



HbA_{1c} 측정을 위한 HLC-723 G11 장비의 분석적 성능 평가

Evaluation of Analytical Performance of an Automated Glycated Hemoglobin Analyzer, HLC-723 G11

정유나 · 윤승규 · 조윤정

Yoo Na Chung, M.D., Seung Gyu Yun, M.D., Yujung Cho, M.D.

고려대학교 안암병원 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Korea University Anam Hospital, Seoul, Korea

Background: Glycated hemoglobin (HbA_{1c}) is a key biomarker for the monitoring of glycemic balance in patients with diabetes. The aim of this study was to evaluate the performance of a new system, the Tosoh HLC-723 G11 analyzer (Tosoh Corporation, Japan), compared to that of two routine diagnostic testing systems, Tosoh G8 (Tosoh Corporation) and Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia, France).

Methods: Tosoh G11 was evaluated for precision, linearity, and carry-over, according to the Clinical and Laboratory Standard Institute's guidelines. Test results from clinical samples were compared between Tosoh G11 and the routine testing systems, Tosoh G8 and Capillarys 2 Flex Piercing.

Results: With respect to the precision of Tosoh G11, the test results for low- and high-concentration controls showed a coefficient of variation of less than 1.1%. Furthermore, the new device exhibited good linearity for HbA_{1c} values ranging from 3.4% to 18.8%, and carry-over was not observed. HbA_{1c} results for Tosoh G11 (N=143) correlated well with those for Tosoh G8 ($r=0.9971$) and Capillarys 2 Flex Piercing ($r=0.9918$).

Conclusions: Tosoh G11 demonstrated reliable analytical performance with good precision and linearity, and no carry-over results. In addition, its results were comparable to those of the existing instruments. Thus, the results of this evaluation suggest that Tosoh G11 is suitable for the routine diagnostic testing of HbA_{1c} levels in clinical chemistry laboratories.

Key Words: Hemoglobin A_{1c}, Tosoh G11, Analytical performance

서론

전 세계적으로 당뇨병의 유병률은 지속적으로 증가하고 있다. 우리 나라도 식습관의 서구화와 사회경제적인 발전에 따라 당뇨병 및 만성 질환자가 지속적인 증가 추세에 있다. 실제로 질병관리본부에서 2007년에서 2010년까지 시행한 국민영양조사 자료에 의하면 당뇨병의 유병률은 10.1%, 당뇨병 전 단계의 유병률은 19.9%이

었고, 미래의 우리나라 당뇨병환자 수는 점점 늘어나 2050년도에는 약 600만명에 도달할 것으로 추정하였다[1]. 당뇨병의 진단에는 전통적으로 공복혈당검사 또는 경구 당 부하 검사가 사용되었다[2]. 당화혈색소(glycated hemoglobin, HbA_{1c})는 검사 시행 전 금식이 필요 없는 검사이면서, 2010년부터 미국 당뇨 협회(American Diabetes Association, ADA)에서도 당뇨병의 진단 기준에 추가됨으로써 진단적 가치가 확인 되었다[3]. 당화혈색소는 최근 약 3개월간의 평균 혈당치를 반영하기 때문에 당뇨병의 진단만이 아니라 치료효과 판정 및 모니터링에 중요한 역할을 하는 검사이다[2]. 또한 기존의 두 검사보다 지속적인 고혈당을 반영하며, 만성 부작용의 예측에 있어서 연관성이 높은 것으로 알려져 있다. 검사 전 안정성에 대한 결과도 기존 검사 대비 높으며 생물학적 변동성 또한 낮은 것으로 보고 되었다. 그러나 급성 고혈당과 당뇨병 초기 단계에서는 민감도가 떨어지는 단점이 있으며, 이상 혈색소증(hemoglobinopathy)을 가진 환자에서도 검사결과의 정확도가 저하된다고 보고되어 있다[2].

현재 사용 중인 당화혈색소 검사법의 원리는 ion-exchange high-performance liquid chromatography (HPLC), capillary electro-

Corresponding author: Seung Gyu Yun, M.D.

<https://orcid.org/0000-0002-9915-9681>

Department of Laboratory Medicine, Korea University College of Medicine, 73 Incheon-ro, Seongbuk-gu, Seoul 02841, Korea

Tel: +82-2-920-5905, Fax: +82-2-920-5538, E-mail: koryun@korea.ac.kr

Received: November 21, 2018

Revision received: April 1, 2019

Accepted: August 19, 2019

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

© 2020, 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/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

phoresis, affinity chromatography, immunoassay, enzymatic assay 등으로 분류할 수 있다[4]. 최근 개발된 Tosoh HLC-723 G11 analyzer (Tosoh Corporation, Tokyo, Japan)는 이온교환 HPLC법을 이용하는 당화혈색소 자동분석장비로 이에 대한 분석적 성능에 대한 평가는 국내에 아직 보고되지 않았다. 따라서, 본 연구에서는 Tosoh G11 analyzer에 대한 정밀도, 직선성, 교차오염도를 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 지침에 따라 분석하고, 기준 방법(comparative method)은 운영중인 HLC-723 Tosoh G8 analyzer (Tosoh Corporation)와 모세관 전기영동 방식을 사용하는 Sebia Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia, Lisses, France)와의 비교를 통해 장비의 유용성을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 장비 및 시약

당화혈색소는 Tosoh HLC-723 G11 analyzer, Tosoh HLC-723 G8 analyzer, 그리고 Capillarys 2 Flex Piercing 장비를 사용하여 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 전혈 검체를 이용하여 측정하였다. 측정은 각 제조회사의 지침에 따라서 수행하였으며, 연구기간 동안은 각 제조사에서 권장하는 같은 로트의 시약과 컬럼을 사용하여 진행하였다.

새로 개발된 Tosoh G11 analyzer는 이온교환 HPLC 원리를 이용하는 자동화된 당화혈색소 검사 장비로, 최소 검체 요구량은 EDTA 전혈의 경우 3 µL가 필요하며, 희석 검체인 경우는 150 µL를 요구한다. 10개의 검체가 하나의 rack을 구성하며 기종에 따라 총 9개 또는 29개 rack을 동시에 수용할 수 있다. 당화혈색소의 검사 소요 시간은 본 연구에 사용한 standard mode인 경우 최초 검체는 60 초, 이후 검체부터는 30초가 소요됨에 따라 시간 당 최대 120검체의 검사가 가능하다. 분리된 혈색소를 415 nm 흡광도에서 측정하여 NGSP 단위(%) 또는 IFCC단위(mmol/mol)로 보고하며, 이번 연구에 비교방법으로 사용한 장비들처럼, Tosoh G11 analyzer도 당화혈색소 측정의 소급성(traceability)을 National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)에 의해서 인증을 받았다[5].

2. 정밀도(Precision) 평가

정밀도 평가는 CLSI EP5-A3 지침에 따라 수행하였다[6]. Tosoh사에서 제공하는 저농도($5.0 \pm 0.3\%$)와 고농도($9.8 \pm 0.5\%$)의 정도관리물질 Bioscience Hemoglobin A1c Control (Tosoh Corporation, Lot No. AB6010)을 이용하여 하루에 2회씩 반복 측정하여 20일간 진행하여 평가하였다. 측정된 결과를 바탕으로 반복정밀도(repeatability), 검사일간 비정밀도(between-day imprecision)와 검사기기내 비정밀도(within-device imprecision)를 산출하였다.

3. 직선성(Linearity) 평가

직선성 평가는 상품화된 6개 농도의 직선성 평가물질인 Lyphochek Hemoglobin A1c Linearity Set (Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA, USA)를 사용하여 CLSI EP06-A에서 제시한 방법을 참고하여 시행하였다[7]. 각 농도의 물질은 2회씩 반복하여 측정하였으며, 기대 값(assigned value)을 기준으로 측정값에 대한 선형적합성과 방향적합성을 계산하여 평가하였다. 당화혈색소의 생물학적 변이를 고려한 바이어스 기준인 3%를 비직선성의 기준으로 적용하여 측정값을 평가하였다. 추가적으로 기대 값과 평균측정값을 비교하여 회수율을 계산하였다.

4. 검체 간 교차 오염도(Carryover)

고농도 검체와 저농도 검체를 4회 연속 측정하여 다음 수식을 이용하여 교차오염도를 계산하였으며, 1.0%를 기준으로 평가하였다. $\text{Carryover (\%)} = [L1 - (L3 + L4)/2] / [(H2 + H3)/2 - (L3 + L4)/2] \times 100$

5. 검사법 비교(Method comparison)

검사법 비교 평가는 CLSI EP09-A3 지침을 참고하여 수행하였다[8]. 2017년 1월부터 2월까지 당화혈색소검사를 시행하고 남은 잔여 검체 중에서, 총 142개의 EDTA 검체를 무작위로 선정하여, 비교방법으로 사용한 Tosoh G8 analyzer와 Sebia capillarys 2 장비로 측정하면서, 비교 방법인 Tosoh G11 analyzer 장비로도 곧바로 측정하였다. Passing and Bablok 회귀분석으로 상관계수(coefficient of correlation, r)와 각각의 선형회귀식을 계산하였다. NGSP 기준에 따라서, 전 당뇨병(pre-diabetes)과 당뇨병의 진단기준이 되는 농도인 5.8%, 6.4%와 당뇨병 치료에서 목표가 되는 농도인 7%, 치료변경을 고려해야 하는 농도인 8%를 모두 합쳐, 4가지 의학적 결정 농도(medical decision level)로 정하였다. 선형회귀식을 사용하여 각 농도에서 Tosoh G11 analyzer의 측정 %바이어스를 계산하였으며, 허용 기준은 생물학적 변이를 고려하여 3%로 정하여 평가하였다[9].

6. 통계 분석

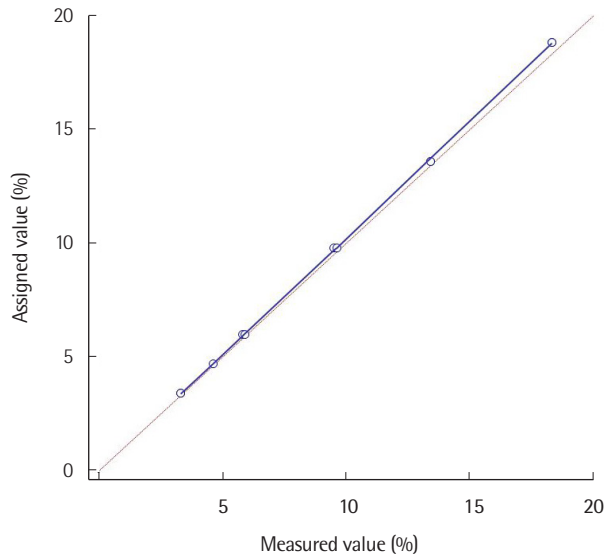
통계 분석은 Microsoft Excel (Microsoft Corporation, WA, USA)을 사용하여 검체 간 교차오염률을 계산하였으며, Analyse-it version 5.20 (Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK)을 사용하여 정밀도, 직선성, 검사법 비교를 분석하였다.

결 과

반복정밀도, 검사일간, 검사기기내 비정밀도의 변이계수는 저농도에서는 0.65%-1.10%이었고, 고농도에서는 0.58%-0.71%이었다

Table 1. Precision of the Tosoh HLC-723 G11 analyzer

| Level | Mean HbA _{1c} (%) | Coefficient of variation (%) | | |
|-------|----------------------------|------------------------------|-------------|---------------|
| | | Repeatability | Between-day | Within-device |
| Low | 4.86 | 0.89 | 0.65 | 1.10 |
| High | 9.70 | 0.58 | 0.70 | 0.71 |

**Fig. 1.** Linearity of Tosoh HLC-723 G11 analyzer ($Y=0.9768X+0.001182$, $R=0.999$). The Solid line represents linear regression of the measured values and the dotted line is an equality line.

(Table 1). Tosoh G11 analyzer는 ADA와 International Diabetes Federation (IDF)에 따른 권고 사항인 변이계수 2% 미만을 만족하는 것을 관찰하였다[10]. 6개 농도의 직선성 평가 물질의 범위(3.4-18.8%)는 제조사에서 제시하는 측정가능범위(2.6-19.2%)를 평가하는데 충분하였다. 또한 직선성 평가 결과 Tosoh G11 analyzer의 당화혈색소의 직선성이 확인되었다(Fig. 1, Table 2). 또한 회수율도 모든 측정농도에서 96.7%-98.5% 사이에서 관찰되었다(Table 2). Tosoh G11에서 측정된 결과와 기준 방법인 Tosoh G8 analyzer와 Sebia Capillarys 2에서 측정된 결과와의 상관성을 평가한 결과, 선형회귀식은 $Tosoh\ G11=1.0$ (95% 신뢰구간: 1.0 부터 1.0) \times $Tosoh\ G8 - 0.1$ (95% 신뢰구간: -0.1 부터 -0.1), $Tosoh\ G11=1.0$ (95% 신뢰구간: 0.9492 부터 1.0) \times $Sebia\ Capillarys\ 2 + 6.2172499E-15$ (95% 신뢰구간: 0.00 부터 0.3051)였고, 상관계수(R)는 각각 0.997, 0.992 였다(Fig. 2). Bland-Altman difference plot으로 확인한 비교방법들과 Tosoh G11의 결과값 차이의 평균은 -0.09 (Tosoh G11 vs. G8)와 -0.02 (Tosoh G11 vs. Sebia capillarys 2)였다(Fig. 2). 또한 4가지 임상결정농도에서도 측정값의 %바이어스가 3% 이내로 확인되어, 평가기준을 만족시켰다(Table 3).

고농도 물질 측정 후에, 4회 연속 측정한 저농도 물질 측정값이

Table 2. Nonlinearity and recovery of the Tosoh HLC-723 G11 analyzer using the commercial HbA_{1c} linearity material set

| Level | Assigned value (%) | Linear fit | Nonlinear fit | Nonlinearity (%) | Mean of measured values (%) | Recovery (%) |
|-------|--------------------|------------|---------------|------------------|-----------------------------|--------------|
| 1 | 3.4 | 3.32 | 3.33 | 0.2 | 3.3 | 97.1 |
| 2 | 4.7 | 4.59 | 4.57 | -0.5 | 4.6 | 97.9 |
| 3 | 6.0 | 5.86 | 5.83 | -0.5 | 5.8 | 96.7 |
| 4 | 9.8 | 9.57 | 9.60 | 0.2 | 9.5 | 96.9 |
| 5 | 13.6 | 13.29 | 13.37 | 0.6 | 13.4 | 98.5 |
| 6 | 18.8 | 18.36 | 18.30 | -0.3 | 18.3 | 97.3 |

Table 3. Comparison of HbA_{1c} values measured by the Tosoh HLC-723 G11 analyzer, Tosoh HLC-723 G8 analyzer, and Capillarys 2 Flex Piercing at four medical decision levels

| Instruments | Medical decision level (%) | Expected value (%) | Bias (%) | Allowable bias (%) | Interpretation |
|----------------------------------|----------------------------|--------------------|----------|--------------------|----------------|
| Tosoh G11 vs. Tosoh G8 | 5.8 | 5.7 | 1.7 | 3 | Acceptable |
| | 6.4 | 6.3 | 1.5 | | Acceptable |
| | 7.0 | 6.9 | 1.4 | | Acceptable |
| | 8.0 | 7.9 | 1.3 | | Acceptable |
| Tosoh G11 vs. Sebia Capillarys 2 | 5.8 | 5.8 | 0.0 | 3 | Acceptable |
| | 6.4 | 6.4 | 0.0 | | Acceptable |
| | 7.0 | 7.0 | 0.0 | | Acceptable |
| | 8.0 | 8.0 | 0.0 | | Acceptable |

모두 동일 하였으며(4.4%), 계산한 Tosoh G11의 교차 오염률은 0%로, 검체 간 교차오염은 관찰되지 않았다.

고 찰

본 연구에서 Tosoh G11 analyzer의 분석능력을 평가하고, 사용 중인 장비인 Tosoh G8 analyzer와 Sebia Capillarys 2를 비교방법으로 설정하여 상관성을 검증하였다. Tosoh G11의 정밀도 평가에서는 반복성의 변이계수는 저농도는 0.89%, 고농도에서는 0.58%였고, 검사일간 변이계수는 저농도 0.65%, 고농도에서는 0.70%로 측정되고, 검사기내 변이계수는 저농도 1.10%, 고농도 0.71%로 측정되어 모든 정밀도의 변이계수는 ADA와 IDF의 임상검사지침에서 권장하는 변이계수 2.0% 미만을 충족하여 우수한 것으로 판단하였다(Table 1)[11]. 같은 회사의 이전 장비인 Tosoh G8 analyzer를 대상으로 한 연구에서도 검사기내 변이계수가 저농도에서 1.28%, 고농도에서 0.80%로 보고된 바 있어, Tosoh G11 analyzer의 정밀도는 우수한 것으로 판단하였다[12]. 비교 장비로 사용된 Capillarys 2 Flex Piercing의 경우 저농도에서 1.98%, 고농도에서 1.51%로 보고된 바 있어, 앞선 두 장비에 비해 상대적으로 변이계수는 높지만 ADA와 IDF의 임상검사지침은 만족시키는 결과를 보

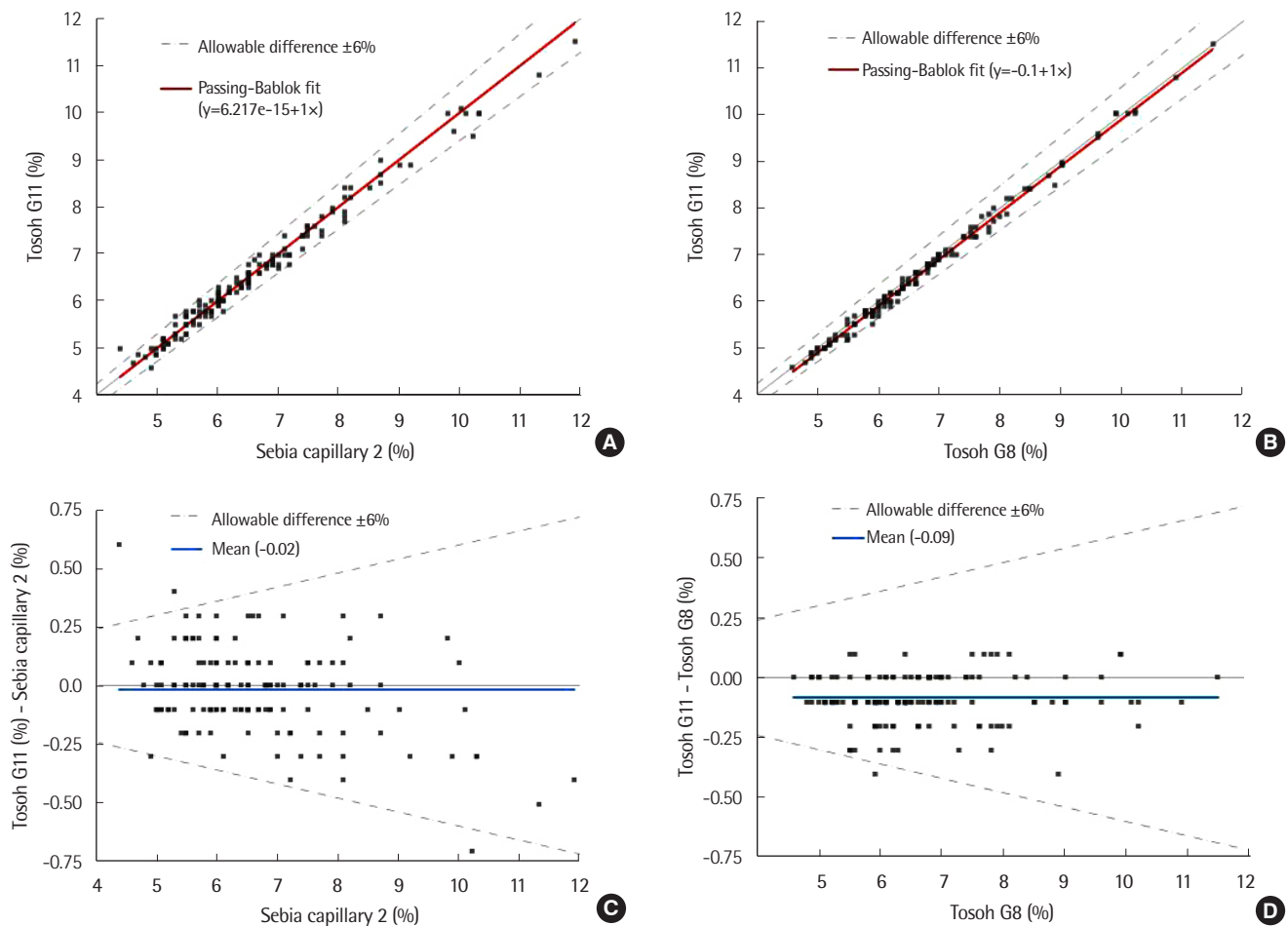


Fig. 2. Comparison of HbA_{1c} values measured by the Tosoh HLC-723 G11 analyzer (tested instrument), Tosoh HLC-723 G8 analyzer (comparative instrument) and Capillars 2 Flex Piercing (comparative instrument). A Passing and Bablok regression plot for Tosoh G11 and Sebia capillars 2 (A) and for Tosoh G11 and Tosoh G8 (B). Bland-Altman difference plot for Tosoh G11 and Sebia capillars 2 (C) and for Tosoh G11 and Tosoh G8 (D).

였다[13].

직선성 평가에서는 제조사의 측정가능범위(2.6-19.2%)를 검증하기 위해서 6가지 농도로 구성된 직선성 평가물질로 확인한 결과, Tosoh G11 analyzer는 3.4%-18.8% 구간에서의 측정값의 비직선성이 1% 미만으로 우수한 결과를 보였으며, 회수율(%)도 기준값 대비 3.3% 이내의 차이를 보여, 우수한 직선성을 보이는 것으로 판단하였다(Fig. 1, Table 2). 이는 현재 국내에서 사용되고 있는 당화혈색소 측정 방법들의 직선성 범위와 비슷한 결과를 보이는 것으로 확인되었다[11, 14].

Tosoh G11에서 측정된 결과와 비교방법으로 설정한 검사장비인 Tosoh G8과 Capillars 2 Flex Piercing에서 측정된 결과 간의 상관성 분석 결과 상관계수는 각각 0.997, 0.992로 우수한 상관성을 보여주었다. Bland-Altman difference plot으로 확인한 Tosoh G11 analyzer와 비교방법들과의 허용 결과값 평균은 -0.09% (Tosoh G8 vs. Tosoh G11)와 -0.02% (Tosoh G11 vs. Sebia capillars 2)로

매우 낮은 수준이었다. 허용오차범위 6%를 적용하여 확인한 결과 Tosoh G8 analyzer를 기준으로 비교했을 때는 단 1개의 검체에서만 오차범위를 벗어난 결과를 보였지만, Capillars 2 Flex Piercing과의 비교에서는 4개의 검체에서 오차범위를 벗어난 것으로 확인되었다. 또한 전체적인 분포에서도 Capillars 2 Flex Piercing과의 비교에서 차이 값의 표준오차가 큰 것으로 확인되었다. 이러한 현상의 원인으로는 Tosoh G11 analyzer와 Tosoh G8 analyzer는 같은 보정물질(calibrator)을 사용하는 것에 반해, 제조사가 다른 Capillars 2 Flex Piercing의 경우 보정물질이 달라짐에 따라 발생할 수 있는 표준물질과의 소급성(traceability) 때문으로 추정된다. 또한 당화혈색소의 측정 원리가 Tosoh G11 analyzer와 Tosoh G8 analyzer는 이온교환 HPLC 방법을 사용함에 반해, Capillars 2 Flex Piercing은 모세관 전기영동 기반이기 때문에 발생한 것으로 생각하였다. 하지만 추가적으로 확인한 4가지 임상 결정 농도에서의 허용오차는 기준인 3%를 모두 만족하고 있기 때문에, 임상 의사의 중

요한 의사결정에 미치는 영향은 적을 것으로 생각된다.

본 연구는 Tosoh G11 analyzer의 이상혈색소증에 대한 간섭 효과를 평가하지 못했다는 제한점이 있다. 우리나라에서 흔히 발견되는 헤모글로빈 변이로는 Hemoglobin G-Coushatta, Hemoglobin Yamagata, Hemoglobin Chad, Hemoglobin Fort de France 등이 알려져 있다[15]. Lee 등의 연구에서는 한국인에서 흔히 발견되는 헤모글로빈 변이가 D-100에서 당화혈색소 결과에 미치는 영향을 평가한 결과 Hemoglobin Yamagata를 제외한 변이에서 거의 영향이 미미한 것으로 나타났다[11]. 아직 Tosoh G11을 이용한 한국인의 고빈도 헤모글로빈 변이에 대한 연구는 없으므로, 이상혈색소증의 간섭 효과에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다. 위의 제한점에도 불구하고 Tosoh G11의 당화혈색소의 분석 성능 평가를 통해 우수한 정밀도와 넓은 측정 가능한 범위에서 직선성을 확인하였다는 점에서 의의가 있다. 또한 기존 장비인 Tosoh G8은 한 시간에 최대 60검체를 처리할 수 있지만 Tosoh G11은 최초 60초, 이후 검체부터는 30초가 소요됨에 따라, 한 시간에 120검체를 처리할 수 있다. Sebia Capillarys 2는 capillary electrophoresis 원리를 이용함에 따라 최초 보고까지 비교적 긴 20분이 소요되며, 이후 한 시간에 최대 40검체의 처리능력이 있어, 대량의 검체를 처리하는 경우에는 제한점이 있다[16].

결론적으로 Tosoh G11 analyzer는 기존 방법인 Tosoh G8 analyzer와 Capillarys 2 Flex Piercing과도 우수한 상관성이 확인되어, 기존의 장비를 대체할 만한 충분한 성능을 보여주었으며, 또한 증가된 검체 처리 능력의 장점이 있어 대형 병원에서 당뇨병의 진단 치료 및 합병증 예방을 위한 추적 관찰을 위한 당화혈색소 측정에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

배경: 헤모글로빈 당화혈색소는 당뇨의 진단과 치료 및 추적 관찰에 유용한 지표로서 표준화된 검사법에 의한 정확한 검사 결과가 필수적이다. 본 연구에서는 고성능 액체크로마토그래피법(HPLC)을 이용하여 당화혈색소를 측정하는 장비인 Tosoh HLC-723 G11 analyzer (Tosoh Corporation, Japan)의 분석 성능을 평가하고자 하였다.

방법: Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)의 지침을 참고하여 Tosoh G11의 정밀도, 직선성 및 검체 간 교차오염률을 평가하였다. 그리고 임상검체를 이용하여 기존 장비인 Tosoh G8 (Tosoh Corporation)과 Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia, France)과의 상관성을 평가하였다.

결과: Tosoh G11을 사용한 당화혈색소 측정의 검사 간 변이계수와 검사일간 변이계수는 모두 1.1% 미만이었다. 직선성은 당화혈색

소 3.4-18.8% 범위에서 우수하였고 검체 간 교차 오염률은 관찰되지 않았다. Tosoh G11의 Tosoh G8과 Capillarys 2 Flex Piercing과의 상관성 평가(N=143)에서 상관계수는 각각 0.9971, 0.9918로 우수한 상관성을 보여주었다.

결론: Tosoh G11은 우수한 정밀도와 직선성 및 비교방법과의 비교에서 우수한 상관성을 보여주었다. 따라서 Tosoh G11은 검사실에서 당뇨병의 진단과 치료 및 당뇨 합병증의 예방을 위한 추적 관찰에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

본 연구는 엘리어헬스케어(주)의 연구비 지원을 받아 수행하였습니다.

REFERENCES

1. Korean Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes fact sheet in Korea 2012. http://www.diabetes.or.kr/temp/Diabetes_Fact_sheet-2012.pdf.
2. Bonora E and Tuomilehto J. The pros and cons of diagnosing diabetes with A1C. *Diabetes Care* 2011;34(S2):S184-90.
3. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* 2010;33(S1):S11-61.
4. Wu X, Chao Y, Wan Z, Wang Y, Ma Y, Ke P, et al. A comparative evaluation of the analytical performances of Capillarys 2 Flex Piercing, Tosoh HLC-723 G8, Premier Hb9210, and Roche Cobas c501 Tina-quant Gen 2 analyzers for HbA_{1c} determination. *Biochem Med (Zagreb)* 2016;26: 353-64.
5. NGSP. List of NGSP Certified Methods (Updated on Sep. 2019). <http://www.ngsp.org/docs/methods.pdf>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of precision and estimation of bias; Approved guideline-Third edition. CLSI document EP15A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; Approved guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedure

- comparison and bias estimation using patient samples: Approved guideline-Third edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
9. QUALITY REQUIREMENTS <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm#1>.
10. Heinemann L and Freckmann G. Quality of HbA_{1c} measurement in the practice: the German perspective. *J Diabetes Sci Technol* 2015;9: 687-95.
11. Lee K, Kim SM, Jun SH, Song SH, Park KU, Song J. Evaluation of analytical performance of the D-100 hemoglobin testing system for hemoglobin A_{1c} assay. *J Lab Med Qual Assur* 2016;38:95-101.
12. Woodworth A, Korpi-Steiner N, Miller JJ, Rao LV, Yundt-Pacheco J, Kuchipudi L, et al. Utilization of assay performance characteristics to estimate hemoglobin A_{1c} result reliability. *Clin Chem* 2014;60:1073-9.
13. Jaisson S, Leroy N, Meurice J, Guillard E, Gillery P. First evaluation of Capillarys 2 Flex Piercing® (Sebia) as a new analyzer for HbA_{1c} assay by capillary electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1769-75.
14. Jo Y, Lee Sy, Park Hi, Kim Y, Lee J, Kim Y, et al. Evaluation of HbA_{1c} levels via the latex immunoturbidimetric method by using chemistry autoanalyzer. *Lab Med Online* 2012;2:10-4.
15. Lee ST, Kim MS, Choi DY, Kim SK, Ki CS. Incidence of variant hemoglobin (Hb) and increased fetal Hb concentrations and their effect on Hb A_{1c} measurement in a Korean population. *Clin Chem* 2006;52:1445-6.
16. Marinova M, Altinier S, Caldini A, Passerini G, Pizzagalli G, Brogi M, et al. Multicenter evaluation of hemoglobin A_{1c} assay on capillary electrophoresis. *Clin Chim Acta* 2013;424:207-11.