

시료 증발이 수종 화학검사치에 미치는 영향

국립의료원 임상 생화학과

엄정희 · 박혜란 · 정경은 · 조명준

= Abstract =

Influence of Specimen Evaporation to Chemical Analytical Values

J.H. Um, M.D., H.R. Park, M.D., K.E. Cheong, M.D. and M.J. Cho, M.D.

Department of Clinical Biochemistry, National Medical Center, Seoul, Korea

Serum sample, selected and control sera stored in various environment indicated, i.e., refrigerating or room temperature, were analyzed to evaluate the effects of evaporation due to storing condition on sample weight and analytical values.

The storage period choiced are 4 hours and the results analyzed are as follow:

- 1) The serum sample stored in room air revealed 13.39% decrease in weight and 7.1% decrease in refrigerator.
- 2) The analytical value of the serum sample and control sera stored in room air revealed obvious increase i.e., 24.4~24.2% in SGOT., 16.6~29.4% in SGPT., 25.8~8.2% in Alk. phosphatase, 9.7~11.7% in total protein, 13.1~19.4% in albumin and 15.6~3.2% in cholesterol. The more striking alterations are noted in enzyme items of serum than in non-enzyme than in non-enzyme items.
- 3) The serum and control sera sample stored in refrigerator revealed increased value of 9.8~10.3% in SGOT., 6.3~5.3% in SGPT., 1.1~2.5% in Alk. proshpatase, 2.7~1.5% in total protein, 5.2~4.5% in albumin and 3.0~5.0% in cholesterol.
- 4) It is, therefore, recommended that should be stored the serum samples in the refrigerator until tested which obviously alleviate the evaporative loss of weight and analytical variations.

서 론

근래 거의 모든 임상화학검사를 자동화된 검사기기를 사용하게 되는데 따라서 검사 성적은 일정한 기계 동작과 규격화된 시약을 사용하여 정확성과 재현성이 우수해진 것은 사실이지만, 반면에 정도관의 일부의 정확과 인식이 고조됨으로 인하여 임상화학검사 자체에 필수적으로 따르는 오차를 줄이려는 노력을 계속하게 되었고, 여기에 수반하여 검사 전과 검사 후에 일으킬 수 있는 오차의 원인에 대해서도 주목하게 되었다.

그 검사 전 시료관리의 일부로서, 시료의 증발도 많

은 오차를 초래한다는 것은 몇몇 보고에^{1,2)} 지적되고 있는 일이다.

이에 저자들은 연속 흐름식 분석기(continuous flow analyzer)를 사용하지 않는 검사실에서 근무중 이므로 이곳에서 매일 시료를 취급하는 통상적인 방법에 의하여 몇가지 화학검사 성적을 조사하여, 시료의 증발에 따른 오차를 분석하여 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1) 사용기기

Centrifichem system500(ucc)

Table 1. Test method and normal value

Test items	Method	Temperature	Blank	Filter(nm)	Test mode	Normal value
Total protein	Biuret	30°C	Auto	550	Term	6.0~8.0g/dl
Albumin	Bromocresol Green	30°C	Hold	620	Term	3.4~4.6g/dl
Cholesterol	Enzmatic	30°C	Auto	520	Term	114~262mg/dl
S.G.O.T.	Modified Karmen	30°C	Auto	340	Rate	Up to 16 IU/L
S.G.P.T.	Mod. Wroblewski & Ladue	30°C	Auto	340	Rate	Up to 16 IU/L
Alk. Phosphatase	Mod. Bessey Lowley & Brock	30°C	Auto	405	Rate	25~80 IU/L

Table 2. Average evaporative weight change of serum sample(gm)

Average initial weight of sample	0.411(range 4.09-4.17/10)
Average weight loss	
4 hrs in room temp	0.055(range 0.50-0.61/10)
4 hrs in refrigerator	0.029(range 0.19-0.33/10)
Average % change of weight loss	
4 hrs in room temp	13.4% loss
4 hrs in refrigerator	7.1% loss

2) 검사법

검사 항목과 그에 대한 검사법, 정상 범위는 표 1과 같다.

3) 시 료

(1) 환자 시료

일반 환자의 시료중 여유가 있는 것을 400 μ l씩 두 개의 시료컵에 담아 그 중 하나는 채취후 즉시, 나머지 하나는 계획된 조건하에 (25°C, 습도 40%전후) 4시간 보관한 후 검사하여 그중 심한 비 정상치를 보인에

Table 3. Results of patients serum analyses performed after 4 hrs standing

Test	Immediately after sampling (n=20)	After 4 hrs standing in room temperature (n=20)		After 4hrs standing in refrigerator (n=10)	
	$\bar{M} \pm S.D.$	$\bar{M} \pm S.D.$	% of change	$\bar{M} \pm S.D.$	% of change
Total prot(g/dl)	7.2 \pm 0.83	7.9 \pm 0.966	+9.7	7.4 \pm 0.54	+2.7
Albumin(g/dl)	3.8 \pm 0.89	4.3 \pm 0.87	+13.1	4.0 \pm 0.72	+5.2
Cholesterol(mg/dl)	185.3 \pm 125.4	214.2 \pm 145.2	+15.6	191.0 \pm 127.2	+3.0
S.G.O.T. (IU/L)	17.2 \pm 12.48	21.4 \pm 15.5	+24.4	18.9 \pm 8.8	+9.8
S.G.P.T. (IU/L)	72 \pm 3.15	84 \pm 6.15	+16.6	76.5 \pm 4.01	+6.3
Alk. phosphatase(IU/L)	8.9 \pm 1.8	11.2 \pm 2.05	+25.8	9.0 \pm 1.2	+1.1

Table 4. Results of pooled serum analyses performed after 4 hrs standing

Test Monthly mean (n=25)	After 4hrs standing in room temperature (n=20)		After 4 hrs standing in refrigerator (n=10)	
	$\bar{M} \pm S.D.$	% of change	$\bar{M} \pm S.D.$	% of change
Total protein(g/dl)	6.8 \pm 0.22	7.6 \pm 0.28	6.9 \pm 0.40	+1.5
Albumin(g/dl)	3.6 \pm 0.12	4.3 \pm 0.29	3.7 \pm 0.23	+4.5
Cholesterol(mg/dl)	157.1 \pm 4.73	162.3 \pm 4.03	164.9 \pm 3.61	+5.0
S.G.O.T. (IU/L)	26.8 \pm 1.91	33.3 \pm 3.57	29.6 \pm 3.27	\pm 10.3
S.G.P.P.T. (IU/L)	8.5 \pm 1.5	11.0 \pm 1.7	8.9 \pm 2.3	+5.3
Alk. Phosphatase(IU/L)	73.5 \pm 3.91	79.5 \pm 4.65	75.3 \pm 5.21	+2.5

는 제외하고, 시료 채취후 즉시 시행한 측정 결과와 비교하였다.

(2) 자체 정도관리용 시료를 녹여서 계획된 조건하에 4시간 보관후 검사하여 월간 검사치와 비교 검토하였다.

(3) 중량 측정

stanton D 40T. top loading chemical balance 를 이용하였다.

검 사 성 적

1) 실험 전, 후 시료의 중량을 측정한 결과는 표 2 와 같다.

2) 환자의 시료검사 결과는 표 3과 같다.

3) 자체 정도관리용 혈청에 대한 검사결과는 표 4와 같다.

고 안

각 검사실에서는 정도관리에 많은 시간과 노력을 경주하고 있는데 실제로 자동정밀기기를 사용하는 요즘에는 시료의 질과 양만 보장된다면 매일매일의 성적에는 많은 차이가 없어야 되는데 실제로는 많은 day to day, 또는 between run variation 이 나타나는 것이 보통이다.

저자들은 그 원인의 일단으로 시료 증발의 결과를 알아보고자 하여 실험하였던 바, 실제로 의의있는 결과들 보이고 있음을 알수있었다.

우리의 실정이 연속 흐름식 분석기(continuous flow analyzer)를 자체 병원에 구비 하기는 곤란할 것이고, 또 실제 그럴 필요가 있느냐 하는 문제도 논의의 여지가 있다고 생각한다.

본 병원은 항목별로 분석하는 분단식분석기(Discrete analyzer)를 사용하고 있는 상태에서 순서에 따라서 한 개 항목식의 검사를 진행시키는 관계로 자연히 그날의 자체 정도관리용 시료가 표준물질은 한개의 시료 컵에 담아서 몇가지 항목의 검사를 위하여 연속 사용하는 일이 많고 전체 종목을 모두 끝내는데는 약 4~5시간이 소요되는 실정이다. 따라서 처음에 검사한 종목과 나중에 검사한 종목 사이에는 4~5시간의 간격이 생기게 된다는 사실에 유의하여 그간의 표준물질은 물론, 시료의 보관은 어떻게 할 것인가하는 의문을 야기하게 되었다.

Bustis¹²⁾는 저자가 사용한 것과 같은 기종에 쓰이는

Centrifichem 사 제품인 시료컵(직경 1.0 cm)에 400 μ l 의 시료를 담아 8시간 후의 증발을 조사하였는데, 그때의 온도, 습도 및 실험실 내의 공기유통상태등의 문제가 있기는하나, 대개 40~50%정도로 검사결과의 상승이 있었으므로 증발에는 시간이 절대적인 것이라고 강조하였다. 또, 각종 분석기기 제작회사에서는 여러 가지 모양으로 고안된 시료 컵을 선전, 보급하고 있으나 특이할 증발방지 효과는 없었으며 뚜껑을 씌우지 않은 시료는 시간당 4.8%씩의 시료가 증발한다고 하였고, 검사 성적에도 경우에 따라서는 25~50%의 오차가 있음을 지적하고 있다. 또 각종 시료는 컵이 절반 정도만 채워졌을 때가 가장 증발이 적다는 보고를 했다. 그리고 증발 방지에는 시료위에 silicon oil 75 μ l 를 첨가하는 것이 유효한데 이때는 silicon oil 에 의한 검사 기계의 오염이 문제가 되는 반면, 이것으로서 시간 경과에 따라 많은 변화를 보이는 것으로 되어 있는 혈청 당(Glucose)^{2,22}치에도 5시간까지는 비교적 일정한 값을 보여주었다고 보고하고 있다. 또 Goldberg²³⁾는 1.0 ml 의 시료를 컵에 부어서 실험한 바, 시간당 3%의 증발이 있었다고 하며 컵에 뚜껑을 씌우고 sampling probe 가 들어갈 수 있도록 3 mm 의 구멍만을 내었을때 시간당 1.5~2.2%의 오차를 기록하였고, 또 증발의 속도는 시료 표면의 넓이에 의하여 좌우되는 경우가 많음을 지적하였으나, 그 증발속도는 반드시 시간에 비례하는 것은 아니라고 하였다.

본 실험에서는 시료 컵의 약 절반에 해당하는 400 μ l 를 채워하여 뚜껑을 씌우지 않은 상태로 실온에 보관하였던 바, 4시간 동안에 13.39%의 감량을 초래하여 1시간 당 약 3.35%의 감량을 초래했으며 검사결과 치로 분배(환자 혈청 사용시) 9.7~25.8%의 증가를 보여(표 3참조)주었으며 특히 alkaline phosphatase 에서는 1 S.D.이상의 증가를, 그 외에도 대략 1~2 S.D. 방위의 증가를 보이고 있다(p<0.05). 또 자체관리 혈청을 사용한 실험에서도 3.2~29.4%의 일률적인 검사치 상승을 보였다.

Glenn¹¹⁾등은 여러가지 상태에 보관하였던 시료를 사용하여 광범위하게 증발의 효과를 연구하여 4시간 후에 2.6~9.3%의 감량을 보고했으며 그중 75°F, 습도 13%인 실온에서는 9.3%가 감량됨으로서 최고로 떨어진 수치를 보여주었다고 하며, 그중 4°C 의 냉장고에 보관하고 공기 유통이 되지않게 뚜껑을 씌우면 가장 증발의 효과를 경감시킬 수 있다고 보고하였다. 특히 이 증발에 관한 문제는 외부 정도관리 시료에서도 설명할 수 없는 엉뚱한 오차를 초래하는 일이 있으므로 주의

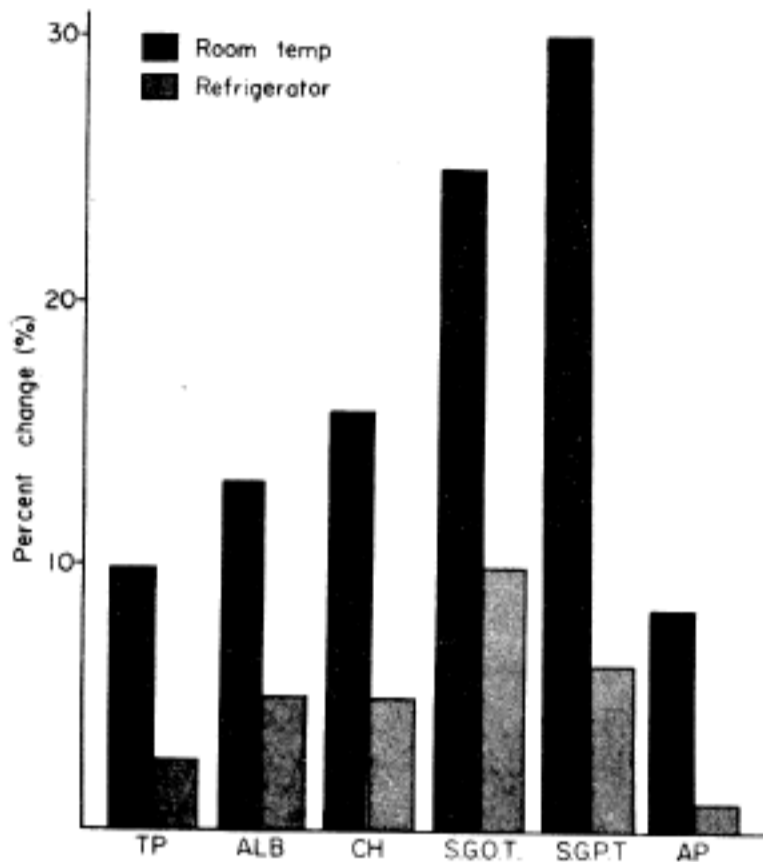


Fig. 1. Comparison of % change of patients serum between in room temperature and in refrigerator after 4 hours standing (%).
Note: TP: total protein, ALB: albumin, CH: cholesterol, AP: alkaline phosphatase

를 요한다고 주장하였다.

본 실험에서도 뚜껑을 싸우지 않고 냉장고안에 보관 하였던 시료에서는 환자 혈청이나, 정도관리 물질에서 나 모두 실온에 방치하였던 시료에서보다 중량 감소가 적고, 따라서 검사치의 상승 비율도 현저하게 낮아서 환자의 혈청에서 1.1~9.8%, 정도관리 혈청에서 1.5~10.3%만의 상승을 보여 주었으나 역시 전체 검사항 목에서 일률적인 검사치 상승을 보이고 있음을 알 수 있다(Fig. 1, 2). 그중에서도 효소의 변화가 비 효소성 물질의 그것보다 높은 경향을 보이고 있었다.

또 Czarnetzky^{4,5)} 등은 시간이 지남에 따라서 alkaline phosphatase의 증가를 보고 하였는데 온도에 관계없이 7시간 후에는 control sera의 어떤 예에서 60%까지의 증가가 있었고 human serum에서는 겨우 10~15%의 증가된 활성을 보여, 이런 차이로 인해 이런 control sera를 standard로 썼을때 분명한 error를 유발한다고 하였다.

이상으로서 검사전 오차의 원인으로 시료의 증발은 시료가 적당히 취급되지 않았다면 상당한 것으로 증명

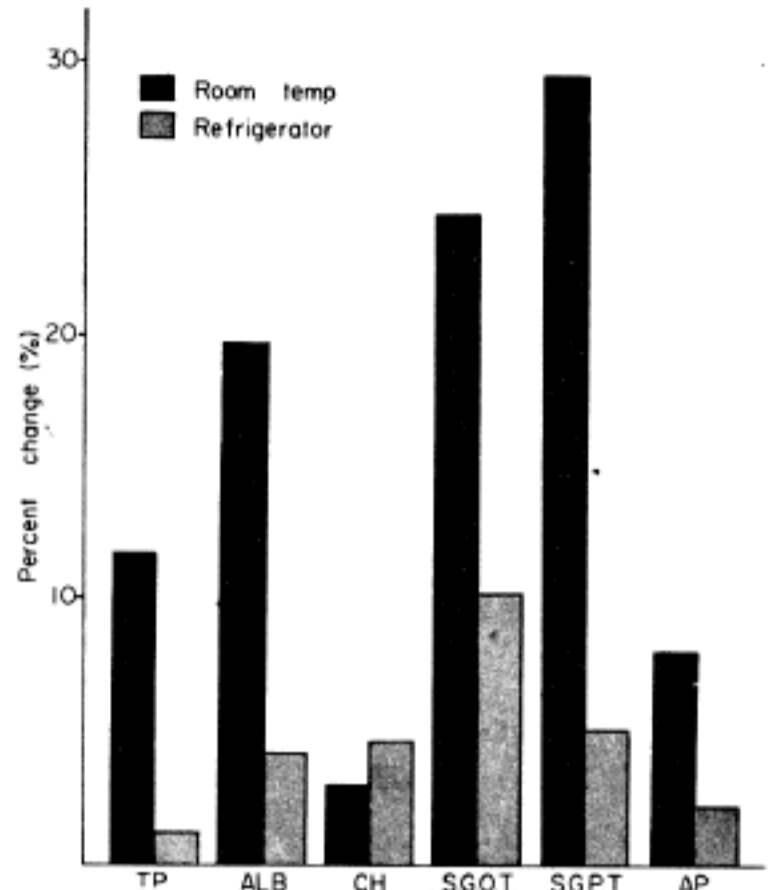


Fig. 2. Comparison of % change of pooled serum between in room temperature and in refrigerator after 4 hours standing (%).

되었으며 시료의 보관은 번잡하다 하더라도 냉장고에 보관하는 것은 중요한 일이라고 생각되었다.

총 합

연속 흐름식 분석기(continuous flow analyzer)를 쓰지 않는 검사실에서 순서에 의하여 검사가 진행되는 동안 우리가 흔히 하는 밀봉되지 않은채로 실온에 방치 하는 법과, 냉장고 내에 보관하는 법, 두 가지 경우를 시료 채취 후 4시간 후에 행한 몇가지 화학 검사에 미치는 증발의 영향을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 실온에 방치하면 평균 13.39%, 냉장고안에 보관하면 평균 7.1%의 중량 감소를 초래하였다.

2) 실온 보관에 의하여 환자 혈청과 정도관리 혈청에서 각각 S.G.O.T. 24.4와 24.2%, S.G.P.T. 16.6과 29.4%, alkaline phosphatase 25.8과 8.2%의 증가치를 보였고 총 단백 9.7과 11.7% 알부민 13.1과 19.4% 그리고 콜레스테롤 15.6과 3.2%의 증가를 보여서 일반적으로 검사치의 상승을 보였고 효소계통 검사치의 변화가 현저하였다.

3) 냉장고 안에 보관한 것은 환자혈청과 정도관리 혈청에서 각각 S.G.O.T. 9.8과 10.3%, S.G.P.T. 6.3과 5.3%, alkaline phosphatase 1.1과 2.5%, 총단백 2.7과 1.5%, 알부민 5.2와 4.5% 및 콜레스테롤 3.0과 5.0%의 검사치 상승을 보여서 실온 보관에서 보다 변화 폭이 좁았다.

4) 이상으로서 증발에 의한 검사 오차를 감소시키기 위해서, 중소 검사실에서는 검사전에 가검물을 냉장고 안에 보관할 필요가 있다고 사료되었다.

참 고 문 헌

- 1) Gleen GC: *Effect of specimen evaporation on quality control. Am J Clin Pathol* 66:645, 1976
- 2) Burtis CA, Begovich JM, Watson JS: *Factors influencing evaporation from sample cups and assessment of their effect on analytical error. Clin Chem* 21:1907, 1975
- 3) Goldberg M, Sardi AI: *Study of evaporation losses from test tubes and plastic sample cups. Clin Chem* 19:662, 1973
- 4) Todd, Sanford, Davidsohn: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods* 16 ed, page 3-25
- 5) Czarnetzy E, Richeal R, O'Malley J: *Temperature dependent changes with time in the alkaline phosphatase activity of commercial control serum. Clin Chem* 16:521, 1970
- 6) Loeb HG, Tramel: PR, szepessy G: *Effect of a sample evaporation retardant on enzyme activity results with the Abbott Bichromatic Analyzer-100. Clin Chem* 18,698(1972)
- 7) Massion C, Frankenfeld J: *Alkaline phosphatase: lability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material. Clin Chem* 18:366, 1972