

GREEN VET NEWSLETTER

05
DECEMBER



ABOUT CONTENTS

세포검사

세포병리
초급자용 가이드

감염병 검사

고양이 칼리시바이러스

[세포검사] 세포병리 초급자용 가이드

세포병리 판독 불가 시료에 대하여

지난 뉴스레터에서는 세포병리 입문자용 가이드로, 세포검사의 목적과 한계, 샘플링 방법, 고정과 염색에 대하여 알아보았습니다.

이번 뉴스레터에서는 세포병리 초급자용 가이드로 판독 불가 시료와 관련된 내용을 다루어 보도록 하겠습니다. 판독 불가 시료의 종류로는 판독을 위한 충분한 양의 세포가 획득되지 않은 경우(세포충실도가 낮은 경우), 혈액이 너무 많이 혼입된 경우, 세포충실도는 높지만 다수의 세포가 파열 또는 변성되어 있는 경우, 부적절한 염색상으로 인하여 세포의 종류와 구조를 파악하기 어려운 경우 등이 있으며, 이렇게 판독 불가 시료가 되는 원인은 크게 두가지로 나눌 수 있습니다.

첫번째, 병변의 흡인과 도말 단계에서 문제가 발생하는 경우입니다.

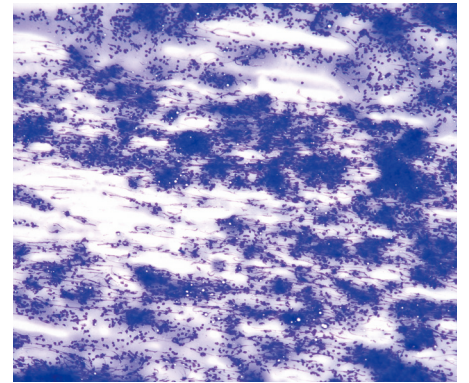
세포병리 검사는 병변의 일부를 주사기로 흡인한 뒤 슬라이드에 도말하고 염색하여 현미경을 통해 판독하는 검사 방법입니다. 따라서 슬라이드를 만드는 모든 과정, 즉, 주사기로 흡인을 하는 샘플링 과정이나 샘플링 후 슬라이드에 도말을 하는 과정, 그리고 고정과 염색을 하는 과정 모두가 판독 결과에 영향을 미치게 됩니다.

특히 전문적인 검사 기관에서 슬라이드를 제작하는 조직병리검사와 달리, 슬라이드를 제작하는 대부분의 과정들이 각각의 동물병원에서 이루어지기 때문에 제작 과정이 검사 결과에 매우 중요한(Critical) 영향을 미치게 됩니다. 이러한 오류를 줄이기 위해서 몇 가지 유의 사항을 참고하면 더 좋은 검사 결과를 얻는데 도움이 될 수 있습니다.

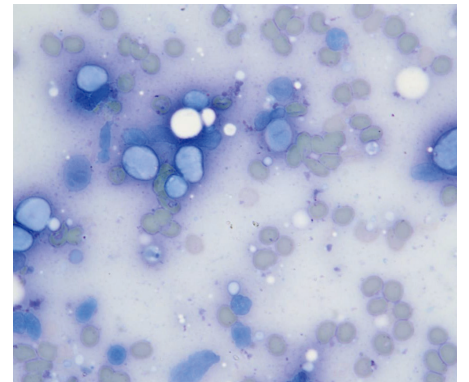
1) 병변을 흡인할 때는 너무 두껍거나 너무 얇은 바늘을 사용하지 않는 것이 좋으며, 일반적으로는 23G 바늘을 사용합니다. 또한 병변을 흡인하는 과정에서 음압을 걸 때 너무 세게 Plunger를 잡아당기면 혈액이 다수 혼입되고, 너무 약하게 잡아당기면 충분한 양의 세포가 획득되지 않습니다. 이러한 경우 관찰되는 적은 수의 세포가 전체 병변을 대표하는 것인지 구분하기 어려워 판독이 불가능한 시료로 분류됩니다.

2) 슬라이드에 흡인물을 도포 후 도말 시, 너무 세게 밀거나 또는 너무 두껍게 밀지 않는 것이 좋습니다. 슬라이드를 밀 때 너무 많은 힘을 가하게 되면 세포가 파열되어 현미경 관찰 시 형태를 구분하기 어렵게 됩니다. 특히, 악성도가 높은 세포나 림프구의 경우 유약하여 쉽게 파열됩니다. 또한 도말을 하지 않거나 또는 흡인물이 묻혀있게 되면 슬라이드로 관찰 시 세포끼리 겹쳐, 개별 세포의 형태를 구분할 수 없게 됩니다. 세포 충실도가 높더라도 다수의 세포가 파열되어 있거나 너무 두껍게 도말이 되어 있다면 판독이 불가능한 시료로 분류됩니다.

3) 고정 과정에서 고정액인 메탄올에 물이 섞여 있거나 또는 Air dry 과정이 너무 길어지는 경우에는 이후 염색을 하더라도 염색이 정상적으로 잘 되지 않습니다. 염색 과정에서 문제가 생기는 경우에는 슬라이드를 탈색하여 재염색하는 과정을 거치면 염색상이 개선되기도 하지만, 고정 과정에서 잘못되는 경우에는 탈색을 하더라도 염색상이 개선되지 않습니다. 염색상이 좋지 않은 경우에는 세포의 형태와 구조에 대한 파악이 어려워져 판독이 불가능한 시료로 분류됩니다.



〈사진 1〉 세포가 파열되고 두껍게 도말된 슬라이드



〈사진 2〉 염색상이 불량해 판독이 어려운 슬라이드

두번째, 병변 자체의 특성에 의해 판독이 불가능한 경우가 있습니다.

일반적으로 이러한 경우에 해당하는 샘플은 판독문에 여러가지 가능성에 대하여 제시해 드리고 있으며, 위와 같은 샘플들은 흡인시 양상이나 병변의 특성 등 임상적인 부분과 종합적인 고려가 필요하게 됩니다.

1) 지방종과 같이 세포가 지질 성분으로 이루어져 있는 경우는 고정 과정에서 사용되는 시약인 메탄올에 의하여 지방 세포가 녹아 슬라이드에서 관찰되지 않기도 합니다.

이 경우, 슬라이드에 도말한 뒤 빠르게 Air dry 과정을 거치고, 이후 메탄올 또는 Diff-Quik 1번 고정액에 2-3번 가볍게 담갔다 빼는 정도로 고정하면 판독률을 높일 수 있습니다. 지방종은 병변이 Soft한 경우가 많고, 흡인 물을 슬라이드에 도말 시 육안상 기름 성분이 관찰됩니다.

2) Seroma와 같은 낭성 병변은 수양성 액체만이 샘플링 되는 경우가 많아 슬라이드에서 세포가 매우 적게 관찰되거나 또는 거의 관찰되지 않는 경우가 있습니다. 낭성 병변은 흡인 후 병변의 크기가 줄어들고 도말 시 육안상 액상으로 관찰되는 경우가 많습니다.

3) Comedone, Epidermal cyst와 같은 모낭, 피지샘 유래의 낭성 병변에서는 대부분 다수의 각화상피세포가 관찰되지만 간혹 슬라이드 내 세포가 거의 포함되지 않는 양상으로 샘플링 될 수 있습니다.

모낭유래 낭성 병변은 도말 시 육안상 White~Yellow 색깔의 피지 성분이 관찰되는 경우가 많습니다.

4) Hematoma, Hemangioma: 종괴를 채우고 있는 것이 혈액인 병변(e.g. 혈종이나 혈관종)은 적혈구를 비롯한 혈액 유래 세포만이 확인될 수 있습니다. 이러한 병변은 육안적으로 검붉은 종괴로 관찰되는 경우가 많고 혈액 양으로 흡인됩니다.

5) 이 외에 병변을 이루는 세포의 크기가 큰 간엽성 종양(Mesenchymal cell tumor)에도 세포가 잘 흡인되지 않아 현미경 상 세포충실도가 낮아 판독이 어려운 경우가 있습니다.

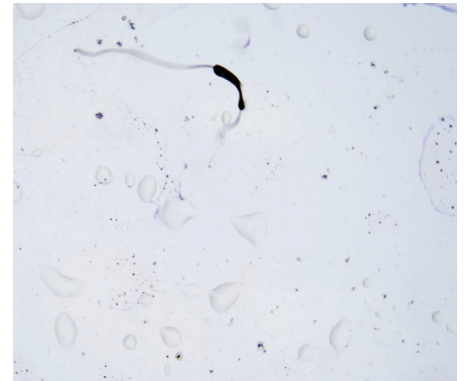
그 밖에도 액상 시료(소변, 흥/복수와 같은 Body fluid 시료)는 보관시간이 길어질수록 세포가 파열, 변성되는 경우가 종종 있습니다. 병원으로부터 시료를 수거하여 검사실에 도착한 후 슬라이드를 제작하기까지 소요되는 시간이 있기 때문에 이러한 부분들을 고려하여 검사를 진행하고 있지만 검체의 상태가 좋지 않으면 부득이하게 판독 불가로 결과가 보고되는 경우도 있습니다.

만약 시료의 양이 충분하다면 병원 내에서 시료를 잘 Tapping한 뒤 일부를 덜어내 1~2장 정도 슬라이드에 도말-고정한 뒤, 슬라이드와 모검체를 함께 보내주시면 판독에 도움이 될 수 있습니다. 이 때 의뢰지에 '세포검사 슬라이드 추가 제작을 위한 모검체' 등 추가적인 검체의 발송 목적을 기재해 주시면 슬라이드를 추가로 제작하는 소요 시간이 줄어들어 판독의 정확도를 더 높일 수 있습니다.

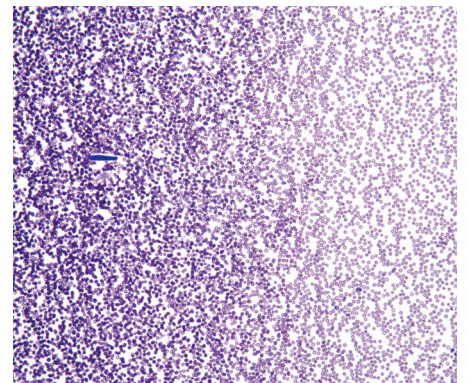
기본적으로 세포 검사의 목적은 질병의 확진이 아닌, 병변의 예측을 통해 수술 여부 또는 수술 계획을 구체화하거나 추가 검사(영상, 특수 검사)의 방향을 결정하기 위함입니다. 샘플의 위치 특성에 따라 질병을 높은 확률로 예측할 수 있는 경우가 있고, 그렇지 못한 경우가 있습니다. 수술적으로 접근이 어렵거나(e.g. 종격동, 비강, 활액, 뇨 등), 세포의 형태가 질병의 양상(종양 또는 염증)에 따라 큰 차이가 있는 경우(e.g. 림프절) 세포 검사는 상당히 유용한 검사가 될 수도 있지만 그렇지 못한 경우, 불확실한 결과를 얻을 수도 있습니다.

특히 세포학적으로 평가된 악성도 이외에 침습성이 중요한 기준이 되는 유선 종양이나 정확한 흡인이 어려운 위치의 병변(e.g. 비강, 장간막 림프절 등)의 경우 종종 세포 검사로 환자의 질병에 대한 정보를 크게 얻지 못하는 경우도 발생할 수 있습니다.

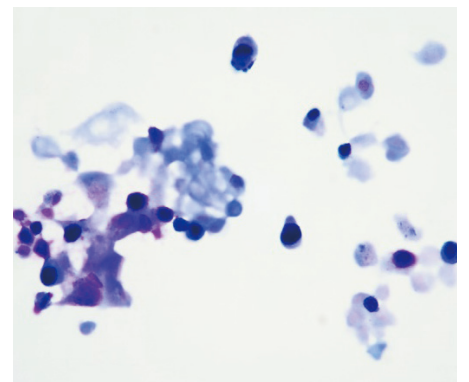
세포 검사의 Innate한계를 고려할 때 세포 검사 결과는 반드시 임상 증상이나 PARR과 같은 다른 검사 결과와 종합한 판단이 필요하며, 적절한 샘플링, 도말과 염색은 세포 검사의 신뢰도에 중요한 영향을 미칩니다.



〈사진 3〉 육안상 표면에 지질 성분이 확인되는 슬라이드



〈사진 4〉 혈구 세포만이 관찰되는 슬라이드



〈사진 5〉 다수의 세포가 변성되어 있는 슬라이드

세포 슬라이드의 준비(Preparation)에 대한 팁은 아래와 같이 요약됩니다.

- 1) FNA 검체의 경우 주사기(23G이상)로 채취한 세포를 슬라이드 위에 분사/점적
- 2) 점적된 샘플이 두꺼운 방울과 같은 형태라면 커버 슬라이드로 혈액도말샘플을 제작할 때와 같이 낮은 압력으로 (30도 정도 경사를 이루어) 가하여 밀고
- 3) 샘플이 얇다면 그 상태로 세포가 슬라이드에 붙을 수 있도록 잠시 자연건조
- 4) 자연건조 시간은 샘플에 따라 다르겠지만, 물기 없는 상태로 관찰되는 때까지, 다만 Over dry되지 않도록 주의
- 5) Diff-Quik staining kit에 있는 1번 용액, 또는 무수 메탄올로 고정
- 6) 알콜이 증발한 후, 또는 염색까지 완료한 후 슬라이드 박스에 넣어 발송

이렇게 준비한 슬라이드는 아래와 같은 과정을 거쳐 병원으로 결과가 전달됩니다.



저희 그린벳은 Non-diagnostic으로 결과지가 나가더라도 진료에 도움이 되는 정보를 최소한이라도 전달하고자 노력하고 있으며, Non-diagnostic sample은 1회에 한하여 무료 재검을 수용하고 있습니다.

최대 5장의 슬라이드까지 1 Site로 판독 가능하며, 뇨나 복수와 같은 검체의 경우 일부는 슬라이드로, 일부는 Ep tube와 같은 곳에 액상 그대로 보내주시면 침사 또는 Cytospin을 통해 추가 슬라이드 제작하여 판독하고 있으니 의뢰에 참고 부탁드립니다.

늘 그린벳을 믿고 검체를 맡겨 주시는 원장님들께 감사의 인사를 전합니다.

글, 사진 조직검사Unit 한세희 수의사

[감염병 검사] 고양이 칼리시바이러스

고양이 칼리시바이러스(Feline Calicivirus, FCV)의 진단, 치료 및 예방

고양이 칼리시바이러스(Feline Calicivirus, FCV)의 특징

고양이 칼리시바이러스 (FCV)는 고양이에서 상부 호흡기 질환을 일으킬 수 있는 주요 병원체로 고양이 호흡기 증후군 (Feline respiratory disease complex)의 원인체 중 하나로 알려져 있습니다. 감염된 환자의 안구, 비강 및 구강 삼출물을 통해 바이러스가 배출되기 때문에 환자와의 직접 접촉이 주된 전파 경로로 작용합니다.

FCV의 중요한 특징은 돌연변이가 잘 발생하는 RNA 바이러스라는 것입니다. 돌연변이 바이러스는 고양이의 면역체계를 피해 지속감염하면서 무증상 보균자 (Carrier) 상태를 유발할 수 있습니다. 집 고양이의 약 10%가 무증상 보균자 상태로 바이러스를 배출하며 전파시키고 있다고 알려져 있습니다.

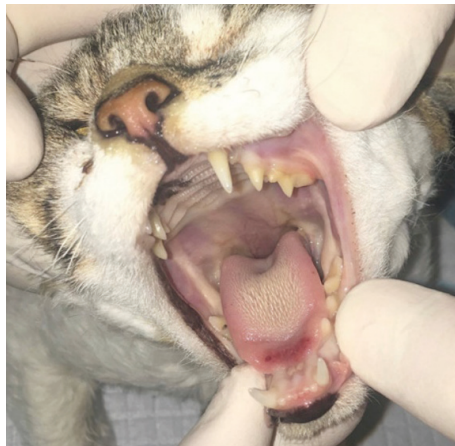
고양이 칼리시바이러스 감염 시 임상증상

FCV 감염 시 발열과 무기력증 (Lethargy)이 제일 먼저 관찰될 수 있습니다. 가장 특징적인 임상증상은 구강 궤양이고 안구 및 비강 삼출물, 재채기, 결막염 등의 증상도 경미하게 관찰될 수 있습니다 (참조: 사진 6). 일부 종 (Strain)의 경우 하부 호흡기 감염 또는 장염을 유발할 수도 있습니다.

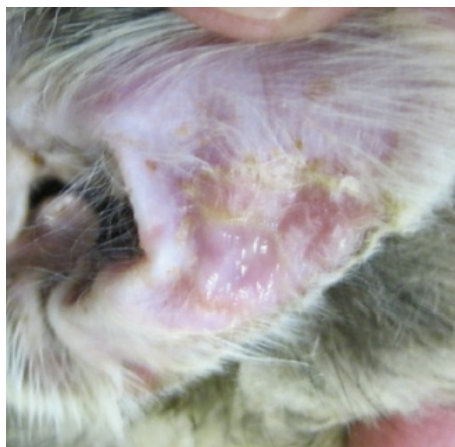
또한 일부 종의 경우 파행 (Lameness)을 유발할 수도 있으나 24-48시간 내에 증상이 해소되는 것으로 알려져 있습니다.

FCV에 속하는 종 중에는 치사율이 높은 심각한 급성 열성 질환 (Virulent systemic disease, VSD)을 유발할 수 있는 강독 변이주 (VSD-FCV)도 있다고 알려져 있습니다.

VSD-FCV 감염 시 임상증상은 다양하게 나타날 수 있습니다. FCV 감염에서 일반적으로 관찰되는 임상증상들을 포함하여 부종 (Edema), 황달 (Icterus), 피부 궤양 (Skin necrosis) 등이 관찰될 수 있으며 치사율이 60%에 달해 폐사하는 환자가 많아 예후가 불량합니다 (참조: 사진 7).



〈사진 6〉 FCV 감염증 환자에서 관찰될 수 있는 임상증상 (From Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat)



〈사진 7〉 VSD-FCV 감염증 환자에서 관찰될 수 있는 임상증상 (From Calicivirus Infection in Cats)

고양이 칼리시바이러스의 진단

임상증상이 심각하거나 오랫동안 지속되고 있는 경우 또는 동거묘가 있는 경우에는 PCR 검사를 통해 원인을 확인하여 치료 및 예방에 도움을 받을 수 있습니다. PCR 검사에서 양성으로 검출된 경우 FCV 감염증으로 진단할 수 있습니다. 다만 생독백신 접종 후 수주 동안은 백신주가 검출될 수 있으며 무증상 보균자도 바이러스를 배출할 수 있습니다. 강독 변이주인 VSD-FCV를 구분할 수 있는 검사법은 아직까지 존재하지 않기 때문에 임상증상 및 경과를 통해 강독 변이주 감염을 진단할 수 있습니다.

PCR 검사에서 음성으로 검출된 경우 FCV 감염증이 아닐 확률이 높습니다. 하지만 FCV 감염증 환자에서도 음성 결과를 얻을 수 있습니다. 예를 들어 검체 운반 과정에서 바이러스와 핵산이 분해되어 병원체의 양이 검출 한계 이하일 수 있습니다. 두 번째로, 치료를 받거나 만성 감염된 경우 병원체의 양이 감소했을 수 있습니다. 세 번째로, 기존 진단법으로 검출할 수 없는 새로운 변종에 의한 감염일 수 있습니다.

그린벳에서는 FCV를 포함하여 고양이에서 호흡기 질환을 유발할 수 있는 15종의 병원체에 대한 검사를 제공하고 있습니다(참조: 표1, 표2). Real-time PCR 기법을 이용하여 신속하고 정확한 검사 결과를 얻을 수 있어 급성감염으로 빠른 결과 확인이 필요한 경우에도 도움이 될 수 있습니다. 실제로 그린벳에 의뢰된 PCR 검사에서 FCV는 약 25.81%의 높은 양성률을 나타냈습니다(2023년 09월 양성률).

검사코드	검사명	검체	TAT	검사항목
GID401	호흡기: Feline respiratory pathogens plus (15종)	상기도 Swab	2	Feline calicivirus, Feline herpesvirus, Influenza virus type A, Reovirus, Pasteurella multocida, Moraxella catarrhalis, Bartonella spp., Chlamydomphila felis, Aspergillus spp., Mycoplasma felis, Bordetella bronchiseptica, Cryptococcus spp., Pneumocystis carinii f. sp. felis, Histoplasma spp., Blastomyces spp.
GID402	호흡기: Feline respiratory pathogens (11종)	상기도 Swab	2	Feline calicivirus, Feline herpesvirus, Influenza virus type A, Reovirus, Pasteurella multocida, Moraxella catarrhalis, Bartonella spp., Chlamydomphila felis, Aspergillus spp., Mycoplasma felis, Bordetella bronchiseptica

〈표 1〉 그린벳 제공 고양이 칼리시바이러스 PCR 검사

고양이 칼리시바이러스의 치료

FCV에 대한 특이적인 항바이러스제 등은 알려져 있지 않지만 임상증상 개선을 목적으로 보존치료와 대증치료를 시행할 수 있습니다. 호흡기 질환이 있는 경우 후각 손상 및 구강 궤양 때문에 환자가 잘 먹지 않을 수 있기 때문에 식욕촉진제 등을 이용하여 도움을 받을 수도 있습니다. 2차 감염이 발생하거나 전신 증상이 있는 경우 독시사이클린(Doxycycline)이나 아목시실린/클라불란산(Amoxicillin/Clavulanate) 등의 항생제를 처방해볼 수 있습니다.

[감염병검사] Feline respiratory pathogens plus (15종)										
No.	Pathogens		결과 (양성, 음성)	Class						Ct
	분류	항목		1	2	3	4	5	6	
1	Virus	Feline calicivirus	양성	2.5						32.67
2		Influenza virus type A	음성	-						-
3		Reovirus	음성	-						-
4		Feline herpesvirus	양성	2.5						32.66

〈표 2〉 그린벳 고양이 칼리시바이러스 검사 결과 예시

고양이 칼리시바이러스의 예방

FCV 백신에는 생독백신과 사독백신이 있으며 집단 면역 형성이 중요하기 때문에 필수백신으로 분류되어 생후 9~12주령부터 3~4주 간격으로 총 3회 백신 접종을 시행합니다. 이후의 추가 접종의 경우 실내 생활을 하는 단묘가정 등 저위험군은 3년마다 백신 접종을 할 수 있고 유기묘보호소 등 고위험군은 1년마다 백신 접종을 하는 것이 추천됩니다.

FCV 백신을 접종한 경우 방어력이 형성되어 바이러스 배출이 유의미하게 감소하지만 백신이 감염을 완벽하게 차단해주는 것은 아닙니다. 따라서 백신을 접종한 동물도 무증상 보균자 상태가 될 수 있습니다. 또한 FCV 백신 접종 시 상부 호흡기 질환을 경감시킬 수 있으나 VSD에 대한 효과는 알려져 있지 않습니다.

[Reference]

1. Sykes, J. E. (2022). *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
2. Hofmann-Lehmann, R., Hosie, M. J., Hartmann, K., Egberink, H., Truyen, U., Tasker, S., ... & Möstl, K. (2022). Calicivirus infection in cats. *Viruses*, 14(5), 937.
3. Bordicchia, M., Fumian, T. M., Van Brussel, K., Russo, A. G., Carrai, M., Le, S. J., ... & Barrs, V. R. (2021). Feline calicivirus virulent systemic disease: Clinical epidemiology, analysis of viral isolates and in vitro efficacy of novel antivirals in Australian outbreaks. *Viruses*, 13(10), 2040.
4. Brunet, S., Sigoillot-Claude, C., Pialot, D., & Poulet, H. (2019). Multiple correspondence analysis on amino acid properties within the variable region of the capsid protein shows differences between classical and virulent systemic feline calicivirus strains. *Viruses*, 11(12), 1090.

글, 사진 진단검사Unit 최휘연 수의사

