

Immuno-Turbidimetrik D-Dimer Metodunun Doğruluk Değerlendirilmesi

Evaluation of Accuracy of Immuno-Turbidimetric D-Dimer Method

Güler Buğdaycı

Erdinç Serin

Fatih Özcan

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Gölköy, Bolu

Geliş tarihi: 03 Haziran 2009

Kabul tarihi: 30 Haziran 2009

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı immuno-turbidimetrik metodun doğruluk değerlendirmesini yapmaktır.

Gereç ve Yöntem: Hastaların (n=160) D-dimer düzeyleri STalia® D-Di (D-Dimer) (Diagnostica Stago, Asnieres, France) kullanılarak saptandı. Referans yöntem olarak ELISA tekniği kullanıldı (Asserachrom®, Diagnostica Stago, Asnieres, France). STalia® D-Di, insan D-Dimer parçacıklarına karşı işaretlenmiş iki farklı spesifik monoklonal antikorla çevrelenen, mikropartiküllerin çökmesi ile oluşan immuno-turbidimetrik metodu kullanan, yarı otomatize bir sistemdir.

Bulgular: STalia® ve Asserachrom® D-Di'in doğruluk değerlendirmesi ($y=0.913x+ 0.077$, $r=0.970$) olarak bulunmuştur.

Sonuç: STalia® D-Di analitik olarak D-Di çalışmaya uygun bulundu.

Anahtar Sözcükler: Fibrin Fragman D, plazma, laboratuvar teknikleri ve prosedürler, hastane acil servis

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to evaluate of accuracy of the immuno-turbidimetric method.

Material and Methods: Patients (n=160) were tested with the D-Dimer assay with a STalia® D-DI (D-dimer) (Diagnostica Stago, Asnieres, France). D-dimer plasma concentration were measured with the STalia® D-Di and our reference method was the ELISA technique (Asserachrom®, Diagnostica Stago, Asnieres, France). The Stalia® D-Di is a semi-automated system for the quantification of D-dimer using an immuno-turbidimetric method incorporating a suspension of latex microparticles coated with two different monoclonal antibodies specifically targeted against human D-dimer fragmants.

Results: The correlation between the results of STalia D-Di and Asserachrom D-Di evaluation of accuracy was acceptable ($y=0.913x+ 0.077$, $r=0.970$, $Sy/x= 0.24$).

Conclusion: STalia D-Di was analytically found to be a proper method to evaluate D-Di.

Key Words: Fibrin Fragment D, plasma, laboratory techniques and procedures, emergency service, hospital

GİRİŞ

Plazma D-dimer düzeyleri, geçmişte tekrarlanabilirliği oldukça düşük olan semi-kantitatif testlerle ölçülmüştür (1). Bir dönem özellikle pulmoner emboli takibinde hastabaşı hızlı kalitatif lateks testler denendi ve yeterince onay görmemiştir (2). Bununla beraber, zamanla hassasiyeti yüksek, kantitatif plazma D-dimer deneyleri otomatize koagülasyon analizörlerinde ölçülmeye başlandı. Laboratuvara özgü cut-off değerini daha doğru olarak tanımlamak mümkün olmuştur. Referans yöntem olan enzim-bağlayan immunosorbent deneyler (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) ile Acil Biyokimya Laboratuvarı'nda kullanıma uygun olup olmaması yeni çıkan hızlı kantitatif yöntemlerin karşılaştırılmasını gerekli kılmaktadır (3,4).

Fibrinojenden fibrin monomerleri oluşurken fibrinopeptid A ve B bu parçalanmaya yardımcıdır. Faktör VIII trombin tarafından aktive edilir ve gama zincirlerinden küçük parçalara ayrılır. Fibrin D ve E fragmanları olan tam fibrin yıkım ürünlerine ayrılır. Bu oligomerler fibrinolitik süreç devam ederse artarak D-dimer oluşur. Plazma D-Dimerin düzeyinin artışı, acil servis ve yoğun bakım kliniklerinde ayırıcı tanı ve takipte pulmoner emboli, derin ven trombozu, yaygın damar içi pıhtılaşma takibinde kullanılmaktadır. Plazma D-dimer düzeyinin artışının olduğu diğer patolojik durumlar şunlardır; ciddi enfeksiyon, travma, cerrahi, yanıklar doku infarktüsü, ilerlemiş kanser, pre-eklampsi, orak hücreli anemi, böbrek yetmezliği, karaciğer bozulması, akut hemoraji ve psikolojik stresi sayabiliriz. Plazma D-Dimer düzeyinin arttığı fizyolojik durumlar; gebelik, doğum, yaşlılık, siyah ırk, sigara, olarak sayılmaktadır. Plazma D-dimer düzeyi vitamin K antagonistleri, heparin kullanımı ve fiziksel aktivite ile azaldığı bilinmektedir (5).

Çalışmamızda Nöroloji Acil Polikliniğine başvuran hastaların plazma örnekleri kullanılarak, plazma D-dimer Acil Biyokimya Laboratuvarı'nda

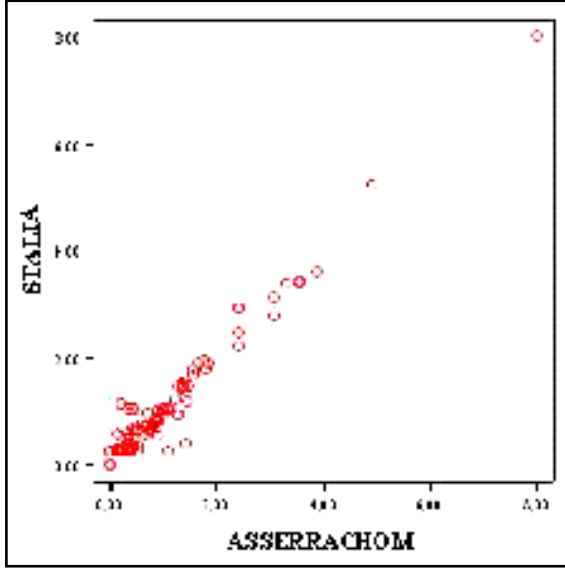
immunosorbimetrik yöntemin referans yöntem olan ELISA ile karşılaştırılarak doğruluk değerlendirilmesi yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

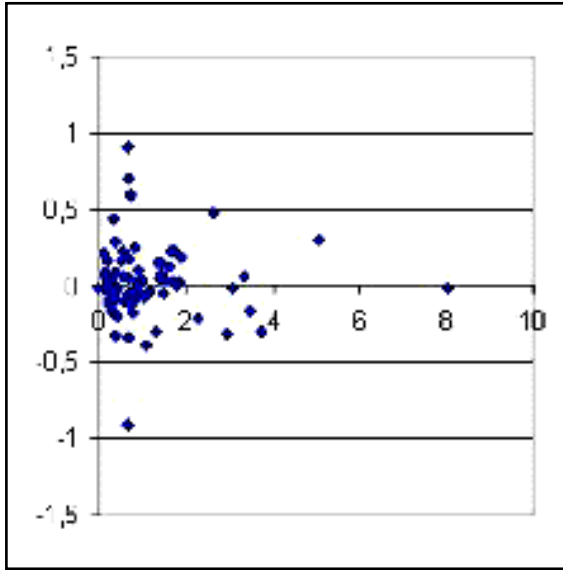
Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Anabilim Dalı Acil Polikliniğe başvuran toplam 160 hastanın yaş ortalaması 61 yaş (aralık 36-84 yaş) olup, Kadın/ Erkek oranı 83/97 olarak belirlendi. Kan örnekler 0.109 M (%3.2) trisodyum sitrat içeren tüplere alındı. Örnekler bekletilmeden 2000g'de 15 dakika santrifüj edildi. Hastaların plazma D-dimer düzeyleri STalia® D-Dimer (Diagnostica Stago, Asnieres, France) kullanılarak saptandı. Gelen hasta örnekleri 60 dakika içinde verildi. Kalan plazma ise ELISA yöntemi ile daha sonra çalışılmak üzere -70°C'de saklandı. Referans yöntem olarak ELISA tekniği kullanıldı (Asserachrom®, Diagnostica Stago, Asnieres, France). STalia® D-Dimer, insan D-Dimer parçacıklarına karşı işaretlenmiş iki farklı spesifik monoklonal antikorla çevrelenen, mikropartiküllerin çökmesi ile oluşan immuno-turbidimetrik metodu kullanan, yarı otomatize bir sistemdir. Üretici firma tarafından saptanan testin gün içi tekrarlanabilirliğini ortalaması 1.64 µg/ml örnek için (n=21) %CV=%2.8, 0.52 µg/ml örnek için (n=21) %CV=%5.4; günlerarası tekrarlanabilirlik ise 1.66 µg/ml örnek için (n=10) %CV=%3.8 ve 0.55 µg/ml örnek için (n=10) %CV= %6.2 olarak verilmiştir. Biz laboratuvarımızda internal kalite kontrolünde kullanılan lot numarası 102645 (1.04-1.54 µg/ml) Stalia D-Di kontrol olarak (Diagnostica Stago, Asnieres, France) kullanılmıştır. İstatistik değerlendirme yapılırken ortalama ve Standard sapmanın yanı sıra, doğruluk değerlendirilmesi için regresyon analizi yapılmıştır ve Blant Altman grafikleri kullanılmıştır.

BULGULAR

STalia® ve Asserachrom® D-Di'in doğruluk değerlendirmesinde regresyon analizi yapıldı.



Şekil 1. Stalia® D-Di ve referans olarak alınan ELISA yönteminin (Assesrachom®) regresyon analizi grafiği ($Y = 0.913x + 0.077$, $Sy/x = 0.24$, $r = 0.970$).



Şekil 2. Stalia® D-Di ve referans olarak alınan ELISA yönteminin (Assesrachom®) Blant Altman (farklar ve ortalamalar) grafiği.

Regresyon eşitliği $y = 0.913x + 0.077$ ve regresyon değeri 0.970 olarak bulunmuştur.

D-Dimerin kontrol örneğinde yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasında ortalama ve Standard sapması 1.34 ± 0.23 $\mu\text{g/ml}$ olan örnekte ($n=30$) varyasyon katsayısı %4.5 olarak bulunmuştur.

Toplam 160 hastanın 4'sında (ortalama 65 yaş, aralık 39- 83, Kadın/Erkek oranı 27/21, sıklığı %24) akut iskemik inme saptandı. Bu değerlendirmede 0.5 $\mu\text{g/ml}$ düzeyi cut-off değeri olarak kullanılmıştır.

STalia® D-Dimer ile çalışılan 160 hastanın ortalama ve standart sapması 1.12 ± 1.23 $\mu\text{g/ml}$ olarak (en düşük 0.00 ve en yüksek 8.00 $\mu\text{g/ml}$) bulunmuştur. Asserachrom® D-dimer ile çalışılan aynı örneklerde ortalama ve standart sapması 1.12 ± 1.36 $\mu\text{g/ml}$ olarak (en düşük 0.01 ve en yüksek 9.90 $\mu\text{g/ml}$) bulunmuştur. Her iki metod t-testi ile karşılaştırıldığında aralarında fark bulunmamıştır ($p=0.997$). Şekil 1 regresyon analizi ve Şekil 2 Blant Altman grafiği ile iki metodun analitik doğruluk değerlendirilmesi verilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmamızda immuniturbidimetrik yöntem olarak STalia® D-Dimer ile referans yöntem olarak kullanılan Asserachrom® D-dimer ELISA yöntemiyle doğruluk değerlendirilmesi yapılmıştır.

Literatürde metod karşılatırmaları STA Liatest D-Di (Diagnostica Stago) ve VIDAS (BioMerieux, Inc) arasında; PATHFAST D-Di (Mitsubishi Kagaku Iatron Inc) ve VIDAS arasında; bizim çalışmamıza benzer olarak Stalia D-Di ve VIDAS arasında yapılan çalışmaların tamamında derin ven trombozlu olgular kullanılmıştır (7-9). Akut iskemik inmeli grup seçilerek yapılan bir başka karşılaştırma çalışmasında ise Bioopool ELISA kit ile MDA ve VIDAS otomatize D-Dimer test metod karşılatırmasının yapılmıştır (6).

Fibrin oluşum mekanizmalarının akut iskemik inme ve geçici iskemik atak sonrası arttığı ve inmenin alt gruplarını ayırmada kullanılabileceği klinik çalışmalarda bildirilmiştir (10). Akut iskemik inmenin alt gruplarına yönelik bir başka çalışmada kardiyembolik altgrubu diğerlerinden ayırma için kullanılabileceğini düşünülmüştür. Cut-off değeri 3.00 $\mu\text{g/ml}$

alındığında kardiyembolik grubu değerlendirmek için plazma D-Dimer kullanıldığında duyarlılık %80, özgüllük %77 olarak bildirilmiştir (5). Bir başka alt grup çalışmasında 2.00 µg/ml alındığında kardiyemboli için %93 duyarlılık, %59 özgüllük olarak verilmiştir (4). Bizim çalışmamızda, toplam 160 hastanın 39'sında (sıklığı %24) akut iskemik inme olarak saptandı. Tanı alan ve takip edilen hastalarda alt gruplarına ayırarak inceleme gece gelen hasta gruplarında dosyalarında görüntüleme ve EKG eksiklikler olduğu için gerçek anlamda alt gruplarına ayrılamadı. Bu nedenle klinik performans değerlendirilmesi yapılamamıştır.

Plazma D-Dimerin en yaygın kullanıldığı pulmoner emboli tanısında bile yeterliliği tartışmalıdır. Bu testin klinikte kullanımında yaşanan sorun duyarlılığı yüksek bir test olmasına rağmen özgüllüğünün aynı oranda yüksek olmamasıdır. Yapılan bir metanalizde dokuz farklı immunoturbidimetrik yöntemin karşılaştırılması sonucunda duyarlılık ortalaması %88-100 arası değişirken, özgüllük %42 ile 74 arasında değiştiği rapor edilmiştir (3).

Sonuç olarak, STalia® D-Dimer analitik olarak Acil Biyokimya Laboratuvarlarında D-Dimer çalışmaya uygun yarı otomatize bir sistem olarak kullanımı kabul edilebilir bulunmuştur.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için hasta bilgilerini bizimle paylaşan AİBÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Burcu Altunrende ve Dr. Şule Aydın Türköglü'na ve gereken kitleri-sarf malzemelerini sağlayan Albio Kimyevi Malzemeler A.Ş.'ye teşekkürlerimizi bir borç biliriz.

KAYNAKLAR

1. Lehman CM, Wilson LW, Rodgers GM. Analytic validation and clinical evaluation of the STA LIATEST immunoturbidimetric D-dimer assay for

the diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 178-84.

2. Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of cardiology. *Eur Heart J* 2000; 21: 1301-36.
3. Brown MD, Lau J, Nelson RD, Kline JA. Turbidimetric D-dimer test in the diagnosis of pulmonary embolism: a metaanalysis. *Clin Chem* 2003; 49: 1846-53.
4. Ageno W, Finazzi S, Steidl L, Biotti MG, Mera V, d'Eril GV, Venco A. Plasma measurement of D-Dimer levels for the early diagnosis of ischemic stroke subtypes. *Arch Intern Med* 2002; 16: 2589-93.
5. Haapaniemi E, Tatlısumak T. Is D-dimer helpful in evaluating stroke patients? A systematic review. *Acta Neurol Scan* 2009; 119: 141-50.
6. Barber M, Langhorne P, Rumley A, Lowe GD, Stott DJ. D-dimer predicts early clinical progression in ischemic stroke: confirmation using routine clinical assays. *Stroke* 2006; 37: 1113-5.
7. Tombul T, Atbas C, Anlar O. Hemostatic markers and platelet aggregation factors as predictive markers for type of stroke and neurological disability following cerebral infarction. *J Clin Neurosci* 2005; 12: 429-34.
8. Schreengost JE, LeGallo RD, Boyd JC, Moons KG, Gonias SL, Rose CE Jr, et al. Comparison of diagnostic accuracies in outpatients of D-Dimer testing for the evaluation of suspected pulmonary embolism. *Clin Chem* 2003; 49: 1483-90.
9. Fukuda T, Kasai H, Kusano T, Shimazu C, Kawasugi K, Miyazawa Y. A rapid and quantitative D-Dimer assay in whole blood plasma on the point-of-care PATHFAST analyzer. *Thromb Res* 2007; 120: 695-701.
10. Koch HJ, Horn M, Bogdahn U, Ickenstein GW. The relationship between plasma D-Dimer concentrations and acute ischemic stroke subtypes. *J of Stroke Cerebrovasc Dis* 2005; 14: 75-9.

Yazışma adresi:

Dr. Güler Buğdaycı
Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, Gölköy, Bolu
Tel : 0.373 425 3465/3170-3028
Faks : 0.374 253 46 15
E-posta : gbugdayci@yahoo.com
