	PLT
Normal range	5.05-16.76	2.95-11.64	1.05-5.1	0.16-1.12	0.06-1.23	148-484
1	9.74	6.31	2.78	0.39	0.26	338
2	6.98	3.93	2.54	0.29	0.22	320
3	10.36	7.04	2.7	0.29	0.32	318
4	7.94	4.74	2.6	0.34	0.23	296
5	8.57	5.05	2.79	0.27	0.46	324
6	8.04	4.53	3.04	0.36	0.11	322
7	8.53	5.32	2.55	0.31	0.34	318
8	6.32	3.35	2.56	0.24	0.16	327
9	8.87	6.03	2.44	0.23	0.17	350
10	6.77	3.57	2.86	0.3	0.04	314
SEM	0.41	0.38	0.06	0.02	0.04	19.95
CV (%)	16	24	7	17	53	21

WBC, white blood cell; NEU, neutrophil; LYM, lymphocyte; MONO, monocyte; EOS, eosinophil; PLT, platelet; SEM, standard error mean; CV, coefficient of variation

Table 2. Erythrocyte parameters in blood of ten beagles

No.	RBC ($\times 10^6/\text{ul}$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	RETIC ($\times 10^3$)	RETIC-HGB (pg)
Normal range	5.65-8.87	13.1-20.5	37.3-61.7	61.6-73.5	21.2-25.9	32-37.9	13.6-21.7	10-110	22.3-29.6
1	8.18	18.2	49.7	60.8	22.2	36.6	20.4	20.5	22.1
2	7.76	17.7	49.4	63.7	22.8	35.8	19.7	17.1	23.2
3	8.26	18.7	54	65.4	22.6	34.6	20	114	24
4	8.52	19.2	54	63.4	22.5	35.6	20.8	46	24.9
5	7.73	18.2	51.5	66.6	23.5	35.3	19.6	27.1	24.3
6	8.42	19.3	55.5	65.9	22.9	34.8	20.5	20.2	24.7
7	7.53	17.9	50.4	66.9	23.8	35.5	19.1	42.9	24.2
8	8.62	20.5	57.8	67.1	23.8	35.5	20.6	74.1	24.4
9	8.47	20.1	56.5	66.7	23.7	35.6	20.1	31.3	24.7
10	7.02	16.5	47.3	67.4	23.5	34.9	19.1	13.3	23.5
SEM	0.16	0.38	1.09	0.67	0.19	0.18	0.19	9.96	0.27
CV (%)	6	6	7	3	3	2	3	77	4

RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular hemoglobin; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; RETIC, reticulocyte; RETIC-HGB, reticulocyte hemoglobin; SEM, standard error mean; CV, coefficient of variation

백혈구계에서 WBC는 $6.77 \times 10^3/\text{ul}$ 부터 $10.36 \times 10^3/\text{ul}$ 로 관측되었다. EOS는 $0.04 \times 10^3/\text{ul}$ 부터 $0.46 \times 10^3/\text{ul}$ 까지 집단 내에서 비교적 큰 차이를 보였다. 혈소판의 개수를 측정하는 PLT의 경우 $296 \times 10^3/\text{ul}$ 부터 $350 \times 10^3/\text{ul}$ 로 관측되었다. 집단의 분산 정도를 변동계수로 확인한 결과, EOS는 53 %로 집단 내에서 개체간의 차이가 높은 수준을 보였지만 다른 혈구 지표들의 CV는 개체간의 차이가 신뢰할 수 있을 만한 수준으로 관측되었다. 특히, LYM의 CV가 7 %로 개체 간의 차이가 가장 적었다 (Table 1).

적혈구계에서 총 9종을 분석한 결과, 미성숙한 적혈구인 망상적혈구의 개수를 측정한 RETIC는 $13.3 \times 10^3/\text{ul}$ 부터 $114 \times 10^3/\text{ul}$ 였으며, CV는 77 %로 매우 큰 수준의 변동계수를 보였고, 나머지 8종은 모두 10 % 미만으로 나타났다(Table 2). RETIC를 제외한 다른 혈구 지표들의 수치는 분석 장비에서 제시하는 reference range에 부합하였다. RETIC의 경우 한 마리의 개체에서 최대 reference range인 $110 \times 10^3/\text{ul}$ 를 벗어난 $114 \times 10^3/\text{ul}$ 로 저장 시간에 따른 혈구지표 변화 분석에서는 제외하였다. RBC는 $7.02 \times 10^6/\text{ul}$ 부터 $8.62 \times 10^6/\text{ul}$ 까지 나타났으며 CV가 6 %로 집단 내 개체간의 분산정도가 적었다. 자동혈구분석기의 특성 상 검출 한계에 의해 혈액 내에서 저농도의 혈구 지표는 CV가 상대적으로 높다[26]. 다른 혈구 대비 고농도인 적혈구의 개체 간 CV가 낮은 이유도 같은 의미로 해석할 수 있다. EOS는 호산구의 지표로 골수에서 생성되며 백혈구 대비 1-3 %인 저농도 수준으로 혈액 내에서 순환 한다[27]. 따라서 EOS에서 CV가

높은 이유는 각 개체간의 특성 차이와 혈액 내 저농도에 의한 검출 한계인 것으로 사료된다. 성별에 따른 혈구 지표의 차이를 분석한 결과, 적혈구계의 MCV와 MCH가 유의적인 차이를 보였다. 개에서 암컷의 평균 MCV는 63.98 ± 2.2 fL, 수컷은 66.8 ± 0.57 fL이었고, MCH는 암컷과 수컷에서 각각 22.72 ± 0.49 pg, 수컷은 23.54 ± 0.38 pg으로 paired t-test 결과, 적혈구계의 두 지표는 성별에 차이를 보이는 것으로 나타났다($p < 0.05$) (Data not shown).

종합해보면 본 연구에서 이용한 자동혈구분석장비 ProCyte Dx는 안정적인 분석 결과를 도출하였으며, 저장 시간에 따른 혈구지표들의 변화를 분석하기에 적합한 것으로 판단된다.

3.2 저장 시간에 따른 혈구지표 변화 분석

채혈 즉시 EDTA가 처리된 튜브에 저장한 후, 혈액 내 저장 병변이 가장 적다고 알려진 온도인 4 °C에 보관하였다[28]. 시간 간격은 채혈 당일에 있어서의 시간 경과에 따른 변화(일내변동)를 관찰하기 위하여, 2, 4, 8시간으로 설정하였으며, 이후에는 날짜 경과에 따른 변화(일간변동)를 관찰하기 위하여 24시간 간격으로 96시간까지 분석을 실시하였다[5]. 저장시간별 혈구 지표의 변화를 확인한 결과는 다음과 같다(Table 3).

백혈구계에서 측정한 혈구 지표 5종 WBC, NEU, LYM, MONO, EOS에서 저장 시간의 증가에 따른 유의미한 변화는 없었다. 저장 시간별 수치상으로는 차이가 있었지만 유의적이지 않았고, 증가 혹은 감소하는 등 일

Table 3. Changes of blood parameters by storage time in nine beagles

Parameters	Time (hr)	0	2	4	8	24	48	72	96	SEM	p-value
Leukocytes ($\times 10^3/\text{ul}$)											
WBC		8.21	8.05	8.07	8.12	8.09	8.13	8.18	8.21	0.35	0.999
NEU		4.99	4.88	4.90	4.94	4.94	4.99	5.04	5.11	0.34	0.999
LYM		2.69	2.65	2.65	2.69	2.67	2.65	2.64	2.62	0.07	0.995
MONO		0.30	0.30	0.29	0.26	0.26	0.27	0.26	0.24	0.02	0.066
EOS		0.23	0.22	0.21	0.22	0.22	0.22	0.22	0.23	0.03	0.999
Thrombocytes											
PLT ($\times 10^3/\text{ul}$)		305.6 ^a	254.6 ^{ab}	230.3 ^{ab}	211.8 ^b	209.7 ^b	208.6 ^b	212.3 ^b	207.6 ^b	18.0	<0.01
Erythrocytes											
RBC ($\times 10^6/\text{ul}$)		8.1	8.0	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	0.17	0.999
HGB (g/dL)		18.6	18.7	18.7	18.8	18.6	18.7	18.7	18.7	0.37	0.999
HCT (%)		52.6 ^a	53.9 ^{ab}	54.8 ^{ab}	56.2 ^{bcd}	57.4 ^{bcd}	58.6 ^{cde}	60.0 ^{de}	61.1 ^e	1.09	<.001
MCV (fL)		65.4 ^a	67.0 ^{ab}	67.9 ^{ab}	69.5 ^{bc}	70.8 ^{cd}	72.7 ^{de}	74.2 ^{ef}	75.5 ^f	0.49	<.001
MCH (pg)		23.1	23.3	23.1	23.2	23.0	23.2	23.2	23.1	0.14	0.890
MCHC (g/dL)		35.4 ^a	34.7 ^{ab}	34.1 ^{bc}	33.4 ^c	32.5 ^d	31.9 ^{de}	31.3 ^{ef}	30.6 ^f	0.17	<.001
RDW (%)		20.0 ^a	20.0 ^a	19.8 ^{ab}	19.6 ^{ab}	19.3 ^{ab}	18.9 ^{ab}	18.7 ^b	18.7 ^b	0.23	<.001
RETIC ($\times 10^3/\text{uL}$)		40.7	41.2	42.8	42.5	44.3	44.6	47.1	46.1	9.69	0.999
RETIC-HGB (pg)		24.0	23.6	23.6	23.6	23.5	23.8	23.5	23.4	0.26	0.804

WBC, white blood cell; NEU, neutrophil; LYM, lymphocyte; MONO, monocyte; EOS, eosinophil; PLT, platelets; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin, HCT, hematocrit, MCV, mean corpuscular hemoglobin; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; RETIC, reticulocyte; RETIC-HGB, reticulocyte hemoglobin; SEM, standard error mean

^{a-f}Means without same superscript significantly differ ($p < 0.05$)

정한 경향은 관찰되지 않았다. 하지만 PLT는 저장 시간이 증가할수록 감소하였고, 8시간부터 유의차가 확인됐다. 적혈구계에서는 RBC, HGB, MCH, RETIC, RETIC-HGB를 제외한 HCT와 MCV에서 8시간부터 유의적인 증가, MCHC는 4시간부터 감소, RDW는 72시간부터 유의하게 감소하였다.

저장 시간 경과에 따라 유의차가 나타난 혈구 지표들을 백분율로 환산하여 변화 추이를 확인 한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. HCT는 혈액에서 적혈구가 차지하는 용적의 백분율로 적혈구 수의 증가 혹은 용적이 증가했을 때, 수치가 증가하게 된다. 하지만 적혈구의 수를 측정된 결과인 RBC의 수치에서 변화가 없었기 때문에 적혈구의 용적이 증가했을 것으로 생각된다. 적혈구계 내 다양한 혈구들의 여러 가지 저장 병변 중, 다른 연구들에서도 저장 시간이 증가할수록 HCT가 증가한다고 보고했다 [29,30]. 이러한 HCT의 증가는 적혈구의 팽창 혹은 용혈에 기인할 수 있다[30]. MCV는 평균 적혈구 용적을 나타내는 지표로 $\text{HCT}/\text{RBC} \times 10$ 으로 계산할 수 있다. 즉, HCT의 증가가 MCV의 증가에 영향을 준 것으로 사료된다. 또한, MCHC는 평균 적혈구 헤모글로빈의 농도

이며, $\text{HGB}/\text{HCT} \times 100$ 으로 계산한다. 즉, HGB의 변화는 관찰되지 않았기 때문에 HCT의 증가가 MCHC의 감소에 영향을 준 것으로 생각된다. 마찬가지로 RDW는 적혈구 집단의 크기 분포를 알 수 있는 지표로 적혈구의 팽창이나 적혈구의 수가 줄어들었을 경우에 감소한다. RDW는 $\text{standard deviation of RBC size}/\text{MCV} \times 100$ 으로 계산이 가능한데 MCV의 증가가 RDW의 감소에 영향을 준 것으로 유추할 수 있다. 혈소판의 지표인 PLT는 분석 기계, 샘플의 종류, 저장 온도와 상관없이 저장 기간이 증가함에 따라 감소하는 것으로 알려져 있다[31]. 또한, 저온에서 상온에 비해 안정성이 더 낮아진다는 보고가 있다[32]. 이는 혈소판 저장 병변(platelet storage lesions, PSL)으로 알려져 있으며, 냉장 온도에서 혈액 샘플을 보관하면 분자적 관점에서 상온보다 활성화를 줄여 저장 병변을 예방할 수 있지만 저온에 의해서도 혈소판 형태의 변형이 일어난다[33]. PSL은 아직까지 명확하게 규명되지 않았으며, 혈액의 수집, 처리, 보관 등 다양한 요인에 의해 발생 할 수 있다[34]. 백혈구계의 5가지 지표는 저장시간에 따라 최대 96시간까지 변화가 없었지만, 혈구 분석 장비에 따라 백혈구의 안정성

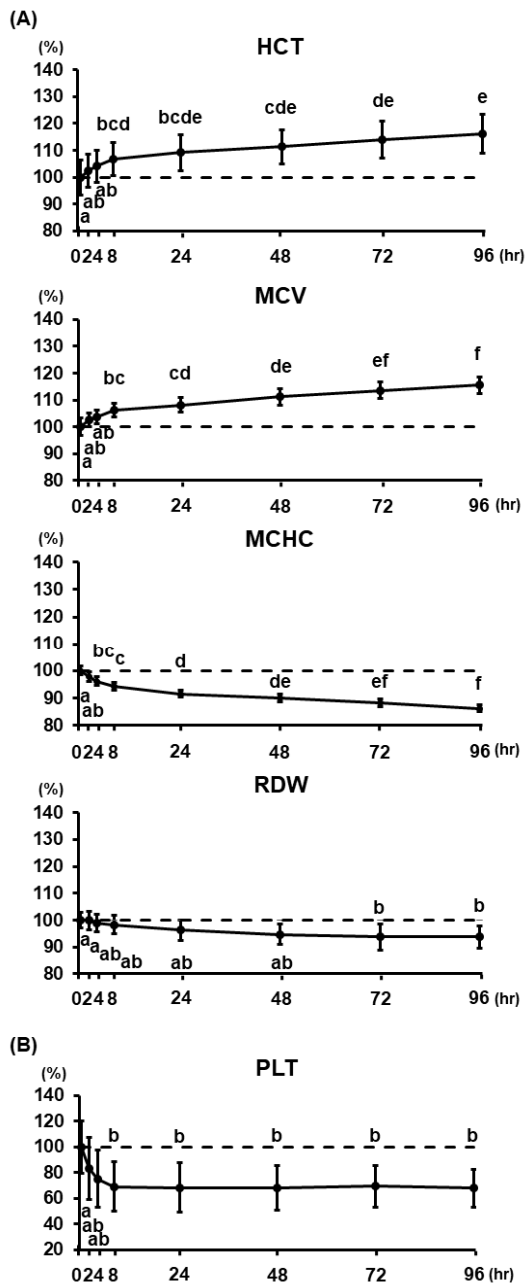


Fig. 1. Percent of mean±SD change value on complete blood cell result by storage time in canine blood. (A) Parameters of HCT, MCV, MCHC and RDW in erythrocytes. (B) Parameter of PLT in thrombocytes. HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution; PLT, platelets; SD, standard deviation.

을 제공하는 유효한 샘플 저장 시간이 다르다[35]. 또한, 샘플의 종류와 분석 장비의 종류마다 유효한 결과를 얻기 위한 저장 방법은 일정하지 않다[32].

따라서 개의 혈액에서 전혈구검사를 수행하기 위해서는 분석 장비의 종류에 따라 저장 방법에 대한 정확한 지침을 설정한 후에 분석하는 것이 결과에 대한 신뢰도를 향상 시킬 수 것으로 생각된다.

4. 결론

ProCyte Dx를 활용한 개의 전혈구검사 결과, 적혈구계, 백혈구계, 혈소판계 등의 다양한 혈구 지표들에서 정상 범주 내로 안정적인 분석이 가능했다. 따라서 ProCyte Dx는 개의 혈액에서 전혈구검사를 위한 이용성이 우수한 것으로 생각된다. 또한 채혈 후 즉시 자동혈구분석기에 분석하는 것이 전혈구검사 결과의 신뢰성이 가장 높으며, 혈액 샘플을 보관 시에 4 °C 냉장 보관 기준으로 최대 2시간까지 보관하는 것은 안정적이며 유효한 분석 결과를 도출할 수 있다. 추가적으로 백혈구계 혈구는 최대 96시간까지 유효하고 안정적인 결과를 도출 할 수 있으며, 혈소판은 4시간 이내가 적합한 것으로 판단된다.

References

- [1] G. Lippi., G. C. Guidi, C. Mattiuzzi, M. Plebani, "Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing", *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44.4, 358-365, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.073>
- [2] L. T. Kohn, J. M. Corrigan, M. S. Donaldson, "To Err is Human: Building a Safer Health System", *National Academies Press*, Vol. 6, 2000.
- [3] K. R. Park, Y. C. Cho, "The Association of Blood Pressures and Blood Biochemical Properties with BMI in Health Checkup Examinees", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 12.7, 3072-3081, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2011.12.7.3072>
- [4] 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", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 16.11, 7385-7393, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2015.16.11.7385>
- [5] K. H. Kim, K. S. Kim, D. W. Kim, S. J. Sa, Y. H. Kim, "Evaluation of valid time for analysis of complete blood

- cell in pig blood using the Hemavet 950FS", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 18.1, 194-201, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2017.18.1.194>
- [6] G. Lippi, G. L. Salvagno, M. Montagnana, G. Lima-Oliveira, G. C. Guidi, E. J. Favalaro, "Quality standards for sample collection in coagulation testing", *Seminars Thrombosis Hemostasis*, 38.6, 565-575, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1315961>
- [7] M. Buttarello, "Quality specification in haematology: the automated blood cell count", *Clinica Chimica Acta*, 346.1, 45-54, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.02.038>
- [8] G. Lippi, G. L. Salvagno, G. P. Solero, M. Franchini, G. C. Guidi, "Stability of blood cell counts, hematologic parameters and reticulocytes indexes on the Advia A120 hematologic analyzer", *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 146.6, 330-340, 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lab.2005.08.004>
- [9] G. Lippi, A. M. Simundic, "Laboratory networking and sample quality: a still relevant issue for patient safety", *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 50.10, 1703-1705, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0245>
- [10] D. W. Wu, Y. M. Li, F. Wang, "How long can we store blood samples: a systematic review and meta-analysis", *EBioMedicine*, 24, 277-285, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.024>
- [11] J. R. Hess, "Conventional blood banking and blood component storage regulation: opportunities for improvement", *Blood Transfusion*, 8.3, 9-15, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.2450/2010.003S>
- [12] L. Van De Watering, J. Lorinser, M. Versteegh, R. Westendorp, A. Brand, "Effects of storage time of red blood cell transfusions on the prognosis of coronary artery bypass graft patients", *Transfusion*, 46.10, 1712-1718, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2006.00958.x>
- [13] G. Scharbert, M. Kalb, C. Marschalek, S. A. Kozek-Langenecker, "The effects of test temperature and storage temperature on platelet aggregation: a whole blood in vitro study", *Anesthesia and Analgesia*, 102.4, 1280-1284, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000199399.04496.6d>
- [14] G. Zini, "Stability of complete blood count parameters with storage: toward defined specifications for different diagnostic applications", *International journal of laboratory hematology*, 36.2, 111-113, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12181>
- [15] K. R. Park, Y. C. Cho, "The abnormal rates of blood pressures and blood biochemical properties with BMI in health checkup examinees", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 11.12, 4843-4853, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2010.11.12.4843>
- [16] International Council for Standardization in Haematology, Writing Group, et al., "ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting", *International journal of laboratory hematology*, 36.6, 613-627, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12201>
- [17] N. Aita, H. Iso, K. Uchida, "Hemangioma of the ileum in a dog", *Journal of Veterinary Medical Science*, 72.8, 1071-1073, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0017>
- [18] G. Baneth, D. Zivotofsky, Y. Nachum-Biala, D. Yasur-Landau, A. M. Botero, "Mucocutaneous Leishmania tropica infection in a dog from a human cutaneous leishmaniasis focus", *Parasites & vectors*, 7.1, 1-5, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-118>
- [19] H. Sharifiyazdi, M. A. Hasiri, A. H. Amini, "Intravascular hemolysis associated with Candidatus Mycoplasma hemato-parvum in a non-splenectomized dog in the south region of Iran", *In Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 5.3, 243-246, 2014.
- [20] R. Barić Rafaj, et al, "Prospective hematological and biochemical evaluation of spontaneously overweight and obese dogs", *Veterinarski arhiv*, 86.3, 383-394, 2016.
- [21] 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", *Veterinary clinical pathology*, 38.1, 20-29, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2008.00084.x>
- [22] C. Layssol-Lamour, T. Lavabre, J. P. Braun, C. Trumel, N. Bourges-Abella, "The effects of storage at 4°C and 20°C on the hemograms of C57BL/6 mice and Wistar rats using the IDEXX ProCyte Dx and blood smear evaluations", *Veterinary clinical pathology*, 48.4, 652-667, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1111/vcp.12784>
- [23] F. Granat, A. Geffré, et al., "Feline reference intervals for the Sysmex XT-2000iV and the ProCyte DX haematology analysers in EDTA and CTAD blood specimens", *Journal of feline medicine and surgery*, 16.6, 473-482, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1177/1098612X13511811>
- [24] H. W. Tvedten, V. Andersson, I. E. Lilliehöök, "Feline differential leukocyte count with ProCyte Dx: frequency and severity of a neutrophil-lymphocyte error and how to avoid it", *Journal of veterinary internal medicine*, 31.6, 1708-1716, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.14815>
- [25] F. Goldmann, N. Bauer, A. Moritz, "Comparison of the ProCyte Dx analyzer with the ADVIA 2120 and the manual differential for validation of equine and bovine hemograms", *Comparative Clinical Pathology*, 22.5, 855-868, 2013.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s00580-012-1489-3>

- [26] Y. A. Jo, M. Kim, H. S. Kim, H. J. Kang, Y. K. Lee, "Evaluation of the mindray BC-6800 complete blood counts analyzer", *Laboratory Medicine Online*, 3.3, 131-137, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.3343/lmo.2013.3.3.131>
- [27] T. G. Uhm, B. S. Kim, I. Y. Chung, "Eosinophil development, regulation of eosinophil-specific genes, and role of eosinophils in the pathogenesis of asthma", *Allergy, asthma & immunology research*, 4.2, 68-79, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.4168/aa.2012.4.2.68>
- [28] B. L. Wood, J. Andrews, S. Miller, D. E. Sabath, "Refrigerated storage improves the stability of the complete blood cell count and automated differential", *American journal of clinical pathology*, 112.5, 687-695, 1999.
DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcp/112.5.687>
- [29] N. Obeidi, E. Safavi, H. Emami, "Evaluation of the effect of temperature and time of incubation on complete blood count (CBC) tests", *African Journal of Biotechnology*, 11.7, 1761-1763, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB11.2012>
- [30] I. Mustafa, A. Al Marwani, K. Mamdouh Nasr, N. Abdulla Kano, T. Hadwan, "Time dependent assessment of morphological changes: leukodepleted packed red blood cells stored in SAGM", *BioMed Research International*, 2016, 7 pages, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/4529434>
- [31] F. Imeri, et al., "Stability of hematological analytes depends on the hematology analyzer used: a stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100", *Clinica chimica acta*, 397.1-2, 68-71, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2008.07.018>
- [32] A. Joshi, et al., "Determining the stability of complete blood count parameters in stored blood samples using the SYSMEX XE-5000 automated haematology analyser", *International journal of laboratory hematology*, 37.5, 705-714, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12389>
- [33] M. G. Egidi, A. D'Alessandro, G. Mandarello, L. Zolla, "Troubleshooting in platelet storage temperature and new perspectives through proteomics", *Blood Transfusion*, 8.3, 73-81, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.2450/2010.0125>
- [34] K. Mittal, R. Kaur, "Platelet storage lesion: an update", *Asian journal of transfusion science*, 9.1, 1-3, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.4103/0973-6247.150933>
- [35] L. R. Oliveira, et al., "Stability of complete blood count in different storage conditions using the ABX PENTRA 60 analyzer", *International journal of laboratory hematology*, 40.3, 359-365, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12797>

조 현 우(Hyun-Woo Cho)

[정회원]



- 2016년 2월 : 부산대학교 동물생명자원과학전공 (이학박사)
- 2016년 3월 ~ 2021년 2월 : 계명대학교 의과대학 생리학교실 박사후연구원
- 2021년 4월 ~ 현재 : 국립축산과학원 동물복지연구팀 전문연구원

<관심분야>

동물복지학, 동물유전공학

서 강 민(Kangmin Seo)

[정회원]



- 2013년 2월 : 국립한경대학교 동물·낙농생명과학전공 (농학석사)
- 2019년 3월 : 일본 북해도대학교 공생기반학전공 (농학박사)
- 2019년 5월 ~ 2020년 1월 : 일본 북해도대학교 박사후연구원
- 2020년 2월 ~ 현재 : 국립축산과학원 동물복지연구팀 전문연구원

<관심분야>

가축영양생리, 동물세포생리학

천 주 란(Ju Lan Chun)

[정회원]



- 2012년 5월 : 일로노이 주립대학교 줄기세포치료 전공 (박사)
- 2014년 10월 ~ 2018년 7월 : 충남대학교 산학협력단 계약교수
- 2019년 1월 ~ 2020년 6월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 박사후연구원
- 2020년 7월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

동물복지연구, 동물대체실험

김 기 현(Ki Hyun Kim)

[정회원]



- 2013년 3월 : 일본 교토대학교 동물영양학 전공 (농학박사)
- 2013년 4월 ~ 2017년 2월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 박사후 연구원
- 2017년 2월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

〈관심분야〉

동물영양학, 사료