

□임상가를위한씨리—즈-8-□

SEROLOGY

서울대학교 치과대학 구강진단학교실

이 승 우

1. 혈청을 이용한 암 검사법

Fuchs 반응, Lehmann-Facijs, 반응, Kürten의 혈청계 불법, Black반응등이 있다. 이상의 어느방법이나 오늘날 절대적인 가치를 갖고있는것은 없으며 다른 일반진단법의 보조적방법으로서 실시할 정도의 방법이다. 이중 비교적 조작이 간편한 Kürten의 혈청계 불법과 Black반응에 대하여 기술한다.

(A) Kürten의 혈청蒸沸法

원리 : 암환자의 혈청은 열응고성에 변화가 있는것을 알아내고 이것을 암진단에 이용하려는 것이다.

과정 : ① 아침공복시에 팔정맥에서 혈액 3~5ml을 취하여 원심관에 넣고 실온에 방치후 혈청을 분리한다 (24시간후 혈청분리도加)

② 혈청 0.5~1.0ml을 pipette로 시험관에 넣고 이것을 진탕하면서 약한불로 끓인다.

판정 : 암반응 음성 : 혈청을 끓일때 처음에 응고하여 그 응고된덩어리가 시험관에서 부글부글 끓어오른다. 계속해서 더 끓이면 응고물질이 쪼개져서 시험관벽에 부착된다. 이와동시에 유백색의 액층이 분리하여 시험관저에 모이는 경우.

암반응 양성 : 혈청을 끓이면 乳樣膠質物로 되어 시험관내를 오르내리지만 시험관벽에 부착하는일없이 乳樣膠質의 응고덩어리가 한덩어리가 되어 옛과같이 시험관 밑에 모이는 경우다.

또한 끓이는 도중 혈청이 거품을내고 응고 되지않는 경우에도 양성이다.

주의 : ① 용혈된 혈청은 사용할수 없다.

② 채혈용구, 시험관등은 건조멸균해야 한다.

③ 불꽃을 加減하여 같은 조건하에서 끓이는 매도 수련이 필요하다.

신빙도 : 평균적중율은 81.6%이다.

(B) Black 반응

원리 : 암환자 혈청은 methylenblue를 환원하는 힘이 약한것을 이용한 것이다.

과정 : 혈청 0.1ml을 적은 시험관에 넣고 여기에 0.15%

methylenblue 0.2ml을 加하고 혼합한다음 100°C의 열탕속에서 가열하여 청색이 완전 탈색할때까지의 시간을 보는 것이다.

판정 : 탈색시간 10분이내이면 정상, 탈색시간 10분이상이면 암양성

신빙도 : 암혈청의 75~80%가 양성을 나타낸다.

II. 매독의 혈청학적 검사법

매독의 혈청학적 진단법에는 크게나누어 Cardioliipin 항원을 쓰는 방법과 매독병원체의 Treponemal antigen을 쓰는 방법이있다.

1) V. D. R. L. Test(유리판법)

유리판법은 미국의 Veneral Disease Research Laboratory법에 기인한것으로 slide上에서 행하고 현미경으로 판정하는 Slide Flocculation Test이다.

용구 : ① 15~30ml. 의 유리병

② 0.1ml. 의 pipette

③ Hole glass (or Burner glass)

④ 주사기 (1~2ml.) 및 주사침 (1ml가 60 drop가 되는것)

⑤ Rotating machine (1분간 120회전)

항원 : ① Cardioliipin 0.03%
lecithin 0.18~0.30% } 을 함유하는 정제
cholesterol 0.9% } 무수알콜 용액.

② Buffered Saline Solution

1% NaCl. Formaldehydle 0.5ml, secondary sodium phosphate($Na_2 \cdot HPO_4 \cdot 12H_2O$) 0.093gm, sodium chloride(ACS) 10gm을 증류수 1000ml로 게 만든다. 이용액은 pH 6.0±0.1이고 갈색병에 보관한다.

③ 혈청

a) 혈청의 분리후 test전지의 30분간 56°C의 water bath에 30분간 warming

b) Water bath에서 꺼낸 serum을 검경하여 적혈 + 기타유기물을 함유하고 있으면 다시 원침한다

c) Serum방치후 4시간이 지난것은 검사할때마다 56°C로 10분간 가온한다.

(A) 정성법

- 과정 : ① 30분간 56°C로 warming한 serum을 0.05ml를 hole glass의 오펜판에 등갈게 떨어뜨린다.
- ② Antigen을 1/60ml. 떨어뜨린다.
- ③ 즉시 rotating machine에 놓고 1분간 120회전의 비율로 5분간 회전시킨다.
- ④ 검경 : 배율은 100배

판정 : a) 덩어리가 없거나 아주작은 덩어리인 경우 : Negative(-)

b) 적은 덩어리가 있는 경우 : doubtful(±, +)

c) 중간 또는 커다란 덩어리가 있는 경우 : Positive (H, H#, H##)

doubtful인 경우는 다시한번 검사할 필요가 있다.

(B) 정량법

혈청을 0.85%식염수로 2, 4, 8, 16, ...으로 배수희석을 하고 이것을 정성법과 같이 Antigen을 떨어뜨려 양성 반응(1+)을 나타내는 최고희석배수를 반응의 마지막 Titrer로 한다.

예를들어 64배에서 마지막 Titer가 나타났다면 1 : 64 또는 64dils라고 한다.

2) T. P. H. A.

원리 : 이방법은 Treponema pallidum의 균체성분을 양의 적혈구에 흡착시킨 것을 항원으로하여 Treponema Pallidum항체의 존재하에서 생기는 혈구응집 반응을 검사하고 그 응집의 모양을 보아 항체의 유무를 판정하는 것이다.

또한 非特異응집을 방지하고 반응의 특이성을 높이기 위해서 희석용 medium을 사용하고 여기에 흡수용시약으로 고정된 양의 적혈구와 건강한 토끼정소에 아세톤분말 및 비병원성 Treponema pallidum의 균체성분을 함유시킨것을 미리 검사혈청에 가하여 혈청중의 비특이인자를 흡수하도록 만든것이다.

본법은 특이성이 높으며 예민도가 우수하고 방법이 간단하며 재현성이 좋고 routine의 검사에 사용할수있는 방법이다. 그러나 초기 매독환자의 혈청에서는 음성을 나타내는 일이 있으므로 임상증상을 참작하지 않으면 안된다.

시 약 :

(A) 흡수용시약 : 증류수 10m를 가한다.

구성성분은 적혈구 0.1ml, 집토끼정소를 아세톤으로 처리한분말 5mg, Treponema palladium 균체성분 0.05ml, 아라비아고무분말 25mg, 집토끼혈청 0.1ml, polysolbate 800.001ml와 치메로살 1mg을 0.15M인 완충식염수에 전량 100ml로 만들어 동결건조 시킨것

(B) 희석용 medium :

아라비아 고무분말 62.5mg, 집토끼혈청 0.25ml, polysolbate 800.0025ml 치메로살 2.5mg을 0.15M인 Buffer saline Sol. 전량 25ml을 만든것.

(C) 감작혈구 :

성분 : Treponema pallidum의 균체성분 감작양의 혈구를 2.5%의 비율로 희석용 medium에 현탁하고 동결건조시킨것.

대조용 양성혈청 : 사용시 증류수 1.0ml을 가한다.

대조용 음성혈청 : 사용시 증류수 1.0ml을 가한다.

용구 : ① 시험관(1×9cm)

② 0.5ml, 1.0ml, 10ml의 pipette

③ 시험관臺(Test tube stand)

④ Centrifuge

⑤ HA Tray(혈구응집판 반응)

과정 : ① Serum의 분리 : 25r. p. m. 으로 5분간 원침

② 혈청의 흡수 : a) Serum 0.05ml을 Tube에 넣는다.

b) 여기에 A액 0.95ml을 가하고 잘 섞어서 2~6°C에 30분간 방치

c) 이것을 2500r. p. m. 으로 5분간 원심침전하여 상층액을 분리

③ 뇌척수액의 검사는 혈청에 준한다.

과 정 :

(A) 정성법

① B액 0.6ml을 소시험관에 넣는다.

② 여기에 희석혈청 0.2ml을 가하고 잘 혼합한다(80배 희석이 됨)

③ 이것을 0.5ml의 H. A Tray에 넣는다.

④ 여기에 C액을 감작혈구용 spoid로 0.5ml씩 가하고 tray를 흔들어 내용을 잘 혼합한다.

⑤ 그대로 실온에 방치후 3~4시간후에 판정

⑥ 다시 18시간 방치후 최종판정

(B) 정량법

① 소시험관 4개에 B액 0.9ml을 넣는다.

② 흡수가 끝난 희석혈청 0.3ml을 제1 test tube 넣고 다음표의 희석계열을 만든다.

4n

| 시 험 관 | I | II | III | IV | |
|--------------|------|-------|---------|---------|-------|
| 혈 청 희 석 도 | 1:80 | 1:320 | 1:1,280 | 1:5,120 | ... |
| B액 (ml) | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | |
| 흡 수 혈 청 (ml) | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | |

③ 위의 4개의 시험관에서 0.5ml씩을 고희석측 으로부터 tray에 차례로 놓는다.

④ C액 2 drop을 감작혈구용 spoid로 가한다.

⑤ 그이하는 정성법과 같다.

판정 :

(A) 정성법 :

Negative(-) : 1도넛형으로 집합하며 주변부가 매끈하고 투명

② 주변부는 매끈하며 약간 불투명하다.

doubtful(±, +) : ① ring상으로 집합한 혈구는 매끈하고 주변부에 약간의 파립상 침전이 있다(±)

② ring상 집합혈구는 거칠며 주변부에 많은 파립상 침전이 생긴다(+)

positive(++, ###) : ① 전체적으로 막모양으로 침전하며 주변부에 약간의 응집원을 형성한다.

② 전체적으로 막모양으로 침전

③ 막모양이 침착하고 일부가 함몰되어 막모양이 부정형이다.

④ 막의 주변에 함몰 부위가 몹시 심하다.

(B) 정량법 :

회색배수 1:80까지 양성(+)

" 1:320까지 양성(±)

" 1:1280까지 양성(##)

" 1:5,120까지 양성(###)

매독의 혈청학적 검사성적의 종합판정

(A) 전부 양성인 경우

① 후천성 매독 : 매독 감염의 기회가 있었던것.

② 선천성 매독 : 친형제, 부부, 어린이의 가족검진을 한다.

③ Syphilis d'embleè : 감염경로가 명확하지 않은 경우

④ 생물학적 위양성반응 : 종두, 나병, 유행성간염, 마라리아등의 경우에 5~20%의 경우에 위양성을 나타내는 경우도 있다.

⑤ 양성인 모친이 충분히 치료하여 완치되었을때는 그 신생아가 양성이라도 매독항체가 혈액내에 있는 경우며 실제로는 매독이 아닌 경우도 있다.

⑥ 매독 제2기 이후에 치료를 시작한 환자는 완치후에도 완전히 음성화하는 경우는 적다.

(B) 전부음성인 경우

① 임상증상이 없는한 우선 매독에 걸리지 않은 것으로 보아도 좋다.

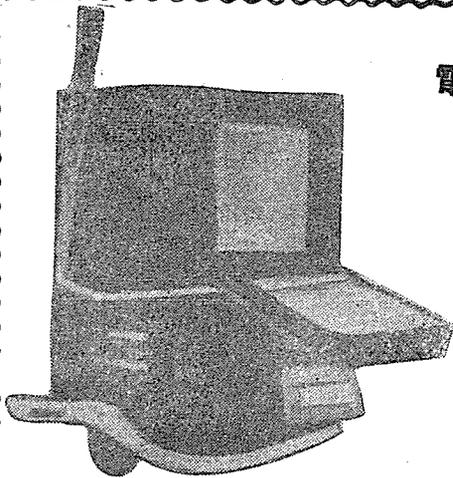
② 가끔 매독환자도 음성인 경우가 있다.

c) 성적이 불일치한 경우

① 과거에 매독에 걸린적이 있거나 치료시기가 늦은 경우

② BFP의 경우도 어느 한가지 방법만 양성인때가 많다.

주의 : 매독진단시에는 임상진단이 우선적이며 혈청진단은 보조진단이다.



電熱爐 (Furnace) 販賣開始

齒科醫師가 立案製作한 電熱爐(Furnace)의 生産販賣를 開始했습니다. 學界의 보다 많은 도움을 줄것으로 自負하며 여기에 그 特長을 紹介합니다.

- 低廉한 價格으로 求得할수있고
- 電力消耗가 적으며 (소환시간 Inlay Ring을 例하면)30分 内外에 6원 程度임
- 100v 1000w NICKEL CHROME 2種을 使用하여 耐久性이 길다는 點
- 內容部品이 石棉, 電熱胴(도가니)電熱線으로서 再修理가 容易하게 考察되어 있음

◎ ◎ ◎
品 價 信
質 格 用
保 低 本
證 廉 位

其他 國內外 各種齒科器材 一切具備

大光齒科材料商會

代表 全 洪 基

서울特別市 中區 南大門路 5街 63番地

太陽社內 電話 22-1753·28-2391