

Serumdaki Jelatinöz Fibrin Kaynaklı Yanlış Yüksek Troponin Düzeyi: İki Olgu

False High Troponin Level Originated From Gelatinous Fibrin in Serum: Two Cases

Arzu Etem Akağaç

Uşak Özel Öztan Sağlık Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Uşak, Türkiye

Başvuru Tarihi: 16 Aralık 2019

Kabul Tarihi: 04 Mayıs 2020

ÖZET

Giriş: Jelatinöz fibrinden kaynaklanan yanlış yüksek troponin sonucu olan iki olgu tanımlanarak laboratuvar içi preanalitik kontrolün öneminin vurgulanması amaçlandı.

Olgu Sunumu: Troponin testi Beckman Coulter Access 2, CA, USA cihazında orijinal reaktifıyla çalışıldı. 1. olgunun troponin ilk ölçüm ve tekrar santrifüjden sonra ikinci ölçüm sırasıyla 0,0260 ng/mL ve 0,0103 ng/mL (referans aralık 0-0,0183 ng/mL) bulundu. Antikoagülan tedavi alan hastanın PT ve INR sonucu sırasıyla 48,5 sn ve 2,74 ölçüldü. 2. olgunun troponin ilk ve tekrar santrifüjden sonra ikinci ölçüm sırasıyla 0,1948 ng/mL ve 0,0093 ng/mL bulundu. 2. olgunun PT ve INR sonucu 49,1sn ve 2,76 ölçüldü ve antikoagülan tedavisi altındaydı. Her iki olguda test sürecinin 1 saatte tamamlandığı görüldü.

Tartışma: Troponin analizlerinde yanlış yüksek sonuç olduğu tespit edilen bu iki olgu primer serum tüpünde pıhtı aktivatörü olmasına rağmen uygunsuz pıhtılaşmanın etkisini göstermektedir. Pıhtılaşma için santrifüjden önce 30 dakika bekleme süresi antikoagülan tedavi alanlarda yetersiz kalabilir. Antikoagülan alan hastaların numunelerinin santrifüjden önce daha uzun süre bekletilmesi hem hasta yararına olacak hem de laboratuvarların sonuç güvenilirliğini artıracaktır. Ayrıca ek olarak hastane ve laboratuvar şartları gözönünde bulundurularak hızlı sonuç verilmesi klinikte önemli olduğundan plazma örneğinde troponin çalşıma düşünebilir.

Anahtar Sözcükler: Troponin, Jelatinöz Fibrin, Yanlış Yüksek

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5849-0642>

Yazışma adresi: Arzu Etem Akağaç
Uşak Özel Öztan Sağlık Hastanesi
Tıbbi Biyokimya, Uşak, Türkiye
e-posta: arzuetem@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: We aim to emphasize that importance of intralaboratory preanalytical control process with describing two cases of false positive troponin level originated from fibrin gel.

Cases Presentation: Troponin test performed on Beckman Coulter Access 2, CA, USA instrument with original reagents. First and after second centrifugation troponin level of first case was measured 0,0260 ng/mL and 0,0103 ng/mL respectively (reference range 0-0,0183 ng/mL). The patient has been under anticoagulant treatment and PT and INR result were measured 48,5 second and 2,74. First and second troponin measurement of second case was 0,1948 ng/mL and 0,0093 ng/mL respectively. Second case has been under anticoagulant treatment too and PT and INR result were 49,1 second and 2,76. It was observed that the test process was completed in one hour in both cases.

Discussion: Detecting false high results in troponin analysis of these two cases show inappropriate coagulation, despite presence of clot activators in primary serum tube. Serum samples that are allowed to sit for 30 minutes prior to centrifugation can remain insufficient in patients under anticoagulant treatment. Specimens of patients receiving anticoagulants allowed to sit longer than 30 minutes are both will be benefit for patients and increase laboratory reliability. Additionally troponin assay which is reporting the rapid results are important in clinically can be consider to perform in plasma specimen according to hospital and laboratory conditions.

Key Words: Troponin, Gelatinous Fibrin, False High

GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar hem kadınlarda hem de erkeklerde dünya genelinde mortalitenin önde gelen nedeni olarak öne çıkmaktadır (1). Akut miyokard infarktüsü (AMI) tanısında biyobelirteçler köşe taşı olarak yerini almaktadır. Kardiyak troponin (cTn) AMİ belirti ve bulgularıyla acil servise başvuran hastalarda tercih edilmektedir (2). cTn analitik sensitivitesi laboratuvar pratiğine ilk girdiğinden beri evrim geçirmiştir (3). Kliniğe bu evrim daha erken tanı koyma ve daha erken AMİ tanısını dışlayabilme olarak yansımıştır (2).

Yüksek duyarlılıklı kardiyak troponin I (hs-cTnI) testi daha önceki troponin testlerine göre daha düşük konsantrasyonlardaki troponin düzeylerini daha iyi presizyonla belirleyebilmektedir. hs-cTnI testi acil servislere AMİ'den şüphelenilen hastalarda tanı ve risk sınıflandırılmasında gelişmiş klinik kullanım sağlamaktadır (4).

Bu çalışmada jelatinöz fibrinden kaynaklanan yanlış yüksek troponin sonucu olan iki olgu tanımlanarak özellikle antikoagülan tedavi alan hastalarda laboratuvar içi preanalitik kontrolün öneminin vurgulanması amaçlandı.

OLGULARIN SUNUMU

Olgu 1: 73 yaşında kadın hasta çarpıntı nedeniyle kardiyoloji polikliniğinde muayene edildi. Özgeçmişinde romatoid artrit ve hipertansiyon tanısı mevcut ve yapılan ekokardiyografisinde minimal perikardiyal efüzyon tespit edildi. Antikoagülan tedavi alan olgunun(warfarin sodyum sabah 1 tablet akşam 1 tablet) protrombin zamanı (PT) ve uluslararası normalize edilmiş oran (INR) sonucu 48.5 sn ve 2.74 idi. Hastanın 13×100mm, 2.5mL Ayset pıhtı aktivatörlü primer tüpe kanı alındıktan sonra 30 dakika bekletildi. 1500xg de 10 dakika santrifüj edildikten sonra cihaza yüklendi. Test süreci 1 saatte sonlandırıldı.

Olgu 2: Yine 73 yaşında başka bir kadın hasta kontrol amaçlı kardiyoloji polikliniğinde muayene edildi. Hastanın özgeçmişinde aort ve mitral kapak protezi ile diabetes mellitus tanısı mevcut bulundu. Dosyası incelendiğinde antikoagülan tedavi altında olduğu tespit edildi (warfarin sodyum haftada 3 gün 1.5 tablet, diğer günler 1 tablet). 2. vakanın PT ve INR sonucu 49,1 sn ve 2,76 olarak bulundu. Laboratuvar preanalitik evresi ilk olguyla aynıydı. Toplam test süreci 1 saatte sonlandırılmıştı.

Her iki olgunun cihazdan çıkan beklenmeyen yüksek sonuç üzerine serumu kontrol edildiğinde resim 1 ve 2'de görüldüğü gibi jelleşme olduğu görüldü. Örnekler benmaride 37°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500xg de 10 dakika ikinci kez santrifüj sonrası tekrar ölçüldüğünde referans aralıkta troponin değerleri bulundu. 1. olgunun troponin ilk ölçümde ve benmaride bekletilip tekrar santrifüjden sonra ikinci ölçümde sırasıyla 0,0260 ng/mL ve 0,0103 ng/mL bulundu (Referans aralık 0-0,0183 ng/mL). 2. olguda troponin ilk ve ikinci ölçümde sırasıyla 0,1948 ng/mL ve 0,0093 ng/mL olarak ölçüldü (Referans aralık 0-0,0183 ng/mL).



Resim 1. Birinci olgunun görüntüsü



Resim 2. İkinci olgunun görüntüsü

Troponin I testi Beckman Coulter Access 2 (CA, USA) cihazında orijinal reaktifıyla çalışıldı. Access yüksek duyarlılıklı troponin testi iki adımlı immünoenzimatik, paramanyetik partiküllü, kemilüminesan bir testtir (CMIA). Access hs-cTnI testi için insan cTnI'a karşı özellikle yöneltilmiş antikorlar kullanılır. Alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş monoklonal anti-hs-cTnI antikoruna tampon ve örnek içeren bir yüzey aktif madde ile birlikte reaksiyon küvetine eklenilir. Kısa bir inkubasyondan sonra monoklonal anti-hs-cTnI antikoruna kaplı paramanyetik partiküller eklenilir. İnsan hs-cTnI katı fazdaki anti-hs-cTnI antikoruna bağlanırken, anti-hs-cTnI-alkalen fosfataz konjugatı hs-cTnI moleküllerinin üzerindeki farklı antijenik bölgelerle reaksiyona girer. Tepkime kabında inkubasyondan sonra katı faza bağlı materyaller, bağlı olmayanlar yıkayıp temizlenirken manyetik alanda tutulur. Daha sonra kemilüminesan substrat kaba eklenir ve bu tepkime ile üretilen ışık lumimetre ile ölçülür. Işık üretimi örnekteki hs-cTnI konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden belirlenir.

TARTIŞMA

Kan pıhtı aktivatörü içeren tüpe alınınca normal şartlarda hızlıca pıhtılaşmaktadır. İntrinsik yol tüp duvarına temasla aktive olur ve daha sonra trombin çözünebilir fibrinogeni, çözünemeyen fibrin jele çevirmektedir. Sağlıklı insanda fibrin oluşumu ve yıkımı bir denge halinde bulunmaktadır. Antikoagülan tedavi alan hastalarda ise bu mevcut denge şu şekilde bozulmaktadır. Klinik olarak çok sık kullanılan warfarin; K vitamininin K vitamini epoksid durumuna dönmesini engelleyerek K vitaminine bağlı proteinlerin terminal bölgelerinin gama karboksilasyonunu bloke etmektedir. Sonuçta pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX ve X'un azalmasına yol açmaktadır. Ayrıca antikoagülan proteinler olan protein C ve protein S'i inhibe ederek erken dönemde prokoagülan etki oluşturmaktadır ve bütün bunların sonucunda yetersiz pıhtılaşma oluşmaktadır. Azalmış ya da fonksiyon göstermeyen fibrin oluşumu, invitro koşullarda örneklerde 30 dakika bekletilse de ayrıştırılan serumda gecikmiş

fibrin oluşumuna neden olmaktadır ve daha uzun süreler bekletilmeye ihtiyaç duymaktadır.

Kazmierczak ve ark. (5) tüm yüksek çıkan troponin sonuçlarını ikinci kez santrifüj edip tekrar çalışarak serum örneklerinde fibrin interferansının insidansını araştırmışlardır. Örneklerin %7,8'de ilk ve ikinci ölçüm arasında %45'in üzerinde fark tespit etmişlerdir. Bu numunelerin %83'ü ikinci çalışmada referans aralıkta bulunmuş ve plazma örnekleriyle bu sorunun yaşanmadığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca cTnl antikörlerinin fibrine nonspesifik bağlanması veya alkalin fosfataz indikatör enziminin fiziksel olarak ayırım matriksinde tuzağa düşmesi yanlış yüksek troponin sonucunun nedeni olarak gösterilebilir (6).

Antikoagülan tedavi alan hastaların troponin test istemi sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Bu

iki vakada görülen durum rutin laboratuvar işleyişinde azımsanmayacak kadar sık oluşan bir problemdir. Troponinin yanlış yüksekliğiyle sonuçlanan bu iki olgu primer serum tüpünde pıhtı aktivatörü olmasına rağmen uygunsuz pıhtılaşmanın etkisini göstermektedir. Santrifüjden önce 30 dakika bekleme süresi antikoagülan tedavi alanlarda yetersiz kalabilmektedir. Antikoagülan alan hastaların numunelerinin daha uzun bekletilmesi tekrar santrifüj, numuneyi benmaride bekletme ve testi tekrar çalışarak daha uzun bir zaman kaybını engelleyerek hem hasta yararına olacak hem de laboratuvarların sonuç güvenilirliğini artıracaktır. Ayrıca ek olarak hastane ve laboratuvar şartları gözönünde bulundurularak plazma örneğinde troponin çalışma düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. E.j.Benjamin, S.S.Virani, C.W.Callaway, A.M. Chamberlaine, A.R.Chang, s.Cheng, et al., Heart disease and stroke statistics-2018 update:a report from the American Heart Association, Circulation, 2018 Mar 20; 137(12): e67-e492.
2. K.Thygesen, J.S.Alpert, A.S.Jaffe, B.R.Chaitman, J.J. Bax, D.A.Morrow,et al., Fourth universal definition of myocardial infarction. Glob Heart, 2018 Dec; 13(4):305-338.
3. E.M. Antman, M.J.Tanasijevic, B.Thompson, M. Schactman, C.H.McCabe, C.P.Cannon, et al.,Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes, N.Engl.J.Med.335(1996)1342-1349.
4. Christenson R.H, Peacock W.F,Apple A.T, Limkakeng Jr., Novak R.M,J.McCord, deFilippi. Trial design for assessing analytical and clinical performance of high-sensitivity cardiac troponin I assays in the United States:The HIGH-US study. Contemp Clin Trials Commun 2019 Feb15;14:100337.
5. Kazmierczak SC, Sekhon H, Richards C. International Journal of Cardiology False-positive troponin I measured with the Abbott AxSYM attributed to fibrin interference. Int J of Cardiol. 2005 May 11; 101(1):27-31.
6. Nosanchuk JS. False increases of troponin I attributed to incomplete separation of serum. Clin Chem 1999;45:714.