

# Sıvı (Donmayan) Kontrol Serumlarının Klinik Biyokimya Laboratuvarı Kalite Kontrol Programındaki Yeri

Mustafa GÜLTEPE  
İsmail KURT  
Şerif AKMAN  
Türker KUTLUAY  
Levent KARACA

EVALUATION OF LIQUID SERUM CONTROL  
MATERIALS FOR THE QUALITY-CONTROL  
PROGRAM IN CLINICAL BIOCHEMISTRY LABORATORY

Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA

Geliş Tarihi: 28 Ağustos 1987

## SUMMARY

*Laboratuvarımızda hazırlanan sıvı kontrol serumlarındaki biyokimyasal testlerin zaman ile önemli bir değişim gösterip göstermediği lineer regresyon analizi ile araştırıldı. Litresinde 3.6 mol etilen glikol içeren sıvı kontrol serumu 3 ay süre ile, % 30 oranında liofilize edilip aynı oranda etilen glikol ile karıştırılan sıvı kontrol serumu ile 2 ay süre ile izlendi, incelediğimiz testlerden asit fosfataz hariç hiçbiri önemli bir değişim katsayısı (CV) göstermez iken büyük çoğunluğu da zaman ile istatistiksel olarak önemli bir trend göstermedi ( $p > 0.05$ ). Sonuçta, litresinde 3.6 mol etilen glikol bulunan sıvı kontrol serumumuzun her laboratuvarda hazırlanabilir özellikte olması nedeniyle, laboratuvar kalite kontrolünü güvenilir olarak kullanılabileceği gözlemlendi.*

Anahtar kelimeden Kalite kontrol, sıvı kontrol serumu, trend .m.d/a

*To evaluate the liquid control serum prepared in our clinical laboratory we analyzed it for biochemical analytes during a long-time and the data were subjected to linear regression analysis whether there was a trend or not. Liquid serum control material with 3.6 mol ethylene glycol per liter and the other liquid serum lyophilized at the rate of 30% and homogenized with the same quantity ethylene glycol were analyzed 3 and 2 months respectively. None of the biochemical tests analyzed except for acid phosphatase showed unacceptable coefficient of variation (CV) and most of them didn't exhibit statistically significant trend ( $p > 0.05$ ). Finally, liquid serum control material with 3.6 mol ethylene glycol per liter can be prepared in every clinical laboratory and used reliably for laboratory quality control.*

Key words: Quality control, liquid control sera, trend analysis

T Kİ Tıp Bil Aras Dergisi C.6, S.3, 1988, 187-191

T J Research Mod Sci V.6, N.3, 1988,187-191

Polihidrik alkollerin enzim inaktivasyonunu ve buna bağlı olarak enzim denatürasyonunu önlemesi uzun süredir bilinen fakat detayları tam açıklanamayan bir olaydır (14). Bu etkiyi gösterenlere gliserol, mannitol, sukroz ve etilen glikol örnek olarak verilebilir. Biyolojik örneklerin stabiliteilerinin devamını sağlamak bakımından da gliserol ve polihidrik alkoller iyi bilinmektedirler. Bazı araştırmacılara göre (2) bu olayın temelinde yatan etkenlerden biri de biyolojik yapıdaki önemli gruplardan biri olan sulfidril gruplarının sulu çözeltilerinde kolaylıkla karboksimetilasyona uğramasının önlenmesidir. Aynı kişiler, potasyum-bağlı aldehyd dehidrogenaz enziminin inaktive olmasını önlemek için bir polihidrik alkole gerek duyulması ve iki substrat ile bir ürünü bağlayabilen iki aktif böl-

gesinin bulunması nedeniyle "gliserolün stabilize edici etkisini" gözlemek amacıyla detaylı olarak incelediler. Sonuçta, enzimin, birbirine benzer dört subunitinin disosiasyon ve asosiasyonu üzerine gliserolün etkilerini belirlediler.

Bu bulgulara dayanarak ilk defa 1975 yılında sıvı kontrol serumu hazırlandı (6). Kullanılan etilen glikolün enzim stabilize edici etkisinin yanısıra, yüksek osmolalitesi, bakteriyel büyümeye engel olması, antioksidan özellikler taşıması, oksijen-labil bileşikler stabilize etmesi, donma noktasını düşürmesi ve -20°C'de sıvı halde kalmasına izin vermesi nedeniyle diğer biyokimyasal analizler üzerinde stabilizer olarak etkilidir.

**Tablo -1**

Litresinde 3.6 mol Etilen Glikol İçeren Sıvı **Kontrol** Serumunun **3 Ay Süre İle** İzlenmesi ve **Lineer Regresyon** Analizi **Sonuçları**

a.	a.	b.	SE <sub>a</sub>	r.	X	S.	L.	p=0.05
AST	90.80	-0.207	0.125	-0.277	87.17	7.326	1.655	I)
ALT	80.40	-0.253	0.103	-0.391	75.97	6.345	2.439	E
ALP	55.63	-0.170	0.048	-0.517	52.64	3.186	3.480	K
Amilaz	1039	7.294	29.01	0.382	1152	164.8	0.251	I)
Asit Fosfataz	0.597	-0.006	0.001	-0.676	0.477	0.099	5.260	E
Total Protein	3.774	-0.002	0.003	-0.140	3.730	0.159	0.627	II
Albumin	2.075	0.007	0.003	0.267	2.206	0.199	2.024	I)
Glukoz	130.9	0.025	0.055	-0.080	130.4	3.155	0.447	!)
Ore	57.38	0.056	0.031	0.318	58.36	1.725	1.765	I)
Kreatinin	1.806	-0.000	0.555	-0.105	1.795	0.061	1.190	I)
ürik Asit	6.668	-0.006	0.003	-0.253	6.550	0.143	2.012	I)
Kolesterol	115.7	-0.066	0.109	-0.104	114.5	6.200	0.603	i)
HDL-Kolesterol	105.7	-0.289	0.013	-0.393	100.6	7.200	15.01	!:
Trigliserid	192.2	0.156	0.142	0.188	195.0	8.180	1.092	I)
Total Bilirubin	3.920	-0.000	0.002	-0.008	3.920	0.152	0.050	I)
Sodyum	147.8	0.066	0.039	0.304	146.8	2.248	1.691	I)
Potasyum	5.162	-0.007	0.003	-0.390	5.020	0.197	2.446	K
Klor	94.52	0.046	0.017	0.411	95.32	1.098	2.585	I'
Kalsiyum	7.289	0.001	0.004	0.049	7.305	0.173	0.3 20	I)
Magnezyum	3.305	0.003	0.002	0.217	3.348	0.1 10	1.355	I)
Bakır	99.12	0.045	0.030	0.060	99.55	3.918	1.490	I)
Çinko	175.0	0.649	0.241	0.524	182.1	7.491	2.686	A
Demir	1 42.5	0.175	0.142	0.240	144.9	5.469	1.230	I)
IDBK	592.6	1.109	0.725	0.251	607.6	33.04	1.520	I)

Kısaltmalar:

a : Kesişme

i) : Eğim

SE<sub>a</sub> : Eğimin (regresyon doğrusunun) standart hatası

(ölçülen analit konsantrasyonlarını, gerçekte olması gereken konsantrasyonlardan farkının standart hatası)

r : Korelasyon katsayısı

S : Standart sapma

t : Student-t önemlilik testi

p : 0.05 % 5 olasılık düzeyi (% 95 güvenlilik sınırı t.SEb)

D : Dayanıklı — 3 aylık süre içinde anlamlı değişim yok (p > 0.05)

A : Artış - 3 aylık süre içinde anlamlı artış var (p < 0.05)

E : Eksilme — 3 aylık süre içinde anlamlı bir düşüş var (p < 0.05)

Laboratuvarımızda hazırladığımız sıvı kontrol serumlarından 3.6 mol/L etilen glikol içereni 3 ay, % 30 liyofilize olanı ise 2 ay süre ile incelendi ve biyokimyasal analitlerin dayanıklılığı lineer regresyon analizi ile değerlendirildi.

## YÖNTEM

Çalışmamızda kontrol serumundaki analitlerin dayanıklılığını istatistiksel olarak değerlendirmek için "lineer regresyon analizi" (trend analizi) kullanıldı.

Zaman değişkeni (x), analit konsantrasyonu (y) ile belirtildi ve 3 aylık süre boyunca 34 kez çalışılan biyokimyasal test sonuçlarındaki düşüş ya da yükselişlerin istatistiksel önemi ve sistematik bir eğimin bulunup bulunmadığı araştırıldı. Bu istatistiksel değerlendirme Hartman ve ark. (9)'nın belirttiği şekilde uygulandı.

$$Lg.m(b) = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{n (\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

**Tablo - II**

Litresinde 3.6 mol Etilen Glikol İçeren  
Sıvı Kontrol Serumunun 3 Aylık Süre İçin  
Yüzde Değişim Değerleri (CV)

	%cv		%cv
1. AST	8.40	13. Triglisericid	4.19
2. ALT	8.35	14 Total protein	4.26
3. ALP	6.05	15. Albumin	9.02
4. Glukoz	2.41	16 Amilaz	14.30
5. Üre	2.95	17 Asit fosfataz	20.75
6. Kreatinin	3.39	18 Kalsiyum	2.36
7. Sodyum	1.53	19 Magnezyum	3.28
8. ürik asit	2.18	20. Bakır	3.93
9. Potasyum	3.92	21 Çinko	4.11
10. Klor	1.15	22. Demir	3.77
11. Kolesterol	5.41	23 Demir bağlama	5.43
12. HDL-Kolesterol	7.15	21 Bilirubin	3.87

$$\text{Eğimin standart hatası (SE}_b\text{)} = \sqrt{\frac{\sum (y - \hat{y})^2}{n-2} \left( \frac{1}{n} + \frac{x^2}{\sum x^2} \right)}$$

$$Y = a + bx$$

$$x = \text{günler}$$

$$y = \text{analit konsantrasyonu}$$

$$Y = \text{doğru formülünden hesaplanan analit konsantrasyonu}$$

Hesaplanan negatif ya da pozitif eğim değerinin önem kontrolü  $p = 0.05$  olasılık düzeyinde yapıldı. Bu değerlerin sıfırdan farklı olup olmadığı, yani istatistiksel olarak önemli bir eğimin varlığı araştırıldı. Bunun için;

formülü kullanıldı. Bu  $t$  değeri kritik değerler tablosundaki  $t$  değeri ile karşılaştırıldı ve  $b$  değerinin % 95 güvenirlilik aralığı ise  $\pm t \cdot SE_b$  olarak seçildi.

Eğimi (b) negatif çıkan testlerin konsantrasyonu ya da aktivasyonunun zaman ile düştüğü, pozitif çıkan testlerin ise zaman ile arttığı kabul edildi.

## BULGULAR

Sıvı kontrol serumlarının uzun süre izlenmesi sonucunda test sonuçlarının değişim gösterip göstermediği ve bu değişimlerin önemliliği Tablo-I ve Tablo-III'de görülmekte ve ayrıca bu süre içindeki tekrarlanabilirlikler de Tablo-II'de görülmektedir.

## TARTIŞMA

Sıvı kontrol serumlarından 3.6 mol/L etilen glikol içereninin üç ay sonundaki lineer regresyon analiz sonuçlarını şu şekilde sıralayabiliriz:

Aspartat aminotransferaz, zamana karşı  $b = -0.207$ 'lik bir eğim göstermiş, bu eğimin zaman ile korelasyonu ise çok düşük bulunmuştur ( $r = 0.277$ ). Regresyon doğrusunun eğimi ise önemsizdir ( $p > 0.05$ ). Bu durumda,  $p = 0.05$  düzeyinde  $b$  değeri-

**Tablo - III**

% 30 Oranında Liyofilize Edildikten Sonra Aynı Oranda Etilen Glikol İle Homojenize Edilen Kontrol Serumunun 2 Ay Süre İle İzlenmesi ve Lineer Regresyon Analizi

	a.	b.	SE <sub>b</sub> .	r.	X	S.	t.	p = 0.05
Sodyum	134.8	0.031	0.075	0.113	135.0	0.953	0.410	D
Potasyum	4.984	0.008	0.005	0.397	5.040	0.075	0.570	D
Klor	96.25	0.024	0.050	0.131	96.40	0.640	0.480	D
Glukoz	110.7	-0.034	0.075	-0.126	110.5	0.957	0.460	D
Üre	34.43	0.073	0.086	0.227	34.90	1.114	0.840	D
Kreatinin	1.183	0.003	0.003	0.269	1.200	0.049	1.010	D
ürik Asit	4.122	0.008	0.006	0.334	4.170	0.082	1.350	D
AST	431.6	0.111	-0.199	0.152	432.3	2.527	0.550	D
ALT	436.2	0.353	0.337	0.276	438.5	4.405	1.04	D
ALP	52.60	0.073	0.084	0.227	53.08	1.114	0.860	D
Kolesterol	144.5	0.038	0.126	0.836	144.7	1.587	0.300	D
Triglisericid	150.7	-0.073	0.096	-0.205	150.2	1.233	0.179	D
Total Protein	6.250	0.003	0.004	0.223	6.270	0.059	0.830	D
Albumin	3.463	0.001	0.005	0.083	3.470	0.072	0.300	D

iniz  $\pm$  t.S.E. aralığında çıkmıştır. Sonuçta kontrol serumumuzdaki AST aktivitesinin değişmediği ve sıvı olarak saklandığı halde güvenileceği anlaşılmıştır (Tablo-I).

Alanin aminotransferaz'ın eğimi ise ( $p < 0.05$ ) bulunmasına rağmen sınırda bir t değerine sahip olması kesin bir karara varmamızı önlemin ve yine zaman ile küçük bir korelasyon göstermesi,  $r = 0.39$ , bu enzimin de daha uzun süre aktivite kaybı göstermeyeceği izlenimini vermiştir. Alkalen fosfataz'ın ise düşük bir eğime sahip olmasına rağmen zaman faktörü ile orta derecede bir korelasyon göstermesi,  $r = 0.517$  ve eğimin anlamlı bulunması ( $p < 0.05$ ), daha uzun süre izlenmesini gerektirmektedir. Bu dönemde tekrarlanabilirliğin % 6.05 (Tablo-11) olması da bunu doğrulamaktadır. İncelenen diğer enzimlerden amilaz dayanıklı, asit fosfataz ise dayanıksız bulunmuştur. Fakat asit fosfatazın zaten dayanıksız olduğu ve stabilite için asit pH gerektirdiği de unutulmamalıdır.

Total protein, albumin, glukoz, kreatinin, ürik, asit, kolesterol ve trigliserid için sıvı kontrol serumunun güvenilir olduğu ve bu analitlerin dayanıklılığının çok daha uzun süre devam edeceği gözlenmiştir ( $p > 0.05$ ) Sıvı kontrol serumu içindeki ürenin dayanıklı olmasının bizim için önemli bir yanı da bakteri kaynaklı üreaz'm ve bakteri kontaminasyonunun bulunmamasıdır.

Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-Kolesterol) için ise olumlu sonuç alınmamıştır. Herşeyden önce çöktürme ilkesine dayanan HDL-Kolesterol ölçüm yöntemimizde HDL-Kolesterol için  $x = 105.7$  gibi total kolesterol düzeyine yakın bir ortalama değer almamız, etilen glikolun HDL dışındaki apoproteinlerin tam olarak çökmesini önlediği kuşkusuna ortaya çıkarmış ve hem doğruluk (accuracy) hem de tekrarlanabilirlik (precision) açısından güvenilir olmayacağını düşündürmüştür. Bu bulgumuz diğer bazı araştırmacıların bulguları ile (1,3,15) benzerlik göstermektedir. Diğer ilginç bir sonuç, total bilirubin için elde edildi ve ışığa dayanıksız olmasına rağmen bilirubin'in sıvı kontrol serumunda uzun süre dayanıklı olduğu gözlemlendi ( $p > 0.05$ ).

Elektrolit ve eser elementlerden sodyum, kalsiyum, magnezyum, bakır, demir ve total demir bağlama kapasitesi ölçümleri önemli bir eğim göstermemiş ve bu testler için kontrol serumumuz güvenilir bulunmuştur. Potasyum ve klor için anlamlı eğim saptanmış fakat sınırda bulunan değerlerin sadece istatistiksel olarak anlamlı olduğu, daha uzun sürede bu testler için de olumlu sonuca varılacağı düşünüldü. Çinko

ölçümlerinde anlamlı derecede pozitif eğim bulundu, fakat aynı dönemde çinko lambasının enerjisinin azaldığı da anlaşıldığından bu test için fikir edinilemedi. Bu 3 aylık dönemde ise, testlerimizden asit fosfataz hariç hiçbiri önemli bir tekrarlanabilirlik problemi göstermemiştir (Tablo-11).

Litresinde 3.6 mol etilen glikol içeren kontrol serumu ile ilgili bulgularımız Hartmann ve ark. (9) 'nın bulguları ile de benzerlik göstermektedir. Frajola ve ark.'nın (6) hazırladıkları % 30 liyofilize-sıvı kontrol serumuna benzer olarak hazırladığımız sıvı kontrol serumumuz ise iki ay süre ile 14 test üzerinde denendi (Tablo-III), izlediğimiz testlerden hiçbiri pozitif ya da negatif eğim göstermedi. Buna rağmen % 30 oranında da olsa liyofilizasyonun lipoproteinler üzerine olumsuz etki yaratabileceği göz önünde bulundurulması gerekir düşüncesindeyiz. Sıvı kontrol serumlarının otomasyon cihazlarındaki kullanılabilirliği ve güvenilirliğini inceleyen bazı araştırmacılar ise etilen glikol nedeniyle viskozitesinin daha fazla olduğunu ve testlerdeki tekrarlanabilirliğin, liyofilize serumlara göre daha az olduğunu ileri sürmüşlerdir (5, 7). Liyofilize kontrol serumlarının dayanıklılıklarını inceleyen bir kısım araştırmacı da, bazı testler için olumlu, bazıları için ise olumsuz yargıya varmışlardır (10, 11). Ayrıca liyofilize serumların tekrar sulandırıldıktan sonra dayanıklılıklarının özellikle enzimler için problem olduğu ve hem doğruluk hem de tekrarlanabilirliğin iyi olmadığı ileri sürülmektedir (4, 8). Diğer taraftan alkalen fosfatazın dondurulmuş ve liyofilize serumlarda çözüldükten veya sulandırıldıktan sonra süratle yükseldiği yada renatüre olduğu bildirilmektedir (1 2,13). Taze serumlarda bile labil olduğu bilinen bu enzim, liyofilize ya da dondurulmuş serumlarda ise çok daha süratle reaktif olmaktadır. Bütün bu dezavantajlar ise sıvı kontrol serumunda bulunmamaktadır.

Çalışmamızda sonuç olarak şunları gözledik :

- Litresinde 3.6 mol etilen glikol bulunan sıvı kontrol serumu her laboratuvarda hazırlanabilir özellikte olup, laboratuvar kalite kontrolünde güvenilir olarak kullanılabilir.
- % 30 oranında liyofilize edilip sonra aynı oranda etilen glikol ile karıştırılmış sıvı kontrol serumu da çok güvenilir olmasına rağmen liyofilizasyon cihazına gerek göstermesi nedeniyle pratik olmayabilir..
- Sıvı kontrol serumuna laboratuvar çalışanlarınınca daha fazla güven duyulması ve hasta serumundan ayırdedilebilmesi ise önemli bir üstünlük olarak kabul edilebilir.

## KAYNAKLAR

- Benderson V, GR Warnick, JJ Albers: Evaluation of assayed chemistry control pools for measurement of high-density lipoprotein. Clin.Chem. 30/1:168-169, 1984.
- Bradbury SE, WB Sakoby: Glycerol as an enzyme-stabilizing agent: Effects on aldehyde dehydrogenase, Proc.Nat.Acad.Sci. 69/9:2373-2376, 1972.

3. Bullock DG, TJN Carter, SV Hughes: Applicability of various quality-control sera to assay of high-density lipoprotein cholesterol. *Clin.Chem.* 26/7:-903-907, 1980.
4. Dobrox DA, E Amador: The accuracy of commercial enzyme reference sera. *AmJ.Clin.Path.* 53:60-67, 1970.
5. Elm RJ, BA Gray: Liquid and lyophilized quality-control materials compared for use in continuous-flow analysis. *Clin.Chem.* 30/1:129-131, 1984.
6. Frajola WJ, J Maurukas: A stable liquid human reference serum. *Health Laboratory Science* 13/1 :25-.33, 1976.
7. George H, IE Garrett, SR Kurtz: Two liquid and lyophilized control materials compared, *Clin.Chem.* 29/1 1:1999-2000, 1983.
8. Hanok A, J Kuo: The stability of a reconstituted serum for the assay of fifteen chemical constituents. *Clin. Chem.* 14/1:59-69, 1968.
9. Hartmann AE, RD Juel, RN Barnett: Long-term stability of a stabilized liquid quality-control serum. *Clin. Chem.* 27/8:1448-1452, 1981,
10. Haven GT, NS Lawson, TD Moore: Stability of mean values of organic analytis in lyophilized quality contro serum. *Am.J.Clin.Pathol.* 72/2:274-284, 1979.
11. Lawson NS, GT Haven, TD Moore: Long-term stability of enzymes, total protein, and inorganic analytes in lyophilized quality control serum. *Am.J.Clin.Pathol.* 68/1:1 17-129, 1977.
12. Massion CG, JK Frakenfeld: Alkaline phosphatase: Lability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material. *Clin.Chem.* 18/4:366-373, 1972.
13. Smith AF, BA Fogg: Possible mechanism for the increase in alkaline phosphatase activity of lyophilized control material. *Clin.Chem.* 18/2:1518-1523, 1972.
14. Tanishima K, Y Minamikowa, N Yokogama. MTakeshita. Protective effect of glycerol againts the increase in alkaline phosphatase activity of lyophilized quality-control serum. *Clin.Chem.* 23/10:1873-1877, 1977.
15. Warnick GR, C Mayfield, JJ Albers: Evaluation of quality-control materials for high-density lipoprotein cholesterol quantitation. *Clin.Chem.* 27/1:1 16-123, 1981.