

# Turbidimetrik Yöntemin Geçerliliği ve Güvenirliği

## *Reliability and Validity of The Turbidimetric Method*

Şebnem Tekin Neijmann Alev Kural Nilgün Işıksaçan  
Asuman Gedikbaşı

Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi, Biyokimya, İstanbul, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 24 Kasım 2015

**Kabul Tarihi:** 15 Ocak 2016

### ÖZET

**Amaç:** Serum proteinlerinin kantitatif analizinde turbidimetrik ve nefelometrik yöntemler en sık tercih edilen yöntemlerdir. Klinik laboratuvarımızda referans yöntem olan nefelometrik yöntemle serum ve idrarları çalışılan hasta örneklerinde, turbidimetrik yöntemin geçerliliği, güvenilirliği ve analitik performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Behring BN II (Siemens, Almanya) ve Architect c 16000 (Abbott, ABD) sistemlerinde 3 farklı seviyede kontrol düzeyleri okunduktan ve gerekli kalibrasyonları yapıldıktan sonra 24 saatlik idrar (n=146) ve spot idrarda mikroalbumin (n=78) düzeyleri ile serum IgA (n=24), IgM (n=24), IgG (n=24), IgE (n=74) düzeyleri çalışıldı. Her bir parametrenin regresyon katsayısı ve regresyon eşitliğine bakıldı; Standart hatası (Syx) ve intercept (a) ve slope (b) değerleri hesaplanıp regresyon eşitliği ( $y=a+bx$ ) ve regresyon analizi yapılarak lineer regresyon eğrisi hesaplandı.

**Bulgular:** Turbidimetrik ve nefelometrik yöntem karşılaştırması Passing & Bablok'un nonparametrik metodu uygulanarak gösterildi. Çalışılan bütün parametrelerin aritmetik ortalama, median, standart sapma, ortalamasının standart hatası (Syx), korelasyon katsayıları, %95 güvenlik aralığında alt ve üst sınır değerler belirlendi. Nefelometrik yöntem ve turbidimetrik yöntem ile çalışılan 24 saatlik idrar ve spot idrarda mikroalbumin, serum IgA, IgM, IgG ve IgE sonuçlarının korelasyon katsayıları sırasıyla 0.996, 0.999, 0.991, 0.967, 0.930, 0.847'dir. 24 saatlik idrar ve spot idrarda mikroalbumin için %95 güvenlik aralığında (alt ve üst sınır) sırasıyla (0.995-0.997), (0.999-1), Ig A, M, G ve IgE için (0.976-0.996), (0.913-0.987), (0.828-0.972) ve (0.757-0.904) olarak belirlendi. 24 saatlik idrarda mikroalbumin in intercept ve slope değerleri (-1.58, 1.07), spot idrarda mikroalbumin için (0.40, 0.92), IgA,M,G ve IgE için ise sırasıyla (-1.63, 1.2), (-0.95, 1.22), (112.83, 1.06) ve (-12.24, 1.19) olarak hesaplandı. Bu sonuçlarla iki metod arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

**Sonuç:** Sonuçlarımız turbidimetrik ve nefelometrik yöntemlerin uyumlu olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Metod karşılaştırma, nefelometre, turbidimetre

### ABSTRACT

**Objective:** In quantitative analysis of serum proteins turbidimetric and nephelometric methods are the most common. Aim of this study was to compare the nephelometric method with the turbidimetric method for serum and urine samples in our clinical laboratory and to analyse the performance of the turbidimetric method.

**Material and Methods:** 24 hours collected urine albumin (n=146), spot urine albumin (n=78), serum ASO (n=30), serum RF (n=48), serum IgA (n=24), IgM (n=24), IgG (n=24) and IgE (n=74) were analyzed with Behring BN II (Siemens, Germany) and Architect C 16000 (Abbott, USA). The relationship between the turbidimetric and nephelometric methods was demonstrated by applying the non-parametric method of Passing&Bablok. Each parameter's regression coefficient and regression equation with intercept and slope value, Standard error, Standard error of mean (Syx) were checked. Correlation coefficients of serum plasma proteins and microalbumin levels were determined by linear regression analysis.

**Results:** There wasn't any significant difference between nephelometric and turbidimetric methods (correlation coefficient: 0.996, 0.999, 0.991, 0.967, 0.930, 0.847, for 24 hour and spot microalbumin, Ig A, M, G and E respectively). % 95 CI was (0.995-0.997) for 24 hour microalbumin and for (0.999-1) for spot microalbumin results. For Ig A, M, G and IgE test results % 95 CI lower and upper limits were (0.976-0.996), (0.913-0.987), (0.828-0.972) and (0.757-0.904), respectively. Intercept and slope values were (-1.58, 1.07), (0.40, 0.92), (-1.63, 1.2), (-0.95, 1.22), (112.83, 1.06) and (-12.24, 1.19), respectively.

**Conclusion:** Our results indicated that the turbidimetric and nephelometric methods were compatible.

**Key words:** Method comparison, nephelometry, turbidimetry.

## GİRİŞ

Günümüzde serum proteinlerinin ölçümünde yaygın olarak kullanılan yöntemler turbidimetrik ve nefelometrik yöntemlerdir. Nefelometri, teorik olarak düşük konsantrasyondaki antijen antikör reaksiyonlarının duyarlı ölçümünde bir avantaj sağlasa da günümüzde kararlı ve yüksek çözünürlükteki fotometrik sistemler, serum proteinlerinin immünojenik ölçümlerinde nefelometrik yöntemler kadar duyarlı hale gelmiştir (1).

Turbidite (bulanıklık) gelen ışık demetinin çözeltiliden geçerken düşmesine neden olur. Işığın saçılım yansıma ve soğrulmasının neden olduğu gelen ışık şiddetindeki bu düşüş turbidimetrik yöntemle ölçülür. Turbidimetrik ölçümler günümüzde fotometre ve spektrofotometrede kolaylıkla gerçekleştirilebilir (1). Klinik laboratuvarların temel amacı analitik hataları minimuma indirerek, hastalara en kısa sürede doğru ve güvenilir sonuç verebilmektir. Günümüzde yapılan yöntem karşılaştırmalarının olumlu sonuçları nedeniyle turbidimetrik yöntemle serum protein ölçüm analizlerinin yapılması ağırlık kazanmıştır (2, 3,4,5,6,8).

Fotometrik sistemlerde turbidimetrik yöntemle tek tüpten serum proteinlerinin çalışılabilir olması zaman ve maliyet açısından Klinik Biyokimya Laboratuvarına avantaj sağlamaktadır. Biz de bu nedenleri göz

önünde bulundurarak, laboratuvarımızda turbidimetrik yöntemle geçmeden önce bu yöntemin geçerliliğini ve güvenilirliğini göstermeyi amaçlayarak çalışmamızı planladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Turbidimetrik ve nefelometrik yöntem karşılaştırması Klinik Laboratuvar Standartları için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); EP-9 (Metod karşılaştırma ve hasta sonuçlarını kullanarak bias tahmini) kriterleri uygulandı. Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi kliniklerinden istemleri yapılan ve Klinik Biyokimya Laboratuvarımıza gelen 24 saatlik idrarda mikroalbumin (idrarda albumini) istemi olanlardan (n=146) ve spot idrarda mikroalbumin istemi olan 78 hasta idrarı çalışılmak üzere kabul edildi. Serum örnekleri oturur pozisyonda, antekubital venden, antikoagülan içermeyen jelli tüplere (Beckton Dickonson, New Jersey, USA) alındı. Alınan kanlar 30 dakika bekletildikten sonra 4500 rpm de 15 dakika santrifüj edildi ve serumlar ayrıldı. Bu serum örneklerinde Ig A (n=24), IgM (n=24), Ig G (n=24), Ig E (n=74) düzeyleri Siemens BN II ve Abbott Architect 16000 sistemlerinde 3 farklı düzeyde kontrol düzeyleri ve gerekli kalibrasyonlar yapıldıktan sonra çalışıldı. Hasta sonuçlarıyla Bias değerlendirmeleri yapıldı. Her bir parametrenin %95 güvenlik aralığı, intercept (kesişim) ve slope (eğim) değerleri ile regres-

yon eşitliğine ve korelasyon katsayılarına bakıldı. Çalışma immunglobulinlerin stabilitesi göz önünde tutularak 3 günde bitirildi. Serum ve idrar örneklerinin her biri 2 ayrı godaye bölünerek bekletilmeden aynı gün içinde turbidimetrik ve nefelometrik yöntemle eş zamanlı çalışıldı.

**İstatistiksel değerlendirme için;** CLSI EP 9 protokolüne göre bias, NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (Utah, USA) programı ve Passing& Bablok'un nonparametrik istatistik metodu kullanılarak; aritmetik ortalama, median, standart sapma, korelasyon katsayıları, eşitliği ( $y=a+bx$ ) intercept (a) ve b(slope) değerleri, Standart hatası (Syx) ve regresyon analizi yapılarak lineer regresyon eğrisi hesaplandı.

## BULGULAR

Turbidimetrik ve nefelometrik yöntem karşılaştırması Passing & Bablok'un nonparametrik metodu uygulanarak gösterildi; çalışılan

bütün parametrelerin aritmetik ortalama, median, standart sapma, ortalamanın standart hatası (Syx), korelasyon katsayıları, %95 güvenlik aralığında alt ve üst sınır değerlerleri belirlendi. Nefelometrik yöntem ve turbidimetrik yöntem ile çalışılan 24 saatlik idrar ve spot idrarda mikroalbumin, serum IgA, IgM, IgG ve IgE sonuçlarının korelasyon katsayıları sırasıyla 0.996, 0.999, 0.991, 0.967, 0.930, 0.847'dir. 24 saatlik idrar ve spot idrarda mikroalbumin için %95 güvenlik aralığında (alt ve üst sınır ) sırasıyla (0.995-0.997), (0.999-1), IgA, IgM, IgG ve IgE için (0.976-0.996), (0.913-0.987), (0.828-0.972) ve (0.757-0.904) olarak belirlendi (Tablo 1). 24 saatlik idrarda mikroalbumin in intercept ve slope değerleri (-1.58, 1.07), spot idrarda mikroalbumin için (0.40, 0.92), IgA,M,G ve IgE için ise sırasıyla (-1.63, 1.2), (-0.95, 1.22), (112.83, 1.06) ve -12.24, 1.19) olarak hesaplanarak regresyon eşitliği hesaplandı (Tablo 2-3).

**Tablo 1.** Mikroalbumin (24 saatlik/spot idrar) ve Ig'lerin (IgA, IgM, IgG ve IgE) Gruplar arası Korelasyon Katsayıları

	Gruplar arası korelasyon katsayısı	95% CI	
		Alt Sınır	Üst Sınır
<b>Mikroalbumin 24 saatlik</b>	0,996	0,995	0,997
<b>Mikroalbumin Spot</b>	0,999	0,999	1,000
<b>IgA</b>	0,991	0,976	0,996
<b>IgM</b>	0,967	0,913	0,987
<b>IgG</b>	0,930	0,828	0,972
<b>IgE</b>	0,847	0,757	0,904

BNII ve Architect ölçüm sonuçları arasında tüm değişkenlerde uyumluluk gözlenmiştir.

**Tablo 2.** Mikroalbumin test sonuçlarının cihazlara göre istatistiksel analizi

Mikroalbumin	24 saatlik		Spot	
	Architech	BNII	Architech	BNII
<b>En Düşük Değer</b>	4,99	2,19	0,99	2,2
<b>En Yüksek Değer</b>	2134	2100	971	928
<b>Aritmetik Ortalama</b>	220,55	229,95	53,01	50,53
<b>Ortanca</b>	53,5	57,1	14	11,6
<b>Standart Sapma</b>	389,06	404,4	131,51	127,16
<b>Ortalamanın Standart Hatası</b>	32,2	33,47	14,99	14,49
<b>Regresyon Eğrisi</b>	$y = -1,58 + 1,07 x$		$y = 0,40 + 0,92 x$	

**Tablo 3.** IgA, IgM, IgG ve IgE test sonuçlarının cihazlara göre istatistiksel analizi

	IgA		IgM		IgG		IgE	
	Architech	BNII	Architech	BNII	Architech	BNII	Architech	BNII
<b>En düşük değer</b>	26,67	31	43,05	50	98,74	485	20	17,2
<b>En yüksek değer</b>	220,82	257	179,48	212	975,44	1160	3319,5	1370
<b>Aritmetik ortalama</b>	96,05	113,59	98,16	113,92	618	792,67	185,56	176,16
<b>Ortanca</b>	87,71	103,7	85,8	104	578,34	748	62,8	82,65
<b>Standart Hata</b>	57,01	68,26	45,35	48,66	223,06	201,93	428,93	292,66
<b>Ortalamanın standart hatası</b>	12,75	15,26	10,4	11,16	48,68	44,06	49,86	34,02
<b>Regrasyon Eğrisi</b>	$y = -1,63 + 1,2 x$		$y = -0,95 + 1,22 x$		$y = 112,83 + 1,06 x$		$y = -12,24 + 1,19 x$	

Lineer regresyon grafikleri grafik 1-6'da gösterildi. CLSI'nin EP5-A<sup>15</sup> protokolüne göre hesaplanan % total CV değerleri (turbidimetrik yöntem) Ig A, IgM, IgG ve IgE için sırasıyla  $\leq \%4.1$ ,  $<\%4.4$ ,  $\leq \%3.4$  ve  $\leq \%6.7$ 'dir. CLSI'nin EP5- A<sup>17</sup> protokolüne göre mikroalbuminin (Turbidimetrik yöntem) % total CV değeri ise  $< \%5$ 'dir. Nefelometrik yöntemle CLSI'nin EP5-A<sup>5</sup> protokolüne göre aynı testlerin (IgA, IgM, IgG, IgE ve Mikroalbumin) 3 seviye kontrol ve 2 seviye serum havuz (n=40) grubuyla yapılan tekrarlanabilirlik çalışmalarına göre total CV değerleri sırasıyla  $\leq \%3.6$ ,  $<\%3.2$ ,  $\leq \%2.55$ ,  $\leq \%2.92$  ve mikroalbumin için  $\leq \%3.2$ 'dir. 24 saatlik ve spot idrarda, serumda IgA, IgM, IgG ve IgE için hasta sonuçlarıyla Bias tahminleri yapıldı; sırasıyla 5.92 ve -3.90, 17.54, 22.16, 152.77 ve 109.75 bulundu (Tablo 4). Yukarıda belirttiğimiz sonuçlar eşliğinde, iki metod arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

## TARTIŞMA

Tıbbi laboratuvara yeni kurulan bir yöntemin rastgele ve sistematik hata oranlarını ortaya çıkaracak deneylerin yapılarak performansının değerlendirilmesi ve güvenilir, doğru sonuçların elde edilebilmesi için analiz edilecek testin uluslararası standardizasyonunun yapılmış olması şarttır (3,7,9). Ancak bu çalışmalar zaman, eğitilmiş personel ve maddi kaynak gerektirir. Serum proteinlerini çalışacak analitleri için yeni kullanıma giren yöntemin performans değerlendirmesini yaptığımız çalışmamızda turbidimetrik yöntemin bulgular kısmında belirttiğimiz gibi kit prospektüsünde yer alandan daha yüksek CV değerlerine rağmen Deming regresyon verileri turbidimetrik ve nefelometrik yöntemlerin uyumlu olduğunu gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Mikroalbumin (24 saatlik/spot idrar) ve Ig'lerin (IgA, IgM, IgG ve IgE) bias tahminleri\*

	Mikroalbumin (24 sa. idrar)	Mikroalbumin (spot idrar)	IgA	IgM	IgG	IgE
<b>Bias</b>	5.92	-3.90	17.54	22.16	152.77	-109.75
<b>Bias %</b>	3.07	-13.17	17.53	22.18	25.7	-7.25
<b>Bias SD</b>	274.50	10.39	12.19	11.11	27.74	496.95
<b>Bias %SD</b>	21.42	31.42	6.35	4.61	6.25	28.63

\*NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) EP9-A2'ye göre metot karşılaştırma ve hasta sonuçları kullanılarak bias tahmini.

Merkez laboratuvarımızda bulunan Siemens firmasına ait BNII marka nefelometremizin kapalı olduğu akşam saatlerinde, hafta sonlarında acil laboratuvarımızda ya da yenidoğanlarda olduğu gibi serumun ayrılacağı miktarda az alınan kan örnekleri ile çalışılması gereken durumlarda, turbidimetrik yöntemler kullanım kolaylığı sağlamaktadır (4,5). Fakat hasta sonuçları değerlendirilirken hangi sistem ile çalışılmışsa hastaya ait çalışılan düzeylerinin sürekli aynı sistemle ölçülerek değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Çalışma için gereken örnek çeşitliliği ve miktarları açısından karşılaştırma yapıldığında, her iki sistemin de pratik ve kolay uygulanabilir bir çalışma prosedürüne sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak; her iki sistemin yöntem farklılıkları olmasına rağmen birbirine üstünlüğü bulunmamıştır. Daha önce Robert ve arkadaşları ve Cornelia ve arkadaşlarının yaptıkları serum proteinlerinden CRP değerleri için farklı hasta gruplarında korelasyon çalışmaları yapılmış, her iki yöntem arasında anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir (11,12,13). Biyokimya otoanalizörlerinde tek tüpten turbidimetrik yöntem ile çalışmak laboratuvarın çalışma süresini kısalttığı gibi maliyet açısından da avantaj sağlamaktadır. Ancak ölçüm sistemlerinin gerekli optimizasyon ve standardizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra her laboratuvarın yukarıda bahsedilen hususları göz önünde bulundurarak, önceliklerine göre yöntem seçim yapması, klinisyenlere bildirilen serum protein sonuçlarında testin hangi yöntemle çalışıldığının belirtilmesi, hastaların izlenmesinde ölçümlerinin her zaman aynı yöntemle ölçülmesine ve o yöntemin referans aralığının raporda verilmesine dikkat edilmesi gerekmektedir (3,10,14).

**Teşekkür:** Bioistatistik Uzmanı Rana Konyalıoğlu'na çalışmamızın istatistik kısmındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Thomas O. Tiffany, Fluorometry, Nephelometry, and Turbidimetry: Chapter 4;107-111. Tietz Textbook of Clinical Chemistry Third Edition, Edited by Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood.
2. Elizabeth Denham, Barbara Mohn, Linda Tucker, Andrea Lun, Peter Cleave and D Ross Boswell . Evaluation of immunoturbidimetric specific protein methods using the Architect ci8200 comparison with immunonephelometry. Ann Clin Biochem 2007;44:529-536.
3. Mustafa Berktaş, Mehmet Parlak, Görkem Yaman, Aytekin Çıkman, Hüseyin Güdücüoğlu, Metin Yüce. Mikro CRP sistemlerinin Nefelometrik yöntemle karşılaştırılması. Türk Klinik Laboratuvar Dergisi, Kasım 2010; Cilt 1:Sayı 1:1-6
4. Zecca E, Barone G, Corsello M, Romagnoli C, Tiberi E, Tirone C, Vento G. Reliability of two different bedside assays for C-reactive protein in newborn infants. Clin Chem Lab Med 2009; 47: 1081-1084.
5. Monteny M, ten Brinke MH, van Brakel J, de Rijke YB, Berger MY. Point-of-care C-reactive protein testing in febrile children in general practice. Clin Chem Lab Med 2006;44:1428-1432.
6. Luis Borque de Larrea, Daniella Barrozzi, Luigi Ferrari, Reiner Gamp, Gisela Ulbricht, Rene J.M. van Oers et al. The Determination of Rheumatoid Factors by an Immunoturbidimetric Assay on Boehringer Mannheim/ Hitachi Analysis Systems. Klinisches Labor. 1994; 40: 445-453.
7. Shah, V.P, Midha, K, Dighe, S. "Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies",. J. Pharm Sci., 81(3), 309-312 (1992)
8. Aybala Erek Toprak, Burçin Erdem Kınaş, Ahmet Rıza Uras. Serum sistatin c analizinde turbidimetrik yöntemin performans değerlendirmesi ve nefelometrik yöntemle karşılaştırılması Turk J Biochem,2015;38(3);238-242.
9. Kaplan AL, Pesce AJ, Kazmierczak SC. Clinical Chemistry Theory, Analysis, Correlation, 2003;404-422, Fourth Edition, Mosby, Missouri,USA
10. Passing H, Bablok W: Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample size. J. Clin Chem. Clin Biochem 1984; 22:431.
11. Luis C. L. Correia, José C. Lima, Gary Gerstenblith, Luis P. Magalhães, Agnaluce Moreira, Octávio Barbosa, et al. Correlation Between Turbidimetric and Nephelometric Methods of Measuring C-Reactive Protein in Patients with Unstable Angina or Non-ST Elevation Acute Myocardial Infarction. Arq Bras Cardiol, volume 81 (2), 133-6, 2003

12. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper Anderson M., Savoy J. et al. Evaluation of nine automated high sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem 2001; 47: 418-25.
13. Hamwi A, Vukovich T, Wagner O, et al. Evaluation of turbidimetric high-sensitivity C-reactive protein assays for cardiovascular risk estimation. Clin Chem 2001; 47: 2044-6.
14. Søren Blirup-Jensen. Protein Standardization III: Method Optimization. Basic Principles for Quantitative Determination of Human Serum Proteins on Automated Instruments Based on Turbidimetry or Nephelometry Clinical Chemistry and Laboratory Medicine June 2005Volume 39, Issue 11, Pages 1098–1109.

---

**Yazışma adresi:**

Şebnem Tekin Neijmann  
Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi  
Biyokimya, İstanbul, Türkiye  
E-mail: sebnemtekin@gmail.com

---