

# Cell Yield of Cerebrospinal Fluid Cell Count Using Cyto centrifuges

Bon-Kyung Koo<sup>1</sup>, Hyun-Seol Shim<sup>1</sup>, Jung-A Oh<sup>1</sup>, Yong-Tag Lee<sup>1</sup>, Dae-Yong Choi<sup>1</sup>, Beom-Se Lee<sup>1</sup>, Eun-Jee Kim<sup>1</sup>, Seung-Tae Lee<sup>2</sup>, and Sun-Hee Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Seoul 135-710, Korea

<sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine and Genetics, Sungkyunkwan University School of Medicine, Samsung Medical Center, Seoul 135-710, Korea

The cells are concentrated approximately 20-fold by cyto centrifugation. This study evaluated the nucleated cell number for cells recovered on slide by using Cytospin-3 (Thermo Shandon Ltd. UK) and Cytopro-7620 (Wescor Inc., USA) cyto centrifuges to hemacytometer cell count of 0~5 WBCs/ $\mu$ L of hemacytometer in the cerebrospinal fluid cell count. One hundred forty eight samples of 0~5 WBCs/ $\mu$ L on hemacytometer, were cyto centrifuged by Cytospin-3 and Cytopro-7620 instruments. The nucleated cell number for cells recovered on slide was counted after Wright stain. The nucleated cell number for cells recovered on slide was 0~40 cells in the 44 samples of 0 WBC/ $\mu$ L, and 3~95 cells in the 31 samples of 1 WBC/ $\mu$ L. It was observed that the nucleated cell number for cells recovered on slide was 13~100 cells in the 44 samples of 2 WBCs/ $\mu$ L, and more than 100 cells in the 29 samples of 3~5 WBCs/ $\mu$ L, respectively. In addition, extremely normal lymphocyte, monocyte and polymorphonuclear neutrophil were observed in the 143 samples of 0~5 WBCs/ $\mu$ L. Macrophage and eosinophil were also rarely observed. The nucleated cell number for cells recovered on slide was 20 cells, which were regarded as 1 WBC/ $\mu$ L in body fluid cell count. However, in this study, we made alterations to report nucleated cell percentage as 0% without preparing the cyto centrifuged slide at 0 WBC/ $\mu$ L by using the cell yield in a comparison between the value of 0~5 WBCs/ $\mu$ L and nucleated cell number for cells recovered on slide.

**Keywords:** Cell yield, Cerebrospinal fluid, Cell count, Cyto centrifugation

Corresponding author: Bon-Kyung Koo  
Department of Laboratory Medicine and  
Genetics, Samsung Medical Center, Seoul  
135-710, Korea.  
Tel: 82-2-3410-6191  
E-mail: bonkyung.koo@samsung.com

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

Received: January 9, 2013  
Revised: February 13, 2013  
Accepted: March 13, 2013

Copyright © 2013 Korean Society of Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

## 서 론

뇌척수액(cerebrospinal fluid, CSF) 세포검사는 세균성 및 바이러스성 수막염, 지주막하출혈, 원발성 및 전이성 종양, 탈수초 질환 등을 감별 진단하는 데 유용하며 백혈병이나 악성 림프종 환자의 경과 관찰, 치료, 재발 및 조기 발견에 정기적이고 필수적인 검사이다(McPherson과 Pincus, 2006; 대한진단검사의학회, 2009). 특히 세포원심분리기를 사용한 뇌척수액 세포검사는 백혈구(white blood cell, WBC) 수 5 WBCs/ $\mu$ L와 함께 세포원심슬라이드에서 백혈병 세포(leukemic cell; blast) 존재 유무에 따라 CNS1 (CSF WBC <5 cells/ $\mu$ L with no blasts on cyto centrifuge slide; CSF WBC <5 cells/ $\mu$ L with cyto spin negative for blasts), CNS2 (CSF WBC <5 cells/ $\mu$ L with blasts on cyto centrifuge slide;

CSF WBC <5 cells/ $\mu$ L with cyto spin positive for blasts), CNS3 (CSF WBC  $\geq$ 5 cells/ $\mu$ L with blasts on cyto centrifuge slide; CSF WBC  $\geq$ 5 cells/ $\mu$ L with cyto spin positive for blasts)로 분류하며 급성백혈병 중 특히 급성림프모구백혈병의 중추신경계(central nervous system, CNS) 침윤 여부를 진단하는 데 있어서 중요한 검사이다(Abbott 등, 2003).

뇌척수액 세포검사에는 체액산정검사(body fluid cell count), 체액세포검사(body fluid cytology with cyto centrifuge; body fluid cyto spin), 체액세포병리검사(conventional body fluid cytopathology with cyto centrifuge), 액상 체액세포병리검사(liquid-based body fluid cytopathology)가 있으며 상대가치 점수에 따라서 수가가 차등 적용되고 있다(건강보험심사평가원, 2012).

뇌척수액내의 정상 세포수는 적혈구가 0 RBC/ $\mu$ L이고, 백혈구는 신생아에서 0~30 WBCs/ $\mu$ L가 보이며 이후 감소하여 성인에 이르러 0~5 WBCs/ $\mu$ L가 된다. 성인의 정상 백혈구 백분율은 다형핵 호중구 2~6%, 림프구 40~80%, 단구 15~45%이며 신생아는 다형핵 호중구 0~8%, 림프구 5~35%, 단구 50~90%이다(Kjeldsberg와 Knight, 1993; McPherson과 Pincus, 2006; 대한진단검사의학회, 2009).

뇌척수액의 체액산정검사는 색조, 혼탁도, 산도, 세포수 계산, 감별계산으로 구성되어 있으며 24시간 응급의뢰가 가능한 일반검사료 1시간 이내에 수행되어야 한다(대한진단검사의학회, 2009). 무염색 또는 간단한 염색으로 세포수 계산에서 여러 유핵세포 중 백혈구를 산정하거나 백혈구, 종양세포 등을 포함한 유핵세포 감별 계산에서 백혈구를 산정하는 것은 검사자 간에 오차가 발생할 수 있다. 백혈구 등의 유핵세포 감별은 검사자의 지식과 경험이 중요하며 객관성과 정확성을 유지하기 위하여 세포원심분리기법을 통해 세포 농축시켜 도말한 슬라이드를 염색하여 관찰하는 것을 권고하고 있는데(Rabinovitch와 Cornbleet, 1994) 이러한 세포원심분리기법은 백혈구 수가 매우 적더라도 저속 원심분리하면서 세포를 슬라이드 한 곳으로 도말시킴으로써 세포의 형태학적 변화를 일으키지 않고 동시에 세포 분산, 세포 유실을 막아 검사의 효율성을 높일 수 있는 방법이다(Galagan 등, 2009).

본 연구의 목적은 뇌척수액의 체액산정검사서 혈구계산판으로 산정된 백혈구 수 0~5 WBCs/ $\mu$ L에 대하여 Cytospin-3 (Thermo Shandon Ltd., Cheshire, UK)와 Cytopro-7620 (Wescor Inc., Logan, USA) 세포원심분리기를 사용해 회수한 유핵세포 수를 평가하였으며 또한 세포회수율(cell yield; cellular recovery rate)을 통해 검사실 환경에 적합한 슬라이드 제작 기준

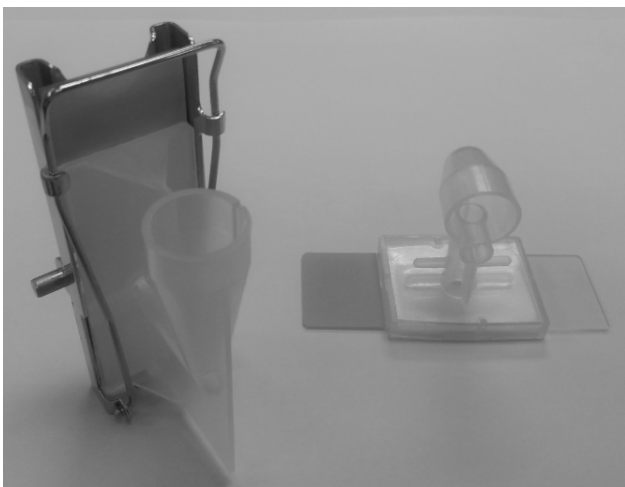


Fig. 1. Cytospin-3 sample chamber (left), Cytopro-7620 sample chamber (right).

및 재검 기준을 알아보고자 하였다.

**재료 및 방법**

**1. 대상 검체**

2012년 9월 13일부터 동년 11월 3일까지 삼성서울병원 진단검사의학과에 뇌척수액 검체로 체액산정검사를 의뢰한 환자 중에서 백혈구 수 5 WBCs/ $\mu$ L 이하인 101명을 대상으로 하였다. 검체는 병동이나 외래에서 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 용기에 담겨져 검사실로 운반되었으며 검사 전까지 실온에서 보관하였다. 검사는 수기법으로 1시간 이내 시행되었다.

**2. 세포수 계산(cell count)**

Neubauer 혈구계산판 위에 봉입 유리(20×26×0.4 mm)를 덮은 후 검량된 자동파이펫으로 뇌척수액을 20  $\mu$ L를 흡입하여 양쪽 계산판에 넣고, 세포가 가라앉을 동안 2~5분 기다린다. 혈구계산판에서 산정되는 검체의 양은 1  $\mu$ L이다. BX-41 (Olympus Corp., Tokyo, Japan) 현미경으로 200배(F.N. 22, Plan 20X) 또는 400배(F.N. 22, Plan 40X)에서 백혈구 수를 산정하였다.

**3. 감별계산(differential count)**

본관 검사실에서 사용하는 Cytospin-3 (Thermo Shandon Ltd.) 세포원심분리기의 경우 자동파이펫으로 뇌척수액 250  $\mu$ L (드

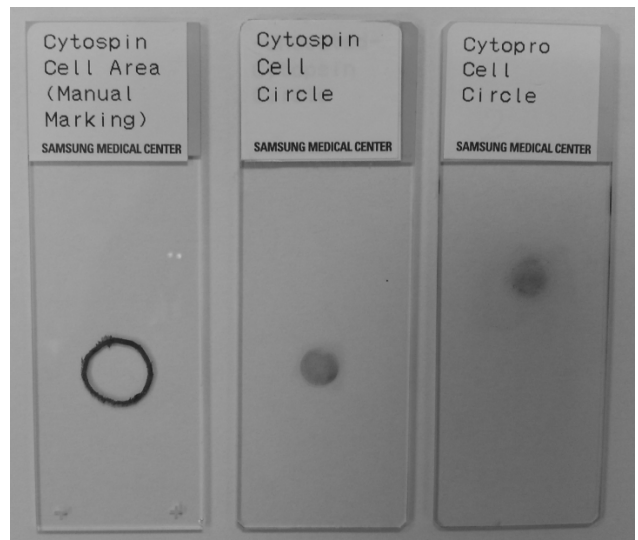


Fig. 2. Wright stained Cytospin-3 slide demonstrating a cell concentrated area (coated slide, plus charge, cerebrospinal fluid containing very few cells, left), Wright stained Cytospin-3 slide demonstrating a cell concentrated circle (uncoated slide, center), Wright stained Cytopro-7620 slide demonstrating a cell concentrated circle (uncoated slide, right).

롭퍼로 5방울 정도)를 흡입하여 슬라이드와 cytofunnel/filter card/cytoclip으로 구성된 검체 챔버(Fig. 1)에 분주하고, 그 검체 챔버를 기기내에 장착시켜서 700 rpm으로 5분간 저속 원심분리하면 세포는 6 mm의 작은 원형 안에서 수집된다(Fig. 2). 또한 암센터 검사실에서 사용하는 Cytopro-7620 (Wescor Inc.) 세포원심분리기 경우 자동파이펫으로 뇌척수액 200  $\mu$ L (드롭퍼로 4방울 정도)를 흡입하여 슬라이드와 cytofunnel/cytopad로 구성된 검체 챔버에 분주하고, 그 검체 챔버를 기기 내에 장착시켜서 700 rpm으로 5분간 저속 원심하면 세포는 7 mm의 작은 원형 안에서 수집된다.

세포원심슬라이드는 슬라이드보온기에서 건조시킨 후 Midas-3 (EMD Chemicals Inc., Gibbstown, USA) 자동염색기로 Wright 염색하였다. Wright 염색은 메탄올에서 5초 고정, Wright으로 5분 처리, 혼합액(Wright 1+인산완충생리식염수액 4)으로 8분 30초 처리, 인산완충생리식염수액으로 15초 처리, 흐르는 물에서 5초간 세정하였다. Wright 염색된 슬라이드는 슬라이드건조기에서 3분간 건조시킨 후 BX-41 (Olympus Corp.) 현미경으로 200배(F.N. 22, Plan 20X), 400배(F.N. 22, Plan 40X)에서 백혈구 감별과 이상 세포의 유무를 관찰하였다.

#### 4. 세포회수율(cell yield)

세포원심 슬라이드는 BX-41 (Olympus Corp.) 현미경으로 100배(F.N. 22, Plan 10X), 200배(F.N. 22, Plan 20X)에서 유핵세포 수를 산정하였다.

#### 5. 정도관리

세포수 정도관리는 Cell-Chex (Streck Inc., Omaha, USA) 체액세포 관리물질을 사용하여 적혈구, 백혈구, 5-분류 백혈구 감별이 수행되었고, 염색상 정도관리는 생리식염수 200  $\mu$ L와 22% 우혈청 알부민 용액 1방울을 사용하여 세균 오염에 대한 대조 슬라이드로 수행되었다.

#### 6. 통계처리

통계처리는 Microsoft Office Excel 2007 통계 소프트웨어 (Microsoft Corp., Redmond, USA) 프로그램을 사용하였다.

## 결 과

#### 1. 대상 검체의 특징

환자수는 101명으로 검체수는 148건이었다. 환자의 연령대는 0~91세이며 중간 연령은 52세이고, 남자 51명과 여자 60명이었다. 진료과는 종양내과 50명(49.5%), 신경외과 18명(17.8%), 소아

과 15명(14.8%), 신경과 13명(12.9%), 기타 5명(5.0%)이었으며 주요 질환명은 종양질환, 뇌신경질환, 감염성질환 순이었다. 1건당 검사시간은 세포수 계산 검정, 세포원심분리, 염색, 감별계산 검정 순으로 진행되며 40분정도 소요되었다.

#### 2. 세포수 계산 및 감별계산

전체 환자 101명 중에 백혈구 수 0~5 WBCs/ $\mu$ L인 99명의 143건에서는 정상적인 림프구, 단구, 다형핵 호중구가 관찰되었고 대식세포, 호산구도 드물게 보였다(Fig. 3). 급성전골수성백혈병 진단받고 치료 중인 환자 1명은 백혈구 수 4 WBCs/ $\mu$ L인 2건에서 종양세포(positive for malignant cells; suggestive of leukemic blasts)가 관찰되었으며 다른 1명은 폐암 진단받고 치료 중인 환자로 백혈구 수 2 WBCs/ $\mu$ L 1건과 4 WBCs/ $\mu$ L인 2건에서 종양세포(positive for malignant cells; suggestive of metastatic adenocarcinoma)가 관찰되었다.

#### 3. 세포회수율

본관 내원환자를 대상으로 한 Cytospin-3 (Thermo Shandon Ltd.) 세포원심분리기의 세포회수율은 백혈구 수가 0 WBC/ $\mu$ L인 22건에서 슬라이드로 회수한 유핵세포 수는 0~40 cells, 1 WBC/ $\mu$ L인 18건에서 4~95 cells, 2 WBCs/ $\mu$ L인 20건에서 16~100 cells, 3~5 WBCs/ $\mu$ L인 15건에서는 100 cells 이상을 보였으며(Table 1) 암센터 내원환자를 대상으로 한 Cytopro-7620 (Wescor Inc.) 세포원심분리기의 세포회수율은 백혈구 수가 0 WBC/ $\mu$ L인 22건에서 슬라이드로 회수한 유핵세포 수는 0~23

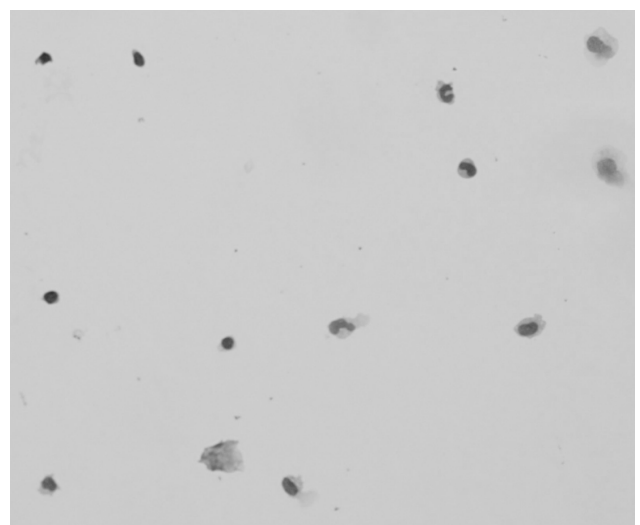


Fig. 3. Cytocentrifuge slide prepared from a cerebrospinal fluid (3 WBC cell count run for 5 min at 700 rpm,  $\geq 100$  WBC cell yield, normal lymphocytes and monocytes, Wright stain,  $\times 200$ ).

**Table 1.** Expected cell yield by Cytospin-3 cyto centrifuge

| 0~5 WBCs/ $\mu$ L on hematocytometer<br>(n=75) | Nucleated cell number for cells recovered on slide (cells) |             |              |             |
|--|--|-------------|--------------|-------------|
|  | Range  | Lower value | Median value | Upper value |
| 0 WBC/ $\mu$ L (n=22)                          | 0~40   | 0           | 7            | 40          |
| 1 WBC/ $\mu$ L (n=18)                          | 4~95   | 4           | 53           | 95          |
| 2 WBCs/ $\mu$ L (n=20)                         | 16~100   | 16          | 63           | 100         |
| 3~5 WBCs/ $\mu$ L (n=15)                       | $\geq$ 100   | $\geq$ 100  | -            | -           |

WBC, white blood cell.

**Table 2.** Expected cell yield by Cytopro-7620 cyto centrifuge

| 0~5 WBCs/ $\mu$ L on hematocytometer<br>(n=73) | Nucleated cell number for cells recovered on slide (cells) |             |              |             |
|--|--|-------------|--------------|-------------|
|  | Range  | Lower value | Median value | Upper value |
| 0 WBC/ $\mu$ L (n=22)                          | 0~23   | 0           | 1            | 36          |
| 1 WBC/ $\mu$ L (n=13)                          | 3~44   | 3           | 24           | 44          |
| 2 WBCs/ $\mu$ L (n=24)                         | 13~100   | 13          | 55           | 100         |
| 3~5 WBCs/ $\mu$ L (n=14)                       | $\geq$ 100   | $\geq$ 100  | -            | -           |

WBC, white blood cell.

**Table 3.** Mean cell yield by Cytospin-3 and Cytopro-7620 cyto centrifuge

| 0~5 WBCs/ $\mu$ L on hematocytometer<br>(n=148) | Nucleated cell number for cells recovered on slide (cells) |             |              |             |
|---|--|-------------|--------------|-------------|
|   | Range  | Lower value | Median value | Upper value |
| 0 WBC/ $\mu$ L (n=44)                           | 0~40   | 0           | 2            | 40          |
| 1 WBC/ $\mu$ L (n=31)                           | 3~95   | 3           | 32           | 95          |
| 2 WBCs/ $\mu$ L (n=44)                          | 13~100   | 13          | 58           | 100         |
| 3~5 WBCs/ $\mu$ L (n=29)                        | $\geq$ 100   | $\geq$ 100  | -            | -           |

WBC, white blood cell.

cells, 1 WBC/ $\mu$ L인 13건에서 3~44 cells, 2 WBCs/ $\mu$ L인 24건에서 13~100 cells, 3~5 WBCs/ $\mu$ L인 14건에서는 100 cells 이상을 보였다(Table 2). 결론적으로 두 가지 세포원심분리기에서 구한 평균 세포회수율(Table 3)은 백혈구 수 0 WBC/ $\mu$ L일 때 회수한 유핵 세포 수는 0~40 cells로 이는 기존 문헌과 큰 차이가 없게 나왔으며(Jones와 Combleet, 1997; Collins, 2002; CLSI 지침, 2006; McPherson과 Pincus, 2006; Strasinger와 Di Lorenzo, 2008; Galagan 등, 2009) 지극히 정상적인 세포만 관찰되었다.

## 고 찰

뇌척수액의 체액산정검사는 검체안정, 검사지체, 수기와 자동화기기의 혼용, 검사과정의 원법과 편법 가능성, 희석배수 계산, 검사자의 숙련도, 야간근무자의 신규직원 배치 등에서 업무착오나 결과오류를 범할 수 있어 세포학적 지식과 정확한 술기 습득이 중요하다.

특히 세포수 계산은 시간 경과에 따라서 세포 팽화, 세포 파열, 세

포 용해와 같은 세포 변성을 보여 세포수 성적에 영향을 미칠 수 있어 가능한 빨리 검사하여야 한다. 실온에서 1시간 지나면 적혈구 용해가 나타나고, 2시간 지나면 백혈구 용해가 나타나는데 이것은 뇌척수액의 단백질 농도가 다른 검체에 비하여 현저히 적어서 백혈구의 세포막을 보호할 수 없기 때문이다(Linne과 Ringsrud, 1992; McPherson과 Pincus, 2006; 대한진단검사의학회, 2009). Chow와 Schmidley (1984)에 의하면 정상 뇌척수액에 적혈구와 백혈구를 첨가하여 22°C와 4°C에서 시간 경과에 따른 백혈구의 변화를 보았을 때 2시간 후 22°C에서 40%, 4°C에서 15%가 용해되었고, 4시간 후 22°C에서 53%, 4°C에서 31%가 용해되어 22°C보다 4°C에 보관하였을 때 백혈구가 더 안정하다고 하였다. 이외에 Steele 등 (1986)은 뇌척수액 내 백혈구 수의 시간 경과에 따른 변화에서 1시간 후 호중구의 68%, 2시간 후 호중구의 50% 미만이 측정되었으며 림프구와 단구는 3시간까지 변화가 없어서 용해되는 대부분의 백혈구는 호중구이고 림프구가 가장 안정하다고 하였다. 국내에서도 유와 서(2007)에 의하면 시간 경과에 따른 백혈구 수의 변화는 1시간 이내 100%, 2시간 후 44.4%, 4시간 후 14.8%, 12시간 후 4.2%

만이 측정되었다고 한다.

부득이하게 세포수 계산이 지체되는 경우 뇌척수액에 22% 우혈청 알부민 용액을 1방울 첨가하여 실온에서 1시간 이내 처리하여야 하며 1시간 이상 지체된다면 뇌척수액에 22% 우혈청 알부민 용액을 2방울 첨가하여 냉장에서 2시간까지 세포 보존할 수 있으나 세포 수축되는 문제점이 있다.

세포수 계산은 네 가지 검사방법이 있는데(Linne과 Ringsrud, 1992; Kjeldsberg과 Knight, 1993; CLSI document H56-P, 2006; McPherson과 Pincus, 2006) 첫 번째 백혈구 희석 파이펫으로 백혈구 계산 희석액(Turk solution; Pappenheim solution; 2~3% new methylene blue solution; 1~2% crystal violet solution) 1.0 눈금 표시까지 채우고, 뇌척수액 11 눈금 표시까지 채워서 10/9배 희석한 혼합액을 검경하는 방법이 있으며 두 번째 자동파이펫으로 뇌척수액과 백혈구 계산 희석액을 동량 섞어서 그 혼합액을 검경하는 방법이 있다. 세 번째 자동파이펫으로 체액 15~20  $\mu\text{L}$ 를 흡입하여 희석하지 않은 원액을 검경하는 방법이 있으며 네 번째 점적기구(pasteur pipette; plain capillary tube)로 체액 일정량을 흡입하여 희석하지 않은 원액을 검경하는 방법이 있다. 미국 임상검사실 신임인증 기관인 CAP (2010)에서는 세포수 계산의 정확도를 유지하기 위하여 검량된 파이펫을 사용해서 정량 측정할 것을 권고하고 있다.

최근 Aulesa 등(2003)은 ADVIA-120 (Siemens AG, Munich, Germany), Bames 등(2004)은 LH-750 (Beckman-Coulter Incorp., Brea, USA), de Jonge 등(2006)은 XE-2100 (Sysmex Corp., Kobe, Japan) 자동혈구분석기를 사용한 정량 측정이 보고되고 있는데 뇌척수액 1  $\mu\text{L}$ 당 백혈구 수가 150 WBCs/ $\mu\text{L}$  이상 되어야 수기법과 비교하였을 때 높은 상관성을 보인다고 하였다. 자동혈구분석기 사용으로 검사의 신속성과 편리성이 보완되어 검사소요시간이 감소하는 효과도 있으나 단점으로 자동혈구분석기는 말초혈액을 측정하기 위하여 조정된 기기로서 백혈구 외에 세포 찌꺼기, 섬유소, 뇌조직 절편, 괴사물질 등의 여러 가지 성분이 기기 내부 장치에 영향을 주어 정확한 성적을 얻지 못하거나 오염, 고장의 원인이 될 수 있다. 특히 뇌척수액 세포수가 매우 낮은 경우 자동혈구분석기의 민감도가 떨어지므로 대부분의 검사실에서는 표준방법인 수기법을 이용하고 있으며 이것은 낮은 세포수를 비교적 정확하게 산정할 수 있다(Muller 등, 1997). 그 외 이 등(2007)은 UF-100 (Sysmex Corp., Kobe, Japan), Nanos와 Delanghe (2008)은 UF-1000i (Sysmex Corp., Kobe, Japan) 자동요분석기를 사용한 뇌척수액 세포수 측정이 기존 수기법과 비교해서 높은 상관성을 보였다고 하였다.

유핵세포 감별계산도 세 가지 검사방법으로 수행할 수 있다. 첫

번째 검사방법은 뇌척수액과 백혈구 계산 희석액의 동량을 시험관에 분주해서 그 혼합액을 슬라이드에 떨어뜨린 후 봉입 유리로 덮어서(wet mount) 계산하는 방법이 있는데 유핵세포를 백혈구 계산 희석액으로 구분하는 것은 바람직하지 않으며 Romanowsky 염색(Wright stain; Wright-Giemsa stain)으로 관찰할 것을 권고하고 있다(Linne과 Ringsrud, 1992; Jones와 Cornbleet, 1997). 두 번째 검체용기를 일반 원심분리기로 1,500~2,000 rpm에서 5~10분에 원심한 후 상청액을 다른 시험관에 옮기고, 남아 있는 침전물을 vortex 혼합기에 충분히 혼합하여 도말(wedge smear; crush smear; pull-push smear)한 후 공기 중에 건조시켜서 Wright 염색하여 계산하는 방법이 있는데 일반 원심분리기로 제작한 도말은 세포 유실, 핵 농축을 초래하여 부정확 계산이 될 수 있으므로 세포원심분리기를 사용할 것을 권고하고 있다(Rabinovitch와 Cornbleet, 1994). 세 번째 세포원심분리기의 검체 챔버에 뇌척수액 200~250  $\mu\text{L}$ 를 분주하고 500~1,000 rpm에 5~10분 동안 저속 원심분리하면서 세포 농축된 것을 슬라이드 한 곳으로 도말(cytocentrifuge smear; cytospin smear)한 후 건조시켜서 슬라이드를 Wright 염색하여 계산하는 방법이 있다.

세포원심분리기를 사용한 세포회수율은 검체 분주량, 분당 회전 속도, 여과지 흡수력, 직경, 세포 정착이 잘 되게 하기 위해 양성 전하를 띠는 물질(poly-L-lysine, PLL; aminosilane, AS)이 표면 처리된 슬라이드 등에 의해서 다를 수 있다(Kobayashi 등, 1992; 이와 김, 1999). 세포원심분리기의 검체 챔버에 넣을 수 있는 최대 검체 주입량은 500  $\mu\text{L}$ 이며 적정 검체 주입량은 250  $\mu\text{L}$ 이고(Grover 등, 1995; Jones와 Cornbleet, 1997), 세포원심분리기의 속도가 1,000 rpm을 넘으면 세포가 뒤틀리거나 찌그러지는 등의 세포형태가 변형될 수 있으므로 주의하여야 한다(Timerley, 2003). Jones와 Cornbleet (1997), CLSI 지침(2006), Galagan 등(2009)에 의하면 혈구계산판에 존재하는 백혈구 수 0 WBC/ $\mu\text{L}$ 인 경우라도 세포원심분리하면 약 20배 세포 농축되어 슬라이드에서 35 cells가 관찰될 수 있다고 하였으며 Collins (2002)는 0~70 cells, McPherson과 Pincus (2006)는 30~50 cells, Strasinger와 Di Lorenzo (2008)는 20~40 cells가 관찰될 수 있다고 하였다. 다른 한편 뇌척수액 세균도말에서 세포원심분리기를 사용하여 Gram 염색하면 직접 도말에 비해 세균수가 100배로 증가한다는 보고도 있다(Chapin-Robertson 등, 1992).

뇌척수액 산정검사서 백혈구 수 계산 0 WBC/ $\mu\text{L}$ 이고, 유핵세포 수 감별계산에 관찰된 수%가 입력되어 있으면 세포원심분리법에 대한 이해부족으로 관계자간 의사소통에 혼선을 줄 수도 있다. 백혈구 수가 극히 낮으면 결과보고서에서 기관에 따라 다소 차이가 있는데 백혈구 수 0 WBC/ $\mu\text{L}$ 이면서 세포원심슬라이드에 유핵

세포 수가 100 cells 미만인 경우 관찰한 백혈구 수나 유핵세포 수를 관찰한 그대로 보고하는 기관이 있고, 백혈구 수는 그대로 보고하면서 100 cells 미만인 유핵세포 수를 백분율로 환산하여 보고하는 기관이 있다. 백혈구 수 5 WBCs/ $\mu$ L 이하 또는 10 WBCs/ $\mu$ L 이하인 경우에서 감별계산을 시행하지 않고 세포수 계산 결과만 보고하는 기관도 있다.

본 연구를 통해 체액산정검사의 세포원심슬라이드에서 20 cells 가 보이면 백혈구 1 WBC/ $\mu$ L로 간주하던 것을 혈구계산판에 백혈구 수가 0 WBC/ $\mu$ L이면 세포원심슬라이드를 제작하지 않고 유핵세포 수 백분율을 0%로 보고하는 것으로 변경하였다. 단, 체액세포검사의 경우 백혈구 수는 관찰된 수를 그대로 보고하고, 100 cells 미만인 유핵세포 수도 백분율로 환산하지 않고 관찰된 수를 그대로 보고하고 있다. 이외에도 백혈구 수에 비해 Wright 염색 슬라이드에서 너무 많은 백혈구가 관찰되면 혈구계산판으로 다시 산정하거나 Wright 염색 슬라이드에서 충분한 백혈구가 관찰되지 않으면 새로운 슬라이드로 다시 제작하도록 하였다.

병리사를 위한 혈액검사학(hematological laboratory science) 서적에 체액산정검사 방법이 일부 내용만 기술되어 있어 실제 업무에 참고하기엔 부족한 면이 있다. 저자들은 세포원심분리기를 사용한 뇌척수액의 세포회수율 평가와 더불어 소개한 세포수 계산과 감별계산 검사방법들이 표준업무지침 등을 마련하는 데 도움이 될 수 있을 것이라고 생각된다.

## 참고문헌

- Abbott BL, Rubinitz JE, Tong X, Srivastava DK, Pui CH, Riberiro RC, et al. Clinical significance of central nervous system involvement at diagnosis of pediatric acute myeloid leukemia: a single institution's experience. *Leukemia*. 2003, 17:2090-2096.
- Aulesa C, Mainar I, Prieto M, Cobos N, Galimany R. Use of the Advia-120 hematology analyzer in the differential cytologic analysis of biological fluids (cerebrospinal, peritoneal, pleural, pericardial, synovial, and others). *Lab Hematol*. 2003, 9:214-224.
- Bames PW, Eby CS, Shimer G. An evaluation of the utility of performing body fluid counts on the Coulter LH-750. *Lab Hematol*. 2004, 10:127-131.
- Chapin-Robertson K, Dahlberg SE, Edberg SC. Clinical and laboratory analysis of cytopsin-prepared Gram stains for recovery and diagnosis of from sterile body fluids. *J Clin Microbiol*. 1992, 30:377-380.
- Chow G, Schmidley JW. Lysis of erythrocytes and leukocytes in traumatic lumbar punctures. *Arch Neurol*. 1984, 41:1084-1085.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Body fluid analysis for cellular composition: approved guideline. CLSI document H56-P. 2006, p6-41. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania.
- College of American Pathologists. Hematology and coagulation checklist. 2010, p85-92. College of American Pathologists, Illinois.
- Collins L. Body fluids. In: Rodak BF. Hematology. 2nd ed, 2002, p592. WB Saunders, Philadelphia.
- de Jonge R, Rrouwer R, van Rijin M, van Acker BA, Otten HJ, Lindemans J. Automated analysis of pleural fluid total and differential leukocyte counts with the Sysmex XE-2100. *Clin Chem Lab Med*. 2006, 44:1367-1371.
- Galagan KA, Blomberg D, Cornbleet PJ, Glassy EF. Color atlas of body fluids. 1st ed, 2009, p12-13. College of American Pathologists, Northfield.
- Grover ML, Blee E, Stokes BO. Effect of sample volume on cell recovery in cyto centrifugation. *Acta Cytologica*. 1995, 39:387-390.
- Jones CD, Cornbleet PJ. Wright-Giemsa cytology of body fluids: techniques for optimal cyto centrifuge slide preparation. *Lab Med*. 1997, 28:713-716.
- Kjeldsberg CR, Knight JA. Body fluids. 3rd ed, 1993, p321-323. American Society for Clinical Pathology, Chicago.
- Kobayashi TK, Ueda M, Yamaki T, Yakusiji M. Evaluation of cyto centrifuge apparatus with special reference to the cellular recovery rate. *Diagn Cytopathol*. 1992, 8:420-423.
- Linne JJ, Ringsrud KM. Basic techniques in clinical laboratory science. 3rd ed, 1992, p413. Mosby, St Louis.
- McPherson RA, Pincus MR. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 22nd ed, 2006, p426-430. WB Saunders, Philadelphia.
- Muller TH, Doscher A, Schunter F, Scott CS. Manual and automated methods for the determination of leukocyte counts at extreme low levels: comparative evaluation of the Nageotte chamber and the Abbott Cell Dyn 3500 analyzer. *Transfus Sci*. 1997, 18:505-515.
- Nanos NE, Delanghe JR. Evaluation of Sysmex UF-1000i for use in cerebrospinal fluid analysis. *Clin Chim Acta*. 2008, 392:30-33.
- Rabinovitch A, Cornbleet PJ. Body fluid microscopy in US laboratories. Data from two College of American Pathologists surveys, with practice recommendation. *Arch Pathol Lab Med*. 1994, 118:13-17.
- Steele RW, Marmer DJ, O'brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*. 1986, 23:965-966.
- Strasinger SK, Di Lorenzo MS. Urinalysis and body fluids. 5th ed, 2008, p182. FA Davis, Philadelphia.
- Timerley WR. Cerebrospinal fluid examination and direct brain preparation. In: Gray W, McKee GT. Diagnostic cytopathology. 2nd ed, 2003, p943-954. Churchill & Livingston, London.
- 건강보험심사평가원. 기준법령: 상대가치점수. <http://www.hira.or.kr/>, 2012-07-27에 최종방문.
- 대한진단검사의학회. 진단검사의학. 4판, 2009, p432. 이퍼블릭, 서울.
- 유숙원, 서인범. 새로운 혈구 수 측정법을 이용한 뇌척수액내 백혈구 수의 측정: 투명격자테이프를 이용한 방법. *대한임상병리학회지*. 2007, 27:394-399.
- 이자영, 김재현, 신정환, 김혜란, 이정녀. 뇌척수액의 세포수 측정을 위한 자동요침사분석기 UF-100의 유용성 평가. *임상병리와 정도관리*. 2007, 29:211-217.
- 이종달, 김종열. 진단세포병리학. 3판, 1999, p315-319. 대학서림, 서울.