

白血球 Peroxidase反應에서 Kaplow法の의 應用方法에 對하여

서울保健專門學校

韓 良 一 · 羅 東 進

Modification Methods of Kaplow in Leucocyte Peroxidase Reaction

Yang IL Han, Dong Jin Rha

Seoul Health Junior College

Abstract

In the examination of leucocyte peroxidase reaction, almost methods were used by benzidine, but it was becoming clear carcinogen.

In this study was carried out by comparative Osgood and Asworth method with modified Kaplow method by use of 3-amino-9-ethyl carbasol.

In the result, Osgood and Asworth method and new modified Kaplow method in the periphera blood cells ($r=0.957$) and bone marrow cells ($r=0.972$) were high correlation.

I. 緒 論

現在 사용되고 있는白血球 peroxidase反應을 보기爲한方法에서 基質은 모두 benzidine을 利用하고 있는데 最近 berzidine이 發癌性物質로 判明됨으로써 製造가 禁止되어 있으며 入手가 不可能하게 되었다.

그러서 代用物의 出現이 要望되며 앞으로 代用物을 利用하여 檢査하는 方法도 改良하여야 되겠기에 여기서는 3-amino-9-ethylcarbasol을 利用한 改良法 즉 Kaplow改良法을 從來 사용하였던 Osgood and Asworth法과 比較檢討하여 소개하고자 한다.

II. 實驗方法

1. 檢査對象

對象은 서울保健專門學校 男女學生 各各 20名을 選定하여 末梢血液標本 80개와 N病院 入院患者 骨髓塗抹標本 10개를 使用하여 檢査하였다.

2. 檢査方法

檢査方法은 현재 널리 使用되고 있는 Osgood and Asworth方法과 Kaplow改良法을 使用하였다.

Kaplow改良法

1) 試藥

① Fixative

Formalin

② Acetone 완충액 (pH 6.6)

Sodium phosphate 20mg

Potassium monobasic phosphate 100mg

Formalin 25ml

Acetone 45ml

Distilled water 30ml

③ 基質液 (pH 5.5)

3-amino-9-ethyl carbasol. 10mg

Dimethyl sulfoxide solution 6ml.

0.02M acetate buffer solution (pH 5.0~5.2) 50ml

0.3% H₂O₂ solution 0.4ml

2) 過程

① 空氣乾燥시킨 血液塗抹標本 또는 骨髓標本을 for malin으로 5分間 固定한다.

② 다음에 acetone완충액에 5分間 담갔다가 흐르는 水道水에 3分間 水洗後 乾燥한다.

③ 미리 37°C로 加溫한 基質液을 固定시킨 標本上에 충분히 떨어뜨린 다음 15分間 放置한다.

④ 다시 標本을 흐르는 水道水에 水洗한後 乾燥시킨다.

⑤ Hematoxylin에서 20分間 對照染色後 흐르는 水道水에 水洗 乾燥後 檢鏡한다.

⑥ 長期 保存을 必要로 하는 경우에는 cover glass로 封入한다.

III. 檢査成績

1. 末梢血液標本

그림 1과 같이 나타났으며 白血球 peroxidase反應陽

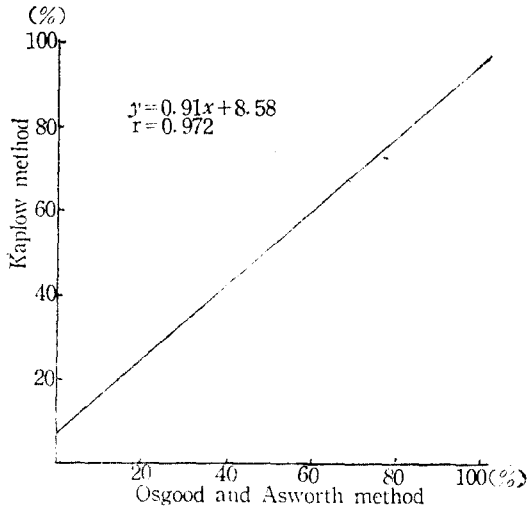


Fig. 1. A comparative values in percentages of leucocyte peroxidase reaction of Osgood and Asworth method and kaplow method in periperal blood cells.

IV. 考 察

Kaplow改良法の 固定時間은 15秒이나 이 檢査實驗에서는 染色性이 나쁘므로 5分으로 改良하여 使用하였다.

이 方法의 白血球 peroxidase反應 陽性 顆粒은 橙赤色으로 나타났으며 好中球系(Neutrophil)는 大型으로 선명하게 나타났으나 單球 (Monocytes)는 微細顆粒이 散在하여 弱陽性顆粒으로 染色되어 나타났다.

아직 從來의 方法에 比하여 染色時間이 길고 過程도 약간 복잡하며 xylol에 의하여 陽性顆粒의 消失이 보이므로 保存할 경우에는 cover glass로 封入시키지 않으면 안된다.

가장 重要한 缺點은 Osgood and Asworth法에서의 對照染色으로 Wright 또는 Giemsa染色에서 細胞의 同定이 容易한 것에 비해서 이 方法에서는 이 點이 나쁘고 單球와 淋巴球의 鑑別에 곤란을 느꼈다.

이러한 點은 앞으로의 充分한 檢討로서 補完되리라

性 出現率은 Osgood and Asworth法과 比較하여 본 結果 相關係數는 0.957로 높은 相關이 얻어졌다.

2. 骨髓標本

그림 2와 같이 나타났으며 白血球 peroxidase反應 陽性 出現率은 Osgood and Asworth法과 比較하여 본 結果 末梢血液標本과 같이 相關係數는 0.972로 높은 相關이 얻어졌다.

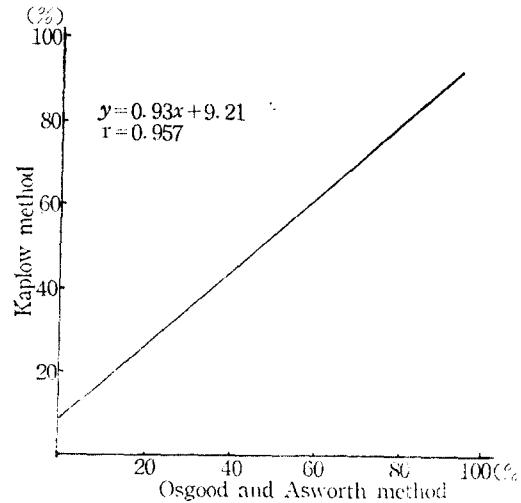


Fig. 2. A comparative values in percentage of leucocyte peroxidase reaction of Osgood and Asworth method and kaplow method in bone marrow cells.

믿는다.

以上과 같이 多少의 缺點은 인정되지만, 從來法에 대신할 수 있는 檢査法으로서 使用할 수 있다고 생각되며 또한 가까운 장래에 이러한 試藥도 kit로서 市販할 수 있다고 본다.

V. 摘 要

白血球 peroxidase反應 陽性出現率을 從來法인 Osgood and Asworth法과 改良된 Kaplow法을 相互 比較 檢討하여 본 結果 末梢血液標本($r=0.957$)과 骨髓標本($r=0.972$)에서 모두 높은 相關을 얻었다.

參 考 文 獻

1. Graham, R.C, Jr. et al.; Cytochemical demonstration of peroxidase activity with 3-amino-9-ethylcarbazole. J. Histochem. cytochem., 13, 50, 1965.
2. Cartwright, G.E.; Diagnostic Laboratory Hemato-

- logy, 3rd. ed., 132. Grune and stratton, New York, 1966.
3. Williams and others: Hematology, McGraw-Hill, Inc. p. 1393, 1972.
 4. Kaplow, L.S.: Letters to editor. Substitute for benzidine in myeloperoxidase stains Amer.J. clin. path., 63, 451, 1975.
 5. B.H. Hyun and others: Practical Hematology, W. B. Saunders company, p. 326, 1975