

해당억제제로서의 불소나트륨이 혈당 측정에 미치는 영향: 국민건강영양조사 진단의학검사 검체를 이용한 혈당 측정치 비교 연구

이용화¹ · 차영주² · 채석래³ · 송정환⁴ · 윤여민⁵ · 박해일⁶ · 성문우⁷ · 황동희⁸ · 김현수⁹ · 김정호¹⁰ · 이봉숙¹¹ · 황유성¹²

순천향대학교부천병원 진단검사의학과, 중앙대학교 의과대학 진단검사의학교실², 동국대학교 의과대학 진단검사의학교실³, 분당서울대학교병원 진단검사의학과, 건국대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실⁴, 가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실⁵, 국립암센터 진단검사의학과, 인제대학교 의과대학 서울백병원 진단검사의학과⁶, 한림대학교 의과대학 진단검사의학교실⁷, 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실⁸, 질병관리본부 만성병조사과⁹, 네오딘의학연구소¹²

Effectiveness of Sodium Fluoride as a Glycolysis Inhibitor on Blood Glucose Measurement: Comparison of Blood Glucose using Specimens from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey

Yong-Wha Lee, M.D.¹, Young Joo Cha, M.D.², Seok-Lae Chae, M.D.³, Junghan Song, M.D.⁴, Yeo Min Yun, M.D.⁵, Hae-il Park, M.D.⁶, Moon-Woo Seong, M.D.⁷, Dong Hee Whang, M.D.⁸, Hyun Soo Kim, M.D.⁹, Jeong-Ho Kim, M.D.¹⁰, Bong Suk Lee¹¹, and Yoo-Sung Hwang, M.D.¹²

Department of Laboratory Medicine, Soonchunhyang University Bucheon Hospital and Soonchunhyang University College of Medicine¹, Bucheon; Chung-Ang University College of Medicine², Seoul; College of Medicine, Dongguk University³, Goyang; Seoul National University Bundang Hospital⁴, Seongnam; Konkuk University School of Medicine and Medical Center⁵, Seoul; College of Medicine, The Catholic University of Korea⁶, Seoul; National Cancer Center⁷, Goyang; Inje University Seoul Paik Hospital⁸, Seoul; Hallym University College of Medicine⁹, Seoul; Yonsei University College of Medicine¹⁰, Seoul; Division of Chronic Disease Surveillance, Korea Centers for Disease Control and Prevention¹¹, Seoul; Neodin Medical Institute¹², Seoul, Korea

Background : Accurate measurement of blood glucose concentrations is essential for defining diabetes, and the minimization of *ex vivo* glycolysis has been recommended. Recent guidelines advocate two kinds of methods for sample collection and processing: either the sodium fluoride (NaF) method or immediate refrigeration using a serum separation tube (SST). We investigated the difference between the two methods in measuring subsequent glucose concentrations using blood specimens from participants recruited for the fourth Korean National Health and Nutrition Examination Survey.

Methods : Paired venous blood samples were collected in an SST and a NaF tube from 1,103 men and women. SST serum was separated within 30 min, including standing for 15 min, and then refrigerated. The NaF samples were refrigerated, but not separated until immediately before analysis. We compared the blood glucose concentrations between the SST (SST glucose) and NaF (NaF glucose) methods.

Results : The mean SST glucose was significantly higher than NaF glucose (99.0 mg/dL vs 96.5 mg/dL, $P < 0.05$). NaF glucose showed a negative mean bias of 2.6 mg/dL vs SST glucose but showed high correlation ($R = 0.9899$). There was no significant correlation between the bias of blood glucose concentrations by two methods and the storage time of NaF glucose.

Conclusions : The negative bias associated with the use of NaF tubes may significantly affect the prevalence of diabetes. Serum separation and refrigeration within 30 min after venous sampling is recommended over NaF method, not only to minimize the preanalytical impact on detecting diabetes but also to reduce

Received : June 2, 2009
Revision received : October 5, 2009
Accepted : October 16, 2009

Manuscript No : KJLM09-069

Corresponding author : Young Joo Cha, M.D.
Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University
College of Medicine, 224-1 Heukseok-dong, Dongjak-gu, Seoul
156-755, Korea
Tel : +82-2-6299-2720, Fax : +82-2-6298-8630
E-mail : chayoung@cau.ac.kr

*본 논문은 2008년 질병관리본부 학술연구용역사업(과제번호: 2008-E00245-00)으로 수행한 결과임.

sample volume and number of tubes. (*Korean J Lab Med* 2009;29:524-8)

Key Words : *Glucose, Sodium fluoride, Glycolysis*

서 론

당뇨, 내당능장애 및 공복고혈당장애 등은 공복 시 측정된 혈당치와 경구당부하 2시간 후 혈당치를 기준으로 진단되기 때문에 정확한 혈당의 측정은 필수적이다. 혈당이 잘못하여 높거나 낮게 측정되는 경우 불필요한 확인검사가 증가하거나 진단의 누락으로 이어질 가능성이 있다[1, 2]. 따라서 당뇨 진단에 있어서 정확한 혈당 측정은 필수적이라 할 수 있다. 혈당 측정에 영향을 미치는 요인은 많으나, 특히 분석 전 요소들이 큰 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 혈청분리 없이 혈액을 실온에 방치할 경우 시간에 비례하여 해당작용이 일어나 혈당 측정치는 계속 낮아지게 되며 백혈구가 증가된 검체에서는 이러한 현상이 두드러진다[3]. 해당작용을 억제하기 위해 혈청분리용기(serum separation tube, SST)를 이용하여 채혈한 후 응고 직후 즉각적인 혈청분리를 하여 측정 전까지 냉장 보관하는 것이 권장되고 있으나 이러한 지침을 지키는 것이 불가능한 경우에는 해당억제제(glycolysis inhibitor)인 불소염(sodium fluoride, NaF)이 첨가된 용기를 사용하는 방법이 권고되고 있다[4-6]. 그러나 NaF 용기를 사용한다 하더라도 NaF가 적혈구에 침투하여 해당작용을 억제하기까지는 시간이 필요하기 때문에 채혈 후 수 시간 동안 지속적으로 해당 작용이 일어나게 된다. 즉 NaF 용기에 채혈한다고 하더라도 즉시 혈장분리가 수행되지 않는다면 초기에 일어나는 해당작용이 완전히 억제되지 않을 뿐만 아니라 NaF 자체의 희석작용으로 인해 정확한 혈당치를 반영하지 못한다는 점이 보고된 바 있다[4].

국민건강영양조사의 경우 전국 각지에서 검체가 채취되어 진단의학검사 시행기관으로 운송되어야 하기 때문에 검체 채취 후 즉시 검사가 이루어지지 못하므로 정확한 혈당 측정을 위하여 현재 NaF가 첨가된 용기에 혈당 측정을 위한 별도의 채혈을 실시하고 있다. 그러나 NaF 용기에 별도로 채혈하여야 하기 때문에 채혈량 및 용기의 수가 증가하여 피검자가 불편하고 관리하는 데에 어려움이 있는 실정이다.

본 연구에서는 국민건강영양조사 진단의학검사에 참여한 피검자 1,103명을 대상으로 NaF 용기와 SST에 각각 채혈한 혈액을 이용하여 측정된 혈당치를 비교, 평가함으로써 혈당 측정에 사용되는 검체 용기 간의 상관성을 분석하고, 신속 분리된 혈청 검체의 해당억제 효과를 분석하여 효율적인 검체 채취를 위한

용기사용지침을 수립하는 데에 도움을 주고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2008년 10월부터 12월까지 국민건강영양조사 제4기 2차년도 진단의학검사에 참여한 피검자 1,103명을 대상으로 하였다. 피검자의 성별 분포는 남성 488명, 여성 615명이었고 평균 연령은 44.6세(10-93세)이었다. 피검자는 채혈 전 12시간 이상 금식하도록 유도하였고 검사에 대한 충분한 설명과 함께 검사에 대한 동의서를 받은 후 검사를 진행하였다.

2. 검체채취 및 분석

채혈은 8.5 mL의 SST (Becton Dickinson [BD] Vacutainer SST II Advance, BD, Franklin Lakes, NJ, USA)와 2 mL의 NaF- Na₂ EDTA 용기(BD Vacutainer fluoride 3 mg, BD, Franklin Lakes, NJ, USA)에 각각 채혈하였다. 정해진 지침에 따라 정맥채혈 후 SST 검체는 15분간의 응고 유도 후 채혈 30분 이내 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 혈청을 분리한 상태로 검사 직전까지 4°C에서 냉장 보관하였고, NaF 검체는 채혈 후 혼합된 상태로 혈장분리까지 4-12시간 소요된 상태로 냉장 보관하였다.

모든 검체는 진단의학검사 시행기관인 네오딘의학연구소(서울, 대한민국)으로 운송되어 각각의 검사에서 동일한 방법으로 혈당이 측정되었다. 혈당은 자동화분석기인 Hitachi Automatic Analyzer 7600 (Hitachi Co, Tokyo, Japan)에서 glucose hexokinase 방법을 이용하여 제조사의 지침대로 측정되었다. 혈당의 내부정도관리는 Multiquel Unassayed 1,3 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)을 이용하여 매일 시행하였고 연구 기간 동안의 총 정밀도는 2.26% 이하로 유지되었다.

3. 두 검체 간 상관성 분석

1,103명의 피검자로부터 얻어진 SST 검체와 NaF 검체의 혈당 측정치를 비교하기 위해 paired two-tailed Student's t test

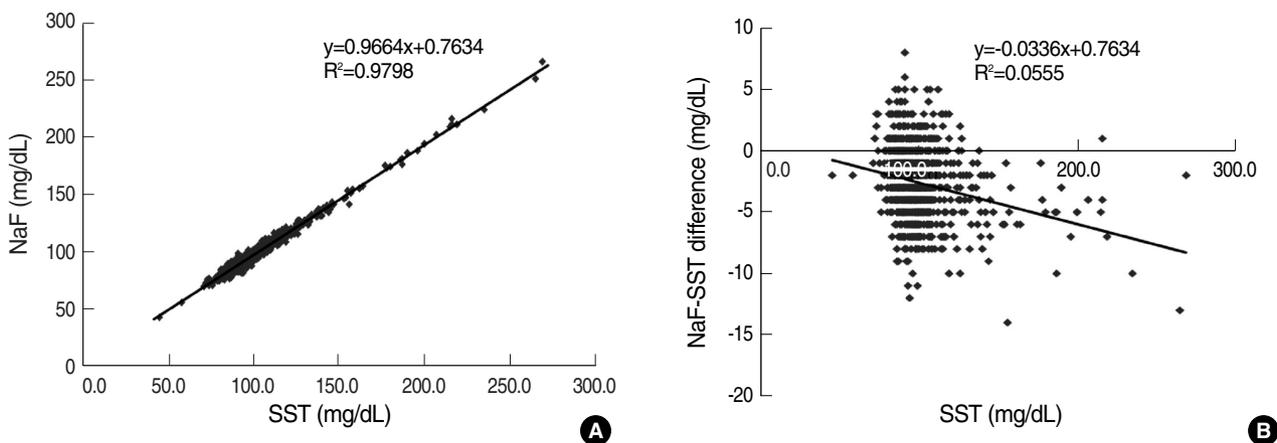


Fig. 1. (A) Linear regression analysis of NaF method on SST method for blood glucose concentrations (mg/dL). (B) Absolute difference plot showing blood glucose concentrations from NaF method minus SST method (Y axis) versus SST method (X axis). Abbreviations: NaF, sodium fluoride; SST, serum separation tube.

를 이용하여 쌍체비교를 시행하였다. 두 검체 간 상관 분석을 위해 Pearson 상관계수를 이용한 상관분석을 시행하여 용기 간 혈당 측정치 차이를 관찰하였다. 차이를 관찰하기 위해 SST 검체 측정치를 기준지표로 이용하였다.

4. 혈장분리까지 경과시간이 혈당에 미치는 영향

NaF 용기에 채혈된 혈액에 대해서 혈장분리까지 경과시간이 혈당 측정에 미치는 영향을 보기 위해 채혈 후 혈장분리까지 소요된 시간에 따른 SST 용기 혈당 측정치와 차이 변화를 분석하였다. 혈장분리시간에 따른 결과치의 차이를 보기 위해 회귀분석을 시행하였다.

통계프로그램은 SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였고 $P < 0.05$ 를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. SST 검체와 NaF 검체의 혈당 측정치 비교

SST 검체의 평균 혈당농도(±표준편차)는 99.0 mg/dL (±19.4 mg/dL)로서, NaF 검체의 평균 혈당농도인 96.5 mg/dL (±18.9 mg/dL)보다 유의하게 높았고($P < 0.05$), 쌍체비교에서도 SST 검체의 농도가 NaF 검체보다 유의하게 높았다(신뢰구간: -2.73~-2.40, $P < 0.05$). 두 검체 간 상관분석에서 두 용기 간 매우 강한 양의 상관성을 보였으며 ($Y_{NaF} = 0.9664X_{SST} + 0.7634$, $R = 0.9899$), NaF 검체와 SST 검체의 평균 혈당 차이는 2.6 mg/dL로서 음의 계통 오차(negative proportional bias)

를 보였다(Fig. 1). 혈당이 126 mg/dL 이상인 비율이 SST와 NaF 용기에서 각각 5.9% (65/1,103)와 5.2% (57/1,103)이었고 카이검정을 시행한 결과 두 군의 비율 간에 유의한 차이가 없었다($P = 0.52$).

2. 혈장분리까지 경과시간이 혈당에 미치는 영향

NaF 용기에 채혈된 혈액에 대해서 혈장분리까지 평균 경과시간은 563분(범위:103-963분)이었고, 혈장분리까지 경과된 시간과 두 검체 측정치의 차이 간에는 유의한 상관성이 관찰되지 않았다($P > 0.05$).

고 찰

국민건강영양조사[7]는 국민의 전반적인 건강과 영양 상태 및 그 추이에 대한 대표성과 신뢰성 있는 통계 산출을 위해 3년 주기로 실시되는 전국적인 조사로서 산출된 결과는 국민건강증진을 위한 목표설정 및 평가, 효과적인 건강증진사업 프로그램 개발에 필요한 기초 자료로 활용되고 있으며, OECD 회원국으로서 국제 비교가 가능한 통계치를 제공하는 데도 기여하고 있다. 따라서 국민건강영양조사에서 실시되는 진단의학검사의 정확도는 일반 의료기관에 요구되는 것보다 더 높은 수준의 정확도가 필요한 바, 당뇨 유병률의 근거가 되는 혈당 측정의 정확성을 위하여 NaF 용기가 현재 사용되고 있다.

기존 보고[4]에 의하면 채취된 혈액을 바로 NaF 용기에 담는다고 하더라도 해당작용을 즉시 억제하지 못하기 때문에 1시간 동안 혈당이 지속적으로 낮아지게 되는데 1시간 이내 혈당 저하

속도는 다른 용기에 채취된 것과 차이가 없었고, 이후 4시간 동안 부분적으로 해당작용이 억제되며, 이후 3일간은 해당작용이 효과적으로 억제되는 것으로 알려져 있다. 따라서 국민건강영양조사와 같이 잘 디자인된 환경에서 채혈 즉시 혈청을 분리할 수 있고, 분리된 혈청을 검사 전까지 냉장 보관할 수 있는 상황에서는 더 이상 NaF 용기의 사용이 필요하지 않을 것으로 판단되어 본 연구에서는 이를 확인하고자 하였다.

실제로 SST 용기에 채혈된 혈액은 즉시 분리되지만, NaF 용기에 채혈된 혈액은 국민건강영양조사 시행기관 검사실에 도착한 후에야 분리되므로 NaF 용기에 채혈된 혈액의 혈장분리까지 평균 경과시간은 563분(범위: 103-963분)이었고, NaF 용기에 채취된 후 혈장분리가 지연된 혈액의 평균 혈당농도가 즉시 혈청 분리된 SST 용기에서 측정된 평균 혈당농도보다 평균 2.6 mg/dL 정도 유의하게 낮아짐을 본 연구를 통해 알 수 있었다. 이는 NaF가 효과적으로 해당억제작용을 나타내기까지 상당 시간이 소요되므로 초기에는 NaF가 첨가되었어도 지속적으로 해당작용이 일어나기 때문인 것으로 생각한다. 하지만 본 연구의 상관성 분석에서 나타난 계통적 음의 오차가 모두 이와 같은 NaF의 해당억제작용 지연만으로는 설명될 수는 없는 바, 일부는 NaF 물질 자체의 희석 영향에 의한 것으로 생각한다. NaF 용기에 NaF-Na₂ EDTA가 분말 형태로 3 mg 포함되어 있으므로 2 mL 혈액을 채취할 경우 희석에 의한 측정치 저하는 미약할 것으로 판단되지만, Waring 등[8]과 Christopher 등[9]이 보고한 두 종류의 검체 간 NaF 희석에 의해 4.7%의 음의 오차가 발생하였다는 연구결과와 유사한 결과로서, NaF 용기에 채혈하는 경우 NaF의 희석 작용과 함께 채혈 후 1시간 동안 해당작용에 의하여 혈당이 지속적으로 낮아진다고 생각된다.

NaF에 의한 해당억제작용은 불소가 해당과정 중 한 단계인 에놀라제(enolase)의 작용에 필요한 Mg²⁺과 결합하여 이온복합체를 형성함으로써 에놀라제의 작용을 억제함으로써 나타나게 되는데, 에놀라제 전 단계 대사작용은 일정시간 정상적으로 유지되며, 불소 첨가 후 1시간이 경과되어야 90% 이상 ATP 생성이 감소함으로써 ATP에 의존하는 당의 인산화과정이 영향을 받게 되고 해당과정이 더 이상 지속될 수 없게 된다[10]. 따라서 NaF를 첨가하여도 1시간 동안은 혈당이 지속적으로 낮아지게 되는데, 본 연구에서 NaF 용기에 채혈한 후 혈장 분리까지 대부분 2시간 이상 경과되었기 때문에 그 동안 해당과정이 유의하게 계속적으로 발생했을 것으로 생각된다. 다만 2시간 이상 경과할 경우 혈장 분리까지 경과된 시간이 더 이상 혈당치 저하에 영향을 주지 않았는데 이는 2시간 이상 경과 시 해당작용이 유의하게 지속적으로 억제되고 있음을 알 수 있었다.

실온에서 혈청분리가 안 된 상태로 방치된 경우 지속적인 해당작용에 의하여 시간당 5-10 mg/dL씩 혈당이 감소하게 되지 만[11], 본 연구에서는 SST 용기를 이용하여 채혈하는 경우 15 분간의 응고유도 후 즉각적인 혈청분리를 통하여 혈구성분을 신속히 제거한 다음 냉장 보관하였으므로 해당작용이 효과적으로 차단된 것으로 생각되었다. 따라서 효과적인 해당억제를 위해 NaF 용기를 사용하기보다 SST 용기를 이용한 채혈 후 30분 이내 혈청분리와 냉장보관이 더 정확한 혈당을 반영할 수 있을 것으로 생각하였다[12]. 이는 NaF 용기에 채취된 검체일지라도 1시간 이내 혈당 저하속도는 헤파린 처리된 검체와 유사하였으므로 채혈 후 1시간 이내 혈당이 측정될 경우라면 NaF 용기 사용이 불필요하다는 기존 보고와 일치하는 소견이다[4].

본 연구 결과에서 당뇨의 진단기준 중 하나인 공복혈당이 126 mg/dL 이상인 비율이 SST와 NaF 용기에서 각각 5.9% (65/1,103)와 5.2% (57/1,103)로 비록 두 비율에 통계학적 차이는 없었지만, NaF 용기를 당뇨의 선별 및 진단에 이용할 경우 0.7% (8명)가 선별에서 제외될 가능성이 있었다. 이러한 결과는 당뇨의 선별 및 진단에 영향을 줄 뿐만 아니라 정확한 당뇨 유병률을 조사하는 데에도 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 1,103개의 검체가 이용되었으나 더 많은 수를 대상으로 분석할 경우 관련 검체 용기가 당뇨 유병률 조사에 미치는 영향을 정확히 분석할 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서는 검체 각각에 대해 반복 검사를 시행하지 못했기 때문에 검사법의 분석적 재현성을 평가하지는 못하였다.

본 연구를 통해 혈당 검체 채취에서 SST와 NaF 용기 간의 차이를 이해함으로써 보다 정확한 혈당 측정이 필요한 경우 SST 용기를 이용한 검체 채취 및 사용이 고려될 수 있을 것으로 생각된다. 특히, 집단을 대상으로 한 검진사업 및 유병률 조사에 있어서는 이러한 방법이 적극 활용되어야 할 것이다.

결론적으로, NaF 용기를 이용한 검체는 혈당 측정 시 음의 오차를 유발함으로써 고혈당 선별 및 당뇨 유병률 조사에 영향을 미칠 것으로 판단되며 보다 정확한 혈당 측정을 위해 검체 용기의 신중한 선택 및 검체 조작이 요구된다. NaF 용기보다 SST 용기를 이용한 채혈 후 30분 이내 혈청분리와 냉장 보관된 검체를 사용하여 혈당을 측정하는 것이 보다 정확한 혈당치를 반영할 수 있을 뿐 아니라 채혈 요구량을 최소화하고 검체 용기의 수를 줄이는 데에도 일조할 것으로 판단되었다.

요 약

배경 : 당뇨 진단을 위해 정확한 혈당 측정은 필수적이며, 이

를 위해 검체 내 해당작용을 최소화시키는 것이 권장되고 있다. 현재까지는 해당작용을 억제하기 위해 채혈과 검체 처리 시 불소염 첨가법 또는 혈청분리용기를 이용한 냉장 보관법 등 두 가지 방법이 제시되고 있다. 저자들은 국민건강영양조사 진단의 학검사에 참여한 피검자의 혈액을 이용하여 두 방법의 혈당 측정치를 비교하였다.

방법 : 남녀 피검자 1,103명으로부터 혈청분리용기와 불소염 용기에 정맥혈을 채취하였다. 혈청분리용기의 검체는 15분간의 응고 유도를 포함하여 30분 이내에 혈청을 분리한 후 냉장 보관하였고 불소염 검체는 혈장분리가 안 된 상태로 냉장 보관하였다. 두 방법 간의 혈당 측정치를 비교 분석하였다.

결과 : 혈청분리용기 검체의 평균 혈당농도는 99.0 mg/dL로서, 불소염 검체의 96.5 mg/dL보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 두 방법 간 결과는 매우 강한 상관성을 보였으나($R = 0.9899$), 불소염 검체가 2.6 mg/dL의 음성 평균 오차를 보였다. 시간 경과에 따른 두 방법 간 혈당 농도의 차이에 있어서 유의한 변화는 없었다.

결론 : 불소염 용기 사용 시 관찰되는 혈당 농도의 음성 오차는 당뇨의 유병률 조사에 영향을 미칠 것으로 판단되며, 불소염 용기 사용보다 혈청분리용기를 이용한 검체 채취 후 30분 이내 혈청 분리와 냉장 보관이 분석 전 영향을 최소화할 뿐만 아니라 채혈 양과 검체 용기 수를 줄이는 데에도 일조할 것으로 판단되었다.

참고문헌

- Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48:436-72.
- Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:3160-7.
- le Roux CW, Wilkinson SD, Pavitt DV, Muller BR, Alagband-Zadeh J. A new antiglycolytic agent. *Ann Clin Biochem* 2004;41:43-6.
- Chan AY, Swaminathan R, Cockram CS. Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. *Clin Chem* 1989;35:315-7.
- Liss E and Bechtel S. Improvement of glucose preservation in blood samples. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990;28:689-90.
- Clark ML, Humphreys SM, Frayn KN. Stability of plasma glucose during storage. *Ann Clin Biochem* 1990;27(Pt 4):373-7.
- Lee JK (Ed.). Korea National Health and Nutrition Examination Survey. <http://knhanes.cdc.go.kr> (Updated on May 2009).
- Waring WS, Evans LE, Kirkpatrick CT. Glycolysis inhibitors negatively bias blood glucose measurements: potential impact on the reported prevalence of diabetes mellitus. *J Clin Pathol* 2007;60:820-3.
- Christopher MM and O'Neill S. Effect of specimen collection and storage on blood glucose and lactate concentrations in healthy, hyperthyroid and diabetic cats. *Vet Clin Pathol* 2000;29:22-8.
- Mikesh LM and Bruns DE. Stabilization of glucose in blood specimens: mechanism of delay in fluoride inhibition of glycolysis. *Clin Chem* 2008;54:930-2.
- Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG, Bailey JL. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem* 1998;44:1325-33.
- Stahl M, Jorgensen LG, Hyltoft Petersen P, Brandslund I, de Fine Olivarius N, Borch-Johnsen K. Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. 1. Impact of the new WHO and ADA recommendations on diagnosis of diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:169-79.