

Original article

지연된 인슐린 검사에서 검체 보관 방법의 영향에 대한 고찰

곽지중, 고희영, 김성수, 이남주
원광대학교병원 핵의학과

Impact of Delayed Sample Separation and Storage Conditions on Insulin Stability

Ji Jong Kwak, Hee Young Go, Seongsu Kim, and Nam Ju Lee
Department of Nuclear Medicine, Wonkwang University Hospital, Iksan, Korea

Corresponding Author: Nam Ju Lee, Department of Nuclear Medicine, Wonkwang University Hospital, 895, Muwang-ro, Iksan, Jeonbuk, 54538, Rep. of Korea. Tel: +82-63-859-1826, E-mail: leenj99@wkuh.org

ABSTRACT

Purpose: Insulin assays are highly sensitive to pre-analytical handling issues. While numerous studies have reported that the stability of insulin in non-hemolyzed samples is affected by time and temperature, there is limited information regarding the impact of delayed sample separation. Although research on this topic using the electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) method is actively conducted both domestically and internationally, studies utilizing the immunoradiometric assay (IRMA) are primarily performed abroad. Therefore, this study aimed to evaluate the stability of insulin in response to delayed separation of primary samples and storage conditions of secondary samples using the IRMA method. **Subjects and Methods:** The study included a total of 21 participants. Blood samples were processed and stored under different conditions to create serum and plasma samples divided into three groups. Group A: Secondary samples were stored at room temperature for 5 hours and at 2–8 °C for 48 hours. Group B: Secondary samples were stored at 2–8 °C for 5 hours and at -24 °C for 48 hours. Group C: Primary samples were stored at room temperature for 5 hours and at 2–8 °C for 48 hours before separation. Insulin concentrations in each group were measured using the IRMA method. The measured values were compared to insulin concentrations from secondary samples separated immediately after blood collection. The stability of insulin concentrations in each group was evaluated using regression analysis and the Wilcoxon signed-rank test for non-parametric paired sample comparisons. Statistical analysis was performed with MedCalc software (ver. 22.063), and a p-value of <0.05 was considered statistically significant. **Results:** The serum samples separated after storing the primary samples at 2–8 °C for 48 hours showed a positive correlation coefficient of 0.9974. However, the percentage deviation was -19.35%, and the p-value was <0.05, indicating a statistically significant difference. Similarly, for plasma samples stored as secondary samples at 2–8 °C for 5 hours and 48 hours, the correlation coefficients were 0.9803 and 0.9944, respectively, showing positive correlations. However, the percentage deviations were -7.45% and -6.32%, with p-values of <0.05 for both, demonstrating statistical significance. **Conclusion:** This study evaluated the stability of insulin assays under various conditions of delayed sample separation and storage methods. It is recommended that insulin assays be performed immediately after blood collection by promptly centrifuging and separating the samples. When storage is necessary, it is crucial to store samples in a separated state. Serum samples were stable when stored at room temperature or at 2–8 °C for 5 hours, and stability was maintained even after 48 hours of storage at 2–8 °C or -24 °C. However, delayed sample separation may result in significant differences in test values, emphasizing the need for careful handling and storage of samples.

Keywords: Immunoradiometric Assay, Insulin, Sample Storage, Sample Separation, Stability

Received December 04, 2024

Revised March 06, 2025

Accepted March 10, 2025

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

당뇨병은 β 섬 세포에서 인슐린 분비가 불충분하거나 인슐린 작용의 기능이 손상되어 발생하는 고혈당이 특징인 대사 질환의 일종이다. 당뇨병에 의해 체내에서 혈당의 정상적인 대사 과정이 제대로 이루어지지 않고, 고혈당 상태가 지속되면 다양한 장기, 특히 신장, 눈, 심장, 신경 및 혈관의 손상과 기능 장애로 이어질 수 있다. 문헌에 따르면 고당분, 고칼로리 식단 및 생활 방식의 영향으로 2017년 전 세계적으로 당뇨병 환자는 약 4억 5,100만 이었고, 당시 성인 유병률은 8.4%에 달했으며 2045년까지 9.9%에 이를 것으로 예상된다[1]. 따라서 당뇨병을 조기에 검사하고 시기 적절하게 치료하는 것이 매우 중요하다.

인슐린은 β 섬 세포에서 분비되는 체내 혈당을 내리는 기능을 가진 단백질 호르몬으로 성인의 평균 인슐린 보유 수치는 공복 상태에서 2~20 $\mu\text{IU/mL}$ 이다. 인슐린은 포도당 대사 조절뿐만 아니라 지방과 단백질의 대사에도 관여하며 인간의 건강과 밀접한 관련이 있는데, 인슐린 연구가 진행됨에 따라 인슐린의 임상적 역할이 더욱 잘 알려지게 되었고, 인슐린 분비는 β 섬 세포의 기능을 평가하는데 사용할 수 있게 되었다[2,3]. 연구에 따르면 당뇨병 진단 시점에 환자의 β 섬 세포 기능이 약 절반으로 감소하는데 이는 당뇨병이 발병하기 훨씬 전에 β 섬 세포 기능이 손상되었음을 의미한다[4]. 또한 인슐린은 인슐린 저항성을 평가하는 데 사용할 수 있으며, 인슐린 저항성의 평가는 제2형 당뇨병의 조기 진단 또는 많은 연구에서 언급된 심혈관 위험 요인의 예측성을 높일 수 있다[5,6]. 또한 인슐린 측정은 자발적 저혈당 진단에도 사용할 수 있다[7]. 따라서 인슐린 데이터의 정확성은 임상 진료에서 매우 중요하다. 그러나 인슐린 검사는 사전 검체 처리에 의해 민감하게 영향을 받는 문제점이 있다[8]. 더욱이 인슐린을 분해하는 효소가 존재하기 때문에 비용혈성 검체에서의 인슐린 결과는 시간과 온도의 영향을 받는다. 많은 연구에서 비용혈성 검체에서의 인슐린의 안정성이 주로 시간과 온도에 의해 영향을 받는다고 지적했지만 이러한 연구는 검체 분리 지연에 따른 영향 정도에 대한 정보는 제공하지 않고 있다[9-13].

따라서 본 연구는 검체 보관 방법과 검체 분리 지연에 따른 영향을 면역방사계수측정법(immunosoradiometric assay, IRMA)를 이용한 방법으로 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 검사 대상

본 연구는 본원에서 모집한 연구 참여자 11명과 건강검진 대상자 10명, 총 21명을 대상으로 진행하였으며, 모든 참여자는 연구 목적과 절차에 대해 사전에 충분히 설명을 들은 후 동의서를 작성하였다. 획득한 혈액은 검체 분리 여부와 보관방법을 달리하여 각각 혈청, 혈장을 A, B, C 그룹으로 구분하였다.

2. 비교 방법

2.1. A group 비교 방법

혈액을 약 2mL씩 plain tube 3개, EDTA tube 3개에 수집하였고, 채혈 직후 검체 분리한 혈청 및 혈장으로 검사를 실시하였으며, 그 값을 기준으로 혈청 및 혈장을 실온에서 5시간, 2~8°C에서 48시간 보관 후 검사를 진행하여 결과를 비교하였다(Table 1).

2.2. B group 비교 방법

혈액을 약 2mL씩 plain tube 3개, EDTA tube 3개에 수집하였고, 채혈 직후 검체 분리한 혈청 및 혈장으로 검사를 실시하였으며, 그 값을 기준으로 혈청 및 혈장을 2~8°C에서 5시간, -24°C에서 48시간 보관 후 검사를 진행하여 결과를 비교하였다(Table 1).

2.3. C group 비교 방법

혈액을 약 2mL씩 plain tube 3개, EDTA tube 3개에 수집하였고, 첫 번째 실험군은 채혈 직후 바로 원심 분리한 혈청 및 혈장으로 검사를 실시하였다. 두번째 실험군은 채혈 후 전혈(whole blood) 상태로 실온에서 5시간 경과 후 원심 분리한 혈청 및 혈장으로 검사를 실시하였고, 세번째 실험군은 2~8°C에서 48시간 경과 후 원심 분리하여 검사를 실시하였다(Table 1).

본원 검사실 환경에 적용했을 때 인슐린 검사를 오전, 오후 하루에 2번 검사하는 것을 가정하여 그 시간 간격을 고려해 검체 분리 5시간 지연된 실험군을 설정하였고, 금요일 저녁에 채취되는 검체를 월요일 오전에 처리하는 것을 고려하여 검체 분리 48시간 지연된 실험군을 설정하였다. 또한 시약의 제조사에서 제공하는 검체 처리 및 보관 방법도 함께 진행하였다. 위와 같은 방법으로 보관 방법과 검체 분리 지연에 따른 인슐린 농도의 변화를 확인하고, 검사의 안정성을 높이는데 기여하고자 한다.

Table 1. Storage table according to sample processing method and temperature

Group	Centrifugation immediately after blood collection	5 hours storage	48 hours storage
A group (n = 11)	○	room temperature	2~8°C
B group (n = 10)	○	2~8°C	-24°C
C group (n = 11)	×	room temperature	2~8°C

3. 검사 방법

면역방사계측정법(IRMA)을 사용하는 Insulin IRMA(DIASource, Wallonia, Belgium)를 사용하였다. 인슐린 검사의 절차는 다음과 같다. 각 농도의 표준액과 정도관리 혈청 그리고 검체를 항체가 피복된 시험관에 50uL씩 분주한다. 모든 시험관에 Tracer I-125 Anti-Insulin을 50uL씩 분주한다. 잘 혼합한 후, 18~25°C에서 120분(+/- 5분) 동안 반응한다. 이후 자동세척기를 이용하여 유리형을 분리하고, tris-HCl washing 용액으로 2회 세척한다. 남은 물기를 aspirator를 이용하여 완전히 제거한 후 감마선계측기에서 1분 동안 방사능을 측정한다.

4. 통계 분석

위와 같은 방법으로 인슐린 농도의 안정성을 회귀분석과 두 군 이상의 대응표본의 비교를 위해 비모수 검정 Wilcoxon signed rank test를 시행하였고, 추가로 각 변수간 세 군 사이의 비모수적 대응표본비교를 위해 Friedman test을 MedCalc (ver. 22.063) 프로그램을 이용하여 평가하였으며, 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 를 유의한 것으로 설정하였다.

결과

1. 혈청 검체 분리 지연 및 보관 방법에 따른 인슐린 농도 비교

1.1. A group

A group 혈청의 보관 조건에 따른 안정성을 분석한 결과, 실온(약 25°C)에서 5시간 보관 시 백분율 편차는 -0.78%였으며, 상관계수는 0.9884로 양의 상관성을 나타냈다. Wilcoxon signed rank test 결과는 $p = 0.320$ 으로 통계적으로 유의하지 않았다. 한편, 2~8°C에서 48시간 보관한 경우, 백분율 편차는 0.47%, 상관계수는 0.9939로 더욱 높은 양의 상관성을 보였다(Table 2). 해당 조건의 Wilcoxon signed rank test 결과는 $p = 0.700$ 으로 역시 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 1). 추가적으로 세 군 이상의 대응 표본 비교를 위해 수행한 Friedman test 결과, $p = 0.242$ 로 유의미한 차이가 없음을 확인하였다. 이 결과는 A group 혈청이 실온(약 25°C)에서 5시간, 또는 냉장(2~8°C) 조건에서 48시간 동안 안정적으로 보관될 수 있음을 시사한다.

Table 2. Comparison of mean and standard deviation of serum Insulin ($\mu\text{IU/mL}$) across groups under different storage conditions

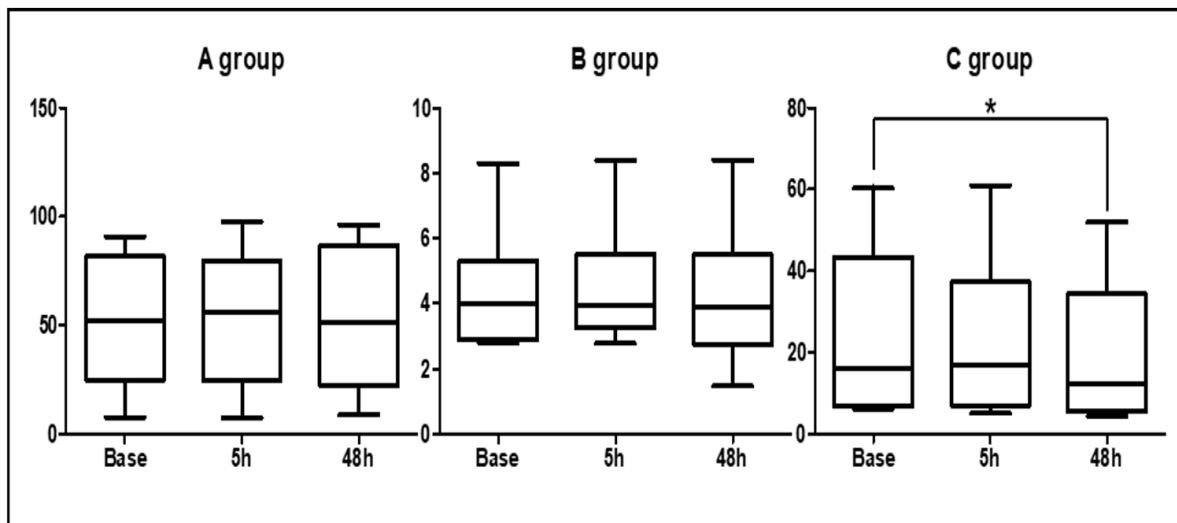
Group	Storage	Mean ($\mu\text{IU/mL}$) $\pm$ SD	Correlation coefficient*	p-value†
Group A	Baseline	51.29 $\pm$ 29.69	N/A	N/A
	5h, room temperature	51.36 $\pm$ 30.80	0.9884	0.320
	48h, 2~8°C	51.90 $\pm$ 32.04	0.9939	0.700
Group B	Baseline	4.40 $\pm$ 1.83	N/A	N/A
	5h, 2~8°C	4.45 $\pm$ 1.75	0.9630	0.610
	48h, -24°C	4.31 $\pm$ 2.23	0.8994	0.678
Group C	Baseline	23.76 $\pm$ 20.38	N/A	N/A
	5h, room temperature	23.32 $\pm$ 20.26	0.9712	0.749
	48h, 2~8°C	19.64 $\pm$ 17.58	0.9974	<0.05

* Correlation coefficient comparing with the value of baseline

† p-value of Wilcoxon signed rank test comparing with the value of baseline

1.2. B group

B group 혈청의 보관 조건에 따른 안정성 분석 결과, 2~8°C에서 5시간 보관 시 백분율 편차는 2.77%, 상관계수는 0.9630으로 양의 상관성을 보였다. Wilcoxon signed rank test 결과는 $p=0.610$ 으로 통계적으로 유의하지 않았다. -24°C에서 48시간 보관한 경우, 백분율 편차는 -4.55%, 상관계수는 0.8994로 양의 상관성을 나타냈다(Table 2). 이 조건의 Wilcoxon signed rank test 결과도 $p=0.678$ 로 유의하지 않았다(Fig. 1). 세 군 이상의 대응 표본 비교를 위해 시행한 Friedman test 결과, $p=0.737$ 로 세 군 간 유의미한 차이가 없는 것으로 분석되었다. 본 결과는 B group 혈청이 보관 조건에 따라 안정성을 유지하며, 냉장(2~8°C) 조건에서 5시간, 또는 냉동(-24°C) 조건에서 48시간 동안 안정적으로 보관될 수 있음을 시사한다.

**Fig. 1.** The box Plot compares serum insulin levels ($\mu\text{IU/mL}$) across groups under various storage conditions.

1.3. C group

C group 혈청의 보관 조건에 따른 안정성 분석 결과, 실온(약 25°C)에서 5시간 보관 후 검체를 분리한 경우 백분율 편차는 -2.13%, 상관계수는 0.9712로 양의 상관성을 보였다. Wilcoxon signed rank test 결과는 $p=0.749$ 로 통계적으로 유의하지 않았다. 반면, 2~8°C에서 48시간 보관 후 검체를 분리한 경우 상관계수는 0.9974로 높은 양의 상관성을 보였으나, 백분율 편차는 -19.35%로 상대적으로 큰 편차를 나타냈다(Table 2). 이 조건의 Wilcoxon signed rank test 결과 $p < 0.05$ 로 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었다(Fig. 1). 추가적으로, 세 군 이상의 대응 표본 비교를 위해 수행한 Friedman test 결과에서도 $p < 0.05$ 로 유의미한 차이가 확인되었다.

2. 혈장 검체 분리 지연 및 보관 방법에 따른 인슐린 농도 비교

2.1. A group

A group 혈장의 보관 조건에 따른 안정성 분석 결과, 실온(약 25°C)에서 5시간 보관한 경우 백분율 편차는 0.69%, 상관계수는 0.9910로 양의 상관성을 나타냈다. Wilcoxon signed rank test 결과는 $p = 0.520$ 으로 통계적으로 유의하지 않았다. 반면, 2~8°C에서 48시간 보관한 경우 백분율 편차는 -6.32%, 상관계수는 0.9944로 양의 상관성을 보였으나(Table 3), Wilcoxon signed rank test 결과 $p < 0.05$ 로 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었다(Fig. 2). 또한, 세 군 이상의 대응 표본 비교를 위해 수행한 Friedman test 결과에서도 $p < 0.05$ 로 유의한 차이가 확인되었다.

2.2. B group

B group 혈장의 보관 조건에 따른 안정성 분석 결과, 2~8°C에서 5시간 보관한 경우 백분율 편차는 -7.45%, 상관계수는 0.9803으로 양의 상관성을 보였으나(Table 3), Wilcoxon signed rank test 결과 $p < 0.05$ 로 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었다(Fig. 2). 반면, -24°C에서 48시간 보관한 경우 백분율 편차는 -7.30%, 상관계수는 0.9589로 양의 상관성을 나타냈으며, Wilcoxon signed rank test 결과 $p = 0.139$ 로 통계적으로 유의하지 않았다. 추가적으로, 세 군 이상의 비교를 위해 시행된 Friedman test 결과 $p = 0.052$ 로 유의하지 않은 것으로 분석되었다.

Table 3. Comparison of mean and standard deviation of plasma insulin ($\mu\text{IU/mL}$) across groups under different storage conditions

Group	Storage	Mean ($\mu\text{IU/mL}$) $\pm$ SD	Correlation coefficient*	p-value†
Group A	Baseline	48.73 $\pm$ 28.62	N/A	N/A
	5h, room temperature	49.20 $\pm$ 29.15	0.9910	0.520
	48h, 2~8°C	45.69 $\pm$ 27.77	0.9944	<0.05
Group B	Baseline	4.15 $\pm$ 1.37	N/A	N/A
	5h, 2~8°C	3.85 $\pm$ 1.33	0.9803	<0.05
	48h, -24°C	3.95 $\pm$ 1.82	0.9589	0.139
Group C	Baseline	21.14 $\pm$ 18.90	N/A	N/A
	5h, room temperature	21.90 $\pm$ 18.74	0.9939	0.092
	48h, 2~8°C	21.35 $\pm$ 19.90	0.9971	0.898

* Correlation coefficient comparing with the value of baseline

† p-value of Wilcoxon signed rank test comparing with the value of baseline

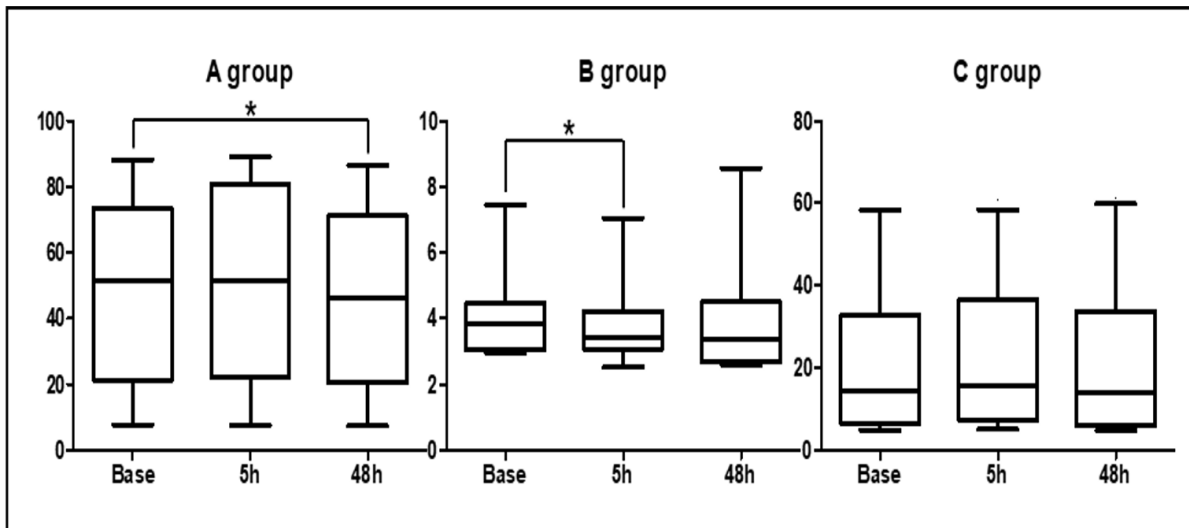


Fig. 2. The box plot compares plasma insulin levels ($\mu\text{IU/mL}$) across groups under various storage conditions.

2.3. C group

C group 혈장의 보관 조건에 따른 안정성 분석 결과, 실온(약 25°C)에서 5시간 보관 후 검체를 분리한 경우 백분율 편차는 5.87%, 상관계수는 0.9939로 양의 상관성을 나타냈으며, Wilcoxon signed rank test 결과는 $p=0.092$ 로 통계적으로 유의하지 않았다. 한편, 2~8°C에서 48시간 보관 후 검체를 분리한 경우, 혈장의 백분율 편차는 -1.83%, 상관계수는 0.9971로 더욱 높은 양의 상관성을 보였고 (Table 3), Wilcoxon signed rank test 결과는 $p=0.898$ 로 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 2). 또한, 세 군 이상의 대응 표본 비교를 위해 시행한 Friedman test 결과는 $p=0.100$ 으로 유의미한 차이가 없는 것으로 분석되었다.

고찰

본 연구에서는 모 검체 분리 지연과 자 검체 보관 방법이 인슐린의 안정성에 미치는 영향을 면역방사계수측정법으로 분석하였다. 연구 결과, 혈청 검체에서 유의한 차이는 C 그룹의 2~8°C에서 48시간 보관 후 분리된 검체에서 관찰되었다. 해당 검체의 검사값은 최초 검사값 대비 -19.35%로 큰 차이를 보였으며, Wilcoxon signed rank test 결과 $p<0.05$ 로 통계적으로 유의미한 차이가 나타났다. 추가적으로, 세 군 이상의 대응 표본 비교를 위해 수행한 Friedman test 결과에서도 $p<0.05$ 로 유의미한 차이가 확인되었다. 이는 전혈 상태에서 검체가 용혈의 영향을 받는 것으로 나타났으며, 48시간 냉장 보관 시 육안으로도 검체의 용혈 상태가 확인되었다.

Wu ZQ 등의 보고에 따르면, 용혈된 검체를 검사할 경우 인슐린 농도가 감소하는 것으로 알려져 있으며, 이는 적혈구 내 금속 의존성 효소인 인슐린 분해 효소가 용혈로 인해 혈구 밖으로 유출되면서 작용하기 때문이다[14]. 반면, EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)를 사용하여 얻은 혈장 검체는 48시간 이상 검체 분리가 지연되더라도 항응고제의 작용으로 인해 칼슘과 아연이 억제되어 인슐린 분해 효소의 활성화가 차단되었고, 이로 인해 인슐린 농도의 변화가 관찰되지 않았다[15]. 그러나, 본 연구에서 혈장의 A 그룹(48시간 보관)과 B 그룹(5시간 보관)에서 유의미한 농도 감소가 관찰되었으며, 이는 기존 연구들과 다소 상충되는 결과이다. 이러한 차이는 본 연구 결과만으로는 명확히 추정하기 어렵지만, 본 연구에서 사용된 키트가 주로 혈청 검체를 대상으로 개발 및 허가되어, 혈장 검체를 이용한 검사에서 정도 관리의 어려움이 영향을 미쳤을 가능성이 제기된다.

본 연구의 추가적인 제한점은 A, B, C group의 검사 결과를 동일한 대상군에게서 얻지 못했다는 것이다. A 및 C group은 동일한 대상자 11명으로 이루어져 있으나, B group은 인구학적인 차이가 있는 다른 대상자 10명으로 구성되었다. 따라서 A, B, C group의 검사 결과를 완전히 동일한 조건에서 획득하지 못했다는 제한점이 존재하지만, 검사 결과의 비교는 각 group내에서만 이루어졌으므로 해당 결과는 신뢰할 수 있다고 판단하였다.

결론

본 연구를 통해 인슐린 검사의 검체 분리 지연 및 보관 방법에 따른 다양한 시간에서의 안정성을 확인하였다. 인슐린 검사는 채혈 직후 즉시 원심 분리하여 검체를 분리하고 검사하는 것이 바람직하다고 사료된다. 또한, 검체를 보관해야 하는 상황에서는 검체 분리를 완료한 상태로 보관하는 것이 중요하다. 혈청의 경우, 실온 또는 2~8°C에서 5시간 보관 시 안정성이 유지되었으며, 2~8°C 또는 -24°C에서 48시간 보관하더라도 인슐린 농도의 안정성은 양호한 것으로 확인되었다. 그러나 검체 분리가 지연된 검체에서는 검사값에 유의미한 차이가 발생할 수 있으므로, 검체 취급 및 보관 방법에 각별히 유의해야 한다.

REFERENCES

1. Tao Z, Shi A, Zhao J. Epidemiological perspectives of diabetes. Cell Biochem Biophys. 2015;73(1):181-5.
2. Sparks JD, Sparks CE. Insulin regulation of triacylglycerol - rich lipoprotein synthesis and secretion. Biochim Biophys Acta. 1994;1215(1-2):9-32.

3. Titchenell PM, Lazar MA, Birnbaum MJ. Unraveling the regulation of hepatic metabolism by insulin. *Trends Endocrinol Metab.* 2017;28(7):497-505.
4. Wajchenberg BL. beta - cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment. *Endocr Rev.* 2007;28(2):187-218.
5. Wallace TM, Matthews DR. The assessment of insulin resistance in man. *Diabet Med.* 2002;19(7):527-34.
6. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta - cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9.
7. Kandaswamy L, Raghavan R, Pappachan JM. Spontaneous hypoglycemia: diagnostic evaluation and management. *Endocrine.* 2016;53(1):47-57.
8. Vogeser M, Parhofer KG. Limited preanalytical requirements for insulin measurement. *Clin Biochem.* 2005;38(6):572-5.
9. Livesey JH, Hodgkinson SC, Roud HR, Donald RA. Effect of time, temperature and freezing on the stability of immunoreactive LH, FSH, TSH, growth hormone, prolactin and insulin in plasma. *Clin Biochem.* 1980;13:151-5.
10. Ellis JM, Livesey JH, Evans MJ. Hormone stability in human whole blood. *Clin Biochem.* 2003;36:109-12.
11. Evans MJ, Livesey JH, Ellis MJ, Yandle TG. Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability of plasma and serum hormones. *Clin Biochem.* 2001;34:107-12.
12. Walters E, Henley R, Barnes I. Stability of insulin in normal whole blood. *Clin Chem.* 1986;32:224.
13. McDonald TJ, Perry MH, Peake RWA, Pullan NJ, Connor JO, Shields BM, et al. EDTA improves stability of whole blood C - Peptide and insulin to over 24 hours at room temperature. *PLoS One.* 2012;7:1-4.
14. Wu ZQ, Lu J, Chen H, Chen W, Xu HG. Individualized correction of insulin measurement in hemolyzed serum samples. *Immunol Res.* 2017;65(3):605-8.
15. McDonald TJ, Perry MH, Peake RWA, Pullan NJ, Connor JO, Shields BM, et al. EDTA improves stability of whole blood C - Peptide and insulin to over 24 hours at room temperature. *PLoS One.* 2012;7:1-4.