

ARKRAY ADAMS A1c HA-8180의 분석능 평가

Performance Evaluation of the ARKRAY ADAMS A1c HA-8180

유은형 · 김병인 · 조현정

Eun-Hyung Yoo, M.D., Byung-In Kim, M.T., Hyun-Jung Cho, M.D.

건양대학교 의과대학 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Konyang University Hospital, College of Medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

The hemoglobin A1c (Hb A1c) test is widely used to diagnose diabetes mellitus and monitor glycemic control in patients with diabetes. We evaluated the performance of the ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 (ARKRAY KDK, Japan), an automated, HPLC-based Hb A1c analyzer. The ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 was evaluated for its linearity and precision and compared to the HLC-723 G7 (Tosoh Corporation, Japan), according to the Clinical and Laboratory Standards Institute's guidelines. The coefficients of variation (CVs) for within-run precision at low and high levels were 0.6% and 0.3%, respectively, and the total CVs at low and high levels were 0.8% and 0.6%, respectively. The coefficient of determination (R^2) was 0.9975, with linearity in the range of 3.0-18.5%. A comparison between the ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 and HLC-723 G7 revealed a good correlation ($r = 0.9955$) in the range of 4.8-14.6%. The runtime was 57 s per sample. The ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 showed good analytical performance and high throughput. Therefore, it is suitable for routine use for clinical measurements of Hb A1c.

Key Words: Hemoglobin A1c (Hb A1c), HPLC, ADAMS A1c HA-8180, Diabetes mellitus

지난 30년간 우리나라의 당뇨병 유병률은 5-6배 정도 증가하였다[1]. 2011년 한 해 동안 우리나라에서 인슐린비의존성당뇨병으로 치료받은 환자는 186만 명이며, 단일 상병 기준으로 세 번째로 진료비가 높은 질환이었다[2]. 전통적으로 당뇨병은 공복혈당검사 또는 2시간 당부하검사로 진단하였다. 헤모글로빈 A1c (Hb A1c)는 측정 방법이 표준화되지 않아 진단기준으로 이용되지 못하고, 혈당 조절 여부를 평가하기 위한 추적검사에 이용해 왔다. 그러나, 2010년 미국당뇨병학회(American Diabetes Association, ADA)에서 Hb A1c의 측정 방법이 National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)의 인증을 받고 Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) 표준검사법에도 부합하는 조건에서 Hb

A1c를 당뇨병의 진단 및 고위험군의 선별기준으로 포함하였다[3]. 우리나라에서도 2007년 이후부터 Hb A1c 표준화 작업이 꾸준히 진행되었으며[4], 이를 바탕으로 2011년 개정된 대한당뇨병학회의 권고안에 Hb A1c를 당뇨병의 진단기준으로 포함하였다[5].

본 연구에서는 역상분배양이온교환크로마토그래피법(reversed-phase cation exchange chromatography)을 사용하여 Hb A1c를 측정하는 ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 (Arkray KDK, Kyoto, Japan)의 성능을 평가하였다.

2012년 4월 중 본원 진단검사의학과에 Hb A1c 검사가 의뢰된 환자의 검사 후 남은 EDTA 혈액검체를 이용하였다. 모든 과정은 본원 내 임상시험심의위원회(Institutional Review Board, IRB)의 승인(11-12)에 의해 진행되었다. 정밀도 평가는 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) EP05-A2 지침[6]에 따라 시행하였다. 저농도(level I)와 고농도(level II)의 Lymphocheck Diabetes Control (Bio-Rad Laboratories, Irvine, USA)을 이용하여 20일간 오전과 오후에 각 2회씩 반복검사를 시행하여 변이계수(CV)를 구하였다. 직선성은 CLSI EP6-A [7]에 따라 평가하였다. Lymphocheck Hemoglobin A1c Linearity Set (Bio-Rad Laboratories, Irvine, USA) level 1과 level 4를 0:4, 1:3, 2:2, 3:1, 4:0으로 혼합하여 제조한 5가지 단계의 농도 물질을 각 4회 반복하여 측정하고, 선형회귀분석으로 회귀방정식과 결정계수(R^2)를 구하였다. CLSI EP9-A2 [8]에 따라 상관성

Corresponding author: Hyun-Jung Cho

Department of Laboratory Medicine, Konyang University Hospital,
158 Gwangeodong-ro, Seo-gu, Daejeon 371-713, Korea
Tel: +82-42-600-9273, Fax: +82-42-600-9272, E-mail: hjchomd@kyuh.ac.kr

Received: March 5, 2013

Revision received: July 12, 2013

Accepted: July 22, 2013

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

© 2014, 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.

Table 1. Precision in Hb A1c measurements with the ARKRAY ADAMS A1c HA-8180

Level	Mean Hb A1c (%)	SD	Within-run CV (%)	Between-run CV (%)	Between-day CV (%)	Total CV (%)
I	5.37	0.04	0.6	0.5	0.2	0.8
II	9.43	0.05	0.3	0.4	0.3	0.6

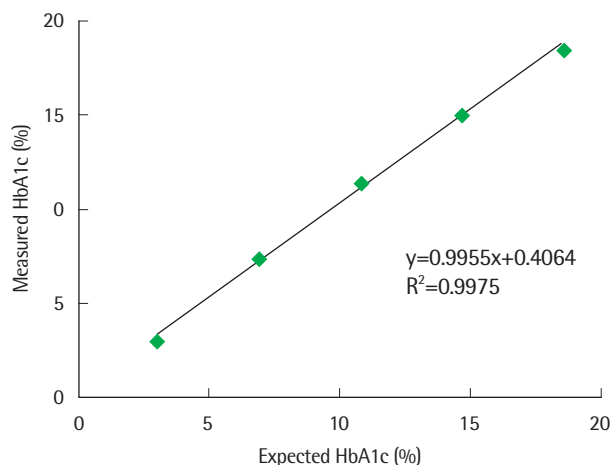


Fig. 1. Linearity of Hb A1c values using the ARKRAY ADAMS A1c HA-8180.

평가를 시행하였고, 이를 위해 기존 검사실 장비인 Tosoh HLC-723 G7 (Tosoh Corporation, Tokyo, Japan)를 이용하였다. Tosoh HLC-723 G7으로 측정된 값을 기준으로 Hb A1c 값이 참고범위를 포함하여 전 측정범위에 걸쳐 고르게 분포하도록, 4.8-14.6%에 해당하는 200개의 검체를 선별하였다. ARKRAY ADAMS A1c HA-8180과 Tosoh HLC-723 G7으로 Hb A1c를 각각 1회 측정하고 선형회귀분석을 시행하였다. 또한, Lyphocheck Hemoglobin A1c Linearity Set의 level 1 (low, L)과 level 4 (high, H) 물질을 이용하여 검체간 교차오염률을 평가하였다. Level 4를 4회 반복 측정(H1, H2, H3, H4)하고 level 1을 4회(L1, L2, L3, L4) 측정한 후, carryover (%) = $[L1 - (L3+L4)/2] \times 100 / [(H2+H3)/2 - (L3+L4)/2]$ 공식에 따라 검체간 교차오염률을 계산하였다. 장비의 분석속도를 확인하기 위해, 임의로 10개의 검체를 선정하여 검체 장착 후부터 마지막 검체의 결과가 출력될 때까지의 시간을 측정하였다. 참고치를 검증하기 위하여[9] 당뇨병 병력이 없는 건강검진 수검자 20명의 EDTA 전혈로 Hb A1c를 측정하였다. 통계분석은 Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)와 Analyse-it (Analyse-it Software, Ltd., Leeds, UK)을 사용하였다.

정밀도 평가에서 검사 내, 검사일 간 및 총 정밀도의 변이계수는 모두 0.8% 이내였다(Table 1). ADA에서는 Hb A1c 검사에 대하여 한 검사실 내에서 검사간 정밀도 변이계수가 5%를 넘지 않아야 하며, 3% 이내를 권장하고 있다[10]. Goodall 등은 이보다 엄격하게 검사실내 정밀도 변이계수의 기준을 2% 미만으로 설정할 것을 권

고하였다[11]. 본 연구에서 ARKRAY ADAMS A1c HA-8180의 정밀도 평가에서 총변이계수, 검사간 변이계수 및 검사일간 변이계수가 모두 0.8% 미만으로 ADA의 기준을 만족하였으며, 생물학적 변이를 고려한 최소 정밀도 기준인 1.4% [12]에도 부합하였다. ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 장비의 성능 평가에 관한 다른 국내의 논문에서 총정밀도 변이계수는 농도에 따라 0.5-1.2%였다[13-15].

직선성 평가 결과에서, 3.0-18.5%의 Hb A1c 농도 범위 내에서의 회귀방정식은 $y = 0.9955x + 0.4064$, 결정계수는 $R^2 = 0.9975$ 였다(Fig. 1). Hb A1c 0.5 또는 $\pm 5\%$ 의 오차를 비직선성 허용기준(allowable non-linearity)으로 하였을 때, 전 평가 범위에서 직선성을 확인할 수 있었다. 이는 제조사에서 제시하는 측정가능 범위 3-20%보다 상한이 다소 낮았으나, 임상검사를 수행하기에 충분히 넓은 범위로 생각된다.

국내 사용 중인 Hb A1c 측정장비의 10% 정도를 차지하는[16] Tosoh HLC-723 G7과의 상관성 평가에서, 두 장비로 각각 측정한 Hb A1c 결과는 4.8%에서 14.6%의 농도 범위에서 상관계수 $r = 0.9955$, 기울기 0.94, 절편 0.48으로 좋은 상관관계를 보였다. 평균 오차는 0.06 (95% 신뢰구간 0.03-0.08)이었다(Fig. 2). 의학적 의사 결정 농도인 6%와 9%에서의 추정편재(Bias)와 이에 대한 95% 신뢰구간은 각각 0.12 (0.10~0.15), -0.05 (-0.09~-0.02)이고, CLSI C54-P [17]에서 생물학적 변이를 고려한 Hb A1c 검사법 간의 허용 오차 1.8%를 기준으로 계산한 각 농도의 허용편재 목표치 0.11 및 0.16과 비교하였을 때, 두 검사법은 동등한 성능을 보였다.

ARKRAY ADAMS A1c HA-8180의 고농도물질과 저농도물질 간의 교차오염률은 0.0%였다. 분석속도 평가에서 총 10검체를 처리하는데 95분의 시간이 소요되었고, 검체 당 평균 분석시간은 57초로 Tosoh HLC-723 G7의 검체 당 분석시간 1.6분, Tosoh HLC-723GHb V A1c 2.2의 2.2분에 비해 빠른 분석 속도를 보였다[18, 19]. 또한, ARKRAY ADAMS A1c HA-8180에서 첫 번째 및 두 번째 검체의 결과가 나오는 시간은 각각 1.8분과 1.2분으로, Tosoh HLC-723 G7의 3.6분과 1.2분, Variant II의 6.5분과 2.5분보다 짧았다[18]. ARKRAY ADAMS A1c HA-8180은 시간 당 60검체 정도의 분석이 가능하므로 검사실에서 한꺼번에 많은 검체를 신속히 처리할 때 유용할 것으로 생각된다. 참고치 검증에서 건강인 20명의 Hb A1c 결과는 모두 제조사에서 제시하는 참고범위 4.0-6.0%를 벗어나지 않았다.

본 연구에서는 Hb A1c 측정의 간섭물질에 대한 평가는 시행하

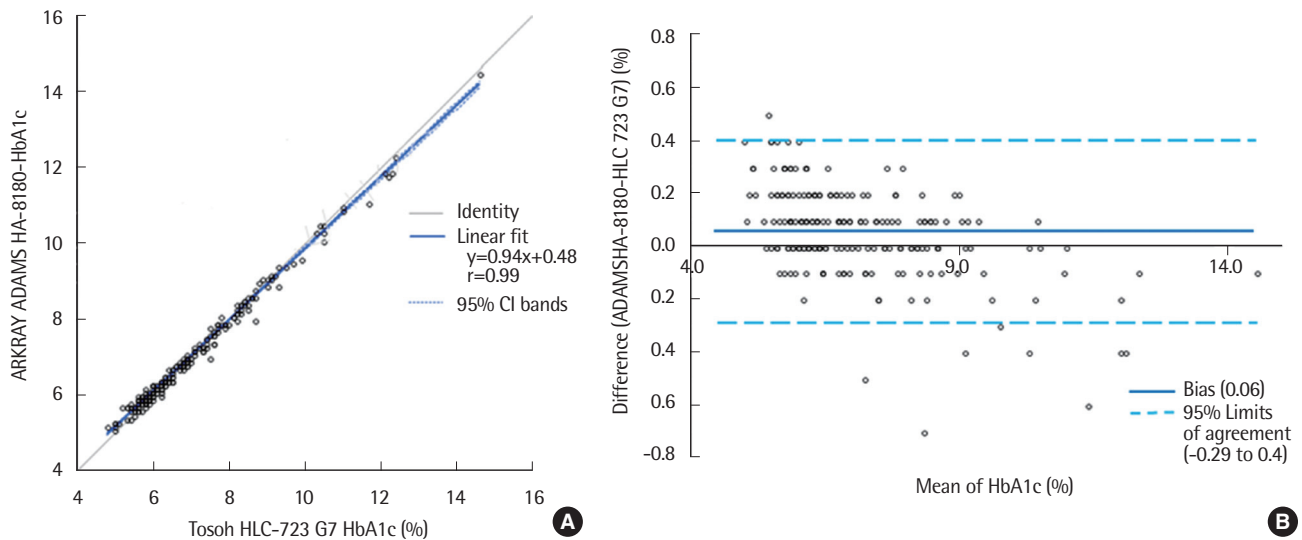


Fig. 2. Comparison of Hb A1c levels measured by the HLC-723 G7 and ARKRAY ADAMS A1c HA-8180. (A) Scatter plot with linear fit ($r=0.9955$). (B) Difference plot showing the mean bias (0.06%) and the limits of agreement between the HLC-723 G7 and ARKRAY ADAMS A1c HA-8180.

지 못하였으나, 동일 장비에 대한 Nakanishi 등[15]의 평가에 따르면, ARKRAY ADAMS A1c HA-8180에서 일반적인 간섭물질인 빌리루빈, 유미(chyle), 아스코르빈산의 영향이 없었다. 그러나, HPLC 법은 카바밀화혈색소, 변이형혈색소, 아스피린이나 페니실린 등의 약물, 혈색소와 결합할 수 있는 비혈당결합물 등[18, 20]에 영향을 받으므로, 검사 시 이에 대한 고려는 필요하다.

Hb A1c 검사의 표준화 작업을 통해 Hb A1c의 측정방법, 장비, 검사실 간의 차이는 유의하게 감소하였으며, 개정된 당뇨병 진단기준으로 Hb A1c가 포함됨으로써 검사의 성능 기준 및 허용오차 범위는 더욱 엄격해지고 있다. 따라서, 임상 검사실에 도입되는 Hb A1c 측정장비의 성능을 평가하는 것은 매우 중요하다.

본 평가에서 ARKRAY ADAMS A1c HA-8180은 우수한 정밀도와 직선성을 보였고 Tosoh HLC-23 G7 장비와도 좋은 상관성을 보였다. 또한 분석속도가 빨라서 임상검사실에서 대량 검체를 처리할 때 유용하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

당화혈색소 Hb A1c는 당뇨병의 진단기준과 혈당 조절의 모니터링 지표로 널리 이용되고 있다. 본 연구에서는 Hb A1c 측정 자동화 장비인 ARKRAY ADAMS A1c HA-8180 (ARKRAY KDK, Japan)의 성능을 평가하였다. ARKRAY ADAMS A1c HA-8180의 직선성, 정밀도 및 기존 검사실 장비인 HLC-723 G7 (Tosoh Corporation, Japan)과의 상관성을 CLSI 지침에 따라 평가하였고, 분석속도를 측정하였다. 저농도와 고농도의 Hb A1c 정도관리물질의 검사 내 변이계수는 각각 0.6%와 0.3%였으며, 총 변이계수는 0.8%와 0.6%

였다. 직선성은 3.0-18.5% 범위에서 $R^2=0.9975$ 였다. Tosoh HLC-723 G7과의 상관성 평가에서도 4.8-14.6% 범위에서 $r=0.9955$ 의 상관성을 보였고, 분석 속도는 검체 당 57초였다. ARKRAY ADAMS A1c HA-8180은 임상검사실에서 우수한 분석성능으로 대량 검체를 신속하게 검사할 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Kim SG and Choi DS. The present state of diabetes mellitus in Korea. J Korean Med Assoc 2008;51:791-8.
- National Health Insurance Corporation Health Insurance Review and Assessment Service. 2011 National Health Insurance Statistical Yearbook. <http://www.nhic.or.kr/portal/site/main/menuitem.74b68c0b767ded38b31148b4062310a0/>.
- American Diabetes Association. Executive summary: Standards of medical care in diabetes--2010. Diabetes Care 2010;33(S1):S4-10.
- 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 (2008). J Lab Med Qual Assur 2009;31:143-59.
- Ko SH, Kim DJ, Oh SJ, Lee HJ, Shim KH, Woo MH, et al. 2011 Clinical practice guidelines for type 2 diabetes in Korea. J Korean Diabetes 2011;12:183-9.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline -Second edition. EP5-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; A statistical approach; Approved guideline. EP6-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline-Second edition. EP9-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline-Third edition. C28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
10. Marshall SM and Barth JH. Standardization of HbA1c measurements: a consensus statement. *Ann Clin Biochem* 2000;37:45-6.
11. Goodall I, Colman PG, Schneider HG, McLean M, Barker G. Desirable performance standards for HbA(1c) analysis - precision, accuracy and standardisation: consensus statement of the Australasian Association of Clinical Biochemists (AACB), the Australian Diabetes Society (ADS), the Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA), Endocrine Society of Australia (ESA), and the Australian Diabetes Educators Association (ADEA). *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1083-97.
12. Westgard J. Minimum specifications from biological variation database. <http://www.westgard.com/minimum-biodatabase1.htm> (Updated on 2014).
13. Lim J, Kim JM, Koo SH, Kwon KC. Evaluation of the performance of ARKRAY ADAMS HA-8180 Hb A1c Analyzer. *Lab Med Online* 2012; 2:126-30.
14. Choi Q, Han M, Chang HE, Song SH, Park KU, Song J. Performance evaluation of the ADAMS A1c HA-8180 Analyzer for Hb A1c. *J Lab Med Qual Assur* 2012;34:25-30.
15. Nakanishi K, Siga S, Mori N, Ishida A, Masuda K, Yamasita S, et al. Basic Investigation of ADAMS A1c HA-8180, a new Hb A1c measuring instrument using high performance liquid chromatography (HPLC). *JJ-CLA* 2010;35:243-9.
16. The Korean Association of Quality Assurance for Clinical Laboratory. http://www.labqa.org/sub/catalog.php?boardid=board_seminar&mode=view&no=259&start=0&search_str=&val=&CatNo=43. (Updated on 2013-02-28).
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Verification of comparability of patient results within one health care system; Proposed guideline. C54-P. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
18. Lee SY and Kim JW. Evaluation of the Tosoh HLC-723 G7 Hemoglobin A1c Analyzer. *Korean J Lab Med* 2003;23:180-5.
19. Jeong GY, Lee MK, Kim JW. Performance evaluation of TOSOH automated glycohemoglobin analyzer HLC-723GHb V A1c 2.2TM. *Korean J Clin Pathol* 1999;19:36-9.
20. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clin Chem* 2001;47:153-63.