

# CK-MB Aktivite ve Kütle Ölçüm Yöntemlerinin Karşılaştırılması

## Comparison of CK-MB Activity and Mass Measurement Methods

Ahmet Burak Gürpınar<sup>1</sup>  Zafer Yönden<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, ORDU, Türkiye

<sup>2</sup> Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, ADANA, Türkiye

Başvuru Tarihi / Received: 23 Kasım 2022

Kabul Tarihi / Accepted: 27 Mart 2023

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada, Akut miyokard infarktüsü (AMI) tanısında laboratuvar belirteçlerinden birisi olan CK-MB parametresinin ölçümü için kullanılan aktivite yöntemi ile kütle yöntemlerinin analitik performansları ve tanısal yeterlilikleri değerlendirildi. Ayrıca serum ve plazma örneklerinde CK-MB sonuçları arasında fark olup olmadığı incelendi.

**Gereç ve Yöntem:** Yöntemlerin analitik performansların belirlenmesi için geri kazanım, interferans, yöntem karşılaştırma ve tekrarlanabilirlik çalışmaları yapıldı. Ayrıca serum ve plazma örneklerinde ölçülen CK-MB sonuçları karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Deney-içi ve deneyler-arası tekrarlanabilirlik sonuçları; her iki yöntem için patolojik düzey serum havuzlarında belirlenmiş arzu edilen %belirsizlik değerinden daha küçük bulunurken, normal düzey serum havuzu için ise, kütle yönteminde belirlenmiş arzu edilen %belirsizlik değerinden düşük, aktivite yönteminde daha yüksek bulundu. Kütle yönteminde %92.5, aktivite yönteminde ise %92.9 geri kazanım tespit edildi. Yöntemler arasında korelasyon katsayısı (r) 0.976 olarak bulundu. CK-MB aktivite için hem duyarlılık hem de özgüllük değeri %90, eğri altında kalan alan (AUC) ise 0.939 olarak bulundu. CK-MB kütle için hem duyarlılık hem de özgüllük değeri %95, AUC ise 0.980 olarak bulundu. Her iki yöntem için patolojik düzeyde plazma ve serum değerleri arasında anlamlı fark görülmedi. Normal düzeyler için, CK-MB aktivite yöntemiyle ölçülen plazma örnekleri serum örneklerinden daha düşük bulunurken (p=0.0039), kütle yönteminde plazma örnekleri serum örneklerinden daha yüksek bulundu (p=0.0078).

**Sonuç:** CK-MB ölçümüne ait kütle ve aktivite yöntemlerinin analitik performansları ve tanısal yeterliliklerinin birbiri ile uyumlu olduğu bulundu. Serum ve plazma örneklerinde, patolojik seviyedeki CK-MB değerlerinde her iki yöntemle ölçülen sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu, ancak normal düzeyde birbirinden farklı olduğu bulundu.

**Anahtar Sözcükler:** Yöntem karşılaştırma, CKMB enzim aktivite, CKMB kütle, Akut koroner sendrom

Ahmet Burak Gürpınar : <https://orcid.org/0000-0003-3227-4682>  
Zafer Yönden : <https://orcid.org/0000-0003-0708-5417>

**Yazışma adresi:** Ahmet Burak Gürpınar  
Tokat Medicalpark Hastanesi, Tıbbi  
Biyokimya, TOKAT, Türkiye  
e-posta: abgurp@yahoo.com

Etik Onay: Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik kurulu (2012/12).

## ABSTRACT

**Aim:** In this study, we evaluated the analytical performance and diagnostic adequacy of the activity and mass methods used for the measurement of CK-MB, a laboratory marker for the diagnosis of acute myocardial infarction (AMI). In addition, the differences between CK-MB results in serum and plasma samples were analyzed.

**Materials and Methods:** Recovery, interference, method comparison, and reproducibility studies were performed to determine the analytical performance of the methods. CK-MB results measured in serum and plasma samples were also compared.

**Results:** Within-run and between-run reproducibility results; For both methods, the pathological level was found to be lower than the desired % uncertainty value defined in the serum pools, while the activity was found to be higher in the normal level serum pool, lower than the desired % uncertainty value determined by the mass method. Recovery was 92.5% for the mass method and 92.9% for the activity method. The correlation coefficient (r) between the methods was 0.976. For CK-MB activity, both sensitivity and specificity values were 90%, and the area under the curve (AUC) was 0.939. For CK-MB mass, both sensitivity and specificity values were 95% and AUC was 0.980. There was no significant difference between plasma and serum values at the pathologic level for both methods. For normal levels, plasma samples measured by the CK-MB activity method were lower than serum samples ( $p=0.0039$ ), while plasma samples were higher than serum samples by the mass method ( $p=0.0078$ ).

**Conclusion:** The analytical performance and diagnostic adequacy of the mass and activity methods of CK-MB measurement were found to be compatible with each other. In serum and plasma samples, the results measured by both methods were found to be compatible with each other at pathologic levels of CK-MB, but different from each other at normal levels.

**Keywords:** Method comparison, CKMB enzyme activity, CKMB mass, Acute coronary syndrome

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde Koroner Arter Hastalığı ve sonrasında gelişen Akut Miyokard İnfarktüsü (AMI) önemli bir sağlık sorunudur. Akut Miyokard İnfarktüsü tanısı; klinik, laboratuvar ve elektrokardiyogram (EKG) değişiklikleri tespit edilerek konulmaktadır (1). Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) ve Amerikan Kardiyoloji Koleji (ACC) tarafından kalp krizi teşhis kriterlerine göre bir hastaya AMI tanısı konulabilmesi için; "tipik belirtiler; bir kardiyak belirtecin (örneğin kreatin kinazın MB izoenzimleri) ya da tercihen serum troponinlerinin (TnT veya TnI) karakteristik yükselme-düşme paterni veya Q dalgalarının gelişimini içeren tipik bir elektrokardiyogram (EKG) örneği" bulgularından en az iki tanesinin bulunması zorunludur (2).

Günümüzde AMI tanısında biyokimyasal olarak kullanılan altın standart test kardiyak troponin (cTn) testleridir (3). Her ne kadar kullanımı giderek azalsa da kreatin kinaz (CK) enziminin izoenzimi olan CK-MB, AMI tanısında halen kullanılmaktadır (4). CK izoenzimlerinin tayininde; elektroforez, iyon-değiştirici kromatografi ve çeşitli immüno-

lojik yöntemler ayırım ve miktar ölçümü için yaygın olarak kullanılmaktadır (5). CK enziminin; CK-1 (BB), CK-2 (MB) ve CK-3 (MM) olmak üzere üç izoenzim formu mevcuttur. CK-MB izoenziminin katalitik aktivitesini ölçen immünoinhibisyon tekniği, CK-MB dimerinin B ve M kısımlarına afinite gösteren antikörlerin M altbirimini inhibe etmesi esasına dayanır. Kısaca bu yöntemde, Anti CK-M inhibisyonu ile CK-MM yapısındaki M alt birimlerinin ikisi ve CK-MB yapısındaki tek M alt birimi inhibe olduğu için, CK-MB B alt birimi ve CK-BB B alt birimleri enzim aktiviteleri belirlenir. CK-MB aktivitesinin etkin biçimde belirlenebilmesi için, bu yöntemde analizi yapılan serumda CK-BB aktivitesinin bulunmadığı varsayılır (5, 6). CK-MB kütle ölçümünde ise; enzimin biyolojik aktivitesinden ziyade, protein konsantrasyonunun ölçüldüğü ve CK-MB kütlelerinin, CK-MB' ye karşı spesifik monoklonal antikörler kullanılarak yapılan bir ölçüm yöntemidir. CK-MB'nin kütle ölçümü, AMI teşhisi için aktivite yöntemine göre daha duyarlıdır (7).

Bir metod veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif

olarak test edilip belgelendirilmesi validasyon olarak bilinmektedir (8). Validasyon süreci ile yöntemin ölçülebilir özellikleri deneylerle belirlenir. Bu süreçte; yeni yöntem karar kriterlerine göre ve referans yöntemle (altın standart) veya güvenilirliği kanıtlanmış bir yöntemle karşılaştırılır (9). Aday yöntemin objektif/yansız seçimi ve değerlendirilmesi için analitik deneyler başlamadan önce performans standartlarının belirlenmesi koşuldur. Yöntemin geçerliliği, uygunluğu ancak performans standartlarına göre yapılır. Başlangıçta performans standartlarını belirlemeden değerlendirme deneylerinin yapılması, hataların saptanması ve yöntemin kabul edilebilirliği kararının verilmesini, çalışmanın geçerliliğini ve kabul edilebilirliğini zedeler. Elde edilen gerçek performans bilgileri, hedeflerle karşılaştırılarak kabul edilebilirlik kararı verilmelidir. Performans hedefleri, analitin belirli konsantrasyonda/konsantrasyonlardaki veya aktivitedeki izin verilebilir total analitik hata (TEA) düzeylerini tanımlamalıdır. İzin verilebilir total hata sınırlarının belirlenmesi için, bilgiler çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedir (10).

Kardiyak belirteçlerin (troponin I veya T, CK-MB ve miyoglobin) numune alınmasından hemen sonra erken zamanda sonuç alınmasına yönelik klinisyenler tarafından artan bir talep vardır. Geri dönüş süresini (TAT) kısaltmak için serum yerine EDTA- veya heparin-plazma kullanılmaktadır (11). AMI tanısında, daha erken sonuç almak için birçok laboratuvar serum yerine plazmayı tercih etmektedir (12).

Bu çalışmada; CK-MB izoenzim ölçüm yöntemlerinden aktivite ve kütle yöntemlerinin analitik performansları, tanısal yeterliliklerinin değerlendirilmesi ve serum ve plazma örnekleri arasındaki CK-MB ölçüm sonuçları arasında fark olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için etik kurul onayı Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik kurulundan alınmıştır (2012/12). Çalışma

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. CK-MB aktivite ölçümü Architect c8000 (Abott Laboratories Abott Park, IL 60064, USA), CK-MB kütle ölçümü ise Architect i1000 SR (Abott Laboratories Abott Park, IL 60064, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir.

## Ön Değerlendirme Deneyleri

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) dökümanlarına göre ön değerlendirme deneyleri yürütüldü. Deney-içi tekrarlanabilirlik çalışması için, 20 hastanın serumundan, her iki cihazın değerlendirmesi için, normal ve patolojik düzey olmak üzere iki farklı CK-MB konsantrasyonlu serum havuzu hazırlandı. Her iki cihazda normal ve patolojik düzey serum havuzundan 20' şer kez ölçüm yapılarak, ortalamalar, standart sapmaları ve % CV (varyasyon katsayısı) leri hesaplandı. Her iki yöntemin deney-içi tekrarlanabilirlik performansları değerlendirilirken CLSI EP-5A protokolü uygulandı (13).

Geri kazanım çalışması için, normal ve patolojik düzey olmak üzere iki farklı CK-MB konsantrasyonlu serum havuzu hazırlandı. Her iki cihazda normal ve patolojik düzey serum havuzundan 20' şer kez ölçüm yapılarak, ortalamalar, standart sapmaları ve % CV (varyasyon katsayısı) leri hesaplandı. CK-MB aktivite yöntemi için normal düzey  $14.8 \pm 1.46$  IU/L ve patolojik düzey  $110 \pm 1.98$  IU/L olan serum havuzları elde edildi. 1 ml normal düzey serum havuzuna, 0.1 ml distile su eklenerek 1. tüp oluşturuldu. 1ml normal düzey serum havuzuna değeri 145 IU/L olan kalibratörden 0.1 mL eklenerek 2. tüp oluşturuldu. Ayrıca, 1 ml patolojik düzey serum havuzuna, 0.1 ml distile su eklenerek 3. tüp oluşturuldu. Yine 1 ml patolojik düzey serum havuzuna değeri 145 IU/L olan kalibratörden 0.1 mL eklenerek 4. tüp oluşturuldu. CK-MB kütle yöntemi için normal düzey  $0.81 \pm 0.03$  ng/mL ve patolojik düzey  $67.8 \pm 2.3$  ng/mL olan serum havuzları elde edildi. 1 ml normal düzey serum havuzuna, 0.1 ml distile su eklenerek 1. tüp oluşturuldu. 1ml normal düzey serum

havuzuna değeri 60 ng/mL olan kalibratörden 0.1 mL eklenerek 2. tüp oluşturuldu. Ayrıca, 1 ml patolojik düzey serum havuzuna, 0.1 ml distile su eklenerek 3. tüp oluşturuldu. Yine 1 ml patolojik düzey serum havuzuna değeri 60 ng/mL olan kalibratörden 0.1 mL eklenerek 4. tüp oluşturuldu. Her bir tüp için rastgele hatayı önlemek amaçlı dörder kez çalışılarak ortalamaları alındı. Kalibratör eklenen tüplerin ortalama değerleri, distile su eklenen tüplerin ortalamalarından çıkarılarak, geri kazanım miktarı % değişim (% Bias) olarak bulundu. CK-MB için izin verilen % bias; insanlardaki biyolojik değişkenliğe göre düzenlenmiş ve Westgard'ın sitesinde güncellenmiş son hali mevcut olan (<http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>), biyolojik varyasyonlar üzerinden hesaplanan % Bias' a göre, CK-MB aktivite ve kütle ölçümü için değerlendirildi.

Eklenen Miktar: (Eklenenin Konsantrasyonu \* Eklenen Hacmi) / Total Hacim

Geri Kazanım Konsantrasyonu: (Ölçülen Konsantrasyon-Bazal Konsantrasyon)

% Geri Kazanım: (Geri Kazanım/Eklenen) \* 100

% Bias: (100-% Geri Kazanım)

İnterferans çalışmasında, normal düzey ve patolojik düzey serum havuzları hazırlandı ve hemolizat eklenerek seri dilüsyonla farklı hemoglobin (Hb) konsantrasyonlarında örnekler elde edildi. Hemoliz düzeyien yüksek olan örneklerdeki Hb konsantrasyonu Abbott Cell Dyn - 3700 SL hemogram cihazı ile ölçüldü. Normal ve patolojik havuzlara eklenecek hemolizatın konsantrasyonu 21 g/dL olarak ölçüldü. Hazırlanan hemolizattan, Serum Havuzu A'ya 0.6 mL hemolizat eklendi. Hemoglobin konsantrasyonu 2.1 g/dL olan Serum Havuzu A'nın yanına 10 adet boş deney tüpü dizilerek numaralandı. Serum Havuzu A (1. tüp)'den itibaren, 10. tüpe kadar, Hb konsantrasyonları ½ oranında azalan örnekler elde edildi. Son tüpe sadece serum Havuzu B'den (Hb konsantrasyonu 0.0 g/dL) 3 mL eklendi. 11 tüp, Hb konsantrasyonları en yüksekte düşüğe doğru olacak şekilde numaralandı. 1.tüpten itibaren Hb konsantrasyonları sırası ile 2.13, 1.12, 0.610,

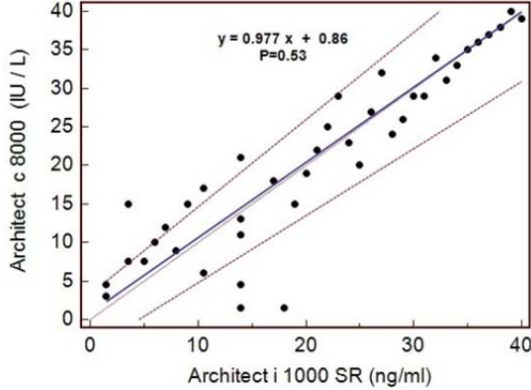
0.305, 0.153, 0.076, 0.038, 0.019, 0.010, 0.005, 0 g/dL olarak hesaplandı. Patolojik serum havuzuna aynı işlemler uygulanarak yine 11 adet örnek hazırlandı. Patolojik düzeyde Hb konsantrasyonları sırası ile 1.tüpten itibaren 2.01, 1.00, 0.503, 0.251, 0.125, 0.062, 0.031, 0.015, 0.007, 0.003, 0 g/dL olarak hesaplandı. Hemolizat eklendiğinde CK-MB konsantrasyonlarında saptanan farkların yüzdesi veya bias,  $[(C_1 - C_0)/C_0] * 100$  formülü kullanılarak hesaplandı.  $C_0$ , hemolizat içermeyen örneklerdeki analit konsantrasyonunu;  $C_1$  ise tüm hemoliz düzeyindeki analit konsantrasyonunu göstermektedir.

### Son Değerlendirme Deneyleri

Yöntem karşılaştırma çalışması için 40 hastanın, serum CK-MB düzeyleri CLSI EP-9A protokolüne göre çift olarak çalışıldı. Kalite-kontrolü sağlamak amacıyla her iki cihaz için günlük iç-kalite kontrolü çalışıldı. Çalışma boyunca aynı kalibratör, kontrol ve reaktif lotu kullanıldı. Bir gün içinde çalışılması gereken serum örnekleri, protokole uygun olarak 2 saat içinde çalışıldı. Çalışmada kullanılacak serum örneklerinin %50'si, protokole belirtildiği gibi rapor aralığı içindeki referans sınırlarının dışındaydı ve çalışma 6 günde (günde 6-7 örnek çalışılarak) tamamlandı (14).

CK-MB aktivite ve kütle ölçüm yöntemlerinin karşılaştırma çalışması için, 40 kişiye ait serum örnekleri, günde 6-7 örnek çalışıldı ve çalışma 7 günde tamamlandı. Her örnek, iki cihazda da 2'şer kez çalışılarak rastgele hata önlenmeye çalışıldı. CK-MB kütle (ng/mL) ölçüm yöntemi ile CK-MB aktivite (IU/L) ölçüm yöntemlerine ait birimler farklı olduğu için her iki cihazdaki ölçüm sonuçlarına göre elde edilen değerler, Passing-Bablok (P-B) regresyon analizi uygulanarak değerlendirildi. P-B regresyon analizi sonucu elde edilen denklem;  $y = 0.977x + 0.86$  olarak tespit edildi. Regresyon denklemine ait; eğim (b; slope), %95 güven aralığında (0.87 - 1.13) olarak ve kesişim (a; intercept) %95 güven aralığında (-3.93 - 3.29) olarak tespit edildi (Şekil 1). Regresyon doğrusuna ait doğrusallığın değerlendirilmesi amaçlı uygulanan

CUSUM testinde, doğrusallıktan sapma değerlendirildi ( $p=0.53$ ). Verilerin standardize edilmesi amaçlı; lineer regresyon denkleminde ( $y = 2.1x + 22.8$ ) faydalanarak, her bir  $x$  (referans yöntem; CK-MB kütle) değeri için olması gereken  $y$  (test yöntemi; CK-MB aktivite) değeri hesaplandı.



**Şekil 1.** CK-MB aktivite ve CK-MB kütle ölçüm yöntemlerine ait Passing-Bablok (P-B) regresyon analizi  
**Figure 1.** Passing-Bablok (P-B) regression analysis of CK-MB activity and CK-MB mass measurement methods

Deneysel-arası tekrarlanabilirlik çalışması için, 50 hastanın serumundan, her iki cihazın deneyler arası tekrarlanabilirlik değerlendirmesi için, normal ve patolojik düzey olmak üzere iki farklı CK-MB konsantrasyonlu serum havuzu hazırlandı. Hazırlanan normal düzey serum havuzu, 20 gün boyunca çalışmaya yetecek miktarda porsiyonlara bölünerek  $-80^{\circ}\text{C}$ 'den daha düşük sıcaklıkta muhafaza edildi. Aynı işlemler patolojik düzey serum havuzu için de uygulandı. Her bir serum havuzu (normal düzey ve patolojik düzey) için 20 gün boyunca yapılan ölçümlerin aritmetik ortalaması, standart sapmaları ve % CV (varyasyon katsayısı) hesaplandı. Sonuçlar impresizyon (tutarsızlık) ölçütü olan varyasyon katsayısı (CV) ve standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Her iki yöntemin deneyler-arası tekrarlanabilirlik performansları değerlendirilirken CLSI EP-5A protokolü uygulandı (13).

Tanısal performans karakteristiklerinin değerlendirilmesi için; 40 hastanın serum örneği çalışma için kullanıldı. Bu serum örneklerinden 20 tanesi klinik olarak AMI

tanısı alan hastalara ait olarak belirlendi. Hastalardan kan alınma zamanı, göğüs ağrısının başlangıcından yaklaşık 6 saat sonra olacak şekilde belirlendi. Kontrol ve hasta serum örneklerine ait duyarlılık ve özgüllük değerlerinden yararlanılarak,  $x$  eksenine 1-özgüllük,  $y$  eksenine ise duyarlılık yer alacak şekilde ROC eğrisi oluşturuldu. Her iki cihaz için oluşturulan grafiklere göre "Eğri altında kalan alan (AUC)" testlerin tanısal yeterliliğini değerlendirmek için birbirleri ile karşılaştırıldı.

Plazma ve serum CK-MB ölçümlerinin karşılaştırılması için; 10 hasta ve 10 sağlıklı kişinin her birinden, Vacuette marka jelli tüplere (J) ve Vacutest Kima Arzergande lityum heparinli (Li.H) tüplere kan alındı. Alınan numuneler hemen santrifüj edilerek, süpernatantlar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi. Muhafaza edilen plazma ve serum numuneleri oda sıcaklığında en 30 dakika bekletilmek koşuluyla çözdürüldükten sonra her iki cihazda çalışıldı.

### İstatistiksel Analiz

Yöntem karşılaştırma, tekrarlanabilirlik, geri kazanım, interferans deneyleri, ROC analizi ve plazma ile serum örneklerinin karşılaştırılması için MedCalc 12.3.0.0 istatistik paket programı kullanıldı. İnterferans çalışmasında; elde edilen değerlerin, artan hemoglobin konsantrasyonu ile etkileşimi ve her iki cihazda ölçülen değerler arasındaki ilişki korelasyon analizi uygulanarak değerlendirildi. Cihazlar arasındaki uyumun değerlendirilmesi için Lineer regresyon analizi, Passing-Bablok regresyon analizi ve Bland-Altman Grafiği kullanıldı. Tanısal yeterlilik için ise ROC analizi uygulandı ve elde edilen AUC istatistiksel açıdan anlamlılığı değerlendirildi. Normal ve patolojik düzey CK-MB plazma ve serum örnekleri arasındaki farkların değerlendirilmesi için Wilcoxon Rank-Sign testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak kabul edildi.

### BULGULAR

CK-MB aktivite ve kütle yöntemleri için, insanlardaki biyolojik değişkenliğe göre

belirlenmiş ve Westgard'ın sitesinde güncellenmiş son hali mevcut olan birey-içi ( $CV_w$ ), bireyler-arası biyolojik varyasyon ( $CV_g$ ) değerleri ile, arzu edilen yüzde belirsizlik (%I), yüzde doğruluk (%B) ve izin verilebilir yüzde total hata değerleri (%TEA) Tablo 1' de gösterildi. Her iki cihazda normal ve patolojik düzeyler için gerçekleştirilen deney-içi ve deneyler-arası tekrarlanabilirlik çalışma sonuçları Tablo 2'de, gün içi ve günler arası

analitik varyasyon ve TEA sonuçları Tablo 3' te gösterildi. Geri kazanım (recovery) çalışmasına ait bulgular Tablo 4' de, hem patolojik hem de normal havuzlara eklenen etkileşim gösteren (interferans) madde çalışma sonuçları ise Tablo 5' te gösterildi. CK-MB aktivite ve kütle için, plazma ve serum örneklerine ait değerlerin normal düzey ve patolojik düzey olarak karşılaştırılması Tablo 6' da sunuldu.

**Tablo 1.** CK-MB aktivite ve kütle için, birey-içi ( $CV_w$ ), bireyler-arası biyolojik varyasyon ( $CV_g$ ) değerleri ile, arzu edilen yüzde belirsizlik (%I), yüzde doğruluk (%B) ve izin verilebilir yüzde total hata değerleri (%TEA)

**Table 1.** For CK-MB activity and mass, intra-individual ( $CV_w$ ), inter-individual biological variation ( $CV_g$ ) values, percent desired uncertainty (%I), percent accuracy (%B), and allowable percent total error (%TEA)

Analit	Biyolojik Varyasyon		Arzu Edilen Hedefler		
	$CV_w$ (%)	$CV_g$ (%)	I (%)	B (%)	TE (%)
CK-MB Aktivite	19,7	24,3	9,9	7,8	24,1
CK-MB Kütle	18,4	61,2	9,2	16	31,2

**Tablo 2.** Normal ve patolojik düzeyler için deney-içi ve deneyler-arası tekrarlanabilirlik sonuçları

**Table 2.** Within-experiment and between-experiment reproducibility results for normal and pathological levels

	Deney İçi Tekrarlanabilirlik				Deneyler Arası Tekrarlanabilirlik			
	CK-MB Aktivite (IU/L)		CK-MB Kütle (ng/mL)		CK-MB Aktivite (IU/L)		CK-MB Kütle (ng/mL)	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Ortalama	17,3	46,3	1,1	12,7	12,3	43,1	1,12	12,9
Standart Sapma	1,3	2,36	0,05	0,31	1,18	3,42	0,07	0,65
Standart Hata					0,13	0,38	0,008	0,07
% CV	7,5	5,1	4,4	2,4	9,6	7,9	6,7	5

I: Normal Düzey; II: Patolojik Düzey

**Tablo 3.** Gün içi ve günler arası analitik varyasyon ve total analitik hata (TEA) sonuçları

**Table 3.** Withinday and between-day analytic variation and total analytic error (TEA) results

	CK-MB Aktivite		CK-MB Kütle	
	Normal Düzey (%)	Patolojik Düzey (%)	Normal Düzey (%)	Patolojik Düzey (%)
Gün-içi Analitik Varyasyon ( $CV_w$ -gün)	7,5	5,1	4,4	2,4
Günler-arası Analitik Varyasyon ( $CV_b$ -gün)	9,6	7,9	6,7	5,0
Total Analitik Hata ( $CV_{an}$ -toplam)	12,1	9,4	8,0	5,5

**Tablo 4.** CK-MB aktivite ve kütle ölçümü geri kazanım (recovery) çalışması sonuçları  
**Table 4.** Results of the CK-MB activity and mass measurement recovery study

	CK-MB Aktivite (IU/L)				CK-MB Kütle (ng/mL)			
	Ölçülen Değer	Eklenen Değer	Geri Elde Edilen Değer	Geri Kazanım (%)	Ölçülen Değer	Eklenen Değer	Geri Elde Edilen Değer	Geri Kazanım (%)
1. Tüp (Normal Düzey)	11,5	—	—	—	0,72	—	—	—
2. Tüp (Normal Düzey)	23,7	13,1	12,2	92,9	5,67	5,45	4,95	90,8
3. Tüp (Patolojik Düzey)	100,7	—	—	—	57,42	—	—	—
4. Tüp (Patolojik Düzey)	113	13,1	12,2	92,9	62,55	5,45	5,13	94,1

**Tablo 5.** CK-MB aktivite ve kütle için interferans çalışması sonuçları  
**Table 5.** Interference study results for CK-MB activity and mass

Tüp No	Hemoglobin Değerleri (mg/dL)	Normal Düzey Serum Havuzu				Patolojik Düzey Serum Havuzu			
		CK-MB Aktivite Ortalama Değerleri (IU/L)	CK-MB Aktivite %Bias	CK-MB Kütle Ortalama Değerleri (ng/mL)	CK-MB Kütle %Bias	CK-MB Aktivite Ortalama Değerleri (IU/L)	CK-MB Aktivite %Bias	CK-MB Kütle Ortalama Değerleri (ng/mL)	CK-MB Kütle %Bias
1*	—	14	0	0,85	0	99,5	0	61,85	0
2	5	14	0	0,80	-5,8	100,5	0,5	61,80	-4,4
3	10	14,5	3,5	0,80	-5,8	101	1	62,95	-0,9
4	19	17,5	25	0,85	0	103	3	64,90	-2,2
5	38	20,5	46	0,80	-5,8	105,5	5,5	64,55	-0,9
6	77	28	100	0,85	0,0	113	13	65,50	-0,3
7	153	43	207	0,80	-5,8	129,5	30	65,05	-1,7
8	305	76	442	0,80	-5,8	164,5	65	64,25	-1,2
9	610	147	950	0,80	-5,8	229,5	130	65,10	-4,2
10	1120	299	2042	0,80	-5,8	379,5	280	62,80	-5,9
11**	2130	Ölçülemedi	—	0,80	-5,8	Ölçülemedi	—	65,70	-5,9

\* Serum havuzu B \*\* Serum havuzu A

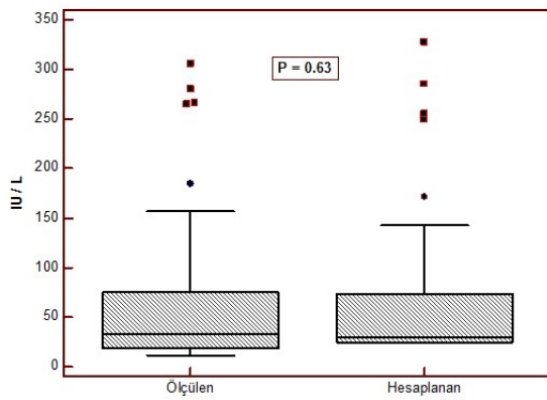
**Tablo 6.** CK-MB aktivite ve kütle ölçümü plazma ve serum örneklerine ait değerlerin normal ve patolojik düzey karşılaştırılması sonuçları

**Table 6.** Results of CK-MB activity and mass measurement, normal and pathological level comparison of values of plasma and serum samples

	CK-MB Aktivite (IU/L)				CK-MB Kütle (ng/mL)			
	I		II		I		II	
	Plazma	Serum	Plazma	Serum	Plazma	Serum	Plazma	Serum
Numune Sayısı (n)	10	10	10	10	10	10	10	10
Medyan (Ortanca)	14	21	60	68	0,95	0,80	14,7	13,0
Minimum	7	12	22	28	0,60	0,60	2,90	2,60
Maksimum	20	32	329	380	1,8	1,4	244,5	249
	P = 0,0039 *		P = 0,0977		P = 0,0078 *		P = 0,2324	

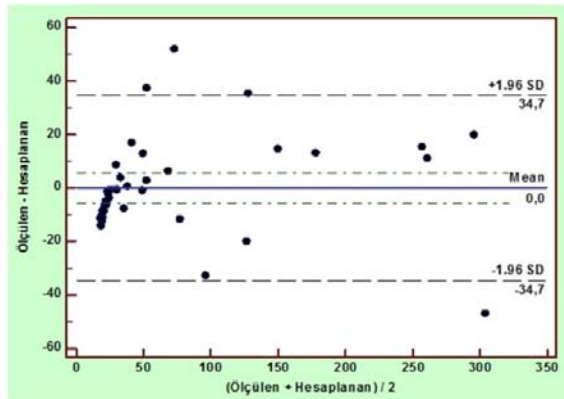
I: Normal Düzey; II: Patolojik Düzey \* p<0.05 düzeyinde anlamlı farklılık

CK-MB aktivite yöntemiyle ölçülen değerler ( $y$ ) ile lineer regresyon denkleminde hesaplanan ( $\hat{y}$ ) değerler (Şekil 2)'de gösterildi. Elde edilen değerlerin ilişkisini değerlendirmek amaçlı yapılan korelasyon analizi sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulundu ( $r=0.976$ ,  $p<0.0001$ ). Yöntemler arasındaki uyumun değerlendirilmesi için, Bland-Altman Grafiği kullanıldı. Bland-Altman Grafiğine göre; hesaplanan değerler ile ölçülen değerlere ait farkların ortalaması 0.008 (-5.65 ile 5.67 arasında) ve standart sapması 17.7 olarak bulundu (Şekil 3).



**Şekil 2.** CK-MB aktivite yöntemiyle ölçülen değerler ( $y$ ) ile lineer regresyon denkleminde hesaplanan ( $\hat{y}$ ) değerleri

**Figure 2.** Values ( $y$ ) measured by the CK-MB activity method and ( $\hat{y}$ ) values calculated from the linear regression equation

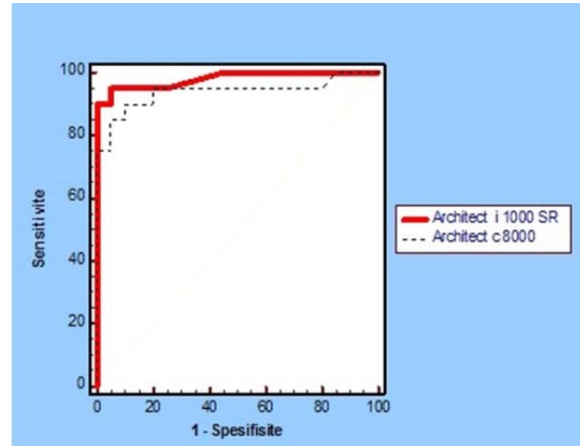


**Şekil 3.** CK-MB aktivite ve CK-MB kütle ölçüm yöntemlerine ait Bland-Altman grafiği

**Figure 3.** Bland-Altman plot of CK-MB activity and CK-MB mass measurement methods

Yapılan ROC analizi sonucu; CK-MB aktivite için hem duyarlılık hem de özgüllük değeri %90, AUC ise 0.939 olarak bulundu. CK-MB

kütle için hem duyarlılık hem de özgüllük değeri %95, AUC ise 0.980 olarak bulundu. AUC karşılaştırılmasında, anlamlılık değeri ( $p=0.118$ ) olarak bulundu (Şekil 4).



**Şekil 4.** CK-MB aktivite (Architect c8000) ve CK-MB kütle (Architect i 1000 SR) ölçüm yöntemlerine ait ROC analizi

**Figure 4.** ROC analysis of CK-MB activity (Architect c8000) and CK-MB mass (Architect i 1000 SR) measurement methods

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, CK-MB aktivite ve kütle yöntemlerinin analitik ve tanısal performansı değerlendirildi. Yaptığımız tekrarlanabilirlik çalışmasında; CK-MB kütle yönteminin hem normal hem de patolojik düzey serum havuzlarında arzu edilen kesinlik kriterlerini sağlarken, CK-MB aktivite yönteminin ise daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak yüksek konsantrasyonlarda sağladığı tespit edildi.

Sistemik hatanın bileşenlerinden birisi olan, oransal sistemik hatanın belirlenmesi için yapmış olduğumuz geri kazanım çalışmasında; CK-MB aktivite için normal ve patolojik düzeylerin hesaplanan %Bias (%7.1) değerlerinin, izin verilen %Bias (%7.8) değerinden daha düşük olduğu tespit edildi. CK-MB kütle için normal ve patolojik düzeylerin hesaplanan %Bias (%9.2, %5.9) değerlerinin, izin verilen %Bias (16%) değerinden daha düşük olduğu tespit edildi. Sistemik hatanın diğer bileşeni olan sabit sistemik hatanın belirlenmesi için yapmış olduğumuz interferans çalışmasında; CK-MB aktivite



ölçümünde hemoglobinin interferans etkisinin düşük konsantrasyonlarda başladığı ve giderek arttığı tespit edildi. Elde ettiğimiz bulguların, Architect CK-MB Liquid kit prospektüsünde belirtilen bilgilere benzer olduğu görülmektedir. CK-MB Kütle ölçümü için ise normal ve patolojik düzey serum havuzlarından hazırlanan hemolizat örneklerinde, her iki düzeyde de hemoglobinin interferans etkisini göremedik. CK-MB kütle ölçümü kitine ait prospektüste, hemolize bağlı interferans etkisinin yaklaşık olarak 500 mg/dL civarlarında başladığı belirtilmiştir. Normal düzey serum havuzlarından hazırlanan hemolizat örneklerinde görülen en yüksek % Bias (-5.8%) olarak ve patolojik düzey serum havuzlarından hazırlanan hemolizat örneklerinde görülen en yüksek % Bias ise (-5.9%) olarak bulundu. Yücel ve ark. CK-MB aktivitesi ile hemoliz arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptığı çalışmada, hafif hemolizden şiddetli hemolize kadar, değişik hemoglobin konsantrasyonları ile CK-MB aktiviteleri arasında pozitif ve anlamlı korelasyon olduğunu bildirmişlerdir ( $r=0.982$ ,  $p<0.0001$ ). Yazarlar, pozitif yöndeki interferansın, düşük hemoglobin konsantrasyonlarında görülmeye başladığını ve hemoglobin konsantrasyonu arttıkça CK-MB aktivitesinin de arttığını bildirmişlerdir (15).

Yaptığımız yöntem karşılaştırma deneyinde, her iki ölçüm yöntemi arasındaki ilişkinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ( $p<0.0001$ ,  $r=0.976$ ). Regresyon doğrusuna ait doğrusallığın değerlendirilmesi amaçlı uygulanan CUSUM testinde, doğrusallıktan sapma görülmedi ( $p=0.53$ ). Çalışmamıza benzer şekilde Küçükercan ve ark. tarafından CK-MB aktivite ve kütle yöntem karşılaştırma çalışmasında, her iki yöntem arasındaki korelasyon katsayısı sağlıklı hasta grubunda çok düşük bulunurken ( $r=0.076$ ), AMI' lı hasta grubunda her iki yöntemin yüksek korelasyon gösterdiği belirtilmiştir ( $r=0.977$ ) (16). Çalışmamız sonuçlarına benzer şekilde, Delanghe ve ark. aktivite ve kütle ölçüm yöntemleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, yöntemler arasında her ne kadar anlamlı bir ilişki olduğu

belirtirse de, CK-MB aktivite yöntemine ait değerlerin, diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Yazarlar, CK-MB değer aralığının düşük olduğu düzeylerde görülen yöntemler arasındaki değer farklılığının, atipik CK formları ve adenilat kinaz nedeniyle olabileceğini vurgulamışlardır (17). Kumar ve ark. tarafından yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise, sağlıklı grubun CK-MB aktivite ve kütle değerleri arasındaki ilişkinin çok düşük olduğu ( $r=0.210$ ,  $p=0.194$ ), AMI' lı hasta grubunda ise her iki yöntem arasında güçlü ilişki olduğu bildirilmiştir ( $r=0.787$ ,  $p<0.001$ ). Ayrıca yazarlar, sağlıklı grubun serum CK-MB kütle ve Troponin değerleri normal aralık içindeyken, CK-MB aktivite değerlerinin normalden biraz daha yüksek olduğunu ve bu durumun da CK-MB aktivite açısından yanlış pozitif sonuçlara yol açabileceğini belirtmişlerdir (18). Marwah ve ark. akut koroner sendrom tanısı konulmuş ve takip edilen 61 hastanın CK-MB aktivite ile kütle değerlerini göğüs ağrısını takiben 4-6 saat, 12-24 saat ve 48-72 saat sonrasında çalışmışlar ve düşük CK-MB aktivite değerlerinde uyumsuzluğun daha çok olduğunu ancak aktivite değerleri yükseldikçe yöntemler arasındaki uyumun daha iyi olduğunu belirtmişlerdir (7).

Yaptığımız çalışmada; CK-MB aktivite ve kütle ölçümü yapan her iki cihazda elde edilen sonuçlara göre, her iki cihaza ait, eğri altında kalan alanları karşılaştırdığımızda, yöntemler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi ( $p=0.118$ ). Bu sonuçlara göre her iki cihazın klinik performanslarının birbirine yakın olduğu ve her iki yöntemin tanısaldan yeterli olduğu düşünüldü.

CK ölçümü için Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi (UKBA, *National Academy of Clinical Biochemistry*) tarafından; üretici firmalara, kardiyak belirteçlerin tayini için yapılan çalışmalarda serum yerine plazma örneklerinin kullanılması tavsiye edilmektedir (19). Yaptığımız çalışmada, her iki numune tipi için ölçülen plazma ve serum değerleri arasında fark olup olmadığı araştırıldı. Hem

CK-MB aktivite yöntemi, hem de kütle yöntemi için patolojik düzeyde plazma ile serum değerleri arasında anlamlı fark görülmedi. Normal düzeylerde CK-MB aktivite yöntemiyle ölçülen plazma örnekleriserum örneklerinden daha düşük bulundu ( $p=0.0039$ ). CK-MB kütle yöntemi için ise plazma örnekleri serum örneklerinden daha yüksek bulundu ( $p=0.0078$ ). Pagani ve ark., myoglobin, CK-MB ve cTn-I'nın plazma ile serum örnekleri arasında fark olup olmadığını incelemişler ve serum CK-MB değerleri ile Li-Heparinli plazma örneklerindeki CK-MB değerleri arasında anlamlı bir fark olduğunu ( $p<0.0001$ ), Li-Heparinli plazma CK-MB örneklerinin, serum örneklerinden %18,6 daha yüksek değerde bulduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca yazarlar, serum CK-MB değerleri ile EDTA'lı plazma CK-MB değerleri arasında anlamlı bir fark olup ( $p<0.0001$ ), EDTA'lı plazma örneklerinin, serum örneklerine göre %14,6 daha yüksek bulduklarını belirtmişlerdir (20).

#### KAYNAKLAR

1. Chatterjee K. Thrombolysis in acute myocardial infarction. Hosp Pract (Off Ed). 1986 Apr 15;21(4):117-24.
2. Yöntem M, Erdoğan BS, Akdoğan M, Kaleli S. Akut Miyokard İnfarktüsü Tanısında Kardiyak Markörlerin Önemi. OTSBD. 2017;2(4):11-7.
3. Wu Y, Pan N, An Y, Xu M, Tan L, Zhang L. Diagnostic and Prognostic Biomarkers for Myocardial Infarction. Frontiers in Cardiovascular Medicine. [Review]. 2021 2021-February-03;7.
4. Alvin MD, Jaffe AS, Ziegelstein RC, Trost JC. Eliminating Creatine Kinase-Myocardial Band Testing in Suspected Acute Coronary Syndrome: A Value-Based Quality Improvement. JAMA Intern Med. 2017 Oct 1;177(10):1508-12.
5. Henderson AR, Donald WM. Enzimler. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. 5. ed: Palme Yayıncılık; 2005. p. 352-89.
6. Wu AH, Bowers GN, Jr. Evaluation and comparison of immunoinhibition and immunoprecipitation methods for differentiating MB and BB from macro forms of creatine kinase isoenzymes in patients and healthy individuals. Clin Chem. 1982 Oct;28(10):2017-21.
7. Marwah SA, Shah H, Chauhan K, Trivedi A, Haridas N. Comparison of Mass Versus Activity of Creatine Kinase MB and Its Utility in the Early Diagnosis of Re-infarction. Indian J Clin Biochem. 2014 Apr;29(2):161-6.

CK-MB'den daha hassas ve spesifik olan kardiyak troponinler, AMI tanısında altın standarttır. Ancak serum troponin seviyeleri miyokard infarktüsünden sonra 4-10 gün içinde normal seviyelere düşmeye başladığından; CK-MB halen reinfarktüs tanısında kullanılmaktadır (21). Yapmış olduğumuz bu çalışmada, akut miyokard infarktüsü tanısında kullanılan CK-MB aktivite ölçümü ile kütle ölçümünün analitik açıdan performansları değerlendirildiğinde, yöntemlerin kesinlik ve doğruluklarının yeterli olduğu düşünüldü. Ayrıca her iki yöntemi, kendi aralarında analitik ve tanısal açıdan karşılaştırdığımızda, cihazlardan elde edilen değerlerin birbirleri ile uyumlu olduğu görüldü. Aynı zamanda, plazma ile serum değerleri arasındaki farklılığın, önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi CK-MB konsantrasyon düzeyine ve kullanılan heparin ile antikoagülanlı tüplerin çeşitliliğine bağlı olabileceği düşünüldü.

8. İnal BB, Topkaya Ç. Klinik Biyokimya Laboratuvarlarında Akreditasyona Geçiş. İstanbul Tıp Dergisi. 2010;2:74-6.
9. Bekiroğlu N, Günel P, Aksu B. Deneye Dayalı Çalışmalarda Bazı İstatistiksel Kavramlar. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2009;29(4):997-1006.
10. Koch DD, Peters T. Yöntemlerin Değerlendirilmesi-İstatistiksel Tekniklere Giriş. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. 5. ed: Palme Yayıncılık; 2005. p. 234-50.
11. Penttilä K, Koukkunen H, Halinen M, et al. Serum and plasma as alternative sample types in analysis of cardiac markers in the clinical routine. Scand J Clin Lab Invest. 2002;62(7):553-560.
12. Wang YS, Feng CF, Er TK, et al. Comparison of cardiac troponin I levels in serum and sodium-citrate plasma using the ACCESS 2 immunoassay. Ann Clin Lab Sci. 2005;35(4):453-454.
13. CLSI. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices: Approved Guideline. CLSI document EP05-A2. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 1999.
14. CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP9-A2. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2002.
15. Yücel M, Tokalak İ, Kulaksızoğlu S, Arat Z. CK-MB activity and hemolysis: Where the interference begins? Türk Biyokimya Dergisi. 2005;30(3):216-9.

16. Küçükercan İ, Çakır Ö, Tokdemir G, Baloğlu G, Orçun A. Ck-Mb Isoenzyme Determinaton With Immunoinhibition-Activity And Mass Assays In Healthy Controls And Patients With Acute Myocardial Infarction. *South Clin Ist Euras*. 2003;14(1):27-9.
17. Delanghe JR, De Mol AM, De Buyzere ML, De Scheerder IK, Wieme RJ. Mass concentration and activity concentration of creatine kinase isoenzyme MB compared in serum after acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1990 Jan;36(1):149-53.
18. Kumar NS, Rajendran S, Nanda SK, Christopher M, Kandasamy R. A comparative study on the diagnostic utility of creatine kinase-MB (Myocardial Band) mass estimation over its activity measurement in patients with acute myocardial infarction in a tertiary care hospital in Puducherry. *J Evid Based Med Healthc*. 2021;8(30):2724-30.
19. Wu AH, Apple FS, Gibler WB, Jesse RL, Warshaw MM, Valdes R, Jr. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem*. 1999 Jul;45(7):1104-21.
20. Pagani F, Bonetti G, Stefini F, Cuccia C, Panteghini M. Serum and plasma samples for ACS:systems cardiac markers. *Clin Chem*. 2000 Jul;46(7):1020-2.
21. Kurtoğlu B, Erkiş B, Gürsel DY. Myocardial infarction diagnosis and cardiac troponins. *Turkish Med Stud J*. 2020;7(3):159-70.