

Koagülasyon testlerinde optik ve mekanik pıhtı yöntemlerinin karşılaştırılması

Comparison of optical and mechanical clot detection methods in coagulation analyses

Esin AVCI¹, Müjgan ERCAN², Şahika ÖZEN³, Onur BAHÇEÇİ³¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye² Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye³ Servergazi Devlet Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, Denizli, Türkiye

Öz.

Amaç: Tıbbi laboratuvarların büyüklüğü ve kapasitesine göre kullandığı ölçüm yöntemleri değişkenlik göstermektedir. Çalışmamızda yarı-otomatize sistemin kullandığı mekanik pıhtı saptama yöntemi ile tam otomatize koagülasyon sistemlerinde var olan foto-optik pıhtı saptama yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: 56 plazma örneğinden CoA Data 4004 ve de Sysmex CS-2000i/CS-2100i koagülasyon sistemleri ile protrombin zamanı (PTZ), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) düzeyleri ve uluslararası normalleştirilmiş oran (INR) çalışılmıştır. PTZ, APTT ve INR değerleri SPSS programları ile regresyon analizi yapılarak ve Bland - Altman grafikleri uygulanarak değerlendirilmiştir. CLIA total izin verilebilir hata ve dış kalite değerlendirme sonuçlarına göre tam otomatize sistem referans kabul edilerek yarı otomatize sistemin performansı hesaplanmıştır.

Bulgular: Korelasyon analizi sonucu PTZ için $r=0.844$, INR için $r=0.842$ ve APTT için $r=0.737$ olarak bulunmuştur. İki yöntem arasında PTZ ve INR için fark bulunmazken ($p=0.314$ & $p=0.196$), APTT için fark saptanmıştır ($p=0.003$). Çalışmamızda CoA Data 4004 cihazı APTT seviyelerini daha düşük değerlerde saptamıştır. Her üç testin Bland-Altman grafiklerinde sistematik hata gözlenmemiştir.

Sonuç: Koagülasyon testlerinin doğru ve güvenilir izlemi için standardize yöntemler ile analiz gerçekleştirilmelidir. Çalışmamızda APTT testi için iki yöntem arası fark CLIA izin verilir total hatadan daha düşük olduğu için yarı otomatize cihazın performansının kabul edilebilir olduğunu ortaya koyduk.

Anahtar Kelimeler: Karşılaştırma, Yöntem karşılaştırma, Koagülasyon, Mekanik, Optik

Abstract

Background: Measurement techniques vary in terms of laboratory capacity and requirement. In our study, we compared mechanical clot detection system in semi-automated coagulation system to photo-optical clot detection system that used in automated coagulation systems.

Methods: We analyzed, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) and international normalization ratio (INR) tests with CoA Data 4004 and Sysmex CS-2000i/CS2100i coagulation systems in 56 plasma samples. PT, APTT and INR levels analyzed with regression analyze, and Bland-Altman graphics using SPSS package program. Approving automated coagulation system as reference, we calculated semi-automated performance using with CLIA total allowable error and external quality reports.

Results: Correlation analysis results were $r=0.844$ for PT, $r=0.842$ for INR and $r=0.737$ for APTT. There was no systematic error in Bland-Altman graphics. While there was no difference PT and INR levels ($p=0.314$ & $p=0.196$), APTT ($p=0.003$) showed statistical difference between two methods. CoA Data 4004 device gave lower APTT results.

Conclusions: Monitoring coagulation tests are more reliable and accurate when the standardized methods used. In our study, we revealed semi-automated device performance was acceptable because of our results were less than CLIA total allowable error limits.

Keywords: Comparison, Method comparison, Coagulation, Mechanic, Optic

Sorumlu Yazar /
Corresponding Author

Dr. Esin AVCI

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Kınıklı,
Denizli, Türkiye

Tel: +90 533 742 71 23

E-mail: hekimesin@gmail.com

Geliş tarihi / Received: 12/11/2018

Kabul tarihi / Accepted: 31/01/2019

Giriş

Tıbbi Laboratuvarlar hizmet alımlarını; ihale süresi, test sayısı ve mevcut fiziki ve idari gerekliliklerine göre belirlerler. Test menülerinde olan analitlerin yöntemlerini de bu doğrultuda seçmelidirler. Testin çalışılacağı yöntemin otomatize ya da yarı otomatize olmasını belirleyen önemli faktör test sayısıdır. Bir diğer önemli nokta ise eğer o test için yeterli sayıda hastanın gelmeyeceği öngörülüyorsa, testin transferi ile başka bir laboratuvarda analizidir. Ancak bu noktada örnekteki analitlerin transferden en az etkilenmesi gerekmektedir (1).

Protrombin zamanı (PTZ), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) ve uluslararası normalleştirilmiş oran (INR) rutin laboratuvarlarda sıklıkla çalışılan koagülasyon testlerindedir (2). PTZ ile ekstrinsik ve ortak yol fonksiyonları değerlendirilebilir; faktör V, VII, X, protrombin ve fibrinojen düzeylerinden etkilenir. Oral antikoagülan monitorizasyonunda önemlidir (3). APTT ile intrinsik ve ortak yol fonksiyonları değerlendirilebilir; yüksek molekül ağırlıklı kininojen, prekallikrein, faktör VIII, IX, XI ve XII düzeylerinden etkilenir (4, 5).

Koagülasyon analizörleri; otomatize yada manuel kullanılan, yüksek volüm yada düşük volüm işleme kapasiteli olan, geniş bir test menüsünden daha az test çeşidi içeren kısıtlı menüleri barındıran otoanalizör grubudur. Artan yüksek volüm işleme talebi doğrultusunda, son 20 yılda otoanalizörlere olan talep giderek artmaktadır (6).

Bu amaçla çalışmamızda il merkezindeki devlet hastanesinde kullanılan foto-optik pıhtı saptama sistemine sahip yüksek volüm işleme özelliğine sahip Sysmex CS-2000i/2100i ile aynı ile bağlı ilçe devlet hastanesi laboratuvarında kullanılan mekanik pıhtı saptama sistemine sahip Coa DATA 4004 yarı-otomatik koagülasyon cihazlarının yöntemleri karşılaştırılmış ve sonuçlar arasındaki uyum ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmamız Mayıs-Haziran 2017 ayları arasında Çivril Devlet Hastanesi Tıbbi Laboratuvarına PTZ, APTT ve INR testleri istemi ile gelen 56 hastaya ait örnekte gerçekleştirilmiştir. Test istemleri Kardiyoloji polikliniğinde yapılmış ve laboratuvar numune alma kısmında 3,2%Na sitrat içeren tüplere örnek alımı gerçekleşmiştir. Tüm hastalardan aynı hemşire örnek almıştır.

Örneklerin santrifüj işleminin ardından ayrılan plazma kısmından PTZ, APTT ve INR analizleri CoA-Data 4004 (LABOR BioMedical Technologies GmbH, Almanya) yarı-otomatize koagülasyon cihazında çalışılmıştır.

Aynı örnekler aynı gün ve 2 saat içinde il merkezindeki Servergezi Devlet hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında bulunan Sysmex CS-2000i/2100i (Siemens Healthcare Diagnostik, Erlangen, Almanya) tam otomatize foto-optik pıhtı saptama cihazı ile pıhtı, kromojenik, im

munotürbidimetrik yöntemlere dayalı analiz gerçekleştirilmiştir.

Tüm analizler 1 ay içinde tamamlanmıştır.

İstatistiksel analiz için SPSS (18. Versiyon, IBM, 2012, ABD) paket program kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Normal dağılıma uyan değişkenler için tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama \pm standart sapma, normal dağılıma uymayanlar ise median (min-max) olarak gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği parametrik test için Student's t testi, non parametrik test için Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Parametrik test için pearson, non parametrik test için ise spearman, analitler arası ilişki analiz için kullanıldı. Ayrıca iki cihazdan alınan ölçümler için Bland & Altman grafiğide oluşturuldu.

Klinik karar düzeyi bakımından incelendiğinde PT, APTT testlerin anlamlılık farkı CLIA'nın izin verilebilen hatasına göre de hesaplandı. INR testi için iki cihaz arasındaki % biasını, dış kalite kontrol verilerindeki biasa göre değerlendirildi. İki cihaz arasındaki korelasyonu ise parametrik test için pearson, non parametrik test için ise spearman test kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Ortalama bias (%) hesabı = [(yarı-otomatize cihaz sonucu - tam otomatize cihaz sonucu) / tam otomatize cihaz sonucu x 100]. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Hastalardan 25'ine ait kardiyovasküler ve ilgili hastalık tanısı laboratuvar bilgi sisteminden alınmıştır. 24 hastaya ait tanılar ise kardiyovasküler sistem dışı girişler olduğu saptanmıştır. 56 hastaya ait plazma örneklerinin coadata 4004 ve sysmex c2000i cihazları için hesaplanan ortalamalar tablo 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Buna göre PTZ ve APTT testlerinin ortalaması tam otomatize cihazda daha yüksek saptanırken, INR tam otomatize cihazda daha düşük hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık sadece APTT testinde gözlemlenmiştir ($p = 0,003$).

Yarı otomatize ve tam otomatize cihazlarda gerçekleştirilen normal ve abnormal düzeylerdeki iç kalite kontrol çalışmalarında gün içi ve günler arası CV her iki yöntem için $< 2\%$ idi.

Yöntemlerin korelasyonları PTZ için $r = 0.844$, INR için $r = 0.842$ ve APTT için $r = 0.737$ olarak bulunmuştur (Tablo 2).

Tam otomatize cihaz referans olarak kabul edilerek PTZ ve APTT testleri için total kabul edilebilir hata, CLIA kriterlerine göre hedef değerlerinin $\pm 15\%$ aralığı kabul edildiğinden yarı otomatize cihazın performansı kabul edilebilir aralıkta saptanmıştır. INR için CLIA da total kabul edilebilir hata verilmediğinden, dış kalite değerlendirme verileri kullanılarak ortalama bias hesaplanarak kabul edilebilir

biasa göre karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda INR için hesaplanan bias 3,22 kabul edilebilir biasa (dış kalite değerlendirme biası= 3,38) göre daha düşük olduğundan INR açısından da performans ortaya konulmuştur.

Her 3 analiz için birbirleri ile uyumun gösterildiği Bland-Altman grafikleri şekil 1'de verilmiştir. Grafiklerde her iki cihaza ait yöntemlerin sonuçlarının ± 2 standart sapma aralığında olduğu, rastgele yada sistematik bir hataya rastlanmadığı saptanmıştır.

Tartışma

Yarı otomatik koagülyasyon cihazı ile tam otomatik koagülyasyon cihazının yöntemlerini karşılaştırdığımız çalışmamızda PTZ ve INR analitleri arasında uyum görülürken, iki yöntem arasında APTT analiti açısından fark saptandı ($p=0,003$). Tam otomatize cihaz referans kabul edilerek CLIA total izin verilebilir hata $\pm 15\%$ izin verilebilir aralığı hesaplandığında APTT için yarı otomatize cihazın kabul edilebilir sınırdan olduğunu çalışmamızda gösterdik (Tablo 3).

CLIA kriterlerinde INR için total izin verilebilir hata yayınlanmadığı için kabul edilebilir biası dış kalite değerlendirme sonuçlarından elde ederek yarı otomatize cihazımızın biası ile karşılaştırdık ve INR için yarı otomatize cihazda daha düşük biasta analiz gerçekleştirdiğimizi ortaya koyduk (tablo 4).

Tablo 1. CoA Data 4004 ve Sysmex CS-2000i/CS-2100i PTZ, APTT, INR düzeyleri

Testler	Sysmex CS-2000i/CS-2100i	CoA Data 4004	p
PTZ (ort.±ss) (sn)	25,95±10,85	25,03±11,42	0,314
APTT (ort.±ss) (sn)	34,62±7,83	32,32±4,99	0,003
INR med(min-maks)	2,17(0,98-4,15)	2,24(0,95-6,26)	0,196

PTZ: Protrombin zamanı (ortalama±standart sapma)

APTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (ortalama±standart sapma)

INR: uluslararası normleştirilmiş oran (median, minimum-maksimum), sn: saniye

* $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 2. CoA Data 4004 ve Sysmex CS-2000i/CS-2100i PTZ, APTT, INR düzeylerinin korelasyon katsayısı ve istatistiksel anlamlılıkları

	R	P
PTZ(sn)	0.844	<0.001
APTT(sn)	0.737	<0.001
INR	0.842	<0.001

Tablo 3. CLIA $\pm 15\%$ total izin verilebilir hata sınırlarına göre CoA Data cihaz verilerinin referans kabul edilen Sysmex CS-2000i/CS-2100i cihazına göre karşılaştırması

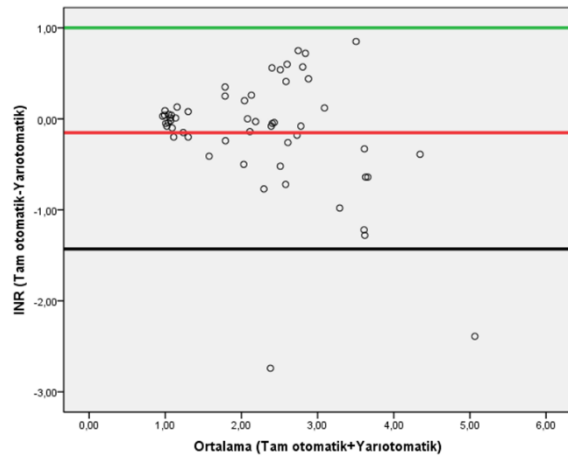
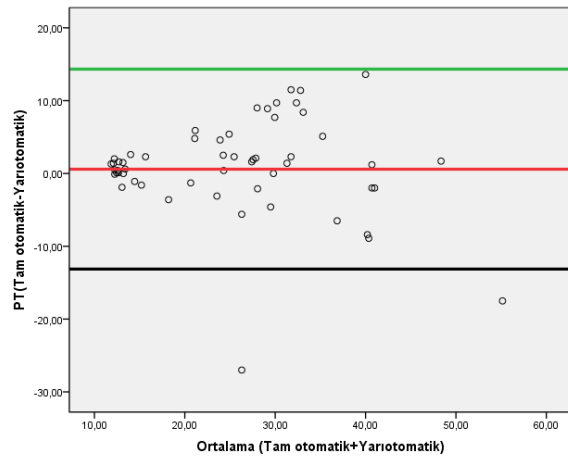
	TE _A , %	Sysmex CS-2000i/CS-2100i (Clin.Low-Clin.Up)	CoA Data 4004
PTZ (Mean) (sn)	± 15	25,95* (22,06-29,74)	25,03
APTT (Mean) (sn)	± 15	34,62* (31,427-39,813)	32,32
INR (Median)	-	2,17*	2,24

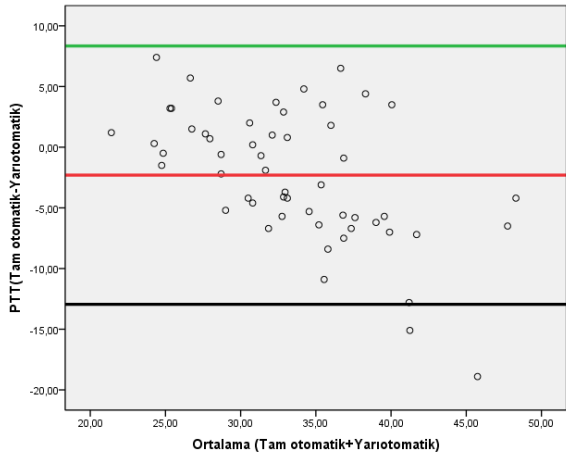
TE_A: Total izin verilebilir hata. TE_AClin.Low: klinik olarak önemsiz farklılık düşük limiti ve Clin.Up: klinik olarak önemsiz farklılık teşkil eden üst limit *http://www.westgard.com/biodatabase_2014-update.htm (6)

Tablo 4. INR sonucunun dış kalite değerlendirme sonucuna göre hesaplan kabul edilebilir bias değeri ile otomatize cihaza göre biasın karşılaştırması

	Sysmex CS-2000i/CS-2100i	CoA Data 4004	Ortalama bias (%)	Kabul edilebilir bias(%)*
INR	2,17(0,98-4,15)	2,24(0,95-6,26)	3,22	3,38

*Dış kalite değerlendirme raporlarından alınan bias değeri





Şekil 1. İki yöntem ile çalışılan PTZ, APTT ve INR testlerinin Bland-Altman Grafikleri

Kromojenik pıhtı oluşum ilkesine bağlı mekanik ölçüm kullanan yarı otomatize cihaz ile foto-optik pıhtıyı türbiditye dayalı ölçen tam otomatize cihaz arasında uyum saptanmıştır. Tekkesin ve arkadaşlarının bizim çalışmamıza benzer tasarladıkları çalışmada PTZ testi için $r=0,97$ ve PTT testi için ise $r=0,85$ olarak hesaplamışlardır (6). Yine foto-optik ve elektromekanik pıhtı saptama yöntemlerini 45 günlük bir periyotta 2000 örnek hacminde gerçekleştiren Bai ve arkadaşları (7) PTZ ve APTT testleri için r korelasyon katsayısını 0,99 hesaplamışlardır. Çalışmamızda yöntemler arası uyumun diğer çalışmalara göre daha düşük olmasını çalışmamızın bir kısıtlılığı olan örneklerin yaklaşık 1 saat araç ile transfer edilmesine bağlayabileceğimizi düşündük.

Her ne kadar ısı kontrollü ve ışık görmeyen transfer kaplarında örneklerin taşınması sağlansa da sürenin testler üzerine olumsuz etki yaratabileceğini öngördük. Öte yandan, Ergin ve arkadaşlarının transportun koagülyasyon testleri üzerinde yarattığı etkiyi tartışan çalışmalarında santrifüjü yapılmayarak taşınan örneklerde mekanik aglütinasyon nedeni ile olumsuz etkilendiğini öne sürmüşlerdir. Biz de çalışmamızda örneklerin mutlaka santrifüj edilerek taşınmasına hatta farklı tüplerden kaynaklı interferansın önüne geçilmesi için aynı tüpten analizine dikkat edilmiştir (8).

Çalışmamıza lipemik, ikterik ve hemolizli örnekleri dahil etmeyerek iki yöntem arasında interferansa yol açabilecek etmenleri çalışmanın başında dışlama kriteri olarak kabul ettik. Aggarwal ve arkadaşları yaptıkları çalışmada iki yöntem arasındaki uyumsuzluğun en büyük sebebinin örneklerdeki interferansların olabileceğini ortaya koymuşlardır (9).

Çalışmamızda bir diğer kontrolü zor olan süreç ise örneklerin yarı-otomatize cihaz için ön işlem basamağına tabi tutulması idi. PTZ testi için pipetlenen plazma 60 saniye boyunca cihazda bir kuvvet içine pipetlenerek sonrasında rekombinan tromboplastin ile karıştırılarak, reaksiyon

sonuçlanması beklenmektedir. APTT testi için ise 2 basamaklı sıvı fosfolipit reaktifi ve kalsiyum klorür kimyasalı pipetleme işleminin ardından 60 saniye inkübasyon basamağı bulunmaktadır. Kullanıcının pipetleme hatalarının, sonuçlarda oluşan farklılığın nedeni olabileceğini düşündük.

Literatürde otomatize koagülyasyon sistemlerine ait birçok karşılaştırma çalışması bulunmaktadır (5, 10). Çalışmamızın, daha az sayıda ratlanan otomatize yarı otomatize sistemlerin karşılaştırmasına örnek teşkil edeceğini, küçük ölçekli laboratuvarlarda kullanılan yarı otomatize sistemlerin performansını değerlendirmede bir kaldırım taşı olabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Memişoğulları R., "Tıbbi Cihaz ve Malzeme Alımında Şartname Hazırlama ve İhale Süreci," Düzce Tıp Fakültesi Derg., 2008;2,45-50
2. Smythe M. A., Priziola J., Dobesh P. P., Wirth D., Cuker A., and Wittkowsky A. K., "Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism," J. Thromb. Thrombolysis, 2016;41(1)165-186
3. Kaserer A., Casutt M., Sprengel K., Seifert B., Spahn D. R., and Stein P., "Comparison of two different coagulation algorithms on the use of allogenic blood products and coagulation factors in severely injured trauma patients: A retrospective, multicentre, observational study," Scand. J. Trauma. Resusc. Emerg. Med., 2018;26(1)1-9
4. A. Mina, E. J. Favaloro, and J. Koutts, "Relationship between short activated partial thromboplastin times, thrombin generation, procoagulant factors and procoagulant phospholipid activity," Blood Coagul. Fibrinolysis, 2012;23(3):203-207
5. Rathod N., Nair S., Mammen J., and Singh S., "A comparison study of routine coagulation screening tests (PT and APTT) by three automated coagulation analyzers," Int. J. Med. Sci. Public Heal., 2016(5)8:1563
6. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, et al. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biological variation, http://www.westgard.com/biodatabase_2014-update.htm
7. Tekkesin N. and Kilinc C., "Optical and Mechanical Clot Detection Methodologies: A Comparison Study for Routine Coagulation Testing," J. Clin. Lab. Anal., 2012;(26)3: 125-129
8. Bai B., Christie D. J., Gorman R. T., and Wu J. R., "Comparison of optical and mechanical clot detection for routine coagulation testing in a large volume clinical laboratory," Blood Coagul. Fibrinolysis, 2008;19(6)569-576
9. Ergin M., Erdogan S., Akturk O., and Erel O., "The effects of transport by car on coagulation tests," Clin. Chem. Lab. Med., 2017;55(12)1943-1947
10. Aggarwal S., Nayak D. M., and Manohar C., "Discrepancy in Optical & Mechanical Method in Coagulation Tests in a Turbid Sample," Indian J. Hematol. Blood Transfus., 2014;(30)402-404
11. Hur et al., "Comparison of international normalized ratio measurement between coaguchek XS plus and STA-R coagulation analyzers," Biomed Res. Int., 2013 <http://dx.doi.org/10.1155/2013/213109>