

<臨床>

臨床生化學에 있어서 諸檢査法

韓 壽 南

I. 緒 論

生化學에 있어서 進步는 科學과 같이 醫學上 많은 貢獻을 가져왔다. 獸醫學에 있어서 診斷과 治療에 있어서 生化學을 應用하고 臨床의인 實驗中 生化學의 知識을 添加함으로써 臨床學이 많이 進步하였다.

先進國家에서 臨床生化學이 臨床學(特히 內科領域)을 理解하는데 重要な 役割을 한다는 것은 疑心할 餘地가 없으며 이 專門의인 方法에 對하여 一大 革命을 가져왔다.

外國에서는 特히 美國에서는 過去에 行하던 方法을 一新하고 生化學을 臨床學에 應用함으로써 診斷과 治療에 있어서 科學의으로 一大革新을 가져 왔으며 이 方法을 數十年前부터 넓이 使用하게 되었으나 우리나라에 있어서는 約十年前부터 醫學에만 應用하여왔으며 아직 우리 獸醫學에 있어서는 應用度가 넓지 못하다.

우리 獸醫學에서도 이런 點에 留意하여 臨床學에 廣範圍하게 應用함으로써 獸醫學의 더욱 發展을 가져올 것이다. 오늘날 우리가 生覺하지 않으면 안될 새로운 問題의 하나는 獸醫學의 生化學을 應用함으로써 生기는 實驗室에서 나오는 實驗值이다.

特히 臨床獸醫師들이 實地面에 生化學을 應用함으로써 診斷과 治療面에 確定을 가져 올 것이다. 또 우리나라에서는 아직 各種動物의 正常值가 決定되어 있지 않아서 比較觀察을 하는데 大端히 隘路가 많으며 부르기 外國文獻을 參考하고 있으며 正常值를 制度하는 것이 時急한 問題일 것이다.

II. 生化學의 分類

- ① 炭水化物 Carbohydrate
- ② 脂質 lipid
- ③ 蛋白質 protein
- ④ 酵素 Enzyme
- ⑤ 唾液 Saliva
- ⑥ 牛乳 Milk

- ⑦ 胃液의 消化 Gastric digestion
- ⑧ 胰液의 消化 Pancreatic digestion
- ⑨ 膽汁 Bile
- ⑩ 血液 Blood
- ⑪ 尿 Urine
- ⑫ 비타민 Vitamin
- ⑬ 其他 Other

等으로 列擧할 수 있으나 여기서는 日常試驗에 가장 많이 使用되는 血液과 尿에 對한 檢査法에 對하여 記述하고 다른 것은 다음 機會에 記述하고자 한다.

III. 檢査法

[1] 血液 Blood

A. 定性檢査 Qualitative analysis

① 血液의 分類 Classification of Blood

血液Blood	血漿 plasma {	血清 Serun
		55% vol { 纖維素 Fibrin
血球Corpuscles 有形成	分 45% vol. {	赤血球 Erythrocytes
		白血球 Leucocytes
		血小板 Blood platelets

大概 血液量은 體重의 1/13에 該當한다.

② 物理的性質 Physical property

- a. 色 Color.....헤모구빈 Hemoglobin에 의해서 紅色을 나타낸다.
- b. 反應 Reaction.....Litmus paper는 靑變하나 水素 Ion 濃度는 매우 적다. 即細密히 말하면 거진 中性에 가깝다. PH...中性 7.4
- c. 比重 Specific gravity.....全血 Whole Blood

1, 035~1, 055	{ Male...1, 055~1, 063
	{ Femal...1, 052~1, 060

 血清 Serum...1, 016~1, 035

이 比重은 年齡, 性, 飼料, 個體運動과 睡眠 等에 의해서 若干의 差異를 가져온다.

③ 血液의 成分 Composition of Blood

Sodium(Na), Potassium(K), Calcium(Ca), Magnesium(Mg), Chloride(Cl) 無機磷酸鹽 inorganic phosphate 蛋白質(Albumin, globulin)

hemoglalin, fibrinogen), 脂酸酸 Fatty acid, 磷脂質 Phosphalipid, Cholestrol, 葡萄糖 glucose, 殘餘窒素, 尿素 Urea, 尿酸 Uric Acid, Creatinine, Creatine, Ammonia, Amino acid 以外에 少量의 Acetone body, bile pigment, 乳酸 lactic acid, phenol, iodine等이 있다.

④ 化學的性質 Chemical property

a. 反應 Reaction.

Red litmus paper를 中性鹽(Salt, MgSO₄)의 飽和水溶液으로서 적시고 이것에 數 drop을 滴下하고 數秒後에 血液을 水洗한다. 그러면 靑色의 斑點이 殘溜한다. 이것이 鹽基性反應이다.

b. 血漿中에 存在하는 纖維素原의 證明法.

約 10cc의 稀酸漿에 이것과 同量의 飽和水溶液을 混合하면 顯著하게 濁濁하고 暫時後 架狀의 物質이 抽出된다. 이것이 纖維素原이다.

c. 血清中에 存在하는 蛋白質의 證明法.

10cc의 血清에 이것과 同量의 硫酸安母[(NH₄)₂SO₄]의 飽和水溶液을 混合한다. 이때 沈澱하는 物質은 血清 globuline이다. 이 抽出物을 濾紙를 가지고 濾過하여 이 溶液에 다시 硫酸安母의 粉末을 加하거나 煮沸하면 多量의 沈澱物을 生成한다. 이것이 即 血清 Albumin이다.

B. 定量檢査 Quintitative Analysis

1. 血糖 Blood Sugar

이 試驗은 試藥을 使用해서 血液中에 있는 糖을 酸化시키는 것이다. 그리하여 標準液과 比較하고 觀察하여 血糖의 高低를 研究하는 것이다.

a. 方法 procedure

- ① 血糖의 試藥 A(tungstic acid)를 試驗管에 mark 한 데(10m l)까지 채운다.
- ② 0.1cc 毛細 pipette을 使用해서 0.1cc에 血液을 直接採集한다. pipette tip에 過剩한 血液은 清潔한 gauze로서 닦는다.
- ③ 試藥 A 가 든 試藥管속에 血液을 注入하고 pipette로서 1~2回 吸入한다.
- ④ 試驗管에 마개를 하고 5分間 振盪한다.
- ⑤ 濾斗속에 濾紙을 蒸溜水에 적셔서 놓는다. 이것은 종이의 纖維에 loase를 적게하기 위한 것으로서 大端히 重要하다.

⑥ 水洗한 濾紙를 놓고 濾汁은 清潔한 試驗管 속에 넣고 血液과 試藥 A의 混合物을 濾過한다. 이 모든 濾液을 採取한다.

⑦ 濾過한 것을 큰 試驗管의 第二目盛(4ml)까지 채운다.

⑧ 4ml 까지 채운管에 0.5cc의 試藥 B(Potassium Ferricyanide Solution)과 0.5cc의 試藥 C(Alkaline Cyanide Solution)을 加한다.

⑨ 煮沸하는 물속에서 8分間 煮沸한다. 이때에 물은 蒸發한다.

⑩ 8分後 管을 移動시켜서 3ml Pipette로서 3cc의 試藥 D (Ferric Solution)을 加한다. 이 管을 混合하여 冷却하여 25ml mark까지 蒸溜水로서 稀釋한다. 混合한 後 標準液과 比較한다.

2. 血漿의 Alkali 貯藏

試藥類 Reagents

- 1. 0.01N Hcl
- 2. 0.01N NaoH Co₂을 遊離한 것.
- 3. 0.05% Phenol Red 指示藥

a. 方法 Procedure

2個의 flask에 各各 1cc의 稀酸漿(血液을 稀酸으로 處理한 것), 20cc의 蒸溜水 그리고 10 drops의 Rhenol red 指示藥을 注入하고 한 flask는 마게하고 다른 flask에는 4cc의 0.01 N Hcl를 加한다. 이 flask의 內容物은 空氣의 Co₂를 遊離하기 위하여 3~4分間 攪拌한다.

Control flask에 色을 注視하면서 이 溶液에 色이 나타날때까지 HCl이 含有한 溶液을 0.01 N NaoH로서 直接 滴定한다.

이 滴定은 空氣로부터 Co₂을 再吸收하여 遷元함으로 매우 迅速하게 할 수 있다. Alkali 貯藏을 表示하는 두가지 方法은 다음과 같다.

- ① 血漿의 liter에 對하여 NaHCo₃의 Milliequivalent이며
- ② Volume percent에 있어서 bicarbonate Co₂로서 表示한다.

[2] 尿의 檢査 Examination of urine

A. 定性檢査 qualitative Analysis

① 物理的 性質 Physical property

- a. 色 Color...正常尿...淡黃色 또는 赤黃色

- b. 透明度 Clear...正常尿...透明하다.
- c. 냄새 Odor...正常尿... 강한 Ammonia 냄새
- d. 反應 Reaction...正常尿...PH 4.8~7.5 平均 6.0
- e. 比重 Specific gravity...正常尿...1.015~1.020 (urinometea 使用) 反應과 比重은 攝取하는 飼料에 따라서 差異가 있으며 病으로 因해서도 高低에 關係가 있다. 例컨데, 慢性腎臟炎과 尿崩症인 糖尿病時에는 比重이 낮고 高熱과 眞性인 糖尿病時에는 比重이 높게 된다.

② 尿의 成分 Composition of urine

無機物質 inorganic substance...硫酸(H₂SO₄) 磷酸(H₃PO₄), Ca, Mg, K, Fe, 食鹽과 같은 鹽素類 Ammonia(NH₃)

有機物質 Organic Substance...尿素, Creatinine 尿酸, 硫酸의 化合物, 乳酸, Ketone 物質, 其他로서 水分과 固形成分이다.

③ 化學的性質 Chemical Property

- a. 鹽素(Cl) ion의 證明
2~3cc의 尿에 4~5 drop의 稀釋한 硝酸(HNO₃ 30%)及 硝酸銀溶液(AgNO₃ 3%)을 加하면 鹽化銀(AgCl)의 自濁이 생긴다. 卽 이것이 Cl ion의 反應이다.
- b. 硫酸(SO₄)의 證明
尿에 數 drop의 醋酸(CH₃COOH)과 鹽化바리움(BaCl₂ 10%)液을 加하면 白濁이 생긴다. 이것이 卽 硫酸바리움이며 硫酸의 反應이다.
- c. 磷酸(H₂PO₄['], HPO₄^{''}, PO₄^{'''})의 證明
10cc의 尿에 1~2 drop의 鹽化第二鐵(FeCl₂ 10%)을 混合하면 灰白色에 濁濁 卽硫酸鐵(FeSO₄)을 生한다. 試藥이 過剩時에는 溶解하여 없어지는 것을 볼 수 있다.
- d. 硝酸及亞硝酸의 證明
1~2cc의 diphenylamin을 加한 硫酸을 試驗管에 記入하고 pipette에 吸入한 尿를 管壁을 通해서 注加하여 兩液을 重疊하게 하면 硝酸 또는 亞硝酸이 存在하면 兩液의 接觸面에 있어서 藍色을 나타낸다.
- e. Ammonia(NH₃)의 證明
試驗管에 尿을 半쯤넣고 이 尿의 1/2容積에 石灰乳[Ca(OH)₂]을 混合하고 加熱하여 물에 적신 red litmus paper을 試驗管口에 挿入하면 管壁에 接觸하지 않게 注意하여 支持하면

곧 靑色으로 變化한다. 이것이 Ammonia의 反應이다.

④ 異性成分 Composition of Abnormal

- a. 蛋白質 protein
2cc의 尿에 6 drop의 Sulfasalicylic Acid(10%) 溶液을 加한다. 이것은 加熱하지 않는다. 그러면 蛋白質이 存在하면 混濁 또는 濁하게 나타난다.
- b. 糖 suger
約 3cc의 尿에 約 2cc의 苛性소-一(NaOH 15%)에다 5~8 drop의 硫酸銅(CuSO₄ 10%)을 混合하여 煮沸한다. 糖이 存在하면 곧 赤色(CuO), 橙色及至黃色의 濁濁이 생긴다.
- e. 아세톤體 Aceton Body(gerhard's test)
尿 5cc에 鹽化鐵(FeCl₂ 3%)를 더 沈澱되지 않을 때까지 加한다. 萬若 沈澱物에 色이 나타나면 混合物를 濾過한다. Acetoacetic acid가 存在하면 Wine-red color을 나타낸다.
- d. 인디칸의 決定 Determination of indican
20cc의 尿와 5~10cc의 醋酸鉛(cLead Acetate 10%)를 沈澱시키고 濾過한 後 同量의 Obermayer's reagent을 加하여 濾液을 잘 振盪한다. 다음에 Chloroform을 5cc를 加한다. 다시 잘 振盪한다. chloroform이 色을 나타내면 indican이 있는 表示이다. iodide을 攝取해서 pink Color가 된다.
Obermayer's Reagent
 鹽酸.....1000cc
 鹽化鐵.....3g
- e. 비리루빈 Bilirubin (gmebin's test)
2~3cc에 尿를 試驗管에 注入하고 約 5cc의 濃硝酸을 加하면 兩液의 重疊한 層을 形成한다. 萬若 尿中에 Bilirubine이 存在하면 接觸層에 여러가지 色(green, blue, Violet, Red 그리고 reddish-yellow)의 輪이 생긴다.
- f. 우로비리 及 우로비리노겐 Urobilin or urobilinogen (Ehrlich's Test)
試驗管에 10cc의 尿를 注入하고 Ehrlich's reagent를 1cc 加해서 混合한다. 3~5分間靜置시킨다. 萬若 異常量에 있어서 Urobilin이 存在한다면 Cheery-red Color을 나타낸다.
Ehrlich's Reagent
 Parabimethyl, aminobenzal dehyde...10g

濃鹽酸.....75cc

蒸溜水.....75cc

B. 定量檢査 quantitative Analysis

a. Mohr's의 鹽素測定法(Titration of Chlorine for Mohr's method.

10cc의 尿를 flask에 넣고 約 10cc의 물로서 稀釋하고 또 1~2cc의 重鉻酸可里(K_2CrO_4 1%) 溶液을 加하여 攪拌하면서 Burette로서 硝酸銀 ($AgNO_3$ 1N) 溶液을 注加하면 淡靑(水)色을 나타날때까지 硝酸銀溶液의 消費量을 읽는다.

[註] 이 硝酸銀溶液의 1cc는 0.010g 食鹽 또는 0.006064g의 鹽素에 의해서 完全히 沈澱 된다.

b. 尿의 糖定量 Estimation of glucose in urine

尿 25cc을 蒸溜水 100cc로서 稀釋하여 Burette에 注入한다. 10cc의 試料를 蒸發皿속에 注入하고 炭酸소다(Sodium Carbonate) 5g와 輕石小量을 加한다. 이 混合物을 炭酸鹽이 溶解할 때까지 물로서 煮沸한다. 稀釋한 尿를 白墨과 같은 白色의 沈澱을 形成할 때까지 Burette로서 2~3cc 滴下하면 混合物의 靑色이 나타나기 始作한다. Burette로서 溶液에 數滴을 滴下한 後 靑色의 最終跡이 나타나지 않을 때가 終局點이며 이 때를 記入한다.

[註] 이 溶液은 全滴定을 통해서 活潑한 煮沸을 維持하지 않으면 안된다. 萬若 이 混合物이 實驗過程동안에 많이 濃縮하면 蒸發로서

消費된 量만큼 물을 加한다.

e. 아루부민測定器 Albuminometer

① Esbach's方法 Esbach's method

尿를 試驗管의 U點까지 채고 Esbach reagent을 R點까지 加한다. 管에 마개를 하여 振盪하지 말고 잘 混合하여 室溫에서 24時間 靜置시킨다. 沈澱物의 높이는 尿 1000에 對하여 Albumin의 部分을 눈금上에서 直接表示된다.

[註] 尿의 反應이 酸性이 少이면 醋酸을 加해서 酸性으로 한다.

Esbach's reagent

picric acid.....10g

Citric acid.....20g

蒸溜水.....1000cc

IV. 結 論

生化學특히 臨床生化學은 臨床學(診斷과 治療)에 있어서 重要한 分野이다. 臨床生化學의 여러 가지 實驗法은 臨床學上에 重要한 意義를 가진것을 生覺할 때 卽 診斷과 治療面에 있어서 價値가 豊富하며 오늘날 臨床에 從事하는 獸醫者들이 이 方面에 知識과 技術이 要請되는바 切實하며 直接 또는 間接으로 應用함으로써 좋은 科學的인 結果를 가져 올 것이다. 여기에 各種動物에 對한 血液及尿에 成分과 正常範圍를 紹介한다.

USUAL NORMAL RANGE OF SOME CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE BLOOD OF DOMESTIC ANIMALS

Whole Blood (mg. per 100cc.)								
	Sugar	Total non-Prothin nitrogen	Uria nitrogen	Uric acid	Preformed Creatinine	Amino acid nitrogen	Lactic acid	Chloric - Test (as NaCl)
Cow.....	40-60	20-40	6-27	0.05-2.08	1-2.07	4-8.5	5-20	440-550
Sheep.....	40-65	20-40	8-20	0.15-1.93	1.2-1.93	4.6-8	9-12	460-528
Goat.....	43-65	36-44	13-28	0.33-1.0	0.9-1.82	-	-	429-528
Pig.....	40-250	20-45	8-24	0.05-1.95	1-2.7	8-8.5	-	-
Horse.....	60-110	20-37	10-20	0.90-1.09	1.2-1.9	5-7	10-16	440-500
Dog.....	70-100	17-38	10-20	0.45-1.5	1.5-1.7	6.7-8.5	8-20	430-550
Chicken.....(laying)	164-430	20-35	trace-4.46	1.17-7.08	0.69-1.12	3.8-9	20-98	460-485
Chicken(non-laying)	90-175	23-36	trace-3.12	1.68-2.16	0.91-1	5.4-9.6	47-56	470-473
Turkey(non-laying)	175-210	35-49	3.51-3.89	3.41-5.19	0.86-0.94	7.4-8.7	-	488-490

Serum (mg. Per 100cc.)						
	Total Cholesterol	Calcium	Inorganic Phosphorus	Co2. comb Pow. (Vol%)	Total Protein	Albumin & Globuli
Cow.....	50-230	9-12	2.3-9.6	62	7.43	6.76
Sheep.....	—	9-12	2.5-9	56	5.74	5.38
Goat.....	55-200	9-12	3-11	—	—	—
Pig.....	152-250	9-15	4-11	—	—	6.30
Chicken.....	58-94	17-39	6-10	—	—	3.60
Chicken(Non)...	23-121	9-12	4-8	—	—	—
Calves.....	—	—	—	73	—	—
Rabbit.....	—	—	—	—	—	5.55
Horse.....	—	9-15	—	64(55-75)	—	5.76
Dog.....	125-250	9-15	2.2-4	—	6.06	5.48
Turkey(Non)	—	10-12	3.8-4.7	—	—	—

Specific Gravity of Blood		Specific Gravity of Urine		
		Species	Range	Mean
Horse	1.060	Horse	1.025-1.060	1.040
Ass	1.042	Ox	1.030-1.045	1.032
Bullock	1.061	Sheep & goat	1.015-1.045	1.030
Cow (Fiedler)	1.043	Pig	1.010-1.050	1.012
Sheep	1.042	Dog	1.016-1.060	1.025
Goat	1.062	Cat	1.020-1.040	1.030
Pig	1.060	Man	1.010-1.030	1.020
Dog	1.059			
Cat	1.044			
Chicken	1.064			
Man	1.059			

The Urine of fasting Sheep (%)		Non-fasting Cow(Distribution N) %	
Urea. N	79.8-84.0	Urea, N	74.07
America N	2.5-3.2	Creatinine N	6.07
Greatining N	3.9-4.2	Greatine N	6.01
Greatine N	1.8-3.9	Hippuric acid N	4.19
Uric acid N	0.26-0.73	Allantoine N	3.68
Purine base N	0.38-0.66	Uric acid N	0.59
Allantoine N	1.7-2.3	Ammonia N	0.48
Undetermined N	4.2-5.9	Purine base N	0.056

参考文献

1. Clinical Biochemistry Cantarow & trumper 1950
2. Textbook of Biochemistry Harrow & mazur 1958
3. Review of physiological chemistry, Herold A. Harper 1959

4. Laboratory manual of Biochemistry, Benjamin Harrow. 1955
5. Physiological chemistry Laboratory directions, Wallace D. Armstrong. 1957

〈筆者=서울大獸醫學科 助教授〉