

## 潛血 (Occult blood) 의 이론과 실제

姜 正 夫\*

환측을 접하다 보면 때로는 體內的 出血여부에 대한 의심이 날 때가 더러 있다.

出血性疾病을 連想할 때에는 사람 뿐만이 아니고 개 등을 포함한 가축에서도 가끔 발생하는 伴性 劣性遺傳性疾病의 血友病(hemophilia) 을 생각하기 쉬울 것이다.

血友病에는 발생율이 높은 古典型의 抗血友病 Globulin(antihemophilic globulin)인 第VIII因子的 先天的 欠損 또는 活性底下에 의한 Hemophila A와 第IX因자의 欠損 및 活性底下에 기인한 Hemophila B의 2 종류가 있는데 이들은 다 같이 Thromboplastin의 생성능력이 아주 미약해 Prothrombin이 Thrombin으로 轉換되는 血液凝固系의 반응이 阻害되어 出血을 일으키게 되는 공통점을 갖고 있다. 또한 이들은  $\beta_2$ -globulin에 속하는 血漿蛋白質이나 VIII因자는 血液凝固 과정에서 소비되어 血清에서는 볼 수 없다 不溶性 無機化合物(예: 磷酸Ca 등)에는 吸着이 되지 않으나 Fibrinogen과는 같이 分離抽出이 가능하며 56°C의 5분간 가열로 90% 정도가 파괴되는 성질을 갖고 있으나 IX因子(일명 Christmas因子, CF)는 VIII因子와는 달리 凝固 과정에서 소비되지 않아 血清에서 볼 수 있고, 不溶性 無機化合物에는 吸着되며 50°C로 10분간 가열하면 완전히 파괴되는 성질을 갖고 있는 것으로 밝혀져 있다. 病名은 오히려 Christmas병

\*경성대학교 수의학과

이 타당한 것으로 알려져 있다.

이 외에도 第I, VII, X 및 XI因子 등의 欠乏에 의한 先天的의 出血性 遺傳性疾病도 있으나 이와 같은 발생률은 극히 드물고 대개는 後天性으로 오는 止血(hemostasis)機構의 異常에 의한다.

止血機構에는 血管外 組織因子, 血管因子 및 血管內 因子가 관여하고 있다.

血管外 組織因子로는 뇌와 같이 조직의 구성 자체가 지방층으로 주로 되어 있고 혈관벽이 상대적으로 약한 부분(부위)이나 소화관과 같이 점막층으로 둘러 쌓인 體腔內的 경우 등을 예로 들 수 있고 실제 出血性 素因에 의한 異常出血이 상대적으로 많이 발생하고 있다.

血管因子는 血管壁의 수축성이나 투과성 및 抵抗性(脆弱性) 등에 기인한 毛細血管의 機能 異常을 들 수 있는데 여기에는 血小板과의 관계가 아주 깊은 것으로 알려져 있다.

血小板(직경 2~4  $\mu\text{m}$ )은 骨髓에서 생성되어 血管外로 나온 骨髓 巨核細胞는 직경이 40~70  $\mu\text{m}$ 나 되는 巨大細胞이나 이의 細胞質이 虛足과 같이 뻗어 血管洞內에 들어와 先端이 切斷되어 血小板으로 되어 생리기능을 발휘하게 된다.

乾燥重量의 약 60%가 단백질이고 이의 脂質, 糖質 및 각종 효소를 함유하고 있어 활발한 대사작용을 하고 있으나 이중에서도 가장 중요한 것의 하나가 血液凝固가 된다.

血小板이 함유 또는 관계하고 있는 凝固관계의 因子 즉 血小板 因子에는 I~IV까지의 4 종류가 되고, 血漿中の V, VII, VIII, IX와 X因子는 血小板에 吸着되어 있는 것으로 추측되어 止血과 血液凝固에 아주 중요한 역할을 하게 된다. 血小板內 성분에는 ADP, ATP, Histamine, Serotonin 및 顆粒性的 Phospholipid(일명 血小板 第 因子)가 있는데 Phospholipid는 血液凝固에 관여하는 것으로 생각되고 있으며 必要時에는 Serotonin을 放出시켜 주위의 小血管을 수축시켜 止血을 확실하게 한다.

임상적으로는 정상 수준의 1/4이하가 되면 出血性 傾向을 나타내어 皮膚나 粘膜 및 內藏 등에서 出血을 일으키기 쉽고 傷害에 의한 止血역시 어렵게 되나 血小板이 어떻게 해서 혈관벽을 보호하는지에 대해서는 확실히 밝혀져 있지 않다.

血管內 因子에는 I~VIII(실제는 VI因子의 欠番으로 12)가 있는데 이들은 서로 특이한 性狀을 갖고 있어 保存에 안정한 것과 불안정한 것, 응고과정에서 소비되는 것과 되지 않는 것(血清中에 존재하는 것과 없는 것), BaSO<sub>4</sub>나 Al(OH)<sub>3</sub> 등에 吸着되는 것과 되지 않는 것, Coumarin 등과 같은 抗凝固藥에 의해서 감소되는 성질을 가진 因子(예로 II, VII, IX, X) 등에 대한 特性的 활용으로 각 因子에 대한 분석이 가능하나 일반적으로는 앞서의 血小板 외 Fibrinogen, Prothrombin, Thromboplastin, Ca 및 第 XIII 因子에 대한 측정이 주로 실시되고 있다.

第 III 因子인 Thromboplastin은 Lipoprotein의 일종으로 조직이나 血小板의 붕괴에 의해 생기는 것이므로 조직과 혈액내 존재하게 되고 일차적인 작용 부위의 차이점도 있어 凝固系를 2가지로 나누어 생각하고 있다. 즉 外因性(組織內) 凝固系는 파괴된 조직에서는 Ca<sup>++</sup>, V, VII 및 X 因子에 의해서 처음으로 活性的 조직 Thromboplastin으로 되어 주로 血管外(조직내)의 血液凝固에 관여하게 되고, 內因性(血液內) 凝固系는 血小板의 파괴에 의해 遊離되는 血小板

第 III 因子, V 및 X 因子 등이 작용해서 活性的 血液 Thromboplastin으로 되어 주로 血管內의 血液凝固에 관여하게 된다.

血液凝固 시간의 연장을 가져오는 대부분의 질병에서는 혈액(內因性) Thromboplastin의 形成에 문제가 있는 것으로 알려져 있으나 결과적으로 볼 때에는 內因性이나 外因性的 活性型 Thromboplastin은 다같이 Ca<sup>++</sup>의 존재하에 Prothrombin에 작용해서 Thrombin으로 轉換시키고, Thrombin은 Fibrinogen에 작용해서 Fibrin 重量體를 형성해서 凝血이 일어나게 된다.

이와는 반대로 혈액 및 조직에는 凝血을 억제하려는 작용도 동시에 일어나고 있다. 예로 형성된 Fibrin은 Thrombin을 吸着해서 Thrombin의 작용을 약화시키며, α<sub>1</sub>-globulin에 속하는 antithrombin, antithromboplastin은 각각 대응하는 因子를 제거(中和)하는 역할을 하게 되고 미량으로 존재하긴 해도 Heparin 역시 Thrombin의 생성과 이의 작용을 억제하고 있다.

이와 같은 凝血의 억제작용의 혜택으로 순환 혈액 중에서 지속적으로 血小板(수명은 대개 8~11일 정도로 추정)의 파괴가 일어남에도 불구하고 凝血 반응이 阻止되고 때로는 생체의 일부에 생긴 凝血이 전신성으로 파급되는 것을 방지해 주는 역할도 겸하고 있어 혈액의 凝血(凝固)性은 이상과 같은 促進因子와 抑制因子의 상호 균형유지로 적절히 이루어지게 되어 있다. 그러나 어느 한쪽의 균형이 깨어지게 되면 문제(出血 또는 凝血)를 일으키게 된다.

앞서 밝힌 바와 같이 出血性 要因은 아주 복잡하면서도 다양하나 결과적으로는 出血을 수반하게 되므로 出血여부에 대한 확인이 필요하게 된다.

外出血의 경우는 확인은 어렵지 않으나 內出血의 경우는 어려움이 많다. 이중에서도 소화관내의 出血은 분변을 통해서 진단(潛血反應)이 가능하기에 진단의 가치가 매우 높다 하겠다.

사람의 경우 소화관내 장기의 潰瘍에서는 50~77%가, 癌腫에서는 87%가 潛血 양성 반응을

나타내는 것으로 되어 있다. 그러나 한가지 주의해야 할 점은 음성의 경우에도 신중을 기해야 할 필요가 있다. 이와 같은 예는 胃나 十二指腸潰瘍의 出血量은 대량인 경우가 많으나 지속되지 않고, 胃癌과 같은 경우는 출혈량이 미량이나 지속되는 경우가 많으므로 경과중 연속적인 검사를 실시하는 것이 중요하기 때문이다.

가축의 경우에서도 이와 비슷한 현상이 있을 것으로 확실시되고 있어 소의 경우 제 4 위 궤양과 같은 질병의 진단에는 潛血반응이 필수적이 된다.

이상과 같이 특히 소화관내 出血의 경우 분변중의 潛血반응이 진단상 가치가 있으나 여기에는 몇가지 유의해야 될 사항이 있다.

가축의 경우에서는 潛血반응을 실시하기 전 적어도 2~3일간은 동물성식품(獸魚肉類)의 급여를 금해야 하며 이후에도 2~3회 배변한 뒤의 분변을 사용하는 것이 바람직하다.

採便後에 장시간 방치해 두면 산화 등으로 해서 반응의 감도가 떨어지므로 採便後에는 가급적 빨리 실시해야 한다.

기생충성 질병, 특히 鉤蟲症과 같은 경우에는 흡혈에 의한 상처로 인하여 潛血반응이 양성으로 되는 경우가 더러 있기 때문에 기생충검사도 실시할 필요가 있다. 또한 齒齦出血이나 鼻出血 등의 여부도 동시에 확인해 두어야 한다. 철분(Fe)이나 동(Cu), 비타민 C 등은 血色素와 같이 觸媒劑로 작용하기 때문에 이와같은 제제는 검사전에 투약을 금해야 한다.

潛血반응의 검사법에는 分光光度計法, 觸媒法 및 Hemin結晶 시험법 등이 있다. 이 중에서는 分光光度計法이 제일 정확하나 임상적으로 적용하기에는 어려움이 있어 觸媒法이 일반적으로 많이 活用되고 있다.

## 1. 反應原理

血色素를 acid-hematin(酢酸 hematin)화시켜 hematin을 觸媒로 하여 benzidine 등이 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)에 의해서 산화됨으로써 색깔(呈色)

의 변화를 일어나게 하는데 있다.

## 2. 측정방법

觸媒法에는 Guaiac法, Benzidine法, Orthotoluidine法, Phenolphthalein法 등이 있다.

Guaiac法(感度は 희석 혈액의 10,000배정도)은 感度 그 자체는 크게 높지 않으나 食物이나 약물투여 등에 대한 영향이 없기 때문에 양성인 경우는 확실히 병적(出血)으로 볼 수 있는 잇점이 있다.

이것에 비해서 Orthotoluidine과 Phenolphthalein法은 感度が 너무 예민(다같이 천만배로서 Guaiac法보다 100배나 感도가 더 높다)하여 이들 방법에서 음성의 경우는 확실히 出血음성(없음)으로 볼 수 있으나 미량의 혈액 混入에서도 陽性을 나타내게 되는 흠이 있다.

원칙적으로는 예민한 방법과 덜 예민한 방법의 併用이 아주 이상적이겠으나 대개는 중정도의 感度(약 1,000,000배)를 가진 Benzidine法이 많이 활용되고 있다. Benzidine法에서도 주의해야 될 사항은 양성의 경우는 확실히 潛血(出血)로 봐도 좋으나 疑陽性(±)의 경우에는 앞서 밝힌 바와 같은 우발적인 陽性조건을 고려해서 반복해 검사해야 할 필요가 있다.

### 가. 觸媒法에서의 기본 처리

1. 되도록 신선한 糞便을 유리막대기나 나무젓가락 등으로 糞便 덩어리의 중앙부의 여러 군데서 긁어 모아 전체가 엄지 손가락 정도의 크기로 해서 시험관에 취한다. 그러나 水樣便일 때에는 약 5ml 정도를 취한다.

2. 앞서 취한 糞便量과 거의 같은 양(等量)의 30% 酢酸(CH<sub>3</sub>COOH)을 가해서 되도록 아주 잘게 섞어서 泥狀으로 만든다.

3. 이상의 操作이 끝나면 여기에 ethyl ether 약 5ml를 가해서 진탕시킨 후 4-5분간 방치해 두면 ether층의 분리가 일어난다. 만약 분리가 잘 안될 때에는 ethyl alcohol 몇방울을 떨어 뜨리면 된다. 이때 주의해야 할 점은 소와 같은 糞便의 경우 粗飼料의 섭취가 많기 때문에 짚과

같은 것이 많이 포함되어 있어 분리가 아주 어렵게 될 때에는 Gauze를 두겹으로 해서 여과해서 사용하면 된다.

4. Ether층의 분리가 일어나면 ether층만을 스포이드로 취한 후 원하는 측정법에 따라 실시한다(이때에는 血色素는 acetate-hematin으로 분해되어 ether층 중에 移行하게 된다). 이것을 ether 抽出液이라고 한다.

#### A. Guaiac法

1. 깨끗한 보통 시험관에 guaiac과립 3~4개를 넣고 여기에 ethyl alcohol 약 1ml를 가해서 용해시킨다.

2. 여기에 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 1~2ml를 취해서 잘 混化시켰을 때 색깔의 변화가 있으면 시험관이나 시약에 血液混入이 있음을 의미한다.

3. 색깔의 변화가 없음을 확인한 후에는 앞서의 前處理에서 얻은 ether 抽出液 약 2ml를 重層시켜 경계면에 靑色の 色輪이 나타나면 陽性으로 판정한다. 그후 진탕混和시켜 자세히 色調를 조사한다(靑色調의 농도는 혈액량에 비례하기 때문이다).

Guaiac粉末 대신 5% guaiac tincture를 사용해도 좋으나 오래된 것은 반응이 잘 나타나지 않으므로 그때 그때 만들어 사용해야 한다.

#### B. Benzidine法

1. 깨끗한 보통의 시험관에 benzidine의 粉末을 2~3g정도 酢酸 1ml를 가해서 포화용액으로 만든다.

2. 포화용액으로 만든 후에는 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 1~2ml를 가해서 靑變이 없음을 확인한다.

3. 확인 후에는 앞서의 ether抽出液 약 2ml를 重層시켜 색깔의 변화를 본다. 陽性의 경우는 潛血(出血)의 함량에 따라서 數秒後에 靑色~靑色~靑色の 輪環을 형성한다. 곧 이어 진탕混和시켜 色調를 자세히 조사해 볼 필요가 있으나 몇분 후에 靑變이 있는 경우는 血色素 유래로 단정할 수 없기 때문에 반복검사가 필요하다.

앞서 사용했던 benzidine분말 대신 5% ben-

zidine酢酸(benzidine acetate)나 benzidine alcohol을 사용해도 좋으나 사용할 때마다 조제해서 사용해야 한다.

한가지 유의해야 할 사항은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(과산화수소)는 효력감퇴가 빠르기 때문에 새 것을 사용하지 않으면 안되며 이 방법에서의 靑色반응은 실온과 시간에 따른 陽性度の 판정이 필요하다.

Benzidine法の 변법으로서 糞便을 직접 이용하는 Schlesinger變法이 있는데 이것은 糞塊에 약 4배량의 물을 넣어서 混和시킨 다음 潛血반응을 阻害하는 酵素를 없애기 위해서 단시간 煮沸시킨 후 流水로 식힌 용액 2~3滴을 사용해 앞서와 같은 방법으로 실시하면 陽性의 경우는 정도에 따라서 靑色~靑色을 나타내게 된다.

앞서의 Benzidine법은 2g의 糞便을 사용해 몇 단계의 희석액을 만들어 사용하기도 한다. Benzidine의 용량은 핀셋(forcep)에 묻힐 정도의 소량이고, 氷酢酸 2~3滴과 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 2~3滴을 각 희석액에 넣어 100배 이하의 희석에서 靑靑色을 나타내는 경우는 정상이고 1,000~3,000배 사이에서는 疑陽性이고, 3,000배 이상이 되면 陽性으로 판정하는 방법이 있다. Benzidine법 역시 반응이 아주 예민한 편에 속하기에 分便의 재료는 자연 배설한 分便을 사용해야 한다.

왜냐하면 작은 出血의 경우에도 陽性을 나타내기 때문에 부득이한 경우 直腸에서 分便을 채취하는 경우에는 直腸粘膜에 상처를 주지 않도록 해서 채취해야 하고 이런 경우에서도 희석하지 않은 分便은 陽性을(소의 경우에서도) 나타내기에 희석 내지 ether 抽出液을 사용하게 된다.

이외 시판품으로서 Benzidine 潛血 反應紙法(Guaiac法 보다는 예민하나 Benzidine 原法 보다는 감도가 떨어져 임상적으로는 많이 이용), Hamopaper, 시노테스트 4호, Hemastix, Hematest 등과 같은 여러 제품이 있고 尿檢査時 사용하는 시험지의 응용도 무방하다.