



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TURBİDİMETRİK METOT KULLANARAK YAPILAN
C-REAKTİF PROTEİN ÖLÇÜMÜNDE FARKLI
CİHAZLARIN ANALİTİK PERFORMANSININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

ERKAN UCA

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. TÜRKAN YİĞİTBAŞI

İSTANBUL-2019

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ihtiyaç duyduğum her anda bilgi ve tecrübesi ile destek olan değerli Hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nesrin Emekli'ye,

Yüksek Lisans Tezime ilgili çalışmamın her aşamasında; Tez konusundan başlayıp tezin basımına kadar her aşamada bana rehberlik eden, çözüm sağlayan, her zaman kolaylaştırıcı tavsiye ve yönergeler ile desteğini esirgemeyen değerli Hocam Prof.Dr.Türkan Yiğitbaşı'na,

Deneyde kullandığım serumları toplama konusunda desteğini esirgemeyen Medipol Üniversitesi Mega Hastanesi Laboratuvar'ı ekibine,

Deneylerin/denemelerin, testlerin büyük kısmının yapıldığı ve her zaman bana sabırla destek veren Archem Diagnostic Ltd. firmasının değerli; Ar-Ge ekibine ve QC Laboratuvar ekip şefi başta olmak üzere bütün ekibine,

Sadece Yüksek Lisans çalışmamda değil hayatımın her anında kendimi güvende hissetmemi sağlayan, hayattaki en büyük destekçim değerli eşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|--------|---|
| ABD | :Amerika Birleşik Devletleri |
| AHA | :Amerikan Kalp Birliği |
| AO | :Aritmetik Ortalama |
| Arg | :Arginin |
| Asn | :Asparajin |
| Asp | :Aspartik Asit |
| BLA | :Biyolojik Lisans Başvuruları |
| BH | :Bağıl Hata |
| BSS | :Bağıl Standart Sapma |
| C1q | :Tamamlayıcı Bileşen 1q |
| CDC | :Amerika'daki Hastalık Kontrol ve Önlem Merkezi |
| CPK-MB | :Kreatin Fosfokinaz –MB |
| CLSI | :Clinical Laboratory Standards Institute (Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü) |
| CRP | :C-Reaktif Protein |
| CV | :Yüzde Dağılım Katsayısı |
| DNA | :Deoksiribo Nükleik Asit |
| DI | :Deiyonize Su |
| DPC | :Diagnostics Products Corporation |
| ELISA | :Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay |
| FcyR | :İmmüoglobulin Reseptörleri |
| GLP | :İyi Laboratuvar Uygulamaları |
| Glu | :Glutamik Asit |
| Gln | :Glutamin |
| hs-CRP | :Yüksek duyarlıklı karbon reaktif protein |
| IgG | :İmmüoglobülin G |
| IL | :İmmünluminometri |
| IN | :İmmünefelometri |
| IT | :İmmüturbidimetri |
| IL-1 | :İnterlökin-1 |

| | |
|----------------|---|
| IL-6 | :İnterlökin-6 |
| IVD | :In Vitro Diagnostics |
| KAH | :Koroner arter hastalığı |
| KD | :Dağılım (Partisyon) Katsayısı |
| Kd | :Kilo Dalton |
| KKH | :Koroner Kalp Hastalığı |
| LDL | :Düşük Yoğunluklu Lipoprotein |
| LoQ | :Limit of Quantification |
| Lys | :Lisin |
| MAB | :Monoklonal Antibody |
| Mİ | :Miyokard İnfarktüsü |
| mM | :Milimolar |
| ml | :Mililitre |
| nm | :Nanometre |
| PAB | :Poliklonal Antibody |
| PCh | :Fosfokolin |
| PENIA | :Nefelometrik İmmünolojik Test Teknolojisi |
| Phe | :Fenilalanin |
| PETIA | :Türbidimetrik İmmünolojik Test Teknolojisi |
| QC | :Quality Control (Kalite Kontrol) |
| R | :Korelasyon Katsayısı |
| R ² | :Determinasyon Katsayısı |
| REMER | :Rejeneratif Ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi |
| SD | :Standard Sapma |
| Ser | :Serin |
| SLE | :Sistemik Lupus Eritematozus |
| SS | :Standart Sapma |
| SVH | :Serebrovasküler Hastalıklar |
| TEa | :İzin Verilen Toplam Hata |
| TX | :Transmite X |
| T. Kolesterol | :Total Kolesterol |

| | |
|---------------|--------------------------------|
| TNF- α | :Tümör nekroz faktör- α |
| UV | :Ultraviyole |
| μ S/cm | :Microsiemens/centimeter |
| VIS | :Görünür |



TABLolar LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 4.5.1. CRP Düzeyini etkileyen durumlar..... | 15 |
| Tablo 5.1.1 Kullanılan Cihazlar ve Ekipmanlar..... | 24 |
| Tablo 6.1 ARCHEM CRP Kontrol Sonucu..... | 32 |
| Tablo 6.2 ABBOTT(SENTINEL) CRP Kontrol Sonucu..... | 32 |
| Tablo 6.3 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Kontrol Sonucu..... | 32 |
| Tablo 6.2.1 ARCHEM reaktifi ile CRP Kontrol örneklerinin günler-arası sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları..... | 33 |
| Tablo 6.2.2 ARCHEM CRP Kontrol örneklerinin gün-içi sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları..... | 35 |
| Tablo 6.2.3 SENTINEL reaktifi ile CRP Kontrol örneklerinin günler-arası sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları..... | 36 |
| Tablo 6.2.4 SENTINEL CRP Kontrol örneklerinin gün-içi sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları..... | 38 |
| Tablo 6.2.5 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Kontrol örneklerinin günler-arası sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları..... | 39 |
| Tablo 6.2.6 SIEMENS ADVIA 1800 CRP CRP Kontrol örneklerinin gün-içi sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları..... | 41 |
| Tablo 6.3.1 LoQ karşılaştırma Tablosu..... | 42 |
| Tablo 6.4.1.1 ARCHEM- SENTINEL Regresyon Tablosu..... | 43 |
| Tablo 6.4.2.1 ARCHEM- SIEMENS Regresyon Tablosu..... | 46 |
| Tablo 6.4.3.1 SENTINEL- SIEMENS Regresyon Tablosu..... | 49 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 4.2.1 CRP'nin Kalsiyum ve Fosfokolin bağlanmış pentamer model yapısı | 7 |
| Şekil 4.3.1 İnflamasyon sırasında akut faz proteinlerinin sentezlenmesi | 9 |
| Şekil 4.4.1 Kalsiyum ve fosfokolin bağlanma yerleri..... | 10 |
| Şekil 4.4.1.1 Koroner arter hastalığı için risk faktörlerinin karşılaştırılması.... | 13 |
| Şekil 4.6.2.1 Turbidimetrik metotta aglütinasyon oluşumu..... | 17 |
| Şekil 4.6.2.2 CRP'de zamana bağlı absorpsiyon değişimi | 18 |
| Şekil 4.6.2.3 Örnek bir CRP kalibrasyon eğrisi | 18 |
| Şekil 4.7.1 Işık spektrumu | 20 |
| Şekil 4.7.1.1 Küvete giren (I_0) ve çıkan ışın (I)değişimi | 21 |
| Şekil 4.8.1 Otoanalizör genel yapısı..... | 23 |
| Şekil.5.4.1.Sentinel kiti için kullanılan kalibratörler | 25 |
| Şekil 6.1.1. ARCHEM CRP kalibrasyon grafiği | 31 |
| Şekil 6.1.2. SENTINEL CRP kalibrasyon grafiği | 31 |
| Şekil 6.2.1 ARCHEM CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 1 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği. | 34 |
| Şekil 6.2.2 ARCHEM CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 2 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği. | 34 |
| Şekil 6.2.3 SENTINEL CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 1 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği | 37 |
| Şekil 6.2.4 SENTINEL CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 2 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği | 37 |
| Şekil 6.2.5 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 1 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği..... | 40 |
| Şekil 6.2.6 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 2 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği..... | 40 |
| Şekil 6.4.1.1 ARCHEM – SENTINEL Regresyon dağılım grafiği | 44 |
| Şekil 6.4.1.2 ARCHEM – SENTINEL Bland-Altman grafiği | 44 |

| | |
|---|-----------|
| Şekil 6.4.2.1 ARCHEM – SIEMENS Regresyon dağılım grafiği | 48 |
| Şekil 6.4.2.2 ARCHEM – SIEMENS Passing and Bablok grafiği | 48 |
| Şekil 6.4.3.1 SENTINEL– SIEMENS Regresyon dağılım grafiği | 50 |
| Şekil 6.4.3.2 SENTINEL– SIEMENS Passing and Bablok grafiği | 50 |



İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-------------|
| TEZ ONAY FORMU | i |
| BEYAN | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| KISALTMALAR | iv |
| TABLolar LİSTESİ | vii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | viii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | x |
| 1. ÖZET | 1 |
| 2. ABSTRACT | 2 |
| 3. GİRİŞ VE AMAÇ | 4 |
| 4. GENEL BİLGİLER | 6 |
| 4.1. CRP (C-REAKTİF PROTEİN)..... | 6 |
| 4.2. CRP'nin Yapısı | 6 |
| 4.3. CRP Sentezi | 8 |
| 4.4. CRP'nin Klinik Önemi Ve Fonksiyonları | 9 |
| 4.4.1. Koroner kalp hastalıkları ve Serebrovasküler hastalıklarda CRP'nin önemi..... | 11 |
| 4.5. Serum CRP Düzeyini Etkileyen Durumlar | 13 |
| 4.6. CRP Tayinine Yönelik Başlıca Yöntemler | 16 |
| 4.6.1. Spektrofotometrik İmmünoturbidimetrik Metot | 16 |
| 4.6.2. Partikül Bazlı Türbidimetrik İmmünolojik Test Teknolojisi (PETIA) | 16 |
| 4.6.3. İmmünoflorometrik Metot | 19 |
| 4.6.4. ELISA Metodu | 19 |
| 4.6.5. Nefelometrik Metot (PENIA METOT)..... | 19 |
| 4.7. Spektrofotometre..... | 20 |
| 4.7.1. Spektrofotometrenin Çalışma Prensibi ve Cihazın Yapısı..... | 21 |
| 4.8. Otoanalizörler..... | 22 |
| 4.9. EP09-A3 Standardı | 22 |

| | |
|---|-----------|
| 5. MATERYAL ve METOT..... | 24 |
| 5.1. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar | 24 |
| 5.2. Numunelerin Toplanması..... | 24 |
| 4.1 Kullanılan Kalibratörler ve Kit Yöntemleri..... | 25 |
| 5.2.1. SENTINEL CRP(ABBOTT C 8000 Cihazı Üstünde) Yöntemi..... | 26 |
| 5.2.2. ARCHEM CRP(ABBOTT C 8000 Cihazı Üstünde) Yöntemi..... | 26 |
| 5.2.3. SIEMENS CRP(SIEMENS ADVIA 1800 Cihazı Üstünde) Yöntemi.... | 26 |
| 4.2 Yöntem Performanslarının Karşılaştırılması..... | 27 |
| 5.2.4. Kesinlik ve Doğruluk | 27 |
| 5.2.5. Analitik Sensitivite (Tespit Kabiliyeti) | 27 |
| 5.2.6. Karşılaştırma Analizleri(Regresyon Analizi, Bland Altman) | 27 |
| 5.2.7. Dağılım Grafikleri..... | 29 |
| 5.2.8. Fark Grafikleri..... | 29 |
| 5.2.9. Tanımlar | 29 |
| 6. BULGULAR..... | 31 |
| 6.1. Kalibrasyon ve Kontrol Bilgileri..... | 31 |
| 6.2. Kesinlik ve Doğruluk Çalışması | 32 |
| 4.3 Analitik Sensitivite (Tespit Kabiliyeti) | 42 |
| 4.4 Karşılaştırma Analizi(Regresyon Analizi, Bland Altman) | 42 |
| 6.2.1. ARCHEM-SENTINEL Karşılaştırması..... | 42 |
| 6.2.2. ARCHEM-SIEMENS Karşılaştırması..... | 45 |
| 6.2.3. SENTINEL-SIEMENS Karşılaştırması..... | 48 |
| 7. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 51 |
| 8. KAYNAKLAR | 55 |
| 9. ETİK KURULU RAPORU | 62 |
| 10. ÖZGEÇMİŞ..... | 64 |

1. ÖZET

TURBİDİMETRİK METOT KULLANILARAK YAPILAN C- REAKTİF PROTEİN ÖLÇÜMÜNDE FARKLI CİHAZLARIN ANALİTİK PERFORMANSININ KARŞILAŞTIRILMASI

Turbidimetrik kantitatif analiz metodu C-reactive protein'in(CRP) en çok kullanılan ölçüm metotlarından biridir. Bu çalışmada, klinik laboratuvarlarda hasta serumu üzerine turbidimetrik ölçüm yapan üç ayrı CRP kitinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Aynı gün alınan 100 adet hasta serumu Siemens reaktifi kullanılarak, Siemens Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE 19714, U.S.A.) cihazında ve Sentinel ve Archem firmaları tarafından üretilen reaktifler kullanılarak Abbott Architect C 8000 (Abbott, USA) cihazında analiz edildi. Bu üç reaktif ile LoQ (Limit of Quantification), gün-içi, günler-arası, tekrarlanabilirlik çalışıldı. Üç reaktif arasındaki karşılaştırma, Regresyon analizi ve Bland Altman metodu ile yapıldı.

Immünotürbidimetrik method çalışan bu üç kit ile yapılan LoQ değerleri sırasıyla şu şekilde bulundu; ARCHEM (0,5 mg/L), SENTINEL (0,23 mg/L) ve SIEMENS ADVIA (0,12 mg/L). Gün-içi kesinlik çalışmasında (n=20) Kontrol düzey 1 CV (Yüzde Dağılım Katsayısı) değerleri sırasıyla: ARCHEM (CV=2,23), SENTINEL(CV=1,3) ve SIEMENS ADVIA (CV=1,62), kontrol düzey 2 CV değerleri sırasıyla ARCHEM (CV=1,02), SENTINEL (CV=0,9), SIEMENS ADVIA (CV=1,14) olarak %5 değerinin altında bulunmuştur. Günler-arası sonuç ortlamalarının düzey 1 CV değerleri sırasıyla; ARCHEM (CV=3,32), SENTINEL(CV=2,53) ve SIEMENS ADVIA (CV=2,34), düzey 2 CV sırasıyla; ARCHEM(CV=2,51), SENTINEL (CV=1,98), SIEMENS ADVIA (CV=2,32) olarak %5 değerinin altında bulunmuştur. Değerleri 0,8 mg/L ile 159,8 mg/L arasında olan 100 adet hasta serumu yapılan doğruluk çalışmasında, regresyon katsayı değerleri , ARCHEM-SENTINEL arasında $r^2 = 0,9987$, ARCHEM – SIEMENS arasında $r^2 = 0,9986$ ve SENTINEL – SIEMENS arasında $r^2 = 0,9984$ olarak bulundu. Regresyon eşitlikleri sırayla ARCHEM-SENTINEL arasında $y=-$

0,1359+1.0035x, ARCHEM – SIEMENS arasında $y= -0,02646+1,002x$ ve SENTINEL – SIEMENS arasında $y=0,1326+0,9978x$ olarak bulundu. Araştırma sonucu üç reaktif ile elde edilen sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu, saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Archem CRP , EP09, İmmunoturbidimetri, metot karşılaştırma, Sentinel CRP, Siemens CRP



2. ABSTRACT

THE COMPARISON BETWEEN THE RESULTS OF TURBIDIMETRIC METHOD C-REACTIVE PROTEIN MEASUREMENT USING DIFFERENT INSTRUMENTS

Turbidimetric quantitative analysis method of C-reactive protein(CRP) is one of the most common method of measurement CRP. Goal of this study is to compare three quantitative imminoturbidimetric methods results to measure CRP quantities in patient serum samples in a clinical laboratory. Freshly collected n=100 patient serums were analyzed with SIEMENS REAGENT together SIEMENS ADVIA 1800 instruemnt (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE 19714, U.S.A.) and ABBOTT ARCHITECT C 8000 instrument (Abbott, USA) along with SENTINEL REAGENT and ARCHEM REAGENT. LoQ, Inter-assay, Intra-assay precision studies have been done with these three methods. The relationship between these three methods was studied with regression analysis and Bland Altman method.

The LoQ values has found ARCHEM (0,5 mg/L), SENTINEL (0,23 mg/L) and SIEMENS ADVIA (0,12 mg/L) with these three immunoturbidimetric methods. Intra-assay study (n=20) control level 1 CV values (coefficient of variation) were ARCHEM (CV=2,23), SENTINEL(CV=1,3) and SIEMENS ADVIA (CV=1,62), control level 2 CV values ARCHEM(CV=1,02), SENTINEL (CV=0,9), SIEMENS ADVIA (CV=1,14) were found below %5. Inter-Assay study (n=10) control level 1 CV values ARCHEM (CV=3,32), SENTINEL(CV=2,53) and SIEMENS ADVIA (CV=2,34), Level 2 CV values; ARCHEM(CV=2,51), SENTINEL (CV=1,98), SIEMENS ADVIA (CV=2,32) were found below %5. Regression coefficients between these three methods were found: ARCHEM-SENTINEL $r^2 = 0,9987$, ARCHEM – SIEMENS $r^2 = 0,9986$ and SENTINEL – SIEMENS $r^2 = 0,9984$. This study been carried out on 100 patient serums which have values between 0,8 mg/L ile 159,8 mg/L. Regression equations between ARCHEM-SENTINEL $y = -0,1359 + 1,0035x$, between ARCHEM - SIEMENS $y = -0,02646 + 1,002x$ and between SENTINEL – SIEMENS $y = 0,1326 + 0,9978x$ were found.

Our results indicated that these three imminuturbidimetric methods were compatible.

Key words: ARCHEM CRP, EP09, Immunoturbidimetry, method comparison, SENTINEL CRP, SIEMENS CRP



3. GİRİŞ VE AMAÇ

C-reaktif protein (CRP), enfeksiyon ve enflamasyon durumunda kanda miktarı artan, akut faz proteini olarak bilinir(1). Akut faz proteinleri; akut veya kronik inflamatuvar olay sonucunda artmış olan sitokinlerin, başlıca interlökin (IL)-6'nın etkisi ile en çok karaciğerden salgılanan çeşitli proteinleri kapsar. Akut-faz cevabı, endotermik hayvanların spesifik olmayan fizyolojik ve biyokimyasal tepkileri, çoğu doku hasarı, enfeksiyon, enflamasyon ve habis neoplazi formlarını içerir. CRP, inflamatuvar durumlarda kandaki değeri 10.000 kattan daha fazla artış gösterebilir. Özellikle otoanalizörlerin yaygınlaşmasıyla beraber 1990'lı yıllarda ve sonralarında CRP düzeyinin daha hassas ölçülebilmesi ile birlikte klinik önemi ve kullanımı büyük oranda artmıştır. CRP ölçümü özgül olmayan, enflamasyonu gösteren bir test olmasına karşın, bazı hastalıkların tanısında, riskinin belirlenmesinde ve izleminde çok önemli bir parametre olarak bilinmektedir. CRP seviyelerini belirlemek için birçok yöntem mevcuttur. CRP kantitatif analizinde turbidimetrik ve nefelometrik yöntemler en sık tercih edilen yöntemlerdir. Bunların yanı sıra kompleks latex teknolojisi, ELISA, PETIA, PENIA vb. yöntemlerle de CRP analizi yapmak mümkündür. Nefelometri, teorik olarak düşük konsantrasyondaki antijen antikor reaksiyonlarının duyarlı ölçümünde bir avantaj sağlasa da günümüzde kararlı ve yüksek çözünürlükteki fotometrik sistemler, serum proteinlerinin immünolojik ölçümlerinde hemen hemen nefelometrik yöntemler kadar duyarlı hale gelmiştir(59.60).

Bu tez kapsamında, partikül(Latex) bazlı türbidimetrik immünolojik test teknolojisi /metodu (PETIA) kullanılan CRP kitlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Klinik laboratuvarlarda method performansının değerlendirilmesi için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLCI)(Clinical Laboratory Standards Institute) tarafından EP09-A3 standardı geliştirilmiştir ve bu tezde yapılan çalışmalar bu standart kapsamında değerlendirilmiştir(2).

Türkiye'de, aynı laboratuvarlarda aynı analit farklı cihaz ve kitler kullanılarak ölçülebilmektedir. Bu durum kalite kontrolü ve izlenebilirlik açısından zaman zaman büyük sıkıntılara neden olur. Farklı cihazların eşdeğer sonuçlar sağlayıp

sağlamadığını belirlemek için, bu çalışmada yaygın olarak kullanılan 2 cihazda, PETIA methodu ile ölçüm yapan 3 farklı kitin (ARCHEM CRP, SENTINEL CRP, SIEMENS ADVIA CRP) sonuçlarının birbiri ile uyumu ve korelasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



4. GENEL BİLGİLER

4.1 CRP (C-REAKTİF PROTEİN)

C-reaktif protein (CRP), sentezi karaciğer ve yağ hücrelerinde gerçekleşen, her biri 206 aminoasit içeren 5 alt üiteden meydana gelen bir pentraksin proteindir, molekül kütlesi yaklaşık 106 kilodalton (Kd) dur(3).

CRP, enfeksiyon ve enflamasyon durumunda kanda miktarı artan, akut faz proteini olarak bilinir(1). Akut faz proteinleri, akut veya kronik inflamatuvar olay sonucunda artmış olan sitokinlerin, başlıca interlökin (IL)-6'nın etkisi ile en çok karaciğerden salgılanan çeşitli proteinleri kapsar. Akut-faz cevabı, endotermik hayvanların spesifik olmayan fizyolojik ve biyokimyasal tepkileri, çoğu doku hasarı, enfeksiyon, enflamasyon ve habis neoplazi formlarını içerir. CRP, inflamatuvar durumlarda 10.000 kattan daha fazla artış gösterebilir. CRP'nin kronik olarak hafif de olsa yüksek düzeyleri, koroner arter hastalığı (KAH) için LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler) yüksekliğinden daha önemli risk faktörüdür ve CRP değeri kronik olarak yüksek olanlarda yaşam süresinin kısılacağı düşünülmektedir(4). CRP ayrıca doku hasarının sistemik belirteçidir(5).

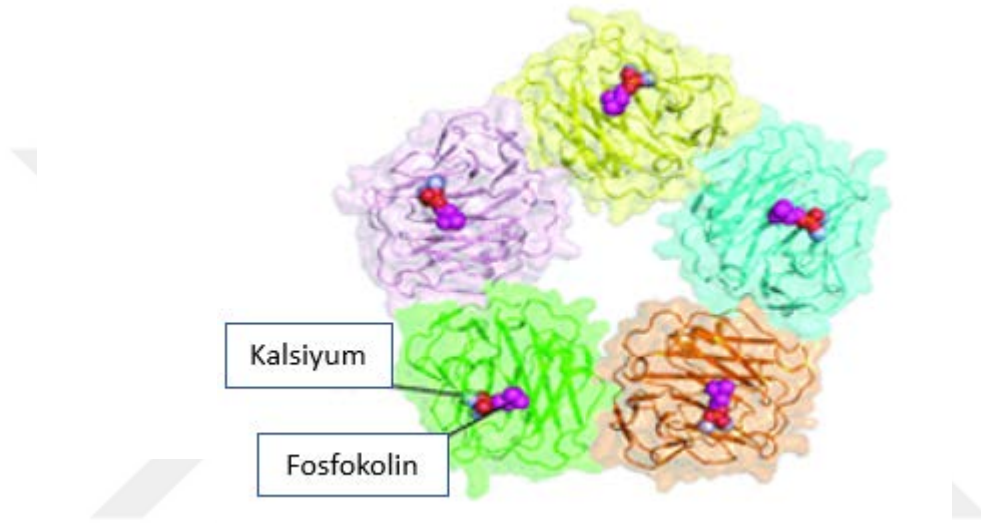
CRP'nin isimlendirilmesi, pnömokok bakterileri türlerini genetik olarak birbirine dönüştüren kimyasal madde olduğunu laboratuvarında gösteren Oswald T. Avery (1877-1955) tarafından yapılmıştır. CRP, pnömokokların kapsül antijenine bağlandığı için bu ismi almıştır(6).

CRP, protein elektroforezinde beta ile gama bölgeleri arasında yer alan, molekül ağırlığı yaklaşık 115.000 dalton olan proteindir. Plazma yarı ömrü yaklaşık 19 saattir(7).

4.2 CRP'nin Yapısı

CRP, beş özdeş alt birim (A-E) içeren pentraksin ailesinin bir üyesidir (Şekil 4.2.1). Alt birimler, bir dekamerik çift oluşturacak şekilde kristalleşen bir siklik pentamer içine kovalent olmayan şekilde bağlanır. Kristal yapıda pentamerler ve her bir alt ünite beş katlı eksenine doğru 20 derece döndürülür. Rotasyon, her alt ünitenin kalsiyum bağlama yerlerini dış yüze yerleştirir(8). Her alt ünite, 206 amino asit kalıntısı, 2 β yaprak halinde düzenlenmiş 14 anti-paralel β iplikçik oluşturur(9). Amino asit Kalıntıları 168-176, β yapraklardan birine karşı katlanan uzun bir α -

sarmal oluşturur. Amino Asit(AA) Kalıntıları 43-48 ve 186-188, 310 sarmal dönüşler oluşturur. Rastgele bobinler ikincil yapının kalanını oluşturur. Her bir alt birim üç tuz köprüsü içerir: Asp 155: Arg-118, Glu-101: Lys-201 ve Lys-123: Glu-197. Arg-47, her bir alt birime ek stabilizasyon sağlayan Ser-149 ve Ser-151 ile bir hidrojen bağı oluşturur(10). Aşağıda CRP'nin Pentraksin yapısı (Şekil 4.2.1) ve CRP'nin molekül yapısı gösterilmiştir(11).



Şekil 4.2.1 CRP'nin Kalsiyum ve Fosfokolin bağlanmış pentamer model yapısı

CRP, ligand bağlanması için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Her pentamerdeki beş alt birimden dördü iki kalsiyum iyonunu bağlar. Kalsiyum, aynı zamanda yüksek sıcaklıklara veya yüksek üre konsantrasyonlarına bağlı olarak CRP'nin denatürasyonunu önler. Kalsiyum bulunmadığında, CRP iki noktada bölünebilir: Asn-145: Phe-146 ve Phe 146: Glu-147. 138-150. kalıntılar, kalsiyumun bağlanması üzerine büyük bir yapısal değişime uğrayan bir kalsiyum bağlama döngüsü oluşturur. Kalsiyumu biten CRP molekülünde, 138-150 döngüsü hareketlidir. Kalsiyum bağlı olduğunda ise, bu döngü katlanır. Bu yapısal değişim Asn-145: Glu-147'yi korur (proteolitik bozulma yeri). 143. ve 144. pozisyonlarındaki glisin kalıntılarında ise, bağlanma için gereken esnekliği sağlar. Katlanmış halka Glu-147'yi kalsiyum iyonlarının koordinasyonuna izin veren bir konuma yerleştirmektedir. Kalsiyum bağlanma yerinde, birinci kalsiyum iyonu Asp 60, Asn-61, Glu-138, Asp-140 ve

Gln-139 tarafından koordine edilirken, diğerkalsiyum iyonuda Glu-138, Asp 140, Gln- 150 ve Glu-147 ile koordine edilir.

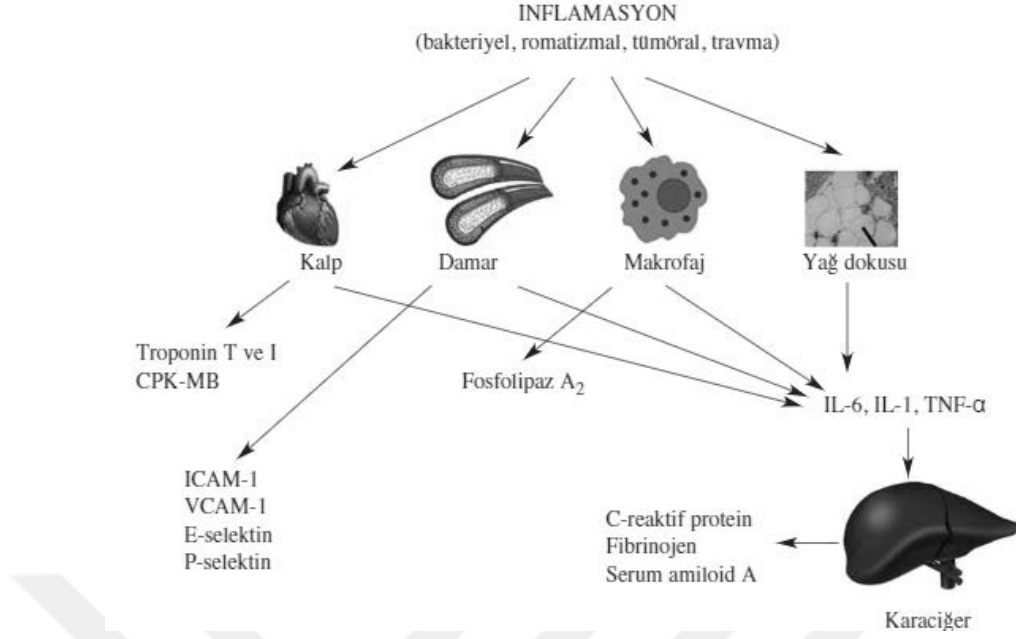
Diğerbir ifadeyle kalsiyum bulunmadığında CRP' de, yapısal değişiklikler meydana gelip, Bir alt ünitenin 138-150. dōngüsü, diğerpentamerin bir alt biriminde kalsiyum bağlanma bölgesine temas eder. Arg 47: Ser-149 ve Arg-47: Ser-151 hidrojen bağlarının yokluğu da, 43-48, 68-72 ve 85-91. dōngülerinin hareket etmesine yol açmaktadır. Sonuç olarak, her bir pentamerin bir alt birimi kalsiyumu bağlayamaz.

Hastaların erken akut fazı sırasında bu hastalardan elde edilen serumların, pnömokok hücre duvarından türetilen "C" polisakkariti çökeltecek bir protein içerdiği bulunmuştur ve bu proteine Fosfokolin adı verilmiştir. Volanakis ve Kaplan , pnömokokal C duvarındaki CRP için spesifik ligandı, pnömokokal hücre duvarının teikoik asidinin bir parçası olan fosfokolin olarak tanımlamışlardır. Fosfokolin, CRP için tanımlanan ilk ligand olmasına rağmen, bir dizi başka otolog ve dış kaynaklı ligandlar da tanımlanmıştır. Otolog ligandlar arasında plazma lipoproteinleri, parçalanmış hücre membranları, ribonükleoprotein partikülleri, çeşitli fosfolipidler ve apoptotik hücreler sayılabilir. Dış kaynaklı ligandlar, çeşitli glikan ve fosfolipidler ile mikroorganizmaların ve bitkilerin muhtelif yapılarıdır(12).

Fosfokolin birçok prokaryotun bir bileşenidir ve ökaryotlarda neredeyse evrensel olarak bulunur. Bu bileşen spesifik olarak tanınan fosfokolindeki CRP'ye benzeyen germline kodlu, yüksek oranda korunmuş doğal antikorların önemli bir kısmıdır(13). Bu artıkları bağlama kapasitesi nekrotik ve apoptotik hücreler dahil olmak üzere hem konak savunması hem de otolog bileşenlerin kullanımı için önemli olabilir. Kompleman insan CRP'si tarafından aktiveştirildikten sonra bu çeşitli ligandların fagositozunu opsonize edip arttırabilir, ancak bununla beraber proinflamatuvar patofizyolojik etkilere de aracılık edebilir(5).

4.3 CRP Sentezi

CRP'nin sentezi esas olarak karaciğerde Tumor nekroz faktör (TNF- α) ve IL-6 kontrollü olarak gerçekleşir ve normalde kanda/serumda çok düşük seviyelerde bulunur, Bu durum inflamasyonda değişir(Şekil 4.3.1).



Şekil 4.3.1 İnflamasyon sırasında akut faz proteinlerinin sentezlenmesi

CRP, karaciğer dışında aterosklerotik plaklar, nöronlar, monositler ve lenfositler tarafından da sentezlenmektedir(3). Bu sentezin kontrolünün ne şekilde olduğu bilinmemekte olup ve bu sentez miktarı/seviyesi CRP düzeyini etkileyecek miktarda olabilmektedir.

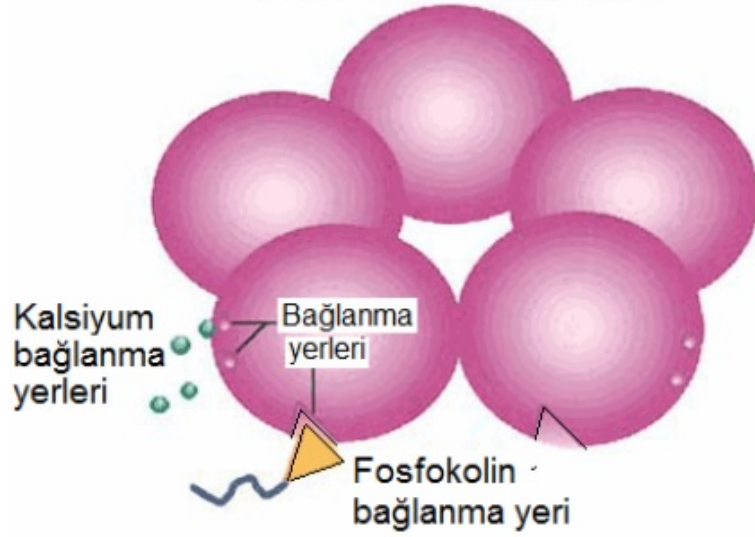
CRP enfeksiyon ile karşılaştıktan yaklaşık 6 saat sonra sentezlenmeye başlar. Bu nedenle, daha düşük düzeylerde CRP'nin saptanması bile, CRP enfeksiyonun daha erken tanımlanmasını sağlayabilmektedir (14).

CRP' nin plazma yarı ömrü yaklaşık 19 saattir, yarılanma ömrü hastalık ve sağlık durumunda değişmediği için dolaşımdaki CRP düzeyinin tek belirleyicisi sentezlenme hızıdır. Sentez hızı da, CRP üretimini uyaran patolojik durumların şiddetini göstermektedir.

4.4 CRP'nin Klinik Önemi ve Fonksiyonları

1990'lı yıllarda ve sonralarında CRP'nin daha hassas ölçülebilmesi ile birlikte klinik önemi ve kullanımı büyük oranda artmıştır. CRP ölçümü özgül olmayan, inflamasyonu gösteren bir test olmasına karşın, bazı hastalıkların tanısında, riskinin belirlenmesinde ve izleminde çok önemli bir parametredir.

Çeşitli ligandlarla etkileşime ek olarak CRP, kompleman sistemini aktive edebilir, fagositozu uyarır ve immünoglobulin reseptörlerine (FcγR) bağlanabilir. Fosfokolin ve kalsiyum için CRP ye bağlanma yerleri Şekil 4.4.1 de gösterilmiştir (15).



Şekil 4.4.1 Kalsiyum ve fosfokolin bağlanma yerleri

CRP, bakteri ve diğer mikropların patojenlerin ve hücre zarlarının polisakkaritlerinde ve aynı zamanda monofosfat esterlerinde fosfokoline (PCh) bağlanır; Her bir durumda bağlanma kalsiyuma bağlıdır. Bir kompleman sistem proteini olan C1q, CRP-ligand etkileşimini tanır ve kompleman sisteminin klasik yolunu aktive eder. Kompleman sistemi proteinleri C3 ve C4'ün aktivasyonu, hasarlı hücreleri veya bakterileri işaretleyerek fagositozu artırır. CRP ayrıca lökositler tarafından fagositozu doğrudan arttıran, IgG Fc-reseptörlerine bağlanır. Fagositoz, ölü hücrelerin temizlenmesini sağlayarak normal yapı ve fonksiyonun geri dönüşünü sağlamaktadır.

Kompleman sistem C3a ve C5a'sı, inflamasyona neden olan mast hücrelerini uyarır. Tamamlayıcı sistemin bir regülatörü olan faktör H, CRP'ye bağlanır, C5'in bölünmesini bloke eder ve iltihap tepkisini azaltır. CRP ayrıca, inflamasyona ilk müdahaleyi yapan nötrofillerin hareketlerini de inhibe eder.

CRP hem inflamatuvar hem de antiinflamatuvar etki gösterir(16). Hangi etkinin daha baskın olduğu ise bilinmemektedir. İnflamatuvar etkileri arasında makrofajlardan inflamatuvar sitokinlerin, IL-6 reseptörünün ve doku faktörünün salgılanmasını

arttırması sayılabilir(17). Bu etkileri ile CRP doku hasarını da arttırabilir. Hayvanlara CRP verildiğinde deneysel olarak oluşturulan miyokard infarktüsü (MI)'nde nekroze alan %40 artmaktadır(18). CRP'nin antiinflamatuvar etkisi de vardır(17). Tavşan CRP geni verilmiş ve fazla miktarda CRP salgılayan farelerde antiinflamatuvar etkinin belirgin olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir(19). CRP antiinflamatuvar etkisini esas olarak nötrofillerin damar duvarına adezyonunu azaltıp inflamasyon bölgesine geçişini azaltarak yapar. CRP aynı zamanda hücrelerin apoptozunda da rol oynayıp, antiinflamatuvar etki gösterir(20). CRP eksikliğinde apoptozda bozukluk olup bunun otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği de ileri sürülmüştür(21).

CRP, kompleman sistemi, hasarlı hücrelerin ve mikropların lizisini(parçalanmasını) veya apoptozisini indükleyerek enfeksiyonla mücadele eden bir grup proteini aktive ederek doğuştan gelen bağışıklıkta rol oynar.

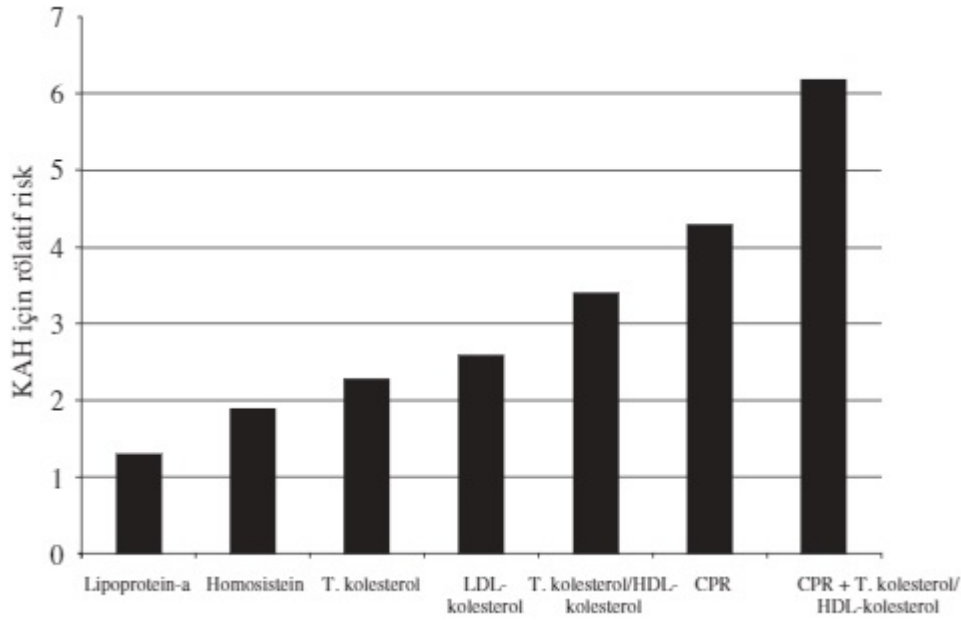
Yukarıda da belirtildiği gibi dokulardaki yaralanma, karaciğerde CRP üretimini başlatan ve kan dolaşımına salınan bir sitokin olan interlökin-6 üretimini uyarır. İnterlökin-1 β ve TNF- α , her iki sitokin de CRP üretimine yol açmaktadır. Kandaki CRP seviyeleri enfeksiyon ve inflamasyonun bir göstergesi olarak işlev görebilir.

4.4.1 Koroner kalp hastalıkları ve Serebrovasküler hastalıklarda CRP'nin önemi

Günümüzde, aterosklerozun damarsal bir inflamasyon olduğu görüşü, yaygın olarak kabul görmektedir(20). CRP'nin kardiyometabolik hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır(22). Aterosklerotik damarlarda bulunması, normal damarlarda bulunmaması, CRP'nin yalnızca basit bir inflamasyon belirteci değil; aynı zamanda plak oluşumu, plak olgunlaşması ve yırtılmasını da içeren aterosklerozun tüm basamaklarında aktif bir rol üstlendiğini göstermektedir(23,22). Amerika ve Avrupa'da yapılan birçok prospektif çalışmada; dolaşımdaki yüksek hassaslıkta ki CRP'nin (hs-CRP) sağlıklı kişilerde ileri dönemdeki KKH(24,23), hipertansiyon(26,27), ani kardiyak ölüm(28) ve serebrovasküler hastalıkların(25,29,30) önemli bir habercisi olduğu gösterilmiştir. Hatta bazı yayınlarda CRP'nin KKH risk belirteci olarak geleneksel belirteçlerden daha etkin olduğu ileri sürülmektedir(25,31). Amerika'daki Hastalık Kontrol ve Önlem Merkezi (Center for Disease Control and Prevention, CDC) ve Amerikan

Kalp Birliği (American Heart Association, AHA), CRP'yi kardiyovaskular risk saptanmasında ölçümünü/takibini önermektedir. <1 mg/L Düşük, 1-3 mg/L Orta, >3 mg/L CRP düzeyleri yüksek risk gruplarını göstermektedir(32.33). CDC/AHA, gelecekteki KKH riskinin saptanmasında, iki hafta arayla iki ölçüm yapıp bunların ortalamasının kullanılmasını önermektedir. CRP >10 mg/L olduğu durumlarda, asemptomatik inflamatuvar cevap veya subklinik enfeksiyon nedeniyle hatalı risk gruplamasına neden olmaması için iki hafta sonra testin tekrarı önerilmektedir(34). Hormon replasman tedavisinin (tek başına östrojen veya progestin ile beraber) hs-CRP konsantrasyonlarını arttırdığı bildirilmektedir(35.36). CRP; diyabet, metabolik sendrom ve obezite: hs-CRP; diyabet(37.38) ve metabolik sendromda(39) klinik olarak prognostik bilgiler verdiği bildirilmiştir. Obezite de ise, hs-CRP' nin artışına adipoz dokudan salgılanan interlökin-6'nın (IL-6) neden olduğu ileri sürülmektedir(40.41). Bunun ile beraber, kilo verilmesiyle inflamatuvar yanıtın azaltılmasının, KKH riskini azaltacağı düşünülmektedir. Glomerüloskleroz, aterosklerozun böbrekte görülen bir özdeşi gibi düşünülmektedir. Bu sebeplerle, CRP ile böbrek işlevlerinde azalma ve erken dönem böbrek hastalığı arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar(42) artmakla beraber, kanıtlar henüz yeterli değildir.

CRP yüksekliği ve kalp hastalığı ilişkisi 2003 yılının en önemli tıbbi gelişmelerinden birisi olarak gösterilmektedir(43). CRP değeri, koroner arter hastalığı riskini LDL kolesterolden daha iyi göstermektedir(Şekil 4.5.1.)(4). Ridker ve arkadaşları tarafından yaklaşık 28.000 kadın üzerinde ortalama sekiz yıllık takip ile gerçekleştirilen bir araştırmada, CRP düzeyi, koroner arter hastalığı riskinin tahmini için LDL düzeyinden daha etkili bulunmuştur. Bu araştırmaya göre, normal LDL, yüksek CRP seviyesi olan kadınlarda, yüksek LDL, normal CRP seviyesi bulunan kadınlara oranla, koroner arter hastalığı daha fazla görülmektedir(44).



Şekil 4.4.1.1 Koroner arter hastalığı için risk faktörlerinin karşılaştırılması

4.5 Serum CRP Düzeyini Etkileyen Durumlar

Sağlıklı genç bireylerde serum CRP düzeyi ortalama değeri 1 mg/L'dir(45). Yaşlanma ile CRP'nin normal kişilerdeki ortalama değeri 2.0 mg/L'ye çıkar(46). CRP kadınlarda erkeklerdekinden biraz daha yüksektir(47). Bazı merkezlerde, laboratuvarlarda sonuç birimi mg/dL olarak verildiğinden, CRP değerleri mg/L'nin 1/10'udur. Sağlıklı bireylerin %90'ında CRP <3.0 mg/L olarak saptanır. Normal bireylerde CRP <50 µg/L olabildiği gibi, inflamasyon sırasında CRP > 500 mg/L'ye çıkabilir. Yani inflamasyona cevap olarak CRP 10.000 kattan fazla artabilir (48)

CRP, yaş ile birlikte bir miktar yükselmektedir(46). Ancak akut inflamatuvar hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan yükselmeler hariç tutulacak olursa, CRP düzeyleri genel olarak stabildir. Yani sağlıklı bir kişide CRP 2 mg/L ise, daha sonra yapılan kontrol ölçümlerinde de CRP bu düzeylerde saptanır. CRP'de mevsimsel değişiklik, diüurnal varyasyon olmaz. CRP'nin açlık veya toklukla düzeyi değişmez(49). Ancak karaciğerden sentezlendiğinden, karaciğer yetmezliği olanlarda beklenenden daha az yükselebilir. Eş yumurta ikizlerinde benzer CRP düzeyleri saptanmaktadır(50). Bu nedenle sağlıklı bireyler arasındaki CRP düzeylerinde görülen farkların genetik yapı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Sağlıklı kişilerde ve sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarındaki CRP düzeylerindeki farkların,

CRP genindeki polimorfik GT tekrarları ve IL-1ve IL-6 genindeki polimorfizm ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. İnflamatuvar bir hastalık olan SLE bulunan hastaların önemli bir kısmında CRP'nin neden yükselmediği bilinmemektedir(51).

Kronik durumlar ve infeksiyonlar CRP düzeyini artırmaktadır.(Tablo 4.5.1) Alkol alımı, Egzersiz ve statin kullanımı ise CRP düzeyini azaltmaktadır(Tablo 4.5.1) (52.53).



Tablo 4.5.1. CRP düzeyini etkileyen durumlar

| CRP düzeyini belirgin arttıran durumlar | |
|--|--------------------------------|
| İnfeksiyonlar | Bakteriyel infeksiyonlar |
| | Sistemik mantar infeksiyonları |
| | Sistemik viral infeksiyonları |
| İnfeksiyonların Alerjik Reaksiyonları | Eritema nodozum |
| | Akut romatizmal ateş |
| İnflamatuvar Romatizmal Hastalıklar | Romatoid Artrit |
| | Jüvenil kronik artrit |
| | Spondiloartropatiler |
| | Sistemik vaskülitler |
| | Polimiyalijiya romatika |
| | Ailevi Akdeniz ateşi |
| | Crohn hastalığı |
| Nekrozun olduğu durumlar | Miyokard infarktüsü |
| | Tümör nekrozu |
| | Akut pankreatit |
| Travma | Cerrahi |
| | Yanık |
| | Kırık |
| Malign Hastalık | Lenfoma |
| | Karsinom |
| | Sarkom |
| CRP düzeyini azaltan kronik durumlar | |
| | Alkol alımı |
| | Egzersiz |
| | Statinle |

4.6 CRP Tayinine Yönelik Başlıca Yöntemler

4.6.1 Spektrofotometrik İmmünoturbidimetrik Metot

Turbidimetrik ölçümler fotometre ve/veya spektrofotometrede kolaylıkla gerçekleştirilebilen metottur. Spektrofotometrik yöntemlerden olan turbidimetri, genellikle numunedeki protein yapısındaki maddelerin ölçümünde kullanılır. Metot, ışık kaynağından gelen ışığın turbidite (bulanıklık) alandan geçerken gelen ışık demetinin düşmesi prensibi temeline dayanır. Işığın soğrulmasının neden olan, gelen ışık şiddetindeki bu düşüş turbidimetrik yöntemin temelidir. Başka değişik yöntemlerde proteinler denatüre edilerek çözünürlükleri ortadan kaldırılır; bulanıklık oluşturulur ve bulanıklık ölçülür. Antikorların kullanılması ile yürütülen yöntemlere ise immünoturbidimetri denir. Antikorlar monoklonal ve poliklonal antikorlar olmak üzere ikiye ayrılır. Bakteri, virüs, hormon ve vücutta bulunan bazı proteinlerin ortak bir epitopa sahip olmasından dolayı; laboratuvar testlerinde poliklonal antikorların kullanılması, kuşkulu sonuçların ortaya çıkmasına neden olur(54).

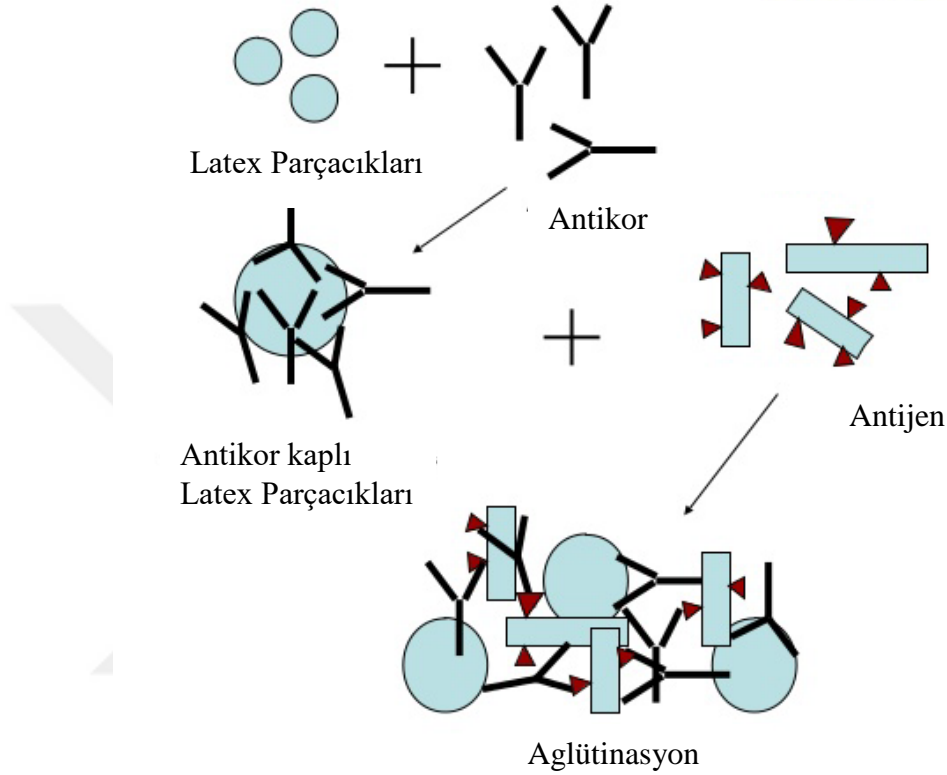
İmmünoturbidimetrik metot, serum ve plazmada CRP seviyelerini doğru ve tekrar edilebilir olarak ölçebilmek için geliştirilmiş bir yöntemdir.

Bu metodu PETIA metodundan ayıran en önemli özellik, Reaktif içerisinde Lateks partikül olmayışıdır.

4.6.2 Partikül Bazlı Türbidimetrik İmmünolojik Test Teknolojisi (PETIA)

CRP testinin geliştirilmiş tayini için, partikül bazlı türbidimetrik immünolojik test teknolojisi (PETIA) kullanır. Keçi, Koyun, Tavşan vb. anti-CRP poliklonal antikorlarının kovalent olarak bağlandığı lateks partikülleri, CRP varlığında toplanır. Parçacık agregasyonunun neden olduğu bulanıklığın artma miktarı/hızı, bikromatik (340 ve 700 nm'de), 405/510 nm veya monokromatik (570 nm'de) olarak ölçülür. Parçacık reaktifinde kullanılan antikor, Keçi vb. den elde edilen poliklonal anti-insan-CRP antikorunun iyon değişimi ile saflaştırılmış IgG fraksiyonudur. Antikor, 48 nm/ 80 nm/ 130 nm vb. klorometilstiren ve polivinilnaftalen parçacıklarına kovalent olarak birleştirilir. Antikor, % 0.45 katı içeren 15 mM'lik bir sodyum fosfat birleştirme sıvısı içeren ve PH ı yaklaşık 7.5 olan 2 ± 2.2 mg / ml partikül çözeltisine yüklenmiştir. Buffer ise 245 mM potasyum fosfat ve % 1.88 polietilen glikol içerir(55).

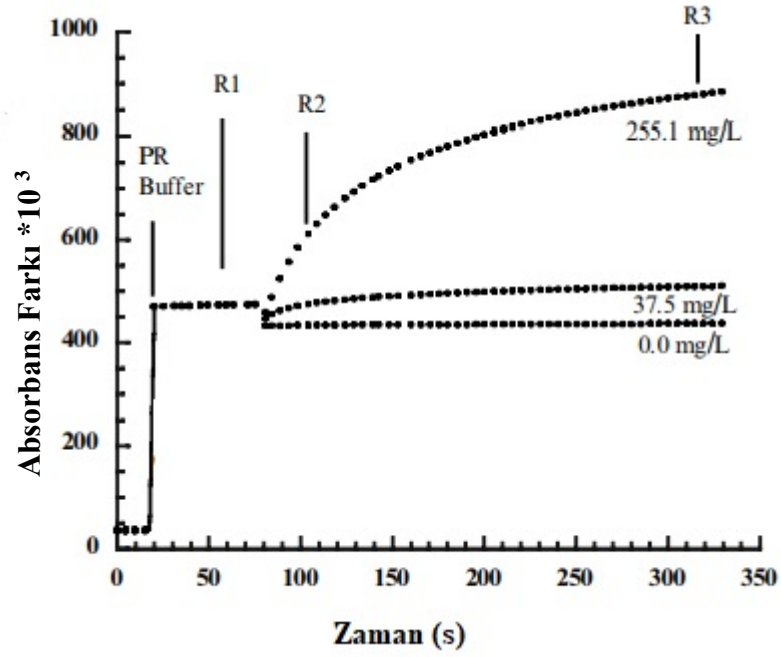
Bir başka deyim ile numunedeki CRP ve lateks partiküllerine adsorbe edilmiş anti-CRP antikorları arasında bir antijen-antikor reaksiyonu olduğunda, aglütinasyon ile sonuçlanır (Şekil 4.6.2.1). Bu aglütinasyon, değişiklik oranının numunedeki CRP sayısına orantılı olarak bir absorbanans değişikliği olarak tespit edilir(56).



Şekil 4.6.2.1 Turbidimetrik metotta aglütinasyon oluşumu

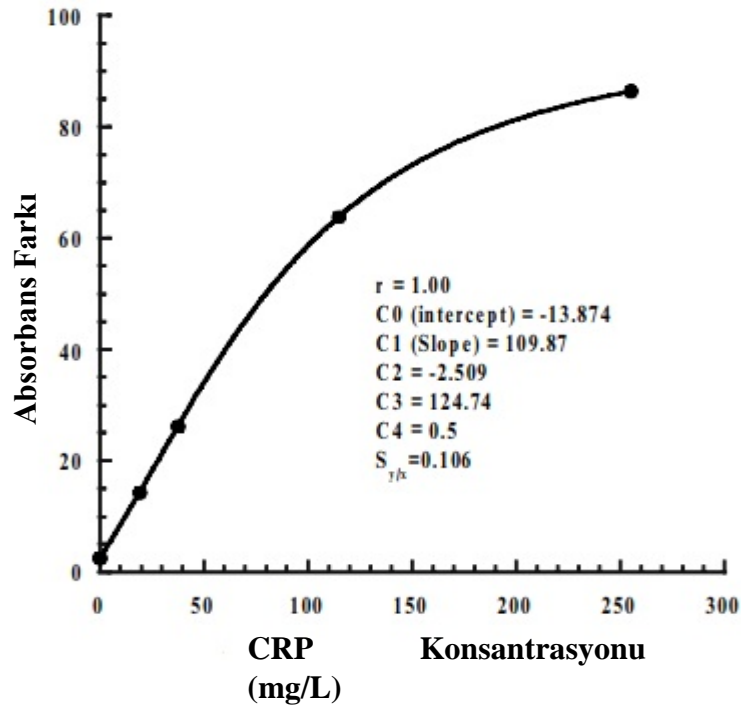
Solüsyonda oluşan bağışıklık kompleksleri ışıklarının büyüklüklerine, şekillerine ve konsantrasyonlarına göre orantılı olarak saçar. Turbidimetreler yansıma, absorpsiyon veya saçılma nedeniyle insidans ışığının azalmasını ölçer. Bu prosedürde, çözelti içinde süspansiyon edilmiş partiküller yoluyla iletilen ışık yoğunluğundaki düşüş oranının (absorbanstaki artış) ölçümü, hasta serumu CRP'si ve latex parçacıkları üzerinde kaplanmış tavşan anti-CRP antikorları arasında immünolojik reaksiyon sırasında oluşan komplekslerin sonucudur(57).

PETIA metodunda zaman bağlı absorbanans, grafiği çizilerek konsantrasyonlar , kalibrasyon eğrisine bağlı olarak tespit edilir (Şekil 4.6.2.2).



Şekil 4.6.2.2 CRP'de zamana bağlı absorbans değişimi

Numunedeki analit konsantrasyonu, denklemden elde edilen kalibrasyon katsayıları kullanılarak hesaplanır (Şekil 4.6.2.3).



Şekil 4.6.2.3 Örnek bir CRP kalibrasyon eğrisi

4.6.3 Immünoflorometrik Metot

Immünoflorometrik metot, kısa sürede sonuç veren, genelde masa üstü veya taşınabilir ve küçük yer kaplayan cihazlarda kullanılmaktadır. Cihazda ışık kaynağı olarak lazer (2.5 mV,637 nm) kullanılmaktadır. Çalışma işlemi şu şekildedir: Önce 10 ml serum 500 ml floresanla işaretlenmiş monoklonal anti-CRP ve anti-rabbit IgG içeren tampon çözeltisi ile karıştırılır ve daha sonra bu çözelti test kartuşuna yüklenir. Bu kartuşa yüklenen çözelti/karışım nitroselülöz matrikste kapiller etki ile hareket ederken burada immün kompleksler oluştururlar. Biriken immün kompleks miktarı numunedeki CRP miktarı ile orantılıdır. 5/10 dakika beklendikten/inkübasyondan sonra test kartuşu ile cihazda floresans okuyucuda floresans şiddeti ölçülerek CRP miktarı tayin edilir. Numunedeki CRP miktarı test/kontrol alanlarının cihazda kayıtlı olan kalibrasyon grafiği ile karşılaştırılması ile otomatik olarak hesaplanır(58).

4.6.4 ELISA Metodu

İnsan CRP katı fazlı, sandwich ELISA (enzime bağlı immünosorbent testi), eşleşen/buna özgü olan bir antikor çifti arasında bağlanan hedef miktarını ölçmek için tasarlanmıştır. Yani hedefe (CRP) özgü bir antikor, satın alınan mikropolanın oyuklarında daha önceden kaplanmıştır. Örnekler, standartlar ve kontroller daha sonra bu oyuklara ilave edilir ve hareketsizleştirilmiş sabit antikora bağlanır. Sandviç, ikinci (detektör) antikorun bu ortama eklenmesiyle oluşturulur, son olarak ölçülebilir bir sinyal üretmek için enzim-antikor-hedef kompleksiyle reaksiyona girecek olan bir substrat çözeltisi ilave edilir. Bu sinyalin yoğunluğu/şiddeti, orijinal örnekte mevcut olan hedef miktarla doğrudan orantılıdır(59).

4.6.5 Nefelometrik Metot (PENIA METOT)

Bu yöntem lateks ile güçlendirilmiş nefelometri ile C-reaktif protein miktarını belirler. Esas olarak parçacık bazlı testler, çözünür bir analit ile polistiren parçacıklarına bağlanan ilgili antijen veya antikor arasındaki reaksiyona dayanır. CRP ölçümünde, anti-CRP antikorlarını kovalent olarak bağlamak için bir polistiren çekirdeği(Latex) ve hidrofilik kabuktan oluşan parçacıklar kullanılır. Seyreltilmiş bir test örneği numunesi, fare vb. monoklonal anti-CRP antikorlarıyla kaplanmış lateks partikülleri ile karıştırılır. Test numunesinde mevcut olan CRP, lateks parçacıkları yardımıyla bir antijen-antikor kompleksi oluşturacaktır(60).

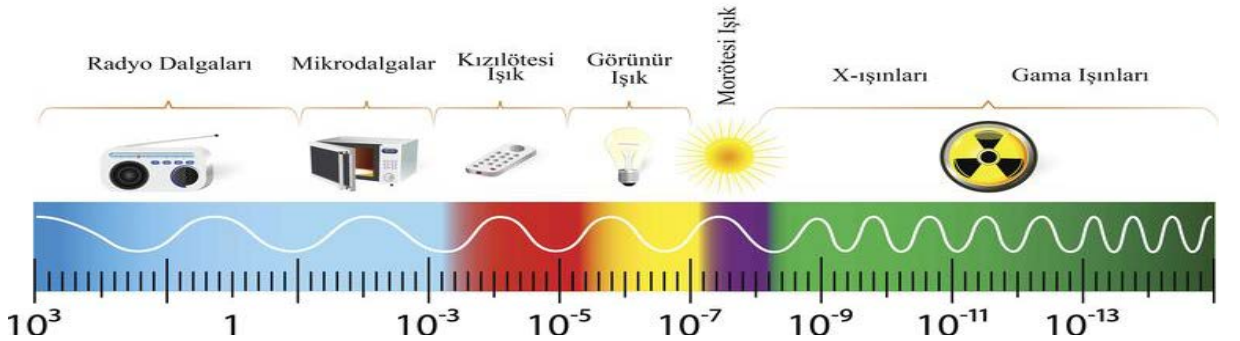
Yaklaşık olarak 6 dakika sonra nefelometrik bir prosedürle ölçülen ışık saçılımı, numunede bulunan analit miktarıyla orantılıdır. Otomatik bir kör/blank absorbans çıkarma işlemi gerçekleştirilir. Daha sonra elde edilen bu değer, bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanır. Sinyal datalarının bunda azaltılması, kalibrasyon eğrisi için saklanabilir bir logit-log fonksiyonu kullanılarak yapılır.

4.7 Spektrofotometre

Spektrometre, elektromanyetik spektrumun belirli bir bölümü üzerinde ışığın özelliklerini ölçerek spektroskopik analiz yöntemiyle materyalleri belirlemek için kullanılan bir cihazdır. Spektrofotometreler, madde renginin yoğunluğunun ölçülmesi ile madde miktarının yani konsantrasyonunun bulunmasını sağlar.

İnsan gözü, yaklaşık olarak 380-750 nm arasında dalga boylarına sahip olan ışık enerjilerine cevap verebilmektedir.

- <380 nm dalga boyundaki ışık Ultraviyole (Mor-ötesi, U.V.)
- 380-440 nm dalga boyundaki ışık Menekşe
- 440-500 nm dalga boyundaki ışık Mavi
- 500-580 nm dalga boyundaki ışık Yeşil
- 580-600 nm dalga boyundaki ışık Sarı
- 600-620 nm dalga boyundaki ışık Turuncu
- 620-750 nm dalga boyundaki ışık Kırmızı
- >750 nm dalga boyundaki ışık İnfraruj (Kırmızı-ötesi, IR) olarak tanımlanır.

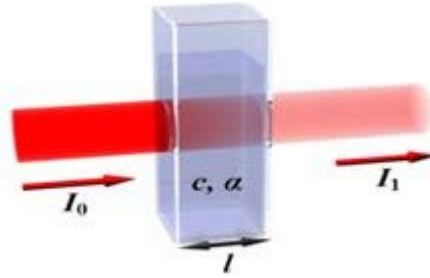


Şekil 4.7.1 Işık spektrumu

4.6.6 Spektrofotometrenin Çalışma Prensibi ve Cihazın Yapısı

Spektrometre ile örneğe bu aralıkta monokromatik -belirli bir dalga boyuna ait bir ışın gönderilir. Spektrofotometreler gönderdiği ışığın dalga boyuna göre çok çeşitlidir. Gönderilen ışık, küvetin içindeki örnekten geçtikten sonra fotometreye(ışık ölçücü) ulaşır. Spektrometre'den(lambadan) gönderilen ışık ile fotometreye ulaşan ışık arasındaki fark bize absorblanma miktarını verir.

Işımanın soğurulma miktarı soğurucunun konsantrasyonuyla doğru orantılıyken, ışımının şiddetinden bağımsızdır. Soğurucu ortamın çözelti olması durumunda soğurma miktarı ışıma yoluna ve çözelti derişimine bağlıdır. Maddenin ışığı soğurma (absorplama) derecesini ölçmek ve bundan yararlanarak derişimi hesaplamak için, soğurma ile derişim arasındaki ilişki bilinmelidir. Monokromatik ve I_0 şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı l cm olan bir tüpte bulunan çözeltildeki herhangi bir molekül tarafından absorplandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terk eder (Şekil 4.7.1.1). Burada moleküllerin seçilen dalga boyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma Lambert-Beer eşitliği ile verilir: Bu kanun: Bir çözeltilden geçen ışık miktarı, ışığın çözeltili içinde kat ettiği yol ve çözeltili konsantrasyonu ile logaritmik olarak ters orantılı, emilen ışık miktarı ise doğru orantılıdır şeklinde açıklanabilir.



Şekil 4.7.1.1 Küvete giren (I_0) ve çıkan ışın (I)

$$\log I_0/I = \epsilon lc = A$$

I_0 : Örnek kabına giren ışık şiddeti,

I : Örnek kabını terk eden ışık şiddeti

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı – molar soğuruculuk ($L / \text{mol.cm}$)

l : Örnek kabının kalınlığı – ışığın çözeltili içinde kat ettiği yol (cm)

c : Çözeltinin molar derişimi (mol / L),

A: Absorbans-soğurganlık

Örnek kabını terk eden ve kaba giren ışık şiddetleri arasındaki orana geçirgenlik (T) denir.

$$I / I_0 = T = 10^{-\epsilon lc}$$

Absorbans ile geçirgenlik arasında,

$A = -\log T = 2 - \log \% T$ ilişkisi vardır ve %T, yüzde geçirgenlik adını alır.

4.8 Otoanalizörler

Otoanalizörler; kan, serum, plazma, idrar gibi biyolojik maddelerin içinde bulunan organik ve anorganik maddeleri çeşitli parametreler kullanarak otomatik olarak hızlı analiz eden cihazlardır. Otoanalizörler, her numuneden istenilen/pogramlanan testlerin analizini yapar. Analizleri yaparken mikroişlemciler kullanılarak hesaplamalar yapılmaktadır. Reaktiflerin katkısı ile meydana getirilen biyokimyasal olaylar küvet (reaksiyon cell) adı verilen özel havuzlarda meydana gelmekte ve burada ölçümler yapılmaktadır. Tüm küvetler (reaksiyon cell), reaksiyon tepsisi(disk) üzerinde toplanmıştır. Bu reaksiyon tepsisi (disk) ise ısısı normal vücut ısısına eşit olan bir su havuzu, jel havuzu veya hava havuzu içine yerleştirilmiştir. Böylece reaksiyonlar gerçek ortama (vücut ısısına en yakın değer) en yakın koşullarda meydana getirilebilmektedir. Gerekli sürelerde optik okumaları yapıp sonunda ilgili test sonucunu hesaplanmış olarak kullanıcı ekranına sunar. Otoanalizörün genel yapısı; Sistem kontrol merkezi /Bilgisayar, işlem modülü (kasa) ve numune yükleme sistemi/bölümü olmak üzere temel 3 bölümden oluşmaktadır (Şekil 4.7.3.1.).



Şekil 4.8.1 Otoanalizör genel yapısı

4.9 EP09-A3 Standardı

Klinik laboratuvarlarda method performansının değerlendirilmesi için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLCI) tarafından EP09-A3 standardı(2) geliştirilmiştir. CLSI, sağlık sektöründe kar amacı gütmeyen gönüllü olarak uzlaşma standartları, kılavuzların geliştirilmesi ve kullanılmasını destekleyen, uluslararası ve farklı bilim dallarıyla ilgili eğitsel bir organizasyondur. Hastalara uygulanan testler ve ilgili sağlık konularında standart ve kılavuz geliştirmede kendine özgü uzlaşma sürecini uygulamasıyla tüm dünya tarafından tanınmıştır. EP09-A3 standardında, her biri kendi deneysel gereklilikleri olan ölçüm prosedürlerinin karşılaştırıldığı çeşitli durumlar anlatılmıştır. Bu gereklilikler deneysel tasarıma dahil edilecek faktör sayısı, örnek sayısı ve her örnek için tekrar sayısı arasındaki farklılıkları belirler.

5. MATERYAL ve METOT

Tezin deneysel laboratuvar çalışmaları ARCHEM firması QC ve Analiz laboratuvarında 01.07.2019 – 31.07.2019 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma, 19.12.2018 tarihli 773 sayılı İstanbul Medipol Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu izni ile gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler; MedCalc (Mariakerke, Belgium) programıyla yapıldı.

5.1. Kullanılan Cihazlar ve Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan cihaz ve ekipman listesi şu şekildedir.

Tablo 5.1.1 Kullanılan Cihazlar ve Ekipmanlar

| Cihaz Adı | Ekipman Türü | Marka | Model | Cihaz Seri No. |
|----------------------|----------------------------|-------------|---------|----------------|
| ARCHITECT C 8000 | Biyokimya Otoanalizör | ABBOTT | C8000 | C800081 |
| ARCHITECT C 16000 | Biyokimya Otoanalizör | ABBOTT | C8000 | C1600074 |
| Santrifüj | Santrifüj | elektro-mag | M 4812M | 08100703 |
| ADVICA 1800 | Biyokimya Otoanalizör | SIEMENS | 1800 | - |
| Buzdolabı | Buzdolabı | ARÇELİK | - | - |
| Mikro pipet | Mikro pipet 10-100 µl | Socorex | - | - |
| Mikro pipet | Mikro pipet 100-1000 µl | Socorex | - | - |

5.2. Numunelerin Toplanması

Karşılaştırma Çalışması için; Medipol Üniversitesi Mega Medipol Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'na kan vermeye gelen hastaların (istenilen testleri çalışıldıktan sonra atılacak olan) serum örnekleri kullanıldı. Örnekler oturur pozisyonda, antekubital venden, pıhtı aktivatör içeren, antikoagülan içermeyen jelli tüplerle (Beckton Dickonson, New Jersey, USA) alındı. Kanlar alındıktan sonra 30

dakika içerisinde her örnek 2000xg'de 15 dakika süre ile santrifüj edildi. Serumlar ayrıldıktan sonra tek tek ayrı olarak etiketlendi.

5.3. Kullanılan Kalibratörler ve Kit Yöntemleri

ARCHEM ve SENTINEL kitlerinin çalışmaları ABBOTT ARCHITECT C 8000 cihazında cihaz içi kitler arası carryover etkisi inhibe etmek amaçlı farklı zamanlarda yapıldı. Daha sonra numuneler Siemens kiti için SIEMENS ADVIA 1800 cihazında çalışıldı.

Ölçümler yapılmadan önce bütün cihazlara kalibrasyon yapıldı, grafik ve QC değerleri kontrol edildi. (Kontrol SD değerlerini +1 aralığı içerisinde olması sağlandı). Bütün ölçüm metotları için çalışmaya başlamadan önce uygun koşullar sağlandı. Eğer uygun değil ise çalışmaya başlanmadı.

Kalibrasyon işlemi ;

SENTINEL kiti için; CRP kalibratör set 5 noktalı kalibratörü kullanıldı (Ref No: 6K26-10).

| CONT | Kısa Adı | Kapak Rengi | CONC mg/dL | CONC mg/L | QTY |
|------|----------|-------------|---------------|--------------|----------|
| CAL | CRP05 | beyaz | 0.50 | 5.0 | 1 x 2 mL |
| CAL | CRP10 | açık sarı | 1.00 | 10.0 | 1 x 2 mL |
| CAL | CRP20 | açık yeşil | 2.00 | 20.0 | 1 x 2 mL |
| CAL | CRP40 | açık mavi | 4.00 | 40.0 | 1 x 2 mL |
| CAL | CRP80 | pembe | 8.00 | 80.0 | 1 x 2 mL |
| CAL | CRP160 | magenta | 16.00 | 160.0 | 1 x 2 mL |
| CAL | CRP320 | kahverengi | 32.00 | 320.0 | 1 x 2 mL |

Şekil.5.4.1.Sentinel kiti için kullanılan kalibratörler

Deiyonize Su (DI): İletkenlik değeri < 0,1 µS/cm olan deiyonize su kullanıldı.

ARCHEM kit için; CRP WR CALIBRATOR 5 noktalı kalibrasyona sahip kalibratör kullanıldı (Ref No: TA101S-4)

Deiyonize Su (DI): İletkenlik değeri < 0,1 µS/cm olan deiyonize su kullanıldı.

SIEMENS kiti için: CRP CALIBRATOR, 5 noktalı kalibratörü kullanıldı (Ref No: 00337402; B03-4815-01)

Deiyonize su: İletkenlik değeri $< 0,1 \mu\text{S/cm}$ olan deiyonize su kullanıldı.

İnternal Kontrol (QC) ;

Bütün kitler için ortak kontrol materyali kullanıldı. ARCHEM Specific Protein Control Level I REF: 04R42-01 ve Specific Protein Control Level II REF: 04R43-01 iki seviye şeklinde kullanıldı.

5.3.1. SENTINEL CRP (ABBOTT C 8000 Cihazı Üstünde) Yöntemi

Turbidimetrik/İmmunoturbidimetrik method ile ölçüm yapan MULTIGENT CRP Vario, serum ve plazmada kan CRP seviyelerini ölçebilmek için geliştirilmiş bir lateks immuno tetkikidir. Numunedeki CRP ve lateks partiküllerine adsorbe edilmiş anti-CRP antikoru arasında bir antijen-antikor reaksiyonu oluşmasına bağlı, aglutinasyon ile sonuçlanır. Bu aglutinasyon, değişiklik oranının numunedeki CRP sayısına orantılı olarak bir absorbans değişikliği (572 nm'de) olarak tespit edilir. Geniş analitik ölçüm aralığını kapsamak için üç ayrı yöntem ile test ölçüm yapmaktadır.

5.3.2. ARCHEM CRP (ABBOTT C 8000 Cihazı Üstünde) Yöntemi

ARCHEM CRP reaktifi; Turbidimetrik/İmmunoturbidimetrik method ile ölçüm yapan, serum ve plazmada kan CRP seviyelerini ölçebilmek için geliştirilmiş bir lateks immunitetkikidir. Numunedeki CRP ve lateks partiküllerine adsorbe edilmiş spesifik anti-CRP antikoru arasında bir antijen-antikor reaksiyonu oluşmasına bağlı, aglutinasyon ile sonuçlanır. Bu aglutinasyon, değişiklik oranının numunedeki CRP sayısına orantılı olarak bir absorbans değişikliği (572 nm'de) olarak tespit edilir.

5.3.3. SIEMENS CRP (SIEMENS ADVIA 1800 Cihazı Üstünde) Yöntemi

Turbidimetrik/İmmunoturbidimetrik method ile ölçüm yapan ADVIA Chemistry wrCRP, serum ve plazmada kan CRP seviyelerini ölçebilmek için geliştirilmiş bir lateks immunitetkikidir. Numunedeki CRP ve lateks partiküllerine adsorbe edilmiş anti-CRP antikoru arasında bir antijen-antikor reaksiyonu oluşmasına bağlı, aglutinasyon ile sonuçlanır. Bu aglutinasyon, değişiklik oranının numunedeki CRP sayısına orantılı olarak bir absorbans değişikliği (571 nm'de) olarak tespit edilir.

Ölçümler tek okuma olarak çalışıldı. Tüm numuneler random olarak cihazlarda çalışıldı.

5.4. Yöntem Performanslarının Karşılaştırılması

Klinik laboratuvarında kullanıma uygunluğun değerlendirilmesi için yöntemlerden şu parametreler incelendi; Kesinlik ve doğruluk, Tespit kabiliyeti (analitik sensitivite, , Limit of quantification-LoQ) ve Metot karşılaştırma (61).

5.4.1. Kesinlik ve doğruluk

Kesinlik ve hata hesaplamaları tek bir çalışma ile elde edilen veriler kullanılarak yapıldı. Bu iki çalışm için de CRP konsantrasyonları bilinen kalite kontrol materyali, ARCHEM SPESIFIC PROTEIN CONTROL DÜZEY 1 VE DÜZEY 2 kullanıldı. Gün-içi kontrol çalışması için, iki seviye kontrol serumları 20 tekrarlı olacak şekilde aynı gün içinde tek seferde çalışıldı. Günler-arası tekrarlanabilirlik için -20 C de saklanan aynı düzeydeki kontrollerin ardışık on gün boyunca, her gün tek seferde 5 defa tekrarlı ölçüm yapılarak CRP değerleri çalışıldı. Elde edilen veriler kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi için kullanıldı(62).

Kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi için elde edilen verilerle aritmetik ortalama (AO), standart sapma (SD) , tekrarlanabilirlik (ölçüm içi ve ölçümler arası yüzde varyasyon katsayısı/değişim katsayısı- %CV) değerleri hesaplandı.

5.4.2. Analitik Sensitivite(Tespit kabiliyeti)

Analitik sensitivite terimi düşük analit konsantrasyonunda ölçüm yönteminin kesinlik performansını değerlendirmek için kullanılan testleri tanımlar. Testler “Limit of the Blank“ (LoB), “Limit of Detection” (LoD), “Limit of Quantitation” (LoQ) olarak sıralanır. Bu çalışmada tez kapsamına yakın olan LoQ çalışması yapıldı, LoQ, kabul edilebilir kesinlik ve doğrulukla ölçülebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanır. “Fonksiyonel sensitivite” $CV=20\%$ elde edilebilen analit konsantrasyonudur.

5.4.3. Karşılaştırma Analizleri (Regresyon Analizi, Bland Altman)

Çalışmamızda 100 serum örneği kullanılarak üç farklı cihaz ile ölçüm yapıldı. Elde edilen verilerin dağılımının incelenmesi için dağılım grafikleri ve fark grafikleri (Bland-Altman) kullanıldı (Bland Altman) gerçekleştirildi(63.64). Yöntemlerin karşılaştırılması için Pearson korelasyon ve regresyon analizleri yapıldı.

Bland-Altman metodu; aynı örnekler üzerinden iki metot ile elde edilen ölçüm değerleri arasındaki farkların, ortalamalarına karşı gösterildiği saçılım grafiğidir. Bu grafiğe bazı yerlerde “Bland – Altman Uyum Sınırları Grafiği” de denir.

Bland – Altman grafiğinde x eksenini, gerçek değer bilinememesinden dolayı, gerçek değer en iyi tahmin edicisi olan, aynı örnek üzerinden iki metot ile elde edilen sonuçların ortalama değerleri oluşturur. Y eksenini ise, iki metot ile aynı örnek üzerinden elde edilen ölçümler arasındaki fark değerleri oluşturmaktadır.

Bu yöntem şu şekilde de açıklanabilir; Bland – Altman grafiği yanlılığın (farkların sistematik olarak sıfırdan farklı olup olmadığının) ve rastgele hatanın (farkların ne kadar yaygın olduğunun) değerlendirilmesine imkan tanıyan metottur. Saçılım grafiğinde noktaların, x eksenine yatay uzanan uyum sınırları ($\mu_D \pm 1,96S_D$) ‘uyum sınırları’ arasında olması beklenir. Metotlar arasındaki varsa olan uyumsuzluk ise, işaretlenen noktaların yatay olarak çizilen sıfır ekseninden sapmalarıyla ölçülebilir.

Yöntem karşılaştırması Klinik Laboratuvar Standartları için Ulusal Komitesinin (National Committee for Clinical Laboratory Standards; NCCLS) EP-09A3 kriterlerine uygun olarak yapıldı. Çalışmalar EP09-A3 ışığında, aşağıdaki prosedürler kapsamında yapıldı. İstatistiksel analizler; MedCalc (Mariakerke, Belgium) programıyla yapıldı.

Toplanan numunelerdeki hastalıklar (örn: hemoliz, ikterik ve lipemi) not edildi.

Numune seçimi sırasında kitin çalışma/ölçüm değerleri aralığında numune seçimleri gerçekleştirildi. (0,5 mg /L < Numune değeri < 160,0 mg /L)

LOQ değeri altındaki değerlerdeki serumlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışma süresinde kullanılan numuneler için taşıma ve muhafaza etme süresince stabil ve uygun koşullar sağlandı.

Karşılaştırma çalışması için alınan numuneler stabil ve uygun şartlar altında tutularak bekletilmeden çalışmalar aynı gün içerisinde yapıp bitirildi.

Karşılaştırılan üç metot için; numuneler mümkün oldukça enterferanstan uzak numunelerden seçildi.

Kit numunelerinin sonuçları aynı birimde seçilmiş, hepsi **mg/L** olarak değerlendirildi/hesaplandı.

Sadece Klinik karar noktaları ve referans aralıkları içindeki numune sonuçları yerine tüm ölçüm aralığını kapsayan numuneler seçilmiştir. Fakat genel olarak numunelerin

referans aralıkta olmasına dikkat edildi. Bu bağlamda düşük veya yüksek değerde olan CRP numuneleri de çalışmaya dahil edildi.

Ölçüm sonuçlarında kalibrasyona, lotlara ve cihaza bağlı bias sapmaları gözlenebileceğinden dolayı, İdeal IVD (In Vitro Diagnostic) ölçüm prosedürü kalibrasyon prosedürünü kullanarak sapmaları elimine edildi.

5.4.4. Dağılım grafikleri

Dağılım grafikleri ölçüm metotlarını karşılaştırmaları için çizildiğinde; x eksenine aday/referans ölçüm prosedürü, y eksenine ise aday/referans ölçüm prosedürü yerleştirilerek yapıldı.

Metot karşılaştırılan dağılım grafiklerinde Bland Altman ve Passing Bablok metotları grafikleri kullanıldı.

Kesişim güven aralığı, eğim güven aralığı, bağıl standart sapma aralığı grafik yardımıyla bulunmaktadır. Okunan sonuçlara göre Bias hesaplamaları yapıldı ve Passing Bablok Regresyon grafikleri çizildi.

5.4.5. Fark grafikleri

Metot karşılaştırılan yöntemlerde fark grafiği çizerken Bland-Altman grafiği uygun görüldü.

5.6. Tanımlar

Varyasyon Katsayısı (Coefficient of Variation): Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi olarak tanımlanır.

Korelasyon katsayısı (r) determinasyon katsayısı (r²): İki rastgele değişken arasındaki doğrusal ilişkinin ölçüsüdür.

Ölçüm prosedürü karşılaştırma çalışmalarının belirtildiği birkaç farklı senaryo bulunmaktadır. Hem üretici hem de klinik laboratuvarlar için en ideal senaryo aday ölçüm prosedürünün genel kabul görmüş bir standart veya referans ölçüm prosedürüyle karşılaştırılmasıdır. Üretici açısından bu durum, bias için performans taleplerinin tesis edilmesi ve belki de doğrulanmasını içerirken, klinik laboratuvarlar için söz konusu üretici taleplerinin (şartnamelerin) doğrulanması dahil olmak üzere laboratuvara bir ölçüm prosedürü getirilmesini içerir.

Bu standardın amacı karşılaştırmalı bir yöntemle göre hasta numunesi popülasyonundaki ölçüm aralığı boyunca ortalama bias ölçmede daha iyi uygulamalar oluşturmaktır. Fark grafikleri, ilişkinin sabit bir farkla tutarlı olup

olmadığını veya ölçüm aralığı boyunca sabit bir yüzde farkı (sabit CV) ile tutarlı olup olmadığını değerlendirmek için ölçüm prosedürleri arasındaki ilişkiyi görsel olarak göstermek için kullanılır.



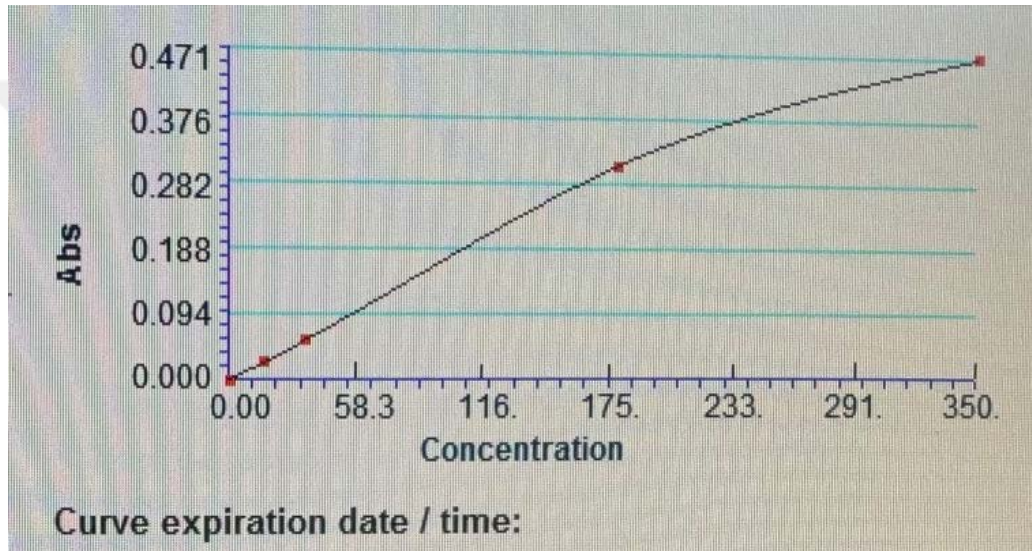
6. BULGULAR

Yapılan Çalışmalarda elde edilen bulgular şu şekildedir.

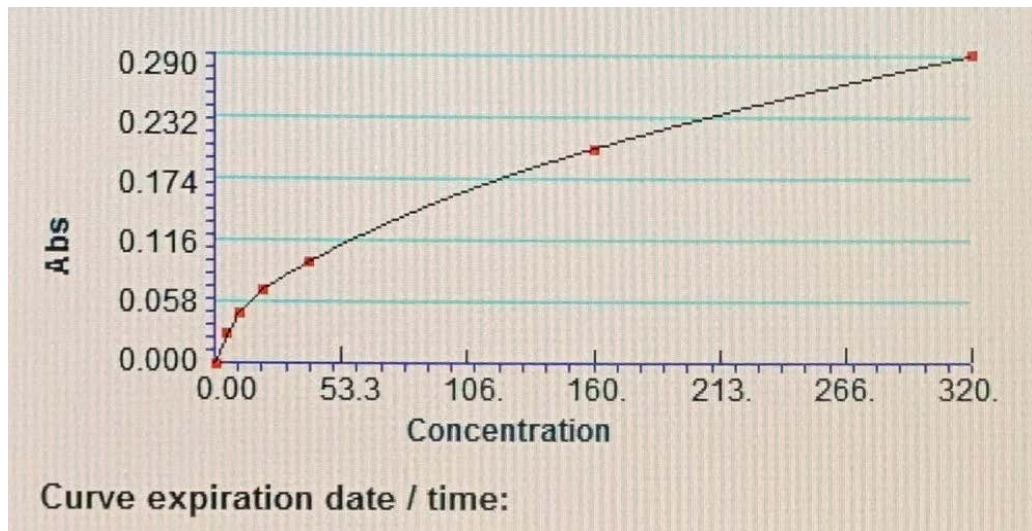
6.1. Kalibrasyon ve Kontrol Bilgileri

ARCHEM CRP, ABBOTT(SENTINEL) CRP kitlerine ait kalibrasyon grafiği aşağıdaki şekiller ve tablolarda gösterilmiştir (Şekil 6.1, Şekil 6.2)

Kalibrasyon grafikleri beklenen değer aralıklarında çıkmış olup çalışmaya başlangıç için uygun bulundu(Bu grafiklerde, Abs=Absorbans, Concentration=Konsantrasyonu ifade etmektedir).



Şekil 6.1.1. ARCHEM CRP kalibrasyon grafiği



Şekil 6.1.2. SENTINEL CRP Kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon sonuçları sonrası cihazlara verilen rutin Internal QC (İnternal Kalite Kontrol) sonuçları aşağıdaki tablolardaki gibi bulunmuştur(Tablo 6.1 , Tablo 6.2 Tablo 6.3). Bu tablolarda SD=Standart Sapma ifade etmektedir.

Tablo 6.1 ARCHEM CRP Kontrol Sonucu

| QC (Kalite Kontrol) | MEAN (ORTALAMA) | ±1 SD | ÇIKAN SONUÇ |
|-----------------------------------|--------------------|-------|-------------|
| Specific Protein Control Level I | 14,0 | 1,4 | 14,2 |
| Specific Protein Control Level II | 68,2 | 6,82 | 68,0 |

Tablo 6.2 ABBOTT(SENTINEL) CRP Kontrol Sonucu

| QC (Kalite Kontrol) | MEAN (ORTLAMA) | 1 SD | ÇIKAN SONUÇ |
|-----------------------------------|-------------------|------|-------------|
| Specific Protein Control Level I | 14,0 | 1,4 | 13,8 |
| Specific Protein Control Level II | 68,2 | 6,82 | 68,9 |

Tablo 6.3 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Kontrol Sonucu

| QC (Kalite Kontrol) | MEAN (ORTLAMA) | 1 SD | ÇIKAN SONUÇ |
|-----------------------------------|-------------------|------|-------------|
| Specific Protein Control Level I | 14,0 | 1,4 | 14,2 |
| Specific Protein Control Level II | 68,2 | 6,82 | 67,7 |

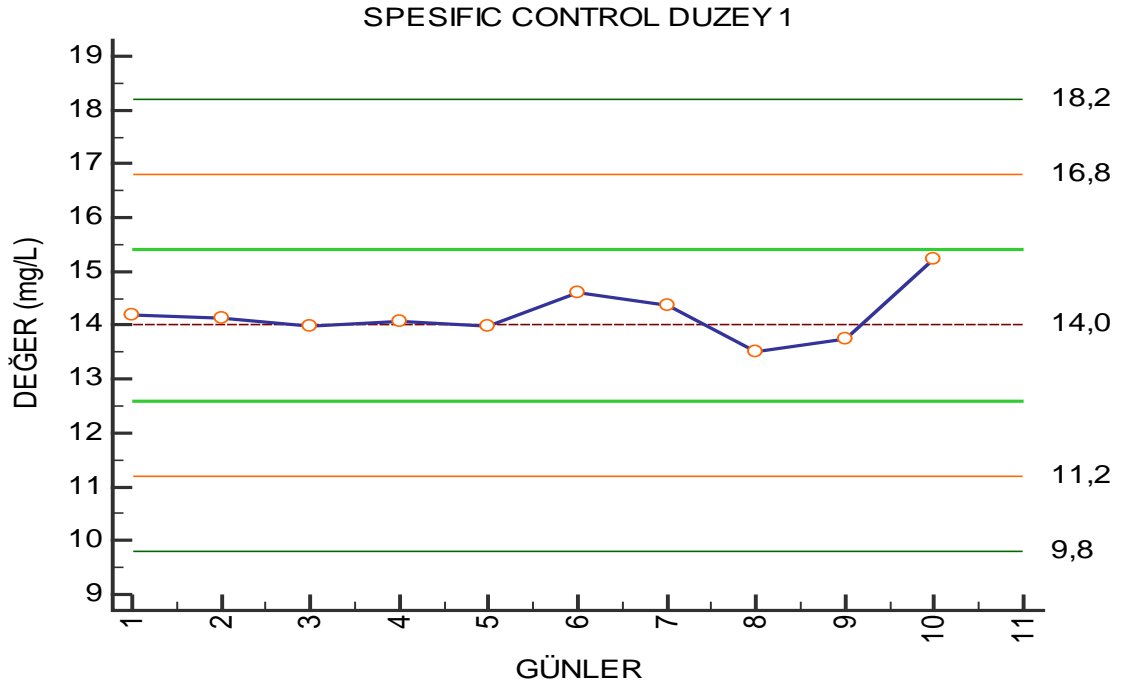
6.2. Kesinlik ve Doğruluk çalışması

ARCHEM test metodu, Gün içi ve günler arası sonuçları şu şekilde bulundu (Tablo 6.2.1, Tablo 6.2.1 ve Şekil 6.2.1, Şekil 6.2.2)

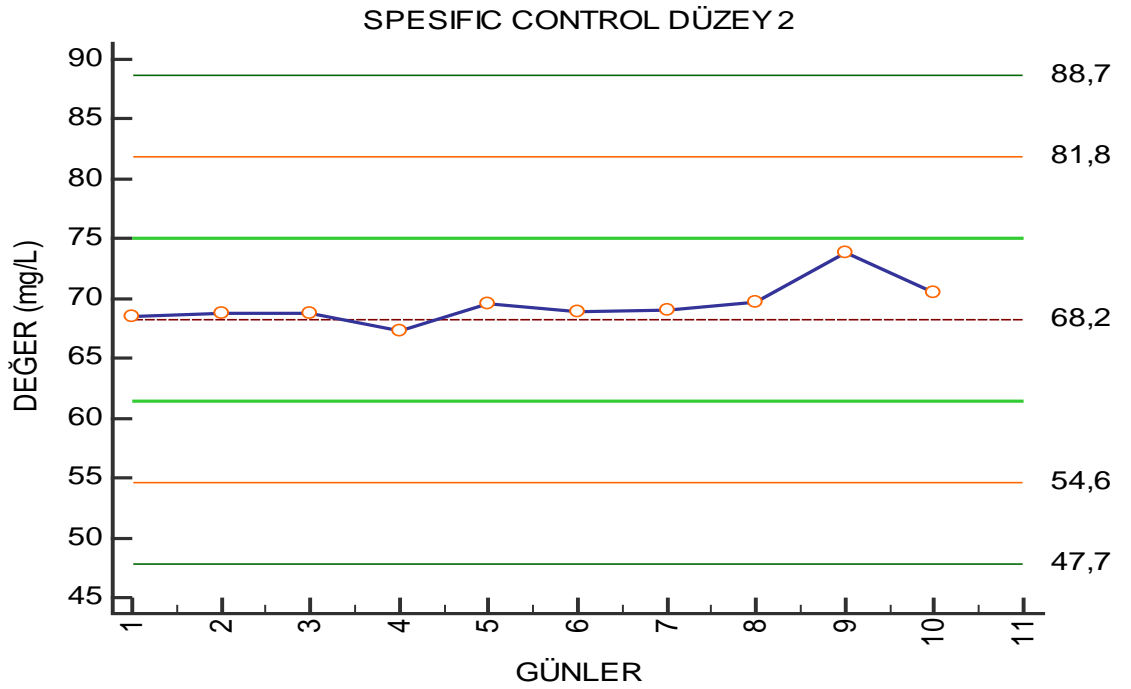
Bu tablolarda SD: Standart Sapmayı göstermektedir. CV=Yüzde Dağılım katsayısı (Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [$CV= 100 \cdot (s/x)$]) N= Numune sayısı

Tablo 6.2.1 ARCHEM reaktifi ile CRP Kontrol örneklerinin günler-arası sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları.

| | 1. GÜN | 2. GÜN | 3. GÜN | 4. GÜN | 5. GÜN | 6. GÜN | 7. GÜN | 8. GÜN | 9. GÜN | 10. GÜN |
|-----------------------------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| Spesific Protein Control Level I | 14,4 | 14,2 | 13,8 | 14,3 | 13,8 | 14,7 | 14,2 | 13,8 | 14,0 | 15,5 |
| | 14,3 | 14,3 | 14,2 | 14,1 | 14,1 | 14,6 | 14,1 | 13,5 | 13,5 | 15,3 |
| | 14,0 | 14,1 | 14,0 | 14,2 | 14,1 | 14,5 | 15,4 | 13,0 | 14,1 | 14,7 |
| | 14,2 | 13,9 | 14,1 | 13,9 | 14,0 | 14,4 | 14,2 | 13,5 | 13,8 | 15,8 |
| | 14,1 | 14,2 | 13,8 | 13,9 | 13,9 | 14,8 | 14,0 | 13,8 | 13,4 | 14,8 |
| ORTALAMA | 14,20 | 14,14 | 13,98 | 14,08 | 13,98 | 14,6 | 14,38 | 13,52 | 13,76 | 15,22 |
| SD | 0,16 | 0,15 | 0,18 | 0,18 | 0,13 | 0,16 | 0,58 | 0,33 | 0,30 | 0,47 |
| CV | 1,11 | 1,07 | 1,28 | 1,27 | 0,93 | 1,08 | 4,01 | 2,42 | 2,22 | 3,06 |
| N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TOTAL ORTALAMA | 14,19 | | | | | | | | | |
| TOTAL SD | 0,47 | | | | | | | | | |
| TOTAL CV | 3,32 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | 1. GÜN | 2. GÜN | 3. GÜN | 4. GÜN | 5. GÜN | 6. GÜN | 7. GÜN | 8. GÜN | 9. GÜN | 10. GÜN |
| Spesific Protein Control Level II | 67,8 | 69,9 | 68,5 | 67,8 | 70,5 | 70,0 | 68,5 | 70,4 | 74,3 | 72,4 |
| | 67,5 | 69,1 | 68,7 | 65,8 | 70,8 | 68,5 | 67,9 | 69,8 | 72,5 | 68,7 |
| | 68,5 | 68,1 | 70,5 | 66,4 | 69,5 | 68,9 | 69,8 | 67,9 | 73,1 | 70,4 |
| | 69,5 | 68,3 | 68,2 | 68,4 | 67,9 | 67,9 | 70,2 | 70,7 | 74,8 | 71,3 |
| | 69,2 | 68,7 | 67,9 | 67,9 | 69,4 | 68,9 | 68,6 | 69,4 | 74,5 | 69,4 |
| ORTALAMA | 68,50 | 68,82 | 68,76 | 67,26 | 69,62 | 68,84 | 69,00 | 69,64 | 73,84 | 70,44 |
| SD | 0,86 | 0,72 | 1,02 | 1,10 | 1,14 | 0,77 | 0,96 | 1,10 | 0,99 | 1,47 |
| CV | 1,26 | 1,04 | 1,48 | 1,64 | 1,64 | 1,11 | 1,39 | 1,57 | 1,34 | 2,09 |
| N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TOTAL ORTALAMA | 69,47 | | | | | | | | | |
| TOTAL SD | 1,75 | | | | | | | | | |
| TOTAL CV | 2,51 | | | | | | | | | |



Şekil 6.2.1 ARCHEM CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 1 günler-arası sonuç ortalamalarının grafiği.



Şekil 6.2.2 ARCHEM CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 2 günler-arası sonuç ortalamalarının grafiği.

Tablo 6.2.2 ARCHEM CRP Kontrol örneklerinin gün-içi sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları.

| GÜN-İÇİ TEKRARLANABİLİRLİK (RPEATABILITY) | | |
|--|--------------------|--------------------|
| | LEVEL 1 | LEVEL 2 |
| 1. | 14,20 | 68,70 |
| 2. | 14,40 | 67,90 |
| 3. | 13,80 | 67,50 |
| 4. | 14,10 | 69,40 |
| 5. | 13,70 | 67,90 |
| 6. | 14,50 | 68,70 |
| 7. | 13,50 | 67,90 |
| 8. | 13,90 | 69,50 |
| 9. | 13,90 | 67,80 |
| 10. | 14,50 | 68,30 |
| 11. | 14,20 | 69,40 |
| 12. | 14,50 | 69,00 |
| 13. | 14,30 | 69,70 |
| 14. | 13,90 | 68,70 |
| 15. | 14,30 | 67,80 |
| 16. | 14,10 | 68,80 |
| 17. | 14,30 | 69,40 |
| 18. | 14,50 | 68,70 |
| 19. | 14,60 | 68,40 |
| 20. | 13,80 | 67,60 |
| ORTLAMA | 14,15 | 68,56 |
| SD | 0,32 | 0,70 |
| CV | 2,23 | 1,02 |

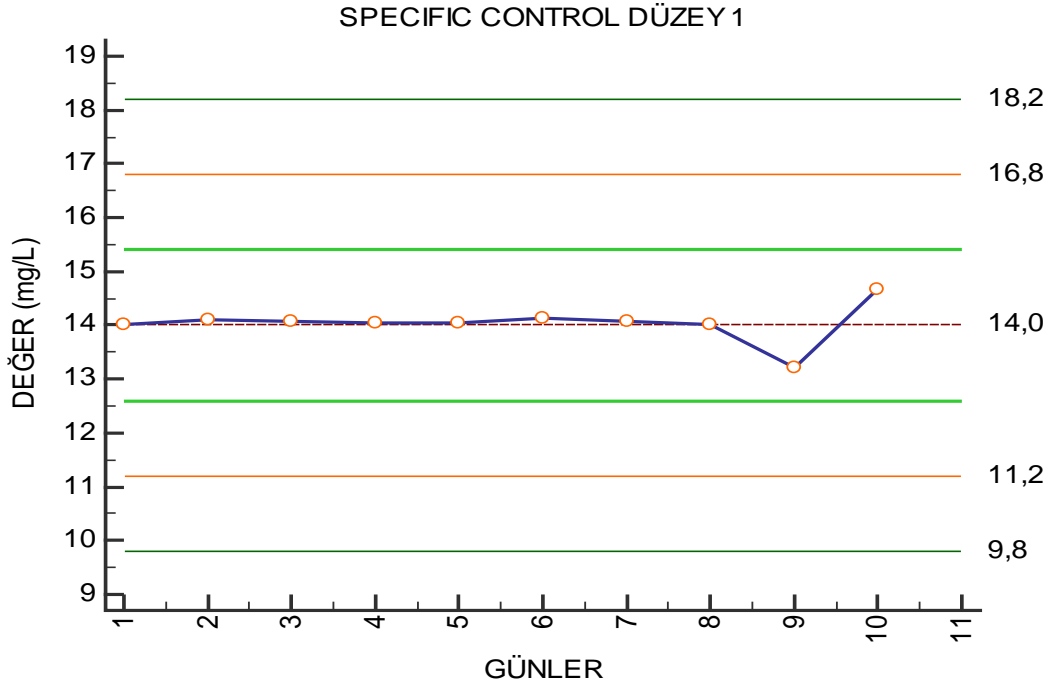
SENTINEL test metodu, Gün içi ve günler arası sonuçları şu şekilde bulundu (Tablo 6.2.3, Tablo 6.2.4 ve Şekil 6.2.3, Şekil 6.2.4)

Bu tablolarda SD: Standart Sapmayı göstermektedir. CV=Yüzde Dağılım katsayısı (Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [$CV= 100 \cdot (s/x)$]) N= Numune sayısı

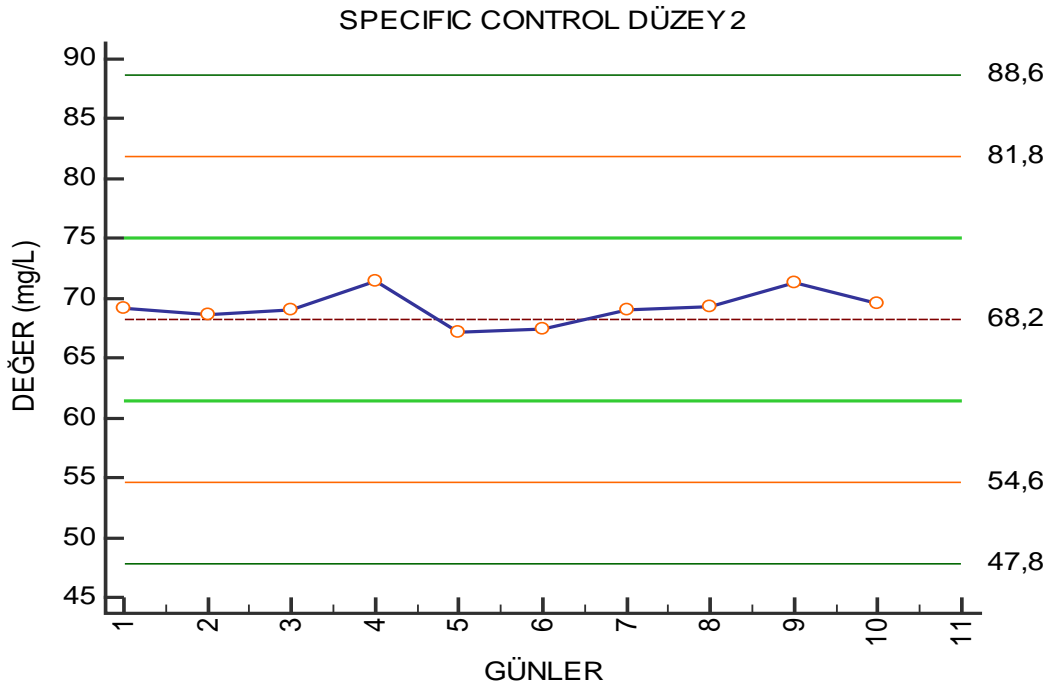
Tablo 6.2.3 SENTINEL test metodu CRP Kontrol örneklerinin günler-arası sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları.

| | 1. GÜN | 2. GÜN | 3. GÜN | 4. GÜN | 5. GÜN | 6. GÜN | 7. GÜN | 8. GÜN | 9. GÜN | 10. GÜN |
|----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Spesific Protein Control Level I | 13,9 14,1 13,8 14,2 14,1 | 14,2 14,1 14,3 13,9 14,0 | 14,2 14,0 14,2 13,9 14,1 | 13,9 14,2 14,0 14,2 13,9 | 14,3 13,8 14,0 14,0 14,1 | 13,8 14,9 14,3 13,8 13,9 | 14,2 14,1 13,8 14,2 14,0 | 13,5 14,5 14,1 13,5 14,5 | 13,2 13,1 13,0 13,8 12,9 | 14,9 14,8 14,5 14,5 14,7 |
| ORTALA MA | 14,02 | 14,10 | 14,08 | 14,04 | 14,04 | 14,14 | 14,06 | 14,02 | 13,20 | 14,68 |
| SD | 0,16 | 0,16 | 0,13 | 0,15 | 0,18 | 0,47 | 0,17 | 0,50 | 0,35 | 0,18 |
| CV | 1,17 | 1,12 | 0,93 | 1,08 | 1,29 | 3,34 | 1,19 | 3,58 | 2,68 | 1,22 |
| N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TOTAL ORTALA MA | 14,04 | | | | | | | | | |
| TOTAL SD | 0,35 | | | | | | | | | |
| TOTAL CV | 2,53 | | | | | | | | | |

| | 1. GÜN | 2. GÜN | 3. GÜN | 4. GÜN | 5. GÜN | 6. GÜN | 7. GÜN | 8. GÜN | 9. GÜN | 10. GÜN |
|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Spesific Protein Control Level II | 68,8 70,2 69,2 69,1 68,3 | 67,9 68,5 68,3 68,9 69,7 | 68,8 69,5 67,9 68,5 70,2 | 71,4 71,2 73,2 70,5 70,7 | 68,5 68,4 66,8 67,1 65,1 | 69,4 68,1 66,1 65,8 67,8 | 68,5 67,9 69,8 70,2 68,6 | 69,8 68,4 70,5 68,4 69,4 | 72,5 70,5 72,3 69,8 71,3 | 71,0 68,9 70,5 69,0 68,3 |
| ORTALA MA | 69,12 | 68,66 | 68,98 | 71,40 | 67,18 | 67,44 | 69,00 | 69,30 | 71,28 | 69,54 |
| SD | 0,70 | 0,68 | 0,89 | 1,07 | 1,39 | 1,49 | 0,96 | 0,91 | 1,15 | 1,15 |
| CV | 1,01 | 1,00 | 1,29 | 1,50 | 2,07 | 2,21 | 1,39 | 1,31 | 1,62 | 1,65 |
| N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TOTAL ORTALA MA | 69,19 | | | | | | | | | |
| TOTAL SD | 1,37 | | | | | | | | | |
| TOTAL CV | 1,98 | | | | | | | | | |



Şekil 6.2.3 SENTINEL CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 1 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği.



Şekil 6.2.4 SENTINEL CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 2 günler-arası sonuç ortlamalarının grafiği.

Tablo 6.2.4 SENTINEL CRP Kontrol örneklerinin gün-içi sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları.

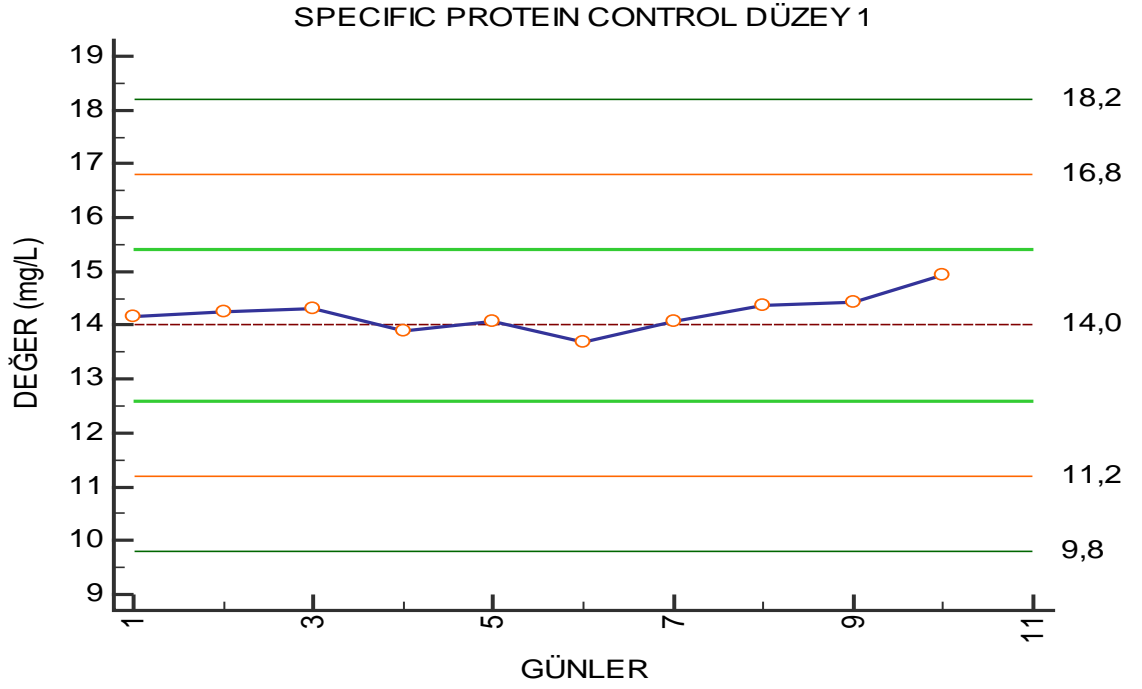
| GÜN-İÇİ TEKRARLANABİLİRLİK (REPEATABILITY) | | |
|---|--------------------|--------------------|
| | LEVEL 1 | LEVEL 2 |
| 1. | 13,90 | 68,40 |
| 2. | 14,50 | 68,70 |
| 3. | 14,40 | 67,90 |
| 4. | 14,20 | 68,90 |
| 5. | 14,40 | 69,20 |
| 6. | 13,90 | 68,70 |
| 7. | 14,30 | 67,90 |
| 8. | 14,10 | 68,70 |
| 9. | 14,30 | 68,70 |
| 10. | 13,90 | 68,30 |
| 11. | 14,10 | 68,40 |
| 12. | 14,30 | 69,00 |
| 13. | 14,20 | 69,40 |
| 14. | 14,10 | 67,90 |
| 15. | 14,30 | 68,90 |
| 16. | 14,10 | 70,50 |
| 17. | 14,50 | 69,40 |
| 18. | 14,40 | 68,70 |
| 19. | 14,30 | 68,70 |
| 20. | 14,20 | 69,40 |
| ORTLAMA | 14,22 | 68,79 |
| SD | 0,19 | 0,62 |
| CV | 1,30 | 0,90 |

SIEMENS ADVIA test metodu, Gün içi ve günler arası sonuçları şu şekilde bulundu (Tablo 6.2.5, Tablo 6.2.6 ve Şekil 6.2.5, Şekil 6.2.6)

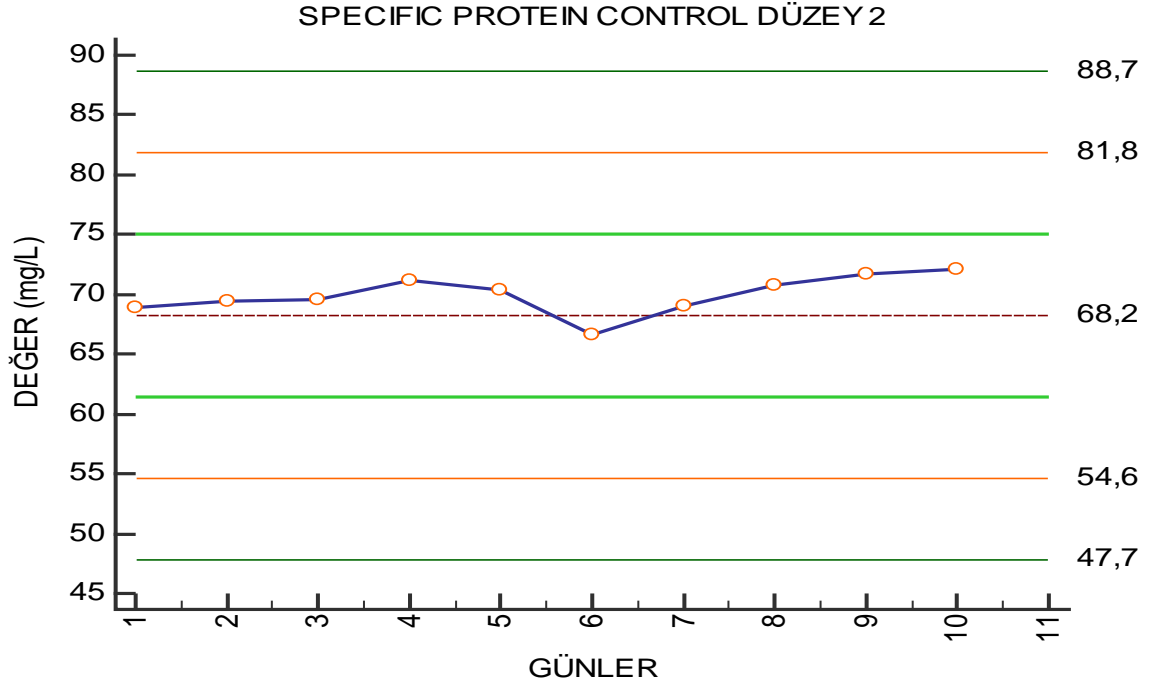
Bu tablolarda SD: Standart Sapmayı göstermektedir. CV=Yüzde Dağılım katsayısı (Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [$CV= 100 \cdot (s/x)$]) N= Numune sayısı

Tablo 6.2.5 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Kontrol örneklerinin günler-arası sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları.

| | 1. GÜN | 2. GÜN | 3. GÜN | 4. GÜN | 5. GÜN | 6. GÜN | 7. GÜN | 8. GÜN | 9. GÜN | 10. GÜN |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| Spesific Protein Control Level I | 14,3 | 14,1 | 14,2 | 13,9 | 14,0 | 13,8 | 14,2 | 14,2 | 14,7 | 15,1 |
| | 14,2 | 13,9 | 14,3 | 13,8 | 14,0 | 13,9 | 14,1 | 15,4 | 14,4 | 14,7 |
| | 14,3 | 14,6 | 14,5 | 13,7 | 13,7 | 13,7 | 13,8 | 13,8 | 15,1 | 14,8 |
| | 14,1 | 14,5 | 14,2 | 14,0 | 14,4 | 13,7 | 14,2 | 14,1 | 14,3 | 14,9 |
| | 13,9 | 14,2 | 14,4 | 14,1 | 14,3 | 13,4 | 14,0 | 14,4 | 13,7 | 15,1 |
| ORTALAMA | 14,16 | 14,26 | 14,32 | 13,90 | 14,08 | 13,7 | 14,06 | 14,38 | 14,44 | 14,92 |
| SD | 0,17 | 0,29 | 0,13 | 0,16 | 0,28 | 0,28 | 0,17 | 0,61 | 0,52 | 0,18 |
| CV | 1,18 | 2,02 | 0,91 | 1,14 | 1,97 | 1,37 | 1,19 | 4,24 | 3,59 | 1,20 |
| N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TOTAL ORTALAMA | 14,22 | | | | | | | | | |
| TOTAL SD | 0,33 | | | | | | | | | |
| TOTAL CV | 2,34 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | 1. GÜN | 2. GÜN | 3. GÜN | 4. GÜN | 5. GÜN | 6. GÜN | 7. GÜN | 8. GÜN | 9. GÜN | 10. GÜN |
| Spesific Protein Control Level II | 67,2 | 67,0 | 70,4 | 69,5 | 71,1 | 66,4 | 68,5 | 68,7 | 70,5 | 72,5 |
| | 69,2 | 69,5 | 69,4 | 71,5 | 71,8 | 67,3 | 67,9 | 71,5 | 73,1 | 70,9 |
| | 68,1 | 68,5 | 68,2 | 72,1 | 70,8 | 65,7 | 69,8 | 72,5 | 72,5 | 73,4 |
| | 70,2 | 71,3 | 71,1 | 72,2 | 69,6 | 67,4 | 70,2 | 69,9 | 70,8 | 72,5 |
| | 69,5 | 70,6 | 68,6 | 70,6 | 68,3 | 66,4 | 68,6 | 71,5 | 71,4 | 71,5 |
| ORTALAMA | 68,84 | 69,38 | 69,54 | 71,18 | 70,32 | 66,64 | 69,00 | 70,82 | 71,66 | 72,16 |
| SD | 1,19 | 1,70 | 1,21 | 1,13 | 1,38 | 0,71 | 0,96 | 1,51 | 1,11 | 0,97 |
| CV | 1,73 | 2,46 | 1,74 | 1,59 | 1,96 | 1,06 | 1,39 | 2,13 | 1,55 | 1,35 |
| N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TOTAL ORTALAMA | 69,95 | | | | | | | | | |
| TOTAL SD | 1,63 | | | | | | | | | |
| TOTAL CV | 2,32 | | | | | | | | | |



Şekil 6.2.5 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 1 günler-arası sonuç ortalamalarının grafiği.



Şekil 6.2.6 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Spesifik Protein Kontrol Düzey 2 günler-arası sonuç ortalamalarının grafiği.

Tablo 6.2.6 SIEMENS ADVIA 1800 CRP Kontrol örneklerinin gün-içi sonuçlarının, ortalama değer, standart sapma ve %CV sonuçları.

| GÜN-İÇİ TEKRARLANABİLİRLİK (REPEATABILITY) | | |
|---|--------------------|--------------------|
| | LEVEL 1 | LEVEL 2 |
| 1. | 14,50 | 68,40 |
| 2. | 14,30 | 68,70 |
| 3. | 14,40 | 68,10 |
| 4. | 14,20 | 67,90 |
| 5. | 14,30 | 67,90 |
| 6. | 14,20 | 68,10 |
| 7. | 14,10 | 68,20 |
| 8. | 13,90 | 68,90 |
| 9. | 14,50 | 69,40 |
| 10. | 14,80 | 67,50 |
| 11. | 14,40 | 68,90 |
| 12. | 14,30 | 68,40 |
| 13. | 14,70 | 68,70 |
| 14. | 14,10 | 68,40 |
| 15. | 14,20 | 68,30 |
| 16. | 14,14 | 67,80 |
| 17. | 14,60 | 69,40 |
| 18. | 14,20 | 68,20 |
| 19. | 14,70 | 70,10 |
| 20. | 14,30 | 70,60 |
| ORTLAMA | 14,34 | 68,60 |
| SD | 0,23 | 0,78 |
| CV | 1,62 | 1,14 |

6.3 Analitik sensitivite(Tespit kabiliyeti)

LoQ, CV'nin %20 olduğu analit konsantrasyonu hesaplanarak aşağıdaki tabloda gösterildiği şekilde bulundu (Tablo 6.3.1).

Tablo 6.3.1 LoQ karşılaştırma tablosu

| Kit Markası | Bulunen Değer (LoQ) Limit of Quantification |
|-----------------------|--|
| ARCHEM CRP | 0,5 mg/L |
| ABBOTT(SENTINEL) CRP | 0,23 mg/L |
| SIEMENS CRP | 0,12 mg/L |

6.4. Karşılaştırma Analizi (Regresyon Analizi, Bland Altman)

6.4.1. ARCHEM – SENTINEL Karşılaştırılması

Numune olarak alınan hastaların yaş aralığı 5-56 yıl ve yaş ortalamaları 24,5 yıl idi.

Hastaların 48'si kadın, 52 erkekti.

ARCHEM –SENTINEL kitlerine ait regresyon analizinde hasta örneklerinin CRP konsantrasyonları 0,8 mg/L – 159,8 mg/L arasındaydı. Karşılaştırma çalışmaları sonucu elde edilen grafik ve veriler tablolarda gösterilmiştir(Tablo 6.4.1.1). İki yöntem arasında korelasyon ($r^2=0,9987$ $p<0.001$) ve regresyon denklemi ($y= -0,1359+1.0035 x$) hesaplandı. Korelasyon katsayısı $r^2=0,9987$ (ideal +1 veya -1). Regresyon denkleminde hesaplanan kesim -0,1359 (ideal 0) ve eğim 1.0035 (ideal 1) değerleri iki yöntem arasındaki doğrusal ilişki ve uyumu gösterdi (Şekil 6.4.1.1). Bias değeri, CRP için tıbben önemli karar düzeyindeki (<5 mg/L) x değerine göre çok düşük olup, etkilemeyecek düzeydedir, regresyon denkleminde -0,1359 olarak hesaplandı. Yöntemler arasında lineer bir ilişki olduğu, sabit veya oransal bir hata olmadığı tespit edildi. Metod karşılaştırma amacıyla ayrıca Bland–Altman plots uygulandı. Bu yöntemde, $(\mu_D \pm 1,96S_D)$ “uyum sınırları”olarak adlandırılır ve iki metot ile elde edilen ölçüm değerleri arasındaki farkların %95'inin uyum sınırları arasında olması beklenir. Bland-Altman yöntemine göre farkların ortalamasının sıfır etrafında yayılması, ve sonuçların uyum sınırları içerisinde olması nedeniyle bu iki yöntem arasında bir uyum olduğu ve birbirinin alternatifi olabileceği sonucuna varıldı (Şekil 6.4.1.2).

Bu tablolarda SD: Standart Sapmayı göstermektedir. CV = Yüzde Dağılım katsayısı (Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [CV= 100•(s/x)]) N= Numune sayısıdır.

Tablo 6.4.1.1 ARCHEM- SENTINEL Regresyon Tablosu

| | |
|--------------------------------|----------|
| Dependent(Bağımlı) Y | ARCHEM |
| Independent(Bağımsız) X | SENTINEL |

Least squares regression (En küçük kareler regresyonu)

| | |
|--|--------|
| Sample size (Numune Sayısı) | 100 |
| Coefficient of determination R ² (Belirleme Katsayısı) | 0,9987 |
| Residual standard deviation (Residual Standart Sapma) | 1,5158 |

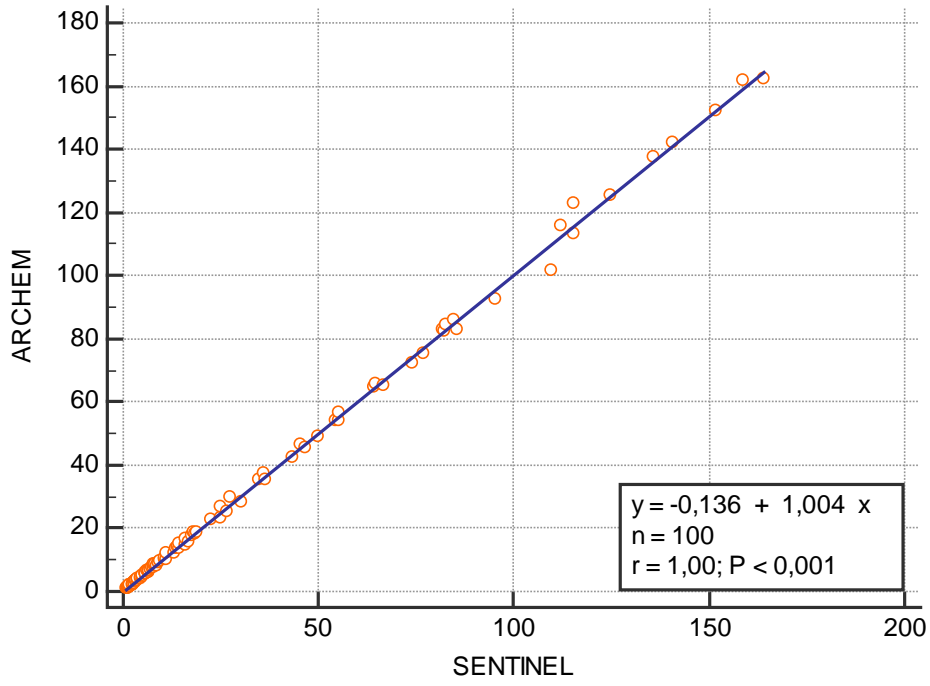
Regression Equation (Regresyon Eşitliği)

| y = -0,1359 + 1,0035 x | | | | | |
|------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|----------|---------|
| Parameter | Coefficient (Katsayısı) | Std. Error Std. Hata | 95% CI | t | P |
| Intercept (Sabit) | -0,1359 | 0,1921 | -0,5171 to 0,2453 | -0,7074 | 0,4810 |
| Slope Eğim) | 1,0035 | 0,003640 | 0,9963 to 1,0107 | 275,6958 | <0,0001 |

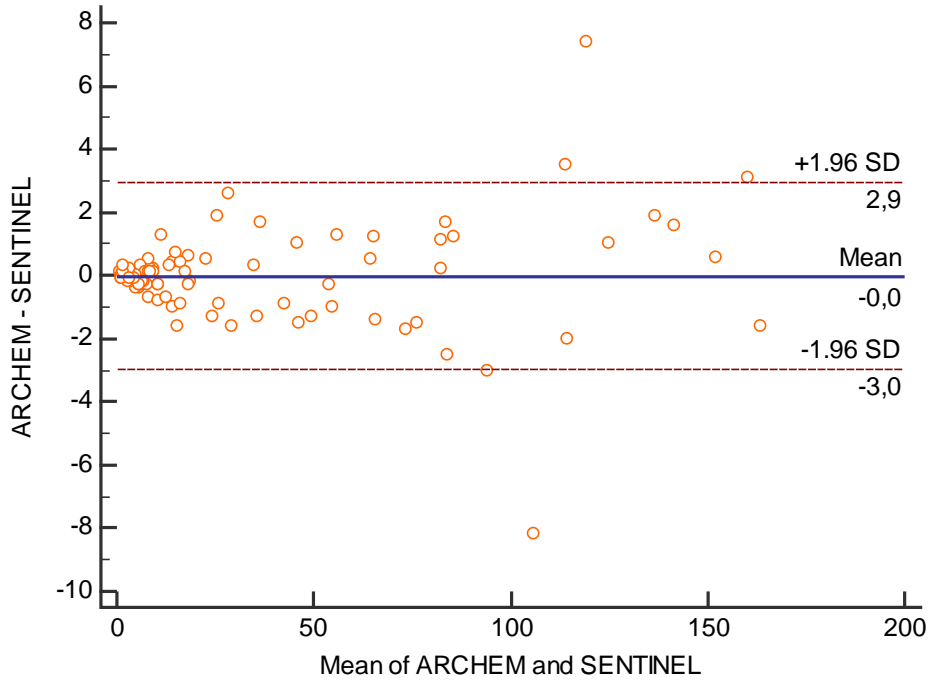
Analysis of Variance (Varyans Analizi)

| Source (Köken) | DF | Sum of Squares (Kareler Toplamı) | Mean Square (Ortlama Kare) |
|---------------------------|----|-------------------------------------|-------------------------------|
| Regression (Regresyon) | 1 | 174646,74024 | 174646,74024 |
| Residual (Atık, Kalan) | 98 | 225,17816 | 2,29774 |

| | |
|------------------------------------|-------------|
| F-ratio (F-oranı) | 76008,17135 |
| Significance level (Anlamlılık) | P<0,0001 |



Şekil 6.4.1.1 ARCHEM – SENTINEL Regresyon dağılım grafiği



Şekil 6.4.1.2 ARCHEM – SENTINEL Bland-Altman grafiği

6.4.2. ARCHEM – SIEMENS Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş aralığı 5-56 yıl ve yaş ortalamaları 24,5 yıl idi. Hastaların 48'si kadın, 52 erkekti.

ARCHEM –SIEMENS kitlerine ait regresyon analizinde hasta örneklerinin CRP konsantrasyonları 0,8 mg/L – 159,8 mg/L arasındaydı. Karşılaştırma çalışmaları sonucu elde edilen grafik ve veriler tablolarda gösterilmiştir (Tablo 6.4.2.1). İki yöntem arasında korelasyon ($r^2=0,9986$ $p<0.001$) ve regresyon denklemi ($y= -0,2646+1.0035 x$) hesaplandı. Korelasyon katsayısı $r^2=0,9986$ (ideal +1 veya -1). Regresyon denkleminde hesaplanan kesim -0,2646 (ideal 0) ve eğim 1.002 (ideal 1) değerleri iki yöntem arasındaki doğrusal ilişki ve uyumu gösterdi (Şekil 6.4.2.1). Bias değeri, CRP için tıbben önemli karar düzeyindeki (<5 mg/L) x değerine göre çok düşük olup, etkilemeyecek düzeydedir, regresyon denkleminde -0,2646 olarak hesaplandı. Yöntemler arasında lineer bir ilişki olduğu, sabit veya oransal bir hata olmadığı tespit edildi. Metod karşılaştırma amacıyla ayrıca Bland–Altman plots uygulandı. Bu yöntemde, $(\mu_D \pm 1,96SD)$ “uyum sınırları”olarak adlandırılır ve iki metot ile elde edilen ölçüm değerleri arasındaki farkların %95'inin uyum sınırları arasında olması beklenir. Bland-Altman yöntemine göre farkların ortalamasının sıfır etrafında yayılması, ve sonuçların uyum sınırları içerisinde olması nedeniyle bu iki yöntem arasında bir uyum olduğu ve birbirinin alternatifi olabileceği sonucuna varıldı (Şekil 6.4.2.2).

Bu tablolarda SD: Standart Sapmayı göstermektedir. CV = Yüzde Dağılım katsayısı (Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [$CV= 100 \cdot (s/x)$]) N= Numune sayısıdır.

Tablo 6.4.2.1 ARCHEM- SIEMENS Regresyon Tablosu

| | |
|--------------------------------|---------|
| Dependent (Bağımlı) Y | ARCHEM |
| Independent(Bağımsız) X | SIEMENS |

Least squares regression (En küçük kareler regresyonu)

| | |
|--|--------|
| Sample size (Numune Sayısı) | 100 |
| Coefficient of determination R ² (Belirleme Katsayısı) | 0,9986 |
| Residual standard deviation (Residual Standart Sapma) | 1,5901 |

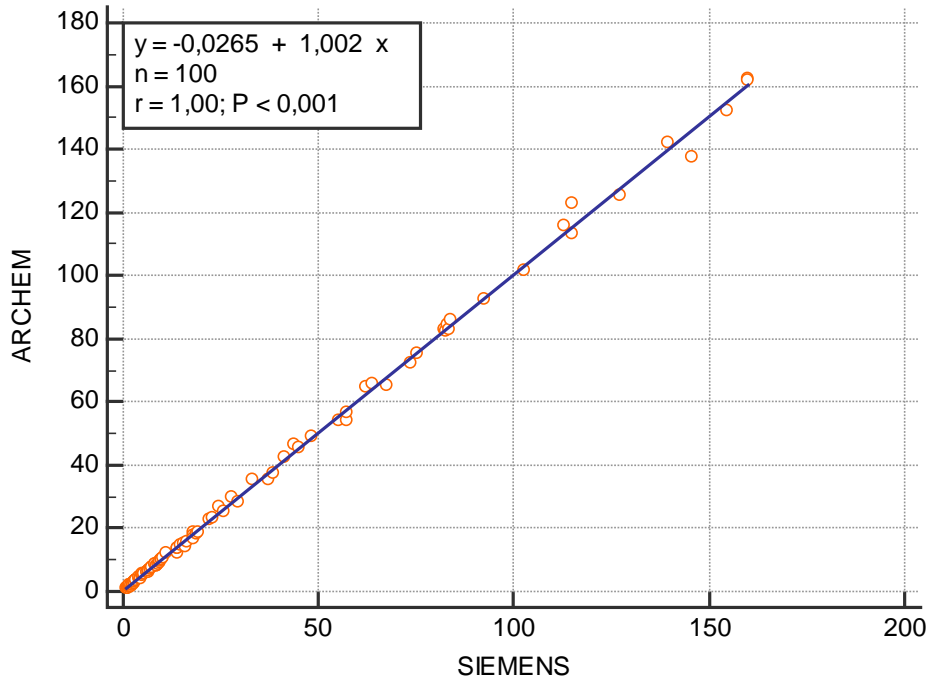
Regression Equation (Regresyon Eşitliği)

| y = -0,02646 + 1,0020 x | | | | | |
|-------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------|----------|---------|
| Parameter | Coefficient (Katsayı) | Std. Error Std. Hata | 95% CI | t | P |
| Intercept (Sabit) | -0,02646 | 0,2013 | -0,4258 to 0,3729 | -0,1314 | 0,8957 |
| Slope (Eğim) | 1,0020 | 0,003813 | 0,9944 to 1,0096 | 262,8011 | <0,0001 |

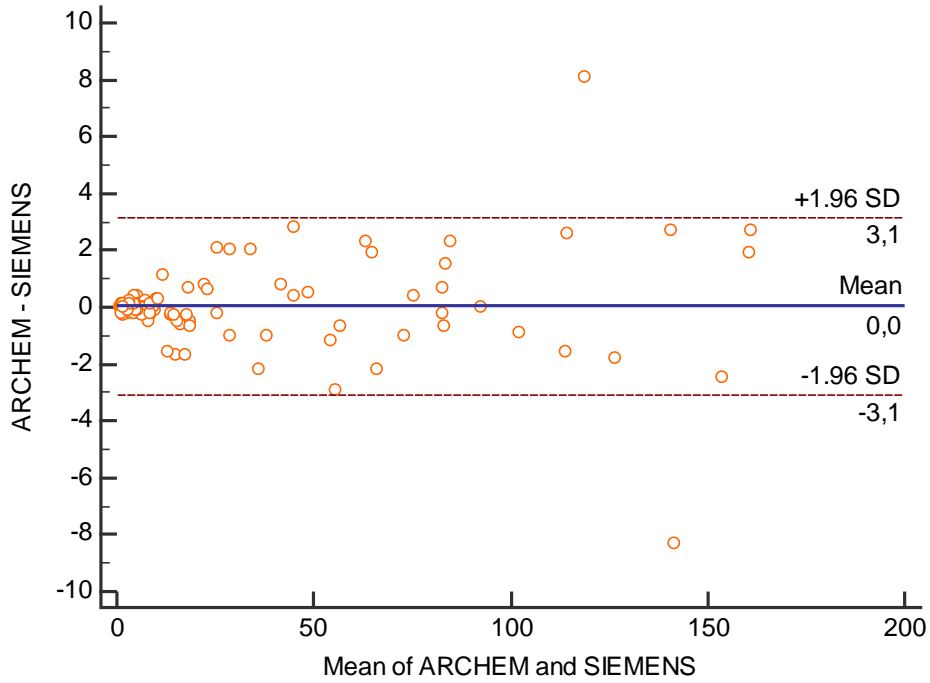
Analysis of Variance (Varyans Analizi)

| Source(Köken) | DF | Sum of Squares (Kareler Toplamı) | Mean Square (Ortlama Kare) |
|------------------------|----|-------------------------------------|-------------------------------|
| Regression(Regresyon) | 1 | 174624,13293 | 174624,13293 |
| Residual(Atık, Kalan) | 98 | 247,78547 | 2,52842 |

| | |
|------------------------------------|-------------|
| F-ratio F-oranı) | 69064,44055 |
| Significance level (Anlamlılık) | P<0,0001 |



Şekil 6.4.2.1 ARCHEM – SIEMENS Regresyon dağılım grafiği



Şekil 6.4.2.2 ARCHEM – SIEMENS Passing and Bablok grafiği

6.4.3. SENTINEL – SIEMENS Karşılaştırılması

Hastaların yaş aralığı 5-56 yıl ve yaş ortalamaları 24,5 yıl idi. Hastaların 48'si kadın, 52 erkekti.

SENTINEL –SIEMENS kitlerine ait regresyon analizinde hasta örneklerinin CRP konsantrasyonları 0,8 mg/L – 159,8 mg/L arasındaydı. Karşılaştırma çalışmaları sonucu elde edilen grafik ve veriler tablolarda gösterilmiştir (Tablo 6.4.3.1). İki yöntem arasında korelasyon ($r^2=0,9984$ $p<0.001$) ve regresyon denklemi ($y=0,1326+0,9978x$) hesaplandı. Korelasyon katsayısı $r^2=0,9984$ (ideal +1 veya -1). Regresyon denkleminde hesaplanan kesim 0,1326 (ideal 0) ve eğim 1.002 (ideal 1) değerleri iki yöntem arasındaki doğrusal ilişki ve uyumu gösterdi (Şekil 6.4.3.1). Bias değeri, CRP için tıbben önemli karar düzeyindeki (<5 mg/L) x değerine göre çok düşük olup, etkilemeyecek düzeydedir, regresyon denkleminde 0,1326 olarak hesaplandı. Yöntemler arasında lineer bir ilişki olduğu, sabit veya oransal bir hata olmadığı tespit edildi. Metod karşılaştırma amacıyla ayrıca Bland–Altman plots uygulandı. Bu yöntemde, ($\mu_D \pm 1,96SD$) “uyum sınırları”olarak adlandırılır ve iki metot ile elde edilen ölçüm değerleri arasındaki farkların %95'inin uyum sınırları arasında olması beklenir. Bland-Altman yöntemine göre farkların ortalamasının sıfır etrafında yayılması, ve sonuçların uyum sınırları içerisinde olması nedeniyle bu iki yöntem arasında bir uyum olduğu ve birbirinin alternatifi olabileceği sonucuna varıldı(Şekil 6.4.3.2).

Bu tablolarda SD: Standart Sapmayı göstermektedir. CV = Yüzde Dağılım katsayısı (Standart sapmanın ortalamaya göre % değişimi [$CV= 100 \cdot (s/x)$]) N= Numune sayısıdır.

Tablo 6.4.3.1 SENTINEL- SIEMENS Regresyon Tablosu

| | |
|---------------------------------|----------|
| Dependent (Bağımlı) Y | SENTINEL |
| Independent (Bağımsız) X | SIEMENS |

Least squares regression (En küçük kareler regresyonu)

| | |
|--|--------|
| Sample size (Numune Sayısı) | 100 |
| Coefficient of determination R ² (Belirleme Katsayısı) | 0,9984 |
| Residual standard deviation (Residual Standart Sapma) | 1,6748 |

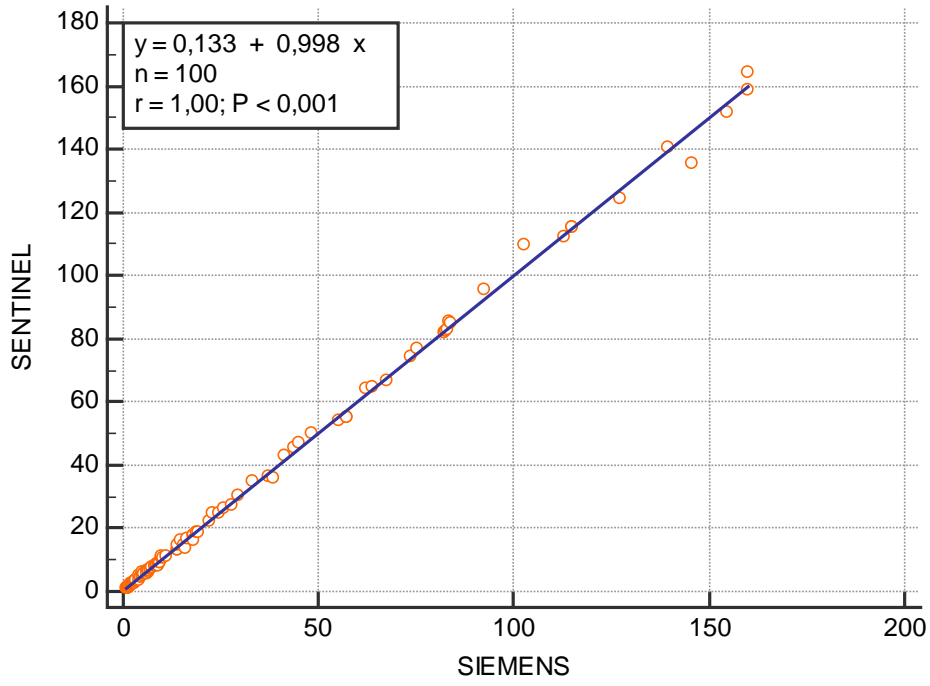
Regression Equation (Regresyon Eşitliği)

| y = 0,1326 + 0,9978 x | | | | | |
|-----------------------|----------------------|------------|-------------------------|----------|---------|
| Parameter | Coefficient(Katsayı) | Std. Error | 95% CI | t | P |
| Intercept(Sabit) | 0,1326 | 0,2120 | -0,2881 to 0,5532 | 0,6254 | 0,5332 |
| Slope(Eğim) | 0,9978 | 0,004016 | 0,9898 to 1,0057 | 248,4602 | <0,0001 |

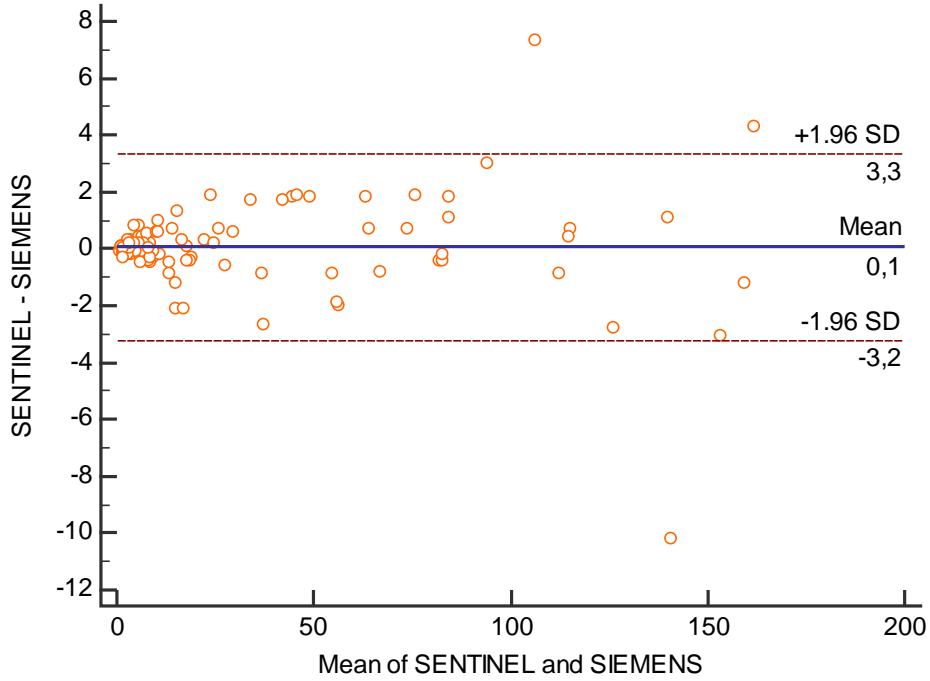
Analysis of Variance (Varyans Analizi)

| Source(Köken) | DF | Sum of Squares (Kareler Toplamı) | Mean Square (Ortlama Kare) |
|------------------------|----|-------------------------------------|-------------------------------|
| Regression(Regresyon) | 1 | 173155,50823 | 173155,50823 |
| Residual (Atık, Kalan) | 98 | 274,88351 | 2,80493 |

| | |
|------------------------------------|-------------|
| F-ratio (F-oranı) | 61732,47662 |
| Significance level (Anlamlılık) | P<0,0001 |



Şekil 6.4.3.1 SENTINEL– SIEMENS Regresyon dağılım grafiği



Şekil 6.4.3.2 SENTINEL – SIEMENS Passing and Bablok grafiği

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

C-reaktif protein (CRP), sentezi karaciğer ve yağ hücrelerinde gerçekleşen, her biri 206 aminoasit içeren 5 alt üniteden meydana gelen, molekül kütlesi 106 kilodalton (Kd) olan, pentraksin proteindir (3).

1990'lı yıllarda CRP'nin daha hassas ölçülebilmesi ile birlikte klinik önemi ve kullanımı büyük oranda artmıştır. CRP ölçümü özgül olmayan, inflamasyonu gösteren bir test olmasına karşın, bazı hastalıkların tanısında, riskinin belirlenmesinde ve izleminde çok önemli bir parametredir

CRP seviyelerini belirlemek için birçok yöntem mevcuttur. CRP kantitatif analizinde turbidimetrik ve nefelometrik yöntemler en sık tercih edilen yöntemlerdir. Bunların yanı sıra kompleks latex, elisa, petia gibi yöntemlerle de CRP analizi yapmak mümkündür. Nefelometri, teorik olarak düşük konsantrasyondaki antijen antikor reaksiyonlarının duyarlı ölçümünde bir avantaj sağlasa da günümüzde kararlı ve yüksek çözünürlükteki fotometrik sistemler, serum proteinlerinin immünolojik ölçümlerinde nefelometrik yöntemler kadar duyarlı hale gelmiştir(65).

Klinik laboratuvarların temel amacı analitik hataları minimuma indirerek, hastalara her seferinde en kısa sürede doğru ve güvenilir sonuç verebilmektir. Günümüzde yapılan yöntem karşılaştırmalarının olumlu sonuçları nedeniyle, daha hızlı kolay ve ucuz bir metot olan turbidimetrik yöntemle, serum protein ölçüm analizlerinin yapılması ağırlık kazanmıştır(66).

Türkiye'de aynı laboratuvarlarda aynı analit farklı cihaz ve kitler kullanılarak ölçülebilmektedir. Bu durum izlenebilirlik açısından zaman zaman ciddi problemlere neden olmaktadır. Sıklıkla yapılan cihaz değişimleri sonuçların birbiri ile uyumu ve korelasyonunu değerlendirilmesini gerekli hale getirmektedir.

Bu çalışmada; CRP testinin, klinik tayininde en çok kullanılan cihazlar olan SIEMENS ADVIA 1800 (*Siemens Medical Solutions USA, Malvern, PA, USA*) ile ARCHITECT C8000 (*Abbott Laboratories 100 Abbott Park Road Abbott Park, Illinois 60064-3500, USA*) cihazları üzerinde SIEMENS CRP kiti, ARCHEM CRP kiti ve SENTINEL CRP kit sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

IN(İmmünonefelometrik) yöntemi referans kabul edilerek, IT(İmmünoturbidimetrik) ve IL(İmmünluminometri) yöntemleri ile yapılmış karşılaştırma çalışmaları mevcuttur. Shiesh SC ve arkadaşlarının yaptığı, IL yöntemle IN yöntemini karşılaştıran çalışmada, CRP ortalama konsantrasyonları 0.02 ve 1.44 olan serum havuzlarının(pool) %CV'leri %5'in üzerinde iken, değerler kontrol materyalinde 11.04 mg/L'nin üzerinde çıktığında CV %4.2 olarak bulunmuştur. Günler-arası ise %CV'ler ise 0.02 mg/L'de %9.2, 1.44 mg/L'de %7, 11.04mg/L'de ise %6 olarak saptanmıştır(67).

Shiesh SC ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda düşük düzeylere(<5,0 mg/L) ait iki adet CRP numunesi CV değerleri %5 değerini üstünde bulunmuştur. Yüksek değerlerde (11.04 mg/L) olan numunede CV değeri % 4,2 çıkmıştır. Bu tezde yapılan Gün-içi CV çalışmasında ise, kontrol düzey 1 CRP değerleri 14,0 mg/L olan numunede; CV değeri olarak sırasıyla ARCHEM, SENTINEL, SIEMENS 2,23/1,3/1,62 bulunmuştur. Kontrol düzey 1 CRP değerleri 68,2 mg/L olan numunede CV değeri olarak sırasıyla ARCHEM, SENTINEL, SIEMENS 1,02/0,9/1,14 olarak bulunmuştur. Günler-arası ise sırayla Düzey 1 için CV değerleri; ARCHEM, SENTINEL, SIEMENS 3,32/2,53/2,34 Düzey 2 için CV değerleri: ARCHEM, SENTINEL, SIEMENS 2,51/1,98/2,32 bulunmuştur. Shiesh SC ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre CV değerlerini daha düşük çıkması CRP konsantrasyonunun daha yüksek değerlerde olmasından dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında iki seviye kontroller ile yapılan günler arası çalışmada %CV'lerin %5'in altında kaldığı ve kesinlik açısından bu düzeylerde üç metod arasında uyum olduğu saptanmıştır. Bu üç değer birbirlerine olan üstünlükleri Intra-Assay ve Inter-Assay çalışmaları açısından incelendiğinde aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir.

Wei ve ark. yayınladıkları çalışmada, immünoturbidimetrik yöntem olan Dade-Behring RCRP yöntemi ile Behring nefelometre (BN) yöntemi karşılaştırılmıştır. Dade-Behring RCRP ile Behring Nefelometrik (BN) metod arasındaki korelasyonun $RCRP=(0.984 + BN \times 0.033 \text{ (mg/L)})$ olduğunu bulmuşlardır(68). Bu çalışmalarda IN metod ile IT metod karşılaştırılmıştır.

Bu tez kapsamında yapılan karşılaştırma regresyon denklemi ise şu şekilde çıkmıştır. Sırasıyla ARCHEM-SENTINEL arasında $y=-0,1359+1.0035x$, ARCHEM – SIEMENS arasında $y= -0,02646+1,002x$ ve SENTINEL – SIEMENS arasında $y=0,1326+0,9978x$ olarak bulunmuştur. İki çalışma karşılaştırıldığında; Her iki çalışmada da Bias değerleri çok düşük çıkmıştır. İki çalışmanın eğim katsayı değerleride 1,0 değerine oldukça yakın çıkmış IT yöntemlerin güvenilirliğini ortaya çıkarmıştır.

Maggiore ve arkadaşlarının yaptığı, IT (AU 2700 Olympus), IN (Behring) ve IN (Beckman) yöntemi ile yapılan karşılaştırma çalışmasında CRP düzeyleri 2.6 ile 180 mg/ L arasında olan hastalar alınmıştır. Ayrıca 0, 1, 2, 3, 5, 10, 20, 50, 100, 150, 180 mg/L olarak 11 farklı düzeyde tekrarlanabilirlik (n=10) çalışmışlardır. Günler-arası için 5 ardışık ölçüm yapmışlardır. Çalışmada, tekrarlanabilirlikte en yüksekte düşüğe doğru sırasıyla Beckman, Olympus, Behring olarak değerlendirmişlerdir. Toplam 345 çıkan sonuç karşılaştırıldığında Behring-Olympus K-değeri(K değeri nedir?) %87.3 ile birbirine en yakın çıkmışlardır. Beckman-Olympus ve Behring-Beckman karşılaştırmasında ise K-değerleri %50.1 ve %49.6 olarak bulunmuştur(69). Bu çalışmada IT, metodu olan AU 2700 Olympus ile IN (Behring) ve IN (Beckman) cihazları metotları karşılaştırılmıştır.

Buğdaycı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; Siemens Dade Behring BN ProSpec sisteminde immünonefelometrik (Katalog No: G21 E0542) olarak çalışılan örnek aynı gün iki saat içinde Abbott Architect C8000 (Katalog No: 8G65-20) otoanalizöründe immünoturbidimetrik yöntemle çalışılmış, Bulunan sonuçlar, IN yöntemi referans olmak üzere regresyon analizi yapılarak doğruluk değerlendirmesinde kullanılmıştır(70). CRP değerleri 3.02-170.00 mg/L arasında bulunan taze serum örneklerinde doğruluk çalışması yapıp, Regresyon katsayısı $r^2=0.997$, $y=1.171x- 1.084$ olarak belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında kullanılan metotlardan bazılarının her ne kadar ultra sensitive (hs-CRP) olarak ta çalışılabileceği aplikasyonu olmak ile beraber, Ultra sensitive yöntem olmadan geniş aralık metotları baz alınarak yapılan bu çalışmada 0,8 mg/L ile 159,8 mg/L değer aralığında üç yöntemle ölçülen hasta sonuçları karşılaştırıldığında yöntemler arasında lineer bir korelasyon olduğu, sabit veya

oransal anlamlı bir hata olmadığı tespit edilmiştir. Üç yöntem arasında korelasyon ($r \approx 1,00$, $p < 0.001$) ve regresyon denklemi sırasıyla ARCHEM-SENTINEL arasında $y = -0,1359 + 1,0035x$, ARCHEM – SIEMENS arasında $y = -0,02646 + 1,002x$ ve SENTINEL – SIEMENS arasında $y = 0,1326 + 0,9978x$ olarak bulundu. Regresyon katsayı değerleri , ARCHEM-SENTINEL arasında $r^2 = 0,9987$, ARCHEM – SIEMENS arasında $r^2 = 0,9986$ ve SENTINEL – SIEMENS arasında $r^2 = 0,9984$ olarak bulundu. Bu değerler ideal olan 1,00 değerine çok yakın değerler çıkmıştır. Bias değerleri, CRP için tıbben önemli karar düzeyindeki (< 5 mg/L) x değerine göre, sırasıyla ARCHEM-SENTINEL / ARCHEM – SIEMENS, / SENTINEL – SIEMENS arasında oldukça düşük olan $-0,1359$ / $-0,02646$ ve $0,1326$ değerleri olarak hesaplanmıştır. Bu çıkan değerlerin hepsi karar düzeyi değerine göre çok düşük bir değerdir. İki çalışma sonuçları karşılaştırıldığında 2005,2007 yılları ile 2019 yılları arasında ticari firmaların CRP testi tayini için üretmiş olduğu Immunturbidimetrik metotların yeni jenerasyon ve güncellemeler ile çok daha hassas ölçüm başarısına eriştiği düşünülmektedir.

Yine metod karşılaştırma amacıyla ayrıca Bland–Altman plots uygulandığında; (Bu yöntemde, $(\mu_D \pm 1,96SD)$ “uyum sınırları” olarak adlandırılır) üç metot ile elde edilen ölçüm değerleri arasındaki farkların %95’inin uyum sınırları arasında olduğu bulunmuştur. Bland-Altman yöntemine göre farkların ortalamasının sıfır etrafında yayılması, ve sonuçların uyum sınırları içerisinde olması nedeniyle bu üç yöntem arasında bir uyum olduğu ve birbirinin alternatifi olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu üç farklı (ARCHEM, SENTINEL, SIEMENS) IT metodunun karşılaştırılması literatürde ilk çalışmadır.

Sonuç olarak; Bu metotlara ait bütün bu çalışmalarda IT yönteminden çıkan sonuçların güvenilirliği bu tez çalışması ile paralel bir şekilde çıkmıştır. Bu tez çalışmasında da elde edilen sonuçlarda üç IT metodunun (SENTINEL, ARCHEM, SIEMENS) da uyumlu olduğu saptanmıştır.

8. KAYNAKLAR

1. Yeh ET. CRP as a Mediator of Disease Circulation. 109 (21): 1-11, 2004.
2. Clinical And Laboratory Standards Institute EP09-A3 Measurement Procedure .Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline- Third Edition. 1-38, 2013.
3. Kuta AE, Baum LL, C-reactive protein is produced by a small number of normal human peripheral blood lymphocytes. Journal Exp Med;164:321-326, 1986.
4. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. 103; 1813-8, 2001.
5. Pepys, Pepys, M.B., and Baltz, M.L. 1983. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. Adv. Immunol. 34:141–212.
6. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. J Biol Chem; 279(47): 48487-9, 2004
7. Ledue TB, Rifai N, Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. 49; 1258-71, 2003.
8. Ramadan MAM, Shrive AK, Holden D, Myles DAA, Volanakis JE, DeLucas LJ, Greenhough TJ, The three-dimensional structure of calcium-depleted human C-reactive protein from perfectly twinned crystals. Biological Crystallography. D58; 992-1001, 2002.
9. Mortensen RF. C-Reactive Protein, Inflammation, and Innate Immunity. Immunologic Research. 24; 163-176, 2001.
10. Shrive AK, Cheetham GMT, Holden D, Myles DAA, Turnell WG, Volanakis JE, Pepys MB, Bloomer A, Greenjough T.J. Three Dimensional Structure of Human C- Reactive Protein. Nature Structural Biology. 3; 346-354, 1996.
11. Nicole Stancel, Chih-Chieh Chen, Liang-Yin Ke, Chih-Sheng Chu, Jonathan Lu, Tatsuya Sawamura, Chu-Huang Chen. Interplay between CRP, Atherogenic LDL, and LOX-1 and Its Potential Role in the Pathogenesis of Atherosclerosis DOI: 10.1373/clinchem.2015.243923 Published January 2016 Clinical Chemistry).

12. Volanakis JE, Kaplan MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol Med*; 136: 612-14, 1971
13. Harnett, W., and Harnett, M.M. Phosphorylcholine: friend or foe of the immune system *Immunol. Today*. 20:125–129,1999.
14. Muenzenmaier M, Depperschmid M, Gille C, Poets CF, Orlikowsky TW. C-reactive protein, detected with a highly sensitive assay, in non-infected newborns and those with early onset infection. *Transfus Med Hemother* ;35:37-41, 2008.
15. Kushner I. C-reactive protein and the acute phase response. *Hosp Pract*. ;25:13-18, 1990.
16. Ballou SP, Lozanski G. Induction inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by c-reactive protein. *Cytokine* 361-8, 1992.
17. Jones SA, Novick D, Horiuchi S ve diğerleri. C-reactive protein: A physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. *J Exp Med* 189; 599-60, 1999.
18. Griselli M, Herbert J, Hutchinson W ve diğerleri. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. 190; 1733-40, 1999.
19. Jones SA, Novick D, Horiuchi S ve diğerleri. C-reactive protein: A physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. *J Exp Med* 189; 599-604, 1999. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2575-80, 1997
20. Gershov D, Kim S, Brot N et al. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: Implications for systemic autoimmunity. 192; 1353-64, 2000.
21. Ross R: Atherosclerosis is an inflammatory disease. *N Engl J Med* ;340: 115,1999.
22. Verma S, Szmitko PE, Ridker PM. C-reactive protein comes of age. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2(1); 29-36, 2005.
23. Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, Zwaka TP, Bienek M, Waltenberger J, et al. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-

- dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 20; 2094-99, 2000.
24. Koenig W, Sund M, Frohlich M, Fischer HG, Lowel H, Doring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middleaged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 99; 237-42, 1999.
 25. Ridker, P.M., Cushman, M., Stampfer, M.J., Tracy, R.P., and Hennekens, C.H. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med.* 336:973–979,1997.
 26. Blake GJ, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events. *Circulation* 108; 2993 – 99, 2003.
 27. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 290; 2945-51, 2003.
 28. Albert CM, Ma J, Rifai N, Stampfer MJ, Ridker PM. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation* 105; 2595-99, 2002.
 29. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 97; 2007-11, 1998.
 30. Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, et al. Plasma concentration of Creactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke* 32; 2575-79, 2001
 31. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. CReactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 342; 836-43, 2000.
 32. Yeh ET, Willerson JT. Coming of age of C-reactive protein: using inflammation markers in cardiology. *Circulation* 107; 370-71, 2003.
 33. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC J, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare

- professionals from the Centers for Disease Control and prevention and the American Heart Association. *Circulation* 107; 499-511, 2003.
34. Rifai N, Ridker PM. Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein. *Clin Chem* 47: 28-30, 2001.
 35. Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 100; 713-6, 1999.
 36. Cushman M, Legault C, Barrett-Connor E, Stefanick ML, Kessler C, Judd HL, et al. Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/ Progestin Interventions (PEPI) Study. *Circulation* 100; 717-22, 1999.
 37. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin-6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 286; 327-34, 2001.
 38. Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Giorgino F, Ebeling P, Fuller JH, et al. Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care* 26; 2165-73, 2003.
 39. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 107; 391-7, 2003.
 40. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282; 2131-5, 1999.
 41. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-Reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19; 972-8, 1999.
 42. Stuveling EM, Bakker SJ, Hillege HL, de Jong PE, Gans RO, de Zeeuw D. Biochemical risk markers: a novel area for better prediction of renal risk? *Nephrol Dial Transplant* 20; 497-508, 2005.
 43. Fleishmann KE. Top medical stories of 2003. High-sensitivity C-reactive protein tests: Ready for widespread use. *Journal Watch*. 24; 5-6, 2004.

44. Ridker PM, Rifai N, Rose L et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. 347; 1557-65, 2002.
45. Hutchinson WL, Koenig W, Frohlich M ve diğ erleri. Immu-noradiometric assay of circulating C-reactive prote-in: Age-related values in the adult general population. Clin Chem 46; 934-8, 2000.
46. Wener MH, Daum PR, McQuillan GM. The influence of age, sex, and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. 27; 2351-9, 2000.
47. Garcia-Moll X, Zouridakis E, Cole D et al. C-reactive protein in patients with chronic stable angina: Differences in baseline serum concentration between women and men. 21; 1598-606, 2000.
48. Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation. Clin Immunol 117 (2); 104-11, 2005
49. Frohlich M, Sund M, Thorand B et al. Lack of seasonal variation in C-reactive protein. Clin Chem 48; 575-7, 2002.
50. MacGregor AJ, Gallimore JR, Spector TD et al. Genetic effects on baseline values of C-reactive protein and serum amyloid a protein: A comparison of monozygotic and dizygotic twins. 50; 130-4, 2004.
51. Szalai A.J, McCrory M.A, Cooper G.S ve diğ erleri. Association between baseline levels of C-reactive protein(CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. 3; 14-9, 2002.
52. Morley, J. J., & Kushner, I. (1982). Serum C-reactive protein levels in disease. Annals of the New York Academy of Sciences, 389(1 C-Reactive Pr), 406–418.
53. Balk, E. M., Lau, J., Goudas, L. C., Jordan, H. S., Kupelnick, B., Kim, L. U., & Karas, R. H. (2003). Effects of Statins on Nonlipid Serum Markers Associated with Cardiovascular Disease. Annals of Internal Medicine, 139(8), 670.
54. S Otsuji, H Shibata, M Umeda. Turbidimetric immunoassay of serum C-reactive protein. Clinical Chemistry Oct, 28 (10) 2121-2124, 1982.
55. Tie Q. Wei, Kramer S, Chu V, Hudson D, Kilgore D, Salyer S, Parker G, Eyberger A, Arentzen R, Koiv H. An improved automated immunoassay for C-reactive protein on the Dimension clinical chemistry system. Journal of Automated Methods & Management in Chemistry. 22; 125-131, 2000.

56. Schlebusch, H., Liappis, N., Kalina, E., & Klein, C. High Sensitive CRP and Creatinine: Reference Intervals from Infancy to Childhood. *Laboratoriums Medizin*, 26(5-6), 341–346,2002.
57. Tillet W, and Francis T, Serological Reactions In Pneumonia With A Nonprotein Somatic Fraction of Pneumococcus *J. Exp. Med.* 52:561,1930.
58. Üstündağ Y, Huysal K, Karaca A, Çınar T, Sancar S, Akdoğan M. CRP Ölçümünde İmmünoflorometrik ve immünoturbidimetrik Yöntemlerin Karşılaştırılması. 8(1); 9-14, 2010.
59. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* ;43:52-58,1997.
60. Hutchinson K, Wener M, M. C-Reactive Protein in Serum 2008.
61. **Pum, J.** A practical guide to validation and verification of analytical methods in the clinical laboratory. *Advances in Clinical Chemistry*.ss. 215-28),2019.
62. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
63. 3- Bland, J. M. ve Altman, D. G. (1999). Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res*, 8(2), 135-160.
64. 4-Martin Bland, J. Ve Altman, D. (1986). Statistical Methods For Assessing Agreement Between Two Methods Of Clinical Measurement. *The Lancet*, 327(8476), 307-310.
65. Thomas O. Fluorometry, Nephelometry, and Turbidimetry. 4; 107-111, 2015.
66. Denham E, Mohn B, Tucker L, Lun A, Cleave P ve D Boswell R. Evaluation of immunoturbidimetric specific protein methods using the Architect ci8200 comparison with immunonephelometry. 44; 529-536, 2007.
67. Shiesh SC, Chou TC, Lin XZ, Kao PC. Determination of C-reactive protein with an ultra-sensitivity immunochemiluminometric assay. 311; 87-95, 2006.
68. Wei TQ, Kramer S, Chu VP, Hudson D, Kilgore D, Salyer S, et al. An improved automated immunoassay for C- reactive protein on the Dimension clinical chemistry system. *J Aut Meth Man Chem* 2000; 22: 125-31.

69. Maggiore U, Cristol JP, Canaud B, Dupuy AM, Formica M, Pozzato ve ark.
Comparison of 3 automated assays for C-reactive protein in end-stage renal
disease: clinical and epidemiological implications. 145: 305-8, 2005.
70. Buğdaycı G, Serin E, Özcan F. Acil Laboratuvarda C-Reaktif Proteinin
Saptanmasında Immünoturbidimetrik Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi. 5(2);
69-74, 2007.



9. ETİK KURUL ONAYI

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

| | | | | | |
|--------------------------|---|--|---|---|--|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI | Turbidimetrik Metot Kullanarak Yapılan C-Reaktif Protein Ölçümünde Farklı Cihazların Analitik Performansının Karşılaştırılması | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI | Prof. Dr. Türkan YİĞİTBAŞI | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI | Biyokimya | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ | İstanbul | | | |
| | DESTEKLEYİCİ | - | | | |
| | ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER | TEK MERKEZ <input type="checkbox"/> | ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSLARARASI <input type="checkbox"/> |

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

| Değerlendirilen Belgeler | Belge Adı | Tarihi | Versiyon Numarası | Dili | | |
|-------------------------------------|--|--------------------------|-------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|
| | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI | | | | Türkçe <input type="checkbox"/> | İngilizce <input type="checkbox"/> |
| BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU | | | | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> | İngilizce <input type="checkbox"/> | Diğer <input type="checkbox"/> |
| Karar Bilgileri | Karar No: 773 | Tarih: 19/12/2018 | | | | |
| | Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "oybirliği" ile karar verilmiştir. | | | | | |

| | |
|--|------------------------|
| İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU | |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI | Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK |

| Unvanı/Adı/Soyadı | Uzmanlık Alanı | Kurumu | Cinsiyet | | Araştırma ile ilişki | | Katılım * | | İmza |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------|
| Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK | Eczacılık | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK | Farmakoloji | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. İlkur KESKİN | Histoloji ve Embriyoloji | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Dr. Öğr. Üyesi Devrim TARAKCI | Ergoterapi | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | |
| Dr. Öğr. Üyesi Sibel DOĞAN | Psiko-onkoloji | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Hikmet ÜÇİŞİK | Biyoteknoloji | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Dr. Öğr. Üyesi Keziban OLCAY | Endodonti | İstanbul Medipol Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |

* :Toplantıda Bulunma

10. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

| | | | |
|------------|--------------------|--------------|------------|
| Adı | Erkan | Soyadı | UCA |
| Doğum Yeri | Iğdır | Doğum Tarihi | 01.07.1976 |
| Uyruğu | T.C | TC Kimlik No | - |
| E-mail | ucaerkan@gmail.com | Tel | - |

Eğitim Düzeyi

| | Mezun Olduğu Okulun Adı | Mezuniyet Yılı |
|------------------|---------------------------------------|----------------|
| Doktora Uzmanlık | | |
| Yüksek Lisans | | |
| Lisans | İstanbul Üniv. Müh. Fak. Kimya Bölümü | 1999 |
| Lise | Güngöre İzzet Ünver Lisesi | 1994 |

İş Deneyimi

| Görevi | Kurum | Süre (Yıl-Yıl) |
|---------------------|----------------------------|----------------|
| 1. Genel Müdür | ARCHEM SAĞLIK SAN TİC LTD. | 2005-..... |
| 2. Üretim Mühendisi | Tüp Merserize AŞ. | 2000-2000 |
| 3. Satış Mühendisi | FORKİM Kimya San. Tic Ltd. | 1999-2000 |

Yabancı Dilleri

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama | Konuşma | Yazma |
|---------------------|-------------------|-----------|-------|
| İngilizce | İYİ | İYİ | İYİ |
| 4. Üretim Mühendisi | Tüp Merserize AŞ. | 2000-2000 | |
| 5. Satış Mühendisi | FORKİM Kimya | 1999-2000 | |

Yabancı Dil Sınavı Notu

| KPDS | YDS | IELTS | TOEFL IBT | TOEFL PBT | TOEFL CBT | FCE | CAE | CPE |
|------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|-----|-----|-----|
| | 63,75 | | | | | | | |

| | SAYISAL | Eşit Ağırlık | Sözel |
|---------------|---------|--------------|-------|
| ALES Puanı | 66,27 | 64,58 | 60,38 |
| (Diğer) Puanı | | | |

Bilgisayar bilgisi

| Program | Kullanım Becerisi |
|-----------------------|-------------------|
| MS OFFICE PROGRAMLARI | Çok İyi |
| | |