

■ Research Article

Farklı yöntem ve cihazlarda ölçülen prokalsitonin test performansının karşılaştırılması

Comparison of procalcitonin test performance measured in different methods and devices.

📧 Hatice Nur Halipçi Topsakal*, 📧 Bağnu Dündar

Istanbul Atlas University, Istanbul Türkiye

Öz

Amaç: Bu çalışmada prokalsitonin test performansının ayrı kit ve cihazlarda karşılaştırması incelenmiştir. Prokalsitonin (PCT), Kalsitoninin 116 amino asitten oluşan prohormonudur. Serumda PCT seviyelerindeki yükselmeler ciddi sepsis ve viral enfeksiyonlar ile ilişkilidir. Serumdaki PCT seviyesi genellikle bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda görülür, bu nedenle bakteriyel ve viral bulaşıcı hastalıkları ayırt etmek için güvenli bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. PCT' nin kantitatif ölçümünün sepsisin prognozunu değerlendirmeye ve antibiyotik başlatma ve sonlandırmaya rehberlik etmeye yardımcı olabileceği bilinmektedir. Serum PCT' nin kantitatif ölçümü için yöntemler esas olarak floresan, kemilüminesan ve elektrokemilüminesan immünoanaliz gibi yöntemleri içermektedir.

Gereç ve Yöntemler: Hastaneden alınan 40 hasta örneği Prokalsitonin ölçümü için toplandı ve etik kurul onayı alındı.

Prokalsitonin ölçümleri biyokimya laboratuvarında ARCHITECT ci4000 system (CMIA, Abbott Diagnostic) ile Autolumo A2000 Plus (CLIA, Autobio Diagnostic) sistem cihazlarda ardışık olarak yapıldı. Yöntem karşılaştırma çalışmaları Clinical Laboratory Standards Institute tarafından yayımlanan National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'in EP15-A2 protokolüne göre gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmamızda hasta örneklerinin prokalsitonin konsantrasyonları 0,01-53,1 ng/ml arasındaydı. Hasta sonuçlarının her iki cihaz için ortalama ve standart sapma değerleri $X=7,71\pm 1,22$ ve $Y=8,4\pm 1,32$ idi. Her iki yöntem ile ölçülen hasta sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmedi ($p>0,05$).

Sonuç: Prokalsitonin için her iki cihazda da ölçüm sonuçlarının korelasyonunu inceledik ve sonuçların birbiriyile korele olduğunu tespit ettik.

Anahtar kelimeler: Prokalsitonin, kemilüminesan immunassay, CLIA, analitik performans

Corresponding Author*: Hatice Nur Halipçi Topsakal, Istanbul Atlas University Vocational School, Medical Laboratory Techniques Program . Istanbul, Türkiye.

E-mail: hatice.topsakal@atlas.edu.tr

Orcid: 0000-0003-3158-2165

Doi: 10.18663/tjcl.1333344

Received: 28.08.2023 Accepted: 07.11.2023

Abstract

Aim: In this study, the comparison of procalcitonin test performance in different kits and devices was examined. Procalcitonin (PCT) is the prohormone of Calcitonin, consisting of 116 amino acids. Elevations in PCT levels in serum are associated with severe sepsis and viral infections. PCT level in serum is often observed in patients with bacterial infection, so it is used as a safe biomarker to distinguish bacterial and viral infectious diseases. It is known that quantitative measurement of PCT can help assess the prognosis of sepsis and guide antibiotic initiation and discontinuation. Methods for quantitative measurement of serum PCT mainly include methods such as fluorescent, chemiluminescent and electrochemiluminescent immunoassay.

Material and Methods: 40 patient samples collected from the patients were collected for procalcitonin measurement and ethics committee approval was obtained.

Procalcitonin measurements were made consecutively in the biochemistry laboratory on ARCHITECT ci4000 system (CMIA, Abbott Diagnostic) and Autolumo A2000 Plus (CLIA, Autobio Diagnostic) system devices. Method comparison studies were carried out according to the EP15-A2 protocol of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) published by the Clinical Laboratory Standards Institute.

Findings: In our study, procalcitonin concentrations of patient samples were between 0.01-53.1 ng/ml. The mean and standard deviation values of patient results for both devices were $X=7.71\pm 1.22$ and $Y=8.4\pm 1.32$. When patient results measured by both methods were compared, no statistically significant difference was obtained ($p>0.05$).

Results: We examined the correlation of measurement results for procalcitonin in both devices and found that the results were correlated with each other.

Keywords: procalcitonin, chemiluminescent immunoassay, CLIA, analytical performance

Giriş

Prokalsitonin (PCT) 116 amino asitten oluşan prohormondur. Sepsis ve solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılan geçerli bir prognostik biyobelirteçtir [1]. Serumdaki PCT seviyesi genellikle ciddi bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda yükselir. Viral enfeksiyonlarda plazma PCT düzeyinde önemli bir artış olmaz. Bu nedenle plazma PCT ölçümü bakteriyel enfeksiyon ve viral enfeksiyonların ayırt edilmesinde kullanılır [2]. Ayrıca PCT ölçümünün antibiyotik tedavisine başlama ve sonlandırmaya rehberlik etme konusunda da fikir vermektedir [3]. PCT'nin önemli bir prognostik belirteç olması, doğru analitik yöntemlerle ölçülmesi gerektiğini göstermektedir [4]. Serum PCT'nin kantitatif ölçümü için yöntemler esas olarak floresan, kemilüminesan ve elektrokemilüminesan immünoanaliz yöntemleridir [5]. Analiz sonuçlarının farklı laboratuvarlar arasında karşılaştırılabilir olması gerekmektedir. Günümüzdeki tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon bakımından önemli eksiklikleri vardır [6]. Hem uygulanan test ve kit sayısı az hem de cihazların karşılaştırılmasıyla ilgili prensibler benzerdir [7].

PCT'nin miktarının belirlenmesi için şu anda mevcut olan tüm analizler immünolojik test tekniklerine dayanmaktadır. Ticari olarak ilk mevcut PCT testi BRAHMS PCT LIA® (Thermo Fisher, Hennigsdorf, Almanya), manuel bir luminometrik immünolojik tahlildir. Daha hassas ve hızlı bir otomatik analiz olan

BRAHMS PCT Kryptor® (Thermo Fisher, Hennigsdorf, Almanya) ise daha sonra geliştirildi ve ilk defa şiddetli sepsis tanısında kullanılmak üzere 2008 yılında FDA tarafından onaylandı.

Prokalsitonin, sepsis gibi önemli enfeksiyon durumlarıyla ilişkilendirildiğinden çalışılan testlerin çeşitliliği, ekonomik olması ve altın standart olarak kabul edilen testlerle uyumlu sonuçlar vermesi oldukça önemlidir. Biz bu çalışmada ARCHITECT BRAHMS PCT kemilüminesan mikropartikül immünolojik yöntemeye dayalı analiz yapan ARCHITECT ci4000 system (CMIA, Abbott Diagnostic) marka cihaz ile PCT CLIA Microparticles ve Chemiluminescent microparticle immunoassay (CLIA Microparticles) yöntemi ile çalışan AutoLumo A2000 Plus marka cihazın PCT test performans sonuçlarını karşılaştırdık.

Gereç ve Yöntemler

Hasta Örneklerinin Toplanması ve Etik Kurul Onayı

Hastalardan alınan venöz kan numunelerinden elde edilen serum örnekleri hiç bekletilmeden her iki cihazla ölçüldü. Elde edilen sonuçlar MedCalc programına kaydedildi. Bu çalışma, Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak İstanbul Atlas Üniversitesi Etik Kurulu (No:E-22686390-050.99-26196) tarafından onaylandı. Bu çalışmada örneklerin kullanılmasından önce hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alındı.

Kemiluminesan İmmunoassay Sistem Testi

Prokalsitonin ölçümleri hastanemiz biyokimya laboratuvarında ARCHITECT ci4000 system (CMIA, Abbott Diagnostic) ile Autolumo A2000 Plus (CLIA, Autobio Diagnostic) system cihazlarda ardışık olarak yapıldı [8]. Yöntem karşılaştırma çalışmaları Clinical Laboratory Standards Institute tarafından yayımlanan National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'in EP15-A2 protokolüne göre gerçekleştirildi. Bu protokole, yöntem karşılaştırma için en az 40 olgu toplanması, bunların bir kısmının referans aralığın dışında olması ve çalışmanın en az beş günde yapılması önerilmektedir [9,4]. Bu öneriler doğrultusunda, çalışmamız

düşük ve yüksek düzey kontroller ile 40 hasta örneği kullanılarak 10 günde yapıldı. Bknz tablo 1 [10].

Çalışmaya başlamadan önce her iki cihaz kalibratörleri ile kalibre edildi. Çalışmamızın birinci aşamasında, düşük ve yüksek düzey kontrol çalışmaları yapıldı [11]. Çalışmamızın ikinci aşamasında, hastanemiz biyokimya laboratuvarına prokalsitonin ölçümü için gönderilen 40 hasta örneği çalışmaya dahil edildi. Pearson korelasyon analizi ve regresyon analizi yapıldı [12].

Bulgular

Çalışmamızda hasta örneklerinin prokalsitonin konsantrasyonları 0,01-53,1 ng/ml arasındaydı. Hasta sonuçlarının her iki cihaz için ortalama ve standart sapma değerleri $X=7,71\pm 1,22$ ve $Y=8,4\pm 1,32$ idi. Her iki yöntem ile ölçülen hasta sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmedi ($p>0,05$). (bknz tablo 2, ve tablo 3).

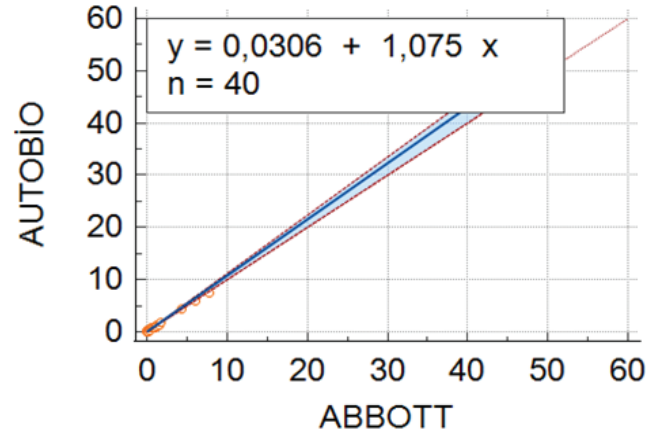
İki yöntem arasındaki korelasyon ($r =0,999$, $p<0,0001$) ve regresyon denklemi

($y =0,03+1,07x$) hesaplandı. Korelasyon katsayısı $r =0,999$ değeri iki cihaz arasında korelasyon olduğunu gösterdi (bknz şekil 1, ve şekil 2).

Tablo 1. Kullanılan reaktif=kit reaktiflerin özellikleri. RLU: relative light units B.R.A.H.M.S PCT-Q Instruction manual.

	ARCHITECT Brahms PCT, ci4000 system (CMIA, Abbott Diagnostic)	PCT CLIA Microparticles AutoLumo A2000 Plus
Test sayısı	100 ve 500 test sayısı seçenekleri	50x1, 50x2, 100x5 test sayısı seçenekleri
Prencip	İki adım-Sandviç	Tek adım-Sandviç
Sinyal	RLU	RLU
Örnek tipi	Serum, plazma	Serum, plazma
Örnek hacmi	100	25
Kalibrasyon sıklığı	30 gün	28 gün
Tayin sınırı (LoQ)	0.01 ng/mL	0.06 ng/mL
Taramada kısıtlama (LoD)	0.00 ng/mL	≤ 0.05 ng/mL
Ölçüm aralığı	0.02-100.00 ng/mL	0.03-100 ng/mL
Örnek dilusyonu	Otomatik, 1:10	Manuel, 1:25
Kalibratör ve integral stabilitesi	30 gün	28 gün
İlk sonuçların alınma süresi	15-20 dk arası	15-20 dk arası

Tablo 2. Passing ve Bablok regresyon tablosu, Veri setinin özeti		
X değişkeni		ABBOTT
Y değişkeni		AUTOBIO
Örneklem sayısı		40
	X değişkeni	Y değişkeni
En düşük değer	0,02000	0,01000
En yüksek değer	48,5600	53,1000
Aritmetik ortalama	2,0340	2,1708
Medyan	0,2450	0,3150
Standart sapma	7,7158	8,4008
Ortalamanın standart hatası	1,2200	1,3283
$y=0,0305660+1,075472x$		
Sistemik farklılıklar		
İntersept A	0,03057	
%95 CI	0,008667'ye 0.04500	
Proporsiyonel farklılıklar		
Slope B	1,0755	
%95 CI	1,000'e 1,1152	
Rastgele farklılıklar		
Rezidual Standart deviasyonlar	0,1852	
Lineer model geçerliliği	-0,3629'a 0,3629	

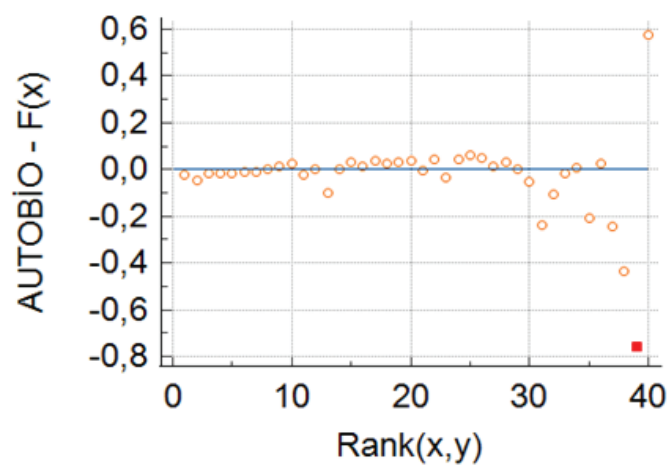


Şekil 2. Analiz sonuçları. Autobio ve Abbott cihazları arasındaki korelasyon.

Tartışma

Prokalsitonin ölçümünde en sık tercih edilen cihazlardan birinin Brahms reaktifıyla çalışan ARCHITECT ci4000 sistemi olduğu bilinmektedir. Araştırmamızın sonucuna göre hem ARCHITECT ci4000 hem de Autolumo A2000 Plus platformlarında PCT' nin belirlenmesi, duyarlılık ve özgüllük açısından iyi performans sunmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre iki analizörde de gerçekleştirilen testler arasında yüksek bir korelasyon bulunmaktadır. Ancak mevcut PCT'yi ölçmek için mevcut farklı yöntemlerin standardizasyon eksikliği karşılanmamış bir hedef olmaya devam etmektedir. Şu anda PCT kantitasyonu enzimatik, lüminometrik, kemilüminesans olarak belirlenmektedir [13]. Son yıllarda kısa sürede hızlılık ve kesinlik içeren sonuçlar elde edilmesi nedeniyle kemilüminesans yöntemler ile çalışan otoanalizörler laboratuvarlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Prokalsitonin ölçümünde de en sık Brahms reaktif ve kemilüminesans yöntem ile çalışan cihazlar tercih edilmektedir. Bu amaçla ARCHITECT ci4000 sistemi sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak Brahms PCT reaktifinin maliyeti yüksektir. Maliyetin yüksek olması laboratuvarları maliyeti düşük başka yöntem ve reaktifleri tercih etmeye zorlamaktadır. Buradan yola çıkarak yapmış olduğumuz cihaz ve yöntem karşılaştırmasında hem ARCHITECT ci4000 hem de Autolumo A2000 Plus PCT ölçümünde korelasyon olduğunu belirledik. Ayrıca Autolumo A2000 Plus cihazında PCT dışında farklı testler ve cihazlar ile karşılaştırma yapılmıştır. Farzami ve Aliasgharpour' nin yaptığı araştırmada aynı cihazda Prolaktin (PRL) ölçümü yapılmıştır. Laboratuvarların kendi ölçüm aralığını belirlemesi sonucuna varmışlardır. Prolaktin ölçümlerinin takibinde hep aynı cihaz

Tablo 3. Korelasyon eğrisi verileri	
Y değişkeni	Autobio
X değişkeni	Abbott
Örneklem Sayısı	40
Korelasyon katsayısı	0,9996
Anlamli olduğu seviye	P<0,0001
%95'lik güven aralığı	0,9992 den 0,9998



Şekil 1. Autobio ve Abbott cihazları arasındaki korelasyonu gösteren rezidüel çizelgesi.

ve reaktif kullanılması önerilmektedir. [14].

Bu bağlamda nihai laboratuvar raporlarında yöntem ve sistem tipinin belirtilmesi önemli hale gelir ve laboratuvar kalitenin yanı sıra laboratuvar talebinin klinik yönlerini de dikkate aldığı doğrular.

2015 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada Dipalo ve arkadaşları BRAHMS PCT Kryptor'un sonuçlarını dört farklı test düzeneğinde (DiaSorin Liaison, Vidas, Roche E601; Siemens Advia Centaur, ve Diazyme immünoturbidimetrik tahlili; Abbott Architect c16000, Siemens Advia 2400 üzerinde, Roche Cobas C501 ve Beckman Coulter AU5800) PCT ölçümünü karşılaştırdı. Sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Vidas, Advia Centaur, Architect, Cobas C501 ve AU5800 BRAHMS PCT Kryptor ile karşılaştırıldığında tatmin edici korelasyon katsayıları ($r = 0,899$ ve $0,988$) elde edilmiştir. Vidas dışındaki tüm yöntemler için ortalama sapma: $\pm 1,02 \mu\text{g/L}$ 'den az olduğu tespit edildi. Daha da önemlisi, ilgili üç PCT'de bakteriyel enfeksiyonlar için tanısal eşikler, diğer yöntemler ile BRAHMS PCT Kryptor arasında uyum gösterdi. Kullanılan reaktifler için optimum değerler: $0.50 \mu\text{g/L}$ 'de, 83–98% , $2.0 \mu\text{g/L}$ 'de 90–97%, ve $10 \mu\text{g/L}$ 'de 98% olarak kaydedildi.

ARCHITECT BRAHMS PCT yöntemi, PCT ile izlenen antibiyotik tedavisi ve bakteriyel enfeksiyonun ilk tanısı için, iyi kalitenin yanı sıra antibiyotik tedavisi ve bakteriyel enfeksiyonun ilk tanısı için, hem hassas hem de doğru sonuçlar sunan önemli bir bileşen yada kabul olmalı PCT ölçümleri sağlayabilir. Bununla birlikte, ticari olarak temin edilebilen diğer PCT belirleme testlerinde olduğu gibi, PCT seviyelerindeki artışın her zaman enfeksiyonla ilişkili olmadığı ve düşük PCT seviyelerinin enfeksiyonla ilişkili olmadığı göz önüne alındığında, sonuçların tıbbi öykü, fiziksel muayene ve mikrobiyolojik değerlendirme bağlamında da dikkatle yorumlanması gerekir. Pct ölçümü bakteriyel enfeksiyonu gösterir viral enfeksiyonu dışlar [15, 16, 17]. Bu nedenle, test sonuçları klinik son kararın yerini almamalı, sonuçlar daha iyi bir teşhis performansı elde etmek için daha geniş bir bağlama entegre edilmelidir [18].

Yazarların katkısı

Her iki yazar da makalenin içeriğine eşit katkıda bulunmuşlardır. İki yazar da gönderilen bu makalenin ve onaylanmış gönderimin tüm içeriğinin sorumluluğunu kabul etmişlerdir.

Finansal Destek

Bulunmamaktadır.

Çıkar Çatışmaları

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Kaynaklar

1. Becker KL, Snider R., Nylen, ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *Br J Pharmacol*, 2010; 159(2), 253-264. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00433.x>
2. Meisner M. Procalcitonin - Biochemistry and Clinical Diagnosis. 1st ed. Bremen: UNI-MED; 2010. ISBN 978-3-8374-1241-3
3. Mahmoud, S. A., El-Rayyes, A., Ahmed, S. S., & Attia, M. S. (2023). Procalcitonin assessment by using optical sensor terbium hydrochlorothiazide complex for early diagnosis of lung cancer. *Microchemical Journal*, 193. <https://doi.org/ARTN 10905110.1016/j.microc.2023.109051>
4. Sincan, S., Sincan, G., Karakose, M. N., Aksoz, Z., & Erdem, F. (2023). The Importance of Serum Procalcitonin and C-reactive Protein Levels in Patients with Lymphoma. *Meandros Medical and Dental Journal*, 24(2), 168-174. <https://doi.org/10.4274/meandros.galenos.2023.74317>
5. Mancini, N. (2015). Sepsis : diagnostic methods and protocols. Humana Press : Springer.
6. Galli, F., Bindo, F., Motos, A., Fernandez-Barat, L., Barbeta, E., Gabarrus, A., Ceccato, A., Bermejo-Martin, J. F., Ferrer, R., Riera, J., Penuelas, O., Lorente, J. A., de Gonzalo-Calvo, D., Menendez, R., Gonzalez, J., Misuraca, S., Palomeque, A., Amaya-Villar, R., Anon, J. M., . . . Inves, C. P. (2023). Procalcitonin and C-reactive protein to rule out early bacterial coinfection in COVID-19 critically ill patients. *Intensive Care Medicine*. <https://doi.org/10.1007/s00134-023-07161-1>
7. Dipalo, M., Gnocchi, C., Avanzini, P., Musa, R., Di Pietro, M., & Aloe, R. (2019). Comparison of Procalcitonin Assays on KRYPTOR and LIAISON((R)) XL Analyzers. *Diagnostics (Basel)*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/diagnostics9030094>
8. Eidizadeh, A., Asif, A. R., von Ahnen, N., Binder, L., & Schnelle, M. (2019). Differences in procalcitonin measurements between three BRAHMS-partnered immunoassays (Liaison, Elecsys and Architect). *Clin Chem Lab Med*, 57(9), e207-e210. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0916>

9. Eidizadeh, A., Wiederhold, M., Schnelle, M., & Binder, L. (2022). Comparison of a novel automated DiaSys procalcitonin immunoassay with four different BRAHMS-partnered immunoassays. *Pract Lab Med*, 30, e00274. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2022.e00274>
10. Liao, M. J., Zheng, J., Xu, Y., Qiu, Y. L., Xia, C., Zhong, Z. H., Liu, L. H., Liu, H. R., Liu, R. S., & Liang, S. Y. (2021). Development of magnetic particle-based chemiluminescence immunoassay for measurement of human procalcitonin in serum. *Journal of Immunological Methods*, 488. <https://doi.org/ARTN 11291310.1016/j.jim.2020.112913>
11. Essmann, L., Wirz, Y., Gregoriano, C., & Schuetz, P. (2023). One biomarker does not fit all: tailoring anti-infective therapy through utilization of procalcitonin and other specific biomarkers. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. <https://doi.org/10.1080/14737159.2023.2242782>
12. Liu, Y., Chen, F., Bao, L., & Hai, W. (2022). Construction of a non-enzymatic electrochemical sensor based on graphitic carbon nitride nanosheets for sensitive detection of procalcitonin. *RSC Adv*, 12(35), 22518-22525. <https://doi.org/10.1039/d2ra03650a>
13. Dipalo M, Guidoa L, Miccab G, Pittalisc S, Locatellid M, Mottad A, et al. Multicenter comparison of automated procalcitonin immunoassays. *Practical Lab Med* 2015;2:22-8.
14. Farzami and Aliasgharpour *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* (2017) Chemiluminescence systems; do all lead to same results in prolactin analysis? 16:24 DOI 10.1186/s40200-017-0305-7
15. Fortunato, A. A new sensitive automated assay for procalcitonin detection: LIAISONs BRAHMS PCTs II GEN. *Pract. Lab. Med.* 2016, 6, 1–7. [CrossRef] [PubMed]
16. B.R.A.H.M.S PCT-Q Instruction manual. <http://www.procalcitonin.com/pct-assays/pct-q-rapid.html> (Accessed 5 January 2023)
17. PCT CLIA Microparticles AutoLumo A2000 Plus Manual textbook. <https://en.autobio.com.cn/Product/productDetail/fid/63/cid/1/id/143.html> Accessed 5 January 2023
18. Lippi, G.; Cervellin, G.F. Procalcitonin for diagnosing and monitoring bacterial infections: For or against? *Clin. Chem. Lab. Med.* 2018, 56, 1193–1195. [CrossRef] [PubMed]