

D dimer ve Preanalitik Hata Kaynakları

Dr. Esra FIRAT OĐUZ

Ankara Numune Eđitim ve Arařtırma Hastanesi

Tıbbi Biyokimya Bۆlümü

**Türk Biyokimya Derneđi
Preanalitik Evre Sempozyumu**

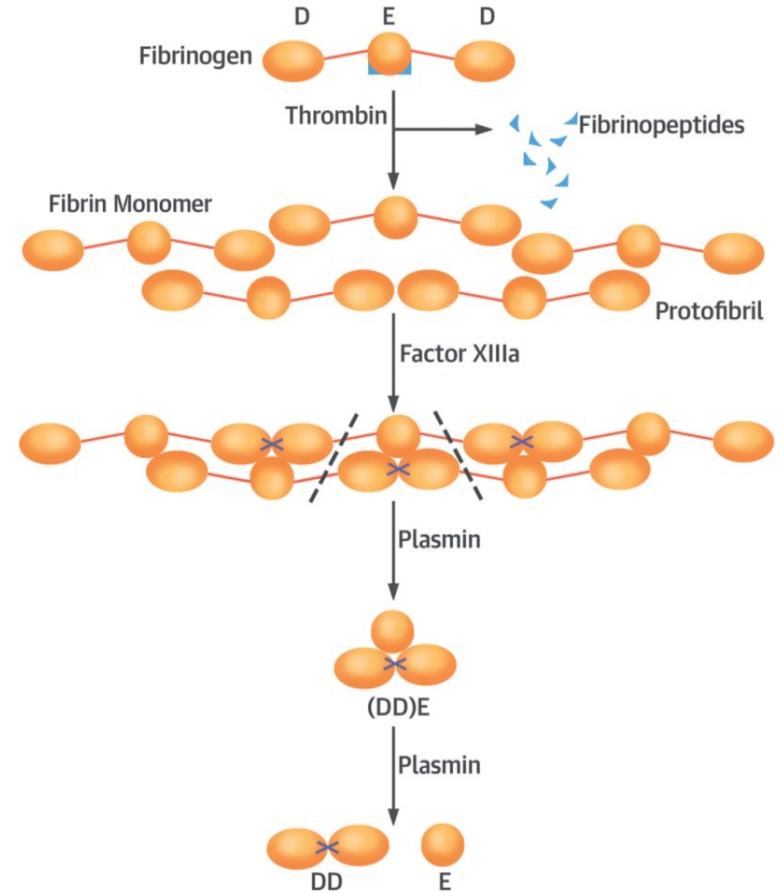
17 Nisan 2019

Ankara

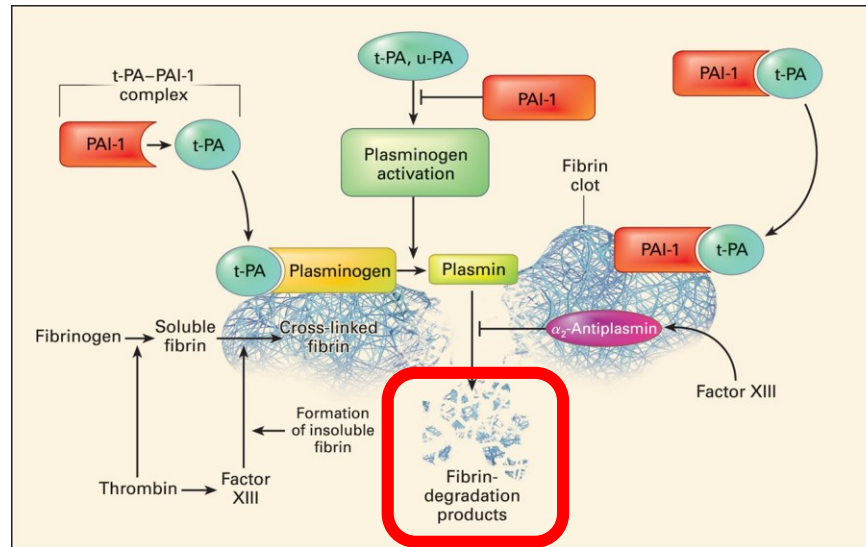
D dimer

2

- Hemostazda, pıhtılaşma sistemi tarafından vasküler hasara cevap olarak fibrin pıhtılarının oluşumu, pıhtılaşmanın fibrinolitik sistem tarafından parçalanması ile dengelenir.
- D-dimer, koagülasyon sisteminde oluşan fibrinojenin fibrinolitik sistem tarafından sıralı olarak parçalanmasından kaynaklanan bir fibrin yıkım ürünüdür.



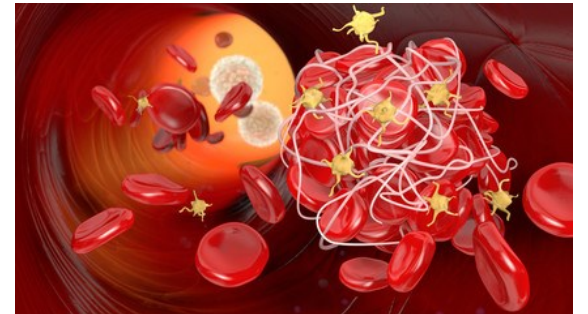
- Plazmin, fibrin yüzeyinde doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ile plazminojenden aktive edilir.
- Belirli bölgelerde fibrini ayırır ve fibrin yıkım ürünleri (FYÜ) açığa çıkar.



D dimer

4

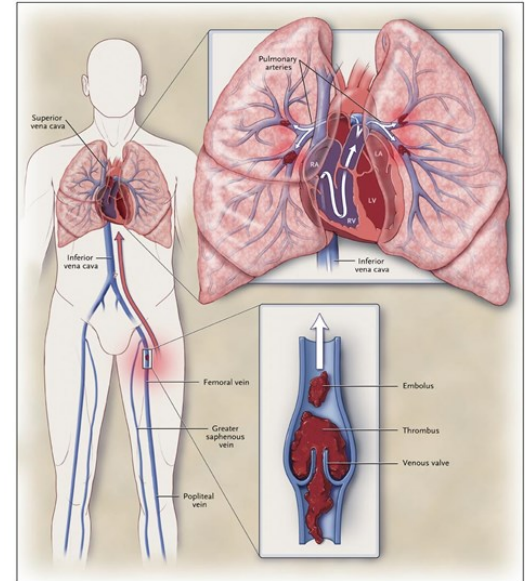
- D-dimer fragmanları temel olarak böbrekler ve retiküloendotelial sistem tarafından elimine edilirler.
- D-dimerin plazma yarı ömrü 8 saattir.
- Normal fizyolojik koşullarda, fibrinojenin yaklaşık % 2 - 3'ü anında fibrinolitik yolağa giren fibrine dönüştürülür. Bu nedenle, D dimer sağlıklı bireylerde de az miktarda bulunabilir ve ölçülebilir. Ayrıca yaşlanma ile düzeyleri artma eğilimindedir.



Klinik kullanım

5

- Derin ven trombozu
- Venöz tromboemboli
- Pulmoner tromboemboli
- DIC (Disseminated intravascular coagulation)
- Akut aort anevrizması
- Kalp yetmezliđi

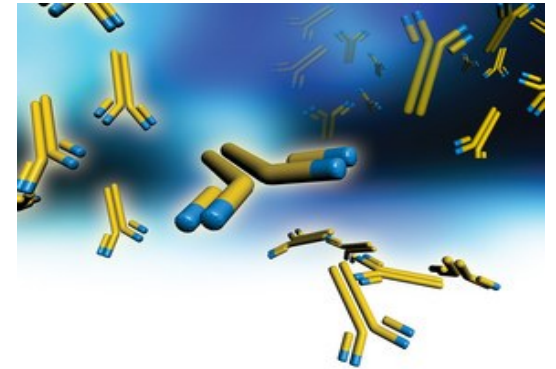


D dimer ölçüm yöntemleri

6

Çok sayıda ticari D-dimer ölçümü bulunmaktadır. Ancak temel olarak 3 kategoride incelenebilir:

1. Tam kan aglütinasyon yöntemi
2. Enzim bağlı immünosorbent veya immünofloresan yöntemi (ELISA ve ELFA)
3. Lateks aglütinasyon yöntemi



D dimer yöntemlerinin karşılaştırılması

7

	ELISA	ELFA	CLIA	Lateks bazlı immünotürbidimetrik	Tam Kan Aglütinasyon
Tipi	Kantitatif	Kantitatif	Kantitatif	Kantitatif	Kalitatif
TAT	2-4 saat	35-40 dk	25-40 dk	15 dk	2-5 dk
Avantajlar	Yüksek sensitivite Altın standart	Yüksek sensitivite Referans yöntem Tam otomatik Valide yöntem	Yüksek sensitivite Hızlı Tam otomatik	Yüksek sensitivite Hızlı Tam otomatik	Daha yüksek spesifite Daha hızlı Hasta başı
Dezavantajlar	Manuel Uzun süreli Orta spesifite	Orta spesifite	Orta spesifite Klinik validasyonu eksik	Orta Spesifite	Düşük sensitivite Kullanıcı bağımlı
Örnekler	Asserachrome (Stago) Enzygnosst (Dade Behring)	Vidas (bioMerieux)	AcuStar (Werfen) Immolute (Siemens)	Tina-quant (Roche) STA-Liatest (Stago) HemosIL HS (Werfen) Innovance (Dade-Behring)	SimpliRed (Agen) Clearview Simplify (Agen)

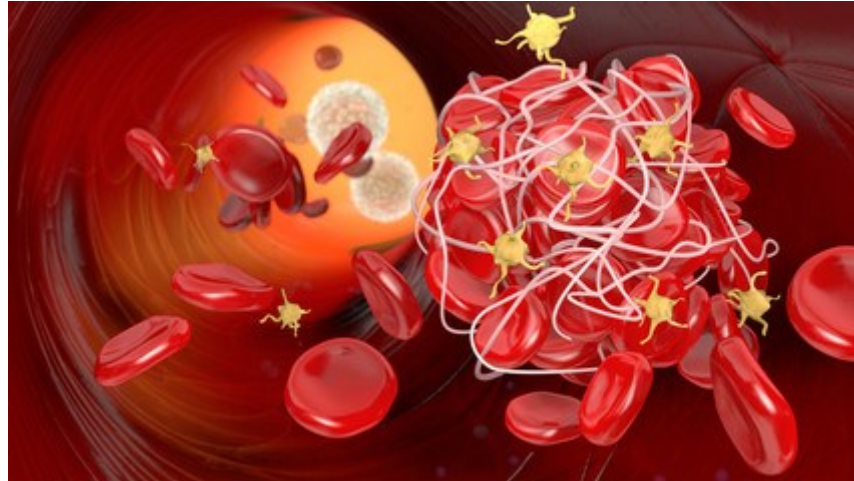
•Linkins LA, Takach Lapner S. Review of D-dimer testing: Good, Bad, and Ugly. Int J Lab Hematol. 2017 May;39 Suppl 1:98-103. doi: 10.1111/ijlh.12665.

•Di Nisio M, Squizzato A, Rutjes AW, Buller HR, Zwiderman AH, Bossuyt PM. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2007;5:296-304.

•Julien Favresse, Giuseppe Lippi, Pierre-Marie Roy, Bernard Chatelain, Hugues Jacqmin, Hugo ten Cate & François Mullier (2018) D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 55:8, 548-577.

Preanalitik Hata Kaynakları

8



Preanalitik faz

- ISO 15189:2012 (Medical laboratories-Requirements for quality and competence)' ya göre preanalitik faz;
“Klinisyenin test isteği ile başlayıp, hasta hazırlığı ve kimliklendirilmesi, örneklerin alınması, laboratuvara ve laboratuvar içinde taşınması ile devam eden ve analitik çalışma başladığında sona eren süreç” olarak tanımlanmaktadır.
- Preanalitik hatalar total test sürecindeki hataların yaklaşık olarak %60-70'ini oluşturmaktadır.

- Hemostaz laboratuvarlarında karşılaşılan çoğu hatanın preanalitik faz ile ilgili olduğu bilinmektedir.
- Preanalitik hata kaynakları üç ana kategoriye ayrılabilir:
 - ▣ Örnek alma(iğne büyüklüğü, kan alma tüpleri)
 - ▣ Örneklerin laboratuvara taşınması(pnömatik tüp sistemi (PTS), sıcaklık)
 - ▣ Örnek işleme (santrifüj, hemolizli numuneler)

Örnek alma

11

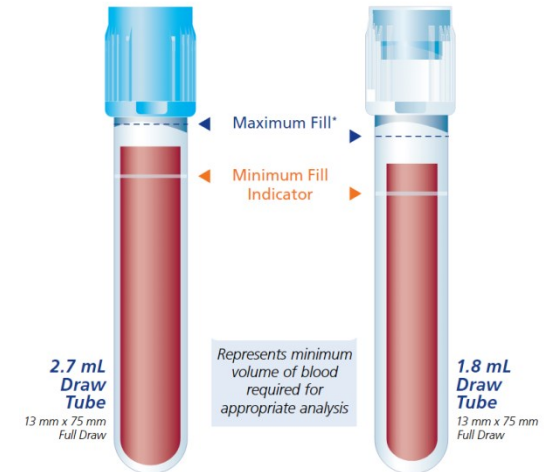
İğne çapları ve kelebek setler

- ❑ Genel olarak, kan alımında 19 ila 22 gauge (G) arasında değişen çapta düz iğnelerin kullanılması önerilmektedir.
- ❑ Kelebek setlerinin kullanımı genellikle tavsiye edilmez, çünkü trase boyunca kan geçişi potansiyel olarak hemostaz aktivasyonuna, pıhtı oluşumuna ve D dimer konsantrasyonlarının etkilenmesine neden olabilir.



Kan alma tüpleri/Antikoagülan

- ❑ CLSI ve WHO tarafından koagülasyon testlerinin büyük çoğunluğu için % 3.2 (105-109mmol / L) **sodyum sitrat** antikoagülan içeren kan alma tüplerinin kullanılması önerilmektedir.
- ❑ Sodyum sitrat antikoagülanı, sadece sıvı bir formda kullanılabildiğinden, 9/1 oranında bir kan-antikoagülan oranı önerilmektedir.



Kan alma tüpleri/Antikoagülan/Tüp materyali

- ❑ Serum ve heparinize/EDTA plazma örnekleri koagülasyon testleri için önerilmemektedir.
- ❑ Bununla birlikte, birkaç D-dimer analizörü **sitratlı, heparinize veya EDTA**lı plazma kullanımına izin vermektedir. (DF:0,84)
 - ❑ Tina-quant(Roche, İsviçre)
 - ❑ Pathfast (Sysmex, Japonya)-POC
 - ❑ AQT-90 FLEX(Radiometer, Danimarka)-POC
 - ❑ Simplify (Agen Inc, Avustralya)-POC
- ❑ Hemostaz testleri için **silikon kaplı cam** veya **polipropilen plastik** tüplerin kullanımı önerilmektedir.

Turnike kullanımı

- ❑ Turnikenin, iğne ven içine girer girmez veya ilk tüp dolmaya başladığında çıkarılması ve bu sürenin 1-2 dakikadan daha uzun olmaması tavsiye edilmektedir.
- ❑ Turnikenin uzun süreli kalması pıhtılaşma testlerinin kalitesini etkileyecek olan hemokonsantrasyona ve pıhtı oluşumuna neden olabilmektedir.



Örneklerin laboratuvara taşınması

15

- ❑ Örnekler laboratuvara oda sıcaklığında (15-22°C) ve alındıktan sonra mümkün olan en kısa sürede (genellikle <1 saat) gönderilmelidir.
- ❑ Kan örneklerinin dikey konumda, kapakları çıkarılmadan taşınmasına dikkat edilmelidir.



Pnömatik sistem

Her ne kadar kan alma ünitelerinin laboratuvara yakın olması preanalitik değişkenliği sınırlamak için en iyi seçenek olsa da, birçok hastane pnömatik tüp sistemlerini (PTS) kullanmaktadır.



PTS, turn-around-time azaltma konusunda büyük bir avantaja sahiptir, ancak bu sistemlerin kullanımdan önce valide edilmesi gerekir, çünkü aşırı hızlanma/yavaşlama, radyal yerçekimi kuvvetleri, titreşim ve hava basıncındaki değişiklikler trombosit aktivasyonunu ve hemolizi tetikleyebilir.



- Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, et al. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J.* 2016;14:49.
- Le Quellec S, Paris M, Nougier C, et al. Pre-analytical effects of pneumatic tube system transport on routine haematology and coagulation tests, global coagulation assays and platelet function assays. *Thromb Res.* 2017;153:7–13.
- Wallin O, Soderberg J, Grankvist K, et al. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine haematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46:1443–1449.

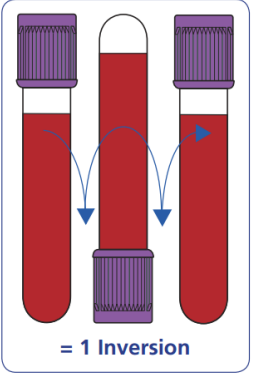
Örnek İşleme

17

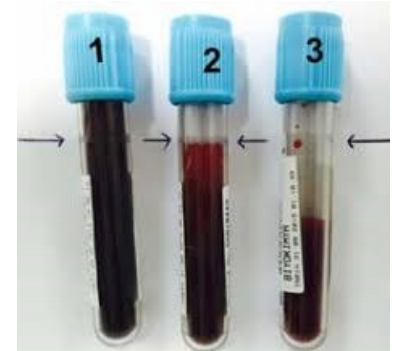
- ❑ Sitratlı antikoagülan tüpünün doğru şekilde doldurulmaması, tipik olarak pıhtılaşma sürelerinin (PT, APTT ve TT), D-dimer ve fibrinojen düzeylerinin etkilenmesine neden olabilir.
- ❑ Flebotominin ardından 30 saniye içinde derhal karıştırılarak (3 ila 6 tam ters çevirme) antikoagülanın tam dağılımı sağlanmalıdır.

The BD Vacutainer® Blood Collection System

Mix Tubes by Inverting the Recommended Number of Times



BD Diagnostics
Preanalytical Systems
BD Global Technical Services 1.800.631.0174
BD Customer Service 1.888.237.2762
www.bd.com/vacutainer
BD, BD Logo and all other trademarks are property of
Becton, Dickinson and Company. ©2004 BD. 6/04 VS5734-3



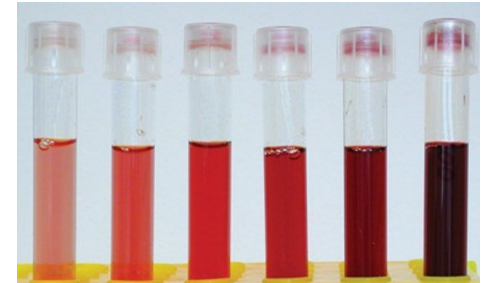
Santrifügasyon

- Analiz öncesi örneklerin oda sıcaklığında en az 15 dakika boyunca 1500 g'de santrifüj edilerek hücresel komponentlerin ayrılması önerilmektedir.
- D-dimerin ölçümü öncesi numuneler oda sıcaklığında 8 saate kadar, 4°C'de 24 saate kadar saklanabilir.



İnterfere edici maddeler

- ❑ Hemoliz, lipemi ve iktter koagölasyon teslerinde preanalitik fazda görülebilen interferans tipleridir.
- ❑ Hemoliz, hemostaz testleri interferansının önde gelen nedenlerindendir.
- ❑ Hem biyolojik hem de spektral interferansa sebep olmaktadır.



Hemolitik interferansın sebepleri

- Hasta/hastalık özellikleri
- Flebotomi
- Örnek transportu
- Santrifüjün gecikmesi
- Saklama koşulları

CLSI kılavuzu (H21-A5), koagülasyon testlerinde hasarlı hücrelerden prokoagülan faktörlerin salınmasından kaynaklanan olası bias nedeniyle görünür hemolizli numunelerin analiz edilmemesini tavsiye etmektedir.

D dimer testi için spesifik preanalitik veriler

21

Preanalitik değişkenler	Koagülasyon testleri için genel öneriler	D dimer için öneriler
Örnek alma		
İğne ucu kalınlığı	19-22 G	23-25 G de kullanılabilir
Kelebek setler	Önerilmez	Kullanılabilir
Tüp materyali	Silikon kaplı cam veya polipropilen plastik	Silikon kaplı cam veya polipropilen plastik, cam ve plastik
Antikoagülan	Sodyum sitrat (%3.2)	Sodyum sitrat veya heparin
Turnike kullanımı	Vene girilir girilmez çıkarılmalı (max 1-2 dk)	Vene girilir girilmez çıkarılmalı (max 1-2 dk)
Laboratuvara taşıma	Dik pozisyonda, 1 saatten kısa sürede, oda sıcaklığında (15-22 C)	PTS de kullanılabilir
Örnek işleme		
Santrifügasyon	Oda sıcaklığında 1500xg en az 15 dk	Daha hızlı protokol de kullanılabilir (4500xg 2 dk)
İnterferans	Hemolizli örnekler analiz edilmemelidir	<3 g/l hücresiz hemoglobin tolere edilebilir
Stabilite, Saklama	Oda sıcaklığında, <4 saat	Oda sıcaklığı veya 2-8 C'de, <24 saat

Sabrınız için teşekkür ederim