

Erken Membran Ruptürü Tanısında Altest™ ve Amnisure™ Adlı Tanı Kitlerinin Karşılaştırılması

Gazi Yıldırım, Rukset Attar, Cem Fıçıoğlu, Ateş Karateke, Narter Yeşildağlar

Yeditepe Üniversitesi Hastanesi, Kadın Hastalıkları Ve Doğum A. D. İstanbul

Adres: Barbaros Mah. Dereboyu Cad. Up Hill Court Sitesi. B-b4. Daire: 109. Kadıköy 34746 İSTANBUL - Türkiye

Tel: 02165784200 Cep: 05324301513 e-mail: gaziyildirim@gmail.com

ÖZET:

Amaçlar: EMR şüphesi olan vakalarda hızlı, güvenilir bir metot saptayabilmek için; vajinal sıvıdaki PAMG-1 tayinine dayanan Amnisure™ kiti ile nitrazin testi esasına dayanan Altest™ kiti karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya kadın doğum bölümüne su gelmesi şüphesi ile başvuran 21-38 hafta arasındaki 50 gebe dahil edildi. Hastalara önce Altest™ kiti verildi.. Sonra hasta muayene masasına yatırılarak spekulum uygulamaksızın Amnisure™ testi uygulandı. Sonuçları pozitif olanlara spekulum uygulanarak pooling değerlendirildi. Her hastanın amniyotik sıvı volumleri dört kadran ölçülerek kaydedildi.

Bulgular: Altest™ in sensitivitesi %83.3, spesifisitesi %65.9 olarak hesaplandı. Altest™ in gerçek pozitiflik oranı %25, yalancı pozitiflik oranı ise %75 idi. Buna karşın Altest™ in gerçek negatiflik oranı %96.7, yalancı negatiflik oranı ise %0.3 olarak bulundu. Amnisure™ sensitivitesi %83.4, spesifisitesi %97.8 olarak hesaplandı. Amnisure™'un gerçek pozitiflik oranı %83, yalancı pozitiflik oranı ise %0.2 idi. Buna karşın Amnisure™'un gerçek negatiflik oranı %97.7, yalancı negatiflik oranı ise %0.2 olarak bulundu.

Sonuçlar: Amnisure™ kiti erken membran ruptürü tanısında daha güvenilirdir.

Anahtar Kelimeler: Erken membran ruptürü, nitrazin, PAMG-1, Altest, Amnisure

SUMMARY:

The comparison of Amnisure™ and Altest™ in the detection of the Premature Rupture of Membranes.

Objectives: Amnisure™ (based on the existense of PAMG-1 in vaginal fluid) and Altest™ (based on the nitrasin test) were compared to detect a reliable, sensitive and quick test for the detection of the premature rupture of membranes in pregnancy.

Material and Methods: Fifty pregnant patients between 21-38 weeks who has a suspicion for the fluid leakage were enrolled to the study. Altest™ and then Amnisure™ were applied. A sterile speculum examination and pooling were evaluated for the positive results. Amniotic volumes were calculated four quadrent with obstetric ultrasound.

Results: The sensitivity and spesifisity for Altest™ were 83.3% and 65.9% respectively. Altest™ had 25% true positivity and 75% false positivity rate. However, Altest™ had 96.7% true negativity and %0.3 false negativity rates. The sensitivity and spesifisity for Amnisure™ were 83.4% and 97.8% respectively. Amnisure™ had 83% true positivity and 0.2% false positivity rate. However, Amnisure™ had 97.7% true negativity and %0.2 false negativity rates.

Conclusions: Amnisure™ is more reliable in the detection of the premature rupture of membranes in pregnancy.

Key words: Premature rupture of membranes,

GİRİŞ

Erken membran ruptürü (EMR); amniyon kesesinin doğum henüz başlamadan yırtılması ve suların gelmeye başlamasıdır. Erken membran ruptürü tüm doğumların yaklaşık olarak %10'unda görülür (1). Prematürite, kordon prolapsusu, hipoksi, infeksiyon gibi fetüse ait risklerin yanı sıra artmış sezeryan oranı, koryodesidual infeksiyon gibi anneye

ait risklerde sebep olabilen ciddi bir obstetrik problemdir (2). EMR'li hastaların teşhisindeki eksiklik gerekli obstetrik önlemleri almayı engellemektedir. Tam tersi şekilde membran ruptürünün yanlış teşhisi de hastaneye yatırma ve doğumun indüklenmesi gibi yanlış sonuçlara yol açmaktadır (2). Bu nedenle hastalığın zamanında ve doğru teşhisi klinisyen için çok

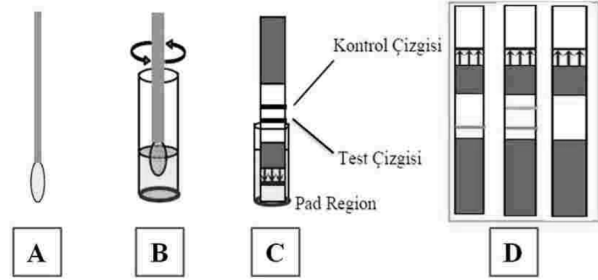
önemlidir. Çünkü EMR ve prematür EMR'li olgularda maternal ve neonatal ciddi sonuçlar olabilir. Bununla beraber EMR doğru teşhisi obstetrikte halen sık görülen ciddi bir problemdir. Günümüzde EMR tanısında non invaziv, altın standart bir tanı yöntemi mevcut değildir. Şu anda kullanılan tanı yöntemleri kesin değildir ve aşırı ayrıntılı muayene gerektirmektedir. Tanı çoğu vakada hikâye, fizik muayene, fern testi, nitrazin testi gibi geleneksel testlerin kombinasyonu ile konur (3). EMR tanısındaki gecikme obstetrik girişimlerin ertelenmesine ve fetal maternal morbiditenin artmasına neden olabilir. Benzer şekilde yanlış tanı koyma da, hospitalizasyon, erken doğurtma gibi gereksiz müdahalelerin yapılmasını tetikleyebilir. Bu nedenle EMR nin doğru saptanması hala obstetride büyük dilemmalardan biri olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, geleneksel metotlar ile tanı konamayan EMR şüphesi olan vakalarda hızlı, güvenilir bir metot saptayabilmek için; vajinal sıvıdaki PAMG-1 tayinine dayanan AmnisureTM kiti ile nitrazin testi esasına dayanan AltestTM kiti karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE METODLAR

Çalışmaya hastanemiz kadın doğum bölümüne su gelmesi şüphesi ile başvuran 21-38 hafta arasındaki 50 gebe dahil edildi. Tüm hastalara test kitleri hakkında bilgi verildi ve gerekliliği anlatıldıktan sonra onamları alındı. Kanaması olan veya 20 haftadan küçük hamileliği olan gebeler çalışmaya alınmadı. Hastalara önce AltestTM kiti verildi. Bu ped şeklinde olup iç çamaşırına yerleştirilen ped içindeki sarı bir şeritten oluşan bir test kitidir. Gebelere bu kiti ped gibi uyguladıktan sonra 20 dakika boyunca merdiven inmek ve çıkmak dahil, hafif yürüyüş, oturma ve kalkma gibi normal günlük aktivitelerini yerine getirmesi söylendi. Bu süre sonunda bu konuda deneyimli bir ebe tarafından sarı şerit değerlendirildi. Sarı şeritte yeşil renk değişikliği saptandığında AltestTM pozitif olarak değerlendirildi. Sarı şerit renk değiştirmemişse test sonucu negatif olarak kabul edildi. Sonra hasta muayene masasına yatırılarak spekulum uygulamaksızın AmnisureTM testi uygulandı. AltestTM veya AmnisureTM sonuçları pozitif olanlara spekulum uygulanarak pooling değerlendirildi. Her

hastanın amniyotik sıvı volumleri dört kadran ölçülerek kaydedildi. AmniSure[®] ROM (Rupture of Membranes) testi hamile kadınların vajinal salgılarındaki amniotik sıvının in vitro tespiti için kullanılan hızlı, alet gerektirmeyen immuno-kromatografik bir testtir (1). Test günümüzde EMR teshisinde rutin olarak kullanılan spekulum incelemesi gerektirmez. Amniotik sıvının numunesi (vajital pamuklu çubuk ile alınarak) içinde solvent bulunan küçük bir siseye yerleştirilir. Solvent bir dakikada numuneyi pamuklu çubuktan çıkarır, sonra çubuk atılır. Daha sonra AmniSure[®] Test Seridi test tüpünün içine daldırılır. Numune maddesi daldırılan çubugun pad bölgesinden test bölgesine akar. Test sonucu sonraki 5-10 dakika sonrasında görsel olarak bir veya iki çizginin belirmesiyle okunur (**Şekil 1**).

Şekil 1: AmnisureTM Kitinin uygulanması. **A.** Pamuklu çubuk vaginada spekulum uygulamaksızın 1-2 dk tutulur. **B.** Sonra solusyonu içinde 1-2- dk çevrilerak bekletilir ve çıkarılıp atılır. **C.** Tets şeridi pad tarafı solusyon içine sokulacak şekilde sıvıya daldırılır ve 5-10 dk içinde tets okunur. **D.** Testin yorumlanması; **Tek çizgi:** EMR yok, **İki çizgi:** EMR var, **Çizgi yok:** test kiti bozuk.



Biz de hastalarımıza bu kiti uyguladık ve test sonucunu belirledik. Çalışmanın sonuçlarını değerlendirmek için SPSS 11.5 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı. Sensitivite, spesifisite ve diğer hesaplamalar için web sayfasındaki “clinical calculator” hesaplayıcısı kullanıldı. $P \leq 3f0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

50 gebe çalışmada değerlendirildi. Başvuran gebelere öncelikle rutin obstetrik ultrasonografi yapıldı. 30 hafta ve üzerinde olan gebeler elektronik fetal monitorizasyona bağlandılar. Sonra EMR şikayetlerine yönelik muayenelere geçildi. Tüm vakaların başvuru anındaki ortalama gebelik haftaları 31.2 ± 5.4 hafta idi. Ortalama doğum haftaları ise 36.1 ± 2.7

olarak bulundu. EMR tanısı alan gebelerin ortalama başvuru haftası 32.0 ± 5.4 , ortalama doğum haftası ise 33.2 ± 4.3 idi. EMR tanısı dışlanan gebelerin başvuru anındaki gebelik haftası 31.7 ± 5.5 iken doğum haftası 36.4 ± 2.4 olarak saptandı. Testlerinde EMR tanısı alanlara spekulum uygulandı, pooling muayenesi yapıldı. Ultrasonografi ile amniyotik sıvının volumu hesaplandı. Buna göre gerçekten EMR olarak değerlendirilecek olan gebe sayısının 6 olduğu görüldü. EMR şüphesi ile başvuran ve AltestTM negatif olan 30 hastanın 1 tanesinde gerçekten EMR olduğu gözlemlendi. AltestTM pozitif olan 20 hastanın ise sadece 5 tanesinde gerçekten EMR saptandı (**Tablo 1**).

Tablo 1: AltestTM sonuçlarının karşılaştırılması

		EMR		p
		Negatif	Pozitif	
ALTEST	Negatif (n, %)	29 (%96.7)	1 (%0.3)	0.004
	Pozitif (n, %)	15 (%75)	5 (%25)	

Buna göre AltestTM in sensitivitesi %83.3, spesifisitesi %65.9 olarak hesaplandı. AltestTM in gerçek pozitiflik oranı %25, yalancı pozitiflik oranı ise %75 idi. Buna karşın AltestTM in gerçek negatiflik oranı %96.7, yalancı negatiflik oranı ise %0.3 olarak bulundu. EMR şüphesi ile başvuran ve AmnisureTM negatif olan 44 hastanın sadece 1 tanesinde gerçekten EMR olduğu gözlemlendi. AmnisureTM pozitif olan 6 hastanın ise 5 tanesinde gerçekten EMR saptandı (**Tablo 2**). Buna göre AmnisureTM sensitivitesi %83.4, spesifisitesi %97.8 olarak hesaplandı. AmnisureTM un gerçek pozitiflik oranı %83, yalancı pozitiflik oranı ise %0.2 idi. Buna karşın AmnisureTM un gerçek negatiflik oranı %97.7, yalancı negatiflik oranı ise %0.2 olarak bulundu.

Tablo 2: AmnisureTM sonuçlarının karşılaştırılması

		EMR		p
		Negatif	Pozitif	
AMNISURE	Negatif (n, %)	43 (%97.8)	1 (%0.2)	0.004
	Pozitif (n, %)	1 (%16.7)	5 (%83.3)	

TARTIŞMA

Mevcut tanı yöntemlerinden olan nitrazin (pH) testi, amnios sıvısının göllenmesi (pooling) ve mikroskopik fern testi güvenilirlikten uzaktır ve membran rüptürü oluşuktan sonra geçen

zaman içinde kademeli şekilde daha az kesinliği vardır. Uzamış EMR olgularında, bu testler basit bir klinik değerlendirmeden daha değerli değildir (4). Fern Testi hastaların %5-30'unda yanlış pozitif sonuç vermektedir; bu sonuç da lamdaki parmak izi kontaminasyonu, semen veya servikal mukusla bulaşmayla açıklanmaktadır (5). Yanlış negatif sonuçlara da (%5-12) örnek alınan çubuğun kuru olması, kanla kontaminasyon ve ani amniyon boşalmasının sebep olduğu düşünülmektedir (6). Doğum eyleminde olmayan grupta sensitivite %51.4 ve spesifisite %70.8 bulunmuştur. Nitrazin değerlendirmesinde de; servisitisi, vajinitisi (bakteriyel vajinozis veya trichomonas), alkali idrar, kan, semen ve antiseptiklere bağlı %17.4'e kadar çıkan oranlarda yanlış pozitif sonuçlar görülmektedir (7). Nitrazin ile ayrıca ciddi oranda (%12.9) yanlış negatif sonuç da görülebilmektedir. Sensitivitesi %90.7 ve spesifisitesi %77.2 olarak rapor edilmiştir (8). Membran rüptürü tanısında non invaziv altın standart bir tanı yöntemi olmaması biyokimyasal markerların kullanıldığı çok sayıda test ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Alfa fetoprotein (AFP), vajinal prolaktin, fetal fibronektin ve insülin-like growth faktör bağlayıcı protein-1 (Actim PROM) immunoassay testleri altın standart olabilmek için gerekli netlik ve non invazivliği oluşturmakta başarısız olmuştur (9). Plasental Alfa mikroglobulin-1 (PAMG-1)'in amniyon sıvısında yüksek konsantrasyonda bulunması, kandaki konsantrasyonunun düşük olması, fetal membranlar sağlam iken servikovajinal sıvıdaki konsantrasyonunun çok düşük olması gibi nedenlerle EMR teşhisinde kullanılması amaçlanmıştır (1). AmniSure ROM testi hamile kadınların amniotik sıvılarında bulunan PAMG-1 (Plasental α 1- mikroglobulin) proteinini tespit etmede immunokromatografi ilkelerini kullanır (1). Fetal membran bozulmadığı sürece amniotik sıvıdaki yüksek seviyesi kandaki düşük seviyesi ve serviko-vajinal salgılar içindeki asırı düşük arka plan seviyesi (50-220 picogram/ml) sebebiyle Plasental Mikroglobulin fetal membran yırtığının isaretleyicisi olarak seçilmiştir. Test fetal membranın yırtılması sonrasında serviko-vajinal salgı içinde asgari miktarında bulunan proteini bile tespit eden yüksek duyarlılıktaki monoklonal antikorları kullanır. Test prosedürü esnasında, numunedeki

Plasental Mikroglobulin ardıl olarak isaret paçalarıyla çekilen monoclonal antikora bağlanır (A-Mab) ve sonra çözülmez taşıyıcı üzerinde duraganlaşan bir başka monoclonal antikora (B-Mab) bağlanır. A-Mablar Yastık Bölgesindeki PAMG-1 ile temas ettiğinde, PAMG-1'i "yakalar" ve test bölgesine nakleder. Test çubugunun test bölgesi kendi üzerinde hareketsizlesen B-Mablara sahiptir. B-Mablar Pad Bölgesinden takip eden A-Mablara bağlı PAMG-1'ile bir araya gelirler. Bu "bir araya gelis" test bölgesinde görünür olan kahverengi/sarı Test Çizgisi oluşturan PAMG-1/A-Mabları sistemini duraganlaştırır. Bu çizgi antikorlarına bağlı altın boya ile oluşur ve fetal membran yırtığına isaret eder. İkinci kontrol çizgisi testin iyi bir şekilde fonksiyon gördüğünü göstermek üzere tasarlanmıştır. Amnisure™ testinin EMR tanısında neredeyse mükemmel sonuç verdiğini bildiren birçok çalışma yayınlanmıştır. Cousin ve ark.ları Amnisure™ için sensitiviteyi %98, spesifiteyi %100 olarak bildirmişlerdir (1). Yine Lee ve ark.ları da sadece Amnisure™ un klasik nitrazin, pooling ve Fern testlerine göre daha güvenilir olduğunu bildirmiştir (10). Biz de çalışmamızda PAMG-1 kullanan Amnisure™ kitinin EMR tanısında daha güvenilir olduğunu saptadık. Alttest™ e kıyaslandığında duyarlılık benzer oranlarda olmasına karşın özgüllüğün Amnisure™ da daha yüksek (%97.8 e karşın Alttest™ te %65.9) olduğunu saptadık. Yani hem Alttest™ hem de Amnisure™ da sonuç negatif çıktığında gerçekten negatif olma oranı yüksektir. Buna karşın Alttest™ pozitif çıktığında gerçekten pozitif olma oranı düşüktür (gerçek pozitiflik %25, yalancı pozitiflik %75). Halbuki Amnisure™ da test pozitif çıktığında sonucun gerçekten de pozitif olma ihtimali daha fazladır (gerçek pozitiflik %83, yalancı pozitiflik %0.2). Amnisure™ pozitif olmasına karşın zarların intakt olan durumlarda ise belki de mikroskopik sızıntılardan bahsedilebilir. Lee ve ark.ları travyda olan ve zarları intakt olan gebelerde yaptıkları çalışmaları, zarlar intakt olsa bile Amnisure™ testi pozitif çıkan grupta doğuma kadar geçen travay süresinin daha kısa olduğunu bulmuşlardır (11); Erdemoğlu ve Mungan (12) ise Amnisure™ pozitif olmasına karşın steril spekülum muayenesinde göllenme olmayan hastaların çoğunlukla 7 gün içinde doğumlarının

başladıklarını bildirmelerine karşın bizim çalışmamızda Amnisure™ sonucu pozitif olmasına karşın EMR olmayan 1 hastamızda doğumu normal zamanında yaptırdık. Buna zıt olarak Altets sonucu pozitif olmasına karşın EMR tanısı almayan 15 gebenin başvuru anındaki ortalama gebelik haftası 31.7 ± 5.5 iken, ortalama doğum zamanı da 36.4 ± 2.4 hafta ile uyumlu idi.

Sonuç olarak günümüzde EMR tanısı hala sıkıntılı bir basamak olmaya devam etmektedir. Sonuçlarımızı ve literatüre baktığımızda Amnisure™ testinin şu an kullanılan testler arasında en güvenilir yöntem olduğunu söyleyebiliriz. Daha kesin sonuçlar için daha büyük randomize kontrollü serilere ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Cousins LM, Smok DP, Lovett SM, Poeltler SM. AmniSure Placental Alpha Microglobulin-1 Rapid Immunoassay versus Standard Diagnostic Methods for Detection of Rupture of Membranes. *Am J Perinatal* 2005;22(6):317-320.
2. Locwood CJ, Wein R, Chien D, Ghidini A, Alvarez M, Berkowitz RL. Fetal membrane rupture is presence of insulin-like growth factor binding protein-1 in vaginal secretions. *Am J Obstet Gynecol* 1994;71:146-150.
3. Rutanen EM, Karkkainen TH, Lehtovirta J, Uotia JT, Hinkula MK, Hartikainen AL. Evaluation of a rapid strip test for insulin-like growth factor binding protein-1 in the diagnosis of ruptured fetal membranes. *Clinica Chimica Acta* 1996;253:91-101.
4. Gorodeski IG, Haimowitz L, Bahari CM. Reevaluation of the pH, ferning and Nile blue sulphate staining methods in pregnant women with premature rupture of the fetal membranes. *J Perinat Med* 1982;10:286-92.
5. McGregor JA, Johnson S. "Fig-Leaf" ferning and positive nitrazine testing: semen as a cause of misdiagnosis of premature rupture of membranes (letter to the editor). *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:1142-1143.
6. Smith RP. A technique for the detection of rupture of the membranes: a review and preliminary report. *Obstet Gynecol* 1976;48:172-176.

7. Reece EA, Chervenak FA, Moya FR, Hobbins JC. Amniotic fluid arborization: effect of blood, meconium, and pH alterations. *Obstet Gynecol* 1984;64:248–250.

8. de Haan HH, Offermans PM, Smits F, Schouten HJ, Peeters LL. Value of the fern test to confirm or reject the diagnosis of ruptured membranes in modest in nonlaboring women presenting with nonspecific vaginal fluid loss. *Am J Perinatol* 1994;11:46–50.

9. Gaucherand P, Salle B, Sergeant P, et al. Comparative study of three vaginal markers of the premature rupture of membranes. Insulin like growth factor binding protein, 1 diamine-oxidase, and PH. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76:536–540.

10. Lee SE, Park JS, Norwitz ER, Kim KW, Park HS, Jun JK. Measurement of placental α -microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 2007;109:634–640.

11. Lee SM, Lee J, Seong HS, Lee SE, Park JS, Romero R, Yoon BH. The clinical significance of a positive Amnisure test in women with term labor with intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009 Apr;22(4):305-10.

12. Erdemoglu E, Mungan T. Significance of detecting insulin-like growth factor binding protein-1 in cervicovaginal secretions: comparison with nitrazine test and amniotic fluid volume assessment. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:622–626.