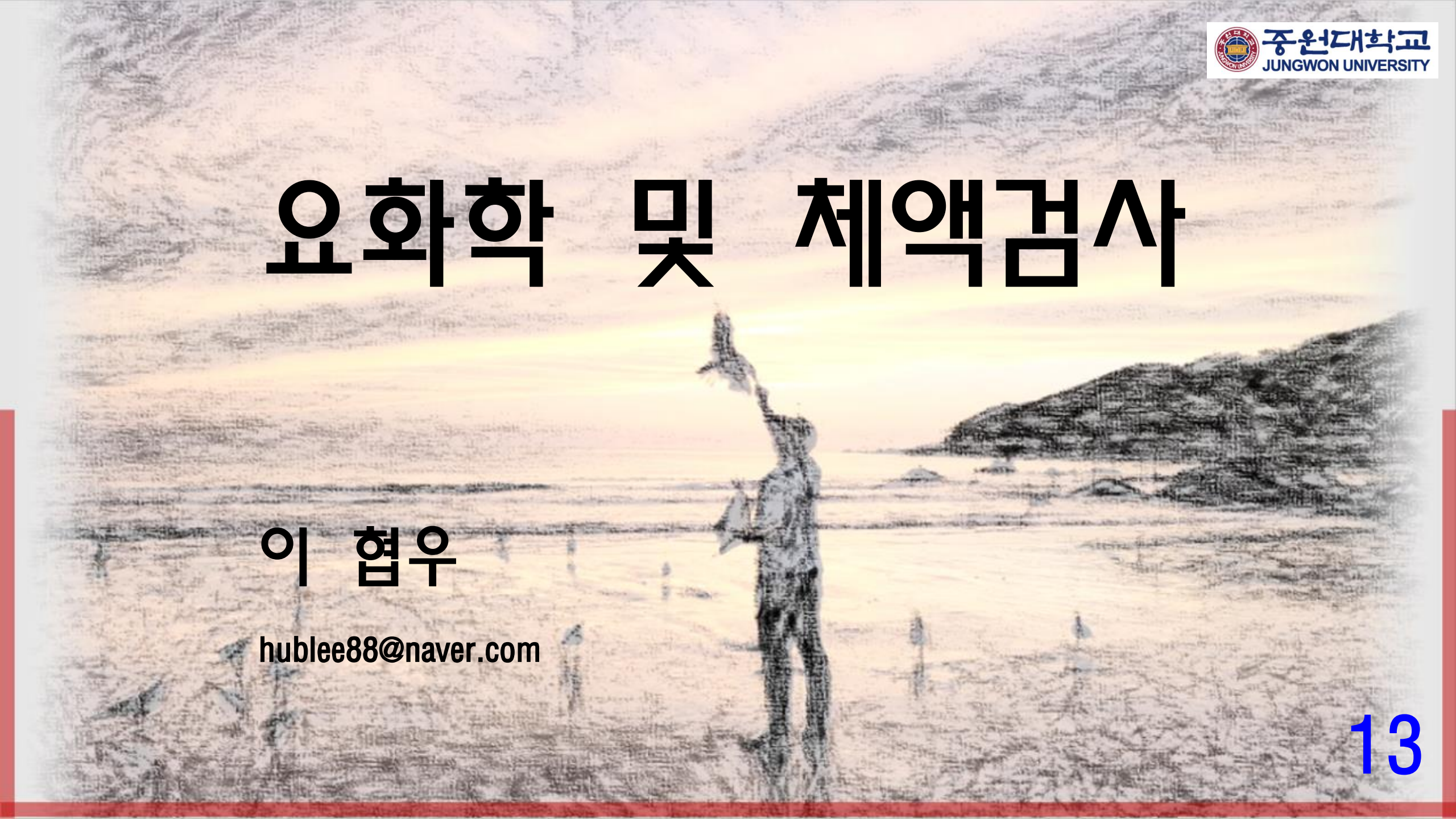


요화학 및 체액검사

이 협우

hublee88@naver.com

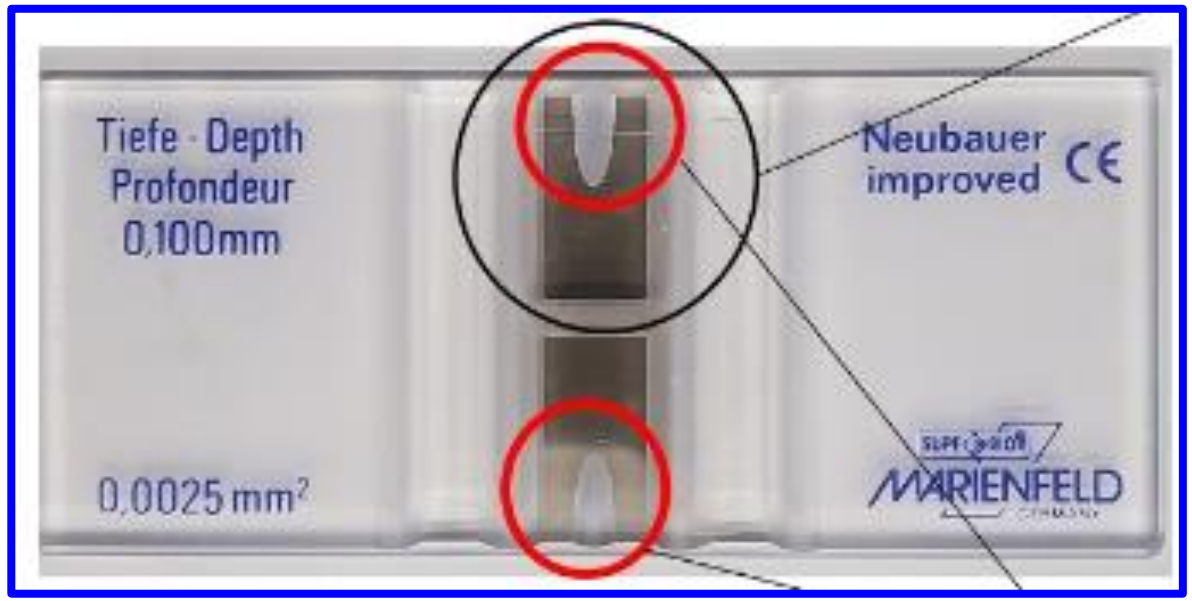
뉴바우어 챔버(hemacytometer)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 혈구(세포) 계산(혈구 수/μL = mm^3)

- 수기법: 헤마사이토미터(hemacytometer, 뉴바우어 챔버)

*산정된 세포수 X 희석 배수 X 10(높이=0.1mm)



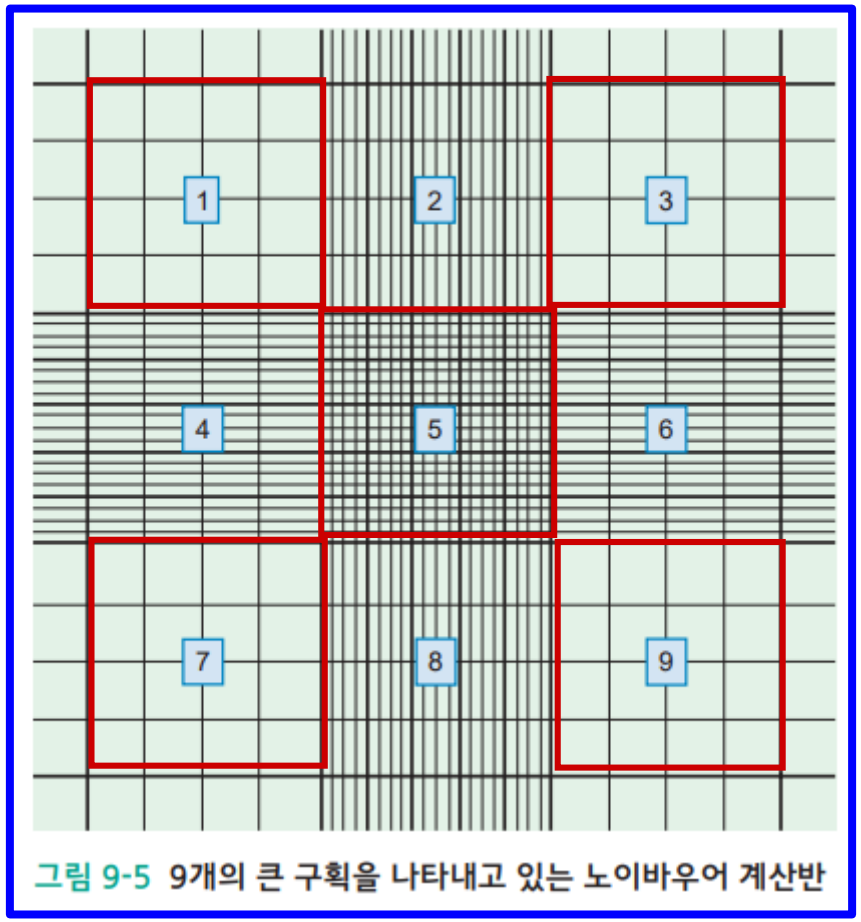


그림 9-5 9개의 큰 구획을 나타내고 있는 노이바우어 계산반

정액(semen)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 생리학

- 고환(testis)과 부고환(epididymis), 정낭(seminal vesicle), 전립샘(prostate gland) 및 망울요도 샘(bulbourethral gland, 쿠퍼 샘 cowper gland)에서 생성된 분비물의 합
- 정자는 고환의 정세관 생성 → 부고환으로 배출, 성숙, 저장
- 정자는 정낭액에 노출되기 전까지 운동성 없음
- 정낭액에는 정자의 원활한 신진대사에 필요한 프럭토스 (fructose=과당)가 고농도 포함(정액의 60~70%)
- 전립샘 액에는 고농도의 산성 포스파테이스(acid phosphatase), 시트르산(citric acid) 포함(정액의 20~30%)
  *사정 후에 정액의 응고와 액화를 결정하는 아연 및 단백질 분해 효소 포함
- 망울요도 샘(쿠퍼씨 액, 정액량의 5%)
  알칼리성 점액으로 산성의 전립샘 분비액과 질 분비액(산성)을 중화, 정자의 운동성 유지

표 10-1	정액의 구성
정 자	5%
정낭액	60~70%
전립샘액	20~30%
망울요도샘액	5%

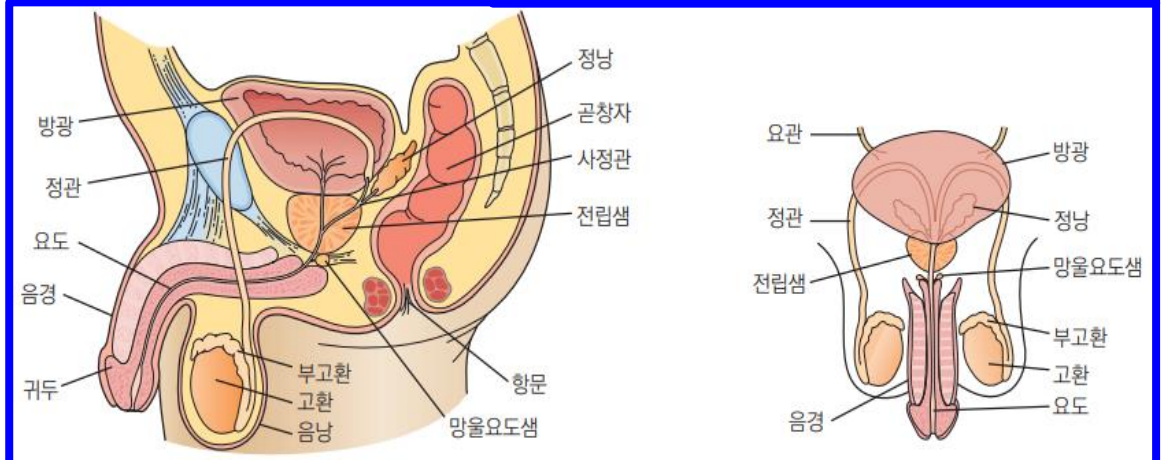


그림 10-1 남성 생식기.

정액(semen)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 정액 검체의 채취와 취급
- 정자의 대부분은 사정액의 첫 부분에 포함
- 2일 동안 성적 금욕 후 채취
  *7일 이상의 금욕은 양은 증가하지만 정자의 운동성 감소
  *WHO에서는 2~3개의 검체를 7일 이상 3주 미만의 간격으로 채취 후 검사하여 2개의 샘플이 비정상이면 유의미한 것으로 판정하도록 권고
- 무균의 유리나 플라스틱 용기에 채취, 1시간 이내 검사실 제출
- 검사자는 채취 시간과 접수 시간 기록 후 실온 보관
- 신선한 정액 검체는 응고되며 채취 후 30~60분 후 액화, 검체 분석은 액화된 후 시작
- 정액 검체 채취는 보통 수음(자위, masturbation), 불가능하면 윤활제(정자 운동성 방해) 없는 고무 또는 폴리우레탄 콘돔 사용
- 자궁내 인공 수정, 체외 수정(IVF)을 위한 정액 배양검사는 반드시 멸균된 용기 사용

SUMMARY 10-1 정액 생성

구조	기능
정세관	정자 발생(생성)
부고환	정자 성숙
정관	사정관으로 정자를 보냄
정낭	정자 영양분과 액체 공급
전립샘	응고와 액화를 위한 효소와 단백질 공급
망울요도샘	전립샘액의 산도 질액의 산도를 중화시키기 위한 알칼리성 점액 첨가

정액(semen)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 정액 검사

- 보조 생식기법(assisted reproductive technology, ART)의 발달로 아이를 원하는 사람들이 수정능력(fertility)에 대한 관심이 증가함에 따라 정액 검사(semen analysis)의 중요성에 많은 주목
- 정관절제술(vasectomy) 후 수술의 성공(피임) 여부 확인
- 법의학적 목적(수정 능력과 친자 감별, 성 폭행 등)으로 실시
- 육안 검사와 현미경 검사로 시행
- 외관

  *회백색의 반투명성 액체, 특유의 곰팡이 또는 밤꽃 냄새

  *백혈구의 증가와 생식기계의 감염 의심은 LE 시험지로 가능

  *황색이면 소변의 오염, 오랫동안 금욕, 약물치료 받았을 경우
- 액화: 채취 후 30~60분, 전립샘 효소 결핍되면 액화되지 않을 수 있음
- 양: 2~5 mL(2 mL 이상이면 정상), 전체 양이 적으면 불임(infertility)의 원인
- 점도: 물(0)~젤(4) 가장하고 0~4로 구분 표시, 보통은 1~2
- pH: 7.2~8.0의 알칼리성, 소변 시험지법으로 시행 (계속 …)

표 10-2	정액 검사의 기준치
양	2-5 mL
점도	작은 방울로 흘러내림
pH	7.2-8.0
정자 농도	〉2천만/mL
총 정자 수	〉4천만/사정액
운동성	〉50%(1시간 이내)
운동성 등급	2.0 또는 a, b, c(표 10-3)
형태	정상형태 : 〉14%(엄격한 기준), 〉30%(일상적 기준)
원형 세포	〈 1백만/mL

정액(semen)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 정액 검사 (… 계속)

- 정자 농도와 총 정자 수
  *2천만~1억6천만/mL, 2천만/mL이 경계 범위
  *2천만/mL 이하면 과소 정자증(oligospermia)
  *총 정자 수: 4천만 이상 이면 정상
- 정자 농도 및 정자 수 계산
  *Hemacytometer(뉴바우어 챔버)
- 정자의 운동성(motility)
  *정자의 전진 운동(progressive movement)은 수정능력 평가의 매우 중요한 지표
  *정자의 운동성(motility) 검사는 희석하지 않은 검체 사용
  *검체 채취 1시간 이후에도 50% 이상이 2.0의 운동성을 나타내면 정상으로 판정
  *표준화의 어려움 때문에 속도를 포함시키지 않고 운동성 등급 간소화 →

표 10-2	정액 검사의 기준치
양	2-5 mL
점도	작은 방울로 흘러내림
pH	7.2-8.0
정자 농도	〉 2천만/mL
총 정자 수	〉 4천만/사정액
운동성	〉 50%(1시간 이내)
운동성 등급	2.0 또는 a, b, c(표 10-3)
형태	정상형태 : 〉 14%(엄격한 기준), 〉 30%(일상적 기준)
원형 세포	〈 1백만/mL

표 10-3 정자의 운동성 등급		
등 급	WHO 판정 기준	정자 운동성 작용 상태
4.0	a	빠른 직진 운동
3.0	b	약간 느리고 일부 옆으로 이동함
2.0	b	느린 전진, 눈에 띄게 옆으로 이동함
1.0	c	전진 운동 없이 제자리에서 움직임
0	d	움직임이 전혀 없음

표 10-4	대체 정자 운동성 등급 규정
전진 운동성(PM)	정자가 직선으로 움직이거나 큰 원을 그리며 움직임
비전진 운동성(NP)	정자가 전진 없이 움직임
비운동성	움직임이 없음

정액(semen)

● 정자의 형태학(sperm morphology)
- 정자 수가 정상이더라도 운동성 없으면 불임(infertility)
- 형태학적으로 수정이 불가능한 정자가 존재할 때도 불임
- 머리, 목(경부), 몸통 및 꼬리의 구조를 평가
- 머리: 길이 5㎛, 직경 3㎛의 난원형
- 편모: 길이 약 45㎛
- 몸통: 미토콘드리아(꼬리 움직이는 에너지 공급) 껍질
- 첨단체 모자(acrosomal cap)
  *난자를 관통하는 중요한 부위
  *효소 포함
  *머리의 약 1/2을 둘러싸고 있으며
  *정자 핵의 2/3를 덮고 있음

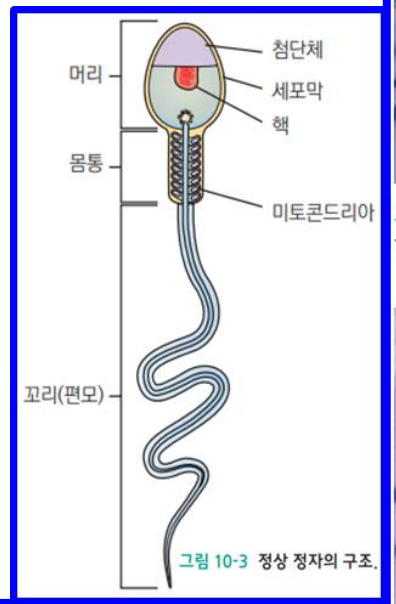
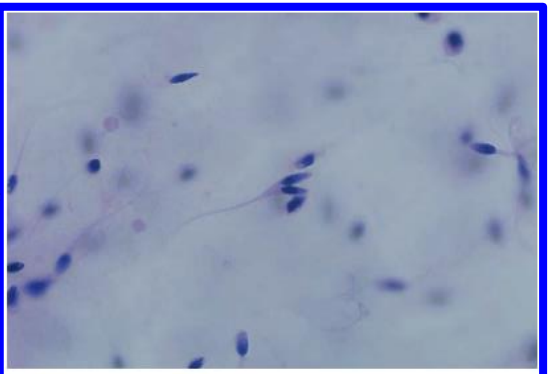


그림 10-3 정상 정자의 구조.



그림 10-7 정자의 머리와 꼬리의 기형.


그림 10-4 이중 머리(두 개의 머리)를 가진 정자, 헤마톡실린-에오신(×1000).

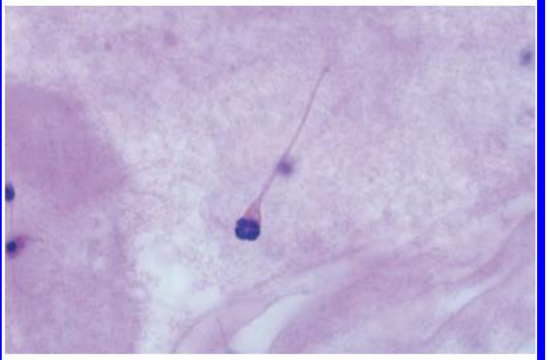

그림 10-5 무정형 머리를 가진 정자, 헤마톡실린-에오신(×1000).


그림 10-6 이중 꼬리(두 개의 꼬리)를 가진 정자, 헤마톡실린-에오신(×1000).

정액(semen)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 정자의 생명력 검사
- 정자 농도는 정상이지만 운동성이 현저히 감소되면 정자의 생명력이 감소된 것
- 정액 도말 후 에오신-니그로신(eosin-nigrosin) 염색
  *정자 100개당 사멸한 정자 수 계수
  *살아있는 정자는 염료가 침투되지 않아 청백색
  *사멸한 정자는 자주색 배경에 적색으로 염색
- 생명력의 기준치는 75% 이상(운동성과 일치해야 함)

● 정액 프룩토스(과당)
- 정낭에서 지지 매질이 결핍되면 정자 농도가 낮아짐 (정액에 프럭토스 농도가 낮다는 의미)
- 레조르시놀 시험(resorcinol test)으로 선별 검사
- 1회 사정액 당 13 μ mol 이상
- 채취 후 2시간 이내 검사(프럭토스 용해 방지)

표 10-5 비정상 정액 검사에 대한 추가 검사

비정상 결과	가능성 있는 이상	추가 검사
정자 수 정상, 운동성 감소	생명력	에오신-니그로신 염색
정자 수 감소	정낭 지지매질의 결핍	프룩토스 농도(정상: ≥ 13 μmol/사정액)
덩어리, 운동성 감소	남성 항정자 항체	응집 반응 및 면역 구슬검사, 남성 혈청으로 정자에 대한 응집 반응
모든 검사 정상, 지속적인 불임	여성 항정자 항체	여성 혈청으로 정자에 대한 응집 반응

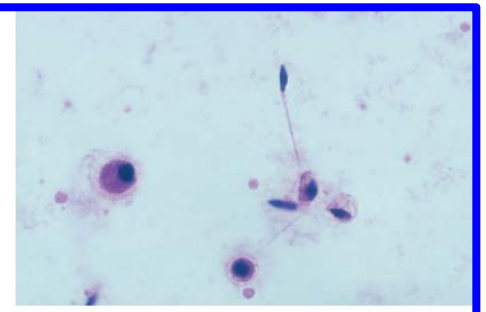


그림 10-9 미성숙 정자. 헤마톡실린-에오신(×1000).

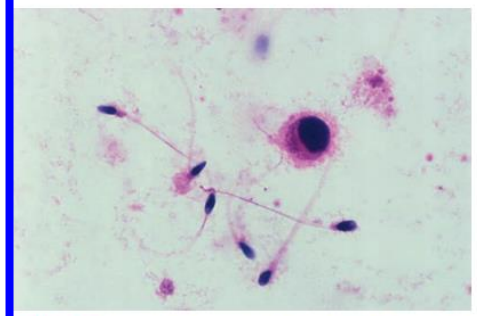


그림 10-8 목이 굽은 정자와 정자 세포. 헤마톡실린-에오신(×1000).

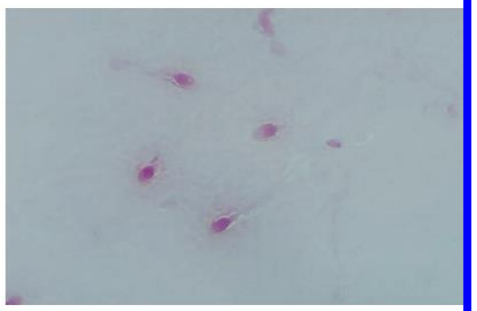


그림 10-10 생존이 불가능한 정자. 에오신니그로신 염색(×1000).

PROCEDURE 10-3

정액 프룩토스 선별 검사

1. 시약을 준비한다(농염산 33 mL에 레조르시놀 50 mg을 녹이고 정제수를 넣어 100 mL가 되게 한다).
2. 시약 9 mL와 정액 1 mL를 혼합한다.
3. 끓인다.
4. 오렌지색~적색이 형성된 것을 관찰한다.

정액(semen)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

- 항정자 항체(antisperm antibody, 정자에 대한 항체)
  - 불임의 원인
  - 남성과 여성 모두 존재 가능
  - 정액, 자궁경부 점막, 혈청에서 검출
  - 정상 상태에서는 혈액-고환 장벽(blood-testes barrier)이 남성 면역계로부터 정자를 분리해서 면역반응(항체 형성) 예방
  - 정관복구술, 외상, 감염 등으로 장벽이 붕괴되면 면역반응(항체 형성)가능 → 정자 손상 →여성에서도 항체 생성
- 미생물학 및 화학 검사
  - 정액 1mL당 백혈구가 1백만 개 이상이면 생식기계나 전립샘 감염 의심 → 정액 배양 → *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* 관찰
- 정관절제술 후 정액 검사
  - 수술 2개월 후 검사, 정자가 검출 안될 때까지 연속 2회 시행
- 정자 기능 시험

표 10-6 정상 정액의 화학 검사 기준치

검사 물질	기준치
중성 α-글루코시데이스	≥20 mU/사정액
아연	≥2.4 μmol/사정액
시트르산	≥52 μmol/사정액
산성 포스파테이스	≥200 U/사정액

표 10-7 정자 기능시험

시험 종류	해 설
햄스터 난자 관통 시험	정자를 종-비특이적 햄스터 난자와 반응시키고 정자가 난자를 관통하는 것을 현미경으로 관찰한다.
자궁경부 점액 관통 시험	파트너의 월경 중간 주기의 자궁경부 점액에 대한 정자의 관통 능력을 관찰한다.
저장액 팽창 시험	저장액에 정자를 넣어 막의 보존 상태와 생명력을 평가한다.
시험관 첨단체 반응	첨단체가 난자를 관통하는 데 필요한 효소를 생성하는지 평가한다.

대변(feces, stool)☞기생충 검사용 아님

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 생리학

- 정상적인 대변에는 세균(정상적인 세균 총), 셀룰로스, 위장관 분비물, 장관 벽 유래 세포, 소화되지 않은 음식물, 담즙 색소, 전해질과 물 포함
- 가스(방귀, flatus)가 생기는 것은 세균 작용
- 다양한 소화 효소
- 섭취한 액체, 위액, 쓸개즙, 이자액, 장 분비액 등 약 9,000mL의 액체가 매일 소화관으로 들어옴
- 대부분 소장(공장과 회장)에서 흡수, 500-1500mL 만 대장에 도달
- 150mL 만 대변으로 배설
- 나머지는 흡수

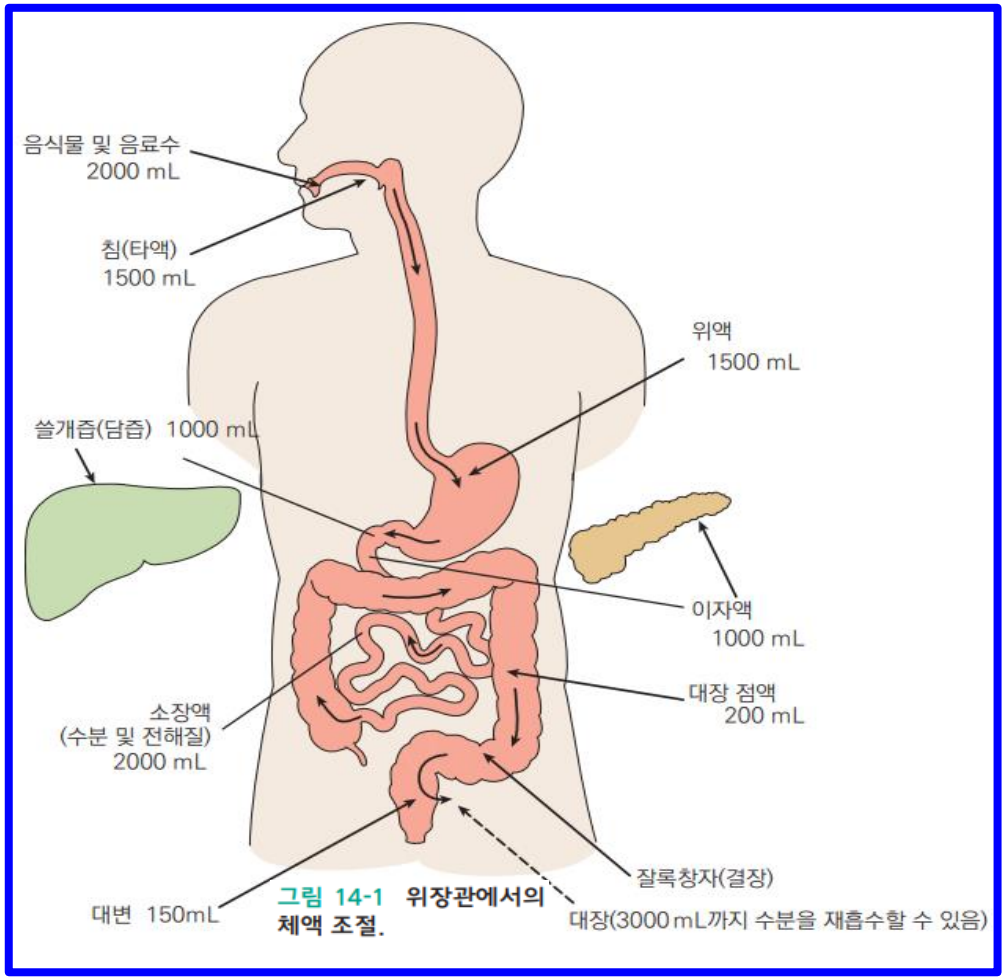


그림 14-1 위장관에서의 체액 조절.

대변(feces, stool)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 설사
- 유동성이 증가한 대변 200g 이상을 하루에 세 번 이상 배설
- 설사의 주요 메커니즘: 분비성, 삼투성 및 운동성 변동
- 메커니즘 구별은 대변 전해질(나트륨과 칼륨), 대변 오스몰랄 농도(osmolality) 및 대변 pH를 측정
- 대변 오스몰랄농도 ≒ 혈청 오스몰랄농도(290 mOsm/kg)
- 대변의 삼투압차 = 290 - [2(대변 나트륨 + 대변 칼륨)]
- 삼투성 설사의 삼투압차는 50 mOsm/kg 이상
- 분비성 설사에서는 50 mOsm/kg 이하
- 대변액의 pH가 5.6 이하이면 당의 흡수장애 의미(삼투성 설사)
- 분비성 설사: 세균, 바이러스 및 원충류 감염
  *재흡수 능력을 초과할 정도로 수분 및 전해질 분비 증가
- 삼투성 설사: 음식물의 불완전한 분해나 흡수
  *대장에 대변물질이 증가하여 수분과 전해질 정체(삼투성 설사)
- 운동성 변동: 운동성 촉진 상태(운동 항진) 저하(변비), 과민성 대장 증후군에서 나타남

표 14-1 설사의 일반적인 대변검사

대변 배양	육안적 대변 지방 검사
충란·기생충 검사	근섬유 검출
로타 바이러스 면역측정법	정성적 대변 지방 검사
대변 백혈구	트립신 선별 검사
	현미경 대변 지방 검사
	정량적 대변 지방 검사
	Clinitest
	D-자일로스 내성 검사
	젖당 내성 검사
	대변 전해질
	대변 pH
	대변 오스몰랄농도

표 14-2 설사의 차이점

검사 항목	삼투성 설사	분비성 설사
삼투압차	〉50 Osm/kg	〈 50 Osm/kg
대변 Na	〈 60 mmol/L	〉90 mmol/L
24시간 대변량	〈 200 g	〉200 g
pH	〈 5.3	〉5.6
환원성 물질	양성	음성

대변(feces, stool)☞기생충 검사용 아님

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 지방변 증
- 지방변 증의 검출은 이자기능 부전 및 흡수 장애를 일으키는 소장 질환 진단에 유용
- 담즙산 염(bile salt)은 이자에서 분비된 리파제(pancreatic lipase)가 트리글리세리드(triglyceride)를 잘 분해하도록 트리글리세리드와 장내용물이 잘 섞이게 하는 유화제 작용
- 위 과정 부재 시 하루에 6g이 넘는 지방이 대변으로 배설, 지방변증(steatorrhea) 발생

● 검체 채취(기생충)
- 검체에 소변이나 소독약이 들어있는 변기의 물이 유입되지 않게 주의
- 대변 지방의 정량적검사는 3일 동안 검체 채취(페인트 통, 분쇄 쉬움)

● 육안적 선별 검사
- 색깔: 갈색(유로빌린 때문), 담관이 폐쇄되면 옅어 짐(무담즙 대변)
  *혈변: 상부 위 장관의 출혈은 전체 흑색 또는 타르 색
  하부 장관 유래한 혈액은 고유의 적색
- 외관: 견고하여 일정한 형태 유지
  장협착(리본모양), 점액성 대변(장 염증, 세균성, 아메바성 이질)

표 14-3 육안적 대변 특징

색깔/외관	원 인
흑색	상부 위장관 출혈 철분요법 숯 비스무스(제산제)
적색	하부 위장관 출혈 사탕무(비트) 및 착색 식품 섭취 리팜핀(결핵약)
담황색, 백색, 회색	담관 폐쇄 황산바륨
녹색	빌리버딘/항생제 경구 복용
부피가 큼/거품	담관 폐쇄 이자 질환
리본 모양	장협착
점액/혈흔 점액	대장염 아메바성 이질 악성 종양 변비

대변(feces, stool)☞기생충 검사용 아님

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 대변의 현미경 검사
- 미생물성 설사일 때는 백혈구를 검사
- 지방변 증의 의심은 소화되지 않은 근육섬유 및 지방 검사
- 백혈구
  *호중구는 궤양성 대장염 및 세균성 이질 등 침습성 세균이 장점막에 영향을 미치는 질환
  *포도알균 및 비브리오와 같이 독소를 생성하여 설사를 일으키는 세균과 바이러스, 기생충은 대체로 대변에 백혈구를 초래하지 않음
  *메틸렌 블루로 염색하는 습식 표본과 라이트 또는 그람 염색법으로 염색하는 건식 표본
  *락토페린 라텍스 응집시험(lactoferrin latex agglutination test): 백혈구 검출에 민감

PROCEDURE 14-1

대변 백혈구에 대한 메틸렌 블루 염색법
1. 슬라이드 위에 점액성 또는 액상 대변 1방울을 떨어뜨린다.
2. 뢰플러(Löeffler) 메틸렌 블루 2방울을 첨가한다.
3. 나무봉으로 잘 혼합한다.
4. 2-3분 동안 방치한다.
5. 고배율(400×)에서 호중구를 검사한다.

- 근육 섬유
  *소화되지 않은 가로무늬근 섬유 관찰
  (이자 기능부전 환자 진단과 감시에 도움)

PROCEDURE 14-2

근육 섬유 관찰법
1. 소량의 대변에 알코올로 희석한 10% 에오신 2방울 떨어뜨려 유화시킨다.
2. 커버슬립을 덮고 3분 동안 방치한다.
3. 5분 동안 고배율(400×)에서 관찰한다.
4. 소화되지 않은 근육 섬유 수를 계산한다.

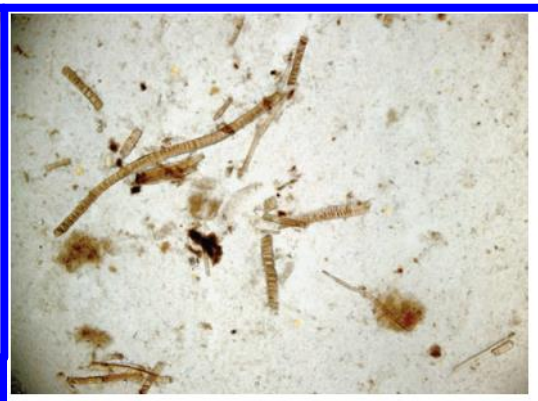


그림 14-2 대변 유탁액에 있는 근육 섬유. 광학 현미경(400×).



그림 14-3 대변 유탁액에 있는 근육 섬유. 줄무늬를 주목하라(1000×).

대변(feces, stool)☞기생충 검사용 아님

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 대변의 현미경 검사 (… 계속)

- 대변 지방(정성적 검사)

PROCEDURE 14-3

중성 지방 염색법

1. 대변과 물을 1 : 2의 비율로 섞은 후 분쇄한다.
2. 슬라이드 위에서 에탄올 1방울을 유화된 대변에 첨가하고 혼합한다.
3. 95% 에탄올에 포화시킨 Sudan Ⅲ 2방울을 첨가한다.
4. 혼합한 후 커버슬립을 덮는다.
5. 고배율(400×)에서 관찰한다.
6. 고배율 당 오렌지색의 지방구 수를 계산한다.

PROCEDURE 14-4

분해 지방 염색법

1. 슬라이드 위에 점적한 대변에 36% 아세트산 1방울을 떨어뜨리고 혼합한다.
2. 포화 Sudan Ⅲ 2방울을 첨가한다.
3. 혼합한 후 커버슬립을 덮는다.
4. 거의 끓을 정도로 천천히 가열한다.
5. 고배율(400×)에서 관찰한다.
6. 고배율 당 오렌지색의 지방구 수를 계산하고 크기를 측정한다.

● 대변의 화학적 검사

- 잠혈(occult blood, fecal occult blood test, FOBT)

*구아이약: 대변 잠혈 선별검사법으로 가장 자주 이용되는 방법

$$\text{헤모글로빈} + H_2O_2 + \text{guaiac} \xrightarrow{\text{거짓 과산화 효소 활성}} \text{산화형 guaiac} + H_2O$$

(무색) → (청색)

*면역화학적 대변 잠혈 검사(iFOBT): 다클론성 항인체 헤모글로빈 항체 사용

*포르피린 대변 잠혈 검사: 헤모글로빈과 폴피린(Hb이 장세균에 분해)을 검출, 형광분석법

SUMMARY 14-1 gFOBT 간섭

위양성(False-Positive)
아스피린 및 항염증제
적색 육류
양고추냉이
생브로콜리, 콜리플라워, 무, 순무
멜론
월경 및 치질에 의한 오염

위음성(False-Negative)
비타민 C: > 250mg/day
비타민 C를 함유하고 있는 철분 보충제

대변(feces, stool)☞기생충 검사용 아님

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 대변 선별검사 요약

표 14-5 대변 선별검사

검사 종류	방법 및 원리	해 석
호중구	도말 표본을 메틸렌 블루, 그람 염색법 또는 라이트 염색법으로 염색하여 호중구수를 계산한다.	고배율(hpf) 당 3개이면 장벽이 영향을 받았다는 것을 가리킨다.
정성적 대변 지방	도말 표본을 Sudan Ⅲ로 염색한 것이나 아세트산으로 유화시키고 Sudan Ⅲ로 염색한 후 가열한 것을 현미경으로 관찰한다.	오렌지색~적색의 큰 지방구 60개는 흡수 장애, 직경 6~75 μm의 오렌지색-적색 지방구 100개는 흡수 장애를 가리킨다.
잠혈	헤모글로빈의 위과산화 효소 작용에 의해 과산화수소로부터 산소가 유리되어 구아약 시약을 산화시킨다.	청색은 위장관 출혈을 가리킨다.
APT 검사	헤모글로빈을 포함하고 있는 유탁액에 NaOH를 첨가하여 혈액이 모성과 태아 어느 쪽에서 유래한 것인가를 결정한다.	핑크색이면 태아 혈액의 존재를 가리킨다.
트립신	젤라틴으로 코팅된 X선 필름 위에 놓인 유화액이 젤라틴을 소화하는지 관찰한다.	젤라틴이 소화되지 않으면 트립신이 결핍된 것이다.
Clinitest	유화된 대변에 Clinitest 정제를 첨가하여 환원당이 존재하는지를 검사한다.	환원당이 0.5 g/dL이면 당 불내성을 의심할 수 있다.

Try not to become a man of success, but rather try to become a man of value.

Albert Einstein

