

總白血球數, 好酸球數 및 기타白血球數의 直接計算을 위한 改良稀釋液에 관한 研究

李 芳 煥

서울産業大學 獸醫學科

緒 論

현재까지 사람이나 포유가축의 白血球數를 計算하는데 필요한 稀釋液으로서 1% 鹽酸水溶液 또는 1~3% 冰醋酸水溶液 100ml에 1% gentian violet 水溶液/1ml를 가한 것(Türk solution)^{2),3)}이 주로 사용되고 있다.

저자는 이 稀釋液을 사용하여 많은 종류의 포유가축의 白血球數 計算을 실시한 경험을 통해서 불편을 느낄 때가 한 두번이 아니었다. 그 까닭은 첫째로 동물 종류에 따라 이 회색액 속에서 白血球가 취약 위축해지는 경우가 있어 특히 소와 양과 같은 반주동물의 白血球는 이 회색액 속에서 눈에 띄게 위축되어 보이며 이와같은 현상은 毒血症을 수반한 어느 병적상태의 개체에서도 간혹 볼 수 있다는 점, 둘째로 이 회색액내의 gentian violet는 白血球의 核을 染色할 뿐 細胞質은 거의 染色하지 않는다는 점 등으로 白血球의 형태가 不定形으로 부각되기 때문에 稀釋된 血液 속에 混有될 수 있는 色素片, 赤血球의 파괴편 또는 먼지와 같은 異物과의 감별이 매우 어렵기 때문이라고 판단되었다. 이와같은 애로는 특히 야외에서 採血하고 야외의 불결한 환경에서 血液檢査를 강행할 때 자주 경험되었다.

이러한 애로는 白血球의 형태를 동만하게 유지할 수 있게 하고 동시에 核과 細胞質이 다 같이 染色될 수 있는 稀釋液을 사용함으로써 해소될 수 있으리라고 생각되어 이 연구를 시도하였다.

또한 이와 병행하여 單一한 稀釋液을 사용하여 동일한 血球計算板 위에서 白血球總數를 셈하면서 동시에 血液學的 診斷에 큰 의의를 가진 好酸球 및 好鹽基球의 絕對數를 직접 셈할 수 있는 새로운 多目的稀釋液의 調製를 시도하였다.

材料 및 方法

供試血液 : 成牝豚 4두, 1년생 牝犬 1두, 5개월 Hampshire種 牝豚 1두 그리고 2년생 韓牛 牝牛 2두에서

필요에 따라 수시로 常法에 의하여 靜脈採血하여 즉시 냉장고에 保存하면서 사용하였으며 24시간이 지난 血液은 폐기하였다. 특히 韓牛는 總白血球數, 好酸球數 및 好鹽基球數의 直接計算을 위해 조제된 多目的 稀釋液의 성능을 평가하는데 便利하기 위하여 多頭飼育牛群中에서 외관상 건강하면서 好酸球數가 많은 것 2두를 선택하여 供試하였다.

抗血 凝固劑는 EDTA (disodium salt)를 사용하였으며 그 용량은 血液 1ml 당 2mg로 되게 하였다⁴⁾. 사람 (21세, 未婚女)의 血液(3ml)은 병원에서 구하여 동일한 방법으로 供試하였다.

稀釋液의 調製 : 赤血球를 파괴하거나 또는 보이지 않게 하는 부형제로서는 각종 濃度의 鹽酸, 冰醋酸 또는 propylene glycol을, 白血球染色을 위한 色素로서는 phloxine, gentian violet, methyl violet, methylene blue, Wright stain 또는 Giemsa stain을 그리고 白血球의 팽만도를 조절하는에는 生理食鹽水 또는 5% dextrose액과 같은 等張液을 사용하였으며 이들을 취사선택하여 적절한 稀釋液이 될 수 있게 배합 조제하였다.

稀釋液의 判定 : 우량하다고 인정되는 선택된 회색액을 판정하기 위해서는 동일한 1개의 白血球計算用 피펫을 사용하여 동일한 血液標本을 지금까지 常用되어 온 Türk液과 선택된 새 稀釋液으로 각각 회색하여 血球計算板으로 옮긴 후 白血球의 형태와 染色性を 鏡檢으로 비교 관찰하는 한편 각각 5~10회 반복하여 白血球의 數를 計算함으로써 비교 판정하였다.

總白血球數, 好酸球數 및 好鹽基球數를 동시에 直接計算할 수 있는 多目的稀釋液을 판정하기 위해서는 多目的稀釋液을 통해서 直接計算된 이들 白血球의 數值를 Türk液 白血球計算值와 塗抹染色標本상의 白血球百分比에 의해서 산출된 이들 白血球의 間接計算值에 비교함으로써 多目的稀釋液의 실용적인 신빙성을 평가하였다. 이 경우에도 역시 동일한 1개의 白血球計算用 피펫과 동일한 血液標本을 사용하였다.

白血球數計算 : 白血球數의 계산에 있어서는 한결같이

血液을 20배로 희석하여 한 計算室의 4개의 1mm^3 구획(제 4mm^2) 내의 白血球 總數를 셈하고 이 수치의 50배($10 \times 20/4$)를 1mm^3 당의 總白血球數로 정하였다.

好酸球數 및 好鹽基球數의 直接計算에 있어서는 血液을 20배로 희석하여 한 計算室의 9개의 1mm^2 구획(제 9mm^2) 내의 好酸球 및 好鹽基球의 總數를 각각 셈하고 이 수치에 각각 200/9을 곱하여 1mm^3 당의 總數를 산출하였다.

結 果

總白血球數 計算用 改良 稀釋液: 總白血球數計算用 희석액의 조제에 있어서 중요한 점은 白血球를 原形으로 유지할 수 있게 하면서 赤血球만을 파괴 또는 보이지 않게 하고 동시에 白血球를 染色하여 鏡檢에 있어서 잘 부각되게 하여야 한다. 이 실험에 있어서는 赤血球를 파괴 또는 보이지 않게 하는 물질로서 종래에 사용되어 온 鹽酸(HCl)과 水醋酸(HAc) 그리고 propylene glycol (PropG)을 사용하였고 여기에 증류수(H_2O) 生理食鹽水(NaCl) 또는 5% dextrose (Dex)를 각각 가하여 각종 농도의 溶液으로 만들었으며 白血球를 染色 부각시키기 위해서 이들 溶液에 일률적으로 1% gentian violet 水溶液(G)을 100ml 당 1ml의 비율로 첨가하였다. 生理食鹽水 또는 5% dextrose 液과 같은 等張液을 사용한 것은 白血球를 가급적이면 原形으로 유지하기 위해서 시도한 것이다. 그 결과는 第1表에 요약되었다.

鹽酸을 함유한 稀釋液에 있어서는 鹽酸의 水溶液($\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}-\text{G}$), 鹽酸의 生理食鹽水溶液($\text{HCl}-\text{NaCl}-\text{G}$) 그리고 鹽酸의 張葡萄糖液溶液($\text{HCl}-\text{Dex}-\text{G}$) 등이 다 같이 鹽酸의 濃度가 2%로 높아지면 赤血球의 파괴효과가 불량해졌고 동시에 白血球의 형태 및 부각의 정도도 불량해졌으며 0.5~1% $\text{HCl}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 가 비교적 양호한 편이었다.

水醋酸을 함유한 稀釋液에 있어서는 水醋酸의 等張葡萄糖液溶液($\text{HAc}-\text{Dex}-\text{G}$)을 제외한 水醋酸의 水溶液($\text{HAc}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$)과 水醋酸의 生理食鹽水溶液($\text{HAc}-\text{NaCl}-\text{G}$)이 양호하였으며 이들 중에서도 특히 1% $\text{HAc}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 와 1~2% $\text{HAc}-\text{NaCl}-\text{G}$ 가 우량하였다. 이 두 가지 우량한 稀釋液의 장단점을 鏡檢으로 비교했을 때 1% $\text{HAc}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 는 赤血球의 파괴가 잘 되어 부각된 白血球의 배경이 깨끗한 반면에 白血球의 형태가 不良(白血球가 小形으로 보였으며 核과 細胞質의 구분이 잘 되지 않고 核만이 靑色으로 염색되었다) 하였

다. 이것과는 대조적으로 1~2% $\text{HAc}-\text{NaCl}-\text{G}$ 는 극소수의 赤血球의 基質이 투명 또는 淡靑色으로 희미하게 보여 부각된 白血球의 배경에 나타난 결점은 있었으나 白血球의 형태가 良好(白血球가 大形으로 보였으며 核은 짙은 靑色으로 그리고 세포질은 淡靑色으로 구분이 명확하여 白血球의 原形이 잘 부각되었다)하여 이물과의 식별이 용이한 장점이 있었다.

Propylene glycol (PropG)을 함유한 稀釋液에 있어서는 第1表에서 보는바와 같이 이것의 水溶液($\text{PropG}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$)은 PropG의 농도가 낮을수록 赤血球 소실 효과가 不良해지는 경향이 있으나 반대로 白血球는 大形으로 보였으며 동시에 核과 細胞質이 명확하게 구분되어 결국 10% $\text{PropG}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 는 1% $\text{HAc}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 또는 1~2% $\text{HAc}-\text{NaCl}-\text{G}$ 에 못지않게 우량한 희석액으로 이용될 수 있음을 알게 되었다. 그러나 PropG의 生理食鹽水溶液($\text{PropG}-\text{NaCl}-\text{G}$)은 50%에서 비교적 양호한 성적을 보였으나 30% 이하의 농도에서는 赤血球의 소실효과 및 白血球의 형태가 다같이 불량해졌다.

혈액을 gentian violet가 가해진 증류수($\text{H}_2\text{O}-\text{G}$)만으로 희석하면 赤血球의 파괴효과도 좋고 白血球의 부각이 비교적 잘 되므로 總白血球數計算用稀釋液으로서 이용될 수도 있겠으나 核 이외의 세포질이 잘 보이지 않으므로 이물과의 식별이 어려웠다.

이상과 같은 소견을 총괄했을 때 지금까지 總白血球數計算用 희석액으로 널리 이용되고 있는 1% $\text{HCl}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 또는 1~3% $\text{HAc}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 와 더불어 이 실험에서 새로히 조제된 1~2% $\text{HAc}-\text{NaCl}-\text{G}$ 또는 10% $\text{PropG}-\text{H}_2\text{O}-\text{G}$ 도 實用性이 있음을 알게 되었으며 특히 後二者는 이물과의 식별이 용이하므로 더욱 정확한 白血球數計算이 가능하다는 것을 알게 되었다. 이 실험에서 얻은 이들 두 가지 우량한 稀釋液과 Türk液을 사용하여 家兔와 牛에서 採血한 각 하나의 血液標本에서 總白血球數計算을 5회 반복하여 비교한 결과는 第2表에서 보는바와 같이 三者間에 하등의 의의있는 차이를 인정할 수 없었다.

各種白血球數 直接計算을 위한 多目的稀釋液: 이 실험은 好酸球의 單一直接計算用 稀釋液인 Pilot溶液^{1,3,6}에서 착안되었다. 이 희석액은 Propylene glycol, 炭酸소다 및 phloxine을 함유한다. Propylene glycol 鏡檢下에서 赤血球를 보이지 않게 하는 역할을 하고 炭酸소다는 鹽基에 저항하는 好酸球만을 남기고 나머지 白血球를 파괴하며, phloxine은 好酸球만을 赤色으로 染色한다. 따라서 이 溶液에서 炭酸소다를 除去하고

Table 1. Comparison of Various Diluting Fluids for Total Leukocyte Count

Diluting Fluids for Total Leukocyte Count	Destruction or Invisibility of Erythrocytes	Cell Morphology of Leukocytes	Discrimination from Other Particles and Expediency of Cell Counting	Summary
H ₂ O-G	A	B	B	B
0.5% HCl-H ₂ O-G	B	B	B	B
1% HCl-H ₂ O-G	A	B	B	B
2% HCl-H ₂ O-G	F	F	F	F
1% HCl-NaCl-G	C	B	C	C
2% HCl-NaCl-G	F	F	F	F
1% HCl-Dex-G	C	C	C	C
2% HCl-Dex-G	F	F	F	F
0.5% HAc-H ₂ O-G	B	B	A	B
1% HAc-H ₂ O-G	A	B	A	A
2% HAc-H ₂ O-G	A	B	B	B
3% HAc-H ₂ O-G	A	B	B	B
0.5% HAc-NaCl-G	B	A	B	B
1% HAc-NaCl-G	B	A	A	A
2% HAc-NaCl-G	B	A	A	A
3% HAc-NaCl-G	A	B	B	B
1% HAc-Dex-G	F	D	F	F
2% HAc-Dex-G	C	C	C	C
3% HAc-Dex-G	C	C	C	C
50% PropG-H ₂ O-G	A	C	C	C
30% ProcG-H ₂ O-G	A	B	B	B
10% PropG-H ₂ O-G	B	A	A	A
50% PropG-NaCl-G	A	B	B	B
30% PropG-NaCl-G	F	D	F	F
10% PropG-NaCl-G	F	F	F	F

H₂O: Distilled water, HCl: Hydrochloric acid, HAc: Glacial acetic acid, NaCl: Normal saline solution, Dex: 5% dextrose solution, PropG: Propylene glycol, G: 1/100 parts of 1% gentian violet aqueous solution. A: Very good, B: Good, C: Fair, D: Poor, F: Very poor.

Table 2. Comparison of Range and Mean of Five Repeated Total Leukocyte Counts by Three Different Diluting Fluids in a Same Blood Sample from a Rabbit and a Cow

Diluting Fluid	1% HAc-H ₂ O-G		1% HAc-NaCl-G		10% PropG-H ₂ O-G	
	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
Rabbit Blood	5,300~5,750	5,460	5,250~5,650	5,450	5,250~5,700	5,320
Cow Blood	6,750~7,500	7,250	6,800~7,450	7,300	6,700~7,400	7,220

1% HAc-H₂O: 1% acetic acid aqueous solution. 1% HAc-NaCl: 1% acetic acid in normal saline solution. 10% PropG-H₂O: 1% propylene glycol aqueous solution. G: 1/100 part of 1% gentian violet aqueous solution.

他白血球에 適應되는 染色素를 가한다면 多目的稀釋液으로 이용될 수 있을 것으로 推理하여 鹽基性染色素를 위주로 한 各種染色素 즉 methylene blue, methyl violet, gentian violet, 그리고 Romanowsky stain으로서 Wright 및 Giemsa stain 등을 첨가하여 보았다. 그 결과 이들 染色素中 methylene blue를 적절히 가했을 때 그 목적의 일부를 달성할 수 있었다. 이 실험에서 선발된 다 목적 회색액의 조제비율은 다음과 같다.

- propylene glycol50ml
- distilled water40ml
- 1% phloxine in distilled water 5ml
- 1% methylene blue in methyl alcohol 5ml

이 회색액을 잘 교반하여 여과한 후 철저히 마개를 하여 室溫에 두었을 때 최소한 1개월간은 안정하게 사용될 수 있었다.

이 회색액으로 血液을 회색하면 好酸球는 好酸性顆粒과 이들 과립으로 충만된 부분의 세포질이 전면 赤色으로 染色되어 뚜렷하게 부각되었고 나머지 부분은 淡靑色으로 염색되기 때문에 好酸球의 細胞 原形이 전부 부각되었다.

好鹽基球는 짙은 暗靑色의 顆粒이 밀집한 것 같이 보인 丹形細胞로 뚜렷하게 부각되었으며 특히 家兎와 돼지의 血液에서 비교적 많이 出現하였다.

나머지 3種의 白血球(好中球, 淋巴球 및 大單球)는 전면 淡靑色으로 染色되고 核은 비교적 濃染되어 核分葉像을 보이기도 하였으며 세포면연의 한계가 명확하여 好酸球는 물론 好鹽基球와도 판이하게 구분될 수 있었다. 또한 이 회색액에서는 지금까지 사용했던 Türk液 또는 기타의 회색액에서 보다 전반적으로 白血球의 형태가 크게 나타나는 長點을 볼 수 있었다.

이 회색액의 성능을 動物의 종류별로 비교 평가했을 때 사람의 血液이나 소와 돼지의 血液에서는 白血球種類別의 식별에 노력을 요하지 않고 단 시간에 매우 쉽게 計算될 수 있었다. 그러나 개의 血液에서는 好酸球의 赤色層이 細胞면연에 輪狀으로 나타날 뿐 잘 부각되지 아니하므로 好酸球의 計算에는 매우 노력을 요하는 觀點이 있었으며 그러나 總白血球數의 計算은 용이하였다. 家兎의 血液에 있어서는 暗靑色의 好鹽基球, 赤色の 好酸球 그리고 淡靑色の 기타의 白血球의 구분이 잘 되었으나 여기서 특기할 것은 家兎의 pseudo-eosinophil(偽好酸球—이는 他動物의 好中球과 같은것도 赤色の 好酸球와 같은 所見으로 나타나 eosinophil과 psedo-eosinophil이 구별되지 않는다는 점이었다.

요컨대 이 실험에서 조제된 稀釋液은 사람, 소, 돼지의 血液檢査에 있어서는 總白血球數, 好酸球數 및 好

鹽基球數를 동시에 쉽게 計算할 수 있는 多目的稀釋液으로서 實用될 수 있을 것으로 인정되었다.

이 多目的稀釋液을 이용한 總白血球數 好酸球數 및 好鹽基球數의 直接計算值를 종래의 Türk液에 의한 總白血球數值 및 血液塗抹標本上의 白血球百分比에서 얻은 好酸球와 好鹽基球의 間接計算值에 비교하여 보았으며 그 결과는 第3表에 요약되어 있다. 이들의 비교 실험에 있어서는 동일한 血液標本과 同一한 白血球計算用 피펫을 사용하여 반복 計算하였다. 第3表에서 보는 바와 같이 兩者間에 의의있는 차이를 인정할 수 없었으며 好酸球 및 好鹽基球의 直接計算值에 있어서 間接計算值에 있어서보다 兩限界値의 폭이 축소되고 또한 平均値가 낮은 경향(통계적으로는 有意差가 없다)으로 나타난 점이 주목되었다. 개에 있어서는 이 회색액에 의한 好酸球의 直接計算에 있어서 好酸球의 식별에 노력과 시간이 요하여 2회 반복 計算으로 끝였으나 直接計算值와 間接計算值 사이에 큰 차이는 인정되지 않았다. 參考로 사람의 血液標本을 이용한 비교 실험의 결과도 第3表에 같이 수록하였다. 好鹽基球는 사람의 血液에서는 전면 나타나지 않았기 때문에 이에 관한 평가는 할 수 없었으나 好酸球數의 直接計算值는 間接計算值보다 신빙성이 있음을 알 수 있었다.

考 察

白血球系의 形態學的檢査는 각종 白血球의 數의變化 또는 異常白血球의 파악 등을 통해서 여러 疾病의 診斷을 보조 또는 확정하는데 중요한 역할을 한다. 특히 근래 각종 白血球의 기원과 기능이 점차로 밝혀져감에 따라 疾病診斷뿐만 아니라 動物의 각종 실험처리에 있어서 체내에 일어나는 여러 器質的變化 또는 機能的變化의 간접측정법의 하나로써 白血球系의 형태학적 검사는 점차로 중요한 위치를 차지해가고 있다.

白血球系의 형태학적 검사는 먼저 總白血球數의 파악이 필요하고 다음에 각종 白血球의 百分比分布 내지 絕對數의 파악 그리고 최종적으로 血液染色塗抹標本の 鏡檢에 의한 病的白血球의 出現을 파악하는 것이 常例의 인 순서로 되어 있다.

이 研究에 있어서는 總白血球數와 각종 白血球數의 直接計算을 위해 가장 기본이 되는 血液稀釋液에 관한 실험을 다루었다.

總白血球數計算用 改良稀釋液: 이 실험에서 시도했던 여러 改良稀釋液 중에서 1~2% HAc-NaCl-G와 10% PropG-H₂O-G가 가장 우량하였으며 이들 稀釋液에 있어서는 종전에 사용되어 왔던 1% HCl-H₂O-G

Table 3. Comparison of Concurrent Direct Counts of Total Leukocytes, Eosinophils and Basophils by New Multipurpose Diluting Fluid to Routine Counts of Those

Groups Comparing Data Analysis Blood Samples	WBC Count by Türk Sol. and Indirect Counts of Eosinophils and Basophils		Concurrent Direct Counts by New Multipurpose Diluting Fluid		Statistical Analysis
	Total WBC Eosinophils Basophils		Total WBC Eosinophils		
	Repeat(n)	Range Mean & SD	Repeat(n)	Range Mean & SD	
Bovine- Blood I	5	5 5 5	5	5 5 5	Total WBC: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 0.35 < 2.31 = P _{0.05} Eosinophils: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 0.87 < 2.31 = P _{0.05}
	13,400~15,500 14,360± 898	4,703~6,030 5,272± 489	0~78 31	4,689~5,400 5,051± 285	
Bovine- Blood II	5	5 5 5	5	5 5 5	Total WBC: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 0.47 < 2.31 = P _{0.05} Eosinophils: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 0.52 < 2.31 = P _{0.05}
	6,150~6,600 6,340± 171	938~1,452 1,220± 209	0 0	1,044~1,267 1,147± 94	
Swine- Blood I	5	5 5 5	5	5 5 5	Total WBC: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 0.31 < 2.31 = P _{0.05} Eosinophils: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 1.15 < 2.31 = P _{0.05} Basophils: D.F. = 2(n-1) = 8 t ₈ = 0.67 < 2.31 = P _{0.05}
	12,150~12,100 12,790± 380	261~450 358± 70	0~122 63± 43	267~378 316± 43	
Canine- Blood	2	2 2 2	2	2 2 2	Total WBC: D.F. = 2(n-1) = 18 t ₁₈ = 0.52 < 2.10 = P _{0.05} Eosinophils: D.F. = 2(n-1) = 18 t ₁₈ = 0.35 < 2.10 = P _{0.05}
	17,350~19,200 18,275± 1,303	576~781 679± 145	0 0	600~711 666± 79	
Human- Blood	10	10 10 10	10	10 10 10	Total WBC: D.F. = 2(n-1) = 18 t ₁₈ = 0.52 < 2.10 = P _{0.05} Eosinophils: D.F. = 2(n-1) = 18 t ₁₈ = 0.35 < 2.10 = P _{0.05}
	6,900~7,400 7,160± 175	103~315 215± 64	0 0	156~267 207± 33	

또는 1~3% HAc-H₂O-G (Türk 液)에 있어서보다白血球의 형태가 위축되지 않고 大形으로 보이며 동시에 세포의 변연이 명료하여 잘 부각되기 때문에異物과의 감별이 용이하였다. 특히 Türk 液에 의한牛血液의白血球數計算에 있어서異物과의 식별 때문에 애로에 봉착하였던 목장 수의사에게 1% HAc-NaCl-G를 사용케 하였던 바 즉석에서 무난히 計算을 수행할 수 있음을 경험하였으며 현재 이 改良稀釋液은 일부 목장 수의사에 의해서 즐겨 이용되고 있다.

1~2% HAc-NaCl-G는 Türk液의 증류수를生理食鹽水로 代置한 것이며 이 회색액에서白血球의 형태가 우량하게 보인 것은生理食鹽水의等張液效果에 기인한 것으로 사료되었다. 그 반면에醋酸의濃도가 동일한 경우赤血球의 파괴효과는 증류수에 있어서보다生理食鹽水에 있어서 낮은 경향을 보였다. 10% PropG-H₂O-G 회색액의 경우에 있어서는 propylene glycol의 농도가 높아질수록白血球의 형태는 변연이 불규칙한雲架狀으로巨大化되어지는 반면에赤血球는 더욱 보이지 않게 되고 이 농도가 낮아질수록白血球는小形化되고赤血球는 차츰 돌보이게 되었다. 결국 10%의 농도에서白血球는 약간大形이지만 비교적 원만한形狀을 유지하였고赤血球는 돌보이기 시작하는限界인 듯하였다. 이 회색액은 HAc-NaCl-G에 비해서白血球의 내부구조가 선명하지 못하는 결함이 있었으나異物과의 식별은 용이하였다.

多目的稀釋液:白血球種類別 絕對數의 파악을 위해서는 지금까지 常例적으로 적용되어 오고 있는間接計算法보다는直接計算法이 바람직하다. 그 理由는間接計算法에 있어서는血液塗抹標本상의 각종白血球의 分布가 고루지 못하여 이것의 百分比에서 算出된 絕對數의 신빙성이 적을 뿐만 아니라 操作이 복잡하고 많은 時間이 소요되기 때문이다. 더우기 특정한白血球種類의 精確한 數의變化를 파악해야 하는 實驗에 있어서는間接計算法에 의한 결과는 판단에 착각을 일으키게 하는 경우가 더러 있다. 현재白血球種類別直接計算法을 적용할 수 있는 것은 Pilot^{4,5,6}溶液을 이용한好酸球의直接計算法이 있으며 또한 Moor 및 James⁵에 의해서好鹽基球의直接計算法도 제창되었기는 하나 별로 실용되지 않고 있다.

저자는好酸球數의直接計算의 많은 경험을 통해서 이稀釋液의調製의難點 그리고血球計算板의鏡檢에 있어서극소수의好酸球만의散發적인고립出現 및非定形의好酸球形態에서 느껴지는計算上の自信感의결여 등과 같은애로에 봉착한 바 있으며 이와같은애로를 해소할 것은 물론가급적이면單一한稀釋液으로

總白血球數 및 好酸球數, 나아가서는 더 많은 다른 종류의白血球를 동시에直接計算할 수 있는多目的稀釋液을 鑛원하여 이 실험을 시도하게 되었다.

이 실험에서 만들어진 propylene glycol, phloxine 및 methylene blue를 主成分으로 한多目的稀釋液은先述한 바와 같이好酸球數, 好鹽基球數 및 總白血球數를 同一한 計算板 위에서 동시에直接計算할 수 있게 되어 있으며 특기할 것은 여기서 나타나는好酸球는 사람 그리고 소와 돼지의血液의 경우 Pilot溶液에서 나타난 것과는 달리細胞全面的 형태가 뚜렷하게 부각되어異物 또는 다른細胞와의鑑別에 있어서 淸楚한 지장이 없다는 점이었다. 이와같은 사실은好酸球數의直接檢査가皮膚疾患, 寄生蟲感染病, 알레르기病 등의診斷에 그리고 stress 반응 또는副腎皮質의 기능검사^{2,4}에 가치있게 이용되고 있는 사실에 비추어 매우 고무적인 결과라고 생각되었다. 그러나 반면에 개의血液의 경우에 있어서 이改良稀釋液에서의好酸球의 부각이 불량하였고 토끼의血液의 경우에 있어서는僞好酸球(pseudoeosinophils)와好酸球가 同一한 形態로 나타났으며 이러한 불비점을 해소하기 위해서는 더욱 많은 연구가 필요할 것으로 고려되었다.

이多目的稀釋液에 의해서直接計算될 수 없는三種의白血球, 즉好中球, 淋巴球 그리고大單球 등을 위한直接計算法도 앞으로研究되어야 할 과제이며 이들중 특히 그數가 적고血液染色塗抹標本上에서도大淋巴球와의 감별이 매우 어려운大單球에 대한直接計算法の 개척은 더욱 절실히 요망된다.

結 論

이 研究는 현재 常用되고 있는 總白血球數計算用稀釋液을改良하고 또한 總白血球數, 好酸球數 및 기타 종류의白血球數를 同時에直接計算할 수 있는多目的稀釋液을 調製하기 위하여 수행되었으며 그 結果는 다음과 같이 要約되었다.

1. 아래(處方 I, II)의 改良稀釋液은 사람 그리고 소, 돼지, 개 및 가토血液의 總白血球計算에 이용될 수 있었으며 이들稀釋液은 1% 鹽酸水溶液이나 Türk液보다白血球의 세포구조를 더욱 분명하게 부각시켜異物과의 감별을 용이하게 하는長點이 있었다.

處方 I. 生理食鹽水.....100ml
氷醋酸.....1~2ml
1% gentian violet 水溶液.....1ml
잘 혼합하여 여과한 후 사용한다.

處方 II. 증류수.....90ml

propylene glycol.....10ml

1% gentian violet 水溶液.....1ml

잘 혼합하여 여과한 후 사용한다.

2. 아래(處方Ⅲ)의 多目的稀釋液은 사람 그리고 소와 돼지 血液의 總白血球數 및 好酸球數의 同時的인 直時計算에 이용될 수 있었으며 이 회석액에서 好鹽基球도 잘 부각되었다. 好酸球는 好酸顆粒이 있는 부분의 赤色層과 기타 부분의 青色層의 二重色層으로 보였고 好鹽基球는 暗青色顆粒이 密集한것 같은 圓形細胞로 보였으며 나머지 3種의 白血球는 淡青色으로 보여 식별이 용이하였다.

그러나 개의 好酸球는 赤色層의 부각이 불량하여 식별에 시간을 요하였다, 家兎血液에 있어서는 僞好酸球와 好酸球가 동일한 色層으로 나타나 兩者의 식별이 어려웠다.

處方Ⅲ. propylene glycol.....50ml

증류수40ml

1% phloxine 水溶液5ml

1% methylene blue in methyl alcohol

溶液5ml

잘 혼합하고 여과한 후 密栓하여 보존

하면서 사용한다.

Legends for Figures

Leukocytes in various direct counting fluids

- Fig. 1. Bovine leukocytes in 1% hydrochloric acid aqueous solution plus gentian violet. ×100.
- Fig. 2. Swine leukocytes in 1% acetic acid aqueous solution plus gentian violet (Türk's solution). ×100.
- Fig. 3. Bovine leukocytes in 2% acetic acid in normal saline solution plus gentian violet. ×100.
- Fig. 4. Swine leukocytes in 1% acetic solution plus gentian violet, ×100.
- Fig. 5. Bovine leukocytes in 10% propylene glycol aqueous solution plus gentian violet. ×100.
- Fig. 6. Swine leukocytes in 10% propylene glycol aqueous solution plus gentian violet. ×100.
- Fig. 7. Eosinophils (deeply colored) and other leukocytes of bovine blood in multipurpose diluting fluid. ×100.
- Fig. 8. Eosinophils (deeply colored) and other leukocytes of bovine blood in multipurpose diluting fluid. ×100.

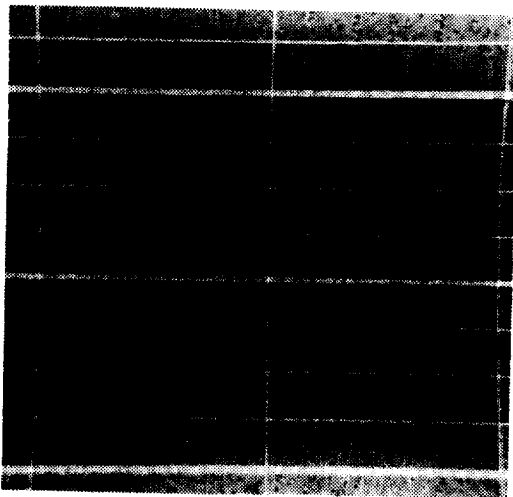


Fig. 1.

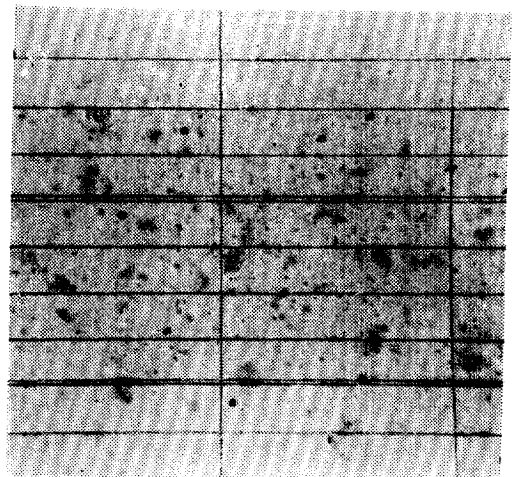


Fig. 2.

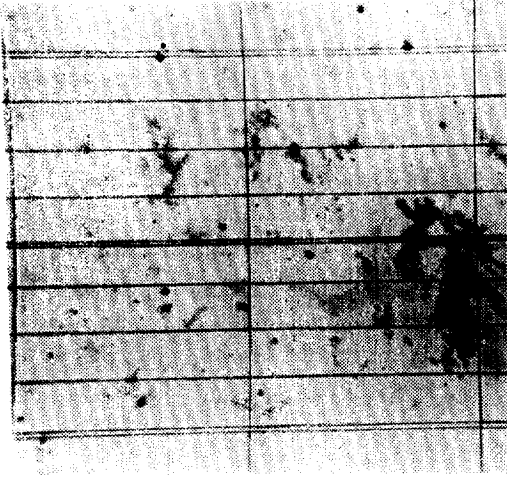


Fig. 3.

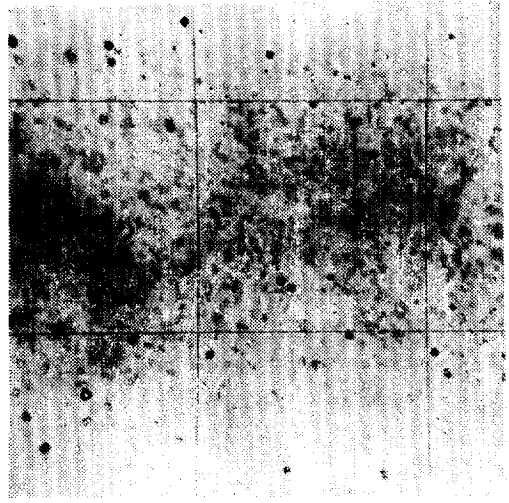


Fig. 4.

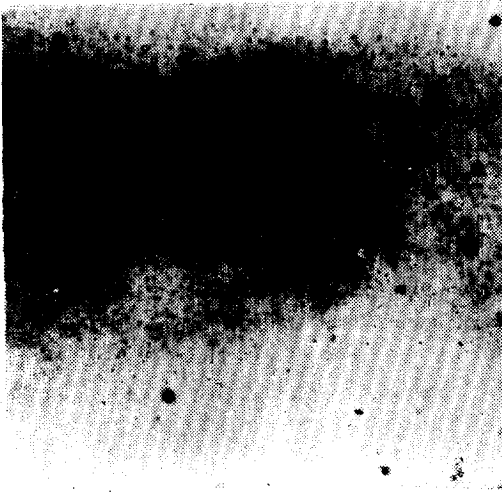


Fig. 5.

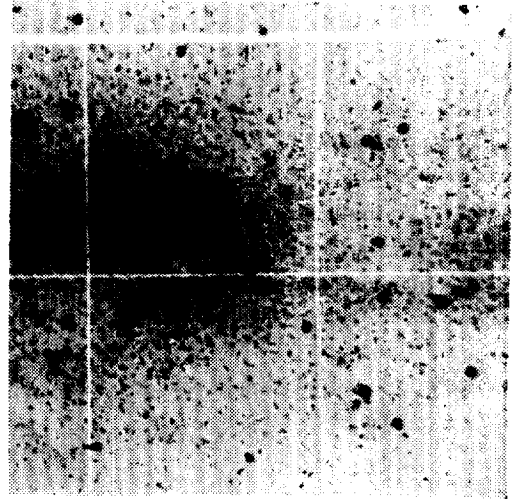


Fig. 6.

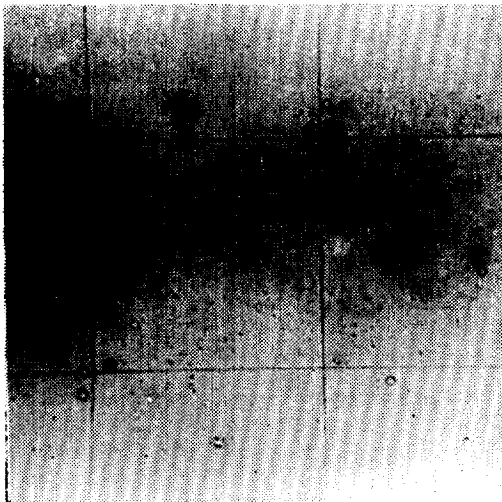


Fig. 7.

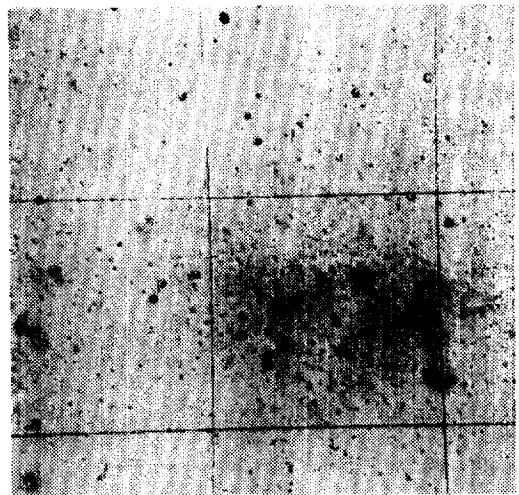


Fig. 8.

參考文獻

1. Farrington, E.M. and Jetter, W.W.: An improved staining for counting eosinophils in dogs. *Am. J. Clin. Path.* (1953) 23 : 836.
2. Hopwood, R.T. and Tibolla, B.J.: The effect of adrenocorticotrophic hormone on the circulating eosinophil level. A possible screening test for adrenal gland function in the cow. *Am. J. Vet. Res.* (1958) 19 : 933.
3. MacFarlane, J.C.W. and Cecil, G.W.: Eosinophil counting: A modification of Pilot's method. *Brit. M.J.* (1951) 2 : 1187.
4. Martin, J.E., Skillen, R.G. and Deubler, M.J.: The action of adrenocorticotrophic hormone on circulating eosinophils in dogs. A proposed screening method for evaluating adrenal cortical function. *Am. J. Vet. Res.* (1954) 15 : 489.
5. Moore, J.E. and James, G.W.: A simple direct method for absolute basophil leukocyte count. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1953) 82 : 601.
6. Pilot, M.L.: Use of base in fluids for counting eosinophils. *Am. J. Clin. Path.* (1950) 20 : 870.
7. Schalm, O.S.: *Veterinary hematology*. 2 ed. Lea & Febiger, Philadelphia (1965) p. 97.
8. Wintrobe, M. M.: *Clinical hematology*. 4 ed. Lea & Febiger, Philadelphia (1958) p. 379.
9. Wittgenstein, M.M.: Disodium ethylenediamine tetra-acetate. Anticoagulant for routine hematological work. *Am. J. Med. Tech.* (1953) 19 : 59.

Study on Improved Diluting Fluids for Direct Counts of Total Leukocyte, Eosinophil and Other Leukocytes

Bang Whan Lee, D.V.M., Ph.D.

Department of Veterinary Medicine, The City College of Seoul

Abstract

The study was conducted for an attempt to improve the diluting fluid for total leukocyte count, and to prepare a multipurpose diluting fluid for concurrent direct counts of total leukocytes, eosinophils and the other leukocytes.

Through the experiment, two better fluids for total leukocyte count of blood of human, bovine, swine, canine and rabbit were selected, and which conserved cell morphology of leukocytes better than Türk's solution. Each formula of two fluids were given as under R I and R II.

Formula of multipurpose diluting fluid selected in the experiment was given as under III. With this fluid, direct counts of total leukocytes, eosinophils and probably basophils of blood of human, bovine and swine were practicable concurrently in the same counting chamber of a hemocytometer.

In this fluid, eosinophils were stained red in the part of eosinophilic granules and blue in other part of cell, and basophils were stained dark blue like as a lump of black granules, staining three other leukocytes faint blue. Eosinophils of canine blood were not so enough red those in other animal and human and eosinophils of rabbit blood were not distinguishable from pseudoeosinophils in this fluid.

R 1. Normal saline solution100 ml
Glacial acetic acid1~2 ml
1% genitan violet aqueous solution1 ml
Mix and filter

℞ II. Distilled water.....90 ml
Propylene glycol.....10 ml
1% gentian violet aqueous
solution.....1 ml
Mix well and filter

℞ III. Propylene glycol.....50 ml
Distilled water.....40 ml
1% Phloxine aqueous solution.....5 ml
1% methylene blue in methyl
alcohol..... 5 ml
Mix thoroughly, filter and stopper
tightly