

Kan gazı analiz cihazı ve direkt enzimatik ölçüm metodu ile elde edilen bikarbonat değerlerinin korelasyonu

[Correlation of bicarbonate values measured with direct enzymatic method and blood gas analysis devices]

Ramazan Memişoğulları¹,
M. Engin Özcan¹,
Gökhan Celbek²,
Handan Ankaralı³,
Yusuf Aydın²

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Biyokimya,
²İç Hastalıkları
³Biyostatistik Anabilim Dalı, 81620 Düzce

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Doç. Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce
Tel: 0 380 5421386
Faks: 0 380 5421387
E-mail: rmemisogullari@duzce.edu.tr

Kayıt Tarihi: 4 Mart 2011; Kabul Tarihi: 4 Mayıs 2011
[Registered: 4 March 2011; Accepted: 4 May 2011]

http://www.TurkJBiochem.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada aynı hastalardan eş zamanlı olarak alınan arterial kanlardan, kan gazı cihazında pH ve pCO₂ üzerinden hesaplama yöntemi ile ve açık sistemde serumda enzimatik direkt analiz yöntemiyle bikarbonat ölçerek sonuçlar arasında uyum olup olmadığı araştırıldı.

Gereç ve yöntemler: Yoğun bakımda yatan 90 hastadan eş zamanlı arterial kan örnekleri alınarak hem ABL 800 marka kan gazı analiz cihazı kullanılarak pH ve pCO₂ üzerinden hesaplama yöntemi ile hem de serum ayrılarak enzimatik yöntemle ölçüm yapan Roche Diagnostics Cobas c501 otoanalizöründe serum bikarbonat ölçümleri yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı.

Bulgular: İki ölçüm arasındaki *Pearson* korelasyon katsayısı $r=0.944$ idi ve anlamlı pozitif bir ilişkiyi sergiledi. Ayrıca ICC değerinin 0.963 olarak hesaplanması da iki ölçüm yöntemi arasında anlamlı bir uyum olduğunu gösterdi ($p=0.0001$). *Bland-Altman* grafiği çizildiğinde 90 değerden hiç birisinin uyuma limitleri dışında olmadığı görüldü.

Sonuç: Çalışmamız asit-baz dengesi düzenlenmesi veya hastanın klinik seyrinin takibi konusunda hızlı sonuç veren kan gazı analizörlerinin bikarbonat sonuçlarının enzimatik direkt ölçüm metodu ile korele ve kabul edilebilir olduğunu göstermektedir.

Çıkar çatışması: Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Anahtar kelimeler: Hesaplanmış bikarbonat, enzimatik bikarbonat ölçümü, asit-baz dengesi

ABSTRACT

Introduction: In this study, we investigated to whether there is a relationship between bicarbonate levels simultaneously measured with the mathematical calculation of blood gas analysis device derived pH and pCO₂ and direct enzymatic method.

Materials and methods: Arterial blood samples were taken from 90 patients hospitalized in the intensive care unit. Bicarbonate level was simultaneously measured in the ABL 800 blood gas analyzer with the method of mathematical calculation from the pH and pCO₂ and in the Roche Diagnostics Cobas c501 with the enzymatic method. The results were compared.

Results: Pearson correlation coefficient between the two measurements was $r=0.944$ showing a significant positive relationship. Also value of the ICC calculation which was 0.963 showed that there was a significant agreement between the two measurement methods ($p=0.0001$). None of the 90 values were not out of the agreement limits, as shown in *Bland-Altman* graphic.

Conclusion: The present study showed that bicarbonate measurements with the blood gas analyzers which give quick results are reliable and acceptable when compared with the results of the direct enzymatic method.

Conflict of interests: Authors have no conflict of interest.

Key words: Calculated bicarbonate, enzymatic bicarbonate assay, acid-base balance

Giriş

Özellikle yoğun bakım ünitelerinde asit-baz dengesinin hızlı şekilde değerlendirilmesi ve düzenlenmesi gerektiği durumlarda kan bikarbonat (HCO_3^-) düzeyinin ölçümü hayati öneme sahiptir. Arterial kan gazı cihazlarında HCO_3^- düzeyi *Henderson-Hasselbach* denklemi yardımıyla, ölçülen pH ve pCO_2 'den hesaplanabilen bir parametredir. HCO_3^- düzeyleri ayrıca direkt enzimatik metotla açık sistem otoanalizörlerle de serumdan ölçülebilmektedir. Arterial kan gazı cihazında hesaplama yöntemiyle daha hızlı sonuç alınabilmektedir. Ancak hesaplanan HCO_3^- 'in değişken parametrelerden yararlanılarak elde edilmesi ve bu parametrelerin ayrı ayrı interferansları olabileceğinden, direkt ölçüm sonucu elde edilen HCO_3^- ile uyumlu olup olmadığı veya klinik takipte kullanılıp kullanılmayacağı konusunda tereddütler olmaktadır [1-5].

Bu çalışmada yoğun bakım ünitesinde yatmakta olan hastalardan alınan arterial kan örneklerinin iki farklı yöntem ile incelenmesi ve her iki yöntemle de elde edilen sonuçların hastanın klinik seyrini takipte kullanılıp kullanılmayacağını ve aralarındaki uyumun kabul edilebilir olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem

Çalışmada yoğun bakımda yatan 90 hastadan alınan arterial kan örnekleri ayrı ayrı hem pıhtı aktivatörlü, jel seperatör içeren biyokimya tüplerine hem de heparin içerikli kan gazı enjektörlerine transfer edilmiştir.

Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri laboratuvarımıza ulaştıktan hemen sonra $1500 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen serum numuneleri spektrofotometrik olarak enzimatik yöntemle ölçüm yapan Roche Diagnostics Cobas c501 otoanalizöründe tetkik edilmiştir. Heparin içerikli standart kan gazı enjektörlerine alınmış arterial tam kan örnekleri ise laboratuvarımıza ulaştıktan hemen sonra HCO_3^- seviyesini pH ve pCO_2 parametrelerinin ölçümü ile *Henderson-Hasselbach* denkleminde yararlanılarak belirleyen ABL 800 marka kan gazı analiz cihazı ile tetkik edilmiştir.

Laboratuvarımızda otoanalizör için daha önce tanımlandığı şekilde kalite kontrol programları uygulanmaktadır [6]. Kan gazı cihazı için ise cihaz otomatik 4 saatte bir iki nokta, saat başı tek nokta kalibrasyon yapmaktadır. Ayrıca haftada 2 kez internal kalite kontrol materyalleri ölçülmekte ve uygun olmayan kontrol sonuçları elde edildiğinde tekrar kalibrasyon yapılmaktadır.

Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler (ortalama \pm SD, minimum, maksimum) hesaplanmıştır. Kan gazı cihazı sonuçları ile enzimatik sonuçlar arasındaki uyum, *Intraclass korelasyon analizi* (ICC) ve *Bland-Altman* grafiği çizilerek değerlendirilmiştir. *Bland-Altman* grafiğinin yorumlanmasında *Storv* ve *Poultie*'nin kriterleri ölçek alınmıştır [1]. Ayrıca aralarındaki doğrusal ilişki Basit regresyon modeli ve *Pearson* korelasyon analizi ile incelenmiştir. İstatistik anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ alınmıştır. İstatistik analizler SPSS (Version 18) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

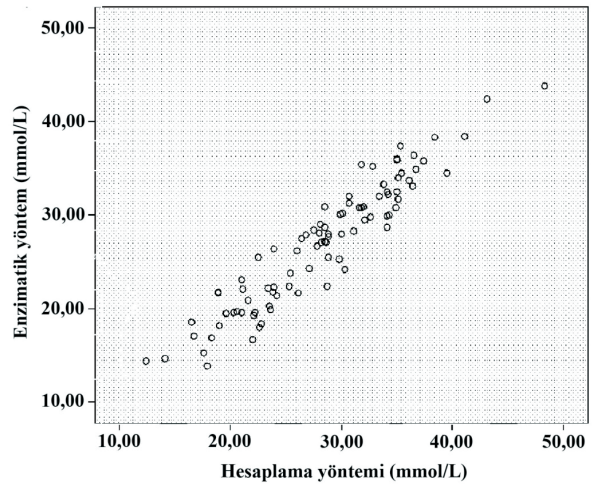
Enzimatik metot ile elde edilen serum HCO_3^- değerleri 13.90 mmol/L ile 43.80 mmol/L arasında (ortalama 27.04 ± 6.71 mmol/L) değişmekte iken, hesaplama yöntemi ile elde edilen tam kan HCO_3^- sonuçları 12.40 mmol/L ile 48.30 mmol/L arasında (ortalama 28.31 ± 6.87 mmol/L) bulundu. İki ölçüm arasındaki *Pearson* korelasyon katsayısı $r=0.944$ olup istatistik olarak anlamlı pozitif bir ilişkiyi göstermektedir ($p=0.0001$). Ayrıca ölçümler arasında hesaplanan ICC değeri ise 0.963 bulunmuştur (Şekil 1). Bu sonuç iki ölçüm metodunun sonuçları arasında anlamlı bir uyum olduğunu göstermektedir. İki metodun ölçümleri arasında

kurulan regresyon modeli $y=0.931+(0.923 \cdot X)$ olup (y:enzimatik, X: hesaplama yöntemiyle elde edilen HCO_3^- değerleri) bu modelin tahminlerdeki başarısı (R^2) %89.1 olarak bulunmuştur.

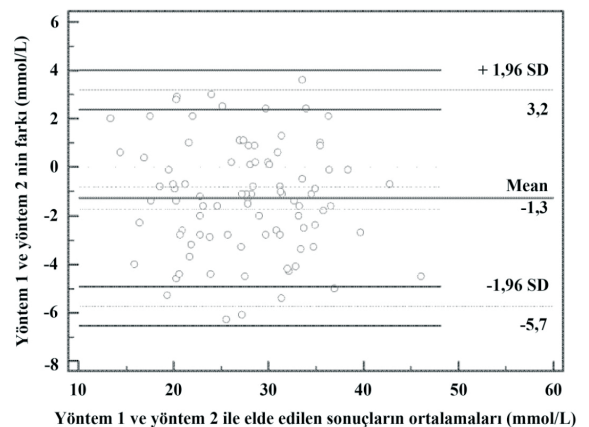
Enzimatik metot ve hesaplama yöntemi ile elde edilen HCO_3^- değerlerinin farklarına karşılık bu iki yöntemin ölçüm ortalamaları işaretlendiğinde *Bland-Altman* grafiği elde edilmiş ve bu grafikte -1.3 lük bir yanlılık (bias) değeri hesaplanmıştır. Bu yanlılık değerine ait standart sapma (SD) ise 2.26'dır. Bu değerler ile üst uyuma limiti 4.0, alt uyuma limiti ise -6.5 olarak bulunmuştur. Ancak %95 ihtimalli uyuma limitleri -5.7 ile 3.2 arasındaki span 8.9'dur. İki yöntemin ölçümleri arasındaki farklardan sadece 3 tanesi bu span dışında kalmıştır (Şekil 2).

Tartışma

Bu çalışmada iki yöntem ile yapılan ölçümler arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir ($r=0.944$; $p=0.0001$). ICC değerinin istatistik olarak anlamlı ve oldukça yüksek çıkması ve *Bland-Altman* grafiğinde farkların büyük bir bölümünün uyum limitleri arasına düşmesi, iki yöntemin ölçümleri arasında uyum olduğunu göstermektedir. ICC katsayısının yüksek çıkması iki metotla ölçülen değerlerin arasındaki farkın hep sabit veya birbirine çok yakın olduğunu gösterir. *Bland-Altman* grafiği'ne



Şekil 1. Direkt enzimatik yöntemle ve kan gazı cihazı ile hesaplama yöntemiyle elde edilen bikarbonat sonuçlarının korelasyonu.



Şekil 2. Direkt enzimatik ve hesaplama yöntemi ile bulunan bikarbonat değerlerinin farklarını gösteren Bland Altman Grafiği.

bakıldığında iki metodla ölçülen sonuçların farklarının ortalamasının -1.3 olduğunu ve bu farkların üst ve alt uyuma sınırlarının 4.0 ile -6.5 arasında olduğu ve tüm karşılaştırma farklarının bu aralık içinde olduğu görülmektedir.

Story ve Poustie [1] bikarbonat ölçümlerinde metod karşılaştırması için yapılan *Bland-Altman grafiğinin* değerlendirilmesi için iki madde öne sürmektedir: a) İki metodun sonuçlarının ortalamaları arasındaki farkın ortalaması ± 1 mmol/L olmalıdır. b) Uyuşma limitleri ortalamasının (bias) ± 2 mmol/L aralığında ya da toplamda aralarında 4 mmol/L olmalıdır. Bu kriterler bizim sonuçlarımıza uygulandığında istatistiksel olarak belirlenen korelasyona rağmen iki metod arasında uyuma yok gibi görünmektedir. Ancak grafiğe bakıldığında farkların ortalama değerinin -1'e yakın (-1.3) olduğu ve farkların ortalama değerin altında ve üstünde dengeli dağıldığı ve ortalama değere yakın alanlarda daha yoğun olduğu görülmektedir.

Handerson- Hasselbach denklemi ile pH ve pCO₂'den yararlanılarak bikarbonat sonucu eldesi uzun yıllardır kan gazı analizör cihazlarında kullanılmaktadır. Sonucun değişken parametrelerden yararlanılarak elde edilmesi nedeniyle bu parametrelerin ayrı ayrı interferansları olabilmektedir. Gelişen teknolojiye paralel olarak ortaya çıkan yeni direkt HCO₃⁻ ölçüm metodları ile de elde edilen sonuçlarla aralarında uyum olup olmadığının belirlenmesi gereği duyulmuştur. Bikarbonatın indirekt potansiyometrik bir yöntem ile ölçüldüğü ve klasik yöntem ile karşılaştırıldığı *Mohd Nasir ve arkadaşları* [4] tarafından yapılan çalışmada 1820 örnek çalışılmış ve istatistikî olarak verilerin uyumlu olduğu ($r=0.977, p<0.001$) ve ortalamanın 0.87 uyuma limitlerinin ise -1.92-3.67 arasında olduğu bulunmuştur ve yine *Story ve Poustie kriterleri* uygulandığında iki kriterden birini karşılamıştır. Bahsedilen çalışmada kullanılan kan gazı analiz cihazı bizim çalışmamızda kullanılan ile aynı firmaya aittir ve hesaplamada aynı formülü kullanmaktadır. *Mohd Nasir ve arkadaşlarının* çalışması bizim çalışmamızın sonucunu desteklemektedir. *Story ve Poustie* spektrofotometrik enzimatik metod ile hesaplama yöntemini karşılaştırdıkları çalışmada *Bland-Altman grafiğini* kullanarak mean değerinin -1.6 (% 95 güven aralığı limitleri 1.2 – 2) ve uyuma limitlerini -5.85 ile 2.65 arasında bulmuşlar ve iki yöntem arasında uyuma olmadığı sonucuna varmışlardır [1]. *Story ve Poustie*'nin çalışmasında da bizim çalışmamız gibi yoğun bakım hastalarında hem spektrofotometrik enzimatik yöntemle direkt hem de hesaplama yöntemiyle kan gazı analiz cihazında ölçüm yapılmıştır. *Bland-Altman grafiğinin Story ve Poustie kriterleri* uygulanarak değerlendirilmesi çok hassas bir karşılaştırma olmaktadır. O yüzden yapılan çalışmalarda bu kriterleri kullanarak iki yöntemin uyumsuz olduğunu söylemenin çok da uygun olmayacağı kanaatindeyiz. Pearson ve ICC katsayılarının sırasıyla 0.944 ve 0.963 olan iki metodun sonuçlarının birbiriyle uyumsuz olduğunu söylemek uygun değildir.

İki metodun uyumsuz olduğunu rapor eden çalışmalarda uyumsuzluğun nedeni hesaplamalı formüldeki değişkenlerdeki hatalardan kaynaklanıyor olabilir. Örneğin pH ve PCO₂ değerleri kan gazı örneğinin alındığı enjektörde bulunan heparin konsantrasyonundan etkilenebilir [7].

Handerson Hasselbach denkleminde kullanılan pK₁ sabiti karbondioksitin çözünme katsayısıdır ve hesaplamalarda sabit olarak kullanılmaktadır. Bu sabit; ısıdan, iyonik durumdan, protein ve lipid seviyelerinden etkilenmektedir. Bu nedenle hesaplamalarında bu sabit kullanılan parametrelerin kullanımında özellikle yoğun bakım hastaları için dikkatli olunmalıdır [7]. *Rivkees ve arkadaşları* tarafından çocuk servisine başvuran elli hastadan alınan örnekler rutin kan gazı cihazlarında ölçülmüş ve bir mikrogazometre kullanılarak pH, pCO₂ ve total CO₂ seviyeleri ölçülerek pK₁ hesaplanmış ve sonuçlar 6.06 ile 6.15 arasında değişmiştir. Bu değişkenlik ise metodolojik bir hataya bağlanarak pK₁ in klinik pratikte ve bikarbonat hesaplama yönteminde kullanılabilir bir sabit olarak değerlendirilmişlerdir [8].

Çalışmamızda bikarbonatın direkt ölçümü için kullandığımız metod iktet, hemoliz ve lipemi interferenslerinden sırasıyla 60, 600, 1800 mg/dL seviyelerine kadar etkilenmemektedir [9]. Çalışmamızdaki hasta grubunda da bu seviyelere sahip hasta bulunmamaktadır. Ayrıca kapağı kapatılmamış tüplerde çözünmüş kan gazlarının uçuculuğundan dolayı ölçümde azalma oluşabilir. Fakat bizim numunelerimiz laboratuara kapalı biyokimya tüplerinde transport edilmiş ve cihaza acil bölümünden verilerle hızlı bir şekilde sonuç alınmıştır. Kan gazı analizöründe bakılan tam kanlar ise uçları kapalı heparinli enjektörlerle acil olarak laboratuvara ulaştırılmıştır.

Kan gazı analizörleri acil servisler ve yoğun bakım ünitelerinde özellikle asit-baz dengesinin hızlı şekilde değerlendirilmesinde hayati öneme sahiptir. Çalışmamız asit-baz dengesi düzenlenmesi veya hastanın klinik seyirinin takibi konusunda hızlı sonuç veren kan gazı analizörlerinin bikarbonat sonuçlarının enzimatik direkt ölçüm metodu ile korele ve kabul edilebilir olduğunu göstermektedir.

Çıkar çatışması

Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- [1] Story DA, Poustie S. (2000) Agreement between two plasma bicarbonate assays in critically ill patients. *Anaesth Intensive Care*. 4: 399-402.
- [2] Kelly AM, McAlpine R and Kyle E. (2004) Agreement between bicarbonate measured on arterial and venous blood gases *Emergency Medicine Australasia*. 16: 407-409.
- [3] Ungerer JPI, Ungerer MJ, and Vermaak WJH. (1990) Discordance between Measured and Calculated Total Carbon Dioxide *Clin Chem*.36(12): 2093-2096.
- [4] Mohd Nasir N, Sthaneshwar P, Megat Yunus PJ and Yap SF. (2010) Comparing measured total carbon dioxide and calculated bicarbonate. *Malaysian J Pathol*. 32(1): 21-26.
- [5] O'Leary TD and Langton SR. (1989) Calculated Bicarbonate or Total Carbon Dioxide? *Clin Chem*. 35(8): 1697-1700.
- [6] Duran S, Memişoğulları R, Coşkun A, Yavuz Ö, Yüksel H. (2007) Do Turkish Adults Really Have Lower Levels of the High Density Lipoprotein Cholesterol? *Acta Cardiol*. 62: 453-459.
- [7] Scott MG, Klutts JS. Electrolytes and blood gases. In: Burtis CA, Ashwood ER, Brunts DE, editors. (2006) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th ed.: p.983-1018. Saunders Missouri.
- [8] Rivkees SA, Fine BP (1988) The reliability of calculated bicarbonate in clinical practice *Clin Pediatr (Phila)*. 27(5): 240-242.
- [9] Glick MR, Ryder KW, Jackson SA.(1986) Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem*. 32: 470-474.