

분변채집 통을 이용한 의료마케팅

태일동물종합병원 원장

김 춘 근

반려동물과 같이 생활하면서 주인들이 가장 걱정하는 부분의 하나가 반려동물의 기생충이 사람에게 전염될까 하는 것이다. 이러한 근본적인 고민을 우리 수의 임상가들이 정확하고 규칙적인 검사를 통하여 명확히 해결해 주면 HAB (Human animal bond)강화에 긍정적일 뿐 아니라 병원의 신뢰도 상승 및 경영 측면에서도 상당한 긍정적 효과가 발생할 수 있다. 또한 가끔 언론매체에서 반려동물 기생충 문제가 이슈화 될 때 반려동물이 유기되는 사태를 예방하는데 아주 효과적인 대응책이 될 수 있다고 생각한다.

원심분리에 의한 기생충 검사를 하면 기생충 및 기생충으로 인한 잠재적인 인수공통질병을 간과하는 실수를 줄일 수 있다. 또한 기생충 검출에 있어서 원심분리 부유검사는 단순 부유법을 통한 검사보다 민감도가 높으며 원심분리법은 임상가들이 생각하는 것보다 저렴하고 번거롭지 않다.

장내 기생충은 반려동물에서 널리 퍼져있는 질병요인의 하나일 뿐만 아니라 축주에게 잠재적인 인수공통질병의 원인이 되기도 한다. 이러한 기생충은 분변 샘플을 직접도말, 침강법, 부유법 그리고 분변 ELISA검사법과 같은 검사를 통해 검출할 수 있다. 분변 부유법은 수의임상에서 가장 흔히 사용되는 방법이다. 그러나 원심분리법과 같은 최선의 임상적 기술을 적용하지 않는다면 분변에서 기생충 검출율을 높이기 어려울 것이다.

지금부터 분변 부유법에 대해 고찰하고 정확하고 효과적인 원심분리 부유법의 절차에 대해 설명하고자 한다. 올 가을 정확한 분변검사 방법을 우리 병원에 셋업하면 어떨까?

어떻게 부유법을 하는가?

분변 부유법은 기생충의 모든 단계(e.g.eggs, oocytes, sporocytes, cysts, larvae)를 다른 물질과 불순물들로부터 각기 다른 밀도(density) 차이를 이용하여 분리하는 방법이다. 밀도란 기생충이나 다른 물질의 부피당 무게를 의미한다. 이것은 흔히 물의 밀도에 대한 기생충의 밀도인 비중(specific gravity)으로 표현된다(물의 밀도는 1.0이다). 기생충의 밀도인 1.10은 물의 밀도에 비해 1.10배 농도가 높다는 것을 의미한다.

성공적인 분변 부유법은 분변 샘플을 설탕이나 소금용액에 넣은 경우 부유액 보다 밀도가 낮은 기생충(다른 물질)은 용액의 상층부로 이동하고 용액보다 밀도가 높은 기생충은 용액의 바닥으로 가라앉을 것이라는 이론에 근거한다. 부력(buoyancy)이란 용액의 윗부분으로 이동하려는 동안 용액의 중력과 점도가 방해하지만 용액보다 밀도가 낮은 물질에 압력을 가해 위로 향하게 하는 용액의 힘이다. 만약 부력이 중력과 점도보다 강하

다면 기생충은 결국 표면으로 이동한다.(적절한 부유액 찾기 참조)

적절한 부유액 찾기	부유액	밀도(비중)
<ul style="list-style-type: none"> • 분변 부유법을 할 때 정확한 결과를 얻기 위해서는 알맞은 부유액을 사용해야 한다. 일반적인 분변 부유액과 기생충 충란의 밀도가 표 1에 나와 있다. 각기 다른 용액의 밀도(비중)는 물에 포함된 소금이나 설탕의 농도에 의해 결정된다. 대부분 용액의 밀도는 1.18과 1.20이다. 그리고 대부분 혼한 기생충의 밀도는 표 1에 나타난 바와 같이 1.18이하이다. 이들 기생충들은 위의 용액을 사용하면 쉽게 발견된다는 것을 나타낸다. • Taenia와 Physaloptera 종과 같은 가장 밀도가 높은 기생충의 단계도 우리는 발견할 수 있을까? 대답은 그렇다이다. 밀도가 약 1.35인 용액을 준비할 수 있다. 문제는 이와 같은 높은 밀도의 부유액은 밀도가 높은 기생충뿐만 아니라 무거운 불순물까지도 부유시킨다는 것이다. 너무 많은 불순물은 준비된 슬라이드 글라스를 읽기 힘들게 한다. 또한 높은 밀도의 부유액은 가끔 특정 충란이나 oocyst를 손상시키거나 왜곡시킬 수 있다. • 최근에는 비중이 1.18에서 1.27인 부유액이 최적의 기생충 검출을 위해 추천된다. 연구에서 sucrose용액의 비중이 1.27이 되도록 섞고 함께 원심분리 부유한 결과 최상의 기생충 검출율을 보였다고 제안한다(표 2). 어떤 부유액을 사용하던지 주기적으로 적절한 비중계를 이용하여 용액의 비중을 검사하는 것이 중요하다(사진 1). 용액을 준비할 때 그리고 일주나 일주일일에 두 번 간격으로 비중을 검사해야 한다. 	Sodium nitrate (338 g/L water)	1.18 - 1.20
	Zinc sulfate (331 g/L water)	1.18 - 1.20
	Sucrose (454 g/355 ml water, 6ml formaldehyde)	1.25 - 1.27
	Sodium chloride (350 g/L water)	1.18 - 1.20
	Magnesium sulfate (450 g/L water)	1.20
		기생충 충란
	<i>Toxocara canis</i>	1.09
	<i>Toxocara cati</i>	1.10
	<i>Ancylostoma species</i>	1.06
	<i>Trichuris vulpis</i>	1.15
	<i>Taenia species</i>	1.23
	<i>Physaloptera species</i>	1.24

표 1

왜 원심분리 분변 부유법을 선택해야하는가?

원심력은 중력 자체의 힘 보다 무거운 물질을 효율적으로 용기의 바닥으로 가라앉힌다. 준비물의 표면으로부터 크고 무거운 불순물을 제거하면 기생충의 부유에 도움이 되고 불순물 때문에 생기는 검사 현미경 검경의 오류를 줄일 수 있다. 또한 설탕용액과 같은 점도가 있는 용액은 원심분리에 의해 생긴 원심력이 점도를 극복하여 기생충 검출율을 극대화 시킨다.



그러므로 성공적인 기생충 검출은 기생충의 밀도와 부유액의 밀도 및 점도 그리고 상기 요인들의 상호작용 및 검사시간 등이 기생충이 표면에 부유되는데 영향을 미친다. 이들 모든 요인들이 얼마나 오랫동안 원심분리를 할 것인지 또 현미경 검사를 하기 전 부유시킨 준비물을 얼마나 오래 세워 두느냐를 결정짓게 된다.

수의사들과 수의 테크니션들은 가끔 원심분리 분변 부유절차를 마음에 내키지 않아한다. 여기에 분변 부유법에 관한 몇 가지 잘못된 상식들이 있다.

1. “원심분리법은 더 이상 단순 부유법에 비해 정확하지 않다”

한 연구에서 원심분리 부유법은 단순부유법에 비해 분변 샘플로부터 기생충을 검출하는데 더욱 효과적이라는 것을 확인했다. 이유는 간단하다: 우리가 원심분리를 할 때 단순부유법을 할 때 보다 더 큰 부력과 중력을 발생 시킨다. 원심분리 부유법은 다음과 같은 무거운 충란 즉, *Trichuris vulpis*(편충), *Taenia species*(촌충), *Toxocara species*(회충), *Eucoleus (Capillaria) species* (회충) 그리고 *Isospora* (콕시듐)과 같은 충란에 있어서 검출율을 크게 향상된다. 관리가 잘 되어 있는 반려동물의 경우 기생충 관찰이 어렵기 때문에 기생충의 검출율을 향상시키기 위해서 원리분리를 이용하는 것이 아주 중요하다.

Formula for Sheather’s Sucrose Solution

• 준비물

- 454g 설탕가루
- 355ml 수돗물
- 6ml 포르말린

1. 거의 끓을 정도로 물을 가열한다.
2. 설탕을 넣고 다 녹을 때까지 젓는다.
3. 포르말린을 넣기 전에 실온에서 혼합물을 식힌다.
4. 비중을 측정하고 필요하다면 수돗물이나 설탕을 넣어 비중이 1.270이 되게 한다

표 2

부유액의 밀도 측정

- 표1에 지시한 부유액을 준비
- 부유액에 적절한 크기의 비중계를 띄운다
- 비중계의 눈금을 보고 용액의 비중을 읽는다.
- 물 혹은 설탕 혹은 소금을 첨가하여 비중을 조절한다.

2. “원심분리는 너무 복잡하고 많은 시간을 필요로 한다”

원심분리는 간단하고 빠르다

3. “원심분리기는 너무 크고 바쁜 동물병원에 너무 많은 공간을 차지 한다”

원심분리기는 병원의 작은 공간만을 차지한다.

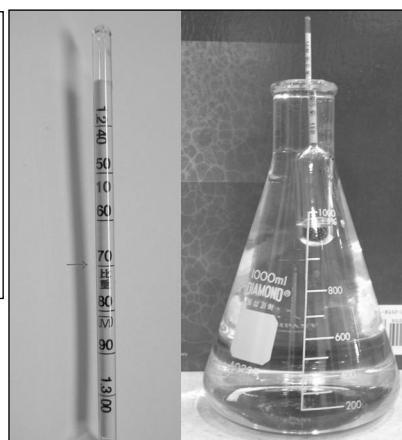


사진 1

4. “원심분리기는 너무 비싸다.”

대부분의 원심분리기는 그리 비싸지 않고 10년 정도는 별 고장 없이 사용할 수 있다.

샘플의 수집과 저장

모든 분변검사법의 정확도는 분변 샘플의 양과 질에 달려있다. 우리는 적어도 2g의 분변을 분변 부유법을 하는데 사용하기를 권장한다. 때때로 분변 채취용 고리나 체온계에 묻은 분변을 이용하여 검사를 해야 할 필요가 있는 경우도 있다. 이런 경우 결과가 음성인 경우는 의미가 없지만 결과가 양성인 경우 기생충 증감염을 의미한다. 샘플의 수분 양이 증가(무른변)하는 것에 비례하여 분변 샘플의 양도 증가해야 한다. 당신이 생각하는 것과 반대로 설사변 샘플에서는 수분 함량의 증가로 인한 희석효과로 상대적으로 적은 양의 기생충을 함유한다. 보호자에게 분변을 수집하고 보관하는 용기는 공기를 제거해야한다고 교육하라. 비닐봉지나 뚜껑이 달린 용기면 충분하다. 샘플은 시원하고 건조하며 직사광선을 피해서 보관해야 한다. 대부분의 보호자들이 음식물과 함께 샘플을 냉장고에 보관하는 것을 꺼려하겠지만 일반적인 냉장고에 보관하는 것이 가장 이상적이다. 냉장 샘플은 대부분의 기생충에 영향을 주지 않으면서 며칠에서 1주간 냉장보관이 가능 하다. 그러나 샘플은 가능하면 빨리 수의사에게 전달되어 검사하는 것이 좋다. Giardia 와 Tritrichomonas 의 trophozoites 그리고 어떤 선충류의 유충들은 냉장 저장하는 동안 살아남지 못 한다. 만약 이들 기생충이 의심된다면 샘플을 즉시 검사해야 한다.

샘플 준비

원심분리를 위한 분변샘플을 준비하기 위해서는 가능한 많은 양의 불순물을 제거해야 한다. 첫째, 적당량의 부유액에 샘플을 넣는다(사진2). 분변 샘플이 부유액 전체에 걸쳐서 분포하도록 혼합물을 잘 섞는다(사진3). 만약 설탕(sucrose)을 사용했다면, 공기 방울이 생기는 것을 방지하기 위해 과도하게 저어서는 안 된다. 이때 생긴 공기 방울은 검경하는데 장애물로 작용한다. 다음으로 혼합물을 여과기(채) 또는 한 두 장의 거즈를 이용해 다른 깨끗한 용기에 걸러 담거나 또는 직접 시험관에 담는다(사진4). 시험관에 담을 경우 시험관 상단에서 1cm가량 모자라게 담는다(사진5). 여기까지 여과액은 원심분리 준비가 끝났다.



그림 2



그림 3

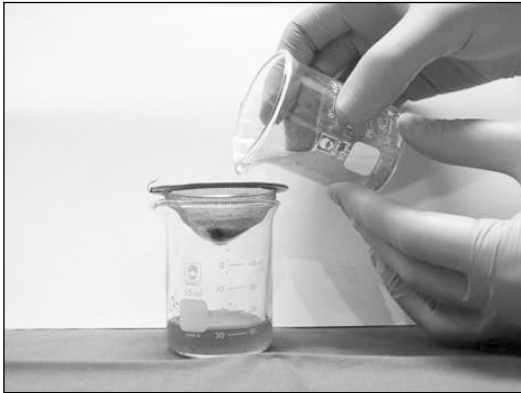


그림 4



그림 5

원심분리 부유법의 실행

원심분리 부유법은 swinging bucket 이나 fixed-angle 원심분리기 모두를 이용하여 실행 할 수 있다. 우리는 샘플을 다루는데 소모되는 시간을 줄여주는 swinging bucket 원심분리기가 좋기는 하나 한국에서는 구입이 어렵고 고가이기 때문에 여기서는 일반 동물병원에서 가장 많이 보유하고 있는 fixed-angle 원심분리기 (사진6, 7)를 이용한 검사법을 소개하고자 한다.



그림 6



그림 7

Fixed-angle 원심분리

준비된 시험관을 원심분리기에 넣고 1200rpm에서 5분간 원심분리 한다. 원심분리 속도를 더 빠르게 해도 결과에 나쁜 영향을 미치지 않는다. 원심분리 최소한 5분 이상을 권장한다(사진6, 7). 기계의 회전이 저절로 완전히 멎으면 원심분리 한 시험관을 꺼내고 시험관대에 꽂는다. 그리고 표면이 블록해질 때까지 부유액을 첨가한다(사진8). 다음 단계로 커버글라스를 시험관 위에 올려놓는다(사진9). 그 상태에서 최소한 10분간 그대로 세워놓은 후 커버글라스를 슬라이드 글라스 위에 놓고 기생충의 단계들을 현미경으로 검사한다. 만약 sucrose 부유액을 사용했다면 모든 단계의 기생충을 발견하기 위해 15에서 20분간 커버글라스를 그대로 두는 것이 필요할 수도 있다. 나의 임상 경험상 다른 모든 부유액을 사용했다면 10분 이상 기다릴 필요는 없다.

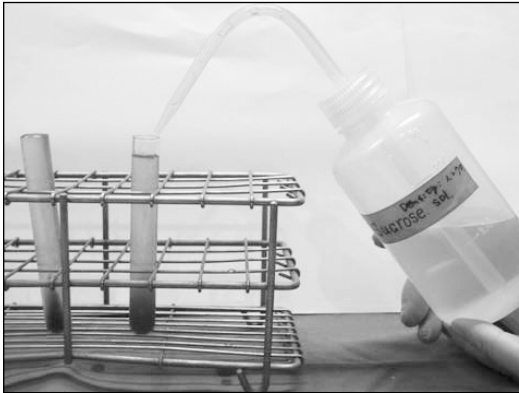


그림 8

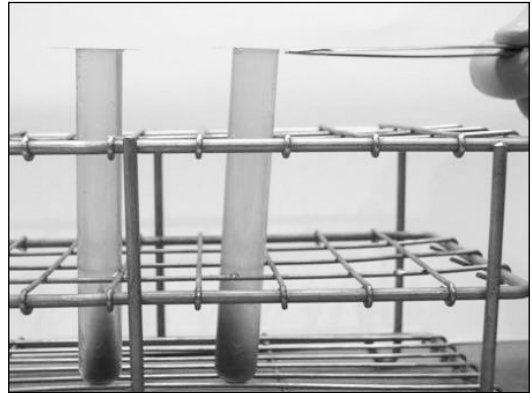


그림 9

현미경 검사

커버글라스를 슬라이드글라스 위에 두고 체계적이고 철저하게 검사한다. 준비된 슬라이드글라스는 3차원 공간이다. 이것은 길이, 폭, 깊이를 가진다. 깊이는 가장 중요하다. 커버글라스의 가장 상층의 면지에 초점을 맞추는 것이 도움이 되고 그리고 나서 아래쪽으로 이동한다. 크기가 작은 기생충(예. *Giardia* species, *Cryptosporidium* species, small coccidia)은 처음이나 상층에서 발견될 것이다. 다음 층으로 내려가면 큰 충란(roundworms, hookworms, whipworms), oocyst, 그리고 larvae(만약 있다면)를 함유하고 있을 것이다. 커버글라스를 검사할 때 한쪽 코너에서 시작하여 지그재그로 샘플 전체를 체계적으로 이동하면서 검경한다. 만약 의심되는 특정 크기의 기생충이 아니라면 샘플 전체의 초점을 위, 아래로 이동하면서 관찰한다. 이 경우 집중해서 관찰하면 기생충이 발견된다. 커버글라스 전체를 대물렌즈 10배로 검사하라(총 배율은 100배). 작은 기생충이나 다른 개체는 대물렌즈 40배로 검사한다.(총 배율 400배) 분변부유슬라이드를 검사하기 위해 100배의 대물렌즈(oil immersion)를 사용하지 않는다.

Reference

Veterinary Medicine. Jul, 2006:455-63: Optimize intestinal parasite detection with centrifugal fecal flotation

Byron L. Blagburn, MS, PhD, Jamie M. Butler, BS

Department of Pathobiology College of Veterinary Medicine Auburn University Auburn, AL 36849-5519