

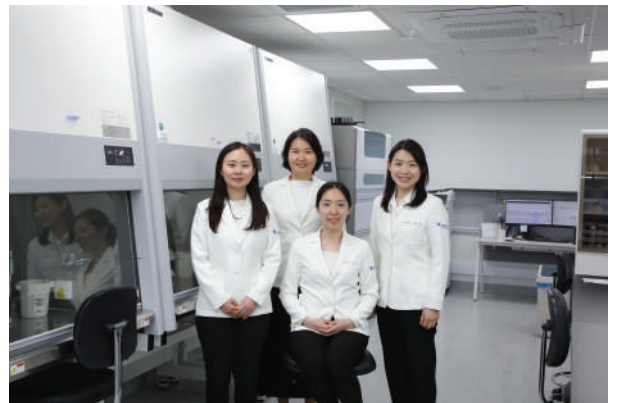
GREEN VET NEWSLETTER

2023년 9월호
Vol.02



ABOUT CONTENTS

소개	신규 런칭 VDI 검사 소개	1P
세포검사	세포병리 입문자용 가이드	2P
감염병검사	바베시아 현황 및 진단과 치료	4P



신규 런칭 VDI 검사 소개

GREEN VET
Diagnostics and Healthcare

VDI Laboratory, LLC
VDI

GREEN VET VDI TEST

VDI : Veterinary Diagnostics Institute

The following differential list is modified based on:

Abnormality	Abnormality	Abnormality	Clinical Relevance
● Hematocrit	● ALP	● Total Protein	● Hem
● Hemoglobin	● ALT	● BUN	● Hematocrit
● Hematocrit	● AST	● Creatinine	● Hematocrit
● Hemoglobin	● Bilirubin	● Total Bilirubin	● Hematocrit
● Hematocrit	● Triglycerides	● Triglycerides	● Hematocrit

Possible Source

Infection	→ Soft stool, colitis, imaging
Neoplasia	→ Imaging, cytology, histology
Cancer	→ Vets Cancer Panel (VCP), imaging, histology
Pancreas	→ Pancreatic panel, culture, imaging
IBD	→ Soft stool, colitis, imaging
Protein Deficiency	→ Soft stool, colitis, imaging

Potential Action based on clinical relevance

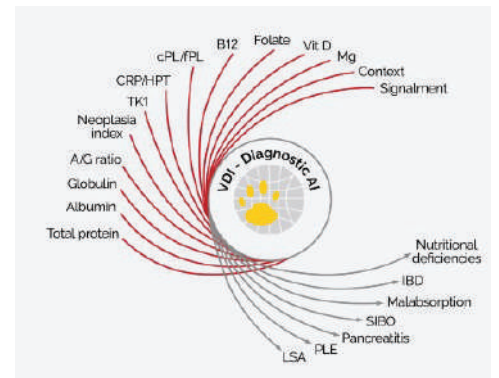
action is suggested to best meet your patient's needs

● Soft stool, colitis, imaging
● Imaging, cytology, histology
● Vets Cancer Panel (VCP), imaging, histology
● Pancreatic panel, culture, imaging
● Soft stool, colitis, imaging
● Soft stool, colitis, imaging

미국 VDI Laboratory에서 개발한 혈액 내 바이오 마커 진단법을 이용하여 TK1(Thymidine Kinase 1), HPT(Haptoglobin), CRP(C-Reactive Protein) 등의 바이오 마커 수치를 측정 한 후 일반 검사 결과 수치와 종합하여 환자의 건강상태를 통합적으로 진단하고 솔루션을 제공하는 검사입니다.

지능형 진단 시가 수백개의 임상 연구 논문 데이터를 기반으로 질병의 진단과 치료에 도움을 줍니다.

- 제공된 정보를 기반으로 **최선의 진료 및 진단 가이드** 제공
- 검사가 누적될수록 심층적인 분석을 통해 **더욱 정확한 결과** 제공
- 상온에서 최대 4주 검체가 안정한 **특허기술 (Samplla®)** 적용



Complete Wellness 질병 조기 발견 및 평가	Vitamin D 체내 필수 비타민D검사	OA panel 관절손상 조기발견	Inflammation Assessment 염증 상태 평가
Cancer Panel 암 진단 및 관리	GI Lymphoma Panel 위장관 질환 구별	Advanced GI Panel 위장관 질환 심층 구별	

반려동물과 인류의 건강하고 행복한 삶을 위해 도전하는 GREEN VET에 아낌없는 격려와 지원을 부탁드립니다.

세포병리 입문자용 가이드

세포 검사의 목적과 한계

세포검사(cytology)는 병변을 주사기로 흡인하여 현미경으로 관찰해 병변의 특성을 확인하고 선별하는 검사법입니다. 감염이나 일부 종양의 경우에는 세포검사만으로도 확진이 가능한 경우가 있지만, 병변을 수술적으로 제거하여 확인하는 조직병리학적 검사와 달리 병변의 일부만을 흡인하여 확인하기 때문에 병변에 대한 확진의 의미 보다는 초기에 다양한 감별진단을 rule out하고, 임상상의 진료의 다음 단계를 위하여 필요한 가이드 라인을 제공하는 검사법이라고 할 수 있습니다. 확정 진단이 아니므로 종양과 염종의 감별, 수술 여부나 수술계획의 구체화, 추가 검사(영상 진단, BTA, 수술 후 조직검사)의 방향을 결정하는 데에만 활용하시는 것이 바람직합니다.

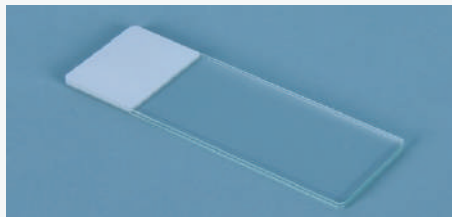
세포의 샘플링은 주사 바늘을 이용한 세침 흡인(Fine needle aspiration; FNA), nasal brush, imprint (적절한 조직의 압인; impression) 등의 방법으로 이루어지며, 소변과 같은 액체 시료는 자연 채뇨나 traumatic catheterization 등의 방법으로 샘플링하여 검경 할 수 있습니다. 활액이나 소변, 뇌척수액과 같은 액체의 샘플은 세포 충실도가 낮기 때문에 침사 또는 cytospin을 이용하여 세포의 밀도를 높게 조정하여 검경 할 수도 있습니다.

병변의 흡인과 도말이 세포검사의 첫번째 단계이자, 세포학적 진단을 위하여 가장 중요한(critical) 과정이라고 할 수 있습니다. 판독이 불가하거나 또는 잘못된 진단이 되는 경우의 대부분은 흡인, 채취와 도말 과정의 오류로 인하여 발생합니다. 그러나 간혹 병변이 만성적으로 진행되면 병변 내 괴사가 발생하거나 염증이 심하게 동반되면서 세포가 취약한 상태로 변성되는 경우 올바른 흡인, 도말의 과정을 거쳤음에도 세포가 파열되거나 형태적 평가가 어려운 경우가 있습니다. 또한 세포의 형태를 명확하게 판단할 수 있는 상태이더라도 특정 병변의 경우 실제 조직학적 검사(확진 수단) 결과와 일치하지 않는 경우가 있습니다. 대개 비강, 활액, 종격동과 같은 수술적 1차 접근 자체가 어려운 부위의 병변이나 림프절, 소변과 같이 수술적 접근 이전의 평가가 큰 도움이 되는 부위의 경우 세포학적 검사가 큰 의의를 가지게 되지만, 우선 종양과 같이 세포의 악성도 이외에 조직학적 구조(침습성)나 변화가 악성도 판단에 중요한 의미를 가지는 경우에는 세포 검사와 조직 검사 간의 결과가 불일치한 증례가 빈번한 만큼 세포 검사에 큰 의미가 없을 수 있습니다. 또한 장간막 림프절이나 비장의 경우 image-guide로 샘플링하여도 주요 병변을 정확히 흡인하기 어렵고 비장의 경우 혈종이 발생할 가능성도 있어 권장되지 않는 장기라고 할 수 있습니다.

올바른 샘플링

세포검사의 가장 큰 장점은 대부분의 경우 마취 과정이 필요하지 않고, 적은 종류의 도구로 빠른 시간 내에 검사할 수 있다는 것입니다. 가장 흔한 샘플링 방법인 FNA에는 주사기(일반적으로 23G 주사기, 또는 이보다 굵은 바늘)와 슬라이드가 필요합니다.

- 1 주사기의 plunge를 약간 당겨 syringe에 공기가 약간 들어가게 한 뒤, 병변에 주사 바늘을 찌르고 plunge를 빠르게 3-5회 가랑 잡아당겨 음압을 만들고 동시에 세포를 흡인한 후, 병변으로부터 주사기를 분리합니다. * 혈액이 너무 다량이 흡인되지 않도록 음압의 정도를 조절해야 합니다.
- 2 주사 바늘과 주사기를 분리하고 plunger를 최대한 잡아당겨 syringe에 공기가 최대한 많이 들어가게 한 뒤 바늘과 syringe를 다시 연결합니다.
- 3 깨끗한 슬라이드에 주사기 내의 세포가 모두 묻도록 최대한 빠르고 강하게 plunger를 밀어야 하며, 이때 주사 바늘의 bevel 부분이 슬라이드를 향하도록 해야 합니다.
- 4 슬라이드에 올려진 세포가 주로 액상으로 세포가 매우 적게 포함되어 있다고 생각되는 경우 그 상태로 자연건조, 세포충실도가 높다고 생각하는 경우 다른 깨끗한 (커버 권장) 슬라이드로 약 30도 정도의 경사를 이루어 낮은 압력으로 밀어 도말합니다. * 도말을 너무 강하게 하는 경우 세포가 파열되므로 적당한 강도로 도말해야 합니다. 자연 건조 시간은 샘플에 따라 다르지만 물기가 거의 없는 상태로 관찰되는 때까지, over-dry되지 않도록 주의합니다.
- 5 한 번의 FNA로 여러 장의 슬라이드를 만드는 것이 좋기 때문에 2 ~ 4의 과정을 반복합니다.



◀ 그림 1. Syringe(25G)와 Silde glass

세포병리 입문자용 가이드

Imprint의 경우 표면의 혈액을 제거하기 위하여 거즈로 약간 닦아낸 뒤 깨끗한 슬라이드를 병변의 단면에 압착하여야 합니다. 한 슬라이드에 여러 번 연속적으로 압착하는 것이 좋습니다. 이 과정에서 세포 슬라이드 근처에 포르말린이 있거나 이미 조직이 포르말린에 한번 담겼던 경우에는 세포 판독에 적합한 샘플이 될 수 없습니다.

도말한 슬라이드의 끝부분 (frosted edge)에 연필로 라벨링을 하며, 수성/유성 펜의 경우 고정 과정에서 기재한 내용이 유실되어 알아볼 수 없게 되기 때문에 권장되지 않습니다. Frosted edge가 없는 유리 슬라이드의 경우 diamond etched pencil이나 유리 슬라이드용 마커를 사용하는 것이 좋습니다. 라벨의 내용은 일반적으로 환자의 이름, 병변 부위, 흡인 날짜 등이며 가장 기본적으로 환자의 이름과 슬라이드의 앞면을 표시해 주시는 것이 판독 전 검수 작업을 할 때에 도움이 됩니다.

고정과 염색

라벨링 이후 과정은 고정 과정입니다. 슬라이드에 흡인물을 도말 - 공기에 자연 건조 - 고정하는 과정이 필요하며 고정 시간은 되도록 긴 것이 안정성이 좋습니다. 다만 고정 과정에서 사용되는 메탄올에 물이 혼입되어 있는 경우 water artifact가 생길 수 있으며 이 경우 정확한 판독에 어려움이 생기므로 최대한 물이 혼입되지 않는 것이 좋습니다. 따라서 메탄올은 일정 기간 또는 일정 횟수를 사용한 뒤 반드시 새로 바꾸어 주어야 합니다. 또한 충분히 고정되지 않는 경우 염색이 잘 되지 않고 세포가 너무 푸르게 염색되는 경우가 있으며, 이 경우에는 그린벳에서 슬라이드를 탈색하고 재염색을 하더라도 이미 고정 과정에서 문제가 있는 것이기 때문에 염색상이 개선되지 않아 세포 충실도가 충분히 높은 샘플임에도 불구하고 판독이 불가할 수 있습니다.

슬라이드를 고정한 이후 염색 과정을 거치게 됩니다. 그린벳으로 의뢰하는 과정에서 슬라이드 고정까지만 진행한 뒤 보내실 수도 있고, 염색 과정까지 마친 이후 보내실 수도 있습니다. 염색에 대한 확신이 없는 경우, 여러 장을 도말하셔서 일부만 염색하시고 일부는 고정만 진행한 상태로 보내주실 수 있으므로 이 점 의뢰에 참고 부탁드립니다.



슬라이드의 염색법은 다양하나, 임상 병원에서 가장 많이 사용하는 방법은 디퀵(Diff-Quik®)이 있습니다. 디퀵 염색 시 슬라이드에 염색약을 뿌리고 방치해 두거나 또는 슬라이드를 염색약이 든 용기(staining jar 또는 conical tube)에 담갔다 빼는(dipping) 방법이 있습니다. 동물병원마다, 또는 수의사마다 선호하는 방법이 다를 수 있고 정확한 프로토콜이 정해져 있지는 않습니다. 염색약을 뿌리고 방치하는 경우에는 두가지 시약에 동일한 시간 동안 슬라이드가 노출되는 것이 좋고, dipping하는 경우 solution 1에서 10회, solution 2에서 9~10회 정도 dipping하는 것이 좋으나 염색을 하는 과정에서 슬라이드의 색깔을 보고 본인만의 프로토콜을 만들어 가는 것이 가장 좋습니다.

◀ 그림 2. 슬라이드 염색용액 - Diff-Quik 용액

디퀵 염색법은 매우 빠른 시간 안에 간단한 방법으로 염색할 수 있다는 장점이 있으나, mast cell tumor나 granular lymphocyte, basophil 등에서 과립이 잘 염색되지 않는 경우가 있습니다. 이러한 경우에는 Wright-Giemsa staining 방법을 활용할 수 있습니다. 염색 시간이 너무 길어져 과염색 되는 경우, 또는 염색약이 오래되어 염색 과립이 염색약 내부에 쌓여 있는 경우에는 현미경으로 검경 시 슬라이드 상에서 호염성 염색 과립들이 관찰됩니다. 이 경우 과립이 미생물로 오인될 수 있기 때문에 염색 프로토콜을 잘 지키고, 염색약 또한 메탄올과 마찬가지로 일정 기간 또는 일정 횟수 사용한 이후에 반드시 새로 바꾸어 주어야 합니다.

염색한 슬라이드는 판독의가 현미경으로 검경을 하여 세포의 형태와 이를 기반으로 추정 또는 확인되는 병변의 상태에 대해 서술하게 됩니다. 일반적으로 저배율에서는 전체적인 세포충실도 및 배경 물질, 세포의 배열, 염색 품질 등에 대하여 평가하게 됩니다. 이후 고배율에서는 핵과 세포질의 형태, 미생물의 유무 등을 평가하게 됩니다. 앞서 언급된 것과 같이 세포 검사의 한계(샘플링 한 부분이 전체 병변의 양상을 대변할 수 있는지에 대한 불확실성, 확진 수단이 아님, 세포의 형태적 특징 이외에 다른 부분들이 고려되지 않음)을 생각할 때, 모든 세포 검사는 진단 영상이나 임상적인 관찰 결과와 종합하여 해석-평가되어야 합니다. 자세한 임상 정보를 판독의에게 제공하는 경우, 보다 정확한 결과를 받을 수 있으므로 의뢰에 참고하시기 바랍니다.

단순 체표 mass의 경우에도 환자의 나이, 병변의 위치와 성상(단단한 정도, 단일 또는 다발성 발생, 질병의 시간적 경과) 등을 자세하게 기재해주시는 것은 매우 중요합니다. 또한, 혈액 도말이나 CSF 세포 검사의 경우 역시, 진단 영상이나 임상적 증상을 공유하여 주시면 더 주요하게 보아야 하는 부분을 파악할 수 있고, 감별 목록과 세포 검사 결과가 일치하는 질병들을 결과지에 추려서 보다 구체적인 판독문을 작성할 수 있기 때문에 임상 진료에 도움이 되는 결과를 위하여 의뢰 시 참고하여 주시기 바랍니다.

세포 검사는 입문은 어렵게 느껴질 수 있으나 환자의 진료 방향을 설정하는 데에 중요한 참고가 될 수 있는 검사로, 1차 병원과 2차 병원 모두에서 필요한 검사입니다. 다만, 세포 충실도가 너무 낮거나, 파열이 심하거나, 혈액 오염이 심한 경우에는 정확한 판독이 불가능할 수 있으며, 병변의 특성 상 세포학적으로는 진단이나 추정이 어려운 병변도 존재합니다. 판독 불가 시료와 관련된 내용은 다음 뉴스레터(세포병리 초급자용 가이드)에 다루어 보도록 하겠습니다.

바베시아(Babesia) 현황 및 진단과 치료

바베시아 국내 현황

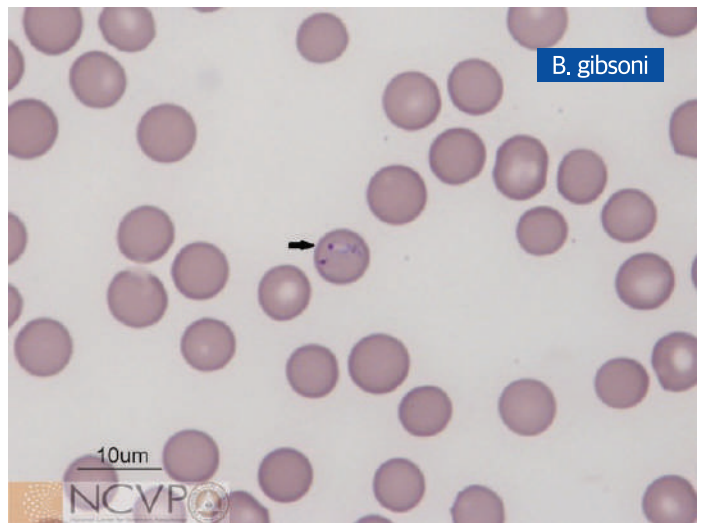
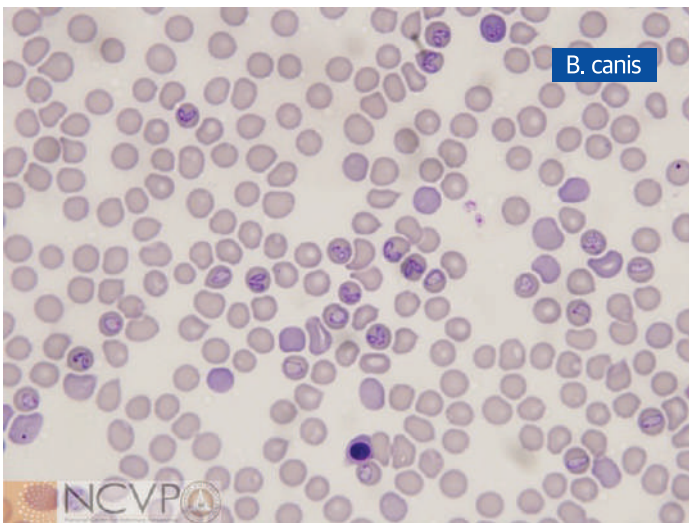
바베시아는 국내 반려견에서 질병을 일으키는 주요 병원체 중 하나입니다. 수혈이나 교상 등을 통해서도 전파될 수 있고 태반감염하는 경우도 있으나 *Haemaphysalis longicornis*, *Haemaphysalis flava* 등의 참진드기류에 물려 감염되는 경우가 많다고 알려져 있습니다. 따라서 진드기가 활발하게 활동하는 따뜻한 날씨에 발병률이 증가할 수 있습니다. 국내에서는 여러 바베시아 종 (species) 중 *B. gibsoni* 1종만이 검출되었으나 2022년 7월에 전라도에서 *B. canis*가 최초로 검출되었습니다.

바베시아 감염 시 임상증상

바베시아에 감염된 경우 식욕 부진, 기력 저하, 전신 쇠약, 발열, 체중 감소 등의 임상증상이 일반적으로 관찰됩니다. 급성감염의 경우 출혈성 빈혈 (hemolytic anemia), 혈소판 감소증 (thrombocytopenia), 황달, 비장 종대, 림프절 종대, 구토 등이 관찰될 수 있습니다. 만성감염의 경우 무증상 감염하는 경우도 있으며 발열 증상이 간헐적으로 나타날 수 있습니다.

바베시아 진단

혈액도말 검사법의 경우 높은 특이도를 나타내나 민감도가 높지 않아서 위음성이 나타날 수 있습니다. 특히 만성감염의 경우 바베시아가 혈액에서 낮은 농도로 존재하기 때문에 철저한 현미경 관찰이 필수적입니다.



▲ 그림 3. 혈액도말상 *B. canis* 및 *B. gibsoni* (from National Center for Veterinary Parasitology website)

검사코드	검사명	검체	TAT	검사항목
GID025	진드기: Canine tick/vector-borne pathogens (11종)	EDTA WB 1.0mL	2	<i>Babesia gibsoni</i> , <i>Leptospira</i> spp., <i>Anaplasma</i> spp., <i>Ehrlichia</i> spp., <i>Rickettsia</i> spp., <i>Bartonella</i> spp., Hemotropic mycoplasma, <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Theileria</i> spp., <i>Hepatozoon</i> spp., SFTSV
GID043	Ag&Ab: Babesia (Comprehensive, Canine)	EDTA WB 1.0mL	2	<i>Babesia gibsoni</i> antigen, <i>Babesia felis</i> antigen, <i>Babesia canis</i> antigen, <i>Babesia gibsoni</i> antibody
GID802	Ag: Babesia	EDTA WB 1.0mL	2	<i>Babesia gibsoni</i> antigen, <i>Babesia felis</i> antigen, <i>Babesia canis</i> antigen

▲ 표 1. 그린벳 제공 바베시아 PCR 검사

바베시아(Babesia) 현황 및 진단과 치료

[감염병검사] Ag & Ab: Babesia (Comprehensive, Canine)										
No.	Pathogens		결과 (양성,음성)	Class						Ct
	검사방법	항목		1	2	3	4	5	6	
1	Real-time PCR	Babesia gibsoni antigen	양성	4.2						24
2	Real-time PCR	Babesia felis antigen	음성	-						-
3	Real-time PCR	Babesia canis antigen	음성	-						-

No.	Pathogens		결과 (양성,음성)	Class						Class
	검사방법	항목		1	2	3	4	5	6	
1	ELISA	Babesia gibsoni antibody	양성	2.3						2.3

▲ 그림 4. 그린벳 바베시아 검사 결과 예시

PCR 검사의 경우 혈액도말 검사보다 5배 이상의 민감도를 갖는 것으로 알려져 있습니다. 그린벳에서는 B. gibsoni, B. canis, B. felis 등 3개 종에 대한 검사를 제공하고 있습니다 (참조: 표 1, 그림 4). 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 B.gibsoni는 약 9.63%의 높은 양성률을 나타냈습니다 (2023년 06월 양성률).

PCR 검사에 보조적으로 항체 검사를 이용할 수 있습니다. 모체이행항체의 경우 3주령까지 관찰될 수 있으며 감염항체는 감염 7~10일 후부터 검출되어 수 년간 지속될 수 있다고 알려져 있습니다. 또한 어린 연령의 강아지의 경우 Babesia 감염 시 면역체계가 미성숙하여 항체가 제대로 생성되지 않을 수 있습니다. 따라서 PCR 검사와 항체 검사 결과를 종합하여 감염 양상을 종합적으로 평가하는 데 도움을 받을 수 있습니다.

바베시아의 치료

바베시아의 종 (species)에 따라 치료하는 방법이 다릅니다 (참조: 표 2). B. canis의 경우 Imidocarb dipropionate 또는 Diminazene aceturate 등의 주사제가 가장 추천됩니다. B. gibsoni의 경우 Azithromycin/atovaquone 합제가 제일 좋은 효과를 나타내는 것으로 알려져 있습니다. 하지만 병원체에 돌연변이가 있거나 비장적출술 등으로 인해 환축의 면역이 저하된 경우 해당 치료에 저항성을 나타낼 수 있습니다. 이 때 Azithromycin/atovaquone 합제 대신 Clindamycin/doxycycline/metronidazole 합제를 이용해볼 수 있습니다.

B. gibsoni 치료에 Imidocarb dipropionate 또는 Diminazene aceturate 등을 이용할 경우 이환율과 치사율을 낮출 수 있으나 병원체를 완전히 제거하기는 어려운 것으로 알려져 있습니다.

성분명	용량 (mg/kg)	접종경로	투여간격	투여기간	B. canis에 대한 치료 효과	B. gibsoni에 대한 치료 효과
Imidocarb dipropionate	5 ~ 6,6	IM	1회	14일 후 재접종	매우 좋음	보통 / 좋지 않음
	7,5	IM	1회	-		
Diminazene Aceturate	3,5 ~ 5	IM	1회	-	매우 좋음	좋음
Azithromycin + Atovaquone	10	PO	24시간	10일	매우 좋음	매우 좋음
	13,3	PO	8시간	10일		
Clindamycin + doxycycline + metronidazole	25	PO	12시간	90일	보통 / 좋지 않음	좋음

▲ 표 2. 항바베시아 약물 (from Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat)

약물치료 외의 지지요법으로는, 빈혈이 심한 경우 적혈구 농축액 (packed red blood cell)을 이용해 수혈을 진행할 수 있으며 탈수가 심한 경우 정질용 수액 (crystalloid fluid)을 이용해 수액요법을 진행할 수 있습니다.

바베시아(Babesia) 현황 및 진단과 치료

바베시아 치료 후 팔로우업 검사

치료 종료 30일 후, 60일 후, 90일 후 등 총 3회 PCR을 시행하여 병원체가 완전히 제거된 것을 확인할 수 있습니다 (참조: 그림 5).



▲ 그림 5. 바베시아 치료 후 팔로우업 검사

바베시아의 예방

바베시아의 치료는 비용이 많이 들고 기간이 오래 걸리기도 합니다. 또한 약물에 저항성이 있는 분리주(isolate)의 경우 치료 효과가 없을 수 있기 때문에 예방이 중요합니다. 가장 중요한 예방수단은 진드기에 노출되지 않도록 예방하는 것으로 정기적으로 외부 구충제를 사용하여 진드기 구제 및 기피 효과를 유지할 수 있습니다. 반려견이 진드기에 노출된 후 바베시아에 감염되기까지 약 2~3일이 소요될 수 있기 때문에 진드기를 조기에 발견하여 제거할 수 있도록 산책이 끝난 이후에는 진드기가 붙어 있는지 확인하는 것이 필요합니다. 또한 바베시아는 수혈을 통해 전파될 수 있기 때문에 공혈견이 바베시아 항원 및 항체가 모두 음성임을 확인해야 합니다.

Reference

Sykes, J. E. (2022). *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat-E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Council, C. A. P. (2023). CAPC general guidelines, 2023.

Lee, M. J., Yu, D. H., Yoon, J. S., Li, Y. H., Lee, J. H., Chae, J. S., & Park, J. (2009). Epidemiologic and clinical surveys in dogs infected with *Babesia gibsoni* in South Korea. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9(6), 681-686.

Karasová, M., Tóthová, C., Grellová, S., & Fialkovičová, M. (2022). The etiology, incidence, pathogenesis, diagnostics, and treatment of canine babesiosis caused by *Babesia gibsoni* infection. *Animals*, 12(6), 739.

Miranda, E. A., Han, S. W., Rim, J. M., Cho, Y. K., Yu, D., Choi, K. S., & Chae, J. S. (2022). Clinical and Subclinical Cases of Canine Babesiosis Caused by *Babesia gibsoni* in the Republic of Korea. *Journal of veterinary clinics*, 39(5), 207-216.

바베시아 캐니스 국내 첫 감염 보고...새 병원체 유입됐다 [internet], downloaded in 2023 July 10, available at: <https://www.dailyvet.co.kr/news/practice/companion-animal/174795>

Tick-Borne Disease Agents [internet], downloaded in 2023 July 12, available at: <https://www.ncvetp.org/tick-borne-disease-agents/protozoa>

