

ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} Analyzer의 수행능 평가

Evaluation of the Performance of ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} Analyzer

임진숙 · 김지명 · 구선희 · 권계철

Jinsook Lim, M.D., Ji-Myung Kim, M.D., Sun Hoe Koo, M.D., Kye Chul Kwon, M.D.

충남대학교병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine, Chungnam National University Hospital, Daejeon, Korea

Background: Hemoglobin (Hb)-A_{1c} is routinely used for the management of diabetes. In 2010, HbA_{1c} was included into the diagnostic criteria for diabetes by the American Diabetes Association. A newly developed HbA_{1c} analyzer, ARKRAY ADAMS HA-8180 (ARKRAY KDK, Japan) was introduced. In this study, we evaluated the analytical performance of ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer and compared it with the previously used Variant II Turbo (Bio-Rad Laboratories, USA), which is a National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) certified analyzer.

Methods: According to Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) evaluation protocol (EP) 5-A, Lyphochek Diabetes Controls (Bio-Rad Laboratories, USA) are used for precision. Two (low and high) levels of quality control materials were analyzed twice a day for 20 days, after which the mean, total standard deviation (SD) and total coefficient of variation (CV), including the between-run CV and between-day CV were calculated. ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer and Variant II Turbo were compared with 150 samples according to CLSI EP9-A2. In addition, the linearity and carry over rate were evaluated.

Results: Between-run CVs for low and high level quality control materials were 0.0% and 0.3%, respectively, whereas between-day CVs for low and high level quality control materials were 0.3% and 0.2%, respectively. In the linearity test, the coefficient of determination (R^2) was 0.99 (range, 3.1-19.3%). Thus, a good correlation was observed between ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer and Variant II Turbo ($R^2=0.994$). The carry over rate was 0.0%.

Conclusions: The ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer showed excellent precision, linearity, and carryover rate. It also showed excellent correlation with the NGSP certified Variant II Turbo. In conclusion, the ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer is a reliable high-performance liquid chromatography (HPLC) analyzer for HbA_{1c} analysis and could be very useful for the diagnosis, treatment, monitoring, and risk assessment of diabetes.

Key Words: Hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}), High-performance chromatography (HPLC), Diabetes

서 론

헤모글로빈 A_{1c} (HbA_{1c})는 HbA의 beta 사슬의 N 말단의 발린 (Valine)기에 포도당이 비효소적 결합으로 만들어지는 당화혈색소의 일종이며 전사 후 변형에 의하여 생체 내에서 형성되는 안정화

Corresponding author: Kye Chul Kwon, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Chungnam National University Hospital, 640 Daesa-dong, Jung-gu, Daejeon 301-721, Korea
Tel: +82-42-280-7799, Fax: +82-42-257-5365, E-mail: kckwon@cnu.ac.kr

Received: October 20, 2011

Revision received: February 29, 2012

Accepted: February 29, 2012

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2012, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

상태의 변이형 혈색소이다[1]. 헤모글로빈 A_{1c} (HbA_{1c})는 최근 1-3개월간의 평균 혈당 상태를 반영하므로 혈당조절의 지표로 널리 사용되고 있다[2]. HbA_{1c}는 공복혈당에 비해 측정값이 비교적 안정적이고[3], 공복이 아닌 상태에서도 측정이 가능하며, 일부 연구에서는 공복혈당보다도 망막병증 등의 당뇨병 만성합병증과의 관련성이 더 높은 것으로 보고하고 있다[4]. 이에 따라 최근 2010년 미국 당뇨병협회(American Diabetes Association)에서는 오랫동안 환자 순응도 평가에 사용되어 왔던 HbA_{1c}를 당뇨병 진단기준 및 고위험 선별기준에 추가시킴으로써 HbA_{1c}의 임상적 유용성이 더욱 부각되고 있다[5].

HbA_{1c}를 측정하는 방법은 크게 3가지가 있는데 검사원리에 따라 이온교환 고성능액체크로마토그래피(ion-exchange high performance liquid chromatography, HPLC), 친화크로마토그래피(affinity chromatography), 그리고 면역측정법(immunoassay)으로 나눌 수 있다. 이 중 HPLC 방법은 HbA_{1c} 측정에 있어 표준방법으로

여겨지고 있으며, 측정물질의 전하나 구조의 차이를 통하여 분석하므로 변이형 혈액색소의 검출 등 정확한 결과를 얻을 수 있는 특징이 있다[6].

최근에 출시된 ARKRAY ADAMS HA-8180 (ARKRAY KDK, Kyoto, Japan)은 역상분배 양이온교환 크로마토그래피(reversed-phase cation exchange chromatography)법을 사용하여 HbA_{1c}를 측정하는 장비로 이에 대한 분석 능력 및 유용성에 대한 평가는 국내에서 아직 보고된 바 없다.

본 연구는 CLSI 지침에 따라 ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer의 정밀도, 직선성, 검체 간 교차오염률을 알아보고, National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)에 의해 인증된 BioRad Variant II Turbo (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA)와의 상관성을 평가하였다.

대상 및 방법

1. 장비 및 시약

ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer와 Variant II Turbo를 이용하였고, 모두 제조사 전용 시약을 사용하였다. 검사는 각 제조회사의 지침에 따라 시행되었다.

2. 방법

1) 정밀도(Precision)

Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) EP5-A [7]에 따라 20일에 걸쳐 오전과 오후 매 검사마다 높은 농도와 낮은 농도의 Lyphochek Diabetes Control (Bio-Rad Laboratories, Irvine, USA)을 2회 반복 측정하였다. 평균(mean), 총 표준편차(total standard deviation), 총 변이계수(total CV), 검사 간 변이계수(between-run CV) 및 검사일 간 변이계수(between-day CV)를 계산하였다. Lyphochek Diabetes Control의 제조사의 목표값 범위(insert target range)는 낮은 농도 물질은 4.6-6.0%였고, 높은 농도 물질은 9.0-11.0%였다.

2) 상관성(Comparison)

상관성은 CLSI EP9-A2에 따라 분석하였다[8]. 충남대학교병원 외래, 건강검진, 입원환자에게 HbA_{1c}검사가 의뢰된 EDTA 신선 전혈 검체 중 기존 Variant II Turbo로 측정된 값을 기준으로 HbA_{1c} 값이 4.8-11.8%에 걸쳐 고르게 분포하도록 150검체를 선별하였다. ARKRAY ADAMDS HA 8180과 Variant II Turbo로 2시간 안에 2회 반복 측정하여 단순선형 회귀분석으로 상관성을 평가하였다.

3) 직선성(Linearity)

직선성은 CLSI EP6-A에 따라 평가하였다[9]. 한정된 기간 동안 초고농도의 환자 검체를 구하기 어려워 Lyphochek Hemoglobin A_{1c} Linearity Set (Bio-Rad Laboratories, Irvine, USA) level 1 (target value: 3.10%)과 4 (target value: 19.0%)를 사용하여 4:0 (계산치: 3.10%), 3:1 (7.07%), 2:2 (11.05%), 1:3 (15.02%), 0:4 (19.0%)의 비율로 혼합하였다. 5가지 단계의 농도를 제조한 후 각각 4회 반복 측정 후 계산치와 측정치 간의 회귀방정식과 결정계수(R²)를 구하였다.

4) 검체 간 교차오염률

4.5%의 저농도와 11.6%의 고농도의 환자 검체를 고농도 검체부터 4회 반복 검사(H1, H2, H3, H4)하고 저농도 검체를 4회(L1, L2, L3, L4) 반복 검사한 후 아래의 식에 의해 교차오염률을 산출하였다.

$$\text{검체 간 교차오염률} = \frac{L1-(L3+L4)/2}{(H2+H3)/2-(L3+L4)/2}$$

5) 통계분석

통계분석은 Analyse-it (Microsoft, Leeds, United Kingdom) 프로그램을 사용하였다.

결 과

1. 정밀도(Precision)

총변이계수, 검사 간 변이계수 및 검사일 간 변이계수는 Table 1에 명시하였다.

2. 상관성(Correlation)

ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer와 Variant II Turbo로 동시에 중복 측정된 결과로 단순선형 회귀분석에서 기울기 1.02, 절편 -0.03 그리고 상관계수 R²=0.994로 나타났다(Fig. 1). Variant II Turbo에 대한 평균변이는 0.15±0.14% (평균±표준편차)였고(Fig. 1B, C), 95% 신뢰구간 내에 들었다(0.14-0.43%).

3. 직선성(Linearity)

ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer를 이용해 낮은 농도와 높은 농도의 관리 물질로 조제한 5가지 농도의 검체를 4회

Table 1. Precision of HbA_{1c} measurement of ARKRAY ADAMDS HA-8180

Level	Mean (%)	Total SD (%)	Total CV (%)	Between-run CV (%)	Between-day CV (%)
Low	5.31	0.04	0.7	0	0.3
High	9.53	0.05	0.5	0.3	0.2

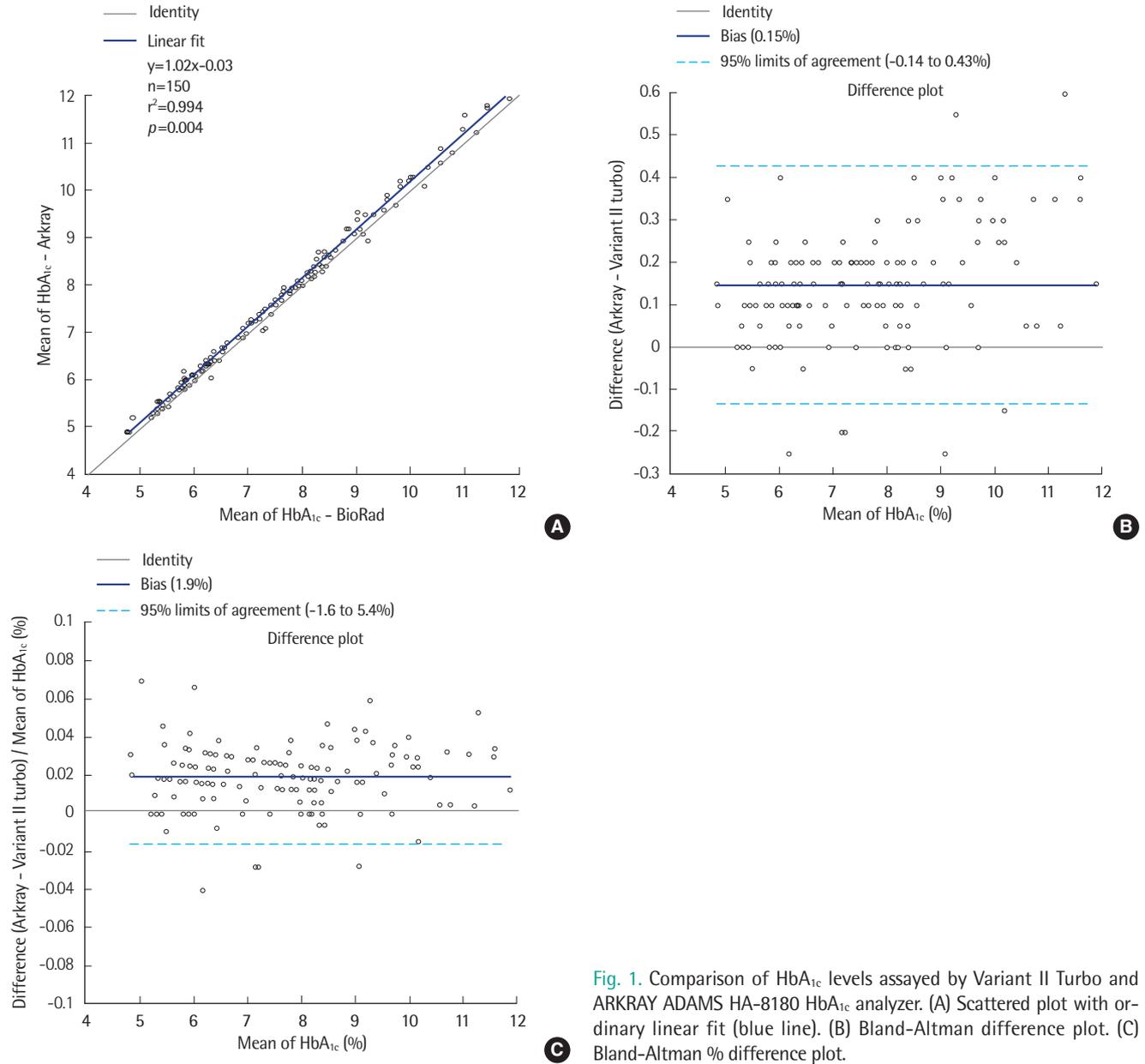


Fig. 1. Comparison of HbA_{1c} levels assayed by Variant II Turbo and ARKRAY ADAMS HA-8180 HbA_{1c} analyzer. (A) Scattered plot with ordinary linear fit (blue line). (B) Bland-Altman difference plot. (C) Bland-Altman % difference plot.

반복 측정된 결과 3.10-19.0%의 HbA_{1c} 농도 범위에서 R² = 0.99의 직선성을 보였다(Fig. 2).

4. 검체 간 교차오염률

HbA_{1c}의 고농도와 저농도 간 교차오염률은 0%였다.

고 찰

우리나라는 2003년에 20세 이상 성인의 약 6.4%가 당뇨병을 갖고 있다고 보고되었고[10], 2003년의 성별-연령군별 유병률이 계속 유지된다고 가정하면, 2010년 351만 명(통계청 추계 전 인구의

7.08%, 2020년 455만 명(8.97%), 2030년 545만 명(10.85%)으로 급격히 증가할 것으로 예상된다[11]. 당뇨병으로 인한 미세혈관 혹은 대혈관합병증은 당뇨병 발현 이전의 내당력 장애 상태에서도 시작될 수 있음이 규명되어 당뇨병의 조기진단은 더욱 중요하게 인식되고 있다[2]. 당뇨병 진단을 위한 경구포도당부하 검사는 가장 확실한 방법이나 비용 및 편리성 등의 문제로 일반 인구집단을 대상으로 사용하기에는 부적합하여[12], 공복 혈당치가 당뇨병을 진단하는 기준으로 많이 사용되어 왔다[13]. 그러나 두 방법 모두 금식이 필요하다라는 점이 당뇨병 진단의 어려움 중 하나였다. 이에 과거 1-3개월 동안의 혈당 수준을 나타내 주는 지표인 HbA_{1c}가 최근 측정방법의 표준화에 있어 많은 개선이 있었고, 공복혈당보다 만성

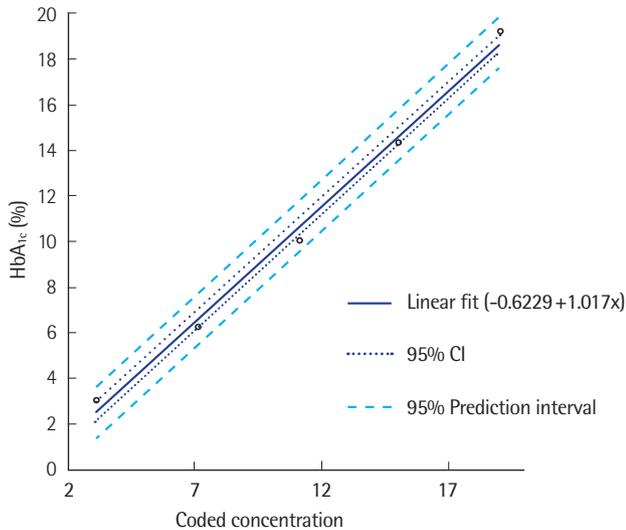


Fig. 2. Linearity of HbA_{1c} values using ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer.

합병증과 더 밀접하게 관련되어 있으며, 공복상태와 무관하게 검사할 수 있는 장점을 가지고 있음이 보고됨에 따라 최근 당뇨병 진단 기준에 포함되었다[14]. 따라서 HbA_{1c}의 임상 적용이 증가할 것으로 예상됨에 따라 정확하고 재현성 있는 HbA_{1c}의 결과값을 보고하는 것이 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다.

HbA_{1c}는 NGSP에 의해 인증되고 diabetes control and complications trial (DCCT) 표준분석법으로 측정되어야 한다[15]. 대표적인 HbA_{1c}의 표준화 방법은 NGSP법과 International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)법이 있다. NGSP법은 Bio-Rex 70 레진을 사용한 이온교환 HPLC법에서 HbA_{1c} 피크를 측정하는 방법이고, IFCC법의 기준 검사법은 HPLC/MS (HPLC/Mass spectrometry)와 HPLC/CE (HPLC/Capillary Electrophoresis)이다[16]. 현재 국내에서는 주로 NGSP법에 의해 검사결과(단위: %)가 보고되고 있다[6].

본 연구에서 저자들은 이온교환 HPLC법을 사용하는 ARKRAY ADAMDS HA-8180 기기의 분석 능력을 평가하고 기존 검사실에서 많이 사용되는 Variant II Turbo 기기와의 상관성 평가를 실시하고자 하였다[17]. 결과에 따르면 검사 간 및 검사일 간 변이계수가 모두 0.5% 이하로 매우 낮은 결과로 정밀도가 우수하였다. Variant II Turbo의 제조사에서 제공하는 검사 간 및 검사일 간 정밀도는 정상인에서 0.66%와 0.53%, 그리고 당뇨병환자에서 0.69%와 0.45%로 각각 나타났으며, Cobas Integra 800의 고농도와 저농도의 검사 내 변이계수는 각각 0.9%, 1.12%로 보고되어[18], ARKRAY ADAMDS HA-8180 기기의 정밀도가 더 우수함을 알 수 있다. 또한 ARKRAY 이전 모델인 HA-8160에 대한 평가에서 검사 간 변이계수는 저농도, 고농도에서 각각 0.6%, 0.6%로 나타나[19], ARKRAY

ADAMDS HA-8180 기기의 정밀도에 개선이 있음을 알 수 있다. 직선성은 3.1-19.3%의 HbA_{1c} 농도 범위에서 R²=0.99를 보였고, 검체 간 교차오염률은 0%로 나타났다. 기존의 Variant II Turbo와의 비교검사에서도 R²=0.994의 만족스러운 상관성을 나타내었다. 그러나 Hb 변이형에 의해 HbA_{1c}의 결과가 영향을 받을 수 있으며, 특히 이온교환 HPLC법이나 전기영동법으로 검사했을 때 Hb 변이형은 HbA, HbA_{1c}와 같이 용출되거나 이동할 경우 HbA_{1c} 검사 결과에 영향을 줄 수 있다는 것을 숙지하고 있어야 한다[20].

결론적으로, ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer는 HbA_{1c} 측정에 있어서 우수한 정밀도와 직선성 및 검체 간 오염도와 Variant II Turbo와의 높은 상관도를 나타내어 임상 검사실에서 매우 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

요 약

배경: HbA_{1c}는 당뇨조절에 통상적으로 사용되어 왔다. 2010년 미국당뇨병협회에서는 HbA_{1c}를 당뇨의 선별검사의 항목으로 추가시켰다. 최근 새롭게 개발된 ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer (ARKRAY KDK, Japan)가 소개되었다. 이에 본 연구에서는 ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer를 이용한 HbA_{1c}의 측정 수행능을 평가하였다.

방법: CLSI EP5-A에 따라 Lyphochek Diabetes Control (Bio-Rad Laboratories, USA)을 사용하여 정밀도를 평가하였다. 2가지 농도(저농도 그리고 고농도)의 정도관리 물질을 20일에 걸쳐 하루에 2회씩 매 검사마다 반복 측정하였으며 평균, 총표준편차, 총변이계수, 검사 간 그리고 검사일 간 변이계수가 측정되었다. 총 150검체에 대해 ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer와 Variant II Turbo (Bio-Rad Laboratories, USA)의 HbA_{1c} 측정값을 비교하여 상관성을 평가하였으며, CLSI EP9-A2에 따라 변이를 결정하였다. 또한 직선성과 검체 간 교차오염률을 평가하였다.

결과: ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer의 HbA_{1c} 측정 정밀도는 고농도에서의 총변이계수, 검사 간 변이계수, 검사일 간 변이계수는 각각 0.7%, 0.0%, 0.3%였으며 저농도에서 총변이계수, 검사 간 변이계수, 검사일 간 변이계수는 각각 0.5%, 0.3%, 0.2%로 나타났다. 직선성은 3.1-19.3% 범위에서 R²=0.99로 나타났다. Variant II Turbo와도 상관성은 매우 높았다(R²=0.994). 검체 간 교차오염률은 0%로 나타났다.

결론: ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer는 우수한 정밀도, 직선성 및 검체 간 교차오염률을 나타냈다. 또한 NGSP 인증된 Variant II Turbo 기기와 우수한 상관성을 나타내었다. 결론적으로, ARKRAY ADAMDS HA-8180 HbA_{1c} analyzer는 HbA_{1c} 측정에 있어 신뢰할 수 있는 HPLC 장비로 당뇨병의 진단, 추적감시 그리고 위

험도 측정에 있어 유용할 것이라고 생각한다.

참고문헌

- Peterson KP, Pavlovich JG, Goldstein D, Little R, England J, Peterson CM. What is hemoglobin A_{1c}? An analysis of glycosylated hemoglobins by electrospray ionization mass spectrometry. *Clin Chem* 1998;44:1951-8.
- Sung YA. HbA_{1c} for diagnosis of type 2 diabetes in Korea. *Korean J Med* 2011;80:288-90.
- Little RR, Rohifing CL, Tennill AL, Connolly S, Hanson S. Effects of sample storage conditions on glycosylated hemoglobin measurement: evaluation of five different high performance liquid chromatography methods. *Diabetes Technol Ther* 2007;9:36-42.
- Tapp RJ, Tikellis G, Wong TY, Harper CA, Zimmet PZ, Shaw JE, et al. Longitudinal association of glucose metabolism with retinopathy: results from the Australian Diabetes Obesity and Lifestyle (AusDiab) study. *Diabetes Care* 2008;31:1349-54.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2010. *Diabetes Care* 2010;33(S1):S11-61.
- Kim T, Kim S, Chang HE, Song SH, Park KU, Song J, et al. Performance evaluation of HbA_{1c} test on the Toshiba 200FR NEO using AutoLab HbA_{1c} reagent. *J Lab Med Qual Assur* 2010;32:217-23.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline. 2nd ed. CLSI document EP5-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. 2nd edition. CLSI document EP9-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach. Approved guideline. CLSI document EP6-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
- International Diabetes Federation: Diabetes Atlas. 2nd ed. Belgium: International Diabetes Federation, 2003:17-71.
- Park IB and Baik SH. Epidemiologic characteristics of diabetes mellitus in Korea: Current status of diabetic patients using Korean health insurance database. *Korean Diabetes J* 2009;33:357-62.
- American Diabetes Association. Screening for type2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(S1):S11-4.
- Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
- Yun WJ, Shin MH, Kweon SS, Park KS, Lee YH, Nam HS, et al. A comparison of fasting glucose and HbA_{1c} for the diagnosis of diabetes mellitus among Korean adults. *J Prev Med Public Health* 2010;43:451-4.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33(S1):S62-9.
- Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA_{1c} in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.
- Song J, Kwon KC, Kim JH, Kim JW, Min WK, Lee SY, et al. Annual report on external quality assessment in metabolic disorders in Korea (2009). *J Lab Med Qual Assur* 2010;32:131-46.
- Park HD, Kim HJ, Kim MS, Lee SY, Kim JW. Evaluation of hemoglobin A_{1c} on the Cobas Integra 800 immunoassay and Tosoh HLC-723 G8 HPLC analyzer. *J Lab Med Qual Assur* 2009;31:239-46.
- Thevarajah TM, Nani N, Chew YY. Performance evaluation of the Arkray Adams HA-8160 HbA_{1c} analyser. *Malays J Pathol* 2008;30:81-6.
- Sofronescu AG, Williams LM, Andrews DM, Zhu Y. Unexpected hemoglobin A_{1c} results. *Clin Chem* 2011;57:153-6.