

## SE-9000 자동 혈구계산기에서 EDTA 검체의 보관기간 및 온도가 CBC 및 백혈구 감별계산에 미치는 영향

홍 승 복<sup>1</sup> · 김 종 석<sup>2</sup> · 신 경 섭<sup>2</sup>

분당제생병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 충북대학교병원 진단검사의학과<sup>2</sup>

### The Effect of the Storage Duration and Temperature of EDTA Specimen for CBC and WBC Differential Count in SE-9000 Automated Cell Counter

Seung-Bok Hong<sup>1</sup>, Jong-Seok Kim<sup>2</sup>, and Kyeong-Seob Shin<sup>2</sup>

*Department of Laboratory Medicine, Pundang Jesaeng General Hospital, Seongnam 463-774, Korea<sup>1</sup>  
Department of Laboratory Medicine, Chungbuk National University Hospital, Cheongju 361-711, Korea<sup>2</sup>*

Although various automated CBC analyzers with different WBC analytical principles were consequently introduced to clinical laboratory, the specific information concerning the suitability or unsuitability of aging samples is scarce. For this reason, we studied the effect of storage duration and temperature on CBC parameter in SE-9000 (SYSMEX Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japan), automated CBC analyzer. We tested 32 K3-EDTA specimens with SE-9000 during 72 hours. Specimens were kept at room temperature (RT) and refrigerated and were analyzed at 0 hr, 4 hr, 8 hr, 24 hr, 48 hr and 72 hr after the collection of the specimens. The percentage changes from initial value for each parameters were calculated. Among the CBC parameters, hemoglobin, red blood cell count, mean corpuscular hemoglobin and platelets were stable for the study period at both temperatures. The mean corpuscular volume (MCV), hematocrit (Hct) and red cell distribution (RDW) increased and the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) decreased over time at room temperature. These parameters were stable when refrigerated. The leukocyte count was stable during 72hr at RT and when refrigerated. At room temperature, the relative percentages of neutrophils tend to increase, whereas those of lymphocyte and monocytes tend to decrease after 48 hours. When refrigerated, those of neutrophils and monocytes tend to increase, whereas those of lymphocytes tend to decreased over time. CBC parameters of refrigerated specimen were reliable for 72 hr for the exception of differential count from 24 hr but many CBC parameters, such as MCV, Hct, MCHC, RDW and differential count of leukocyte of blood stored at room temperature for 24 hr were unreliable.

**Key words** : CBC parameter, Storage, Room temperature, Automated cell counter

## I. 서 론

오늘날 여러 가지 원리의 자동혈구 분석기가 연속적으로 소개되고 있으며, 대부분의 검사실에서는 이들 자동혈구분석기에 쉽게 접근할 수 있어 일반혈액검사 및 백혈구 감별계산은 당일검사로 신속하게 진행되고 있다. 그러

교신저자 : 홍승복, (우)463-774 경기도 성남시 분당구 서현동 255-2, 대진의료재단 분당제생병원 진단검사의학과  
Tel : 031-779-0254  
E-mail : sbhong8646@hanmail.net

나 검체를 채취한 후 다른 검사기관으로 보내어 검사해야 하는 경우와 부득이하게 바로 검사를 할 수 없어 일정 시간 동안 보관한 후 검사를 시행해야 할 상황도 있다. 특히 후자의 경우 수혈을 받았다면 수혈 전에 채혈되어 보관한 검체의 검사결과가 매우 중요할 것이어서 검사실에서는 보관되어 있는 검체의 검사여부와 검사결과에 대한 보관기간 및 온도에 대한 영향을 임상에 알려주어야 할 것이다. EDTA 검체를 실온에서 보관하였을 때 여러 가지 CBC 계수가 영향을 받는다고 알려져 있는데 (Lawrence 등, 1975; Wood 등, 1999; Gulati 등, 2002; Edlund 등, 2004), 이 중 대표적인 예가 적혈구 평균 용적(이하 MCV)이 시간의 경과에 따라 증가하는 것과 백혈구 감별계산에서의 의미 있는 변화라 할 수 있다. 그러나 CBC 및 백혈구 감별계산의 원리에 기기간의 차이가 있으므로 보관기간에 대한 변화 양상 및 정도가 다를 수 있다(Wood 등, 1999; Gulati 등, 2002). 저자들은 지금까지 연구보고가 없었으며 현재 본 병원에서 사용하고 있는 SE-9000(SYSMEX Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japan)에서 EDTA 검체의 보관기간 및 온도가 CBC 계수에 미치는 영향과 실온에서 가장 많은 변화를 보이는 MCV가 빈혈의 감별(소구성, 정구성 및 대구성의 감별)에 미치는 정도를 평가하기 위하여 연구한 결과를 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

2006년 3월부터 4월 사이에 건강한 성인 32명을 대상으로 각각 2개의 EDTA 튜브에 채혈하여 4°C 및 실온에 각각 보관하면서 4시간, 8시간 24시간, 48시간 그리고 72

시간 후에 CBC 및 백혈구 감별계산을 측정하였다. 또한 MCV가 80 미만, 80에서 100 사이, 100 초과 환자 검체 10, 20, 12개를 실온 및 냉장 온도에 24시간 보관 후 측정하여 MCV 변화를 관찰하였다. 보관기간 및 온도의 영향은 검체 채취 2시간 이내 측정된 결과를 기준으로 삼았으며 이 결과와 차이를 비교하여 결과를 해석하였다. 위 실험은 SE-9000으로 시행하였으며 이 기종에서 혈색소, 적혈구 수, 백혈구 수, 혈소판수, 백혈구감별계산은 직접 측정하며 나머지 항목은 계산한다. 평가한 종목은 혈색소, 헤마토크릿, 적혈구 수, MCV, 평균혈색소치(이하 MCH), 평균적혈구혈색소(이하 MCHC), 적혈구 분포 범위(이하 RDW), 백혈구 수, 혈소판 수, 백혈구감별계산 등이었다.

## III. 결 과

### 1. 실온 보관

채혈 후 4시간, 8시간, 24시간, 48시간 및 72시간 동안 보관 후의 평균 CBC 변화정도(%)를 Table 1에 나타내었는데, 적혈구 수, 혈색소, MCH, 혈소판 수 및 백혈구 수에는 의미 있는 변화가 관찰되지 않았다. MCV는 시간에 비례하여 증가하였는데 채혈 24시간 후에 6.83%가 증가하였으며 72시간 후에는 22.95%까지 증가하였다. 헤마토크릿 및 MCHC는 MCV의 결과에 따라 계산되므로 MCV의 변화와 더불어 시간과 비례 또는 반비례로 변하였다. 또한 RDW는 8시간 까지는 의미 있는 변화가 관찰되지 않았으나 24시간부터 시간에 비례하여 증가하였으며 72시간 후 17.8%까지 증가하였다. 백혈구 감별계산에서 호

**Table 1.** Mean percent changes in CBC parameters induced by storage at room temperature

	Mean percent change (%)					
	0hr n=32	4hr n=32	8hr n=32	24hr n=32	48hr n=32	72hr n=28
WBC	0	-0.72	-0.48	0.25	-2.53	-5.24
RBC	0	0.33	0.26	0.50	-0.80	-1.96
Hemoglobin	0	0.22	0.22	0.24	-0.91	-1.64
Hematocrit	0	1.09	2.17	10.42	17.22	20.46
MCV	0	0.87	1.94	6.83	18.35	22.95
MCH	0	0.08	0.05	-0.13	-0.05	0.47
MCHC	0	-0.93	-1.89	-9.22	-15.50	-18.30
RDW	0	0.78	1.55	9.30	13.95	17.83
PLT	0	3.46	2.41	2.32	1.79	-0.70

**Table 2.** Mean percent changes in CBC parameters induced by storage at refrigeration temperature

	Mean percent change (%)					
	0hr n=32	4hr n=32	8hr n=32	24hr n=32	48hr n=32	72hr n=28
WBC	0	-0.45	-1.17	0.15	-0.57	-4.10
RBC	0	3.87	0.22	0.51	-0.09	-0.90
Hemoglobin	0	0.11	0.29	0.27	-0.04	-1.15
Hematocrit	0	0.11	0.02	1.18	2.34	1.80
MCV	0	-0.11	-0.09	0.72	2.34	3.07
MCH	0	-0.14	0.06	-0.74	-0.36	-0.40
MCHC	0	0.03	0.18	-0.90	-2.40	-2.80
RDW	0	0.00	0.00	-1.55	-1.60	-2.30
PLT	0	3.50	2.71	1.62	-0.06	-4.07

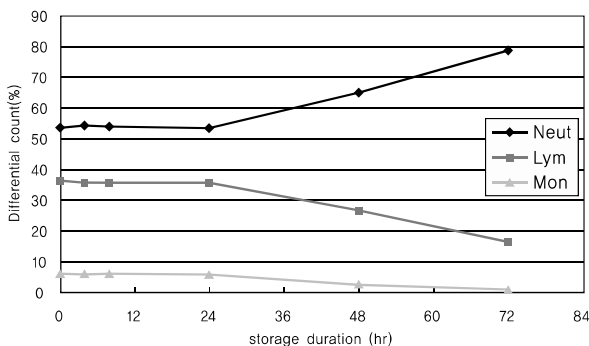
**Table 3.** Percent changes in automated differential counts of leukocytes induced storage of blood at room temperature (RT) or refrigeration temperature (FT) (n=28)

WBC	Mean percent change (%)										
	0hr	4hr		8hr		24hr		48hr		72hr	
		RT	RT	FT	RT	FT	RT	FT	RT	FT	RT
Neutrophil	0	1.1	2.8	0.7	1.8	0.2	9.4	21.2	16.6	46.4	17.1
Lymphocyte	0	-1.6	-4.0	-1.3	-4.4	-1.2	-19.7	-27.0	-31.8	-55.0	-37.6
Monocyte	0	-1.6	-0.9	-0.5	4.9	-9.8	17.5	-53.3	20.1	-78.3	47.6

중구와 림프구는 24시간 동안 의미 있는 변화가 관찰되지 않았으나 이후에는 시간에 비례 또는 반비례하여 변화하였다. 단구의 경우에 24시간 이후에 시간과 반비례하여 변화하였는데 채혈 48시간 및 72시간 후에 각각 53% 및 78%까지 감소하였다(Table 3, Fig. 1)

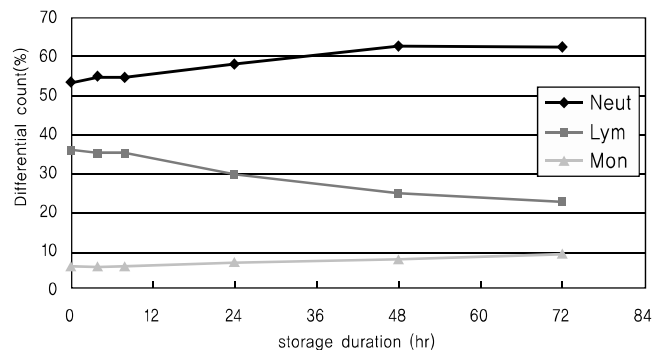
## 2. 냉장보관

채혈 후 4시간, 8시간, 24시간, 48시간 및 72시간 동안 냉



**Fig. 1.** The mean changes of leukocyte differential count for storage duration at room temperature (n=28).

장 보관 후 평균 CBC 변화정도(%)를 Table 2에 나타내었는데, 적혈구 수, 혈색소, MCH, 백혈구 수, 혈소판 수에는 의미 있는 변화가 관찰되지 않았다. MCV, 헤마토크릿, MCHC 및 RDW의 경우 약간 변화하였지만 임상적 의미는 적었다. 백혈구 감별계산에서는 8시간까지는 의미 있는 변화가 관찰되지 않았으나 24시간 이후에 시간의 경과에 따라 호중구와 단구는 증가하였으며 림프구는 감소하였다(Table 3, Fig. 2).



**Fig. 2.** The mean changes of leukocyte differential count for storage duration at refrigeration temperature (n=28).

**Table 4.** Percent changes in MCV of three different MCV group after 24hr storage at room temperature

	MCV (fl)		
	< 80 n=10	80~100 n=20	>100 n=12
Mean ± SD (fl)	73.2 ± 3.57	91.6 ± 3.66	103.3 ± 3.02
Change of Mean (fl)	7.85 ± 1.43	8.84 ± 1.20	9.98 ± 2.16
Mean percent change (%)	10.73	9.64	9.66

### 3. MCV 분포에 따른 변화 정도

MCV가 80 미만인 소구성(microcytic) 검체를 실온에서 24시간 보관한 후의 MCV는 평균 10.73% (7.75±1.43 fl)가 증가하여 MCV가 73에서 79 fl 사이의 소구성 빈혈이 정구성(normocytic) 빈혈로 분류되었다. MCV가 80에서 100 사이인 정구성 빈혈환자에서 MCV는 평균 9.64% (8.835 ± 1.199 fl)가 증가하여 MCV가 92 이상인 정구성 빈혈이 대구성(macrocytic) 빈혈로 분류되었다. 마지막으로 MCV가 100 이상인 대구성 빈혈일 경우 MCV가 평균 9.66%(9.983 ± 2.161 fl)가 증가하였다(Table 4).

## IV. 고 찰

EDTA 검체를 실온 및 냉장온도에서 72시간 동안 보관 후 측정하였을 때 다양한 CBC 결과 및 백혈구 감별계산에 의미 있는 변화를 보였다. 적혈구수, 혈색소, MCH 등은 실온 및 냉장 온도에서 72시간 동안 의미 있는 변화가 관찰되지 않아 기존의 보고들(Gulati 등, 2002; Vogelaar 등, 2002; Edlund 등, 2004; Huisman 등, 2004)과 유사한 결과를 보였다. 그러나 MCV는 냉장 보관하였을 때 72시간까지 의미 있는 변화를 보이지 않았으나, 실온보관 후 측정하였을 때 의미 있게 증가하였다(Table 1, 2). 이 결과는 적혈구가 실온에서 보관 될 때 팽창됨을 반영하는데(Gulati 등, 2002), 본 연구에서는 실온에서 24시간 보관하였을 때 6.83%가 증가하였으며 72시간 보관 후에는 22.95%까지 증가하였다. 그리고 이 결과는 Coulter Gen-S를 이용한 결과(1.5%, 24시간 후)(Gulati 등, 2002)보다 높았다. 빈혈은 MCV에 따라 소구성, 정구성 및 대구성으로 분류하고 있다. 본 연구에서 소구성(80 미만), 정구성(80~100), 대구성(100 초과) 빈혈환자의 검체를 실온에서 24시간 보관 후 측정된 MCV는 각각 10.73%, 9.64% 및 9.66% 씩 증가하여 소구성 빈혈이 정구성으로 분류될 수

있고, 정구성 빈혈이 대구성 빈혈로 분류될 수 있었다(Table 4). 따라서 실온에서 보관된 검체에서 MCV의 해석에 주의를 요한다. 자동혈구 측정기에서 헤마토크릿은 적혈구 수와 MCV를 이용하여 계산되는데 MCV가 증가하므로 헤마토크릿도 비례하여 증가할 것이다. 본 연구에서도 헤마토크릿은 MCV 변화와 비례하였다. 검사실에서 혈색소와 헤마토크릿의 관계(혈색소 × 3 = 헤마토크릿 ± 3)는 검사의 신빙성을 확인하는데 자주 이용하는데, 검체를 실온에서 보관하였을 때 위의 혈색소와 헤마토크릿의 관계가 벗어날 수 있음을 알아야 하겠다. 빈혈을 분류하는 또 다른 기준이 MCHC인데 자동화기기에서 MCHC는 혈색소를 헤마토크릿으로 나눈 값이므로 검체의 실온보관에 의해 헤마토크릿의 증가는 MCHC의 감소를 야기할 수 있을 것이다. 본 연구에서도 MCHC는 헤마토크릿에 반비례하여 감소하였으며 이는 정색소성 빈혈이 저색소성 빈혈로 분류될 수 있으므로 결과해석에 유의해야 할 것이다. 실제로 몇몇 보고(Edlund 등, 2004; Huisman 등, 2004)에서는 검체의 실온 보관 시 MCH는 변하지 않으므로 빈혈을 색소성으로 분류하고자 할 때에 MCHC보다 MCH에 따라 분류하도록 권고하였다. 검체의 실온 보관 시 MCV의 증가로 인해 RDW도 증가될 수 있음을 쉽게 추측할 수 있는데, 본 연구에서도 시간에 따라 RDW가 증가하여 24시간 후 9.3%, 72시간 후 17.8%까지 증가하였다. RDW는 적혈구의 대소부동증(anisocytosis)을 판단하는 기준으로 이용될 수 있으므로 실온에 보관된 경우에 RDW의 의미를 해석하는 데도 주의가 필요하다. 혈소판 수는 실온 및 냉장에서 72시간까지 의미 있는 변화를 보이지 않았다. 그러나 혈소판은 EDTA-blood에서 2시간 후부터 팽창하므로 시간 경과에 따라 MPV(Mean corpuscular platelet volume)는 증가할 수 있음을 짐작할 수 있다. 백혈구 수는 실온 및 냉장 보관하였을 때 72시간까지 의미 있는 변화를 보이지 않아 기존의 보고들(Gulati 등, 2002; Edlund 등, 2004)과 일치하였다. 그러나 백혈구 감별 계산의 경우 실온보관 및 냉장 보관에서 서로 다르게

## 참 고 문 헌

변화를 보였다. 즉 실온에 보관하였을 때 24시간까지 호중구, 림프구, 단구의 백분율에 의미 있는 변화가 없었으나, 48시간부터 호중구는 증가하였으며, 림프구와 단구는 의미 있게 감소하였다(Fig. 1). 그리고 냉장보관의 경우 시간의 경과에 따라 백혈구 백분율이 변화하였으며, 24시간부터는 의미 있게 변화하였다(Fig. 2). 호중구 및 단구는 시간이 경과하면서 증가되었으며 림프구만 감소하였다. 이 결과는 실온 보관하였을 때 호중구와 단구는 감소하며, 림프구가 증가된다는 Coulter-STKS(Warner 등, 1991), Coulter Gen-S(Gulati 등, 2002) 및 Cell-Dyn 3500(Wood 등, 1999)를 이용한 보고와 차이를 보였다. Coulter Gen-S(Beckman Coulter Co. Miami, USA)는 VCS의 원리(cell volume과 conductivity를 이용)로 백혈구를 감별하며 Cell-Dyn3500(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)은 laser light scattering에 의해 감별계산을 하며, 본 연구에서 사용한 SE-9000은 직류전류(direct current)와 고주파(radiofrequency)을 이용한 백혈구 감별계산 원리의 차이에 의한 것일 것으로 추정된다. 실제로 수동 감별계산에서는 시간이 지나면서 호중구의 변성에 의해 호중구는 감소하며, 림프구가 상대적으로 증가될 수 있어(자료 미제시) SE-9000은 수동 계산 및 다른 기기들과 다른 결과를 보였다. 따라서 검사실은 기기마다 검체를 보관하였을 때 백혈구 감별계산의 변화 양상에 차이가 있음을 알고 있어야 하겠다.

문헌의 조사에 의하면 아직까지 CBC 검체를 보관하였을 때 SE-9000 자동혈구분석기에서 변화양상의 보고는 없었다. 본 연구 결과 SE-9000 자동 혈구 계산기에서 EDTA 검체를 실온에 보관하였을 때 MCV, 헤마토크릿, MCHC, RDW는 다른 원리의 기기와 유사하게 의미 있는 변화를 보였다. 그러나 백혈구 감별계산은 실온 뿐 아니라 냉장 온도에서도 의미 있는 변화를 야기하며 변화 양상이 다른 기기와 차이를 보였으며, 냉장 및 실온보관의 경우에도 서로 달랐다. 결론적으로 검사실에서는 EDTA 검체를 보관할 때 기기별로 변화양상에 차이가 있음을 알고 있어야 할 뿐 아니라 적절한 검체 보관 방법 및 변화 양상을 임상에 알릴 필요가 있다.

1. Buttarello M, Bulian P, Temprin V, Rizzotti P. Sysmex SE-9000 hematology analyzer; performance evaluation on leukocyte differential counts using an NCCLS H20-A protocol. *Am J Clin Pathol* 108:674-686, 1997.
2. Edlund B, Jones I, Eriksson M, Fredlund I, Magnuson A. Effect of sample aging on patient samples kept at ambient temperature before analysis with the Abbott Cell-Dyn 4000 hematology analyzer. *Lab Hematol* 10:38-41, 2004.
3. Gulati GL, Hyland LJ, Kocker W, Schwarting R. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature. *Arch Pathol Lab Med* 126:336-342, 2002.
4. Huisman A, Stokwielder R, van Solinge WW. Mathematical correction of the in vitro storage-related increase in erythrocyte mean cell volume of an automated hematology analyzer-the Cell-Dyn 4000. *Lab Hematol* 10:68-73, 2004.
5. Lawrence AC, Bevington JM, Young M. Storage of blood and the mean corpuscular volume. *J Clin Pathol* 28:345-349, 1975.
6. Vogelaar SA, Posthuma D, Boomsma D, Kluft C. Blood sample stability at room temperature for counting red and white blood cells and platelets. *Vascul Pharmacol* 39:123-125, 2002.
7. Warner BA, Reardon DM. A field evaluation of the Coulter-STKS. *Am J Clin Pathol* 95:207-217, 1991.
8. Wood BL, Andrews J, Miller S, Sabath DE. Refrigerated storage improves the stability of the complete blood cell count and automated differential. *Am J Clin Pathol* 12:687-695, 1999.