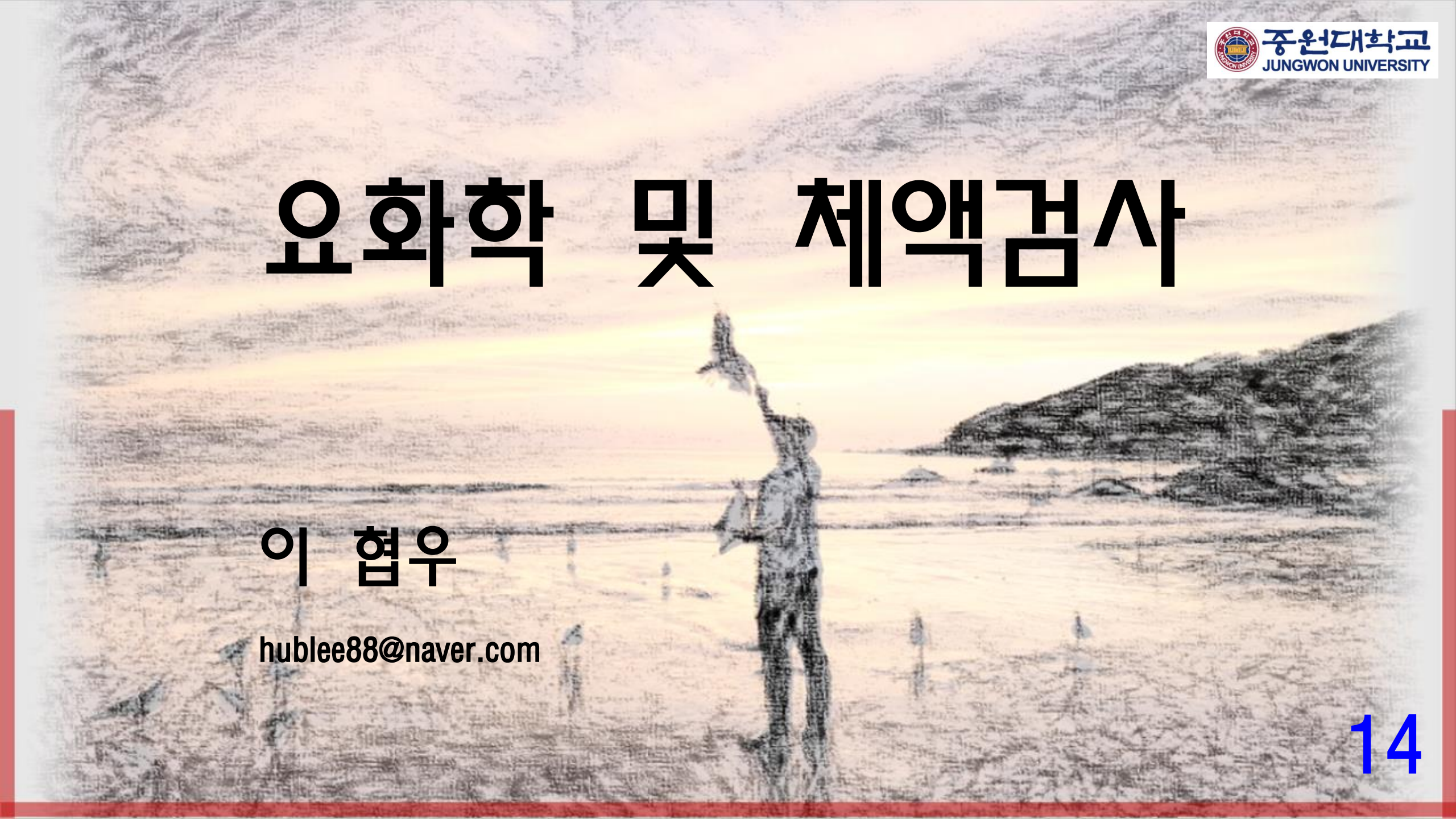


요화학 및 체액검사

이 협우

hublee88@naver.com

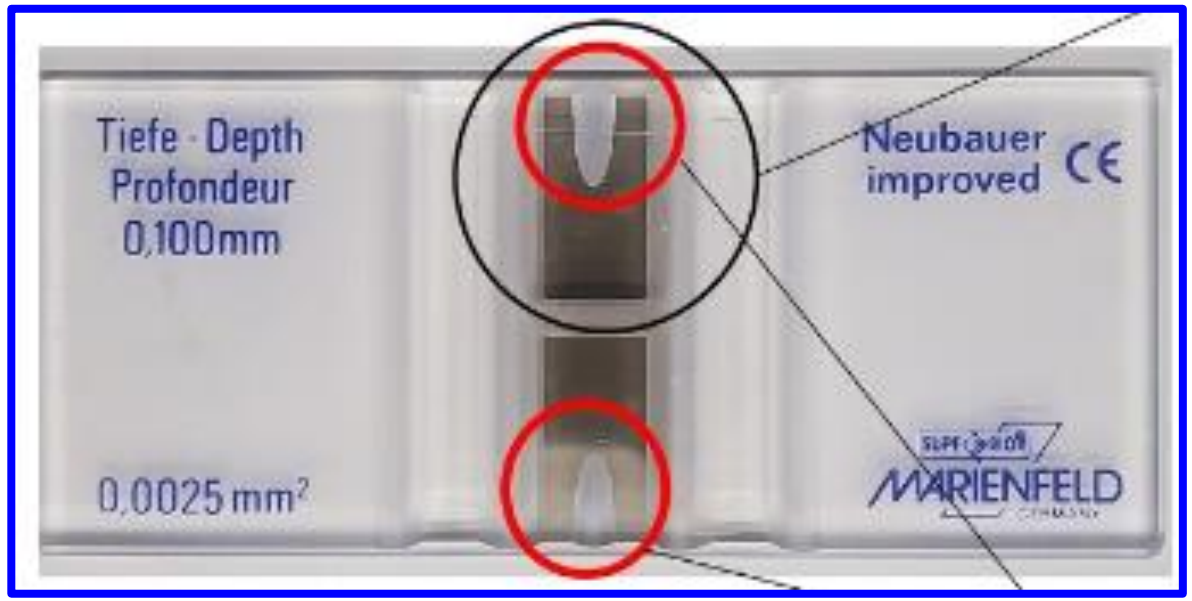
뉴바우어 챔버(hemacytometer)

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)



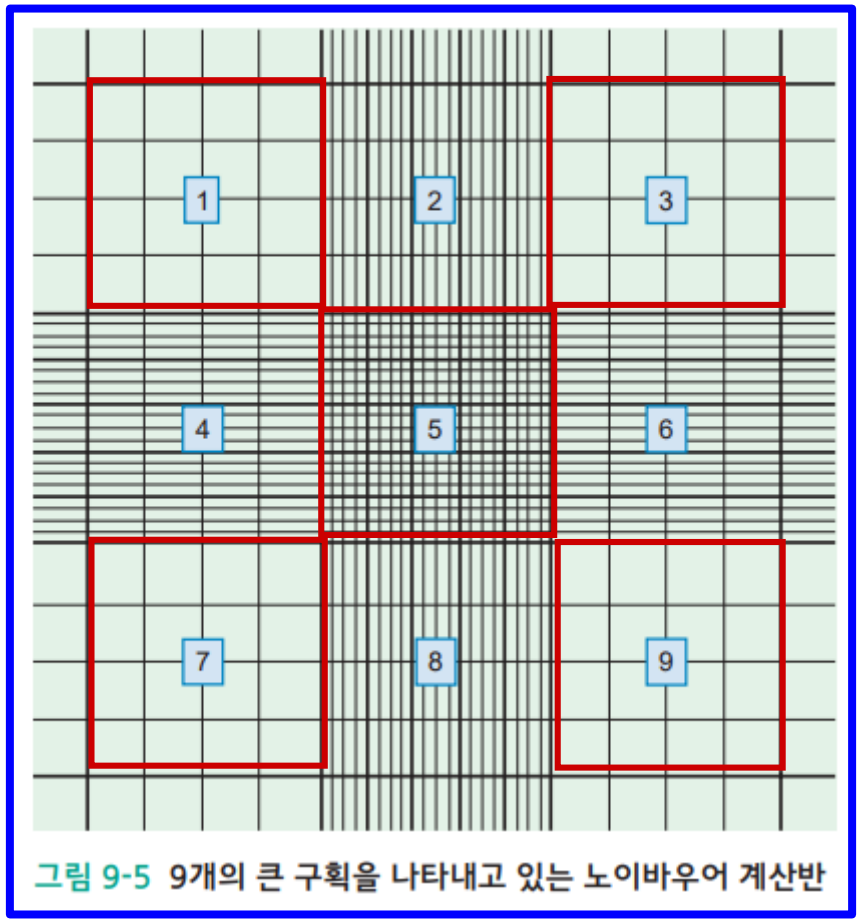


그림 9-5 9개의 큰 구획을 나타내고 있는 노이바우어 계산반

양수(amniotic fluid)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 생리학
- 태아를 둘러싸고 있는 양막(amnion) 안에 있는 액체
- 양수는 태아의 발달정도, 대사정보와 대사과정 산물 포함
- 양수와 태아와 모체 순환 사이에 수분과 화학물질의 교환
- 세포유전 분석(cytogenetic analysis)에 매우 유용

● 기능
- 외부 충격으로 부터 태아 보호
- 태아가 운동을 할 수 있게 하고
- 심한 온도 변화로 부터 태아 보호(일정 온도 유지)
- 태아의 폐가 적당하게 발달하도록 하는 것

● 양
- 임신 1기(1~13주): 평균 35~60mL(모체의 순환으로 생성)
- 임신 2기(14~27주): 평균 300~500mL(태아의 연하와 소변)
  *연하(흡입, 삼킴): 200~500mL/day
- 임신 3기(28주~분만): 양수과소증≤800~1200mL≤양수과다증

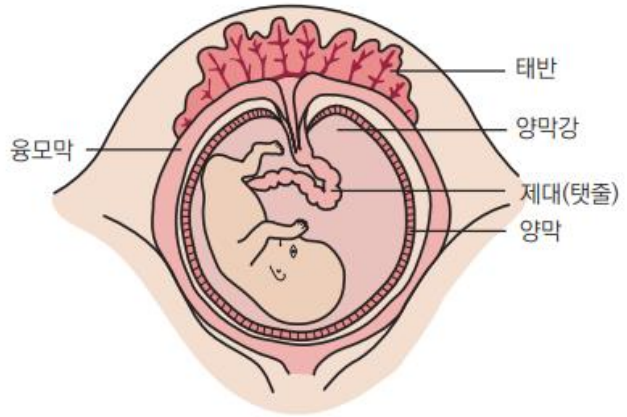


그림 13-1 양수낭 내에 있는 태아.

표 13-1 태아의 건강 상태와 성숙에 대한 검사

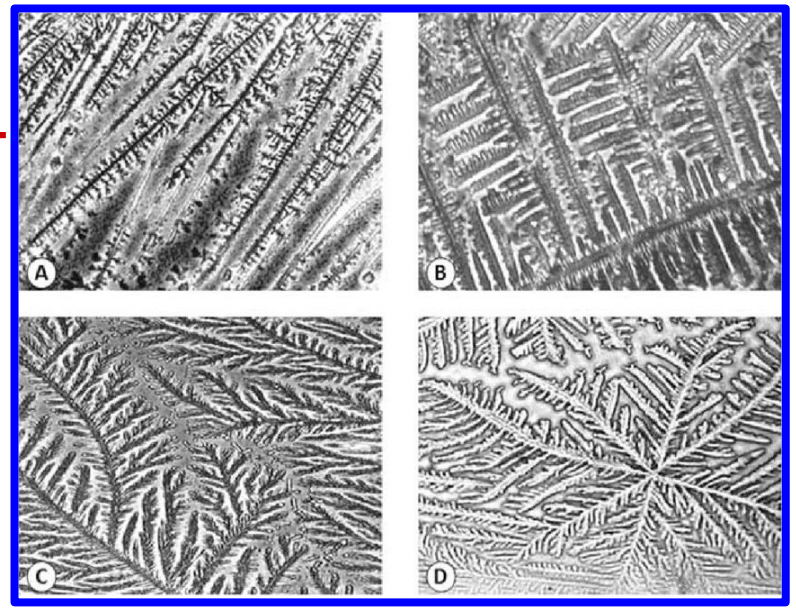
검사	정상치	임상적 의의
빌리루빈 스캔	Δ A450 > 0.025	신생아 용혈성 질환
알파-태아 단백질	< 2.0 MoM	신경관 질환
레시틴-스핑고마이엘린비	≥ 2.0	태아 폐 성숙
Amniostat-태아 폐 성숙	양성	태아 폐 성숙/포스파티딜 글리세롤
거품 안정 지수	≥ 0.47	태아 폐 성숙
미세점도	≥ 70 mg/g	태아 폐 성숙
흡광도(650nm)	≥ 0.150	태아 폐 성숙
층판 소체 측정	≥ 32,000/μL	태아 폐 성숙

양수(amniotic fluid)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 화학적 구성
- 양수는 모체 혈장 구성성분과 비슷, 태아의 소화기계 및 요로에서 탈락한 소수의 세포 포함
- 태아의 생성된 빌리루빈, 지질, 효소, 전해질, 요소, 크레아티닌, 요산, 단백질, 호르몬 포함
- 태아의 신경관에 형성에 결함이 있으면 태아의 CSF가 양수로 유출
  *알파-태아 단백질(AFP)과 아세틸콜린에스터레이스(acetylcholinesterase)로 검사
- 태아가 소변을 생성하기 시작할 때 크레아티닌, 요소, 요산 증가, 글루코스와 단백질은 감소
- 양수의 크레아티닌 수치는 태아의 연령을 결정
  *임신 36주 이전: 양수의 크레아티닌 농도는 1.5~2.0 mg/dL
  *임신 36주 이후: 양수의 크레아티닌 농도 2.0 mg/dL 이상

● 모체 소변과 양수의 감별
- 크레아티닌과 요소의 농도는 소변보다 양수가 매우 낮음
  *양수: 크레아티닌은 3.5 mg/dL, 요소는 30 mg/dL 이하
  *소변: 크레아티닌은 약 10 mg/dL, 요소는 약 300 mg/dL
- 양치상 형성 검사(ferning test)
  *질액을 슬라이드에 도말, 건조 후 현미경 관찰: 양치(고사리) 모양 같은 결정 보이면 양수



양수(amniotic fluid)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 검체 채취(=양막 천자) 지침과 태아 상피세포 검사

- 양막 천자 지침: 다음 검사들의 결과값이 비정상 일때 실시
  *혈청 알파 태아 단백질(alpha-fetoprotein, AFP)
  *3중 선별 검사: AFP, 사람 융모체생식샘 자극 호르몬 (human chorionic gonadotropin, hCG), 비결합형 에스트리올(unconjugatedestriol, UE_3)
  *4중 선별 검사: AFP, hCG, UE_3 및 inhibin A
- 초음파 검사에서 이상: 태아 발달에 문제 발생 의미 양막 천자와 태아 폐 성숙(fetal - lung maturity) 검사 필요
- 태아의 상피세포를 분리하여 배양한 후 핵형(karyotyping), 형광직접교잡법(fluorescent in situ hybridization, FISH), 형광 지도화 스펙트럼 핵형(spectral karyotyping, SKY) 및 DNA 검사를 실시하여 염색체의 이상을 검사

표 13-2 양막 천자 시행 지침

양막 천자는 다음과 같은 상태에서 초기 치료나 어떤 조치를 취하기 위해 임신 15-18주에 실시한다.

- 분만 시 엄마의 연령이 35세나 그 이상인 경우
- 보통 염색체성 21(trisomy 21)과 같은 염색체 이상의 가족력이 있는 경우(다운증후군, Down's syndrome)
- 부모가 어떤 이상 염색체를 보유하고 있는 경우
- 조기 임신이나 출산 결함을 가진 아이가 있는 경우
- 부모가 대사 질환을 보유하고 있는 경우
- 겸상적혈구병(sickle cell disease), 테이-삭스병(Tay-Sachs disease), 혈우병(hemophilia), 근육이영양증(muscular dystrophy), 겸상적혈구성 빈혈, 헌팅톤 무도병(Huntington Chorea) 및 낭성 섬유증(cystic fibrosis) 같은 유전 질환력이 있는 경우
- 혈청 알파-태아 단백질(AFP)이 증가한 경우
- 3중 선별 검사 마커에 이상이 있는 경우
- 이분척추(spina bifida)나 복벽결함(위벽파열)과 같은 신경관 질환을 가진 아이가 있는 경우
- 3회 또는 그 이상 자연유산을 한 경우

임신 20~42주에 양막천자를 하는 목적은 다음을 평가하기 위함이다.

- 태아 폐 성숙(fetal lung maturity)
- 태아 궁박(fetal distress)
- Rh 혈액형 부적합으로 인한 신생아 용혈성 질환
- 감염

양수(amniotic fluid)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 검체 채취(양막 천자) 및 처리
- 초음파 검사로 태아와 태반의 위치 확인 후 천자 부위 결정
- 소독 후 최대 30 mL(보통 20~25mL) 이하 채취
- 처음 2~3mL은 모체 혈액, 조직액 및 세포들의 오염 가능(부적합 검체로 폐기)
- 태아 신생아 용혈성질환(hemolytic disease of the fetus and newborn, HDFN) 의심: 빌리루빈 분석용 검체(호박색, 황갈색)는 시험관에 담아 빛 차단(빌리루빈 산화, 분해 방지)
- 태아 폐 성숙(fetal lung maturity, FLM) 검사 위한 검체는 얼음에 채워서 검사실로 수송, 검사 전까지 냉장고 보관
- FLM검사를 위한 원심분리: 500-1,000 g(RCF)의 저속도로 5분 이내

● 색깔 및 외관
- 정상: 무색, 임신 후반기에는 세포 잔여물로 혼탁
- 출혈: 핏빛
- 빌리루빈이 존재하면 황색(HDFN)
- 태변(meconium)이 존재하면 암록색(dark green color)
- 태아가 사망했을 때는 양수가 암적갈색(dark red-brown)

표 13-3 양수 색깔 요약

색깔	임상적 의의
무색	정상
혈색	외상성 천자, 복부외상, 양막강 내 출혈
황색	태아 신생아 용혈성 질환(빌리루빈)
암록색	태변
암적갈색	태아 사망

양수(amniotic fluid)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 태아 신생아 용혈성 질환(HDFN)

- 태아 빈혈을 평가
- 엄마의 적혈구 관련 항체(IgG, Rh항체 등)가 태반 통과
  → 태아의 적혈구 항원과 반응 → 태아 적혈구 파괴
  *다른 적혈구 항원에 대한 항체도 HDFN 생성
  *태아 적혈구의 분해 산물인 빌리루빈 양수에 존재
  *분광 분석법(spectrophotometric analysis)으로 측정
  → 정상 양수에서는 365nm 에서 OD(흡광도) 최고치 후 550nm까지 직선으로 감소
  → 빌리루빈이 존재하면 450 nm (빌리루빈 최대 흡수파장)에서 OD의 증가
  → 기저선의 OD와 450nm의 OD 사이의 차이는 양수의 빌리루빈의 농도와 비례
  → 이러한 OD 차이(Δ A450)를 릴레이 도표 (Liley graph)에 플롯팅

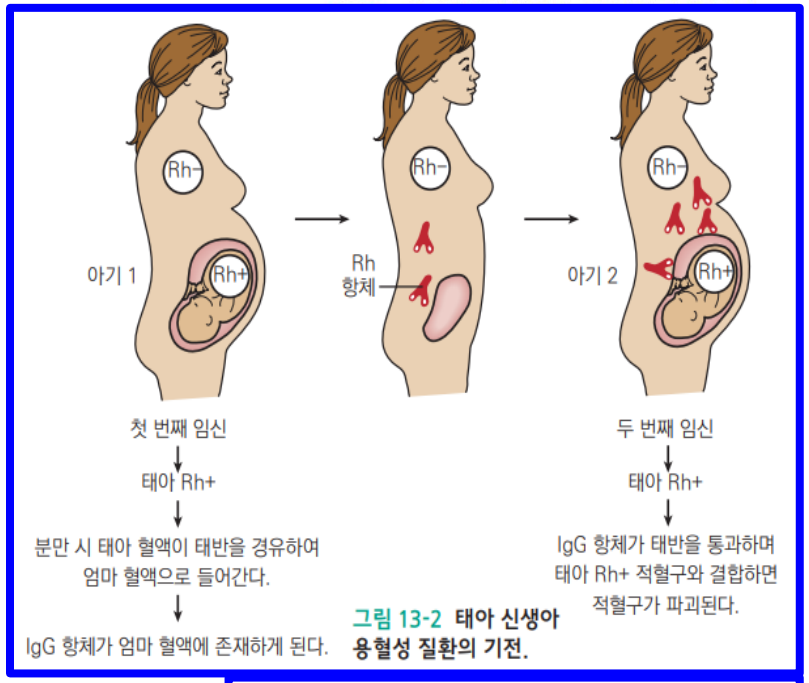


그림 13-2 태아 신생아 용혈성 질환의 기전.

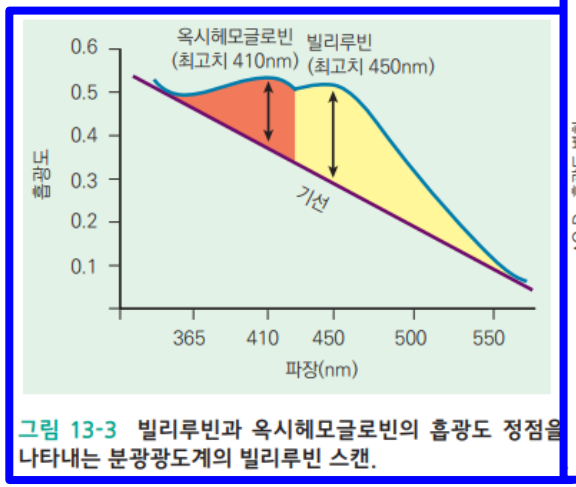


그림 13-3 빌리루빈과 옥시헤모글로빈의 흡광도 정점을 나타내는 분광광도계의 빌리루빈 스캔.

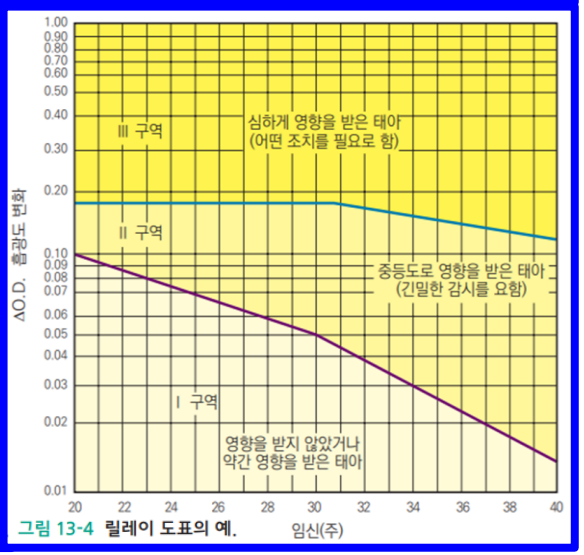


그림 13-4 릴레이 도표의 예.

양수(amniotic fluid)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 태아 폐 성숙 검사(fetal lung maturity, FLM)

- 폐포 표면의 얇은 층을 형성하는 지질 복합체인 계면활성제(surfactant)의 생성으로 판단
- 레시틴-스핑고마이엘린 비율(L/S 비율, 계면활성제의 주요 성분)
  *임신 35주 전에는 L/S 비는 보통 1.6 이하
  *임신 36주 이후에 L/S 비 2.1~3.0는 폐 성숙의 경계선
  L/S 비 3.1 이상은 폐의 성숙을 의미
  *L/S 비 2.0 미만이면 태아의 폐가 아직 미성숙 상태를 의미
- 포스파티딜 글리세롤
  *폐 표면의 지질 구성 성분으로 폐의 성숙에 필수적인 물질
  *위음성의 발생 빈도가 약간 높음
- 거품 안정
- 층판 소체(lamellar body, LB)
  *층판화 된 인지질(태아 폐 표면의 계면활성제의 저장형태)
  *직경 1~5㎛로 혈소판 크기와 비슷
  *자동혈액학 분석기의 혈소판 채널 사용, 층판 소체 계산(lamellar body counts, LBCs)

PROCEDURE 13-1

거품 진탕시험

1. 동량의 95%에탄올과 양수를 혼합한다.
2. 15초 동안 시험관을 격렬하게 진탕한다.
3. 15분 동안 시험관을 안정된 상태로 방치한다.
4. 시험관의 가장자리 둘레에 거품이 생겼는지 관찰한다.

PROCEDURE 13-3

층판 소체 계산

1. 뚜껑이 있는 용기에 담겨져 있는 양수를 거꾸로 뒤집으면서 5번 혼합하라.
2. 육안 확인이 가능한 깨끗한 시험관에 양수를 옮겨담아라.
3. 검체를 육안으로 조사하라. 육안으로 봐서 명백히 점액, 전혈 또는 태변을 포함하고 있는 검체는 LBC를 진행하면 안된다.
4. 시험관의 뚜껑을 닫고 부드럽게 뒤집으면서 또는 로커에서 2분 동안 혼합하라.
5. 혈소판 채널을 씻어내라; 검사실에서 받아들일 수 있는 배경 산정이 2번 연속해서 나올 때까지 장비의 희석 완충용액을 분석하라.
6. 세포 측정기를 통해 검체를 진행시키고 혈소판 채널의 값을 LBC로서 기록하라.

질 분비물(vaginal secretions)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 검사의 목적과 의미
- 임신 중 감염과 합병증 진단
- 법 의학적인 검사(성 폭행 등)
- 질염(vaginitis)은
  *증상: 가렵고, 질이 따끔거리며, 배뇨통과 성교통증
  *세균성 질증(bacterial vaginosis)
  *음문 질 칸디다증 (vulvovaginal candidasis)
  *질편모충증(trichomoniasis) 등에 의해 2차적으로 발생

표 15-1 다양한 질염의 임상 소견 및 검사 결과

검사 항목	세균성 질증	칸디다증	질편모충증	탈락성 염증성 질염	위축성 질염
외관	묽고, 균질성,백색-회색의 질 분비물	백색, 응유(순두부) 같은 질 분비물	황색-녹색, 거품이 이는 점착성의 질 분비물이 증가함	과잉의 화농성 질 분비물, 질 홍반	과잉의 화농성 질 분비물, 질 홍반
pH	〉4.5	3.8-4.5	〉4.5	〉4.5	〉4.5
WBCs	없거나 소수	3+ ~ 4+	2+ ~ 4+	3+ ~ 4+	3+ ~ 4+
젖산균(유산균)	없거나 소수	있음	없거나 있음	없거나 저하	저하
단서 세포	〉20%	없음	없거나 있음		
기타 세포		상피 세포 큰 덩어리		가끔 부기저 및 기저 세포	가끔 부기저 및 기저 세포
기타 생물	굴곡 막대균, 알막대균, 다형 막대균의 증가	발아 효모 세포 및 거짓 균사(거짓팡이실)	다른 생물과 관련된 트리코모나스	2+ 그람 양성 알균	그람 양성 알균과 그람 음성 막대균 증가; 큰 막대균 감소
아민(Whiff)검사	양성	음성	양성	음성	음성
기타 검사	확인 검사: DNA 탐색자, 프롤린아미노펩티데이스, OSOM BVBLUE 신속 검사	확인 검사: DNA 탐색자, OSOM BVBLUE 신속 검사	확인 검사: DNA 탐색자 또는 배양,OSOM 트리코모나스 신속 검사		

- 현미경 검사 방법: 생리식염수 습식 봉입 검사, 수산화칼륨(KOH) 검사, 그람 염색 등
- 태반 α_1-마이크로 글로불린(PAMG-1) 검사: 파열된 태아막 진단
- 태아 파이브로넥틴(fibronectin) 효소 검사: 조기 분만의 위험을 추정

질 분비물(vaginal secretions)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 검체 채취
- 플라스틱 면봉(자루)에 폴리에스터 팁을 가진 멸균 면(폴리에스터)봉
- 질벽을 긁어서 채취
- 솜(cotton)은 임균(*Neisseria gonorrhoeae*)에 독성이 있을 수도 있음
- 나무 자루는 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*)에 독성이 있을 수도 있음
- 알긴산 칼슘(calcium alginate)은 단순포진 바이러스(herpes simplex virus, HSV)를 불 활성화할 수 있기 때문에 면봉(cotton swab) 사용 자제

● 검체 취급
- 최초 면(폴리에스터)봉으로 pH 검사 후
- 무균 생리식염수 0.5~1.0mL 시험관에 질 분비물 면봉을 넣고 강하게 진탕(혼합, 믹스, 회전)
- 두번째 면봉은 10% KOH 용액에 넣음
- 환자이름과 상태(월경 상태, 질크림, 질세정제 사용 여부 등)

● 색깔 및 외관
- 정상적인 질 세균총은 크고, 막대 모양, 그람 양성 젖산균, 편평상피 세포

표 15-2	질 분비물의 정상 소견
외관	백색, 면상 분비물
pH	3.8-4.2
아민(Whiff) 검사	음성
백혈구	2+
젖산균(유산균)	우세
단서 세포	없음
기타 세포	없음(월경 중 적혈구 예외)
기타 생물	기타 젖산균(유산균) 소군, 때때로 효모

질 분비물(vaginal secretions)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 현미경 검사

- 습식 봉입 검사

*편평 상피 세포(25~70 μ m)

*단서 세포(clue cells):
세포 표면에 알균과 막대균이 덩어리로 붙어있으면서 세포 가장자리의 경계가 불분명

*백혈구(14~16 μ m):
다형핵 백혈구(PMNs)

표 15-3	현미경 검사의 정량화 지표
매우 적음	〈10 생물체나 세포/슬라이드
1+	〈1 생물체나 세포/hpf
2+	1-5 생물체나 세포/hpf
3+	6-30 생물체나 세포/hpf
4+	〉30 생물체나 세포/hpf

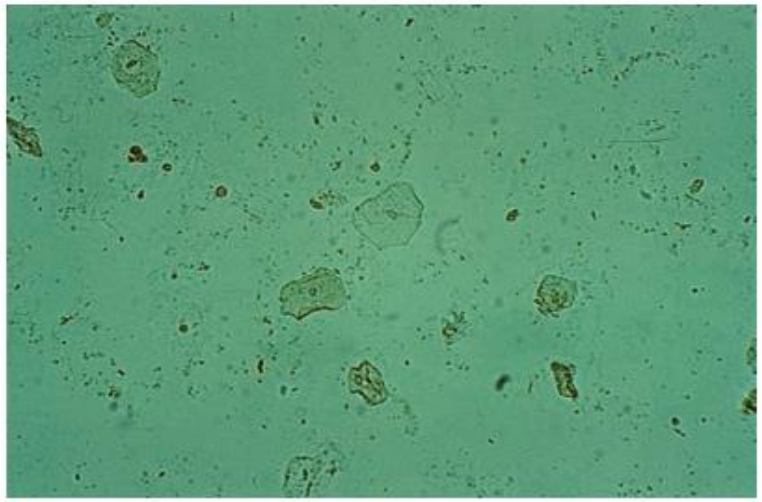


그림 15-1 저배율에서 확인할 수 있는 편평 상피 세포(100×).

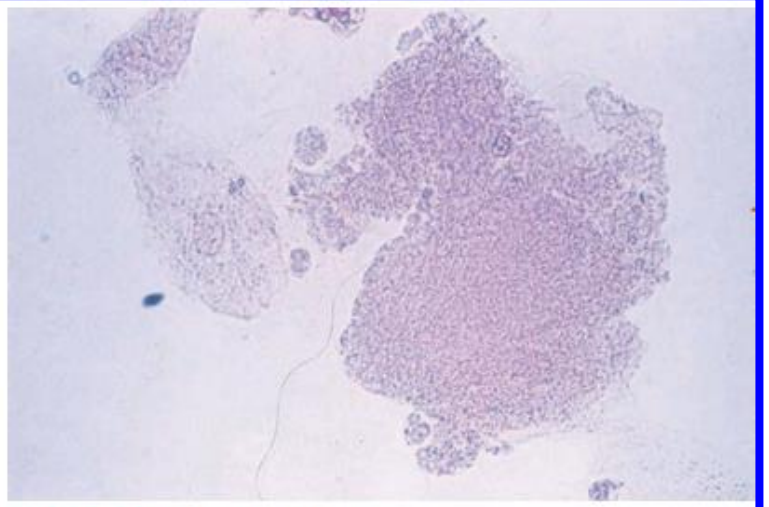


그림 15-3 단서 세포(400×).

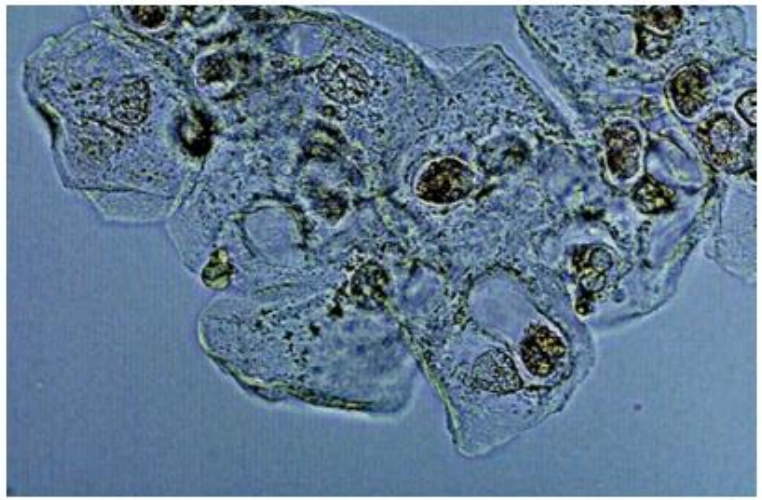


그림 15-2 편평 상피 세포 덩어리(400×)

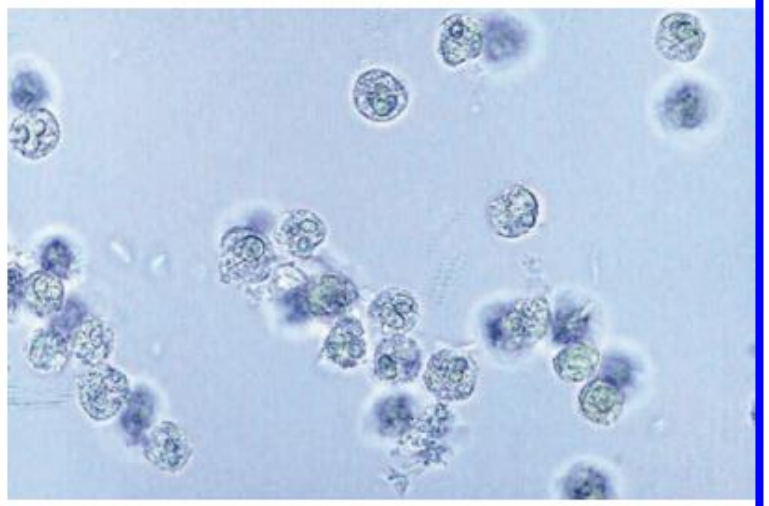


그림 15-4 백혈구. 여러 개의 엽으로 구성된 핵(400×).

질 분비물(vaginal secretions)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

● 현미경 검사

- 습식 봉입 검사

*적혈구(7~8㎛): 정상 안보임

*부기저 세포(16~40㎛) = 방기저 세포(parabasal cells) 질 점막의 내강 편평 상피세포 거의 관찰되지 않음

*기저 세포(10~16㎛): 질 중층 상피의 기저 층 정상적으로 관찰

*세균:
젖산균(*Lactobacillus spp.*)
Streptococcus agalactiae

*질편모충(*Trichomonas Vaginalis*)

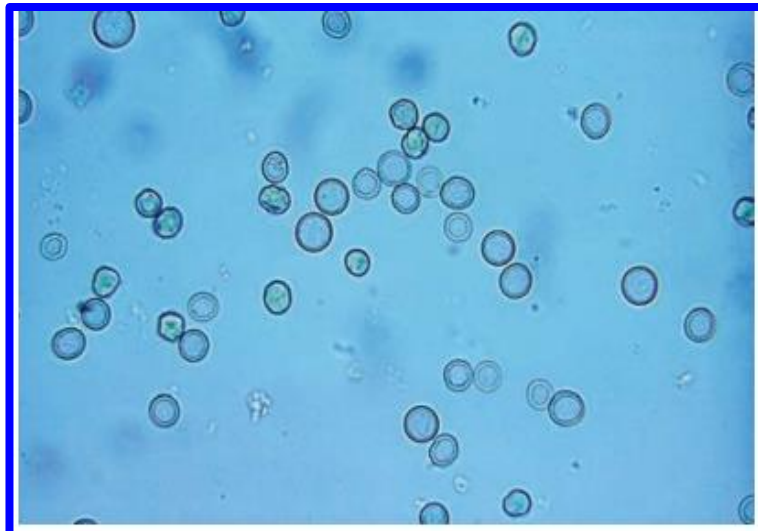


그림 15-5 정상 적혈구(400×)



그림 15-6 상피 세포에 의해 둘러싸인 부기저 세포(400×)

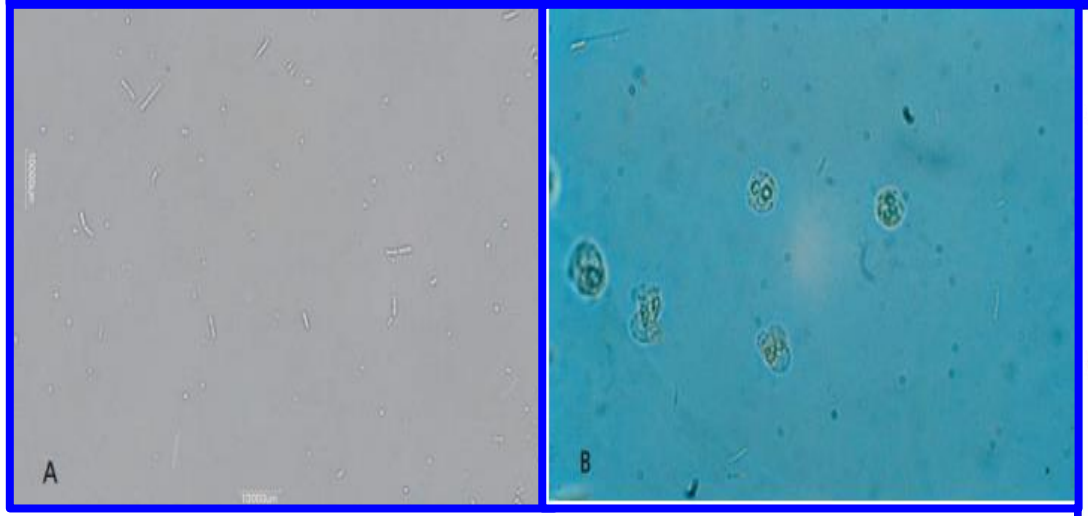
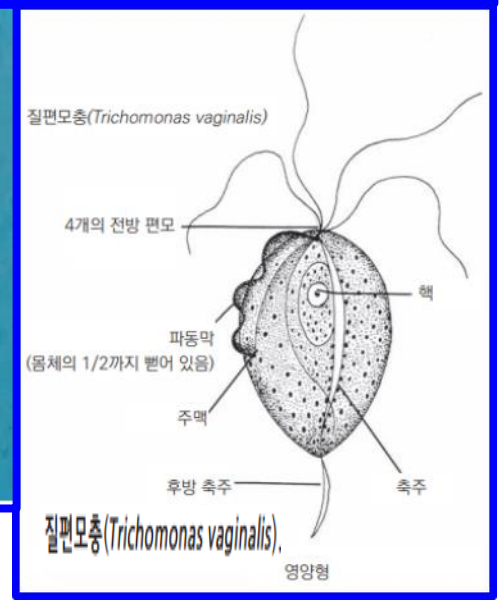


그림 15-7 세균. A, 큰 막대기 같은 젖산막대균으로 정상적인 질 분비물에 많이 존재한다(×400). B, 백혈구와 함께 있는 세균(×400).



질 분비물(vaginal secretions)

중원대학교 JUNGWON UNIVERSITY

- 현미경 검사
  - 습식 봉입 검사
    *효모 세포: *Candida albicans*
- KOH 표본 제작과 아민 검사
  - 슬라이드 위에 생리식염수 검체 1방울에 10% KOH 용액 1방울 첨가
    *아민("비린내") 냄새 확인
- 기타 진단적 검사
  - 그람 염색
  - 배양
  - DNA 검사
- 추가 검사
  - 태아 파이브로넥틴 검사(조기 분만 검사)
  - AmniSure 검사(태아 막 파열 검사)

표 15-4 세균성 질증을 진단하기 위한 Nugent 그람 염색 기준

Lactobacillus	*Gardnerella and Bacteroides* spp. Morphophytes	굴곡 그람-변동성 막대균	점수
4+	0	0	0
3+	1+	1+ 또는 2+	1
2+	2+	3+ 또는 4+	2
1+	3+		3
0	4+		4

주의: 점수는 관찰된 형태형에 따라 추가된다. 최종 합계는 3개 칼럼의 점수를 합친다. 점수가 7 또는 그 이상이면 세균성 질증을 가리킨다.

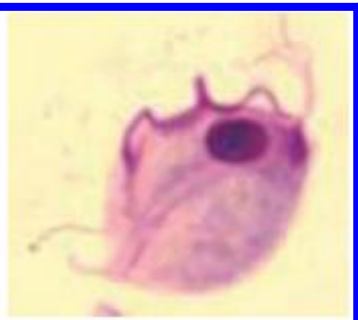


그림 15-9 습식 봉입에서 관찰된 질편모충.

PROCEDURE 15-2

생리식염수 습식 봉입

1. 깨끗한 슬라이드 글라스 라벨에 환자의 이름과 번호를 기록한다.
2. 슬라이드 위에 질 검체 1방울을 놓는다.
3. 커버슬립으로 슬라이드를 덮고, 공기방울을 제거한다.
4. 저배율(100×)로 상피 세포와 어떤 발아하는 효모 세포 또는 거짓 균사체를 관찰한다.
5. 고배율(400×)로 슬라이드를 관찰하고 hpf 당 생물과 세포를 정량한다.
6. 결과를 기록한다.

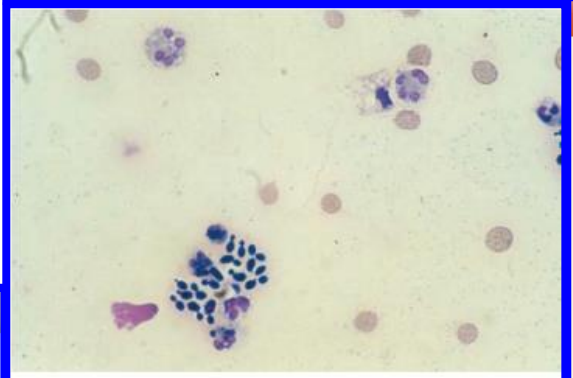


그림 15-10 발아하는 효모 세포

PROCEDURE 15-3

KOH 표본 제작

1. 깨끗한 슬라이드 글라스 라벨에 환자의 이름과 번호를 기록한다.
2. 슬라이드 위에 질 검체 1방울을 놓는다.
3. 슬라이드에 10% KOH 한 방울을 첨가한다.
4. 5분 동안 KOH 표본을 그대로 방치하면 세포 조직과 기타 조직파편이 용해된다.
5. 커버슬립으로 슬라이드를 덮고, 공기방울을 제거한다.
6. 저배율(100×)로 전체를 평가하고 효모의 거짓 균사체를 관찰한다.
7. 고배율(400×)로 발아하는 효모 세포(작은 발아 포자)를 관찰한다.
8. 결과를 기록한다.

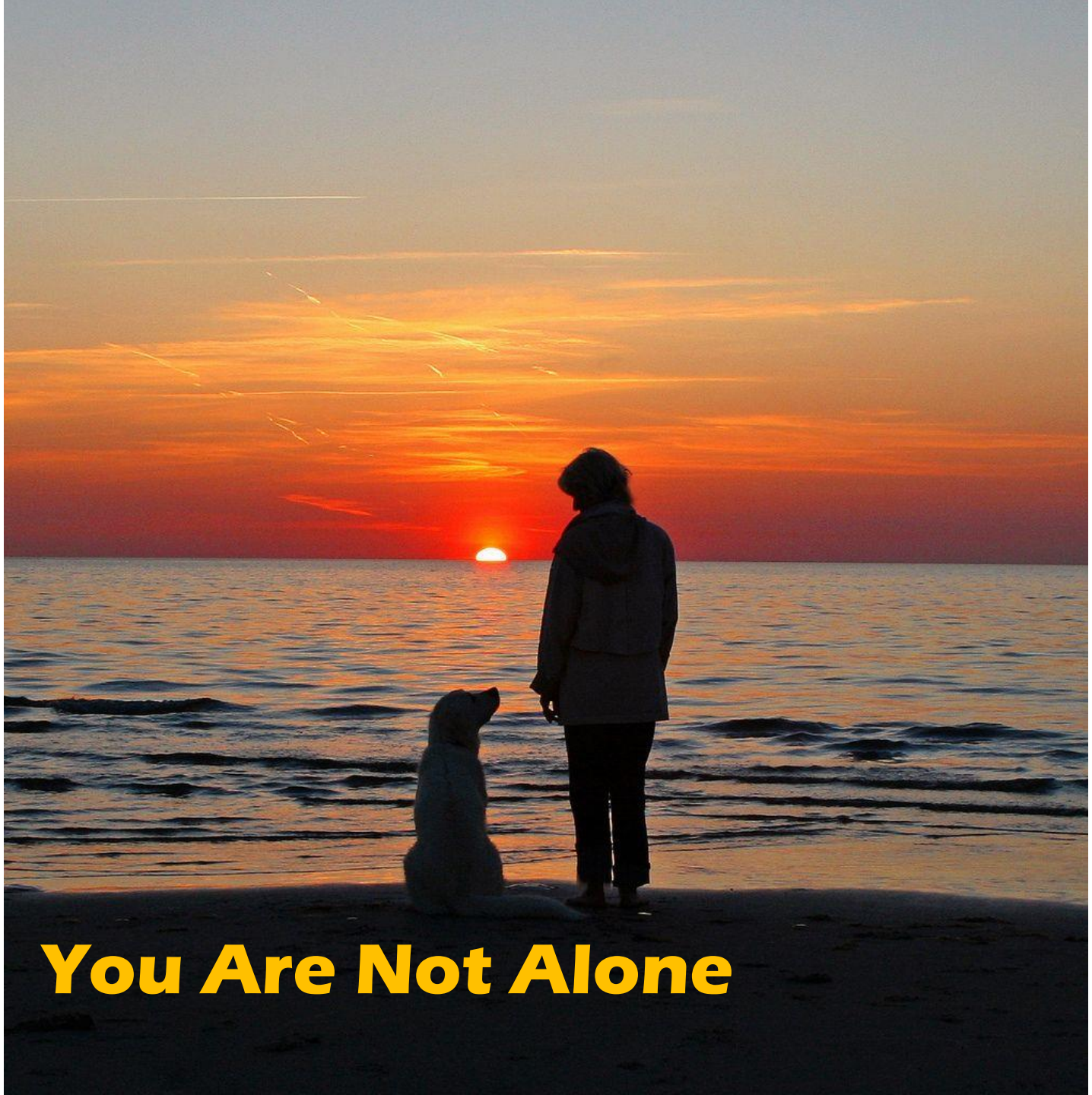


그림 15-11 균사체 형태를 나타내는 효모 세포

PROCEDURE 15-4

아민(Whiff) 검사

1. 깨끗한 슬라이드 글라스에 생리식염수 질액 부유액 1방울을 놓는다.
2. 질 시료에 직접 10% KOH 1방울을 놓는다.
3. 한 손으로 슬라이드를 잡고, 다른 한 손으로 슬라이드 표면 위를 부채질하여 비린내가 나는지 평가한다.
4. 양성 또는 음성으로 기록한다.
   양성: KOH 첨가 후에 비린내가 난다.
   음성: KOH 첨가 후에 비린내가 나지 않는다.


You Are Not Alone