

## 병원자료에 근거한 혈액 및 혈액화학 검사항목의 참고구간 설정

권영욱\* · 박선일<sup>1</sup>

강원대학교 수의학부대학 · 동물의학종합연구소, \*도그빌 동물병원

(게재승인 : 2009년 12월 09일)

### Reference Intervals from Hospital-Based Data for Hematologic and Serum Chemistry Values in Dogs

Young-Wook Kwon\* and Son-Il Pak<sup>1</sup>

School of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea  
\*Dogvill Animal Hospital, Gangreung, 210-933, Korea

**Abstract :** Reference interval is critical for interpreting laboratory results, monitoring response to therapy and predicting the prognosis of the patients in clinical settings. The aim of the present study was to update established reference intervals for routine hematologic and serum chemistry values for a population of clinically healthy dogs (range, 1-8 years) seen in an animal hospital. Blood was obtained by venipuncture while animals were physically restrained, and samples were analyzed for 9 chemistries on MS9-5H (Melot Schloesing Lab, France) and 6 hematology on Vet Test 8008 (IDEXX, USA). Data from 105 dogs (52 males and 53 females) for hematology and 113 dogs (37 males and 76 females) for chemistry were used to determine reference intervals using the parametric, nonparametric and bootstrap methods. Prior to analysis, all parameters were tested for normal distribution using Anderson-Darling criterion. Of the 9 biochemical analytes, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, creatinine, total protein, and glucose concentrations did not fit normal distribution for both original and transformed data. All but eosinophil count satisfied normal distribution for either original or transformed data. Parametric method can be used for original cholesterol concentrations, RBC, WBC, and neutrophil counts. This technique can also be used for power-transformed values of blood urea nitrogen concentrations and for logarithm of lymphocyte and monocyte counts. Non-parametric or bootstrap method was the preferred choice for the remaining 7 biochemical parameters and eosinophil count as they did not follow normal distributions. All three statistical techniques performed in similar reference intervals. When establishing reference intervals for clinical laboratory data, it is essential to assess the distribution of the original data to increase the accuracy of the interval, and non-parametric or bootstrap methods are of alternative for the data that do not fit normal distribution.

**Key words :** reference interval, hematology, serum chemistry, dog.

## 서 론

임상의학에서 환자의 건강상태를 평가하고 감별진단 항목을 설정하기 위하여 흔히 실험실 검사를 의뢰한다. 검사과정에서의 신뢰성과 정확성이 보장될 때 혈액학 및 혈액화학 항목과 같이 연속형 검사결과를 해석하는 첫 단계는 해당 검사항목의 기준이 되는 값과 비교하는 것이다. 이러한 기준값은 건강한 개체에서 표준화된 방법으로 얻은 측정값을 통계적인 방법으로 추정한 통계량으로(3) 연구자에 따라 정상값(normal value), 기대값(expected value), 정상범위(normal

range), 참고범위(reference range), 참고구간(reference interval) 등 다양한 용어를 혼용하여 사용하고 있다.

참고구간은 모집단의 95%를 대표하는 값으로 동물 고유의 유전적 특성, 측정 장비의 종류와 방법 등에 따라 다양하기 때문에 실험실 특이적인 속성을 갖는다(1-3,12-14,18-21). Greyhounds 중에서 PCV 증가(13), 일부 Miniature Poodle 중에서 MCV 증가(6), Cavalier King Charles Spaniels 중에서 대형혈소판과 혈소판감소증(11) 등은 동물의 유전적인 특성에 따라 정상적인 생리적 변동으로 간주된다. 일부 혈청화학 검사항목은 장비에서 채택하고 있는 방법에 따라 pH, 온도, 기질이 다르다는 점에서 참고구간은 상당한 차이를 보일 수 있다. 따라서 특정 환자의 검사결과를 정확히 해석하기 위해서는 참고구간이 유도된 장비와 동일한 장비를 사용

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : paksi@kangwon.ac.kr

하고 환자와 동일한 특성(축종, 품종, 연령, 성별)에 대한 참고구간과 비교하는 것이 가장 이상적이고(5), 가능하다면 측정 장비와 시약에 따른 변동을 고려하여 실험실별로 고유한 참고구간을 설정할 필요가 있음을 시사한다(22). 이러한 목적을 달성하기 위해서는 전문적인 요인 이외에도 지리적 특성(기후, 환경), 식이, 운동, 기타 생리적인 조건, 시료채취 및 처리방법 등에 따라 다양한 참고구간이 필요하지만(2,4,17) 수의학 분야에서 이러한 요인들을 모두 고려하여 참고구간을 설정하기 위해서는 모집단이 매우 커야하는 현실적인 어려운 문제가 있다(4-6,10,18).

국내 동물병원에서도 혈액검사, 혈액화학검사, 전해질검사 등 다양한 검사장비가 많이 보급되어 있는 반면 적어도 참고구간에 대해서는 제조회사에서 권고하는 수치를 그대로 사용하는 경향이 많다. 모집단의 노령화 등 임상환경의 변화를 고려하여 참고구간 주기적으로 재평가하는 것은 임상에게 매우 중요한 문제임에도 이에 대한 인식수준은 낮은 것으로 추정된다. 본 연구에서는 동물병원에 축적된 건강한 개의 검사자료에 근거하여 혈액학 및 혈액화학 검사항목에 대한 참고구간을 통계적인 방법으로 설정하고 임상적 활용 가능성을 모색함으로써 참고구간 재설정 중요성을 제시하고자 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 공시 동물

2007년 5월에서 2008년 10월까지 강릉시 소재 1개 동물병원에 건강검진, 중성화수술 등으로 내원한 임상적으로 건강한 개를 대상으로 하였다. 이들 중 소화기, 호흡기, 순환기, 근골격 계통에 질병이 의심되는 경우, 최근 3개월 이내에 약물 치료력(보조영양제, 항생제, 스테로이드 포함)이 있거나, 임신, 심한 운동 또는 훈련으로 인한 스트레스 유발소인이 있는 경우, 채혈 전 음식을 섭취한 개는 제외하였다. 분석에 사용된 개체의 성별, 체중별 분포는 Table 1과 같다.

### 채혈 및 실험실검사

공시동물을 물리적으로 보정한 후 경정맥에서 Li-Heparin 튜브(IDEXX, USA)를 사용하여 채혈하여 원심분리기(Qualitron, Korea)로 혈장을 분리한 후 1시간 이내에 혈액화학분석장비(Vet Test 8008, IDEXX, USA)로 분석하였다. 혈액화학 검사항목은 alkaline phosphatase (ALP, U/L), alanine aminotransferase (ALT, U/L), aspartate aminotransferase (AST, U/L), blood urea nitrogen (BUN, mg/dl), creatinine (mg/dl), total protein (g/dl), glucose (mg/dl), cholesterol (mg/dl), total bilirubin (mg/dl) 등 9개 항목이다. 혈액학적 검사는 K3-EDTA 튜브에 채혈하여 20분간 교반 후 혈구분석장비(MS9-5H/Melot Schloesing Lab, France)를 사용하여 RBC (red blood cell,  $10^6/\mu\text{l}$ ), WBC (white blood cell,  $10^3/\mu\text{l}$ ), lymphocyte ( $10^3/\mu\text{l}$ ), monocyte ( $10^3/\mu\text{l}$ ), neutrophil ( $10^3/\mu\text{l}$ ), eosinophil ( $10^3/\mu\text{l}$ ) 등 6개 항목을 측정하였다.

**Table 1.** Demographic characteristics of the dogs

	Serum chemistry (n = 113)	Hematology (n = 105)
<b>Sex</b>		
Male	35	37
Castrated	2	15
Female	67	44
Spayed	9	9
<b>Weight (kg)</b>		
<5	62	63
5-10	45	29
10-15	5	9
15-20	3	4

### 통계분석

원시자료가 정규분포를 따르는 항목에 대한 참고구간은 평균과 표준편차를 사용하여 95% 신뢰구간으로 추정하였다(10). 정규분포를 따르지 않는 자료는 정규성(normality)을 충족시키기 위하여 자료변환을 시도하고 변환된 자료가 정규성을 충족하면 이 자료에 대하여 모수적인 방법으로 참고구간을 설정하였다(7,8,16). 비모수적인 방법으로는 percentile법과 Bootstrap법을 사용하였다(18,22). 척변환은 Box-Cox 변환함수를 사용하여 원시자료를 정규분포로 변환하고 변환된 자료에 대하여 모수적인 방법으로 참고구간을 설정하였다. 자료의 정규성 검토는 Anderson-Darling 검정통계량을 사용하여 유의확률이 0.05보다 클 때 만족하는 것으로 판단하였다. 본 연구에서 참고구간은 CBstat (Version 5.1, Wex tech system, USA) 패키지를 사용하여 추정하였다.

## 결 과

### 혈액화학 검사항목별 정규성 검토와 참고구간

ALP, ALT, AST, creatinine, total protein, glucose는 원시자료와 변환자료 모두 정규성을 만족하지 않았다(Table 2). Cholesterol 농도는 유일하게 원시자료가 정규성을 만족하였으며, BUN 농도는 척변환에서 정규성을 만족하였다. 이러한 결과는 혈액화학 검사 9개 항목 중 cholesterol 농도는 원시자료에 대하여 모수적 방법, BUN은 척변환 자료에 대한 모수적 방법을 사용할 수 있으며 기타 7개 항목은 모수적 방법은 적절하지 않음을 의미한다. 정규성 검토 결과에 따라 혈액화학 분석 항목에 대한 참고구간을 추정하면 Table 3과 같고, 방법에 따른 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

### 혈액학적 검사항목별 정규성 검토와 참고구간

RBC, WBC, neutrophil 수치는 원시자료가 정규성을 만족하였고 lymphocyte와 monocyte 수치는 대수변환 자료에서 정규성을 만족하였으나 eosinophil 수치는 모든 변환에서 정규성을 만족하지 않아 비모수분석이 적합한 것으로 나타났다(Table 4). 이러한 결과는 혈액학적 검사 6개 항목 중

**Table 2.** Summary of normality testing for serum chemistry analytes

	Untransformed	Transformed	
		Log	Power
Normality ( $p > 0.05$ )	Cholesterol	Cholesterol	Cholesterol, BUN
Non-normality ( $p < 0.05$ )	ALP, ALP, AST	ALP, ALT, AST	ALP, ALT, AST, creatinine total protein, glucose
	BUN, creatinine, total protein glucose, bilirubin	BUN, creatinine, total protein glucose, bilirubin	

BUN = blood urea nitrogen, AST = aspartate aminotransferase, ALT = alanine aminotransferase, ALP = alkaline phosphatase, bilirubin = total bilirubin.

**Table 3.** Reference intervals estimated by parametric, non-parametric and bootstrap methods for serum chemistry analytes

Analyte	Parametric			Non-parametric	Bootstrap
	Untransformed	Log	Power		
ALP(U/L)			35-202	35-197	
ALT(U/L)			10-132	10-130	
AST(U/L)			4-94	5-88	
BUN(mg/dl)		7-32	6-32	7-33	
Bilirubin(mg/dl)			0.1-0.5	0.1-0.5	
Cholesterol(mg/dl)	102-298	117-320	113-307	114-304	116-300
Creatinine(mg/dl)			0.4-1.5	0.5-1.4	
Glucose(mg/dl)			57-158	58-154	
Total protein(g/dl)			5.7-8.0	5.6-8.4	

Refer to Table 2 for abbreviations.

**Table 4.** Summary of normality testing for hematological analytes

	Untransformed	Transformed	
		Log	Power
Normality ( $p > 0.05$ )	RBC, WBC, neutrophil	RBC, lymphocyte	RBC, lymphocyte, neutrophil
Non-normality ( $p < 0.05$ )	Eosinophil, monocyte, lymphocyte	WBC, neutrophil, monocyte	WBC, monocyte

**Table 5.** Reference intervals estimated by parametric, non-parametric and bootstrap methods for hematological analytes

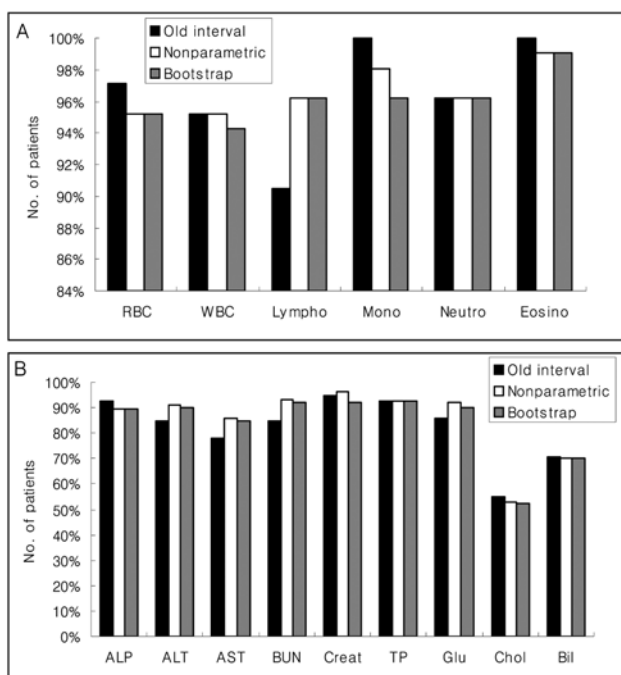
Analyte	Parametric			Non-parametric	Bootstrap
	Untransformed	Log	Power		
RBC( $10^6$ /ul)	5.5 - 8.2	5.6 - 8.4	5.6 - 8.3	5.5 - 8.4	5.5 - 8.3
WBC( $10^3$ /ul)	6.4 - 17.2			6.0 - 17.8	6.1 - 17.6
Neutrophil( $10^3$ /ul)	2.9 - 11.3		3.3 - 11.6	3.0 - 11.8	3.1 - 11.7
Eosinophil( $10^3$ /ul)				0.0 - 0.2	0.0 - 0.3
Monocyte( $10^3$ /ul)				0.5 - 1.7	0.5 - 1.6
Lymphocyte( $10^3$ /ul)		2.0 - 5.9	2.0 - 5.9	2.0 - 6.0	2.0 - 6.0

RBC, WBC, neutrophil 수치는 원시자료에 대한 모수적 방법, lymphocyte와 monocyte 수치는 대수변환 자료에 대한 모수적 방법, eosinophil 수치는 모수적인 방법이 적절하지 않음을 의미한다. 정규성 검토 결과에 따라 혈액학적 분석 항목에 대한 참고구간을 추정하면 Table 5와 같고, 방법에 따른 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

#### 참고구간별 정상개체 분류율

현재 병원에서 사용하고 있는 참고구간과 bootstrap법을 포

함한 비모수적 방법으로 설정한 참고구간을 연구 대상 개체에 적용하여 참고구간 내에 속하는 개체의 비율차이(% difference)를 분석한 결과는 Fig 1과 같다. 혈액화학 항목의 경우 lymphocyte 6%, monocyte 2-4%, 기타 항목 1-2%의 차이를 보였으며 neutrophil 수치에는 차이가 없었다(Fig 1A). 혈액화학 검사항목에서는 AST와 BUN 7-8%, ALT와 glucose 4-6%, ALP와 creatinine 1-4%, cholesterol과 total bilirubin 농도는 1-3%의 차이를 보였으며 total protein 농도는 차이가 없었다(Fig 1B).



**Fig 1.** Comparison of classification of dogs established by three reference intervals for hematologic (A) and serum chemical values (B). Creat = creatinine, TP = total protein, Glu = glucose, Chol = cholesterol, Bil = total bilirubin. Refer to Table 2 for other abbreviations.

## 고찰

실험실 검사는 질병을 배제하거나 고려하는 경우, 예후평가, 치료반응 모니터링 등 다양한 진단과정의 일부로 수행된다(10). 목적이 무엇이든 검사결과를 해석하고 환자의 상태를 평가하기 위하여 대부분의 임상가는 참고구간을 강력한 도구로 사용하고 있지만 이 구간이 갖는 의미와 설정방법, 적용상의 문제점 등 구간설정의 필요성과 그 중요성은 간과하고 있다. 참고구간은 이론적으로 건강한 개체로부터 유도되지만 이를 완벽하게 증명하는 것이 어렵기 때문에 적어도 현성의 질병상태가 아닌 개체를 대상으로 하므로 이들 모집단에 대한 특성이 명확히 규정될 때 참고구간으로서 가치를 지닌다. 따라서 진단기술이 향상됨에 따라 분석의 민감도와 특이도가 증가하거나 모집단의 특성이 이르면 노령화로 변화되는 상황에서는 참고구간을 재설정할 필요가 있다(10,14,15,22). 수의학 분야에서는 모든 요인에 대한 참고구간을 설정해야 하는 어려움이 있을 뿐만 아니라 일부 장비에서 제시하는 노령견에 대한 참고구간이 개별 임상가가 소속된 지역사회의 모든 임상환경을 반영한다고 볼 수 없다는 점에서 가장 현실적인 대안은 임상가가 소속된 지역사회의 특성을 반영하는 참고구간을 스스로 결정하는 것이다. 즉 건강한 개체에 대한 실험실 검사소견이 축적되고 이러한 자료에 근거하여 참고구간을 설정한다면 이 값은 장기적으로 변화하고 있는 모집단의 일부 특성을 반영하는 것으로 볼 수 있는 것이다.

본 연구에서는 혈액 및 혈액화학 검사항목에 대하여 제조회사가 권고하는 참고구간을 병원에서 수집한 정상견의 검사자료에 근거하여 새로 설정한 참고구간과 비교함으로써 구간 재설정의 필요성을 검토하였다. 기존의 참고구간과 새로 설정한 참고구간을 연구대상 개에 적용하여 참고구간 이내로 분류되는 개체의 비율 차이는 AST, BUN, ALT, glucose, lymphocyte, monocyte 항목에서 상대적으로 큰 차이를 보여 이들 항목에 대해서는 참고구간을 재평가할 필요가 있는 것으로 분석되었다(Fig 1). 참고구간에 따른 비율차이가 크다는 것은 어떠한 참고구간을 사용하는지에 따라 환자의 분류결과가 달라지고 특히 집중치료를 요하는 환자에 대해서는 치료전략 선택과 예후판정에 심각한 영향을 미칠 수 있기 때문에 참고구간 설정이 매우 중요하다는 것을 시사한다. 본 연구에서는 특정 장비의 참고구간에 대한 재평가를 시도한 것이므로 이러한 차이를 일반화시킬 수는 없지만 다양한 분석 장비에 대해서도 동일한 방법으로 참고구간을 재설정하는 방안을 검토할 필요가 있을 것으로 사료된다.

참고구간을 설정하는데 적용할 수 있는 통계적 접근방법은 매우 많고(5,7-10,12,14,16,18) IFCC (International Federation of Clinical Chemists)와 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)에서는 국제적인 가이드라인을 제시하고 있다. 일반적으로 표본크기가 적으면 구간이 매우 넓어져 실용성이 제한되지만 표본크기가 60(모수적 방법) 혹은 120(비모수적 방법) 이상이 되면 비교적 좁은 구간의 적절한 구간을 추정할 수 있다(10). 특히 정규분포를 따르지 않는 자료는 평균, 중위수 및 최빈수가 모두 다르기 때문에 참고구간을 설정하기 위해 두가지 방법을 사용할 수 있다. 자료의 정규성을 만족하기 위하여 대수, 제곱근, 멱 변환을 시도하여 변환된 자료가 정규분포를 충족하면 변환된 자료에 대하여 모수적인 방법을 사용하며, 변환된 자료가 여전히 정규성을 만족하지 않으면 비모수적인 percentile법을 사용한다(18). 이 방법은 원시자료를 크기순으로 정렬한 후 97.5 퍼센타일에 해당하는 값과 2.5 퍼센타일에 해당하는 값을 참고구간의 상한값과 하한값으로 사용하는 방법이다. Bootstrap법은 원시자료에서 크기가 n인 표본을 선발하여 퍼센타일의 상, 하한 값을 추정 후 이 값을 저장하고, 복원추출법으로 다시 동일한 크기의 표본을 선발하여 퍼센타일을 추정하는 과정을 반복적으로 시행한다. 반복이 종료되는 시점에서 상, 하한 퍼센타일의 평균 분포로부터 90% 신뢰구간을 추정하는 비모수적인 방법이다. 이 방법은 표본크기를 약 10% 정도 절감하면서 추정치의 정밀도를 향상시키는 것으로 알려져 있으며 표본크기가 적어도 100개 이상일 때 추천된다(9).

참고구간을 벗어난 경우 두 가지 측면에서 해석할 수 있다. 첫째는 통계적 혹은 생물학적 변동에 의해 실제로 건강한 개체로 판단하는 것이다. 즉 참고구간을 설정하는 원리에 의해 20회중 1회는 참고구간을 벗어날 수 있으며 우연히 이 환자가 상, 하위 5%에 해당한 경우일 가능성이 있는 것이다. 그 이유는 생물학적 현상을 평가하는 많은 검사항목은 변동의 폭에 정도의 차이는 있지만 일간 변동에 영향을 받을 수

있고 음식물 섭취여부, 스트레스 등 다양한 요인에 의해 검사결과가 영향을 받을 수 있기 때문이다. 두 번째 해석은 이상이 있는 개체로 판단하는 것으로 이 때 주의할 것은 참고구간에서 약간 벗어나는 경우 임상적으로 중요하지 않을 수도 있다는 점이다. 즉 임상적으로 건강한 개체라도 검사항목에 따라 참고구간에서 약간의 증가나 감소를 보일 수 있기 때문이다.

본 연구에서는 1-8세의 체중 20 kg 이내의 개체만을 선별하여 분석하였으나 향후 다양한 연령, 품종, 사육환경 등을 포함하는 대규모 자료에 대하여 참고구간을 설정하고 장기적으로 재평가하는 연구가 필요할 것으로 사료된다. 참고구간은 검사결과를 직접적으로 해석하는 기준이 되기 때문에 임상적 의사결정 과정에서 매우 강력한 도구임은 분명하지만 적어도 건강한 개체를 이상이 있다고 판단하거나 이상이 있는 개체를 건강하다고 잘못 분류하는 위험이 최소화되도록 세심한 관심이 요구된다.

### 감사의 글

본 연구는 강원대학교 동물의학종합연구소의 지원으로 수행되어 이에 감사드립니다.

### 참고 문헌

- Brun-Hansen HC, Kampen AH, Lund A. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Vet Clin Pathol* 2006; 35: 182-187.
- Cerioti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem* 2009; 46: 8-17.
- Chan MK, Seiden-Long I, Aytekin M, Quinn F, Ravalico T, Ambruster D, Adeli K. Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Interval Database (CALIPER): pediatric reference intervals for an integrated clinical chemistry and immunoassay analyzer, Abbott ARCHITECT ci8200. *Clin Biochem* 2009; 42: 885-891.
- Concordet D, Geffré A, Braun JP, Trumel C. A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data. *Clin Chim Acta* 2009; 405: 43-48.
- Hansen AM, Garde AH, Eller NH. Estimation of individual reference intervals in small sample sizes. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210: 471-478.
- Kaneco JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. New York: Academic press. 1997: 1-20.
- Linnet K. Two-stage transformation systems for normalization of reference distributions evaluated. *Clin Chem* 1987; 33: 381-386.
- Linnet K. Testing normality of transformed data. *Appl Statist* 1988; 37: 180-186.
- Linnet K. Estimation of the limit of detection with a bootstrap-derived standard error by a partly non-parametric approach. Application to HPLC drug assays. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 394-399.
- Lumsden JH. Normal or reference values: questions and comments. *Vet Clin Pathol* 1998; 27: 102-106.
- Michael DW, Harold T. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 4th ed. New York: Saunders. 2004: 96-97.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. Approved guidelines NCCLS document C28-A, NCCLS. Villanova. 1995.
- Nelson RW, Couto CG. *Small animal internal medicine*. 2nd ed. New York: Mosby. 2003: 1160-1173.
- Petitclerc C, Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 639-644.
- Petitclerc C. Normality: the unreachable star? *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 698-701.
- Reed AH, Wu GT. Evaluation of a transformation method for estimation of normal range. *Clin Chem* 1974; 20: 576-581.
- Ruan C, Wu Y, Okada T, Motoi S, Kondo T, Jiang M, Xin X, Peng L, Ichihara K, Ikeda Y. Studies on reference intervals for platelet counts in three cities in China and one in Japan. *Thromb Haemost* 2002; 88: 111-114.
- Solberg HE. Approved recommendations (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 656-656.
- Solberg HE, Gräsbeck R. Reference values. *Adv Clin Chem* 1989; 27: 1-79.
- Solberg HE. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 710-714.
- Thienpont LM, Van Uytvanghe K, De Leenheer AP. Reference measurement systems in clinical chemistry. *Clin Chim Acta* 2002; 323: 73-87.
- Trowbridge EA, Reardon DM, Bradey L, Hutchinson D, Warren CW. Automated haematology: construction of univariate reference ranges for blood cell count and size. *Med Lab Sci* 1989; 46: 23-32.