

Klinik Çalışma

# Buzdolabında Bekletilen Serumalarda CRP Düzeyinde Zamana Bağlı Değişim

Mehmet Parlak<sup>\*</sup>, Yasemin Bayram<sup>\*\*</sup>, Aytekin Çıkman<sup>\*\*\*</sup>, Mustafa Berктаş<sup>\*\*\*\*</sup>

## Özet

**Amaç:** C-reaktif protein (CRP)'in ölçümünde, alınan kanların laboratuvara ulaştırılması sırasında veya laboratuvar cihazlarında meydana gelen teknik aksaklıklar nedeniyle gecikmeler yaşanabilmektedir. Çalışmada, bu gibi durumlarda buzdolabı şartlarında bekletilen serumlardaki CRP düzeylerinde meydana gelebilecek değişimlerin saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Behring Nefelometri sistemi ile bekletilmeden CRP ölçümleri yapılan ve düzeyleri 12.6 mg/L ile 203 mg/L arasında değişen 50 hastanın serumları ağız açık biçimde +4 °C'de bekletildi. Bekletilen bu serumların, ilk ölçümlerinden 3 gün ve 7 gün sonra olmak üzere iki ayrı zamanda CRP ölçümleri tekrarlandı. Üç farklı zamanda elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** İlk gün yapılan ölçümlerde ortalama CRP düzeyinin 55.83 mg/L olduğu, üç gün sonra yapılan ölçümlerde ortalamanın 76.35 mg/L'ye yükseldiği, yedi gün sonra yapılan ölçümlerde ise ortalamanın ilk günkü değerlere yaklaşarak 60.99 mg/L'ye düştüğü gözlemlendi. İlk gün ve üç gün sonra yapılan ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, ilk gün ve yedi gün sonrası ölçümler arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

**Sonuç:** Teknik aksaklıklar nedeni ile CRP'nin hemen çalışılmayacağı durumlarda klinisyenlerle işbirliği içerisinde olunarak gerekirse yeni numune istenmesi doğru bir yaklaşım olacaktır. Ayrıca bu çalışma, sonraki günlerde ve farklı koşullarda CRP düzeylerinin zamana bağlı değişiminin ve nedenlerinin belirlenmesi için daha kapsamlı çalışmaların gerekliliğini ortaya koyması açısından önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** CRP, nefelometri, serum.

C-reaktif protein (CRP), doğal immün yanıt proteinlerinden olan pentraksin ailesinin bir üyesi olup tanımlanan ilk akut faz proteindir (1). İlk olarak 1930 yılında Tillet ve Francis tarafından pnömonili hastalarda tanımlanmıştır. *Streptococcus pneumoniae*'nin C-polisakarit ile aglutine olması nedeniyle "fraksiyon-C" denilmiştir. Günümüzde CRP olarak adlandırılan bu protein, birbirine simetrik ve non-kovalan olarak bağlı, her biri 23 kilodalton büyüklüğünde pentamer yapıda bir proteindir (2,3).

C-Reaktif protein (CRP), Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6) ve IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle daha çok karaciğerde sentezlenir (4). Bakteriyel, fungal, mikobakteriyel veya ciddi viral infeksiyonlarda, doku nekrozu, travma, neoplazi ve aterosklerozu da içine alan diğer inflamatuvar hastalıklarda CRP seviyelerinde ciddi artışlar görülmektedir (5-9).

CRP düzeyleri, latex, immünefelo-metrik (IN), immunturbidimetrik (IT), immünluminometrik (IL), radyal immün difüzyon (RID), radyo-immunoassay (RIA) ve ELISA yöntemleri ile saptanabilmektedir (10). Son zamanlarda basit ve hızlı ölçüm yapabilen CRP yöntemleri (mikroCRP) ile 0.007 mg/L gibi daha düşük CRP düzeylerini ölçebilen (hs-CRP) yöntemleri de geliştirilmiştir (11, 12). Klinik laboratuvarların rutin kullanımı için 3-5 mg/L CRP düzeylerini saptayabilen otomatize yöntemler yeterli olmaktadır (13).

Tanı ve hastalık takibi açısından CRP düzeylerinin bakılması istenilen hastalarda gerek alınan kanların laboratuvara ulaştırılması esnasında, gerekse laboratuvar içerisinde teknik

\*Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van.

\*\*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van.

\*\*\*Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzincan.

\*\*\*\*Özel Lokman Hekim Hastanesi Başhekimliği, Van.

**Yazışma Adresi:** Uz. Dr. Aytekin ÇIKMAN  
Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzincan.  
GSM: 0 (505) 691 82 00

E-posta: draytekin65@hotmail.com

Makalenin Geliş Tarihi: 24.08.2012

Makalenin Kabul Tarihi: 20.11.2012

aksaklıklar nedeniyle serumların çalışılması gecikebilmektedir. Örneğin cihazın arızalanması ya da elektrik arızası gibi durumlarda test için gönderilen kanlar, serumları ayrılarak +4°C'de bekletilebilmektedir. Arızanın aynı gün giderilemediği durumlarda buzdolabında bekletme süresi de uzayabilmektedir.

Buzdolabı şartlarında bekletilen serumlardaki CRP düzeylerinde meydana gelebilecek değişimlerin saptanmasının amaçlandığı bu çalışmada, laboratuvarımıza gelen kan örnekleri serumları ayrıldıktan ve buzdolabı şartlarında (+4°C'de) bekletildikten sonra farklı zaman aralıklarında CRP düzeyleri ölçülerek oluşan farklılıklar irdelenmiştir.

### Gereç ve Yöntem

CRP ölçüm düzeyleri 12.6-203 mg/L arasında değişen 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada kullanılan serumlardan, CRP değerleri ikinci ve/veya üçüncü okumada okuma sınırları dışında kalan 7 serum istatistik açıdan değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Bu hastaların kan örnekleri antekübital veninden, pıhtı aktivatörü içeren, antikoagülan içermeyen jelli tüplere (Green Cross MS, Green Vac-Tube 5 ml) alındı. Kanlar laboratuvara ulaştığı andan itibaren 30 dakika içerisinde 10.000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında elde edilen serum örnekleri ayrı tüplere alındı. Bu serumların laboratuvarımızda rutin olarak kullanılan NFL BN-II (Dade Behring, Almanya) sistemi ile 1. gün olarak CRP ölçümleri yapıldı. Ağzı açık olarak +4°C'de bekletilen bu serumlar, ilk ölçümden 3 gün ve 7 gün sonra olmak üzere iki kez daha CRP düzeylerine bakılarak sonuçlar kaydedildi.

NFL BN-II sistemi immunnefelometri esasına dayanan bir ölçüm sistemidir. İnsan CRP'sine spesifik monoklonal antikorlarla kaplanmış polistren partiküller, CRP içeren örnek ile karşılaştığında agregasyon meydana gelir. Oluşan bu agregat, örnek üzerine uygulanan ışık demetini dağıtır. Dağılan ışığın yoğunluğu, örnekteki CRP miktarı ile orantılıdır. Daha sonra konsantrasyonu bilinen standartla karşılaştırılarak kantitatif olarak sonuçlar mg/L cinsinden okunur. Okuma sınırı <3.17 ve >203 mg/L arasında olup hs-CRP kitlerinin kullanıma girmesi ile daha düşük düzeylerin okunabilmesi de mümkün hale gelmiştir.

**İstatistik Analiz:** CRP düzeyleri için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değer olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından 0.3 ve 7.

günler arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Friedman testi yapılmıştır. Ayrıca, 0-3 ve 0-7. gündeki % değişimler bakımından fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Yapılan istatistik karşılaştırmalarda, istatistik anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmış ve hesaplamalar SPSS istatistik paket programında yürütülmüştür.

### Bulgular

CRP ölçüm değerleri 12.6-203 mg/L arasında değişen 50 hastanın ilk ölçümden üç gün ve yedi gün sonraki ölçümlerde CRP düzeylerinde yükselme nedeniyle >203 mg/L okunan 6 serum ile <3.2 mg/L ölçülen 1 serum (toplam 7 serum) değerlendirme dışı bırakılarak istatistik değerlendirme 43 hasta örneği üzerinde yapılmıştır.

İstatistik değerlendirmeye göre ilk ölçümde CRP düzeyleri 12.6-145 mg/L arasında değişen 43 serum örneğinde ortalama CRP düzeyi 55.83 mg/L iken, üç gün sonra yapılan ölçümde CRP düzeylerinin 16-188 mg/L arasında değiştiği ve ortalama değer 76.35 mg/L'ye yükseldiği tespit edilmiştir. Yedi gün sonra yapılan CRP ölçümlerinde ise, CRP düzeylerinin 13.6-161 mg/L arasında değiştiği ve ortalama değer ilk günkü değerlere yaklaşarak 60.99 mg/L'ye düştüğü gözlenmiştir. Bu verilere göre ilk gün ile üç gün sonraki ölçümler arasında %38.43 oranında bir artış gözlenirken, ilk gün ile yedi gün sonraki ölçümler arasında %9.27 oranında bir artış gözlenmiştir. Buna göre ilk gün ve üç gün sonra yapılan ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, buna karşın ilk gün ve yedi gün sonrası ölçümler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yine istatistiksel olarak üç gün sonraki ölçüm ile yedi gün sonraki ölçüm arasındaki fark da anlamlı olarak bulunmuştur. Serum örneklerindeki CRP düzeylerinin istatistik açıdan değerlendirilmesi tablo'da, günler içindeki ortalama değişim ise şekil'de gösterilmiştir.

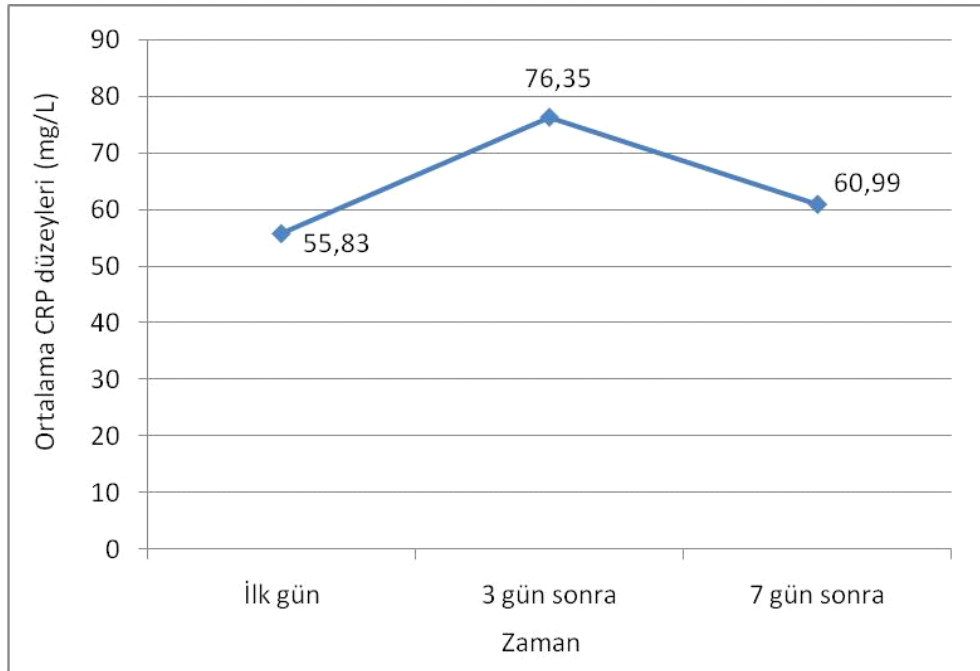
### Tartışma

Günümüzde hastalık tanı ve takibinde yüzlerce laboratuvar testi kullanıma sunulmuştur. Bu amaçla güvenilir, hızlı, pratik ve çok sayıda örneğin çalışılmasına imkân veren sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerde çalışılan testler ve alınan sonuçlar, örneklerin uygun şekilde alınması, laboratuvara uygun şekilde transferi, testin cihaz talimatlarına uygun biçimde çalışılması, cihazın kitlerinin uygun ortamda saklanması, bakım ve kalibrasyonlarının düzenli

Tablo. Farklı günlerdeki CRP ölçümlerinin istatistik olarak değerlendirilmesi

Günler	Ortalama (mg/L)	Standart Sapma	Minimum (mg/L)	Maksimum (mg/L)	p
İlk gün	55.83	38.67	12.60	145.00	
Üç gün sonra	76.35*	51.04	16.00	188.00	0.001
Yedi gün sonra	60.99	42.34	13.60	161.00	
% (3-1)	38.43	7.71	27.00	55.60	
% (7-1)	9.269	4.007	0.00	19.100	0.001

\*: Üç gün sonraki ortalama değerin, ilk gün ve yedinci günkü ortalama değere göre farkı anlamlıdır.



Şekil. Ortalama CRP düzeylerinin zamana bağlı değişimi.

olarak yapılması gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Şengönül ve ark. (14) ASO, CRP ve RF'nin kantitatif değerleri üzerine ısı ile bekleme süresinin etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, serum örneklerini oda ısısında, +4°C'de ve -20°C'de bekleterek değişik zamanlarda nefelometrik yöntemle (Behring™-Almanya) ölçüm yapmışlardır. Çalışma sonucunda, oda ısısında bekletilen örneklerde daha fazla olmak üzere +4°C ve -20°C'de serum protein değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşme meydana geldiğini tespit etmişler ve dondurularak saklamanın daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmada alınan sonuçlardan farklı olarak, +4°C'de bekletilen serumlarda CRP değerinde ilk ölçümden üç gün sonra %38.43 oranında yükselme, ilk ölçümden yedi gün sonra ise %9.27 oranında olmak üzere daha düşük oranda bir

yükselme tespit edilmiştir. İlk gün ve üç gün sonrası yapılan ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, ilk gün ve yedi gün sonrası yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. C reaktif protein, otolog ligandlar (plazma lipoproteinleri, parçalanmış hücre membranları, çeşitli fosfolipidler, ribonükleoprotein partikülleri ve apoptotik hücreler gibi) ve dış kaynaklı liganlara (çeşitli glikan ve fosfolipidler ile mikroorganizmaların ve bitkilerin muhtelif yapıları) bağlanabilmektedir. Buna ek olarak Ca<sup>+</sup> varlığı ve serum glikoz düzeyi de CRP düzeyini etkilemektedir. Bu durumun çalışmada elde edilen CRP düzeylerinde saptanan değişime neden olabileceği kanaatine varılmıştır (15-17). Yapılan literatür taramasında CRP düzeyi üzerine bekleme süresinin araştırıldığı bir başka yayına rastlanmamıştır.

Serum CRP düzeyleri inflamatuvar bir olayın başlangıcından itibaren 4-6 saat sonra yükselmeye başlamakta ve 24-48. saatlerde en üst düzeye ulaşmaktadır (18). Yeni doğanlardaki enfeksiyonu belirleme açısından da yararlı bir yöntem olan CRP'nin 12-24 saatlik seri ölçümleri, antibiyotik tedavisinin kesilmesine karar verilmesi aşamasında önemli bir role sahiptir (19).

CRP'nin 1930 yılında keşfinden sonra günümüzde birçok enfeksiyon hastalığının tanısı ve izlenmesinde rutin olarak kullanılmaktadır. Yoğun bakım hastaları üzerinde yürütülen bir çalışmada, CRP'nin sepsis tanısına yön verebileceği ve bir önceki güne göre %25 ve daha fazla oranda bir azalmanın yoğun bakım hastalarının sepsisten çıkma göstergesi olabileceği bildirilmiştir (20).

Yukarıda belirtilen iki çalışmada da görüldüğü gibi enfeksiyon hastalıklarında saatlik değişim gözlenen serum CRP düzeylerinin belirlenmesi için duyarlı davranılması gerekmektedir. Bu nedenle hastaların CRP düzeyleri açısından takipleri mümkünse aynı cihazla yapılarak elde edilen sonuçlar hızlı biçimde değerlendirilmeli ve alınan sonuçlar bir önceki ile karşılaştırılmalıdır.

Çalışmada, serum CRP düzeylerinin ölçümü esnasında gerek yoğun laboratuvar yükü, gerekse teknik aksaklıklar nedeniyle ilk gün çalışılmayan serumlarda daha sonraki günlerde CRP düzeylerinin yükseldiği ortaya konulmuştur. Her ne kadar ilk gün ve yedi gün sonrası ölçümlerde ortalama CRP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamış olsa da, bu süre içerisinde serum CRP düzeylerinde ortalama % 9.27 oranında bir yükselme olacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Teknik aksaklıklar nedeni ile CRP'nin hemen çalışılmayacağı durumlarda klinisyenlerle işbirliği içerisinde olunarak gerekirse yeni numune istenmesi doğru bir yaklaşım olacaktır. Ayrıca bu çalışma, sonraki günlerde ve farklı koşullarda CRP düzeylerinin zamana bağlı değişiminin ve nedenlerinin belirlenmesi için daha kapsamlı çalışmaların gerekliliğini ortaya koymasından önemlidir.

### **Time-Related Changes of CRP levels in sera stored in the refrigerator**

#### **Abstract**

**Objective:** *C reactive protein's (CRP) measurement is frequently delayed due to transportation of blood and technical problems of laboratory devices. In this study we investigated the changes in CRP levels of sera stored in refrigerated conditions.*

**Method:** *The CRP levels of sera were detected with Behring nephelometry system without any delay. The serum of 50 patients with CRP levels between 12.6 mg/L and 203 mg/L were kept uncovered at +4 °C. The CRP measurements were repeated at two different times, after 3 and 7 days from the first measurement. Obtained CRP levels were evaluated statistically.*

**Result:** *The CRP mean level from the first measurements was 55.83 mg/L, where three days later the mean level increased to 76.35 mg/L and seven days later, the mean level decreased to 60.99 mg/L. The difference between first and three days measurements was found statistically significant however there was no significant difference between the first and seven days.*

**Conclusion:** *If samples can not be analyzed for CRP immediately due to a technical glitch, the right approach would be to work in collaboration with clinicians and request a new sample if possible. Furthermore, this study is important as it shows a need for more comprehensive studies on time-dependent change of CRP levels in the next days and under different conditions and causes for that change.*

**Key words:** *CRP, nefelometry, serum.*

### **Kaynaklar**

1. Osmand AP, Friedenson B, Gewurz H, Painter RH, Hofmann T, Shelton E. Characterization of C-reactive protein and the complement subcomponent C1t as homologous proteins displaying cyclic pentameric symmetry (pentraxins). Proc Natl Acad Sci USA 1977; 74(2):739-743.
2. Tillet WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. J Exp Med 1930; 52(4):561-571.
3. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. Structure 1999; 7(2):169-177.
4. Ramadori G, Van Damme J, Rieder H, Meyer zum Buschenfelde KH. Interleukin 6, the third mediator of acute phase reaction, modulates hepatic protein synthesis in human and mouse. Comparison with interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha. Eur J Immunol 1988; 18(8):1259-1264.
5. Du Clos TW, Mold C. C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. Immunol Res 2004; 30(3):261-277.
6. Dominguez-Munoz JE, Malfertheiner P. Management of severe acute pancreatitis. Gastroenterologist 1993; 1(4):248-256.
7. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. Ann Med 2000; 32(4):274-278.

8. Mahmoud FA, Rivera NI. The role of C-reactive protein as a prognostic indicator in advanced cancer. *Curr Oncol Rep* 2002; 4(3):250-255.
9. Langrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HW, Verheugt FW, Wolbink GJ, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation* 1999; 100(1):96-102.
10. Roberts WL, CDC, AHA. CDC/AHA Workshop on Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: laboratory tests available to assess inflammation-performance and standardization: a background paper. *Circulation* 2004; 110(25):572-576.
11. Hobbs R. Near patient testing in primary care. *BMJ* 1996; 312 (7026):263-264.
12. Ledue TB, Weiner DL, Sipe J, Poulin SE, Collins MF, Rifai N. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A, and mannose binding protein in human serum. *Ann Clin Biochem* 1998; 35(Pt 6):745-753.
13. Roberts WL, Sedrick R, Moluton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000; 46(4):461-468.
14. Şengönül A, Yuluğ N. Tanısal serum proteinlerinin kantitatif değerleri üzerine ısının ve bekleme süresinin etkilerinin araştırılması. *Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg* 2000; 14: 345-352.
15. Yücel AE. C-Reaktif Protein (CRP) ve Diğer Akut Faz Proteinlerinin Klinik Kullanımı. *Türkiye Tıp Derg* 2004; 11(1):42-52.
16. Batırel A, Gençer S, Özer S. Enfeksiyon göstergesi olarak akut faz reaktanları: C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A (SAA). *KEAH Tıp Derg* 2003; 14(3):220-224.
17. Kocabaş RN, Bozdemir AE, Başol G, Barutçuoğlu B, Parıldar Z, Kabaroğlu C ve ark. C-Reaktif Protein ile Glukoz ve Yaş ilişkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2007; 5(2):63-67.
18. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am* 2004; 51(4):939-959.
19. Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taeusch HW. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA (eds). *Avery's Diseases of the Newborn* (8th ed) Philadelphia: Elsevier Inc 2005; 551-577.
20. Yentis SM, Soni N, Sheldon J. C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 1995; 21(7):602-605.