

**ORJİNAL MAKALE**

**TOTAL CK VE CK-MB ÖLÇÜMLERİNDE KULLANILAN FARKLI YÖNTEMLERİN ANALİTİK PERFORMANSININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Zeki ARI\*, Metin AYTEKİN\*\*, M.Ramazan YİĞİTOĞLU\*\*\*, B. Sami UYANIK\* Barış YAR\*

**ÖZET**

Bu çalışmada; 2 farklı yöntemle (kuru kimya ve optimized UV test) total CK ve 3 farklı yöntemle (kuru kimya, optimized UV test ve kemilüminesan enzim immunometrik ölçüm) CK-MB ölçümü yapılarak yöntemlerin analitik performansları karşılaştırıldı. Bu yöntemler sırasıyla Vitros 250, Targa 3000 ve Immulite 120 analizörlerinde çalışıldı. Oluşturulan serum havuzunda hem total CK ölçümünde hem de CK-MB ölçümünde elde edilen analitik varyans katsayısı(AVK%) 10'dan küçük olmakla birlikte en düşük AVK% değeri Vitros 250(kuru kimya) cihazında elde edildi. DPC firmasına ait Level 1 ve Level 2 kontrol serumları ile yapılan ölçümlerde ise en düşük AVK% değeri Immulite 120(kemilüminesan enzim immunometrik) ile elde edildi. Her 3 yöntemin CK-MB sonuçları arasında yapılan korelasyon analizlerinde anlamlı pozitif ilişkiler( $p<0.001$ ) saptandı. Sonuç olarak, farklı yöntemlerle yapılan total CK ve CK-MB ölçümlerinin doğru, kesin ve güvenilir sonuç verdiği; bununla birlikte her kullanıcının yöntem seçimine karar verirken hızlı sonuç alma, maliyet ve diğer faktörleri de göz önünde bulundurması gerektiği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** CK, CK-MB, Analitik performans.

**SUMMARY**

**COMPARISON OF ANALYTICAL PERFORMANCE OF DIFFERENT METHODS USED IN TOTAL CK AND CK-MB MEASURING**

In this study, total CK (with two different methods: dry chemistry and optimized UV test) and CK-MB (with three different methods: dry chemistry, optimized UV test and chemiluminescent enzyme immunometric measuring) was studied and analytical performance was compared for these methods. These methods was carry out with Vitros 250, Targa 3000 and Immulite 120 analyzers, respectively. Analytic coefficient of variations (ACVs%) values from each assay obtained from serum pool were under 10. However, Vitros 250 had less ACV% value than those of others. Similarly, the ACVs% values obtained from Level 1 and Level 2 control sera (from DPC Inc.) were under 10 and Immulite 120 had less ACVs% value for CK-MB measurements than those of others. There was a significant positive correlation between CK-MB results of three assay methods ( $p<0.001$ ). It was concluded that total CK and CK-MB measured in different methods give accurate, precise and reliable results. However, it is suggested that the operator must consider efficiency, cost, and other factors in method preference.

**Key Words:** CK, CK-MB, Analytical performance.

\* Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD – MANİSA

\*\* Viyana Üniversitesi, Medikal Biyoloji Enstitüsü – VİYANA – AVUSTURYA

\*\*\* Sağlık ve Tedavi Vakfı Hastanesi – KONYA

## GİRİŞ

Enzimlerden tıp alanında giderek artan bir şekilde yararlanılmaktadır. Biyolojik sıvılardaki enzimatik ölçümlerin sağlıkta, çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde son derece önemli görevleri ve katkıları bulunmaktadır(1). Bu nedenle enzimatik ölçümlerin olabildiğince doğru ve hassas bir şekilde yapılması önem taşır. Öte yandan laboratuvarlar, kendi analiz sonuçlarının tutarlı olmasına özen göstermelidirler. Bunun için her laboratuvar yöneticisi, kendi laboratuvarına en uygun yöntemi seçmek için kullanılan yöntemlerin özelliklerini bilmek durumundadır (2).

Biz bu çalışmamızda özellikle akut miyokard infarktüsü (AMI) tanısı açısından önemli bir enzim olan kreatin kinaz (CK) ve izoenzimi CK-MB'nin ölçümünde kullanılan farklı yöntemleri doğruluk, hassasiyet, güvenilirlik ve maliyet yönünden karşılaştırmayı amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Total CK ve CK-MB ölçümleri için laboratuvarımıza gelen hastaların serumlarından bir serum havuzu oluşturuldu. Serum havuzu vortex ile iyice karıştırıldıktan sonra iki ayrı yöntemle CK ve üç ayrı yöntemle 20 şer kez CK-MB ölçümü yapıldı. Aynı serum havuzu  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı ve daha sonra her bir yöntemle ardışık 20 gün içinde her gün birer kez çalışıldı.

Kontrol serumu olarak DPC marka Level-1 (12.1-15.7 ng/ml) ve Level-2(86.7-108.0 ng/ml) CK-MB konsantrasyonlarına sahip kontrol

serumları kullanıldı. Kontrol serumları da serum havuzu gibi her üç yöntemle 20 şer kez; ardışık 20 gün boyunca da birer kez çalışıldı.

CK ve CK-MB ölçümü için aşağıdaki cihazlar ve yöntemler kullanıldı:

Çalışmamızda istatistiksel hesaplamalar için Windows SPSS-6.1 programı kullanıldı. Aritmetik ortalama ve  $\pm$  standart sapmalar ( $\times \pm$  SD) hesaplandı. Farklı cihazlarda çalışılan

CK-MB ölçümlerinin % varyasyon katsayıları (%VK) hesaplanarak birbirleriyle karşılaştırıldı. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyon, Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildi.

## BULGULAR

Oluşturulan serum havuzunda ve kontrol serumlarında elde edilen intraassay ve interassay sonuçları ile % VK değerleri aşağıda verilmiştir (Tablo 1-4).

Tablo-1'de görüldüğü gibi her iki yöntemde de intraassay VK% değerleri interassay VK% değerlerinden küçüktü. Yine Vitros 250 cihazından elde edilen analitik varyans katsayısı (AVK%), Targa 3000'den elde edilenden daha küçüktü.

CK-MB ölçümlerinde her 3 yöntemle elde edilen AVK% değerleri 10'dan küçük bulundu. En düşük AVK% değeri Vitros 250'de elde edildi. Her 3 yöntemle bulunan intraassay VK% değerleri, interassay VK% değerlerinden daha küçüktü (Tablo 2).

Cihaz Adı	Yöntem Adı	Kullanılan Kit	Çalışılan Test
1. Vitros 250	Kuru kimya (Dry chemistry)	Vitros CK ve CK-MB özel slaytları	CK ve CK-MB
2. Targa 3000	Optimized UV test	Diasis marka FS kitleri	CK ve CK-MB
3. İmmulite 120	Kemiluminesan-enzim immunometrik ölçüm	İmmulite CK-MB kiti	CK-MB

**Tablo-1.** Oluşturulan serum havuzunda 2 farklı yöntemle ölçülen total CK sonuçlarına ait intra ve interassay varyasyon katsayıları (VK%).

	Intraassay $\bar{x} \pm$ SD (VK %)	Interassay $\bar{x} \pm$ SD (VK %)	AVK%
<b>Targa 3000 (U/L)</b>	98,3 $\pm$ 2,52 (2,56)	98,7 $\pm$ 5,1 (5,2)	2,84
<b>Vitros 250 (U/L)</b>	106,6 $\pm$ 1,0 (0,93)	103,2 $\pm$ 2,87(2,78)	1,52

AVK%: Analitik varyans katsayısı.

**Tablo-2.** Oluşturulan serum havuzunda 3 farklı yöntemle ölçülen CK-MB sonuçlarına ait intra ve interassay varyasyon katsayıları (VK%).

	<b>Intraassay</b>	<b>Interassay</b>	
	$\bar{x} \pm SD$ (VK %)	$\bar{x} \pm SD$ (VK %)	AVK%
<b>Targa 3000 (U/L)</b>	12,8 ± 0,92 (7,2)	14,1 ± 1,6 (11,3)	6,78
<b>Vitros 250 (U/L)</b>	10,2 ± 0,5 (4,8)	10,3 ± 0,8 (7,9)	4,62
<b>Immulate (ng/mL)</b>	3,2 ± 0,2 (6,6)	2,3 ± 0,2 (7,8)	5,11

AVK%: Analitik varyans katsayısı.

**Tablo-3.** DPC kontrol serumunda (Level 1) 3 farklı yöntemle ölçülen CK-MB sonuçlarına ait intra ve interassay varyasyon katsayıları (VK%).

	<b>Intraassay</b>	<b>Interassay</b>	
	$\bar{x} \pm SD$ (VK %)	$\bar{x} \pm SD$ (VK %)	AVK%
<b>Targa 3000 (U/L)</b>	12,8 ± 0,92 (7,2)	14,1 ± 1,6 (11,3)	6,78
<b>Vitros 250 (U/L)</b>	10,2 ± 0,5 (4,8)	10,3 ± 0,8 (7,9)	4,62
<b>Immulate (ng/mL)</b>	3,2 ± 0,2 (6,6)	2,3 ± 0,2 (7,8)	5,11

AVK%: Analitik varyans katsayısı.

**Tablo-4.** DPC kontrol serumunda (Level 2) 3 farklı yöntemle ölçülen CK-MB sonuçlarına ait intra ve interassay varyasyon katsayıları (VK%).

	<b>Intraassay</b>	<b>Interassay</b>	
	$\bar{x} \pm SD$ (VK %)	$\bar{x} \pm SD$ (VK %)	AVK%
<b>Targa 3000 (U/L)</b>	69±4,74 (6,87)	75,8±5,27 (6,95)	4,33
<b>Vitros 250 (U/L)</b>	44,02±0,15 (0,34)	48,4±1,40 (2,89)	1,45
<b>Immulate (ng/mL)</b>	94±1,05 (1,12)	98,9±2,13 (2,15)	1,21

AVK%: Analitik varyans katsayısı.

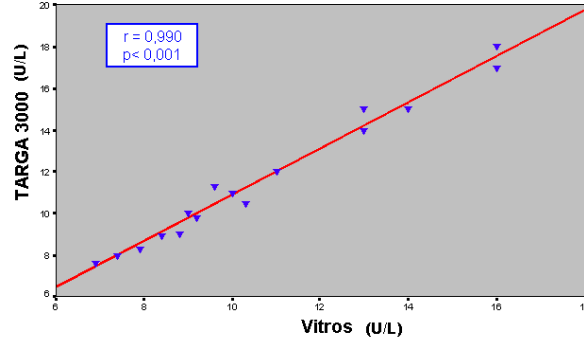
Çalışmamızda kullanılan kontrol serumlarında alt ve üst sınırlar: Level 1 için 12,1-15,7 ng/mL, Level 2 için ise 86.7-108 ng/mL idi. Level 1 ve Level 2 kontrol serumlarının hedef değerleri ise, sırasıyla 13.9 ng/mL ve 97.0 ng/mL idi. Buna göre Immulate 120 ile ölçülen CK-MB ölçümlerinde hedef değerlere oldukça ulaşıldığı görülmektedir. Kontrol serumlarında U/L cinsinden hedef değerler verilmemiştir. Bununla birlikte diğer iki yöntemle elde edilen intra ve interassay VK% değerlerinin Immulate 120 ile elde edilen değerlerle paralellik gösterdiği bulundu (Tablo 3 ve 4).

Üç farklı yöntemle ölçülen CK-MB sonuçları arasındaki korelasyon katsayılarını bulmak amacıyla rutin biyokimya laboratuvarına gönderilen serumlardan rasgele 20 tane seçildi. Bu serumlardan ölçülen CK-MB analizine ait korelasyon katsayıları Tablo-5'de verilmiştir.

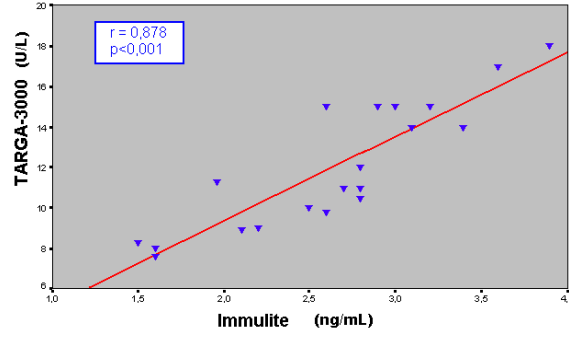
Vitros 250 ile Targa 3000, Immulate 120 ile Targa 3000 ve Immulate 120 ile Vitros 250 cihazlarında ölçülen CK-MB sonuçları arasındaki korelasyon katsayıları ve serpiştirme diyagramları sırasıyla Şekil-1, 2 ve 3'de gösterilmiştir.

**Tablo-5.** Rasgele seçilen 20 farklı serumda 3 farklı yöntemle ölçülen CK-MB analizine ait korelasyon katsayıları.

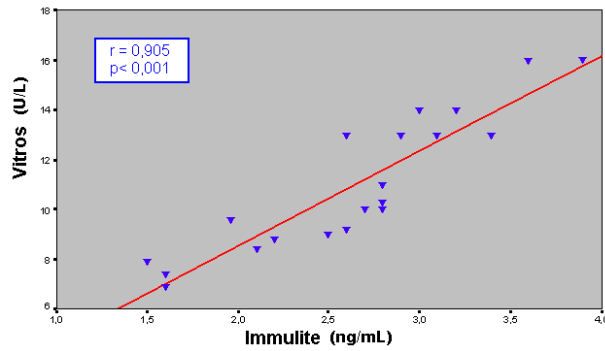
	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Targa 3000 (U/L)-Vitros 250 (U/L)</b>	0.990	<0.001
<b>Targa 3000-Immulate (ng/mL)</b>	0.878	<0.001
<b>Vitros 250 (U/L)-Immulate (ng/mL)</b>	0.905	<0.001



**Şekil-1.** Targa 3000 ve Vitros 250 otoanalizörleriyle ölçülen CK-MB sonuçları arasındaki korelasyon analizi ve serpiştirme grafiği.



**Şekil-2.** Targa 3000 ve Immulate 120 otoanalizörleriyle ölçülen CK-MB sonuçları arasındaki korelasyon analizi ve serpiştirme grafiği.



**Şekil-3.** Vitros 250 ve Immulate 120 otoanalizörleriyle ölçülen CK-MB sonuçları arasındaki korelasyon analizi ve serpiştirme grafiği.

Şekil 1, 2 ve 3'ün incelenmesinden, her üç yöntemle bulunan değerler arasında istatistiksel olarak çok önemli ( $p < 0.001$ ) korelasyon olduğu görülmektedir.

## TARTIŞMA

Daha doğru ve kesin sonuçlar elde etmek, kullanılan reaktif hacmini ve masrafı azaltmak amacıyla otomasyona uygun yeni analitik yöntemler geliştirilmektedir. Rutin kalite kontrol çalışmaları ile metod karşılaştırma çalışmaları birbirinden farklı şeylerdir. Rutin kalite kontrol izleminde, hastaya yanlış sonuç vermektan kaçınmak amacıyla çalışma esnasında olası kalıcı analitik hataların olup olmadığının saptanması, varsa dışlanması amaçlanır(3). Yeni bir yöntem geliştirilip, ticari amaçla pazarlanmak istendiğinde ilk önce yöntemin analitik performansı kanıtlanarak FDA (Gıda ve İlaç Kurumu) patenti alınmak zorundadır. Bununla birlikte, yeni metodları kullanacak her olası araştırmacı veya uygulayıcı da yeni yöntemi halen kullanmakta olduğu yöntemle karşılaştırarak, metodun analitik performansı hakkında bilgi sahibi olmak istemektedir. Bu amaçla bir çok metod değerlendirme çalışması hastanelerdeki veya piyasa laboratuvarlarındaki laboratuvar personeline yapılmaktadır. Oysa çoğu laboratuvarlarda koşullar her zaman yeterince sabit (veya standart) olmadığından, bazen objektif olmayan değerlendirmeler yapılabilmesi olasıdır. Her yöntemin klinik olarak kabul edilebilir bir hata oranı vardır. Bu oran total CK için %30 (200 U/L olarak kabul edilen üst-sınır karar verme noktası için  $\pm$ %30 için 170-230 U/L arasındaki analitik performansı kabul edilebilir hatadır), CK-MB için ise 3xStandart sapma (üst sınır karar verme düzeyi olarak 13 ng/mL) kabul edilmiştir (4,5). Yöntemin hatası kabul edilebilir hatayı aşarsa, analitik performans kabul edilmez; ya da tersine, yöntemin hatası kabul edilebilir hata oranından küçükse, yöntemin analitik performansı kabul edilebilir (6).

Analitik işlemlerin performansını etkileyen hatalar genellikle rasgele hata veya sistematik hata olarak 2 grupta sınıflandırılabilir. Rasgele hataya katkıda bulunan faktörler şunlardır: 1.Aletin dayanıklılığı; 2.Sıcaklık değişimleri, 3.Reaktif ve kalibratördeki varyasyonlar (kalibrasyon eğrisinin stabilitesi); 4. Pipetleme, karış-

tırma ve zamanlama hataları; 5. Sık sık kullanıcı değişikliği. Rasgele hata (RH) metodun kesinliğini (precision), tekrarlanabilirliğini (repeatability) göstermek için kullanılır. Bir diğer ifadeyle, rasgele hata intraassay (deney içi) varyasyon katsayısı ( $\delta_{di}^2$ ) ile interassay (deneyler arası) varyasyon katsayılarının ( $\delta_{da}^2$ ) karelerinin toplamı metodun total varyansını ( $\delta_t^2$ ) vermektedir (3).

$$\delta_t^2 = \delta_{di}^2 + \delta_{da}^2$$

Sistematik hata (SH) ise devamlı sabit olarak düşük ya da yüksek yanlış sonuçlara yol açan hatayı tanımlamak için kullanılır. Burada hata orantısal veya sabit olabilir. Bizim çalışmamızda 3 farklı yöntemin hiç birisinde SH söz konusu değildi. Rasgele hata oranı ise kabul edilebilir sınırlardaydı.

AMI'ne bağlı ölümlerin %40-60 gibi büyük bir yüzdesi, olayın başlangıcından itibaren ilk bir saat içinde aritmi veya ventiküler fibrilasyon nedeniyle olmaktadır. Bu nedenle AMI' de erken tanı ve hospitalizasyon mortalite oranını düşürmek için son derece önemlidir. Total CK ve CK-MB analizleri AMI için son derece diagnostik öneme sahiptirler. Bilindiği gibi CK-MM, erişkin iskelet kası dokusunda major CK izoenzimidir; iskelet kaslarının çoğu için CK-MB konsantrasyonu total CK aktivitesinin %3' ünden azını oluşturmaktadır. Erişkin kalp kası için bu oran %14-42 arasında olup, geri kalanın çoğunu CK-MM izoenzimi teşkil etmektedir (3).

Çalışmamızda total CK ölçümleri için rutin biyokimya laboratuvarına gelen hasta serumlarından rasgele seçilerek oluşturulan serum havuzunu kullandık. Serum havuzunda Targa 3000 ve Vitros 250 otoanalizörlerinde ölçülen total CK aktivitesi için intraassay VK% değerleri sırasıyla 2.56 ve 0.93 bulundu. Interassay VK% değerleri ise yine sırası ile 5.2 ve 2.78 bulundu. AVK% ise Targa 3000 için 2.84, Vitros 250 için ise 1.52 idi. Bu sonuçlara göre her iki yöntemle yapılan total CK analizlerinin analitik performansları kabul edilebilir sınırdadır bulunmuştur. Öte yandan, otoanalizör ölçümlerinde sonucun güvenilir olması kadar hızlı elde edilebilir ve ucuz olması da önemlidir. Serum analizöre yerleştirdikten sonra sonucun elde edilmesine kadar geçen süre, Targa 3000 otoanalizöründe 15 dakika, Vitros 250 otoanalizöründe ise 6 dakikaydı. Dolayısıyla Vitros 250 otoanalizö-

ründen alınan total CK sonucunun daha hızlı ve daha kesin olmasına karşın, maliyet yönünden diğer yöntemlere göre test bazında daha pahalı olduğu söylenebilir.

Oluşturulan serum havuzunda 3 farklı yöntemle 20'şer defa CK-MB ölçümü yapıldı ve intraasay VK% değerleri bulundu. En küçük VK%'si (%4.8) Vitros 250 kuru kimya analizöründe elde edilmesiyle birlikte, diğer iki yöntemin intraasay VK%'leri de kabul edilebilir değerlerdi. Ardışık 20 gün boyunca, günde bir kez yapılan CK-MB sonuçları ile hesaplanan interassay VK% değerleri için de aynı durum söz konusu idi. DPC firmasının düşük (Level 1) ve yüksek (Level 2) düzey CK-MB kontrol serumları ile yaptığımız analizlerde (Tablo-3 ve Tablo-4) en küçük AVK% değerini Immulite 120 analizöründe yaptığımız ölçümlerde elde ettik (Level 1 için %3, Level 2 için % 1.21). Diğer iki yöntemle elde edilen AVK% değerleri de iyi bir analitik performansın göstergeleriydi.

Oluşturulan serum havuzunda Targa 3000 ve Vitros 250 analizörleri ile elde ettiğimiz U/L cinsinden değerler birbirleriyle paralellik göstermesine karşın (Tablo-2), aynı paralellik Level 1 ve Level 2 kontrol serumları için yoktu (Tablo-3 ve 4). Bunun nedeni, kullandığımız kontrol serumlarının Immulite 120 cihazı için özel olarak üretilmiş olmasından dolayı, diğer 2 yöntem için interferans olasılığı olabilir. İnterferans sonucu Targa 3000 ve Vitros 250'de yapılan ölçümlerin doğruluğunun (accuracy) etkilenmiş, kesinliğinin (precision) ise etkilenmemiş olduğu düşüncesindeyiz.

Rutin biyokimya laboratuvarına gönderilen ve diğer rutin biyokimyasal test sonuçları normal olan serumlardan 20 tanesi korelasyon analizi yapmak amacıyla seçildi. Her 3 yöntem sonuçlarının birbirleriyle istatistiksel açıdan çok anlamlı şekilde ( $p < 0.001$ ) korele olduğu bulundu (Tablo-5, Şekil-1,2 ve 3).

Sonuç olarak; 2 farklı yöntemle (Targa 3000 ve Vitros 250) yapılan total CK analiziyle, 3 farklı yöntemle (Targa 3000, Vitros 250 ve Immulite 120) ölçülen CK-MB ölçümlerinin doğru, kesin ve güvenilir sonuç verdiğini belirledik. Bununla birlikte kullanıcının hızlı sonuç elde etme, maliyet ve kendi laboratuvar şartları gibi faktörleri de göz önünde bulundurarak yöntem seçimi yapmasının uygun olacağı düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Yalçın S. *Enzimler: Onat T, Emerk K. ed., Temel Biyokimya, Cilt-I, 2.Baskı, Saray Medikal Yayıncılık; İzmir, 1997, s. 269-84.*
2. Aslan D, Kuralay F, Tanyalçın T, Tanyalçın O. *A practical analytical quality report on the effect of carotenemia on neonatal bilirubin levels. Accred Qual Assur, 5:54-7, 2000.*
3. Kaplan L.A, Pesce A.J. *Clinical Chemistry, 3<sup>th</sup> edition, Mosby Co., 1996, pp. 403-4.*
4. Moss DW, Henderson R. *Clinical Enzymology. In Burtis CA, Ashwood ER, ed., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition, W.B. Saunders Company, 1999, pp. 657-8.*
5. McBride J.H, Schotters S.B. *Immunochemical extraction and automated measurement of plasma kreatine kinase MB isoenzyme and creatine kinase MB2 isoform. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 11: 163-8, 1997.*
6. Harter HR, Karl IE, Klahr S, Kipnis DM. *Effects of reduced renal mass and dietary protein in take on amino acid release and glucose uptake by rat muscle in vitro. J. Clin. Invest.; 64: 513-9, 1979.*