

Vitamin B₁₂/Folate 검사 시 빛의 영향에 대한 고찰

서울아산병원 핵희학과

조은빛 · 백송란 · 김외정 · 김성호 · 유선희

Study of the Impact of Light Through the Vitamin B₁₂/Folate Inspection

Eun Bit Cho, Song Ran Pack, Whe Jung Kim, Seong Ho Kim, Seon Hee Yoo

Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, Seoul Korea

Purpose : Vitamin B₁₂ and Folate are for anemia work-up which is well known for its sensitivity of light; the screening manual also specifies to be careful with light conditions. According to this, our laboratory minimized the exposure of light when inspecting the Vitamin B₁₂ and Folate, but the exposure cannot be wholly blocked due to other various factors such as when conducting specimen segregation. Thus, this inspection is to identify to what extent light can influence and whether the exclusion of light is mandatory during the Vitamin B₁₂/Folate test. **Materials and Methods :** We have conducted two experiments of identifying the extent of light's influence when conducting the Vitamin B₁₂/Folate test and also when specimens are under preservation. These experiments were progressed with various concentrations of patients' specimens which were requested to our hospital in March 2012. The first experiment is to verify the results on Vitamin B₁₂/Folate dependent on light exposure during the experiment. In the process, we have compared the results of light exposure/exclusion during the incubation process after the reagent division. The second experiment is about the impact of light exposure on the results on Vitamin B₁₂/Folate during the preservation. For 1, 2, 7 days the light on the specimen were wholly blocked and were preserved under -15°C temperature refrigeration. Then, we compared the results of light-excluded specimen and the exposed one. **Results :** When conducting first experiment, there were no noticeable changes in the Standard and specimen's cpm, but for Vitamin B₁₂, the average result of specimen exposed to light increased 7.8% compare to that of excluded one's. Furthermore, in the significant level 0.05, the significance probability or the *p*-value was 0.251 which means it has no impact. For Folate, the result being exposed to light decreased 5.4%, the significance probability was 0.033 which means it has little impact. For the second preservation, the result was dependent on the light exposure. The first day of preservation of Vitamin B₁₂, the clinical material exposed to light was 11.6%, second day clinical material exposed to light was 10.8%, seventh day clinical material exposed to light increased 3.8%, the significance probability of the 1st, 2nd, 7th day is 0.372, 0.033, 0.144 respectively, and which indicates that the 1st and 7th day seems to have no impact. For Folate's case, the clinical material exposed to light has increased 1.4% but hardly had impact, 2nd day clinical material being exposed to light was 6.1%, 7th day clinical material being exposed to light decreased 5.2%. The significance probability of Folate on the 1st, 2nd, 7th day is 0.378, 0.037, 0.217 respectively, and the 1st day and the 7th day seems to have no impact. **Conclusion :** After scrutinizing the impact of light exposure/exclusion, Vitamin B₁₂ has no impact, while Folate seems to have no noticeable influence but light exclusion is recommended due to its significance probability of 0.033 when conducting experiment. During the preservation, the 2nd day result depend on the light exclusion seems to have impact or influence. However, to consider the complication of the experimental process, the experiment including technical errors is predictable. Hence, it is likely to have no impact of light. Nevertheless, it is recommendable to exclude the light during the long preservation as per the significance probability (*p*-value) of 1st and 7th day has been diminished. (**Korean J Nucl Med Technol 2012;16(2):162-166**)

Key Words : Vitamin B₁₂, Folate, Light exposure and exclusion, Radioimmunoassay

- Received: August 31, 2012. Accepted: October 5, 2012.
- Corresponding author : Eun Bit Cho
Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, 388-1
Pungnap-dong, Songpa-gu, Seoul, 138-736 Korea
Tel: +82-2-3010-4563, Fax: +82-2-3010-4588
E-mail: dmsqlc88@naver.com

서 론

Vitamin B₁₂와 Folate는 모두 수용성 비타민인 일종으로 생체 중에는 상호의존 작용을 하는 보조효소로서 아미노산과

핵산의 합성에 필수적인 영양소이며, 특히 유전자를 만드는 핵산인 DNA 복제에 관여하는 효소의 조효소로 관여한다. 또 체내에서 신체의 성장에 활발하게 관여하여 세포분열과 증식을 하는 조혈조직에 대한 영향이 크므로 빈혈 특히 거대 적아구성 빈혈의 감별진단 검사의 하나로서 측정된다.

이전부터 Vitamin B₁₂와 Folate는 빛에 민감한 검사로 알려져 있으며, 검사 매뉴얼에도 빛에 주의해야 한다고 명시되어 있다. 이에 따라 본원의 검사실에서는 Vitamin B₁₂와 Folate 검사 시 빛의 노출을 최소한으로 하고 있다.

하지만 검체 분리 보관 지연 및 검사 시 다른 여러 요인들로 인하여 빛의 영향을 전혀 받지 않을 수는 없다. 따라서 Vitamin B₁₂와 Folate 검사 시 빛의 영향 정도를 알아보고 빛 차단이 필수적인지의 여부를 확인하고자 Vitamin B₁₂와 Folate 실험 시 빛의 영향 정도와 Vitamin B₁₂와 Folate 보관 시 빛의 영향 정도를 분석하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 대상

본원에 내원한 환자들 중 2012년 3월 Vitamin B₁₂, Folate 검사가 의뢰된 다양한 농도의 검체 10개를 대상으로 하였다.

2. 측정방법

실험은 두 가지 방법으로 나누어서 시행하였다.

1) Vitamin B₁₂, Folate 실험 시 빛의 영향 정도

환자검체 및 control 혈청에 ⁵⁷Co Vitamin B₁₂/¹²⁵I Folic acid tracer 1 ml를 첨가한 후, 30분 동안 실온에서 빛 차단, 빛 노출로 나누어서 반응시킨다. NaOH 50 μL를 넣고 30분 동안 37°C Water bath에서 빛 차단, 빛 노출로 나누어서 반응시키고 Binder 1 ml를 넣은 후 60분 동안 실온에서 빛 차단,

Table 1. The results of Vitamin B₁₂/Folate dependent on light exposure during the experiment

검체	Vitamin B ₁₂			Folate		
	빛 차단	빛 노출	차이(%)	빛 차단	빛 노출	차이(%)
1	167	193	15.6	16.1	15.5	-3.73
2	272	342	25.7	6.9	6.5	-5.79
3	317	399	25.9	14	11.8	-15.7
4	501	492	-1.8	5	4.5	-10
5	567	613	8.1	12.7	12.2	-3.94
6	781	751	-3.8	6.6	5.7	-13.6
7	779	875	12.3	17.5	17.3	-1.14
8	980	889	-9.3	19.7	20	1.52
9	966	1035	7.1	11.8	11.9	0.85
10	1522	1497	-1.6	15.5	15	-3.23
			7.8			-5.48

Table 2. The results of Vitamin B₁₂ dependent on light exposure during the preservation

검체	Vitamin B ₁₂								
	1일			2일			7일		
	빛 차단	빛 노출	차이(%)	빛 차단	빛 노출	차이(%)	빛 차단	빛 노출	차이(%)
1	208	353	69.7	233	265	13.7	181	208	14.9
2	378	437	15.6	428	408	-4.7	420	407	-3.1
3	358	428	19.6	352	351	-0.3	401	389	-2.9
4	429	443	3.3	383	411	7.3	488	423	-13.3
5	486	541	11.3	466	487	4.5	499	545	9.2
6	545	574	5.3	500	664	32.8	556	572	2.9
7	762	767	0.7	768	747	-2.7	803	886	10.3
8	737	759	2.9	754	987	30.9	753	785	4.2
9	1147	1077	-6.1	1039	1174	12.9	1094	1248	14.1
10	1720	1606	-6.6	1685	1914	13.6	1924	1954	1.6
			11.6			10.8			3.8

빛 노출로 나누어서 반응시킨다. 4°C에서 30분간 원심 분리한 후 상층 액을 Aspiration한 후 gamma counter에서 계측한다.

위 과정 중 빛 차단은 알루미늄 호일로 rack을 싸고 빛이 들지 않는 암소에서 반응시킨다.

2) Vitamin B₁₂, Folate 보관 시 빛의 영향 정도

실험 전 검체 보관 단계에서 알루미늄 호일을 이용하여 빛을 차단한 검체와 빛에 노출된 검체로 나눠 각각 1일, 2일, 7일 동안 영하 15°C 냉동 보관한 후 실험은 매뉴얼의 방법과 동일하게 진행하였다.

3. 분석방법

실험한 결과의 농도 데이터 분석 자료는 excel을 이용한 차이 백분율(difference%)과 통계 프로그램 MedCalc를 이용한 paired t-test 분석으로 비교 분석하였다(유의수준 $p < 0.05$).

결 과

1) Vitamin B₁₂, Folate 실험 시 빛의 영향 정도

Vitamin B₁₂의 결과는 빛을 차단한 결과에 비해 빛에 노출된 결과가 평균 7.8% 증가하였고 유의확률이 0.251로 영향이 없는 것으로 나타났다.

Folate의 결과는 빛을 차단한 결과에 비해 빛에 노출된 결과가 평균 5.4% 감소하였고 유의확률이 0.033으로 다소 영향이 있는 것으로 나타났다. 상관식은 $y = 1.02x - 0.86$ 을 나타내었다.

2) Vitamin B₁₂, Folate 보관 시 빛의 영향 정도

Vitamin B₁₂의 결과 1일째 보관 시 빛에 노출된 결과가 평균 11.6%, 2일째 빛에 노출된 결과가 평균 10.8%, 7일째 빛에 노출된 결과가 평균 3.8% 증가하였다. 1, 2, 7일의 유의확률은 각각 0.372, 0.033, 0.144로 1일과 7일에서는 영향이 없고 2일에서는 영향이 있는 것으로 나타났다.

Table 3. The results of Folate dependent on light exposure during the preservation

검체	Folate								
	1일			2일			7일		
	빛차단	빛노출	차이(%)	빛차단	빛노출	차이(%)	빛차단	빛노출	차이(%)
1	16.1	18.2	13.0	16.5	15.1	-8.48	14.2	10.9	-23.2
2	5.3	5.1	-3.77	5.2	4.4	-15.4	4.9	4.7	-4.08
3	16.8	17.5	4.17	16.4	14.6	-10.9	15.7	17.3	10.2
4	6.5	6.7	3.08	6.1	5.8	-4.92	6.6	5.7	-13.6
5	8.3	8.5	2.41	8	7.5	-6.25	8.6	7.4	-13.9
6	6.8	6.4	-5.88	6.2	6	-3.23	6.3	5.8	-7.94
7	21.9	23	5.02	23	19.8	-13.9	22.9	21.9	-4.37
8	6.2	6.8	9.68	6.2	6.3	1.61	6.3	6.7	6.35
9	23	23	0	23	23	0	23	23	0
10	11	9.5	-13.6	9.2	9.2	0	10.1	9.9	-1.98
			1.41			-6.15			-5.27

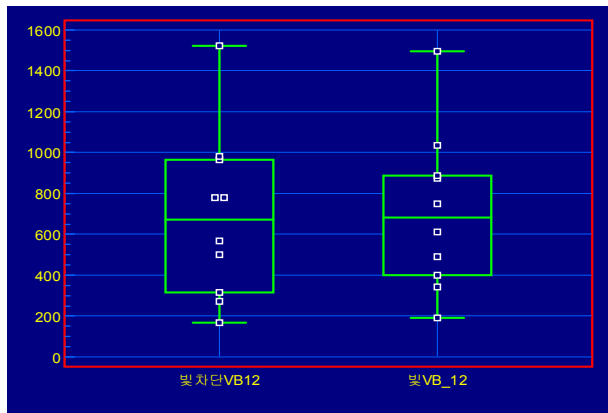


Fig. 1. Comparison of Vitamin B₁₂ in dark and light during the experiment.

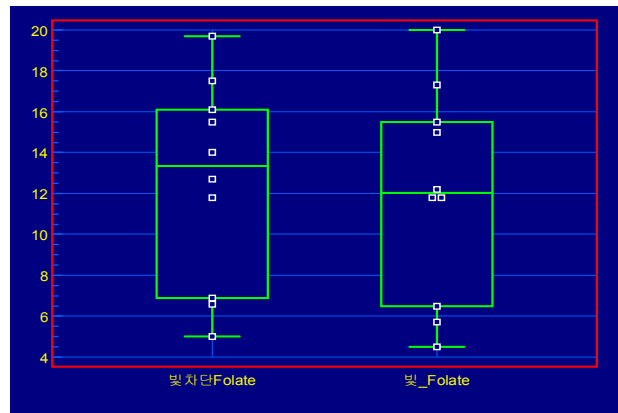


Fig. 2. Comparison of Folate in dark and light during the experiment.

Folate의 결과 1일째 빛에 노출된 결과가 평균 1.4% 증가하였지만 차이가 거의 없었고 2일째 빛에 노출된 결과가 평균 6.1%, 7일째 빛에 노출된 결과가 5.2% 감소하였다. 1, 2, 7일의 유의확률은 각각 0.378, 0.037, 0.217로 1일과 7일에서는 영향이 없고 2일에서는 영향이 있는 것으로 나타났다.

결론 및 고찰

빛에 민감한 검사로 알려져 있는 Vitamin B₁₂, Folate 검사 시 빛의 영향 정도와 빛 차단이 필수적인 지의 여부를 확인하고자 실험 시 빛의 영향 정도와 보관 시 빛의 영향 정도를 나누어서 검사를 시행해 보았다.

위의 실험결과에서 보여주듯이, 실험 시에는 Vitamin B₁₂의 경우 영향이 없고 Folate의 경우 큰 영향은 없지만 유의확률이 0.033으로 다소 영향이 있어 빛을 차단하는 것을 권장한다.

보관 시 빛 차단 여부에 따른 검사 결과 1일과 7일에서는 영향이 없었고 2일에서는 영향이 있는 것으로 나타났다. 이는 복잡한 검사방법으로 인한 실험 배치상의 기술적인 오류가 포함되어 있을 것으로 예상되어 1일, 2일, 7일 모두 빛에 영향이 없는 것으로 판단된다.

그러나 1일차에 비해 7일차 유의확률 *p*-value가 작아짐에 따라 장기간 보관 시 빛을 차단할 것을 권장한다.

요 약

Vitamin B₁₂, Folate는 아미노산과 핵산의 합성에 필수적인 영양소로 DNA 복제에 관여하는 효소이다. 체내에서는 신체의 성장에 활발하게 관여하여 세포분열과 증식을 하는 조혈 조직에 대한 영향이 커 빈혈의 감별진단 검사의 하나로서 측정된다. 이런 Vitamin B₁₂, Folate는 빛에 민감한 검사로 알려져 있어 검사 매뉴얼 또한 검사 시 실험 시, 보관 시 모두 빛

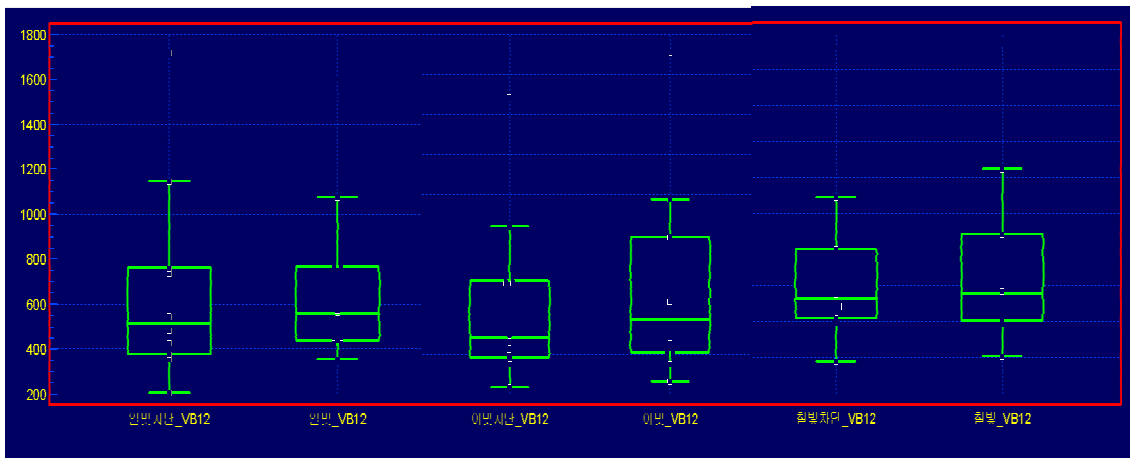


Fig. 3. Comparison of Vitamin B₁₂ stored for 1st, 2nd and 7th in dark and light.

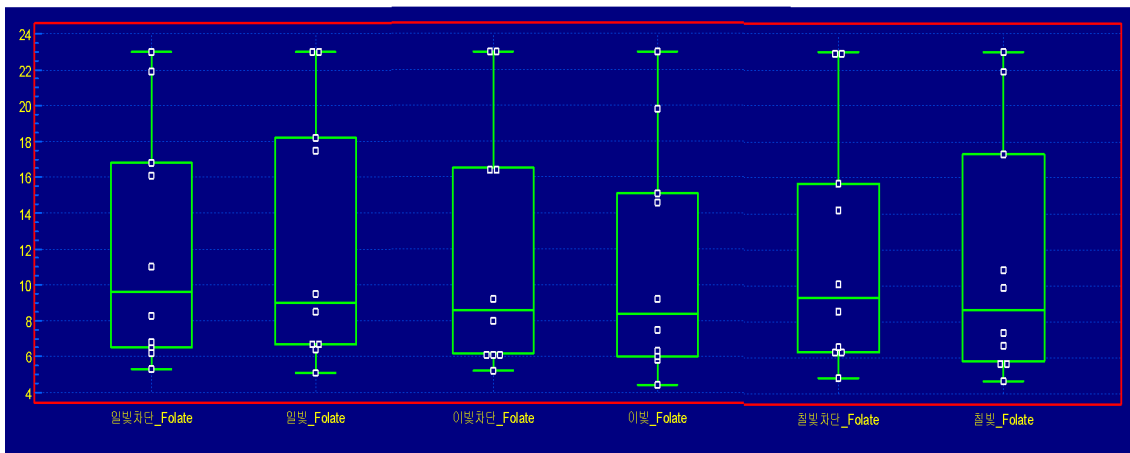


Fig. 4. Comparison of Folate stored for 1st, 2nd and 7th in dark and light.

의 노출을 피하도록 하고 있다.

이에 따라 본원의 검사실에서는 Vitamin B₁₂, Folate 검사 시 빛의 노출을 최소한으로 하고 있다. 하지만 검체 분리 보관 지연 및 검사 시 다른 여러 가지 요인들로 인해 빛의 영향을 완전히 배제할 수는 없다. 따라서 Vitamin B₁₂, Folate 검사 시 빛의 영향 정도와 빛 차단이 필수적인 지의 여부를 확인하고자 실험 시 빛의 영향 정도와 실험 전 보관 시 빛의 영향 정도로 나누어서 분석해보고자 한다. 2012년 3월, 본원에 의뢰된 다양한 농도의 환자 검체 10개를 대상으로 실험 시 빛의 영향과 검체 보관 시 빛의 영향 정도를 확인하는 두 가지 실험을 실시하였다. 첫 번째는 Vitamin B₁₂, Folate 실험 시 반응 단계에서 빛을 차단한 결과와 빛에 노출된 결과를 비교하였다. 두 번째는 Vitamin B₁₂, Folate 실험 전 검체 보관 시 1, 2, 7일 동안 빛을 차단하여 보관한 결과와 빛에 노출된 결과를 비교하였다. 첫 번째, 실험 시 빛 차단 여부에 따른 검사 결과 Vitamin B₁₂의 경우 영향이 없고 Folate의 경우 큰 영향은 없지만 유의확률이 0.033(상관식 $y=1.02x-0.86$)으로 실험 시 빛을 차단하는 것을 권장한다. 두 번째, 보관 시 빛 차단 여부에 따른 검사 결과 1일, 7일에서는 영향이 없고 2일에서는 Vitamin B₁₂ 유의확률이 0.033, Folate 유의확

률이 0.037로 영향이 있었다. 이는 복잡한 검사 방법으로 인한 기술적 오류가 포함되어 있을 것으로 예상되어 1, 2, 7일 모두 보관 시 빛에 영향이 없는 것으로 사료된다. 그러나 1일 차에 비해 7일차 유의확률 p -value가 감소함에 따라 장기간 보관 시 빛을 차단할 것을 권장한다.

REFERENCES

1. Nathan F. Clement. Effect of Light on Vitamin B₁₂ and Folate. LABMEDICINE 2009;40:657-659.
2. Arzu Kösem. Effect of Light on Serum Vitamin B₁₂ and Folate Levels. Turkish Journal of Biochemistry-Turk J Biochem 2007;32:61-64.
3. Shekin A, Baines M, Path FRC. Vitamins and trace elements. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics 2006. p. 1075-1164.
4. Mastropaolo W, Wilson MA. Effect of light on serum B₁₂ and folate stability. Clin Chem 1993;39:913.
5. Komaromy-Hiller G, Nuttall KL, Ashwood ER. Effect of storage on serum vitamin B₁₂ and folate stability. Ann Clin Lab Sci 1997;27:249-253.
6. 서일택, 임상 핵의학 기술 검사학. 고려의학 2002. p. 326-328.