



Bio-Rad D-100의 헤모글로빈 A1c 분석능 평가

Analytical Performance of Bio-Rad D-100 on a Hemoglobin A1c Assay

유창승 · 최은혜 · 배인철 · 이상국 · 김정호

Changseung Liu, M.D., Eunhye Choi, M.T., In Cheol Bae, M.T., Sang-Guk Lee, M.D., Jeong-Ho Kim, M.D.

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Hemoglobin A1c (HbA1c) is considered a marker useful for the follow-up and diagnosis of diabetes and implies the importance of reliable assay methods that are traceable to a reference method. We evaluated analytical performance of a new high-performance liquid chromatography system for the HbA1c assay: D-100 from Bio-Rad Laboratories (USA).

Methods: We evaluated precision, linearity, and carry-over of D-100, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute's guidelines. Comparative analysis of D-100 with Integra 800 (Roche Diagnostics, Germany) and Capillarys 3 (Sebia, France) was conducted. Additionally, we evaluated the throughput of the three instruments.

Results: Precision of low- and high-concentration controls in D-100 showed a CV of less than 1%. The linearity was excellent ($R^2=0.999$) in the range of 3.51-18.7%, and carry-over was not observed. HbA1c results of D-100 ($n=144$) showed good correlation with those of Integra 800 ($r=0.993$) and Capillarys 3 ($r=0.996$). The % bias between D-100 and Integra 800 or Capillarys 3 was within the allowable range at all 3 medical decision levels (5.7%, 6.5%, and 10.0%). Elapsed time in the analysis of the first sample by D-100 was shorter than that of Integra 800 (2.4 vs. 11.1 minutes), but subsequent samples took more time (0.8 vs. 0.3 minutes per sample).

Conclusions: D-100 showed reliable analytical performance with good precision and linearity, minimal carry-over, and acceptable comparative characteristics relative to other instruments. D-100 is expected to be useful for clinical measurements of HbA1c for diabetes diagnosis and therapeutics.

Key Words: Hemoglobin A1c, Bio-Rad D-100, Analytical performance

서론

당뇨병의 유병률은 세계적으로 증가하는 추세를 보이고 있으며, 세계보건기구(WHO)는 전 세계 당뇨병 인구가 2035년에는 5억 9천만 명에 육박할 것으로 추산하였다. 우리나라도 사회 경제적인 발전에 따라 당뇨병 인구가 늘어나고 있으며 당뇨병 및 대사증후군 등의 만성질환자의 빈도는 고령화 사회에서 더욱 늘어날 가능

성이 높다[1, 2]. 미세혈관 합병증을 비롯한 만성합병증은 당뇨병 발현 이전의 내당능 장애 상태에서 시작되는 경우도 있으며 이러한 합병증의 발생을 예방하기 위해서는 무엇보다도 당뇨병을 조기에 진단하는 것이 매우 중요하다. 기존의 공복혈당검사 또는 경구당 부하검사는 검사 시행 전 8시간 이상 금식을 해야 하는 불편함이 있으므로 공복상태가 필요 없는 간편하면서도 정확한 검사가 적용된다면 당뇨병의 조기 선별 및 진단에 도움이 될 것이다[3, 4].

Corresponding author: Sang-Guk Lee

Department of Laboratory Medicine, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2228-2455, Fax: +82-2-364-1583, E-mail: comfoter6@yuhs.ac

헤모글로빈 A1c (이하 HbA1c)는 2개의 알파 사슬과 포도당 내지 포도당 유도체가 비효소적 방법으로 첨가된 2개의 베타 사슬로 구성된 헤모글로빈의 한 형태이다[5]. 당뇨병의 진단기준으로 HbA1c를 적용하면 진단을 위해 금식을 할 필요가 없고 최근의 생활습관 변화와 무관하게 결과가 안정적이며 당뇨병 만성합병증을 예측하는 지표로 사용할 수 있다[6, 7]. HbA1c 검사는 Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)을 포함한 많은 연구에서 환자의 전반적인 당 조절 능력을 평가할 수 있는 유용한 지표로 제시되었고, 이를 통한 엄격한 당 조절을 할 경우 당뇨병망막증이나 미세혈관병증 등의 심각한 당뇨병합병증의 진행속도를 의미 있게 낮춘

Received: May 17, 2016

Revision received: August 6, 2016

Accepted: August 17, 2016

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

© 2017, 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.

다고 보고되었다[8, 9]. 실제로 HbA1c의 일중 변동은 2% 미만으로 공복 혈당의 12-15%에 비해 안정적이므로 당뇨병의 진단에 있어 좋은 기준이 될 것으로 기대되었다[10].

그러나 다양한 방법을 통한 30여 가지가 넘는 HbA1c 측정장비가 개발되었기 때문에 이에 대한 표준화가 필요하였고 대표적인 표준화로는 National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)과 International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)이 있다. NGSP의 기준 검사법은 이온교환 high-performance liquid chromatography (HPLC)법을 사용하여 HbA1c 피크의 곡선하 면적(area under curve, AUC)을 측정하는 방법이고, IFCC의 표준 방법은 검체를 endoproteinase Glu-C로 처리하여 생성된 N-terminal hexapeptide를 HPLC/mass Spectrometry나 HPLC/capillary Electrophoresis로 측정하는 방법이다[11-14]. 2009년 국제당뇨병기구(International Diabetes Federation) 하의 국제 전문가위원회(International Expert Committee)에서는 여러 역학조사결과를 근거로 HbA1c 6.5% 이상을 당뇨병 진단의 기준으로 제시하였고, 미국당뇨병학회(American Diabetes Association)는 이를 수용하여 당뇨병 진단기준에 추가하였다[10, 15]. 다만 이러한 기준은 NGSP의 인준과 DCCT 검사법에 의한 표준화가 이루어진 측정법으로 HbA1c 검사가 시행되어야 함을 전제로 하였다[16, 17]. 우리나라에서도 대한임상검사정도관리협회가 2007년부터 HbA1c의 신빙도조사를 시작한 이래 검사의 표준화를 위한 노력이 활발히 진행되고 있다[18].

현재 사용중인 HbA1c 검사법은 ion-exchange HPLC, capillary electrophoresis, isoelectric focusing, 친화크로마토그래피(affinity chromatography), 면역분석법(immunoassay) 등 다양하지만 이중 NGSP의 표준으로 인정받고 있는 방법은 HPLC법이다[11, 16, 19]. 본 연구를 통해 저자들은 HPLC 방법을 이용하여 HbA1c를 측정하는 장비로서 최근 출시된 D-100 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)의 정밀도, 직선성 및 교차오염도를 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 지침에 따라 분석하고, 면역분석법을 사용하는 Integra 800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) 과 모세관 전기영동법(capillary electrophoresis)을 사용하는 Capillary 3 (Sebia, Issy-les-Moulineaux, France)와의 상관성과 검사소요시간을 비교 평가하여 본 장비의 유용성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. D-100

D-100은 마이크로프로세서가 탑재된 HPLC 기법의 자동화 검사장비로 장비와 일체화된 터치스크린을 통해 장비를 조정하며 이온교환 HPLC 원리에 의해 혈색소 성분을 분리하여 검사한다. 최

소 검체 요구량은 EDTA 전혈검체 1 mL이며 만일 이보다 적을 경우 wash 용액으로 희석하여 검사를 해야 하는데 희석이 가능한 최소 검체량은 5 μ L이다. 10개의 검체가 하나의 rack을 구성하며 최대 10개의 rack을 동시에 수용할 수 있다. 제조사의 설명에 의하면 혈색소의 분리는 최초 검체 2분 15초, 이후 검체부터는 45초가 소요되며, 시간당 80검체를 처리할 수 있다. 분리된 혈색소는 415 nm 흡광도에서 측정되며 IFCC 단위(mmol/mol)로 보고되거나 공식을 통해 변환되어 NGSP 단위(%)로 보고된다. 본 장비는 최근 미국 Food and Drug Administration (FDA)로부터 HbA1c를 측정하는 장비로서 승인을 받았다.

2. 정밀도(Precision) 평가

정밀도의 평가는 CLSI EP5-A2 지침에 준하여 수행하였다[20]. 제조사에서 제공하는 저농도와 고농도(5.33%, 9.90%)의 정도관리물질 Lyphochek Diabetes Control Levels 1 and 2 (Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA, USA)를 사용하였으며 20일간 오전과 오후 4시간 이상의 간격을 두고 2회 검사하였고, 매 검사마다 2회씩 반복 측정하였다. 측정된 결과를 바탕으로 각 농도 별 평균, 검사차례 내(within-run), 검사차례 간(between-run), 검사일 간(between-day) 및 검사기기 내(within-device) 각각의 변이계수(coefficient of variation, CV)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 이용하여 CLSI EP 6-A에서 제시한 방법에 따라 시행하였다[21]. 각 농도의 물질은 4회씩 반복 측정하였다. 가장 적합한 회귀모델이 직선인지를 평가하였고, 만약 2차식 이상의 곡선이 더 적합한 모델인 경우, 직선식과의 차이가 허용 범위인 5% 이내인지를 계산하여 직선성을 평가하였다. 추가적으로 반복 측정하여 구한 평균과 기대값을 비교하여 %회수율을 계산하였다.

4. 일치도(Method comparison) 평가

일치도 평가는 CLSI EP9-A2 지침에 준하여 수행하였다[22]. 2015년 11월 HbA1c가 의뢰된 검체 중 당화혈색소가 정상이거나 비정상인 환자를 모두 포함하여 144개의 잔여 EDTA 전혈 검체를 수집하였다. 운영 중인 Integra 800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)과 Capillary 3 (Sebia, Issy-les-Moulineaux, France), D-100 세 장비로 각각의 검체들을 2번씩 반복 측정하여 평균값을 구하였다. 기존 두 장비(Integra 800, Capillary 3)에 대한 D-100의 결과값을 비교하여 상관계수(coefficient of correlation, r)를 평가하였고 Deming 회귀분석으로 기울기와 y절편을 구하였다. 세 가지의 임

상적 의사결정 농도(medical decision point)에서 측정 %바이어스(bias)를 구한 후 이 값이 허용 %바이어스(3%)가 이내에 포함되는지를 평가하였다.

5. 검사소요시간(Throughput) 평가

3가지 장비의 검사소요시간을 측정하기 위하여 60검체를 일괄 장착하고 검체 장착부터 첫 번째 검체, 10번째 검체, 마지막 60번째 검체 결과가 도출될 때까지 필요한 시간을 확인하였다. 모든 장비는 대기상태에서 검사를 시작하였다. 검체는 전날 검사 후 남은 잔여 검체 60개를 어떠한 정보도 없이 무작위로 수집하였다.

6. 검체 간 교차오염률(Carryover)

고농도 물질과 저농도 물질을 4회 연속 측정하여 다음 수식을 통해 교차 오염률을 계산하였다.

$$\text{carryover (\%)} = \frac{[L1 - (L3 + L4) / 2] / [(H2 + H3) / 2 - (L3 + L4) / 2] \times 100}$$

7. 통계 분석

통계 분석은 Microsoft Excel (Microsoft Corporation, WA, USA)을 사용하여 정밀도, 검체 간 교차오염률, 검사소요시간을 평가하였고 Analyse-it (Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK)을 사용하여 직선성과 세 장비 간의 상관성 및 일치도를 분석하였다.

결 과

1. 정밀도

D-100의 검사차례 내 정밀도의 변이계수는 저농도에서 0.69%, 고농도에서 0.59%였다. 총 정밀도의 변이계수는 저농도에서 0.86%, 고농도에서는 0.68%이었다(Table 1). 두 가지 농도 모두에서 검사차례 내 변이계수, 총 변이계수가 1% 미만으로 우수한 재현성을 보였다.

2. 직선성

직선성을 평가하는 데 사용한 6가지 농도의 정도관리물질(3.5-18.7%)은 제조사에서 제시하는 측정가능 범위(3.5-20%)를 평가하기에 충분하였다. HbA1c가 3.5-18.7%인 범위 내에서 직선회귀방정식($y = 0.983x + 0.1263$)의 결정계수(R^2)는 0.9999였다(Fig. 1). 가장 적합한 비선형곡선과의 차이를 통해 비직선성을 평가하였을 때,

Table 1. Precision of HbA1c measurements using D-100

Material	Mean HbA1c (%)	Coefficient of variation (%)			
		Within-run	Between-run	Between-day	Within-device
Level 1	5.38	0.69	0.23	0.46	0.86
Level 2	9.87	0.59	0.30	0.45	0.68

모든 평가농도에서 허용 범위 5% 미만의 차이를 보여 우수한 직선성을 확인하였다. 각 농도에서의 %회수율 또한 허용 범위(5%) 내에 존재하였다(Table 2).

3. 상관성 및 일치도

D-100에서 측정된 결과와 기존의 검사장비인 Integra 800과 Capillars 3에서 측정된 결과 간의 상관성 분석 결과 상관계수(r)는 각각 0.993, 0.996으로 모두 0.975 이상의 좋은 상관성을 보여주었다(Fig. 2). Deming 회귀분석을 통해 구한 각각의 회귀방정식은 $[D-100] = 0.95$ (95% 신뢰구간: 0.92-0.98) \times $[Integra\ 800] + 0.25$ (95% 신뢰구간: 0.06-0.44)와 $[D-100] = 0.98$ (95% 신뢰구간: 0.96-1.00) \times $[Capillars\ 3] + 0.25$ (95% 신뢰구간: 0.13-0.37)였다. 이 회귀방정식을 이용하여 산출된 임상적 의사결정 농도(5.7%, 6.5%, 10%)에서의 %바이어스는 모든 농도에서 허용기준(3%)를 넘지 않아 두 기준 장비와 우수한 일치도를 보였다(Table 3). Bland-Altman different plot으로 확인한 기존장비와 D-100의 결과값 차이의 평균은 -0.09% (Integra 800 vs. D-100)와 0.10% (Capillars 3 vs. D-100)였다(Fig. 3).

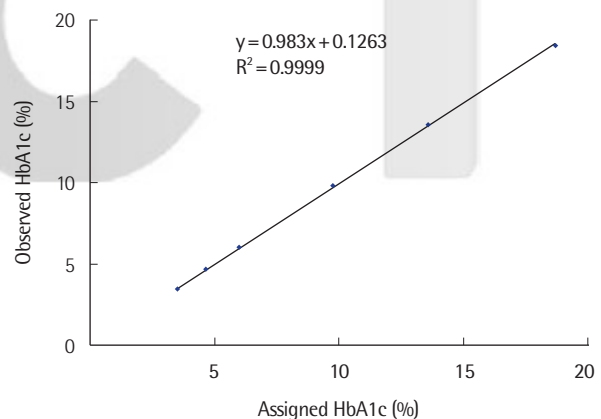


Fig. 1. Linearity of the HbA1c assay using D-100.

Table 2. Recovery of commercial HbA1c linearity materials tested on D-100

Level	Assigned value (%)	Measured value (%)					Recovery (%)
		Repeat 1	Repeat 2	Repeat 3	Repeat 4	Mean	
1	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	99.7
2	4.6	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	101.3
3	6.0	6.0	6.1	6.1	6.0	6.1	100.8
4	9.8	9.7	9.8	9.8	9.8	9.8	100.1
5	13.6	13.6	13.4	13.6	13.6	13.6	99.6
6	18.7	18.5	18.4	18.4	18.5	18.5	98.7

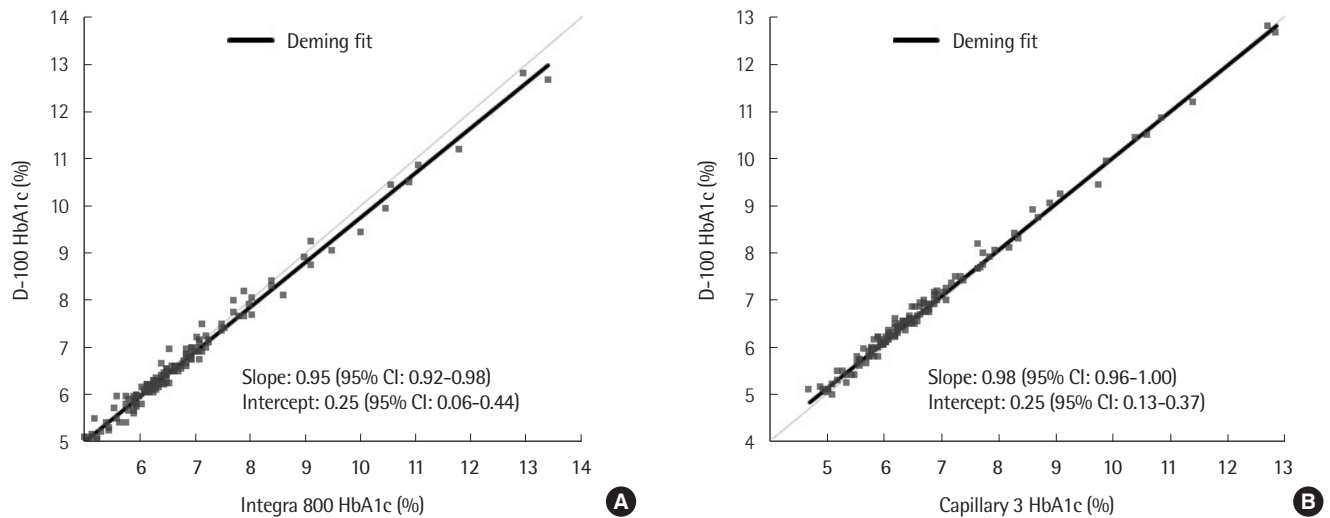


Fig. 2. A Deming regression plot for D-100 and Integra 800 (A) and for D-100 and Capillary 3 (B). Abbreviation: CI, confidence interval.

Table 3. Comparison of HbA1c values obtained by means of D-100, Integra 800, and Capillary 3 using Deming regression

Instruments	MDP	Slope (a)	Intercept (b)	Expected value	% bias	Allowable bias (%)	Interpretation
D-100 vs. Integra 800	5.7	0.95	0.25	5.67	0.6	3	Acceptable
	6.5	0.95	0.25	6.43	1.1	3	Acceptable
	10.0	0.95	0.25	9.76	2.4	3	Acceptable
D-100 vs. Capillary 3	5.7	0.98	0.25	5.82	2.2	3	Acceptable
	6.5	0.98	0.25	6.61	1.7	3	Acceptable
	10.0	0.98	0.25	10.03	0.3	3	Acceptable

Abbreviation: MDP, medical decision point.

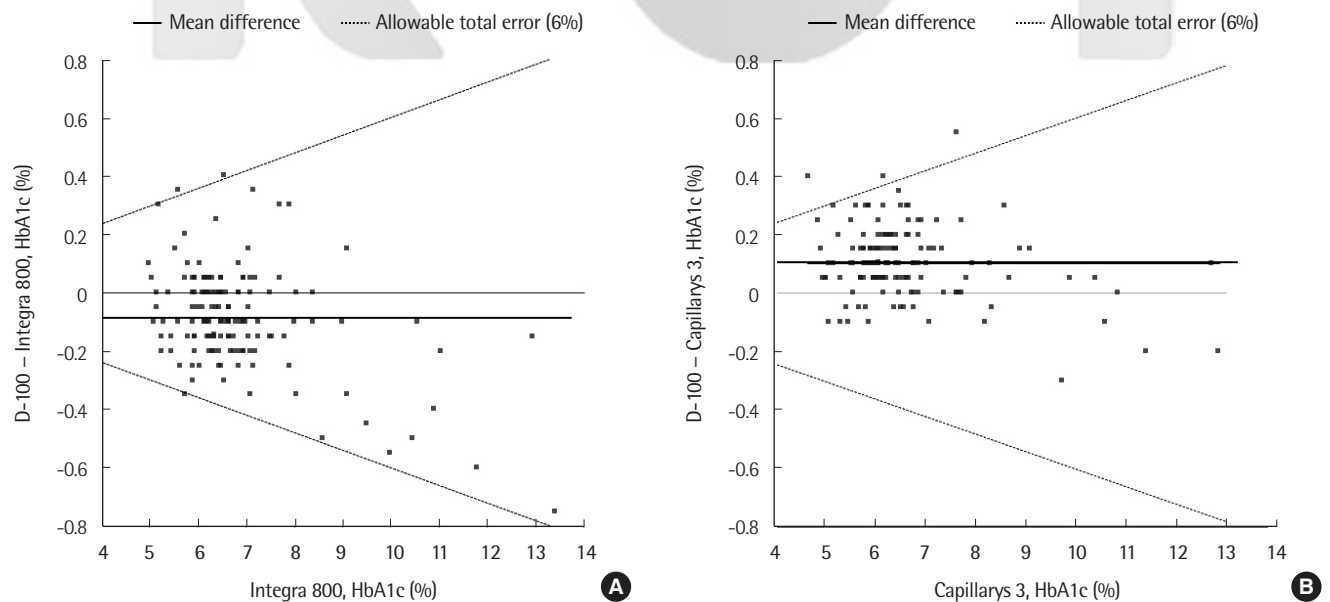


Fig. 3. A Bland-Altman difference plot for D-100 and Integra 800 (A) and for D-100 and Capillary 3 (B).

4. 검사소요시간

D-100은 대기 상태에서의 최초 장착 검체에 대해 2.4분의 처리

시간이 소요되었고 이후 연속 검체에 대해서는 0.8분이 소요되어 제조사에서 제시한 소요시간에 부합하였다. 최초 60검체를 모두

Table 4. Analytical time of D-100, Integra 800, and Capillary 3

	Initial sample	Following sample	Initial to continuous 10 samples	Initial to continuous 60 samples
Bio-Rad D-100 (min)	2.4	0.8	9.4	46.1
Roche Integra 800 (min)	11.1	0.3	13.9	31.3
Sebia Capillary 3 (min)*	23.0 [†]	11.4 [†]	23.0 [†]	72.0

*Sebia Capillary 3 processes 12 samples as a unit; [†]Time for measurement of 12 samples.

처리하는 데 소요된 시간은 46.1분이었다. Integra 800은 최초 장착 검체에 대해 11.1분이 소요되었지만 연속 검체에 대해서는 0.3분이 소요되었다. 처음 10개의 검체를 처리할 때까지의 시간은 13.9분이 소요되었고, 60검체를 모두 처리하는 데 31.3분이 소요되었다. Capillary 3는 12개의 검체를 한꺼번에 처리하는 방식이어서 앞의 두 장비와 직접적인 비교는 불가능하였다. 최초 12개의 검체를 처리하는 데 걸리는 시간은 23.0분이었고 연속되는 12검체에 대해서는 11.4분이 소요되었다. 최초 60검체를 처리하는 데 소요된 시간은 72분이었다(Table 4).

5. 검체 간 교차오염률

4회 연속 측정된 저농도 물질 측정값이 모두 동일하였고(3.5%), 대상 및 방법에서 기술한 수식으로 계산하였을 때 %carryover 값은 0%로 D-100의 교차오염은 관찰되지 않았다.

고 찰

HbA1c 측정 장비를 비교할 때 항상 고려해야 하는 것이 측정 방법의 차이이다. HbA1c 결과는 측정 방법에 따라 IFCC법과 NGSP 법의 결과가 다르게 표현되는데, 이에 대한 혼선을 줄이기 위해 IFCC에서는 HbA1c의 결과를 보고할 때 IFCC의 mmol/mol 단위와 NGSP의 % 단위를 동시에 보고하도록 권고하고 있다. 두 가지 보고 단위는 표준 공식([NGSP-HbA1c(%)] = 0.0915 × [IFCC-HbA1c (mmol/mol)] + 2.15)을 이용하여 변환이 가능한데 이 공식을 사용하면 IFCC결과값과 NGSP결과값의 상호 호환성에 문제가 없음이 기존 연구에서 보고된 바 있다[13, 23]. 본 연구에서는 기존 연구결과와의 비교 및 결과 해석의 용이성을 위해 D-100과 Integra 800, Capillary 3세 장비의 모든 검사 결과값을 NGSP 단위(%)로 통일하여 비교하였다.

D-100의 정밀도 평가에서는 두 가지 농도 모두에서 검사차례 내 변이계수와 총 변이계수 모두 1.0% 미만으로 측정되어 NGSP 허용한도인 5% 이내는 물론 미국임상생화학학회(National Academy of Clinical Biochemistry, NACB)의 권고안(Laboratory medicine practice guideline, LMPG)인 검사차례 내 변이계수 2% 이내의 기준도

충족하였다[24, 25]. D-100을 대상으로 한 기존의 연구에서도 환자의 검체(4.89%, 6.43%, 7.94%, 10.99%)와 정도관리물질(5.03%, 9.51%, 14.56%)을 사용하여 정밀도를 평가했을 때 검사차례 내 변이계수는 0.93% 이하, 검사기 내 변이계수는 1.46% 이하로 보고된 바 있어 D-100의 정밀도는 양호한 것으로 판단된다[26]. HPLC 방법을 사용하는 다른 장비와 비교했을 때, Variant II turbo (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)의 검사기 내 변이계수는 낮은 농도(5.18%)에서 2.97%, 높은 농도(10.07%)에서 1.81%로 보고되었고, Tosoh G8 (Tosoh Bioscience, Tokyo, Japan)은 낮은 농도(5.75%)에서 1.28% 높은 농도(9.60%)에서 0.80%로 보고되어, D-100의 정밀도는 기존 HPLC법을 사용하는 장비에 비해 유사하거나 좀 더 우수하였다[27]. 비교 장비로 사용된 Integra 800의 경우 Fleming 등이 시행한 연구에서는 측정 농도 5.69%에서 검사차례 내 변이계수 1.32% 미만을 보고하였고, Woodworth 등의 연구에서는 낮은 농도(5.61%)에서 2.40%, 높은 농도(9.90%)에서 1.18%의 검사기 내 변이계수를 보고하였다[27, 28]. Capillary 3에 대해서는 낮은 농도(5.0%)에서 1.84%, 높은 농도(9.5%)에서 0.88%의 검사기 내 변이계수가 보고되었는데 동일한 연구에서 D-100의 검사기 내 변이계수는 각각 0.89%, 0.87%로 보고되었다[29].

직선성 평가에서는 비직선성과 %회수율을 기준으로 판단하였을 때 제조사가 제시하는 측정가능범위 내에서 우수한 직선성이 확인되었다. HbA1c결과값은 당뇨병의 진단뿐만 아니라 치료 평가와 추적 관찰 등 다양한 목적과 환경에서 사용되기에 가능한 한 넓은 범위에서의 직선성을 입증할 필요가 있다고 판단되는 바, 본 연구에서는 제조사에서 제시한 6가지 농도의 정도관리물질을 사용하여 상대적으로 넓은 범위에서 직선성을 확인할 수 있었다.

D-100에서 측정된 결과와 Integra 800과 Capillary 3에서 측정된 결과 간의 비교 평가에서 상관계수(r)는 각각의 기준 장비에 대해 모두 0.975 이상이었다. College of American Pathologists (CAP)의 HbA1c 외부정도관리 허용기준은 2013년까지 ±7%였으나 2014년부터 ±6%로 강화되었다[30]. 본 연구에서는 강화된 기준에 따라 장비 간 총 허용오차(total allowable error)를 ±6%로 설정하였고, %바이어스의 기준으로 이의 절반인 ±3%를 적용하였다[27, 31]. 장비 간 비교평가 결과 기존 장비와 D-100 간의 %바이어스는 세 가지의 임상적 의사결정 농도(5.7%, 6.5%, 10.0%) 모두에서 ±3% 이내였다. 각 검체에서 관찰된 결과값 차이를 Bland-Altman plot에서 비교해 보았을 때, 각각의 기준 장비에 대한 결과값 차이의 평균은 -0.09% (Integra 800 vs. D-100), 0.10% (Capillary 3 vs. D-100)로 매우 낮은 수준이었다. 그러나 HbA1c 9.0% 이상의 높은 농도에서는 D-100의 결과값이 Integra 800과 Capillary 3의 결과값보다 낮게 측정되는 경향이 관찰되었다(Fig. 3). Maesa 등은 D-100과 Tosoh G8, HA-8180V (Menarini Diagnostics, Firenze, Italy)를

비교한 연구에서 동일한 HPLC법을 사용함에도 D-100이 다른 두 장비에 비해 높은 농도에서 음성바이어스가 발생함을 보고하였고, Variant II Turbo와 D-100을 비교한 또 다른 연구에서는 HbA1c 값이 증가할수록 D-100의 음성 바이어스가 증가된다고 보고된 바 있다[32, 33]. 이러한 HbA1c농도 증가에 따른 음성바이어스 증가현상의 원인으로 보정물질(calibrator)의 소급성(traceability)의 문제나 기타 보정과정(calibration protocol)의 문제가 추정되나 정확한 원인을 찾지는 못하였다. 하지만 주로 높은 농도의 HbA1c범위에서 영향을 받으므로 임상적 중요 의사결정에 미치는 영향은 크지 않을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 HbA1c의 결과값이 9%가 넘는 검체의 수가 적었기 때문에 높은 농도에서 측정된 값의 정확성을 확인하기 위한 별도의 추가 연구가 필요할 것이다.

세 장비에 대한 실제 검체 처리시간을 비교하였을 때 D-100은 Integra 800에 비해 최초 검체 처리속도는 더 빨랐으나(2.4분 vs. 11.1분) 연속되는 검체 처리에는 더 많은 시간이 소요되었다(0.8분 vs. 0.3분). 따라서 60검체를 한꺼번에 처리할 때에는 Integra 800이 더 빨랐으나(46.1분 vs. 31.3분) 10검체를 한 단위로 처리할 때는 D-100이 더 빨랐다(9.4분 vs. 13.9분). Capillarys 3는 12개의 검체를 하나의 단위로 한꺼번에 처리하므로 한 검체 당 소요되는 시간을 다른 장비와 직접적으로 비교하기는 어려웠다. 검체 처리 시간 평가 결과 D-100은 제조사가 제시한 시간당 80검체 처리 속도를 만족하였고, 기존 장비들과 비교하여 최초 검체 처리 속도가 빠른 장점이 있었다. 따라서 대량의 정규 검체를 처리하는 대규모 검사실뿐만 아니라 단발적인 검사 요청이 빈번하거나 즉각적인 결과 보고가 필요한 외래 검사실에서도 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

결론적으로 D-100 HbA1c의 분석 성능 평가 결과 우수한 정밀도와 비교적 넓은 측정 가능 범위에서 직선성을 확인하였다. 기존의 Integra 800, Capillarys 3와도 우수한 상관성 및 일치도를 보여 기존의 장비를 대체할 만한 충분한 성능을 보여주었으며 임상적으로 당뇨병의 진단, 치료 및 합병증 예방을 위한 추적 관찰에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 예상된다. 검체 간 교차오염은 관찰되지 않았고 검체 처리량도 증가되어 결과 보고 시간의 단축에도 도움이 될 것으로 판단된다.

요 약

배경: 헤모글로빈 A1c (HbA1c)는 당뇨의 진단과 치료, 추적 관찰에 유용한 지표로서 표준화된 검사법에 의한 정확한 검사 결과를 제공하는 것이 중요하다. 본 연구에서는 고성능 액체크로마토그래피법(HPLC)을 이용하여 HbA1c를 측정하는 장비인 D-100 (Bio-Rad Laboratories, USA)의 분석 성능을 평가하고자 하였다.

방법: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 지침에

따라 D-100의 정밀도와 직선성, 검체 간 교차오염률을 평가하였다. 그리고 D-100과 기존 운용장비인 Integra 800 (Roche Diagnostics, Germany), Capillarys 3 (Sebia, France)와의 상관성 및 일치도를 조사하였다. 마지막으로 세 검사법의 검사 소요 시간을 비교 분석하였다.

결과: D-100을 사용한 HbA1c 측정의 검사차례 내 정밀도와 총 정밀도는 저농도와 고농도 모두에서 1% 미만의 변이계수를 보였다. 직선성은 HbA1c 3.51-18.7%에서 우수하였고 검체 간 교차오염률은 관찰되지 않았다. D-100의 Integra 800과 Capillarys 3에 대한 상관성 평가(n=144)에서 상관계수는 각각 0.993, 0.996으로 높은 상관성을 보였으며 세 가지의 임상적 의사결정 농도(5.7%, 6.5%, 10.0%) 모두에서 바이어스(%bias)는 허용범위 이내에 존재하였다. 검사 소요시간은 세 장비의 특성에 따라 차이가 있었다. D-100은 Integra 800에 비해 최초 검체를 더 빨리 처리하였으나(2.4분 vs. 11.1분) 연속 검체 처리시간은 더 길었다(0.8분 vs. 0.3분).

결론: D-100은 우수한 정밀도와 직선성 및 기존의 장비와의 비교에서 높은 상관성과 빠른 검체 처리속도를 보여주었다. 임상적으로 당뇨병의 진단과 치료, 당뇨 합병증의 예방을 위한 추적 관찰에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 예상된다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 해당 회사와 이해관계가 없음.

감사의 글

본 연구는 한국바이오라드(주)의 연구비 지원을 받아 수행되었다.

REFERENCES

1. da Rocha Fernandes J, Ogurtsova K, Linnenkamp U, Guariguata L, Seuring T, Zhang P, et al. IDF Diabetes Atlas estimates of 2014 global health expenditures on diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2016;117:48-54.
2. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 2014;103:137-49.
3. Bonora E and Tuomilehto J. The pros and cons of diagnosing diabetes with A1C. *Diabetes Care* 2011;34(S2):S184-90.
4. Yun WJ, Shin MH, Kweon SS, Park KS, Lee YH, Nam HS, et al. [A comparison of fasting glucose and HbA1c for the diagnosis of diabetes mellitus among Korean adults]. *J Prev Med Public Health* 2010;43:451-4.

5. Krishnamurti U and Steffes MW. Glycohemoglobin: a primary predictor of the development or reversal of complications of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2001;47:1157-65.
6. Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, Goff DC Jr, Bigger JT, Buse JB, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;358:2545-59.
7. Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes Care* 2012;35(S1):S11-63.
8. Nathan DM. Diabetes: advances in diagnosis and treatment. *JAMA* 2015;314:1052-62.
9. Lee H. The role of HbA1C testing in diagnosing diabetes. *Korean J Med* 2010;79:495-9.
10. Gillett MJ. International Expert Committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes: *Diabetes Care* 2009;32(7):1327-1334. *Clin Biochem Rev* 2009;30:197-200.
11. Little RR. Glycated hemoglobin standardization--National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) perspective. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1191-8.
12. Weykamp C, John WG, Mosca A, Hoshino T, Little R, Jeppsson JO, et al. The IFCC Reference Measurement System for HbA1c: a 6-year progress report. *Clin Chem* 2008;54:240-8.
13. Sacks DB. Global harmonization of hemoglobin A1c. *Clin Chem* 2005;51:681-3.
14. Braga F and Panteghini M. Standardization and analytical goals for glycated hemoglobin measurement. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1719-26.
15. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33(S1):S62-9.
16. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* 2010;33(S1):S11-61.
17. Icks A, Haastert B, Gandjour A, John J, Lowel H, Holle R, et al. Cost-effectiveness analysis of different screening procedures for type 2 diabetes: the KORA Survey 2000. *Diabetes Care* 2004;27:2120-8.
18. Chung S, Jun SH, Song WH, Song J. Six Years' Experience of accuracy-based proficiency testing for HbA1c in Korea. *J Lab Med Qual Assur* 2015;37:92-100.
19. Braga F, Dolci A, Montagnana M, Pagani F, Paleari R, Guidi GC, et al. Reevaluation of biological variation of glycated hemoglobin (HbA1c) using an accurately designed protocol and an assay traceable to the IFCC reference system. *Clin Chim Acta* 2011;412:1412-6.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline. 2nd ed. EP5-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.
21. 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.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. EP9-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
23. Lee JY, Hong KS, Cho SE. [Comparison of HbA1c analyzers: D-10, Variant II Turbo, Cobas Integra 800, and Afinion AS100]. *Korean J Lab Med* 2010;30:345-50.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Harmonization of glycohemoglobin measurements; approved guideline. C44-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
25. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Executive summary: guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2011;57:793-8.
26. Jaisson S, Leroy N, Guillard E, Desmons A, Gillery P. Analytical performances of the D-100TM hemoglobin testing system (Bio-Rad) for HbA1c assay. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1473-9.
27. Woodworth A, Korpi-Steiner N, Miller JJ, Rao LV, Yundt-Pacheco J, Kuchipudi L, et al. Utilization of assay performance characteristics to estimate hemoglobin A1c result reliability. *Clin Chem* 2014;60:1073-9.
28. Fleming JK. Evaluation of HbA1c on the Roche COBAS Integra 800 closed tube system. *Clin Biochem* 2007;40:822-7.
29. Herpol M, Lanckmans K, Van Neyghem S, Clement P, Crevits S, De Crem K, et al. Evaluation of the Sebia Capillarys 3 Tera and the Bio-Rad D-100 systems for the measurement of hemoglobin A1c. *Am J Clin Pathol* 2016;146:67-77.
30. Rohlffing CL, Parvin CA, Sacks DB, Little RR, Committee NS. Comparing analytic performance criteria: evaluation of HbA1c certification criteria as an example. *Clin Chim Acta* 2014;433:259-63.
31. Little RR. Performance of hemoglobin A1c assay methods: good enough? *Clin Chem* 2014;60:1031-3.
32. Maesa JM, Fernández-Riejos P, Mora CS, de Toro M, Valladares PM, González-Rodríguez C. Evaluation of Bio-Rad D-100 HbA1c analyzer against Tosoh G8 and Menarini HA-8180V. *Pract Lab Med* 2016;5:57-64.
33. 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 A1c assay. *J Lab Med Qual Assur* 2016;38:95-101.