

犬의 總白血球數 및 好酸球數의 同時的直接計算을 위한 改良稀釋液에 관한 研究

李 成 鎬

李 芳 煥

李 元 暢

忠清南道 古德家畜病院

全南大學校農科大學 獸醫學科

建國大學校 畜產大學 飼料學科

緒 論

근래 各種 白血球系의 형태학적 검사는 白血球의 근원과 기능이 점차로 밝혀져 감에 따라 疾病診斷뿐만 아니라 각종 動物實驗처리에 있어서 體內에 일어나는 여러 器質的變化 또는 機能的 變化를 측정하는데 매우 重要하게 이용되고 있다.

특히 好酸球의 檢査는 寄生虫 感染病, 알레르기病, 皮膚疾病 그리고 스트레스 反應 또는 皮膚皮質의 機能檢査^{2,4)}등에 있어서 가치있게 이용되고 있다.

현재까지 獸醫臨床에서 이용되고 있는 好酸球의 計算法은 人體에 적용되는 것과 同一한 方法이 應用되고 있으며 李¹⁾에 의해서 지적된 바와 같이 실제에 있어서 物動의 種類에 따라 이의 적용에 있어서 많은 문제점이 따르고 있는 실정이다. 好酸球計算法은 현재까지 많이 알려져 있으나 그중에서도 가장 신빙적으로 이용되고 있는 것은 總白血球數 計算 및 血液塗抹標本에서의 白血球 百分比를 이용하여 간접적으로 好酸球數를 계산하는 간접계산법이 있고 직접 계산법으로서 Hinkelman's solutin (eosin Y 0.5 g+濃 formalin 0.5 ml+95% 石灰酸 0.5 ml+ 적량의 증류수=100 ml)¹²⁾, Randolph's solution (1% methylene blue in propylene glycol 50 ml에 증류수 50ml를 가한 것과 0.5% phloxine in propylene glycol 50 ml에 증류수 50 ml를 가한 것을 사용 직전에 혼합하여 그 후 4시간 사용할 수 있음)^{7,12)} 그리고 Pilot's solution (propylene glycol 50 ml+ 증류수 40 ml+1% phloxine 수용액 10 ml+10% sodium carbonate 수용액 1 ml)^{1,3,6)}등이 주로 사용되고 있으며 그 중에서도 현재 인체에 가장 신빙성있게 이용되고 있는 것은 Pilot's solution이다. 최근 李¹⁾는 이들 희석액을 사용하여 家畜血液의 好酸球數 計算을 實驗해 본 결과 사람에서와 같은 적절한 결과를 얻을

수 없음을 감안하여 새로운 稀釋液(Lee's solution)의 조제를 시도하였으며 이것으로 가축의 好酸球 直接計算을 실시해 본 결과 사람, 소, 돼지에서는 적절히 응용될 수 있었으나 개와 토끼의 血液을 대상으로 할 때는 부적당하였으므로 이에 관해서는 더 進一步 연구가 있어야 한다는 점을 지적하였다.

위와 같은 사실을 감안하여 이 실험에 있어서는 개의 血液을 대상으로 하여 好酸球數 計算과 더불어 가급적이면 總白血球數 計算을 동시에 할 수 있는 改良稀釋液을 고안할 것을 목적으로 하였다.

이 실험을 수행하는데 있어서 먼저 지금까지 많이 이용되어온 상기한 네가지 희석액의 성능에 관해서 비교 검토한 후 주로 Lee's solution (propylene glycol 50 ml+증류수 40 ml+1% phloxine 수용액 5 ml+1% methylene blue in methyl alcohol 5 ml)의 처방을 재조정함으로써 개에 있어서 好酸球數 및 總白血球數를 동시에 신빙성있게 계산할 수 있는 희석액의 조제가 가능하였으므로 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

供試血液 : 成牝犬 3두에서 필요에 따라 수시로 常法에 의하여 靜脈採血하여 즉시 냉장고에 保存하면서 사용하였으며 24時間이 경과한 血液은 폐기하였다. 사람(30歲, 男)의 血液은 인근의 病院에서 求하여 동일한 方法으로 供試하였다.

抗血液凝固劑 : 臨床檢査에 사용되는 抗凝固劑로서 과거에는 二重蓆酸鹽이 많이 이용되고 있음을 감안하여 이것과 EDTA의 두가지 항응고제를 각각 첨가한 血液을 供試하였으며 특히 EDTA의 용량은 血液 1ml 당 2mg¹⁰⁾으로 하였다.

稀釋液의 調製 : 稀釋液의 調製에 있어서는 Randolph's solution 및 Lee's solution의 구성성분을 주로 참

고로 하였으며 赤血球를 보이지 않게 하는 무형제로서는 propylene glycol 을 그리고 白血球 染色을 위한 色素로서는 phloxine 과 methylene blue 를 사용하여 그 배합 비율을 달리한 여러 稀釋液을 만들어 供試하였다.

稀釋液의 判定: 稀釋液의 優劣을 判定하기 위해서는 白血球數 計算用 피펫을 사용하여 血液과 稀釋液을 混合한 후 혈구계산판에 옮긴 다음 현미경 확대비율을 100배로 하여 視野의 鮮明度, 血球 計算板 區劃線의 부가의 정도, 各種 白血球의 型態 및 染色性, 異物의 형성(색소의 유리) 赤血球의 消失像, 計算의 難易등을 比較 觀察하였다.

한편 優良하다고 인정되는 선택된 희석액을 判定하기 위해서는 동일한 1개의 白血球 計算用 피펫을 사용하여 同一한 血液標本에서 比較검정하였다.

선발된 새 희석액에 의해서 동시에 계산된 好酸球 및 總白血球 수치의 신빙성을 확인하기 위해서는 동일한 白血球 計算用 피펫과 同一한 血液標本을 사용하여 10회 반복으로 계산한 數를 지금까지 常用되고 있는 Turk's solution^{8,9)}에 의한 총백혈구수 및 Pilot's solution에 의한 好酸球數와 比較함으로써 統計學的으로 有意성을 判定하였다.

白血球數 計算: 總白血球數의 計算에 있어서는 血液을 10배로 稀釋하여 한 計算室에 4개의 1mm^2 구획(계 4mm^2)內的 白血球 總數를 셀하고 이 수치의 25배($10 \times 10/4$)를 1mm^3 당의 總白血球數로 정하였다.

好酸球數의 直接計算에 있어서는 血液을 10배로 稀釋하여 한 計算室의 9개의 1mm^2 區劃(계 9mm^2)內的 好酸球를 셀하고 이 수치에 $100/9$ 을 곱하여 1mm^3 당의 호산구수를 算出하였다.

結 果

既存稀釋液을 이용한 사람 및 개의 好酸球數 計算法의 검토: 이 實驗에 있어서는 好酸球數 計算用 稀釋液으로서 比較의 신빙성있게 주로 사람에게 이용되는 稀釋液, 即 Hinkelman 氏液, Pilot 氏液, Randolph 氏液, Lee 氏液등을 使用하였으며 供試血液으로서는 二重碳酸鹽加血液 및 EDTA 加血液으로 나누어 稀釋血液을 점점함으로써 그 優劣을 判定하였다. 그 結果는 第1表에 요약되었다.

사람血液에 있어서 총체적으로 보아 Hinkelman 氏液과 Pilot 氏液을 稀釋液으로 사용했을 때는 好酸球數만이 계산될 수 있었고 기타의 白血球를 포함한 總白血球數 計算은 不可能하였다. 이것과는 대조적으로 Randolph 氏液, Lee 氏液의 경우에 있어서는 優劣의

차이는 있었으나 好酸球數뿐만 아니라 總白血球數 計算도 동일한 계산판 위에서 동시에 할 수 있었다. 好酸球數만의 單獨計算을 위해서는 EDTA 加血液을 Pilot 氏液으로 稀釋할 경우가 가장 우수하였고 好酸球數 및 總白血球數의 同時的計算을 위해서는 EDTA 加血液을 Randolph 氏液이나 Lee 氏液에 稀釋함으로써 좋은 結果를 얻을 수 있었다. 二重碳酸鹽加血液과 EDTA 加血液을 比較했을 때 二重碳酸鹽加血液이 월등하게 不良한 所見을 나타냈다.

개의 血液에 있어서는 Hinkelman 氏液 및 Pilot 氏液은 다 같이 好酸球數 計算이 가능하였으나 신빙성있는 뚜렷한 細胞像이 나타나지 아니하여 實用的인 計算法으로 채택될 수 없다고 사려되었다. Randolph 氏液을 사용할 경우 好酸球數 및 總白血球數의 同時的 計算이 可能할지라도 實用성이 없었고 Lee 氏液만은 EDTA 加血液에 있어서 사람의 血液과 마찬가지로 優良한 所見을 나타내었다. 개의 血液에서도 마찬가지로 二重碳酸鹽加血液에 있어서는 EDTA 加血液에서 보다 不良한 成績을 나타내었다.

이 驗結果를 요약할 때 好酸球의 單獨計算을 위해서는 사람血液의 경우 Hinkelman 氏液보다 Pilot 氏液이 優秀하였고, 개 血液의 경우에는 兩稀釋液이 다 같이 不良하였다. 또한 好酸球數 및 總白血球數의 同時的計算을 위해서는 사람 血液에서 Randolph 氏液보다 Lee 氏液이 약간 優良하였고 개 血液에서는 Lee 氏液이 Randolph 氏液보다 월등하게 우수하였다.

개 EDTA 加血液의 好酸球數 및 總白血球數의 同時的計算을 위한 稀釋液의 改良: 앞의 實驗에 있어서 개 血液을 가검체로 할 경우 好酸球數 및 總白血球數의 同時的計算을 위해서는 EDTA 加血液을 Lee 氏液으로 稀釋한 것이 既存의 어느 方法보다도 比較적 優良하다는 것을 알 수 있었다. 이 實驗에서는 Lee 氏液의 구성성분비율을 적절히 수정함으로써 더욱 좋은 結果를 얻을 수 있을 것으로 생각되어 시도된 것이다. 그 이유는 개 EDTA 加血液을 Lee 氏液으로 희석했을 경우 好酸性顆粒의 부가(적색으로 부가)이 不良하였고 好酸球의 細胞質과 核의 染色이 不良하며 동시에 白血球의 크기가 왜소하게 보였으므로 phloxine(PH)과 methyleneblue(MB)의 배합비율을 적절히 조정하여서 染色性의 향상을 도모하고 동시에 propylene glycol(PG)의 배합비율을 再測定함으로써 細胞의 크기를 다소 크게 할 수 있을 것으로 생각되었기 때문이다.

第2表에서 보는 바와 같이 배합하는 비율을 달리 하는 14種의 稀釋液을 만들어 赤血球消失像, 視野의 鮮明度, 好酸球 및 기타 白血球의 細胞形態와 염색성,

Table 1. Summarized Data of Comparative Observation on Direct Counts of Eosinophils by Various Diluting Fluids in Blood Samples of Human and Canine

Blood Samples	Observation Detailed	Diluting Fluids for Direct Counting of Eosinophils							
		Hinkelman's Sol.		Pilot's Sol.		Randolph's Sol.		Lee's Sol.	
		Oxalated Blood	EDTA-Blood	Oxalated Blood	EDTA-Blood	Oxalated Blood	EDTA-Blood	Oxalated Blood	EDTA-Blood
	Total Leukocyte Count	Impossible	Impossible	Impossible	Impossible	7,000/mm ³	6,400/mm ³	7,050/mm ³	7,125/mm ³
	Direct Eosinophil Count	450/mm ³	400/mm ³	455/mm ³	670/mm ³	544/mm ³	410/mm ³	565/mm ³	630/mm ³
Human Blood	Eosinophils Granules	Deep Red, not Clear	Deep Red Clear	Deep Red, Very Clear	Deep Red, Very Clear	Deep Red, Not Clear	Deep Red, Clear	Deep Red, Clear	Deep Red, Clear
	Cell Size, Cytoplasm & Nucleus	Invisible	Invisible	Large, faintly reddish	Large, faintly reddish	Large, Blue	Large, Blue	Large, Blue	Large, Blue
	Basophils	Rarely Visible Cell Margin, Containing	Same as in Oxalated Blood	Invisible	Invisible	Faint Blue, Not Clear Cell Margin	Deep Blue, Like a Lump	Faint Blue, Not Clear Cell Margin	Deep Blue, Like a Lump
	Monocytes	Some faintly Red Colored Granules							
	Lymphocytes								
	Neutrophils								
	Visibility of Erythrocytes	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible
	Discrimination from Other Particle	Good	Better	Better	Best	Good	Better	Better	Better
	Expediency of Counting	Good	Better	Better	Best	Good	Better	Better	Better
Summary	Eosinophil Count	Possible, Good	Possible, Better	Possible, Better	Possible, Best	Possible, Good	Possible, Better	Possible, Better	Possible, Better
	Total Leukocyte Count	Impossible	Impossible	Impossible	Impossible	Possible, Good	Possible, Better	Possible, Good	Possible, Better

Total Leukocyte Count		10, 150/mm ³	10, 350/mm ³	11, 175/mm ³	10, 125/mm ³
Direct Eosinophil Count	Impossible	1, 033/mm ³	Dark Brown, Clear	910/mm ³	Dark Brown, Clear
Cell Morphology	Eosinophils Granules	1, 600/mm ³	Dark Brown, Clear	1, 210/mm ³	Dark Brown, Clear
	Cell Size, Cytoplasm & Nucleus	Impossible	Small, Faint Blue	Large, Faint Blue	Small, Faint Blue
	Basophils	Impossible	Invisible	Rarely Visible with Faint Color	Deep Blue, Like a Lump
	Monocytes	Rarely Visible Cells Containing Some Faintly Red Colored Granules	Visible Many Cells	Faint Blue, Not Clear Cell Margin	Faint Blue, Not Clear Cell Margin
	Lymphocytes	Same as in Oxalated Blood	Same as in Oxalated Blood	Rarely Visible with Faint Color	Deep Blue, Like a Lump
Neutrophils	Same as in Oxalated Blood	Same as in Oxalated Blood	Rarely Visible with Faint Color	Deep Blue, Like a Lump	
Visibility of Erythrocytes	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible
Discrimination from Other Particles	Not Good	Not Good	Good	Good	Better
Expediency of Counting	Good	Good	Good	Good	Better
Summary	Eosinophil Count	Possible, Good	Possible, Good	Possible, Good	Possible, Good
	Total Leukocytes Count	Impossible	Impossible	Impossible	Possible, Good

Canine Blood

Table 2. Comparison of Various Formula of Modified Diluting Fluids for Concurrent Direct Counts of Total Leukocytes and Eosinophils in EDTA Blood of Canine

Formula of Diluting Fluid *(PG : H ₂ O : PH : MB)	Invisibility of Erythrocytes and Cleanliness of Field	Cell Morphology of		Discrimination from Other Particles and Expediency of Cell Counting	Summary of	
		Eosinophils	Other Leukocytes		Eosinoph Count	Total Leukocyte Count
50 : 30 : 10 : 10	★★★ B	C	B	C	C	B
50 : 35 : 10 : 5	A	B	C	C	B	C
50 : 35 : 10 : 10	A	C	B	B	C	B
50 : 35 : 15 : 5	B	B	C	B	B	C
50 : 25 : 15 : 10	B	B	C	C	B	C
**50 : 40 : 5 : 5	A	B	A	B	B	A
50 : 40 : 10 : 5	A	A	A	A	A	A
50 : 40 : 10 : 10	B	C	A	B	C	B
55 : 35 : 5 : 5	A	C	B	B	C	B
55 : 35 : 7 : 3	A	C	C	C	C	C
60 : 30 : 7 : 3	B	C	D	C	C	C
60 : 30 : 10 : 5	A	B	C	B	B	C
60 : 30 : 10 : 10	B	C	B	B	C	B
60 : 30 : 15 : 10	B	C	B	B	C	B

* PG=Propylene Glycol, H₂O=Distilled water, PH=1% Phloxine aqueous solution, MB=1% Methylene blue in methyl alcohol

** Lee's diluting fluid

★★★ A=Very good B=Good, C=Fair, D=Poor.

Table 3. Comparison of Selected New Formula of Diluting Fluid to Lee's Diluting Fluid in Direct Count of Eosinophils and Total Leukocytes from Oxalated and EDTA Blood of Human and Canine

Observation	New Formula of Diluting Fluid (PG 50 : H ₂ O 40 : PH 10 : MB 5)				Lee's Diluting Fluid (PG 50 : H ₂ O 40 : PH 5 : MB 5)					
	Human Blood		Canine Blood		Human Blood		Canine Blood			
	Oxalated	EDTA	Oxalated	EDTA	EDTA	Oxalated	EDTA	EDTA		
Invisibility of Erythrocytes	★ B	A	B	A	A	A	B	A		
Cleanliness of Field	A	A	B	A	A	A	C	B		
Cell Morphology Eosinophils	B	B	B	A	B	A	C	B		
Basophils	B	B	B	A	B	A	C	A		
Monocytes	B	B	B	A	B	A	B	B		
Lymphocytes	C	B	C	B	C	A	C	B		
Neutrophils	C	B	C	B	C	B	C	C		
Discrimination from Other Particles	B	A	C	A	B	A	C	B		
Expediency of Cell Counting	B	B	B	A	B	A	C	B		
Summary	Eosinophil Count		B	B	B	A	B	A	C	B
	Total Leukocyte Count		C	B	C	A	B	A	C	B

★ A=Very good, B=Good, C=Fair, D=Poor

이물과의 감별 그리고 계산의 難易 能에 관하여 비교 관찰하였다. 그 결과 PG : H₂O : PH : MB 의 비율이 50 : 40 : 10 : 5에 있어서 가장 우수하였고 다음이 50 : 40

5 : 5(Lee 氏液)가 우량하였다. 50 : 40 8 : 5에 있어서 불량하였던 好酸球의 부차, 이물과의 감별, 계산상의 시각적 難點 등이 50 : 40 : 10 : 5(new diluting fluid)

Table 4. Practical Differences in Direct Counting of Leukocytes between with Pilot's Solution and New Formula of Diluting Fluid, in EDTA Blood of Human and Canine

Microscopic Appearance of Leukocytes on Hemocytometer	Pilot's Solution		New Formula of Diluting Fluid	
	Human Leukocytes	Canine Leukocytes	Human Leukocytes	Canine Leukocytes
Size of Cells	Large	Small	Large	Small
Stainability of Phloxine to Eosinophils	Distinctly Deep Red in Wide Part of Cell	Narrow zone of Dark Brown in Cell	Distinctly Reddish Brown in Wide Part of Cell	Distinct Narrow Zone of Reddish Brown in Cell
Stainability of Other Leukocytes	Not Stained	Not Stained	Stainable with methylene Blue	Stainable with methylene Blue
Visibility of Hemacytometer-rule	Visible Faintly	Visible Faintly	Visible Clearly	Visible Clearly
Time Required to Let Leukocyte Count from Diluting Blood (Minutes)	Very Long (38~40)	Very long (38~40)	Short (7~8)	Short (7~8)
Summary	Eosinophil Count	Very Good	Good	Very Good
	Leukocyte Count	Impossible	Impossible	Very Good

로서 시정된 셈이다.

Lee's Diluting Fluid와 New Diluting Fluid를 이용한 사람 및 개 혈액의 好酸球數 및 總白血球數의 直接計算의 比較: 앞의 實驗에서 Lee's diluting fluid의 성분배합비율(50:40:5:5)를 달리한 new diluting fluid (50:40:10:5)가 더욱 좋은 결과를 얻을 수 있었으므로 이들 두 가지 稀釋液을 사용하여 개와 사람의 혈액에 대해서 二重醋酸鹽加血液과 EDTA加血液으로 나누어 그 優劣을 再比較檢討하였다. 그 결과 第3表에서 보는 바와 같이 사람의 EDTA加血液에서는 Lee's diluting fluid가 가장 우수하게 보였고, 개의 EDTA加血液에서는 new diluting fluid가 가장 우수하게 보였다. 사람이나 개의 혈액에서 다 같이 二重醋酸鹽加血液은 EDTA加血液보다도 불량한 결과를 보였다.

Pilot 氏液과 New Diluting Fluid를 이용한 白血球數 直接計算에 있어서의 實用的인 差異點: 현재까지 사람이나 개 혈액의 호산구 單獨計算을 위해서는 Pilot 氏液이 많이 利用되고 있으므로 이 稀釋液이 이 實驗의 結果에서 유도된 new diluting fluid와 실제적인 면에 있어서 어떠한 차이점이 있는가를 관찰하기 위해서 이 實驗을 수행하였다. 第4表에서 보는 바와 같이 사람과 개의 혈액이 다름에 따라서 그리고 稀釋液이 다름에 따라서 細胞의 크기, 好酸球顆粒의 染色像, 各白血球의 細胞質과 核의 methylene blue 染色像, 혈구계산판 區劃線의 鮮明度 그리고 血液과 稀釋液을 혼합한後 血球計算이 可能하게 될 때 까지 소요되는 시간적 격차등에 있어서 많은 차이가 있음을 실감할 수 있었다

특히 중요한 점은 細胞像도 중요하지만 이 보다는 白血球計算이 可能할 때까지의 시간적인 격차는 실험 작업에 있어서 무시할 수 없는 일이며 Pilot 氏液에 있어서는 희석한 후 약 40분만에 비로소 好酸球數를 계산할 수 있었다는 점이 주목되었다. new diluting fluid에 의한 各白血球의 形態學的所見은 Lee's solution에 의한 그것(第1表)과 대체로 동일하였다.

New Diluting Fluid에 의한 개의 好酸球數 및 總白血球數 계산의 有意性 검토: new diluting fluid에 의한 개의 好酸球數 및 總白血球數의 신빙성을 확인하기 위해서 이들의 10회 반복측정치를 Pilot 氏液에 의해서 계산된 好酸球數 그리고 Türk 氏液에 의한 總白血球數의 10회 반복측정치에 각각 비교하여 그 有意性을 統計學的으로 관찰하였다. 그 결과 Türk 氏液에 의한 총백혈구수의 평균은 $11,203 \pm 348$ 이었고 new diluting fluid에 의한 총백혈구수의 평균은 $11,230 \pm 314$ 로서 有意差가 없었다($t=0.018$). Pilot 氏液에 의한 好酸球數의 평균은 450 ± 60 이었고 new diluting fluid에 의한 好酸球數의 平均은 463 ± 74 로서 역시 有意差가 없었다($t=0.446$).

考 察

既存의 여러 稀釋液을 再檢討 해 본 結果(第1表)
 ① Hinkelman 氏液 및 Pilot 氏液은 好酸球數의 直接計算에만 이용될 수 있었고, ② Randolph 液과 Lee 氏液은 好酸球數와 더불어 總白血球數의 同時的直接計算이 可能하였으며, ③ 4가지 稀釋液에 있어서 다 같이 개

血液에서 보다 사람 血液에서 더욱 좋은 結果를 얻을 수 있었고 또한 ④ 二重蔞酸鹽加血液에서 보다 EDTA 加血液에서 더욱 좋은 結果를 얻을 수 있음을 알게 되었다. 이와같은 結果에 있어서 가장 주목되는 點은 動物의 種類에 따라서 회색의 적응성에 많은 차이가 있음을 暗示하는 點이었다. 실제로 사람의 好酸球計算에 있어서 가장 우수하게 이용되는 Pilot 氏液은 개에 있어서는 신빙성있는 結果를 줄 수 없었으며 이와같은 事實은 개에 適用될 수 있는 Pilot 氏液의 改良을 시도 하였던 Farrington 및 Jetter^{1,8)}의 意見과 상치되는 點이었다. 이 實驗에서는 사람과 개의 血液을 대상으로 하였으나 앞으로 獸醫臨床에 있어서는 각종 各種 血液을 대상으로 하여 그 適應성이 判定되어야 할 것으로 사려되었다.

Randolph 氏液이나 Lee 氏液은 다 같이 propylene glycol, 증류수, Phloxine 및 methylene blue로 구성 되어 있으나 두 液의 구성상의 차이점은 Randolph 氏液에 있어서는 methylene blue의 色素를 직접 propylene glycol에 용해시키는데 비해 Lee 氏液에 있어서는 methylene blue 色素를 일단 methyl alcohol 용액으로 만든 다음에 propylene glycol에 첨가하는 點이 다르다. 앞의 實驗結果에서 본 바 두가지 稀釋液中에서 Lee 氏液이 약간 우수하다는 것을 알게 되었는데 이는 아마도 色素同화가 잘 되기 때문으로 생각된다. 이와같이 Lee 氏液은 既存의 4가지 稀釋液中에서 好酸球數와 總白血球數의 同時의 直接計算이 가능한 가장 우량한 稀釋液으로 判定되었기에 이것을 中心으로 하여 다시 改良을 시도하였다.

實驗經驗에 의해서 propylene glycol은 赤血球를 보 이지 않게 할 뿐만 아니라 부각되는 白血球의 크기에 크게 영향을 주었으므로 이 실험에 있어서도 역시 Lee 氏液에 의한 白血球像의 不備點을 감안하여 propylene glycol의 배합비율을 加減하면서 두가지 色素의 배합비율을 조정하였다. 그 結果 第2表와 같이 14種中 配合比率이 50 : 40 : 10 : 5인 것이 가장 우량하였고 Lee 氏液(50 : 40 : 5 : 5)보다 더욱 鮮明하게 白血球의 細胞像이 잘 부각됨으로써 더욱 신빙성있는 호산구수 및 嗜백혈구수의 동시적 計算이 可能하였다. 結果적으로 보면 Lee 氏液에 phloxine 함량이 倍로 첨가된 것이었다. 이는 어디까지나 개의 血液에 대한 것이었으며 사람의 血液에 적용해 본 結果는 충분한 실효성은 있을 지라도 Lee 氏液에 비해서는 약간 불리한 편이었다(第3表).

이와같은 사실은 앞에서 論한 바와 같이 동물의 중

류에 따르는 적응성의 차이를 다시 한번 시사해 주는 것으로 풀이된다.

好鹽基球數의 單獨計算을 시도한 實驗⁵⁾은 극히 稀少하며 아직 응용단계에 이르지 못하고 있다. 이 實驗에서 얻은 改良 稀釋液을 이용했을 때 好鹽基球의 同時的 計算의 可能性도 시사되었으나 원래 好鹽基球數는 극히 적은 까닭에 아직 이 實驗 結果만으로는 判定할 수 없는 일이다.

單獨的인 好酸球의 直接計算에 있어서 가장 많이 이용되는 Pilot 氏液과 이 實驗에서 새로이 處方된 改良 稀釋液으로 개와 사람의 EDTA 加血液을 회색하여 실제적인 면에 있어서의 長短點을 비교해 본 結果 第4表에서 보는 바와 같이 개의 血液에 관한 한에 있어서는 구별이 Pilot 氏液을 쓸 필요가 없고 차라리 好酸球數와 總白血球數를 同時에 計算할 수 있으면서 또한 계산의 신빙도가 더욱 높고 시간적 낭비를 크게 줄일 수 있는 改良 稀釋液을 사용하는 것이 有利함을 쉽게 알 수 있었다. 앞으로 다른 種類의 家畜의 血液에 대해서 이 稀釋液의 適應성에 관한 더 한층의 연구의 필요성을 느끼게 된다.

結 論

이 研究는 현재까지 常用되고 있는 각종 好酸球數의 直接計算用 稀釋液의 성능을 사람과 개의 二重蔞酸鹽加血液 및 EDTA 加血液을 사용하여 비교 검토하는 한편 개 혈액에 있어서 好酸球數 및 總白血球數를 동시에 계산 할 수 있는 새로운 改良 稀釋液을 考案하기 위해서 수행되었으며 그 結果는 다음과 같이 要約되었다

1. Hinkelman 氏液과 Pilot 氏液은 好酸球數의 直接計算에만 이용될 수 있었고 Randolph 氏液과 Lee 氏液은 好酸球數와 더불어 總白血球數의 同時的 直接計算이 가능하였으며 이들 중에서 Lee 氏液이 同時的 計算을 위해, 가장 양호하였다. 4가지 稀釋液에 있어서 다같이 사람 血液에 대해서는 좋은 結果를 나타내 주었으나 개 血液에 대해서는 비교적 不良하였으며 특히 二重蔞酸鹽加血液에 대해서는 EDTA 加血液에 대해서 보다 더욱 더 불량한 結果를 나타내 주었다.

2. 既存의 4가지 稀釋液中 가장 우수한 Lee 氏液을 改良하여 개 血液의 好酸球數 및 總白血球數의 同時的 計算이 가능한 實用性있는 새 稀釋液을 만들었으며 그 處方은 다음과 같다. 이 改良 稀釋液에 있어서의 好酸球는 好酸顆粒部分이 赤褐色으로 기타의 部分이 靑色으로 染色되었고 好鹽基球는 暗靑色顆粒이 密集한 것 같은 圓形細胞로 보였으며 나머지 3種의 白血球는 全

面이 靑色으로 보였다. 또한 이들 白血球像의 부각은 Lee 氏液보다 더욱 鮮明하였다.

〔處方〕

I 液	Propylene glycol.....50 ml
		Distilled Water40 ml
		1% Phloxine Aqueous Solution10 ml
II 液	1% Methylene blue in Methyl Alcohol...5 ml

I 液 100 ml 와 II 液 5 ml 의 비율로 잘 혼합하여 여과한 후 사용한다.

參 考 文 獻

1. Farrington, E.M. and Jetter, W.W.: An improved staining for counting eosinophils in dogs. Am. J. Clin. Path. (1953) 23 : 836.
2. Hopwood, R. . . and Tibolla, B.J.: The effect of adrenocorticotrophic hormone on the circulating eosinophil level. A possible screening test for adrenal gland function in cow. Am. J. Vet. Res. (1958) 19 : 833.
3. MacFarlane, J.C.W. and Cocil, G.W.: Eosinophil Counting. A modification of Pilot's method. Brit. M.J. (1951) 2 : 1187.
4. Martin, J.E., Skillen, R.G. and Deubler, M.J.: The action of adrenocorticotrophic hormone on circulating eosinophils in dogs. A proposed screening method for evaluating adrenal cortical function. Am. J. Vet. Res. (1954) 15 : 489.
5. Moore, J.E. and James, G.W.: A simple direct method for absolute basophil leukocyte count. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1953) 82 : 601.
6. Pilot, M.L.: Use of base in fluids for counting eosinophils. Am. J. Clin. Path. (1950) 20 : 870.
7. Samuel, A.L. and Robert, P.M.: Clinical laboratory diagnosis. 4 ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1952) p. 491.
8. Schalm, O.S.: Veterinary hematology. 2 ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1965) p.97.
9. Wintrobe, M.M.: Clinical hematology. 4 ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1958) p. 379.
10. Wittgenstein, M.M.: Disodium ethylene diamine tetra-acetate. Anticoaglant for routine hematological work. Am. J. Med. Tech. (1953) 19 : 59.
11. 李芳煥 : 總白血球數, 好酸球數 및 기타 白血球數의 直接計算을 위한 改良稀釋液에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1976) 16 : 105.
12. 中村良一 : 臨床家畜內科診斷學. 第2版, 養賢堂, 東京 (1975) p. 189.

Study on Improved Diluting Fluid for Concurrent Direct Counts of Eosinophils and Total Leukocytes in Canine Blood

Sung Ho Lee, D.V.M.

Godeog Animal Hospital, Ryesangun, Chungnam

Bang Whan Lee, D.V.M. Ph.D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Jeonnam National University

Won Chang Lee, D.V.M., M.P.H., Ph.D.

Department of Feed Science, College of Animal Husbandry, Kon-Kuk University

Abstract

The study was conducted in an attempt to estimate the efficiency of various diluting fluids for eosinophil count to oxalated blood and EDTA blood of human and canine, and to prepare the improved diluting fluid adaptable to concurrent direct counts of eosinophils and total leucocytes of canine blood.

The results obtained in this experiment were summarized as follows.

1. Hinkelman's solution and Pilot's solution were adaptable only for a direct count of eosinophils,

and Randolph's solution and Lee's solution were adaptable for the concurrent direct count of eosinophils and total leukocytes. Lee's solution among above four solutions was the best either to direct eosinophil count and to total leukocyte count. However, these solutions were better to human blood than to canine blood, and especially better to EDTA blood than to oxalated blood in both of human and canine.

2. Among these four diluting fluids, Lee's solution was recommended to be improved for concurrent direct count of eosinophils and total leukocytes of canine blood. The formula of improved solution obtained through the experiment was as follows. In this fluid, eosinophils were stained reddish brown in the part of eosinophilic granules and blue in other part of the cells, basophils were stained dark blue like as a lump of black granules and other leukocytes were stained blue, showing each cells better distinctly than in Lee's solution.

℞

Solution I	{	Propylene glycol.....50 ml
		Distilled Water40 ml
		1% Phloxine Aqueous Solution.....10 ml
Solution II		1% Methylene blue in Methyl Alcohol.....5 ml

Mix 100 ml of Solution I and 5ml of Solution II thoroughly and filter before use