

부검 실무에서 시험지 검사법(Dipstick Test)을 이용한 눈 유리체액 당 검사의 효용성

이경홍 · 구형남 · 김태공
박정열 · 백강현 · 최승규
최철호 · 엄나현 · 이낙원
최병하

국립과학수사연구원
서울과학수사연구소 법의조사과

Received: November 8, 2016
Revised: November 21, 2016
Accepted: November 26, 2016

The study was presented as poster
at the 40th Autumn Congress of the
Korean Society for Legal Medicine;
November 25, 2016; Daegu, Korea.

Correspondence to

Byung Ha Choi
Division of Forensic Medicine
Investigation, National Forensic
Service Seoul Institute,
139 Jiyang-ro, Yangcheon-gu, Seoul
08036, Korea
Tel: +82-2-2600-4611
Fax: +82-2-2600-4828
E-mail: pathosky@korea.kr

Usefulness of Dipstick Test for Vitreous Glucose in Autopsy Practice

Kyunghong Lee, Hyung Nam Koo, Tae Gong Kim, Jeong Yeol Park, Kang-Hyun Baek,
Seung-Gyu Choi, Cheol Ho Choi, Nahyun Aum, Nak-won Lee, Byung Ha Choi
Division of Forensic Medicine Investigation, National Forensic Service Seoul Institute, Seoul, Korea

The concentration of glucose in the vitreous humor serves as an important diagnostic marker for diabetic mellitus in post-mortem examinations, as the vitreous humor can be easily collected and the glucose test using vitreous humor is not significantly affected by cell autolysis and hemolysis. For a quick and effective glucose test, we suggest a dipstick test of the vitreous humor during autopsy. The results were evaluated and compared with other methods for significance testing. In this study, vitreous humor was analyzed from 257 autopsy cases. Qualitative concordance rate of the dipstick test for glucose and the hexokinase test was 98.7%, positive prediction rate was 89.6%, and negative prediction rate was 100%. However, there was no significant correlation between the dipstick glucose test and the hexokinase test. We conclude that the dipstick glucose test is effective and useful for post-mortem glucose screening testing and for additional post-mortem diabetes testing. Recently, the importance of post-mortem glucose testing has increased with the increase in deaths from diabetes complications. The use of the dipstick glucose test in autopsy practice can improve forensic medicine in Korea.

Key Words: Vitreous humor; Glucose; Diabetic mellitus; Autopsy

서 론

사후 검체에서 눈 유리체액 당(glucose) 수치는 고혈당증, 당뇨병 케톤산증 등을 진단하는 데 있어 중요한 표지자이다. 눈 유리체액에서 당 농도는 사후 초기에 감소하는 경향을 보이기 때문에 낮은 농도의 당 수치가 사망 당시의 실제 수치를 정확하게 반영한다고 보기는 어려워 당뇨병 관련 질환이 없다고 단정하지는 못한다. 하지만 눈 유리체액에서 높은 농도의

당 수치는 고혈당증, 당뇨병 케톤산증 등을 고려해 볼 수 있는 주요 검사소견이 되어 이러한 질환을 증명하는 데 의미가 있을 수 있다[1]. 기존의 변사자의 병력에 대한 정보가 없을 시에는 일반적으로 부검 시 육안소견만으로는 당뇨와 연관한 질환을 진단하는 데 쉽지 않으며, 추후 조직검사 등을 통해서 진단할 수 있으나 시간이 오래 걸리게 된다[2]. 그러나 눈 유리체액의 당 검사는 상대적으로 빠른 시간 내에 고혈당증, 당뇨병 케톤산증 등을 진단하는 데 유용한 검사이다.

당뇨와 연관한 사망이 의심되는 경우에는 눈 유리체액의 당 수치와 기존의 기왕력, 조직학적 검사소견 등을 시행하여 확인하게 되며, 당화혈색소 검사와 케톤체 검사가 추가적으로 필요하다[1,3]. 그렇지만 이러한 결과들을 확인하기까지는 시간이 오래 소요되게 되고, 기존의 기왕력을 모르게 되는 경우에는 추가적인 검사를 시행하기 위해서 더 많은 시간이 소요되게 된다[4]. 따라서 당뇨와 연관한 사망이 의심되는 경우에는 부검 당시 눈 유리체액의 대략적인 당 수치를 확인 가능하다면 부검방향을 설정하거나 추가검사를 계획하는 데 있어서 많은 도움이 될 수 있다. 당뇨병증이나 당뇨병 케톤산증을 증명하기 위해서 현재 부검실무에서의 눈 유리체액 당 검사는 생화학분석기기를 이용한 hexokinase법으로 수행되고 있다. 이는 부검이 끝난 후 진행되는 검사로 결과를 얻는데 시간이 소요된다. 반면 통상 소변으로 검사를 시행하는 시험지 검사법을 이용한 catalyse법은 바로 결과를 확인할 수 있어서 시간이 많이 소요되지 않으며, 부검 중 바로 결과 확인이 가능하기 때문에 부검 진행방향 설정과 진단에 필요한 추가검사를 계획할 수 있다.

이에 저자들은 눈 유리체액으로 시험지 검사법 당 검사의 효용성 검증을 위해 눈 유리체액 당 검사에서 시험지 검사법과 생화학분석기 검사 결과와 비교하여 시험지법 결과의 유의성을 평가하였다. 그리고 시험지 검사법 결과와 사인을 분석함으로써 실무부검에서의 시험지 검사법의 효용성을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구의 대상은 서울과학수사연구소에서 2016년 2월 1일

부터 2016년 10월 31일까지 실시한 부검 예에서 눈 유리체액의 채취가 가능한 257건의 시신을 대상으로 연구를 수행하였다.

2. 재료

부검 진행 중 부패가 진행되지 않은 시신의 안구에서 5 mL 주사기를 사용하여 혈액이 섞이지 않게 하여 1 mL 이상의 눈 유리체액을 채취하였다.

3. 검사방법

(1) 시험지 검사법(dipstick test, catalyse method)

부검 진행 중 주사기에 채취한 눈 유리체액을 시험지 (Uriscan strip, YD Diagnostics, Yongin, Korea) 당 검사 부분에 충분히 적신 뒤 1분 후 변색 상태를 육안으로 확인하였고 Uriscan Pro II (YD Diagnostics) 장비를 이용하여 변색 정도(1+, 2+, 3+, 4+)를 수치화시켰다. 시험지 검사법의 측정 원리는 Fig. 1A와 같다.

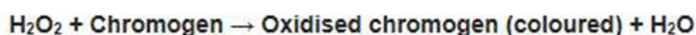
(2) 생화학 분석기 검사법(biochemistry analyzer, hexokinase test)

부검 후 시험지 검사법을 진행한 검체를 1.5 mL microtube에 1 mL을 옮겼다. 여기에 hyaluronidase (Worthington Biochemical Corporation, Freehold, NJ, USA) 1 µg 첨가한 후 vortexing 점액성분을 제거하고, 5분간 3,000 rpm에서 원심분리를 한 후 상층액을 이용하여 검사를 실시하였다. 생화학장비는 Hitachi 7100 (Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하였고 해당 매뉴얼에 따라 검사를 진행하였다. 생화학 장비의 hexokinase법 원리는 Fig. 1B와 같다.

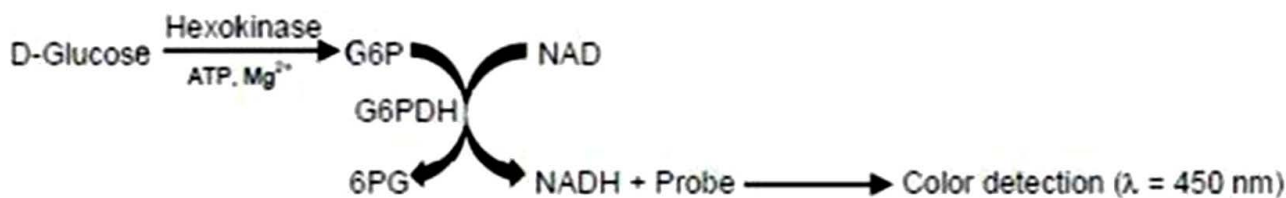
- 1) Catalysed by glucose oxidase



- 2) Catalysed by peroxidase



A



B

Fig. 1. (A) Principle of glucose detection of the dipstick glucose test. (B) Principle of glucose detection of the hexokinase test.

4. 자료 분석 방법

정성검사는 생화학 분석장비에서 100 mg/dL 이상을 양성으로 하고 시험지 검사법에서 당 검사 부분의 변색을 판독하여 두 검사법에 대한 일치율, 양성 예측률(positive prediction rate), 음성 예측률(negative prediction rate)을 검정하였다. 정성검사 양성기준 100 mg/dL는 시험지 제조사에서 제시한 시험지법 민감도와 과거 관련 보고들의 기준을[1,4] 참고하여 설정하였다. 정성검사 시험지법 양성 판독은 육안으로 뚜렷하게 변색이 확인 가능한 정도인 자동화 장비기준 1+ 이상으로 설정하였다. 정량검사의 검정은 시험지 검사법의 변색 정도를 자동화 장비에 수치화시켜 생화학 분석장비의 결과와 비교하여 분석하였다. 그리고 선형상관분석(linear correlation)을 통하여 상관계수(R^2)를 확인하였다. 사인은 국립과학수사연구원 서울과학수사연구소 부검감정서를 토대로 조사하였다.

결 과

1. 눈 유리체액 당 검사에서 생화학 분석장비 검사와 시험지 검사의 정성검사 일치율

전체 257건의 눈 유리체액을 시험지법과 자동화 분석기의 당 정성검사 결과를 비교하였다. 전체 건수에 대한 눈 유리체액 당 검사(hexokinase법) 양성은 28건으로 10.8%의 양성률을 보였다. 생화학 분석기 검사에서 당 농도 100 mg/dL 이상을 양성으로 하여 시험지 검사법 정성검사 결과 일치율을 확인한 결과, trace 결과를 제외한 전체 244건 중 241건이 일치하였고 98.7% 일치율을 확인할 수 있었다. Hexokinase법을 기준으로 시험지 검사법 위양성 결과(false-positive)는 3건, 위음성 결과(false-negative)는 0건이었다. 양성 예측률은 89.6%, 음성 예측률은 100%였다(Table 1).

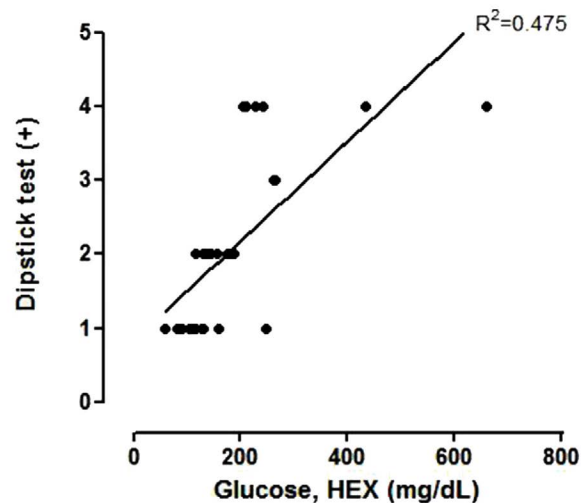
2. 눈 유리체액 당 검사에서 생화학 분석장비 검사와 시험지 검사법의 정량검사 결과 비교

Trace 결과를 제외한 양성으로 확인된 26건의 검체를 대상

으로 시험지법 변색 정도를 장비를 이용하여 1+, 2+, 3+, 4+로 수치화하고 이를 생화학 분석기 결과 수치와 비교하였다. 시험지에서 당이 검출되면 농도가 높아질수록 어두운 갈색으로 변색된다(Fig. 2A). 26건의 검체의 정량검사 결과를 선형상관분석을 통해 확인한 결과, 상관계수(R^2)는 0.475로 유의성이 높지 않았다(Fig. 2B).



A



B

Fig. 2. (A) Figure shows quantitative change in the dipstick glucose test result to determine vitreous glucose concentration. As the concentration of glucose increases, the strip color changes to darker brown. Classifications are negative, 1+, 2+, 3+ and 4+, dependent on dose. (B) Graph shows linear correlation of the dipstick glucose test and the hexokinase test (HEX) results of the vitreous humor. X-axis is the HEX results (mg/dL). Y-axis is the dipstick test results (n+).

Table 1. Qualitative concordance rate of the dipstick glucose test and the HEX of vitreous humor

Dipstick glucose test	Glucose, HEX \geq 100 mg/dL	Glucose, HEX < 100 mg/dL	Total (n=257)	Concordance rate ^{a)} (%)
Positive	26	3	29	98.7 ^{b)}
Negative	0	215	215	
Trace (+/-)	2	11	13	

HEX, hexokinase test.

^{a)}Percentage of total number excluding trace; ^{b)}Positive prediction rate: 89.6%, negative prediction rate: 100%.

3. 눈 유리체액의 당 검사 양성 결과와 사인의 비교 분석

Trace 결과를 제외한 양성으로 확인된 26건의 부검 건 중 사인이 확인된 20건을 대상으로 눈 유리체액 당 검출과 사인의 관계 대하여 분석하였다. 20건 중 내인사는 18건(90%), 외인사는 2건(10%)이었다. 당뇨관련질환이 사인으로 확인된 경우는 20건 중 6건(30%)이었다(Table 2). 이는 심장질환, 뇌출혈과 같이 육안으로 사인을 뚜렷하게 확인할 수 있는 경우를 제외하면 높은 비중을 차지한다.

고 찰

사후에 눈 유리체액은 비교적 채취가 쉽고 혈액의 자가분해로 인한 오염이 상대적으로 적어 생화학 검사에 적합한 검체이다. 특히 당에 대한 검사는 혈액의 용혈이나 세포의 자가분해에 영향을 많이 받기 때문에 눈 유리체액이 검체로 더 적합하다[5]. 사후 시간이 지날수록 눈 유리체액의 당 수치는 감소하기 때문에 비정상적으로 높은 수치가 측정된다면 당뇨와 연관된 질환이나 다른 요인 등을 고려해 볼 수 있고 이를 통해 사인을 판단하는 데 이용될 수 있다. 법의학 분야에서 눈 유리체액을 이용한 당 수치를 포함한 전해질 등에 대한 검사

는 병인에 관한 분야뿐 아니라 사후경과시간 측정에 대한 부분에서도 많은 연구가 진행되고 있으며 국내외 실무 부검에서 일반적으로 진행되고 있다[2].

본문에서 소개한 시험지 검사법은 일반적으로 요 검사용으로 사용되고 있으며 빠르고 간편하게 실행할 수 있는 검사법이다. 본 연구에서는 요 검사에 쓰이는 당 측정용 시험지 검사법을 눈 유리체액 당 검사에 적용하였다. 현재 국내의 부검 실무에서는 부검 중 눈 유리체액을 채취하고 부검이 끝난 후 생화학 장비를 이용하여 검사를 진행하고 있다. 반면 시험지 검사법은 스트립에 적은 양을 떨어뜨려 수 분 안에 간편하게 검사 결과를 확인할 수 있기 때문에 부검 중 검사 결과 확인이 가능하다. 이는 많은 장점이 있는데 부검 시 바로 결과 확인이 가능하면 추가적인 생화학 분석법 등을 시행해야 할 지에 대해서 기준이 될 수 있으며 당뇨와 연관한 질병의 가능성에 대한 추정도 더 빨리 내릴 수 있게 되고, 음성인 경우에는 추가적 검사 시 소용되는 비용을 감소할 수 있다. Boulagnon 등[1]은 사후 검사 중 눈 유리체액에서 높은 당 수치가 검출된다면 추가로 당화혈색소와 케톤체를 검사하여 당뇨병성케톤산증, 비당뇨성 고혈당증 등의 질환을 구별할 수 있다고 보고하였다[3]. 그리고 Park 등[4]은 증례보고를 통해 당뇨병성케톤산증의 진단에 눈 유리체액 당 검사를 포함한 다양한 사후검

Table 2. Autopsy cases with positive results for the dipstick glucose test of vitreous humor

Case No.	Natural/Unnatural	Cause of death	Dipstick test	Glucose (mg/dL)
1 ^{a)}	Natural	Pneumonia and diabetic complications	4+	659
2	Unnatural	Traumatic subdural hemorrhage	4+	242
3	Natural	Sudden cardiac death	4+	209
4	Unnatural	Hanging	4+	226
5	Natural	Pneumonia and ischemic heart diseases	4+	204
6	Natural	Ischemic heart diseases	3+	264
7	Natural	Sudden cardiac death	3+	260
8	Natural	Ischemic heart diseases	2+	139
9 ^{a)}	Natural	Acute diabetic complications (ketoacidosis)	2+	175
10 ^{a)}	Natural	Acute diabetic complications and chronic alcoholism	2+	187
11	Natural	Sudden cardiac death	2+	141
12	Natural	Ischemic heart diseases	2+	185
13	Natural	Pulmonary embolism	2+	155
14 ^{a)}	Natural	Sudden cardiac death and diabetic complications	2+	143
15	Natural	Intracerebral hemorrhage	2+	131
16 ^{a)}	Natural	Diabetic complications (ketoacidosis)	1+	158
17	Natural	Pneumonia	1+	248
18 ^{a)}	Natural	Sudden cardiac death and acute diabetic complications	1+	112
19	Natural	Chronic alcoholism	1+	129
20	Natural	Sudden cardiac death	1+	105

^{a)}Related to diabetic mellitus.

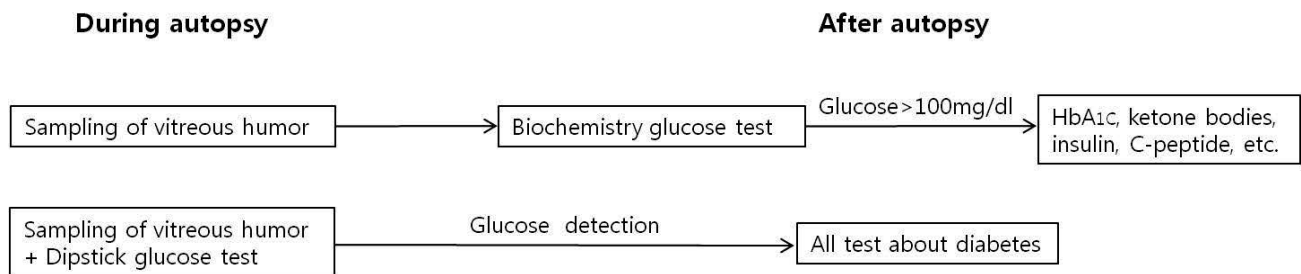


Fig. 3. Schematic model showing the efficiency of the dipstick glucose test for determining vitreous glucose concentration during autopsy.

사를 이용하였다고 보고하였다. 당 검출 정보를 부검 중 얻을 수 있다면 당화혈색소, 케톤체 검사, 당뇨병 진단 검사 등의 추가 검사를 효율적으로 진행할 수 있다. 이에 대한 전체 검사 과정의 도식적 모델을 Fig. 3에서 제시한다.

연구 결과 시험지 검사법과 생화학 분석장비 검사의 정성 시험(qualitative test) 비교 결과는 98.7% 일치하였다. 그리고 양성 예측률은 89.6%, 음성 예측률은 100%였다. 이는 시험지 검사법을 이용한 눈 유리체액 당 검사가 스크린 검사로서의 가능성을 보여준다. 반면 시험지 제조사에서 제시하는 정량시험(quantitative test)으로 눈 유리체액 당 검사를 적용한 연구에서는 유의성이 크지 않았다. 특히 요 검사에서 적용되는 시험지 검사법의 측정 단위는 당 농도가 높아질수록 눈 유리체액 검사와 차이가 컸다. 선형상관 분석에서 상관계수는 0.5 미만으로 확인되어 정량검사로써의 유의성은 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 이 같은 시험지 검사법 정량검사의 불일치 원인을 분석해 보면 눈 유리체액의 물리적 특성이 가장 큰 원인으로 사료된다. 눈 유리체액은 콜라겐 섬유의 망상 조직으로 점액성체인 젤 형태로 되어 있다[1]. 이로 인해 시험지에 검체가 고르게 접촉하지 못하여 반응이 진행되는 것을 방해할 것으로 예상된다. 이는 시험지에 부분적으로 변색되는 현상을 통하여 유추할 수 있었다(Fig. 2A). 일반적으로 생화학 분석장비 검사 시에는 전처리 과정을 통해 액화시킨 후 검사를 진행한다. 눈 유리체액 전처리 과정에는 원심분리, 희석, 가열 그리고 hyaluronidase 등이 이용되는데[1], 반면 시험지 검사법에서는 채취한 후 즉시 검사를 진행하기 때문에 눈 유리체액 검체 전처리 과정을 진행하지 못한다. 따라서 시험지 당 검사를 스크린 검사로 진행하여 음성이 나오는 경우에는 기존의 기왕력이나 부검 당시 당뇨와 연관한 질환 등에 대한 강한 추정이 없다면 추가적인 생화학분석 검사 등을 시행하지 않아도 되며, 양성이 확인된 검체에 대하여 정밀

생화학분석 검사 및 추가 검사가 필요하다

본 연구를 통해 시험지 검사법을 이용한 눈 유리체액 당 검사의 부검 실무 적용에 대한 가능성을 확인하였다. 당뇨 관련 질환에 의한 죽음의 비율이 높아진 만큼 사후검사에서 눈 유리체액 당 검사는 중요성이 커지고 있다. 내인사의 스크린 검사로써 시험지 검사법이 이용된다면 국내 사후 화학 분야 발전에 도움이 될 수 있을 뿐 아니라 법의학 감정 분야에 도움이 될 것으로 사료된다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgments

This research was supported by a grant for development of Scientific investigation funded by the National Forensic Service.

References

1. Boulagnon C, Garnotel R, Fornes P, et al. Post-mortem biochemistry of vitreous humor and glucose metabolism: an update. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1265-70.
2. Belsey SL, Flanagan RJ. Postmortem biochemistry: current applications. *J Forensic Leg Med* 2016;41:49-57.
3. Keltanen T, Sajantila A, Valonen T, et al. HbA1c method evaluation for postmortem samples. *Forensic Sci Med Pathol* 2015;11:35-9.
4. Park JP, Kang HM, Won YJ, et al. Postmortem diagnosis of diabetic ketoacidosis: an autopsy case. *Korean J Leg Med* 2016;40:19-22.
5. Luna A. Is postmortem biochemistry really useful? Why is it not widely used in forensic pathology? *Leg Med (Tokyo)* 2009;11 Suppl 1:S27-30.