

새로운 혈구 수 측정법을 이용한 뇌척수액내 백혈구 수의 측정: 투명격자테이프를 이용한 방법

유숙원 · 서인범

강원대학교 의과대학 진단검사의학교실

New Leukocyte Counting Method of Cerebrospinal Fluid: Using Transparent Ruler Tape

Sook Won Ryu, M.D. and In Bum Suh, M.D.

Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

Background : To enumerate leukocyte count in cerebrospinal fluid (CSF) is important for diagnosing bacterial meningitis. Using automated hematology analyzer for enumeration of leukocyte in CSF is below the sensitivity, so microscopic hemocytometric method is standard method. But this requires sufficient practical experience and has limitation of accuracy and stability. So we developed new manual method and evaluated it.

Methods : We designed new method using transparent ruler tape. We performed correlation, accuracy and precision test by counting leukocyte in diluted EDTA blood with three methods: new method, Neubauer and Nageotte hemocytometry. Twenty two CSF were used for stability test, which determines leukocyte count according to time (within one hour and after 2, 4 and 12 hr), by new method and Neubauer hemocytometry at room temperature.

Results : There was no clinical significant difference between three methods in correlation test, whereas Neubauer and Nageotte hemocytometry showed a bias to underestimation relative to the results obtained with new method in case with low leukocyte count. The new method showed the lowest CV and most accurate result. In stability test, leukocyte counts decreased being 44.4%, 72.1% of initial values after 2 hr, 14.8%, 31.1%, after 4 hr and 4.2%, 8.7%, after 12 hr, by Nageotte hemocytometry and new method, respectively.

Conclusions : The new method we devised is simple, easy and applicable to use in a laboratory and offers advantages of improved precision and stability. It may be sufficient for replacing standard methods for leukocyte counting in CSF. (*Korean J Lab Med* 2007;27:394-9)

Key Words : CSF, Leukocyte count, Transparent ruler tape, New manual method

서론

접 수 : 2007년 7월 24일 접수번호 : KJLM2056
수정본접수 : 2007년 10월 23일
게재승인일 : 2007년 10월 23일
교신저자 : 서인범
우 200-722 강원도 춘천시 효자3동 17-1
강원대학교병원 진단검사의학과
전화 : 033-258-2446, Fax : 033-242-1329
E-mail : bloodmd@kangwon.ac.kr

*본 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2003-003-E00203).

뇌척수액내 백혈구 수의 측정은 세균성수막염의 진단에 필수적인 검사이며 이의 측정은 낮은 혈구 수를 비교적 정확하게 측정할 수 있는 수동혈구측정기를 이용한 수기법이 표준방법으로 되어 있다[1, 2]. 그러나 수기법에도 제한점은 있어 측정자의 숙련도 등에 따라 오차가 발생하여 검사자에 따른 측정값의 차이가 크며, 적혈구 용혈이나 혈구 응집 및 백혈구 변형에 의하여 세포가 오인될 수 있고 시간의 경과에 따라 세포의 모양이 변형되어 측정

백혈구 수는 급격히 감소하므로 즉시 검사해야 정확한 값을 알 수 있다[3-5]. 특히 뇌척수액내의 백혈구 수의 측정은 야간에 응급 검사실에서 시행되는 경우도 많은데, 미숙한 야간 당직 검사자에 의해 시행되는 경우, 결과가 틀리더라도 재검이 불가능하였다. 최근 저농도의 백혈구 측정방법으로 자동혈구분석기, 유세포분석기, PCR, microfluorometry 등을 이용한 정량방법이 소개되고 있으나 자동혈구분석기를 이용한 방법은 혈구 수가 낮은 경우 여전히 정확하지 않으며, PCR, microfluorometry법은 검사과정이 복잡하고, 많은 시간이 소요되어 응급검사실에서 이용은 어렵다[6-12]. 본 연구에서는 기존의 표준방법인 수동혈구측정기를 이용한 수기법의 단점을 보완한 새로운 저농도의 백혈구 수 측정 수기법을 고안하였고, 표준법과 비교 분석하여 검증하고, 시간의 경과에 따른 뇌척수액내의 백혈구 수를 측정하여 그 변화를 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 검체

새로운 방법의 검증을 위하여 본원 진단검사의학과에 의뢰된 건강 검진 환자의 EDTA 혈액을 생리식염수로 배수 희석하여 이용하였다. 안정성 실험을 위하여는 뇌척수액 검사가 의뢰된 환자 검체 중, 표준법으로 측정된 초기검사에서 백혈구 수가 $3\text{개}/\mu\text{L}$ 이상인 환자의 뇌척수액 22개를 대상으로 하였다. 환자는 남자 12명(54.5%), 여자는 10명(45.5%)이었으며, 22명 모두 뇌척수액 검사의 적응이 되는 세균성수막염이 의심되는 환자였고, 소아과 14명, 내과 5명, 신경과 3명이었다.

2. 측정 방법 및 평가

1) 새로운 백혈구 수 측정 방법의 개발

Nageotte 혈구계산판과 Neubauer 혈구계산판을 이용한 백혈구 수 측정은 기존의 방법대로 시행하였으며[7, 10], 새로 고안된 백혈구 수 측정법은 다음과 같이 시행하였다. 일정한 양의 검체를 정도 관리된 마이크로피펫을 이용하여 슬라이드 위에 떨어뜨린 후 건조하여, 광학 현미경 하에서 세포의 관찰이 용이하도록 Wright Giemsa 염색 또는 hematoxylin-eosin 염색을 하였다. 검체의 양

은 1, 2, 5 및 $10\ \mu\text{L}$ 사이에서 검사자가 편리하게 점적하였고 이를 배수에 반영하였다. 등간격으로 확대되어 있는 세포 수 측정용 투명격자테이프를 붙인 후, 광학 현미경 하에서 계수하여 백혈구 수를 측정하였다. 투명격자테이프는 시중에서 사용하는 OHP film을 가지고 MR Maker(S) V2.0프로그램을 이용하여 제작하여(프로그램저작권, 2004-01-159-004432, 3) 레이저프린터 또는 칼을 이용하여 확대하였다. 확대된 OHP 필름을 슬라이드에 고정하였다. 테이프의 제작은 현미경의 확대배율에 따라 40배율, 100배율, 200배율 및 400배율로 구분되는데 40배율의 경우 40배 확대 현미경에서 관찰 시 한 시야의 지름은 5 mm이므로 격자 간 간격은 2.5 mm로 제작함으로써 격자의 두개의 선이 한 시야에서 관찰이 가능하도록 한다. 이와 같이 각 격자 간의 간격은 100배율 1 mm, 200배율 0.5 mm, 400배율은 0.25 mm이므로 각각 격자 간의 간격의 50%인 0.5 mm, 0.25 mm, 0.125 mm 이하로 제작하는 것이 바람직하다(실용신안등록, 20-2002-0021424)(Fig. 1-3).

2) 정밀도 및 상관성

건강 검진 환자의 전혈을 자동혈구분석기인 Cell Dyn 4000 (Abbott Diagnostics, Santa Clara, CA, USA)로 백혈구 수를 측정하였고 백혈구 수의 기대값이 $500\text{개}/\mu\text{L}$ 이하가 되게 희석한 후의 검체부터 배수 희석하여 5개의 검체를 만들었다. 이를 각각 자동혈구분석기로 3번씩 측정하여 평균값을 기대값으로 정하였다. 희석한 검체를 다시 30개로 분주하여 새로운 백혈구 수 측정법, Neubauer 및 Nageotte 혈구계산판을 이용하여 각 방법 당 10회씩 측정하였다. 검사자는 전문의 1명과 이 업무를 담당하는 병리사 2명과 신규 병리사 2명 총 5명이 각각 2회씩 측정하였다. 측정된 백혈구 수의 평균값과 기대값을 비교하였고, 정밀도, 정확도 및 상관성을 분석하였다. 정확도는 기대값의 20%내의 범위내에 측정값의 80% 이상이 들어갈 때 만족하는 것으로 하였다[13].

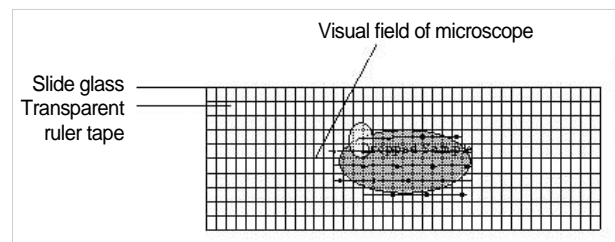


Fig. 2. Schematic figure of new counting method. The arrow indicates direction in microscopic examination.

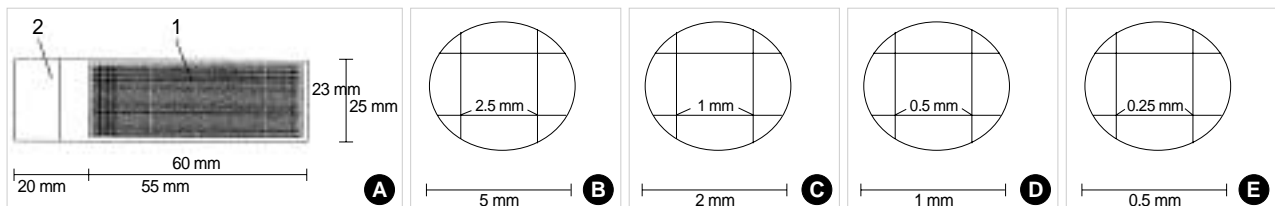


Fig. 1. Slide with transparent ruler tape for cell count (A), visual fields of microscope $\times 40$ (B), $\times 100$ (C), $\times 200$ (D), $\times 400$ (E).

3) 안정성: 시간에 따른 뇌척수액내 백혈구 수의 변화

총 22개의 뇌척수액에 대하여 검사실 도착 후 1시간 이내, 2시간, 4시간, 12시간 후의 백혈구 수를 측정하였다. 초기 백혈구 수 측정은 통상 검사실에서 시행하는 Neubauer 혈구계산판으로 시행하였고 이후 검체 당 각각 4개씩 만들어 새로운 백혈구 수 측정법과 Nageotte 혈구계산판을 이용하여 각각 2회씩 측정하였다. 검사는

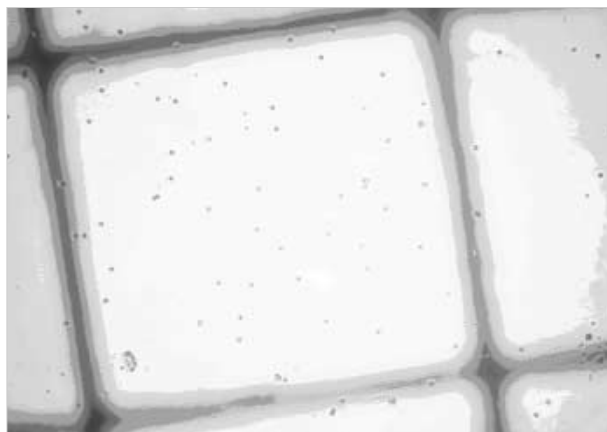
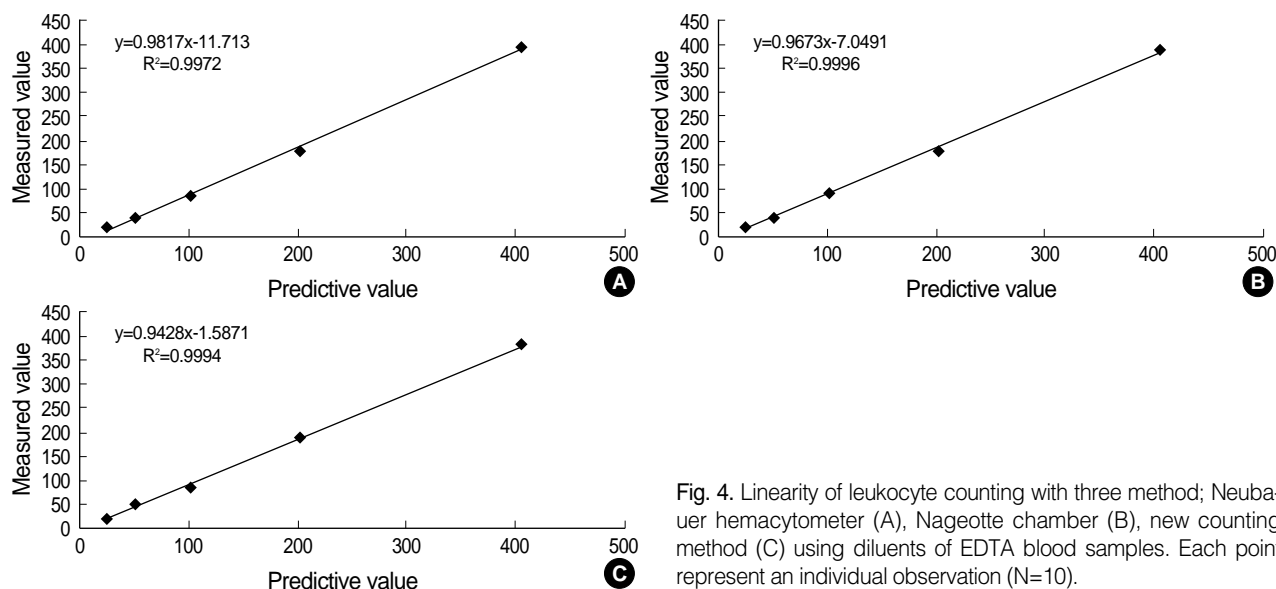


Fig. 3. Microscopic finding of CSF slide with transparent ruler tape ($\times 100$).

Table 1. Comparison of methods for white blood cell enumeration applied on Neubauer hemocytometer, Nageotte chamber counting and New method by using a different amounts of diluents of EDTA blood

Expected	Neubauer hemocytometer			Nageotte chamber			New method		
	Mean \pm SD	CV	Accuracy	Mean \pm SD	CV	Accuracy	Mean \pm SD	CV	Accuracy
407	395.2 \pm 22.2	5.6	100	390.0 \pm 18.7	4.8	100	388.2 \pm 17.7	4.6	100
203	188.0 \pm 14.6	7.8	100	185.8 \pm 12.1	6.5	100	192.8 \pm 9.8	5.1	100
102	84.5 \pm 7.8	9.2	90	89.8 \pm 8.9	9.9	90	90.3 \pm 6.5	7.2	100
51	42.0 \pm 4.5	10.7	70	45.0 \pm 4.6	10.2	80	48.5 \pm 4.0	8.3	100
25	23.1 \pm 4.0	17.4	70	22.0 \pm 3.7	16.7	60	25.4 \pm 2.9	11.3	90

Results are shown as mean \pm SD (N=10). Accuracy is expressed as percentage of observed value that fall within 20% of the expected value.



현재 이 업무를 담당하고 있는 숙련된 병리사 1명이 수행하였다.

3. 통계

SPSS (version 10.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 방법 간 상관성 검증을 위해 Pearson's regression method를, 각 방법당 백혈구 수 측정값의 비교 및 시간에 따른 백혈구 수의 변화의 검증을 위해 paired-T test를 시행하였다.

결 과

1. 새로운 백혈구 수 측정 수기법의 검증

새로운 백혈구 수 측정법, Neubauer 및 Nageotte 혈구계산판으로 측정된 평균 백혈구 수와 기대값의 결과는 다음과 같다(Table 1). 수기법에 의한 측정값은 기대값에 비하여 유의한 차이는 없었으나, 전반적으로 낮게 측정되는 경향을 보였다. 각 방법에 의해 10회 반복 측정한 결과의 변이계수는 Neubauer 혈구계산판과 Nageotte 혈구계산판으로 측정된 것에 비해 새로운 측정법이 낮

Fig. 4. Linearity of leukocyte counting with three method; Neubauer hemacytometer (A), Nageotte chamber (B), new counting method (C) using diluents of EDTA blood samples. Each point represent an individual observation (N=10).

Table 2. Comparison of methods for white blood cell enumeration by Nageotte chamber and New method during storage at room temperature

Time	Nageotte chamber (N=22)			New method (N=22)		
	Mean \pm SD	RR (%)	P value	Mean \pm SD	RR (%)	P value
Within 1 hr	61.5 \pm 103.9	100		62.0 \pm 100.3	100	
After 2 hr	27.3 \pm 44.0	44.4	0.014	44.7 \pm 68.5	72.1	0.018
After 4 hr	9.1 \pm 12.2	14.8	0.011	19.3 \pm 26.5	31.1	0.013
After 12 hr	2.6 \pm 3.6	4.2	0.006	5.4 \pm 7.3	8.7	0.008

Abbreviation: RR, relative ratio=(WBC count at that time/WBC count within one hour) \times 100.

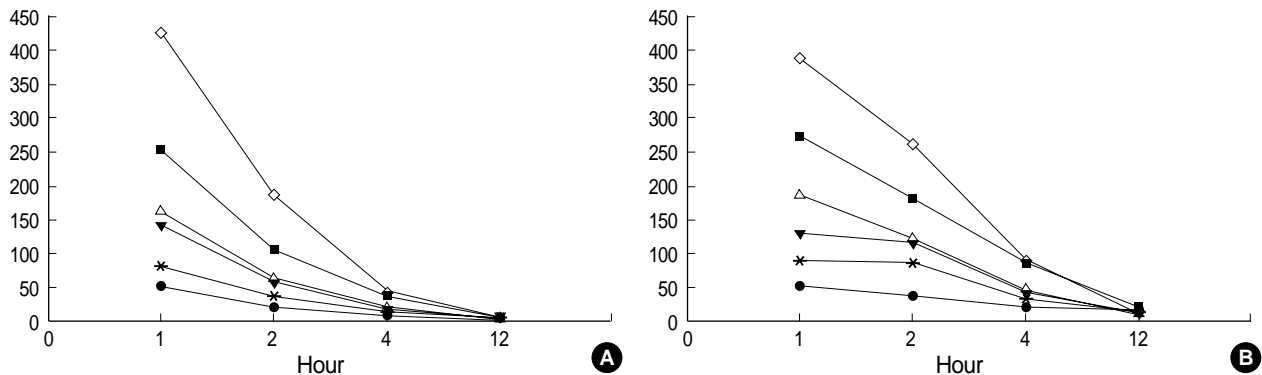


Fig. 5. Leukocyte count (μ L) change with Nageotte chamber (A) and new counting method (B) of each samples (6 cases of initial WBC count $>50/\mu$ L) according to time elapse.

았으나 통계적 의의는 없었다. 각 검사법의 측정값의 평균을 기 대값에 대해 회귀분석을 시행한 결과, 각 검사법에서의 상관계수 (r^2)는 Neubauer, Nageotte 혈구계산판 및 새로운 백혈구 수 측정법 각각 0.9972, 0.9996, 0.9994였다(Fig. 4).

2. 시간의 경과에 따른 백혈구 수의 변화

총 22명의 환자의 뇌척수액내 백혈구 수를 Neubauer 혈구계산판 으로 계수한 결과 10개/ μ L 이하인 경우가 8명, 11-100개/ μ L인 경우가 10명 그리고 100개/ μ L 이상인 경우가 4명이었다. 실온에 서 1시간 이내, 2시간, 4시간, 12시간 후의 시간에 따른 뇌척수액 내 백혈구 수 계수의 변화는 다음과 같다(Table 2). Nageotte 혈구 계산판과 새로운 백혈구 수 측정 방법에 의한, 시간의 경과에 따른 백혈구 수는 처음 백혈구 수에 비하여 각각 2시간 후 44.4%, 72.1 % 4시간 후 14.8%, 31.1% 및 12시간 후 4.2%, 8.7%만이 측정 되어, 시간의 경과에 따른 백혈구 수 측정값의 감소는 기존의 표 준방법에 비하여 새로운 백혈구 수 측정 방법이 변화가 적었다. 그 러나 2시간 경과 후에는 두 방법 모두에서 측정값의 감소가 유의 하게 높았다($P<0.05$). 시간에 따른 백혈구 수의 감소율은 검체에 따라 변화가 많아 그 비율이 일정하지는 않았으며 백혈구 수가 높 을수록 감소율이 큰 경향을 보였다. 감소율이 높은 6개의 검체에 대한 시간에 따른 백혈구 수의 변화는 Fig. 5와 같으며 12시간 후 검체에서 측정된 백혈구의 대부분은 림프구였다.

고 찰

뇌척수액검사는 감염에 의한 수막염의 감별, 거미막막하 출혈, 다발성 경화증, 신경매독, 감염성 다발성 신경염 등의 진단뿐 아 니라 백혈병환자의 척수강내(intrathecal) 치료 및 재발의 조기 발견에 필수적인 검사이다[14]. 특히 뇌척수액내 백혈구 수의 측 정 및 감별계수는 감염에 의한 수막염 중 세균성, 결핵성, 진균성 수막염과 바이러스성수막염을 감별하는 검사로 가장 유용하게 쓰 이고 있다[15]. 미국의 Center for Disease Control의 기준에 의 한 세균성수막염의 진단은 1) 뇌척수액에서 세균배양이 양성이거나, 2) 다른 원인없이 38°C 이상의 발열, 두통, 경부강직, 수막증 상, 뇌신경장애, 신경불안정 등 징후가 존재하고(1세 미만 소아에 서는 37°C 이하의 저체온증, 무호흡증, 심박수 저하 등도 포함) 검사 소견 중, 1) 백혈구 수나 단백의 증가 또는 포도당의 감소, 2) 뇌척수액의 그람염색 양성, 3) 혈액배양 양성, 4) 뇌척수액, 혈액, 또는 소변의 latex 응집검사 양성, 5) 원인균에 특이적인 IgM 항 체 양성 또는 회복기 혈청의 IgG 항체가 급성기에 비해 4배 이 상 상승 중 하나 이상이 관찰되는 경우로 정의하였다[16]. 뇌척수 액내 백혈구 증가 없이 수막염을 보이는 경우도 있는데, Fishbein 등[17]은 13년간의 세균성수막염 증례들을 분석한 결과 백혈구증 다증이 없는 경우가 6%였고 이들 모두 면역 저하요인을 가진 환 자였으며, 신생아 수막염의 경우 백혈구 증다증 없이 단백농도나 포도당 농도만이 비정상인 경우가 있을 수 있다고 보고하였다. 그 러나 세균성수막염을 선별하는데 뇌척수액 백혈구 수 6개/ μ L 이

상을 기준으로 하면 세균성수막염의 98.7%를 선별할 수 있었고 [18], 적절한 항균제 치료가 시작되지 48-72시간 후에도 뇌척수액 성상이 세균성수막염의 성상을 유지하므로 뇌척수액의 백혈구 수가 유용하다는 보고도 있다[19]. 이에 뇌척수액내 백혈구 수만을 기준으로 하는 것이 완벽하지 않음을 알 수 있으나 현재까지 뇌척수액내 백혈구 수의 측정은 초기 세균성수막염의 진단에 중요한 지표이다. 본 연구에서의 대상군 22명도 임상적으로 수막염이 의심되어 뇌척수액 혈구 수 검사가 의뢰된 환자였다.

뇌척수액의 검체 채취는 대부분 요추천자를 통해 얻으며, 세계의 멸균 시험관에 채취하여, 세 번째 시험관의 검체를 세포 수 및 감염계산에 이용하게 된다. 세포 수의 측정은 검체 채취 후 즉시 검사해야 하는데 이 이유는 뇌척수액내에서 백혈구의 용해가 급속히 이루어져 검사가 지체되면 백혈구 수가 낮게 측정되므로 일반적으로 30분 이내에 검사하도록 되어있다. 혈액 및 체액에서 혈구수를 측정하는 방법은 기계를 이용한 방법과 혈구계산판을 이용한 수기법이 있다. 자동혈액분석기의 도입으로 검사실 업무가 매우 간편해졌으며 신속하고 비교적 정확하게 혈구 수를 측정할 수 있게 되었다. 이에 수기법을 대신할 수 있는 가에 대하여 많은 연구가 이루어 지고 있는데, 기기에 따라 뇌척수액 1 μ L당 백혈구 수가 150개, 체액 1 μ L당 300개 이상 또는 흉수액 1 μ L당 백혈구 수가 50개 이상 정도는 되어야 수기법과 상관성이 높은 것으로 보고되고 있어[20-22] 낮은 농도의 세포를 가지고 있는 체액의 경우는 여전히 수기법으로 측정하는 것이 정확하다는 것을 알 수 있다. 최근 이 외에도 유세포분석기[8, 9], microfluorometry 및 PCR을 이용한 정량법 등[10-12]이 소개되고 있으나 일반 검사실에서 응급검사로 이용하기에는 검사 과정이 간단하지 않으며, 많은 시간을 필요로 하는 단점이 있다. 그러나 표준법인 수기법도 적혈구의 용혈이나 혈구의 응집 및 세포의 변형에 의한 세포 오인, 측정자의 숙련도 등에 따라 계수 오차가 발생하며, 세포의 모양 판별에 어려움이 많아, 도말 염색 표본으로 확인하여 세포 수를 보정할 필요가 있는 경우가 많았다.

본 연구에서 고안한 새로운 혈구 수 측정 방법은 일정한 양의 검체를 슬라이드 위에 떨어뜨린 후 건조하고, 통상 시행하는 방법으로 염색한 후, 등간격이 새겨져 있는 투명테이프를 슬라이드에 부착한다. 이는 염색된 뚜렷한 세포와 격자눈금을 광학 현미경으로 동시에 관찰이 가능하여 슬라이드상의 혈구 수를 격자의 눈금을 기준으로 슬라이드 전체의 혈구 수를 산정할 수 있으며 동시에 감별계수도 가능한 장점이 있다. 이 방법은 특별한 도구가 더 요구되지 않으며 간단하게 세포 수 측정이 가능하여 일반 중소 검사실에서도 용이하게 이용될 수 있으리라 생각된다. 또한 기존의 방법보다는 시간의 경과에 따른 세포수 측정의 오차를 개선할 수 있었고 세포의 판별이 용이하여 측정자간 측정 오차도 감소시킬 수 있다. 본 연구에서 배수 희석한 전혈을 Neubauer 혈구계산판, Nageotte 혈구계산판 및 새로운 백혈구 수 측정법으로 백혈구를 계수한 결과, 기대값에 비하여 측정된 값은 유의한 차이는 없었으나 변이계수는 본 방법에서 가장 우수하였는데, 이는 새로운 백혈구 수 측

정법이 세포판별이 용이하고, 백혈구 단편 등을 구별할 수 있기 때문이라고 사료된다.

시간 경과에 따른 뇌척수액내 백혈구 수의 변화는 Steele 등[5]에 의하면, 1시간 후 중성구의 68%, 2시간 후 중성구의 50%만이 측정되며, 초기에 용해되는 대부분의 백혈구는 중성구이고 림프구가 가장 안정하다고 하였고, Chow 등[3]은 인위적으로 정상 뇌척수액에 백혈구 및 적혈구를 첨가하여 22°C 및 4°C에서 시간 경과에 따른 백혈구의 변화를 실험한 결과, 2시간 후 각각 40%, 15%, 그리고 4시간 후 각각 53%, 31%의 백혈구가 용해되어 냉장 보관하였을 때 백혈구가 더 안정하다고 보고하였다. 여러 체액에서 시간에 따른 안정성을 자동혈구분석기로 측정한 연구에서도 시간에 따라 혈구 수는 감소하였고 이때 감소하는 정도는 체액의 종류와 초기 세포의 농도에 더 영향을 받는다는 보고도 있다[21]. 본 연구에서도 실온에서 시간에 따른 백혈구 수를 Nageotte 혈구계산판 및 새로운 방법으로 측정한 결과, 두 가지 방법 모두 기존의 보고와 같이 감소하였으나, 상대적으로 새로운 방법으로 측정된 결과 적게 감소되는 결과를 보였는데, 이는 기존의 수기법에서는 측정하기 어려운 백혈구 단편 등을 새로운 방법에서는 판별할 수 있기 때문이라 생각된다. 또한 백혈구 수의 감소율은 검체마다 각각 달랐는데 초기세포의 농도가 많을수록 더 증가하는 경향을 보였다(data not shown).

뇌척수액내의 백혈구 수의 검사는 대부분 응급검사로 시행되는 경우가 많으며, 특히 야간의 경우, 경험이 미숙한 검사자에 의해 검사가 보고되는 경우가 종종 있는데, 백혈구 수의 급격한 감소로 인하여 추후 재검하는 것이 기존의 방법에서는 불가능 하였다. 이에 본 연구자는 검체가 의뢰되는 즉시, 기존의 방법과 더불어 새로운 백혈구 수 측정방법의 첫 단계인 일정량(1, 2, 5 μ L 또는 10 μ L)의 검체를 슬라이드에 떨어뜨려 건조해 놓을 경우, 야간 검사에 대한 재검이 가능하고, 정도관리 등에도 유용하게 이용될 것으로 생각한다.

이와 같이 새로 고안한 백혈구 수 측정 수기법은 기존의 표준법과 상관성이 높으며 기존의 수기법에서 측정하기 어려운 백혈구 단편 등의 측정이 가능하고, 판별이 용이하며, 시간이 경과된 검체의 백혈구 수 측정 시 상대적으로 안정하다는 것을 알게 되었다. 향후 뇌척수액뿐 아니라 소변 및 관절액 등의 체액, 백혈구 제거 혈액제제내의 백혈구 수 측정 등에 대한 연구도 시행하여 이를 광범위하게 적용할 수 있도록 할 필요가 있으리라 생각된다.

요 약

배경 : 뇌척수액내 백혈구 수의 측정은 임상적으로 세균성수막염의 진단에 중요하다. 이러한 백혈구수의 측정은 일반 자동화혈액기계로는 예민도가 낮아 수동혈구분석기를 이용한 수기법이 표준방법으로 되어 있다. 그러나 이는 검사자의 숙련도를 요구하며 정확도와 안정성에 한계가 있다. 이에 단점을 보완한 새로운 세포

수 측정법을 고안하여 그 유용성을 평가해 보고자 하였다.

방법 : 투명격자테이프를 이용한 새로운 세포 수 측정방법을 고안하였다. 배수 회석한 EDTA 전혈을 이용하여 각각 Neubauer 혈구계산판, Nageotte 혈구계산판 및 새로운 방법으로 백혈구 수를 측정하여 상관성, 정확도, 정밀도 실험을 시행하였다. 안정성 시험을 위하여 22개의 뇌척수액 검체를 실온에서 1시간 이내, 2시간, 4시간, 12시간 이후로 나누어 시간 경과에 따른 백혈구 수 측정을 Nageotte 혈구계산판 및 새로운 방법으로 시행하였다.

결과 : 상관성 검사 결과 세 가지 방법 모두 유의한 차이는 없었으나, 백혈구 수가 낮은 경우 기존의 수기법이 새로운 방법에 비해 낮게 측정되는 경향을 보였다. 새로운 방법이 변이계수가 가장 낮았으며 정확도 결과도 가장 좋았다. 안정성 시험결과 처음 결과에 비해 시간이 지남에 따라 백혈구 수는 Nageotte 혈구계산판 및 새로운 방법으로 각각 2시간 후 44.4%, 72.1% 4시간 후 14.8%, 31.1% 및 12시간 후 4.2%, 8.7%만이 측정되어 새로운 측정 방법이 상대적으로 안정하였다.

결론 : 새로운 백혈구 수 측정방법은 기존 방법에 비해 정확도와 정밀도에서 우위를 보였으며 조작이 간단하고 또한 일상검사실에 적용이 쉬운 장점이 있다. 이는 뇌척수액내 백혈구 수 측정에 있어 일선 검사실에서 표준법을 대체하여 사용하기에도 충분할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Hoen B, Viel JF, Paquot C, Gerard A, Canton P. Multivariate approach to differential diagnosis of acute meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:267-74.
- 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 analyser. *Transfus Sci* 1997;18:505-15.
- Chow G and Schmidley JW. Lysis of erythrocytes and leukocytes in traumatic lumbar punctures. *Arch Neurol* 1984;41:1084-5.
- Veerman AJ, Huismans L, van Zantwijk I. Storage of cerebrospinal fluid samples at room temperature. *Acta Cytol* 1985;29:188-9.
- Steele RW, Marmer DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1986;23:965-6.
- Ziebig R, Lun A, Sinha P. Leukocyte counts in cerebrospinal fluid with the automated hematology analyzer CellDyn 3500 and the urine flow cytometer UF-100. *Clin Chem* 2000;46:242-7.
- Andrews J, Setran E, McDonnell L, Kussick S, Wood BL, Sabath DE. An evaluation of the cell-dyn 3200 for counting cells in cerebrospinal and other body fluids. *Lab Hematol* 2005;11:98-106.
- Van Acker JT, Delanghe JR, Langlois MR, Taes YE, De Buyzere ML, Verstraete AG. Automated flow cytometric analysis of cerebrospinal fluid. *Clin Chem* 2001;47:556-60.
- Brecher ME, Harbaugh CA, Pineda AA. Accurate counting of low numbers of leukocytes. Use of flow cytometry and a manual low-count chamber. *Am J Clin Pathol* 1992;97:872-5.
- Dzik S, Moroff G, Dumont L. A multicenter study evaluating three methods for counting residual WBCs in WBC-reduced blood components: Nageotte hemocytometry, flow cytometry, and microfluorimetry. *Transfusion* 2000;40:513-20.
- Borzini P and Dumont LJ. Microdroplet fluorochromatic assay for the enumeration of white cells (WBCs) in WBC-reduced blood components: validation and application for evaluating newly developed WBC-reduction filters. *Transfusion* 1997;37:601-6.
- Seghatchian J, Krailadsiri P, Scott CS. Counting of residual WBCs in WBC-reduced blood components: a multicenter evaluation of a microvolume fluorimeter by the United Kingdom National Blood Service. *Transfusion* 2001;41:93-101.
- Cassens U, Greve B, Tapernon K, Nave B, Severin E, Sibrowski W, et al. A novel true volumetric method for the determination of residual leucocytes in blood components. *Vox Sang* 2002;82:198-206.
- Watson MA and Scott MG. Clinical utility of biochemical analysis of cerebrospinal fluid. *Clin Chem* 1995;41:343-60.
- Spanos A, Harrell FE Jr, Durack DT. Differential diagnosis of acute meningitis. An analysis of the predictive value of initial observations. *JAMA* 1989;262:2700-7.
- Nelson RP Jr. Bacterial meningitis and inflammation. *Curr Opin Neurol* 2006;19:369-73.
- Fishbein DB, Palmer DL, Porter KM, Reed WP. Bacterial meningitis in the absence of CSF pleocytosis. *Arch Intern Med* 1981;141:1369-72.
- Lindquist L, Linne T, Hansson LO, Kalin M, Axelsson G. Value of cerebrospinal fluid analysis in the differential diagnosis of meningitis: a study in 710 patients with suspected central nervous system infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:374-80.
- Nye FJ. The value of initial laboratory investigations in the management of meningitis. *J Infect* 1983;7:31-8.
- 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;9:214-24.
- Barnes PW, Eby CS, Shimer G. An evaluation of the utility of performing body fluid counts on the coulter LH 750. *Lab Hematol* 2004;10:127-31.
- de Jonge R, Brouwer R, van Rijn 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;44:1367-71.