

# Biyokimya Laboratuvarlarında Kalite Kontrol İçin Kullanılan Serumların Hazırlanışı Üzerine Bir Çalışma

Mustafa GÜLTEPE  
İsmail KURT  
Şerif AKMAN  
Türker KUTLUAY  
Levent KARACA

AN INVESTIGATION ABOUT THE PREPARATION  
OF SERUM CONTROL MATERIALS  
FOR QUALITY CONTROL  
IN BIOCHEMISTRY LABORATORIES

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

Geliş Tarihi: 28 Ağustos 1987

## ÖZET

*Kalite kontrol serumunun güvenilirliği, laboratuvarcının, rutin hasta sonuçlarını, kontrol etmesini sağlayan önemli etkenlerden biridir. Çalışmamızda hazırlanması kolay, uzun süre dayanabilen ve güvenilir kontrol serumları hazırlandı. Litresinde 3.6 mol etilen glikol içeren serum harmanı homojenize edildikten ve biyokimyasal analitler "klinik önem düzeyine" yükseldikten sonra -20°C'de sıvı olarak saklandı. Ayrıca aynı serum harmanının bir kısmı %30 oranında liyofilize edildi ve aynı oranda etilen glikol ile homojenize edildi. -20°C'de sıvı olarak saklandı. Her iki sıvı kontrol serumu da kalite kontrol programımızda uzun süre izlendi. Diğer taraftan liyofilizasyonun kontrol serumu hazırlanmasındaki etkileri araştırıldı. Serumdaki pre-beta lipoproteinlerin, liyofilizasyon sonucunda tamamen denatüre olduğu ve belirsiz bazı yapıların oluştuğu elektroforetik olarak saptandı. Sukroz'un lipoproteinlerin denatürasyonunu önlediği ve 619 mmol/L sukroz içeren liyofilize serumun, normal seruma benzer bir absorbans spektrumu verdiği gözlemlendi. Bu nedenle yöntem veya cihaz kalibrasyonunda direkt olarak liyofilize serumun, normal seruma benzer bir absorbans spektrumu verdiği gözlemlendi. Bu nedenle yöntem veya cihaz kalibrasyonunda direkt olarak liyofilize edilmiş kontrol serumları yerine sıvı kontrol serumlarının kullanılmasının daha güvenilir olacağı kanısına varıldı.*

**Anahtar Kelimeler:** Kalite kontrol, kontrol serumları, etilen glikol, sukroz.

T Kİ Tıp BU Araş Dergisi C.6, S.4, 1988 259-264

Klinik biyokimya laboratuvarlarında uygulanan kalite kontrol programlarında genellikle kontrol serumlarının kullanıldığı bilinmektedir. Kontrol serumları, ticari olarak elde edilebilirse de her klinik laboratuvarında

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.6, S.4, 1988  
Turkish Journal of RESEARCH in Medical Sciences V.6, N.4, 1988

## SUMMARY

*Reliability for the quality control sera is one of the important factors contributing to laboratorian to verify the daily tests results. In our study, simple, reliable and stable control materials were prepared. Pooled serum including 3.6 mol ethylene glycol per liter was homogenized and biochemical analytes were risen about "clinical decision level" then stored in liquid form at -20°C. Besides, an aliquot of the same pooled serum was lyophilized at the rate of 30% and homogenized with the same quantity ethylene glycol, then stored at -20°C in liquid form. Both of the two liquid control materials were analyzed in our quality control program for long-term. On the other hand, it was investigated that the influences of lyophilization on preparation of the control sera. After the lyophilization we determined that the pre-beta lipoproteins in normal serum had lacked completely and some unknown materials observed by the electrophoresis technic. We observed sucrose to have kept lipoproteins from denaturation and lyophilized sera including 619 mmol/L sucrose to have displayed absorbance spectrum identical with the normal sera. In the conclusion, we agreed on opinion that the calibration of the methods or instruments with liquid control sera was more reliable than the calibration with direct-lyophilized control sera.*

**Key Words:** Quality control, control sera, ethylene glycol, sucrose

T J Research Med Sci V.6, N.4. 1988 259-264

tuvarın kendi koşullarında kontrol serumu hazırlaması çeşitli nedenlerle laboratuvar güvenilirliğini artırmakta ve ayrıca laboratuvar kalite kontrol sisteminin geliştirilmesinde etkin rol oynamaktadır (2,3,7,12).

Klinik laboratuvarların test kapasitelerinin artması ile birlikte otomasyon cihazlarının laboratuvardaki kullanım alanı da artmıştır. Bu artışın ortaya çıkardığı önemli sonuçlardan bir tanesi de, deproteinizasyona gerek göstermeyen ve kısa sürede sonuçlanan testlerin gelişmesidir. Özellikle, otomasyon cihazlarına adapte olan testler bu özellikte olanlardır. Bu nedenle, bu analiz yöntemlerinin kontrolü, değişik bir kalite kontrol ve kalibrasyon sistemine gereksinim göstermiştir. Bilindiği gibi, ideal koşullarda, laboratuvar yöntemlerinin kalibrasyonu primer standartlar ile yapılmaktadır. Primer standart, ölçülecek analitin %100 oranında saf ve toz halinden hazırlanan sulu çözeltisidir. Primer standartların elde edilmesindeki veya sulu çözeltilerinin hazırlanmasındaki teknik güçlükler nedeniyle bazı testler için primer standart hazırlanamamaktadır. Böyle durumlarda laboratuvarlarda değeri bilinen serum örnekleri standart gibi kullanılmakta ve bunlara da sekonder standart adı verilmektedir. Bu amaçla da daha çok kalite kontrol serumları kullanılmaktadır. Bu nedenle laboratuvarların kendi kontrol serumlarını hazırlayıp, kontrol serumunu gerektiğinde bir primer standart gibi kullanabilmesi için kalibrasyon protokollerinin geliştirilmesi gerekmektedir (17-11). Ayrıca şunu da belirtmek gerekir ki, klinik laboratuvarda çıkan sonuçların doğruluğunu (accuracy) ve güvenilirliğini (precision), sadece primer standart ya da sadece kontrol serumu ile sağlamak mümkün olmamaktadır.

Kontrol serumlarını başlıca üç grupta toplayabiliriz:

- I. Dondurulmuş kontrol serumları
- II. Liyofilize kontrol serumları
- III. Sıvı (donmayan) kontrol serumları

I. Dondurulmuş kontrol serumları: Laboratuvar koşullarında kolaylıkla hazırlanabilen bu tip kontrol serumları, diğerlerine göre çok daha ucuz ve pratik olmasına karşın bazı olumsuz özelliklere sahiptir.

Bunlar:

a) Dondurma işlemi mum kim olduğunca kısa sürede ve aynı anda yapılmalıdır. Dondurma işleminin uzun sürmesi halinde, iyonların ve suyun harekete nedeniyle aynı tüp ya da siye içerisinde farklı vizkozitede bölgeler oluşabilir.

b) Dondurulduktan sonra çözülen kontrol serumları içerisinde fiyoproteitlerin bir kısmının erimeydiği bilindiğinden birkaç kez yapılan dondurup çözme işlemlerinin kontrol serum üzerine olan etkisi unutulmamalıdır.

e) Dondurulduktan sonra çözülen kontrol serumlarının bulanık olması da önemli bir dezavantajdır.

II. Liyofilize kontrol serumları: Günümüzde yaygın olarak kullanılırlar ve ticari olarak çok çeşitli

firmalardan temin edilebilirler. Bu tip kontrol serumun olumsuz özellikleri ise şunlar olmaktadır:

a) Serumun lipid özelliği, liyofilizasyon sonrası sulandırma işlemi tamamen çözünemediğinden, liyofilize kontrol serumları, sulandırıldıktan sonra turbidite oranı yükselmekte ve turbidite genellikle görünür saha spektruma yayılmaktadır. Bunun önlemek için bazen kör çalışması gerekebilir.

b) Beta ve pre-beta lipoproteinlerin deriatürasyonu ve çözünmez hale gelmesi ile oluşan partiküllerin homojen dağılmaması nedeniyle, çoğu zaman tekrarlanabilirlik ve doğruluk çalışmaları şüphe yaratmaktadır.

c) Liyofilizasyon esnasında, şişeler arasında nemlilik-kuruluk, donma noktası, elektrolitlerin dağılımı ve lipoproteinlerin dinatürasyon oranında farklılıklar görülebilmektedir. Bu nedenle de berraklık şişeden şişeye değişebilmektedir.

ç) Liyofilize serumlar sulandırıldıktan sonra uzun süre dayanıklı değildirler (8,9,10).

d) Özellikle, ticari liyofilize enzim referans serumları, laboratuvarlarda beklenen sonucu verememektedir (5).

III. Sıvı kontrol serumları: İlk defa 1975'te (7) hazırlanan bu tip kontrol serumunda etilen glikol kullanılmıştır. Serum harmanı, vakum altında iken kısmen dehidrate edildikten sonra, uçurulan suyun yerine etilen glikol koyarak tekrar eski hacmine getirildi. Bu araştırmacılar daha sonra etilen glikolün serum enzimlerini stabilize ettiğini ve bakteriyel çoğalmayı önlediğini gözlediler.

Sıvı kontrol serumlarının en büyük özelliği  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanabilmeleri ve donmamalarıdır. Ayrıca, liyofilize serumlar gibi sulandırmaya ihtiyaç göstermemeleri ve homojen bir serum harmanından hazırlanmaları nedeniyle daha güvenilir sayılabilirler. Ancak, bazı ölçüm yöntemlerini interfere edebilirler. Örneğin, saponifikasyon esasına dayanan trigliserid ölçümü veya çöktürme esasına dayanan yüksek dansiteli Mpoprotein kolesterol (HDL-Kolesterol) ölçümü (1) gibi.\*

Liyofilizasyonun olumsuz etkilerini önlemek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Proksch ve ark. (15) optik olarak berrak liyofilize serum elde etmek için seri denemeler yaptılar. Bu araştırmacılar, polisülfat polimerleri ve iki değerli katyonların İnsan serum lipoproteinleri ile çözünmeyen kompleks oluşturmalarından yararlandılar. Pre-beta ve beta-lipoproteinleri çöktürdüler ve berrak liyofilize serum hazırladılar. Ancak bu kontrol serumu lipoproteinleri içermiyordu. Daha sonra yaptıkları bu çalışmada ise çöktürdükleri lipoproteinleri tekrar eriterek kontrol serumuna katmayı ve berrak bir liyofilize serum hazırlamayı başardılar (14).

Çok daha kolay bir berrak-liyofilizasyon yöntemi olarak sukroz'lu Hyofli/asyon ise Wieland ve ark. (18) 'ca bildirildi.

Araştırmamızda, laboratuvarımız kalite kontrol programında daha önce kullanılan dondurulmuş kontrol serumundan daha gelişmiş ve daha güvenilir bir kalite kontrol serumu hazırlamayı amaç edindik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda üç ayrı kontrol serumu hazırlandı. Bunlardan

I. Litresinde 3.6 mol etilen glikol içeren ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de sıvı olarak saklanabilen kontrol serumudur. Bu kontrol serumunda, etilen glikol dilüsyonundan dolayı azalan analit konsantrasyonları sonradan kontrol serumuna katıldı ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de sıvı olarak saklandı.

II. ikinci tip kontrol serumu ise % 30 oranında liyofilize edilen serum harmanına daha sonra aynı oranda etilen glikol katılmasıyla hazırlandı. Bu kontrol serumu da  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de sıvı olarak saklandı.

III. Son olarak da liyofilize tipte kontrol serumu hazırlandı. Bunun için ise iki ayrı yol izlendi:

- Serum harmanının direk liyofilizasyonu ile,
- Litresinde 619 mmol sukroz içeren serum harmanının liyofilizasyonu ile.

Bu tip kontrol serumunda liyofilizasyonun ve sukrozun serum proteinleri üzerine olan etkisi araştırıldı.

Çalışmalarda kullanılan gereç ve kimyasal maddeler: manyetik karıştırıcı, pervaneli mikser, filtre sistemi (Seitz), liyofilizasyon cihazı (Crawley), taramalı spektrofotometre (Shimadzu), dializ membranı (Technicon), dializ pompası (Technicon), trombin, triolein, sukroz (Sigma).

I. tip kontrol serumu hazırlanmadan önce deneysel bir çalışma yapıldı. Bu çalışmada, litresinde 1.8, 3.6, 5.9, 7 ve 9 mol etilen glikol içeren 100 ml'lik kontrol serumları yapıldı ve bu karışımlar 3 ay süre ile hem  $+4^{\circ}\text{C}$ , hem de  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı ve fiziksel dayanıklılığı açısından gözlemlendi.

Yine I. tip kontrol serumunda etilen glikol dilüsyonu nedeniyle özellikle lipoproteinlerin konsantrasyonlarının azalmasını karşılamak için konsantre lipoprotein çözeltisi hazırlandı. Bu çalışma, Proksch ve Bondermanin (13) uyguladığı yöntemin benzeri olarak gerçekleştirildi.

Buna göre:

G.A.T.A. Kan Bankası'ndan kullanma tarihi geçmiş plazmalar biriktirilerek 4 litrelik plazma harmanı yapıldı. Aşağıdaki yöntem ile ikişer litrelik porsiyonlar halinde iki defa çalışılarak lipoproteinler konsantre edildi.

a) Önce plazmaya, litresinde 0.05 mol olacak şekilde  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  ilave edildi, karıştırıldı.

b) 4 M/L'lik NaOH çözeltisi ile pH 7.2'ye getirildi. Litresinde 1000 NIH Unit olacak şekilde trombin ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 25 dakika karıştırılıp fibrin oluşumu tamamlandı.

c) Cam pamuğundan süzülerek serum fibrinden ayrıldı.

d) Elde edilen seruma, litresinde 300 mg olacak şekilde hesaplanan Dextran  $\text{S}0_4$ , 5 ml suda eritilerek katıldı. Manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve daha sonra 30 dakika bekletildi.

e) 4500 rpm'de  $10^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.

f) Presipitata 25 mmol/L  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  çözeltisinden 30 ml katılarak çözüldü ve manyetik karıştırıcı ile 15 dakika karıştırıldı. 12.000 rpm'de  $10^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve presipitat 15 ml suda tekrar homojenize edildi.

g) Bu elde ettiğimiz ürüne 0.25 mol/L  $\text{BaCl}_2$  ve 50 mmol/L olacak şekilde  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  katılarak lipoproteinlerin çözünmesi sağlandı. 4 inol/L NaOH çözeltisi ile pH 6.8'e getirilip bir saat bekletildi. 15.000 rpm'de  $10^{\circ}\text{C}$ 'de 25 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldı.

h) Elde ettiğimiz çözeltinin litresine 0.26 mol olacak şekilde  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ilave edildi. pH 6.8'e getirildi ve 1 saat bekletildi. 15.000 rpm'de  $10^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındı, technicon dializ membranından pompa yardımı ile, 1 kısım süpernatant 20 kısım suya karşı dializ edildi. Bu konsantre lipoprotein çözeltisi kullanıldı.

Aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, alkalen fosfataz düzeylerini yükseltmek için beyaz rat karaciğeri 0.01 mol, pH 7.4 fosfat tampon ile ekstre edildi, 15.000 rpm'de 25 dakika santrifüj edildi, steril olarak süzüldü.

Bilirüben ise 0.1 N NaOH çözeltisi içinde eritilerek kontrol serumuna katıldı.

Asit fosfataz için Ewen ve ark. (6) nm belirttikleri yönteme göre seminal sıvı kaynaklı konsantre enzim çözeltisi hazırlandı. Buna göre;

10 mmol/L pH 7.4 fosfat tamponu serum fizyolojik içerisinde hazırlandı. Daha sonra;

Bovın albumin . . . . . 50 gr.  
Sodyum azid . . . . . 0.2 gr.

fosfat tamponu ile litreye tamamlandı. Bu çözeltinin 2.5 ml'sine 20 mikrolitre seminal sıvı katılarak konsantre çözelti hazırlandı.

Trigliserid düzeylerini yükseltmek için triolein çözeltisi Chongkit ve ark. (4) nın belirttiği gibi hazırlandı. 100 mg triolein için 4 ml triton X-100 karıştırıldı,  $60-70^{\circ}\text{C}$ 'de ısıtıldı, santrifüj edildi ve soğutuldu.

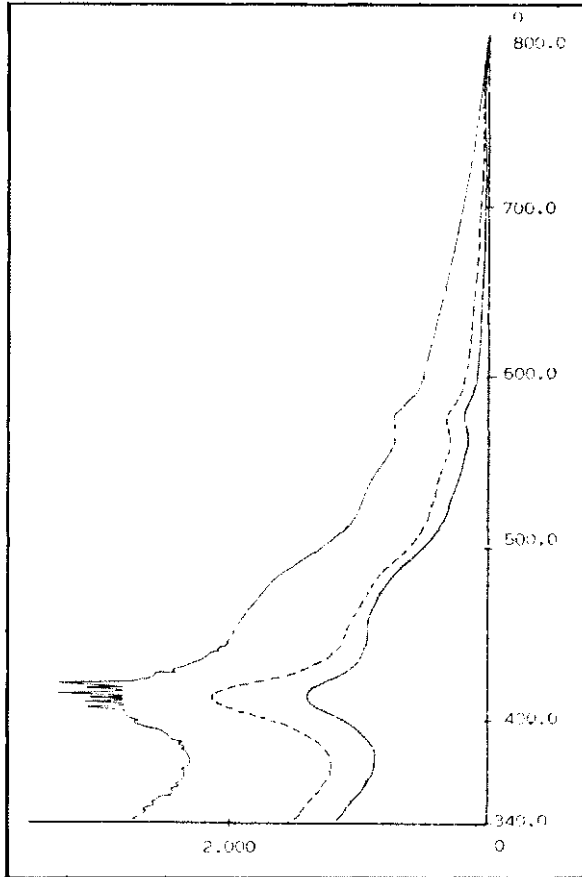
Amilaz kaynağı olarak tükrük kullanıldı. Ayrıca, üre, glukoz, kreatinin, ürik asit, kalsiyum, lityum, potasyum, sodyum, demir için özel bir işlem gerekmeden serum harmanına ilave edildi.

Liyofilize kontrol serumu hazırlanışı, 5 ml'lik hacimlerde 45 mmHg vakum basıncı altında yaklaşık 36 saatte tamamlandı. Bu serum harmanının bir kısmı ise 619 mmol/L olacak şekilde sukroz ile karıştırıldı ve aynı süre ile liyofilizasyona bırakıldı.

% 30 oranında liyofilize kontrol serumu hazırlamak için, kontrol serumları -20°C'de dondurularak 24 saat bekletildi ve daha sonra 8 saat süreyle liyofilize edildiler. Bu süre sonunda şişelerdeki kontrol serumları yaklaşık % 30 oranında liyofilize oldu. Daha sonra bunların oda ısısına gelmesi beklendi ve yavaş yavaş alt-üst edilerek eritildi. Daha sonra bütün şişelerdeki serum bir kaptaki toplandı, son hacim 70 kısım kabul edilip 30 kısım etilen glikol ile homojenize edildi, -20°C'de sıvı halde saklandı.

## BULGULAR

Bir serum örneğinin liyofilizasyon öncesi, direkt olarak liyofilizasyonu sonrası ve sukroz ile belirtilen



Şekil-1. Normal (kalın çizgi), sukrozlu (kesik çizgi), direkt (ince çizgi) liyofilize kontrol serumlarının absorpsiyon spektrumları.

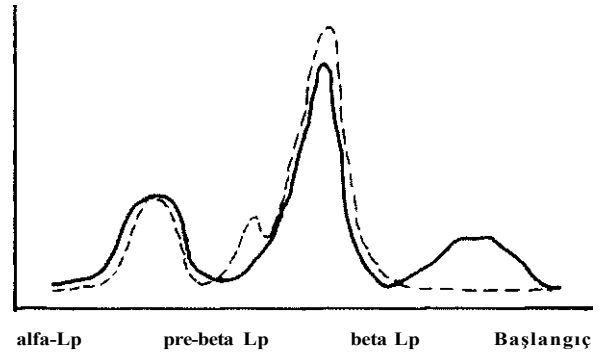
konsantrasyonda karıştırıldıktan sonraki absorpsiyon spektrumları Şekil-1'de görülmektedir. Özellikle direkt liyofilizasyonun yüksek absorpsiyon veren turbiditeye neden olduğuna dikkat edilmelidir.

Bir serum örneğinin iki kısma ayrılarak, bir kısmının direkt olarak liyofilize edilmesi ve bir kısmının ise sukroz ile karıştırıldıktan sonra liyofilize edilmesi ve daha sonra her iki liyofilize serum örneğinin lipoprotein elektroforezi yapılması ile fraksiyonların yüzde değerleri Tablo-1'de ve dansitogram Şekil-2'de görülmektedir.

Tablo - I

Sukrozsuz ve Sukrozlu Liyofilizasyonun Serum Lipoproteinlerine Etkisi

	Sukrozsuz	Sukrozlu	Normal Değer
Alfa Lp	% 33	% 33	% 15-40
Pre-beta Lp		% 7	% 5-15
Beta Lp	% 67	% 60	% 40-55
Şilomikron			% 0-2



Şekil-2. Bir serum örneğinin liyofilizasyon öncesi ve sonrası lipoprotein elektroforezi.

Kesik çizgi: Liyofilizasyon öncesi  
Düz çizgi : Liyofilizasyon sonrası

Tablo - II

Çeşitli Konsantrasyonlarda Etilen Glikol İçeren Kontrol Serumlarının +4°C ve -20°C'deki Dayanıklılıkları

ETİLEN GLİKOL mol/L	DAYANIKLILIK SÜRESİ	
	+4°C	-20°C
18	7 gün	25 gün
3.6	3 ay )	3 ay )
5.9	3 ay )	3 ay >
7.0	3 ay )	3 ay >
9.0	3 ay )	3 ay )

Etilen glikolün kontrol serumlarının dayanıklılıkları üzerine olan etkisi incelendiğinde yeterli stabilitenin sağlandığı en düşük konsantrasyonun 3.6 mol/L olduğu görüldü (Tablo-II).

## TARTIŞMA

Çalışmamız, laboratuvarımızda uygulanan kalite kontrol programının bir tamamlayıcısı olup, bu programın temel taşlarından biri olan kontrol serumu gereksinimini karşılamak ve en uygun olan kontrol serumunu hazırlamak amacıyla yapılmıştır. Çalışma esnasında şu noktalara dikkat edilmiştir:

- a) Dayanıklılı bir kontrol serumu olması,
- b) Saklanması, depolanmasının kolay olması,
- c) Enzim aktivitesinin korunması,
- d) Prezervatif içeriğinin bulunması,
- e) Laboratuvar çalışanınca kontrol serumu olduğunun farkedilmemesi,
- f) Kontrol serumlarının genellikle dış ülkelerden alınması ve döviz kaybına neden olmasından dolayı, hazırlayacağımız kontrol serumunun ucuz olmasının gerektiği.

Liyofilizasyonun serum matriksi üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla liyofilize kontrol serumları hazırlandı. Bunun için de, litresinde 619 mmol sukroz içeren kontrol serumu ve sukrozsuz kontrol serumu aynı koşullarda liyofilize edildi. Aynı serum harmanının, liyofilizasyon öncesi, direk liyofilizasyonu ve sukrozlu liyofilizasyonuna ait spektrofotometrik absorbans değişimleri Şekil-1'de görülmektedir. Normal serumun (kalın çizgi), özellikle sukrozlu liyofilize serum (kesik çizgi) ile benzer absorbans çizgisine sahip olduğu, oysa direk liyofilize serumun özellikle 340-500 nm arasında kabul edilemeyecek bir absorbans çizgisine (ince çizgi) sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca, sukrozlu liyofilize serumun ise sadece 400 nm bölgesinde normal serumdan daha yüksek bir absorbans değerine sahip olduğu görülmektedir.

Bu nedenle serum harmanının direk liyofilizasyonu ile hazırlanan ticari kontrol serumlarının hem laboratuvar kalite kontrol programında hem de sekonder standart olarak yöntem ya da otomatize cihazların kalibrasyonunda kullanılmasının sakıncalı olduğunu gözledik. Liyofilizasyonun serum matriksindeki çeşitli moleküllere denature edici özelliğinin önemli interferasyonlara neden olabileceği düşünüldü. Özellikle kinetik ve enzimatik yöntemlerde her gün farklı kalibrasyona neden olabilecek bu olayın, her liyofilize serum şişesinde farklı oranda olabileceği de düşünülürse ticari kontrol serumlarının dikkatle seçilmesi gerektiği sonucuna varılmaktadır.

Liyofilizasyonun serum proteinleri üzerine etkisi daha açık bir biçimde Tablo-I ve Şekil-2'de görülmektedir. Direkt olarak liyofilize edilen kontrol serumunun pre-beta lipoprotein içeriğinin hemen hemen ta-

mamen yok olduğu ve ayrıca elektroforezde serumun uygulandığı yerde bazı artık materyalin biriktiği açık olarak görülmektedir. Sukrozun lipoproteinlerin denatürasyonunu önlemesi ve direkt liyofilizasyonun lipoproteinleri denature etmesi ile ilgili bulgularımız bu konuda çalışan diğer araştırmacıların bulguları ile benzer özelliktedir (13, 15, 16). Ancak, Wieland ve ark. (18) nın belirttikleri ve sukrozun liyofilizasyondan sonraki turbiditeyi tamamen önlediği şeklindeki görüşlerinden farklı olarak biz, sukrozlu liyofilize serumun, normal serumdan az da olsa farklı bir absorbans çizgisi gösterdiğini gözledik (Şekil-1).

Hazırladığımız diğer bir kontrol serumu ise, yaklaşık % 30 oranında liyofilize edip daha sonra aynı oranda etilen glikol ilave ettiğimiz kontrol serumu olup etilen glikol dilüsyonu olmadığından, analit ilavesine gerek duyulmamıştır. Ancak enzim düzeyini yükseltmek için karaciğer ekstresi kullanılmıştır. Liyofilizasyon cihazının her laboratuvarında bulunmaması nedeniyle bu kontrol serumunun kolaylıkla hazırlanamayacağı düşünülerek, alternatif bir kontrol serumu düşünüldü.

Bu amaçla, çeşitli konsantrasyonlarda etilen glikol içeren kontrol serumları hazırlandı (Tablo-II). Bu karışımlar hem +4°C ve hem de -20°C'de saklandı ve sadece fiziksel gözlem yapılarak her gün durumları kontrol edildi. Bunlardan, hem +4°C ve hem de -20°C'de fiziksel bozunma ve turbidite göstermeyen, en düşük etilen glikol konsantrasyonuna sahip karışım çalışmamızda kullanılmak üzere seçildi. Litresinde 3.6 mol etilen glikol içeren kontrol serumunun en az dilüsyona neden olduğu (yaklaşık 20 dilüsyon) ve aynı zamanda hem +4°C hem de -20°C'de berrak olarak saklanabildiği gözlemlendi.

Bu alternatif kontrol serumundaki etilen glikol dilüsyonu nedeniyle azalan analit konsantrasyonlarının yükseltilmesi, çalışmanın önemli bir bölümünü oluşturdu. Çünkü suda erimeyen bazı analit çözeltilerinin hazırlanması için ayrı çalışmalar yapıldı. Bunun için bazı araştırmacıların (13), liyofilize serumlara dilüent olarak hazırladıkları lipoprotein konsantre çözeltilisini kolesterol ve trigliserid düzeylerini yükseltmek için kullandık. Kan bankasından alınan tarihi geçmiş plazmalar Proksch ve Bonderman'ın (15) belirttiği gibi 1000 NIH Unit/L konsantrasyonda trom ile işleme sokuldu. Dekstran sülfat ve kalsiyum klorür ile çöktürülen lipoproteinler daha sonra eritilip diaiiz edildi ve gereksiz iyonlardan temizlendi. Bu lipoprotein çözeltilisinin laboratuvar için standart olarak da kullanılabilmesi gözlemlendi.

Asit fosfataz kaynağı olarak seminal sıvı, transaminazlar için beyaz rat karaciğeri ve sulu triolein çözeltilisi bunların aktivite veya konsantrasyonunu mümkün olduğunca "klinik önem düzeyine" yükseltmek için kullanıldı.

Daha sonra bu kontrol serumu 3 ay süre ile çalışıldı ve sonuçlar değerlendirildikten sonra toplam 1 yıl süre ile güvenilir olarak kullanıldı. % 30 liyofilize kontrol serumu ise 2 ay süre ile çalışıldı ve değerlendirildi.

Sonuç olarak, litresinde 3.6 mol etilen glikol içeren kontrol serumunun hazırlanışı açısından kolay ol-

ması ve enzimler ile diğer protein yapılan için koruyucu olan etilen glikol içermesi nedeniyle klinik laboratuvarlar için güvenilir bir kontrol serumu ve sekonder standart olabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca, liyofilize kontrol serumlarının, eğer lipoproteinlerin denatürasyonunu önleyen bir işlem altında yapılmadıysa özellikle standart ve kalibratör olarak kullanılmaması gerekir düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Benderson J, GR Warnick, JJ Albers: Evaluation of assayed chemistry control pools for measurement of high-density lipoprotein. *Clin.Chem.* 30/1:168-169, 1984.
2. Berry RE: Frozen versus lyophilized serum in the quality control of clinical chemistry. *The American Journal of Clinical Pathology* 50/6:720-722, 1968.
3. Bowers GN, RW Burnett, DC Hohnadel, J Ladenson, L Larson, RE Vanderlinde, RH Laessing: Preparation and use of human serum control materials for monitoring precision in clinical chemistry. *Clin.Chem.* 21/12: 1835, 1975.
4. Chong-kit R, P McLaughlin: Fully automated, all-enzymatic triglyceride method adapted to the GF.MSAEC centrifugal analyzer, with use of an aqueous triolein standard. *Clin.Chem.* 20/11:1454-1457, 1974.
5. Dobrow DA, E Amador: The accuracy of commercial enzyme reference sera. *Am.J.Clin.Path.* 53:60-62, 1970.
6. Ewen LM, RW Spitzer: Improved determination of prostatic acid phosphatase. (Sodium thymolphthalein monophosphate substrate). *Clin.Chem.* 22/5:627, 631, 1976.
7. Frajola WJ, J Maurukas: A stable liquid human reference serum. *Health Laboratory Science* 13/1:25-33, 1976.
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. Haven GT, NS Lawson, TD Moore: Stability of mean values of organic analytes in lyophilized quality control serum. *Am.J.Clin.Pathol.* 72/2:274-284, 1979.
10. 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.* 68/1:117-129, 1977.
11. Miller WG, DJ Rhodes, CJ Moore: A calibration protocol for serum-based secondary standards. *Clin.Chem.* 28/11:2195-2200, 1982.
12. Poller L: Preparation of quality materials in clinical chemistry and haematology. *Proc.Roy.Soc.Med.* 68: 624-629, 1975.
13. Proksch GJ, DP Bonderman: Development of a stable lipoprotein diluent for use in reconstituting lyophilized human serum for the preparation of clear, hyperlipidemic quality-control materials. *Clin.Chem.* 25/8:1377-1380, 1979.
14. Proksch GJ, DP Bonderman: An optically clear hypercholesterolemic hypertriglyceridemic quality-control material prepared from animal lipid sources. *Clin.Chem.* 27/3:468-471, 1981.
15. Proksch GJ, DP Bonderman: Preparation of optically clear lyophilized human serum for use in preparing control material. *Clin.Chem.* 22/4:456-460, 1976.
16. Proksch GJ, DP Bonderman: Use of a cholesterol-rich bovine lipoprotein to enhance cholesterol concentrations in the preparation of serum control materials. *Clin.Chem.* 22/8:1302-1305, 1976.
17. Terlingen JBA, HJ Dreumel, A Heiningen, GJM Boerma, JC Koedam: Improved preparation of cholesterol calibration and control sera. *Clin.Chem.* 31/7:1201-1203, 1985.
18. Wieland H, D Seidel: Improved assessment of plasma lipoprotein patterns IV. simple preparation of a lyophilized control serum containing intact human plasma lipoproteins. *Clin.Chem.* 28/6:1335-1337, 1982.