

Sistemik Otoimmün Hastalıkların Tanısında Yeni Bir Yöntem: Multipleks Test Sistemi ve Yöntem Performansları

[A New Method in Systemic Autoimmune Diseases Diagnosis: Multiplex Test System and Method Performances]

Yasemin Baskın,
Gökhan Afacan,
S. Selçuk Erkunt,
Türkan Yiğitbaşı

Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Merkez
Hıfzıssıhha Başkanlığı İzmir Bölge Hıfzıssıhha
Enstitüsü, Göztepe, 35350, İzmir

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr. Yasemin BASKIN

Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha
Enstitüsü, Göztepe, 35350, İzmir
Tel: (232) 285 3162
Faks: (232) 224 5989
e-mail: ybaskin65@yahoo.co.uk

Not: Bu çalışmanın öncül sonuçları Ekim 2007 IV. Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Kayıt tarihi : 7 Aralık 2007, Kabul tarihi: 18 Mart 2008
[Received: 7 December 2007, Accepted: 18 March 2008]

ÖZET

Amaç: Otoimmünite, öz antijenler yönelik immün aktivasyon yanıtı gelişmesi olarak tanımlanan önemli bir hastalık nedenidir. Otoimmün hastalıkların pek çoğunun tanısında ve önemli bir kısmının aktivitesinin izlenmesinde otoantikorların ölçümü önemlidir. Otoantikorların değerlendirilmesini sağlayan test teknolojileri 70 yıllık bir süreçte; özel olarak değerlendirilen mikroskopik hücre preparatlarından, özgün proteinlerin nicel ölçülmesine doğru bir gelişme göstermiştir. Bu çalışmada, otoimmün antikorların ölçülmesinde geliştirilen yeni çoklu test sisteminin (Multipleks) laboratuvar geçerliliklerini ve yöntem performanslarını bağımsız bir örnek grubunda araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla; İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Otoimmünite Laboratuvarında gerçekleştirilen kalite çalışmalarına ait verilerle, laboratuvara sistemik otoimmün hastalık ön tanısı için gönderilen 1136 olgunun serum örneklerine ait test verileri değerlendirilmiştir. 1136 örnekte Multipleks yöntemi ile 10 ayrı otoantikor eş zamanlı olarak çalışılmış; olumlu bulunan serumlardan seçilenler, altın standart olarak kabul edilen IFA yöntemi ile doğrulamaya alınmıştır. Kalite kontrol çalışmaları, bir negatif, üç ayrı pozitif kontrol serumu düzeyinde gerçekleştirilmiştir. Veri analizi ve istatistik; Westgard kalite uygulamaları ve SPSS programı ile yapılmıştır.

Bulgular: Olguların % 7.75'inde Anti Nükleer Antikor pozitifliği (% 4.47 gri zon olgu) ve % 2.24'ünde ds-DNA (% 3.76 gri zon olgu) pozitifliği saptanmıştır. Seçilen olgularda saptanan Multipleks otoantikorları IFA boyanma özellikleri ile uyumlu bulunmuştur. Gün içi tekrarlanabilirlikte en yüksek değer % CV olarak anti-sentromer için 4.21 olarak; günler arası tekrarlanabilirlikte en yüksek değer % CV olarak HEp-2 için 15.68 olarak saptanmıştır.

Sonuçlar: Gerek eş zamanlı ölçüm olanağı ve yinelenbilirliği açısından; gerekse parametre sayılarının laboratuvar gereksinimlerine göre belirlenebilmesi nedeniyle Multipleks yönteminin otoimmün hastalıkların tanısında rutin olarak kullanılabilir olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Multipleks, otoimmünite, yöntem performansı

ABSTRACT

Aim: Autoimmune diseases are defined as diseases that develop immune response against self body antigens. In many autoimmune diseases, autoantibody determination is important in diagnosis and scanning of the autoimmune activity. Recent 70 years of time, test technologies concerning autoimmune determinations progressed through subjectively determined microscopic cell specimens to quantitative determination of specific proteins. In this study, it is aimed to study laboratory validity and method performances of the new multiple test system (Multiplex) that was developed for autoimmune antibody determination, in an independent sample group.

Materials and Methods: For this purpose, test values of 1136 specimens were determined between December 2005 to August 2007, in Izmir Regional Institute of Hygiene Auto Immune Laboratory. Ten different autoantibodies were evaluated in 1136 serum samples by real time multiplex; selective positive samples were confirmed by IFA method as the gold standard. Quality control studies were realized by one negative and three different positive control sera. Data and statistical analysis were run by Westgard quality applications and SPSS programme.

Results: In 7.75 % of samples, antinuclear antibody (ANA) positively (4.47 % in gray zone), and in 2.24 % of samples, double stranded (ds) DNA positively (3.76 % in gray zone) were determined. Multiplex antibody results and ANA results were found concordant in selective positive cases. The highest value in within day precisions (CV %) was 4.21 for centromere, the highest value in between day precisions (CV %) was 15.68 for HEp2.

Conclusions: We conclude that whether in real time determination chance and repeatability or in determination the number of parameters according to the requirements of the laboratory, multiplex method is useful in the routine diagnosis of autoimmune diseases.

Key Words: Multiplex, autoimmunity, method performance

GİRİŞ

Otoimmünite, öz antijenler yönelik immün aktivasyon yanıtı gelişmesi olarak tanımlanan önemli bir hastalık nedenidir. Otoimmün hastalıklar konusunda giderek artan bilgilere karşın, insanlarda otoimmün hastalıkların heterojen olması, birçok etmene bağlı olarak gelişebilmesi, immün yanıtı başlatan ve hedefi olan öz antijenlerin sıklıkla bilinmemesi, otoimmün tepkimenin hastalığın ortaya çıkmasından çok önceleri başlaması gibi nedenlerle, araştırmalar sürmektedir. Toplumda otoimmün hastalıkların % 1–2 oranında olduğu tahmin edilmektedir (1).

Otoimmün hastalıkların hepsinde, hastalığın nedeninden bağımsız olarak saptanabilen otoantikörler bulunur ve bu antikörlerin saptaması, laboratuvar tanısında oldukça önemlidir. Hastalığa özgün antikörlerin kullanı-

mı; klinik bulguları olan olgularda hastalığın tanılanmasını; klinik bulguları belirsiz olan olgularda hastalığın dışlanması sağlar. Otoantikörlerin ayrıca belirlenebilmesi ve nicel olarak ölçülmesi ile hastalıkların alt gruplarının belirlenmesi, hastalık şiddetinin ve sağaltım yanıtının izlenmesi mümkün olmaktadır (2).

En eski ve yaygın aranan otoantikör anti nükleer antikörlerdir (ANA) ve sistemik otoimmün hastalığın göstergesidirler. Bunun yanı sıra hastalık tanı ve izleminde en sık kullanılan otoantikörler, çift sarmal DNA'ya karşı (anti-dsDNA), anti-Ro/SSA (SS; Sjögren sendromu), anti-La/SSB, anti-Sm (smooth muscle), anti-RNP (ribonükleoprotein), anti histon, anti sentromer, anti-Jo-1 (anti histidil tRNA), anti Scl-70 (sistemik skleroz-70kDa/anti topoizomeraz-1) olarak sayılabilir. Bu otoantikörlerin klinik yaygınlığı ve hastalıklarla olan ilişkileri Tablo 1'de özetlenmiştir (3).

Tablo 1. Otoantikörlerin Klinik Yaygınlığı ve Hastalıklarla Olan İlişkileri

OTOANTİKÖR	İLİŞKİLİ HASTALIK	İLGİLİ HASTALIKTA SAPTANMA SIKLIĞI (%) (4,5)
ANA	Sistemik Lupus SLE etkin dönem	95-100
	SLE durgun dönem	80-100
	İlaçla uyarılmış SLE	100
	Mikst bağ dokusu hastalığı(MBDH)	100
	Romatoid artrit (RA)	20-40
	Progresif sistemik skleroz	85-95
	Polimiyozit, Dermatomyozit	30-50
	Sjögren sendromu	70-80
	Kronik Aktif hepatit	30-40
	Ülseratif kolit	25
	Diğer romatizmal hastalıklar	20-50
ds DNA	SLE	50-60
	RA, MBDH	5
SSA (Ro)	SLE	15-30
	Sjögren sendromu	60
	Yeni doğan lupusu	100
SSB (La)	Sjögren sendromu	30
	SLE	30-50
Sm	SLE	25-30
RNP	MBDH	95-100
	Sistemik skleroz	20
	SLE	25-40
Scl-70	Skleroderma	20-30
Jo-1	Polimiyozit	25-45
Sentromer	CREST sendromu (skleroderma)	80
Histon	İlaçla uyarılmış SLE	90

Otoantikörlerin değerlendirilmesini sağlayan test teknolojileri 70 yıllık bir süreçte; öznel olarak değerlendirilen mikroskopik hücre preparatlarından, özgün proteinlerin nicel ölçümlenmesine doğru bir gelişme göstermiştir. Bu amaçla kullanılan test yöntemleri, hemaglutinasyon, jel difüzyon, radyo immunoassay ve yakın geçmişte kullanılmaya başlanan indirekt immunfloresan (IFA), enzim immunoassay (ELISA) ve Western Blot (WB) yöntemleridir (6).

Ancak bu yöntemlerin klinik ve laboratuvar sınırlılıkları nedeniyle yeni teknoloji arayışları sürmektedir. Bu çalışmada, otoimmün antikörlerin ölçülmesinde geliştirilen yeni çoklu test sisteminin (Multipleks) laboratuvar geçerliliklerini ve yöntem performanslarını bağımsız bir örnek grubunda araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma evreni

İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Otoimmünite laboratuvarında Aralık 2005-Ağustos 2007 tarihleri arasında gerçekleştirilen laboratuvar kalite çalışmalarına ait veriler, bu çalışmada laboratuvar geçerlilikleri ve yöntem performansı için kaynak oluşturmuştur. Bağımsız örnek grubuna ait veriler için; bu laboratuvara sistemik otoimmün hastalık ön tanısı için gönderilen 1136 olgunun laboratuvar verileri kullanılmıştır (Sağlık Bakanlığı İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu 05.03.2008 tarihli 73. oturumu; Karar No:4).

Veri Analizi ve İstatistik

Yöntem performansı süreç içinde “levey jennings” eğrileri ile izlenmiş ve “Westgard” karar basamaklarına uygun olarak yönetilmiştir. Yöntem değerlendirme ölçütleri, “Westgard” sistemi içinde uygulama özellikleri, yöntem özellikleri ve performans özellikleri olarak tartışılmıştır. İstatistik ve ROC (relative operating characteristic) grafikleri için SPSS programı (SPSS/Windows version 10.0, SPSS inc., Chicago, IL, USA) kullanılmıştır.

Laboratuvar Uygulamaları

1136 örnekte multipleks yöntemi ile 10 ayrı otoantikör eş zamanlı olarak çalışılmıştır. Olumlu bulunan serumlardan seçilenler, altın standart olarak kabul edilen IFA

yöntemi ile doğrulamaya alınmıştır. Kalite kontrol serumları ile gerçekleştirilen çalışmalar, bir negatif, üç ayrı pozitif kontrol serumu düzeyinde gerçekleştirilmiştir.

IFA Yöntemi

Nükleer antijenlere karşı oluşmuş antikörleri ve boyanma özelliğini belirleyen floresan mikroskopi temelinde bir test kullanılmıştır (Zeus Scientific, Inc.USA). Testin uygulama alanı HEP-2 hücre hattı ile kaplıdır. Serum örnekleri 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 sulandırılarak ANA (+) ve ANA (-) kontrol serumları ile eş zamanlı olarak çalışılmıştır. Test uygulaması, FITC işaretli anti-human antikör, % 1.25 sığır albümin ve karşıt boyadan oluşan konjugat kullanılarak üretici firmanın yönergesine göre yapılmıştır. Sonuçlar floresan mikroskopta (Olympus BHZ, RFCA, Japan), biri “Zeus Scientific” Uygulama Uzmanı olmak üzere 3 ayrı kişi tarafından değerlendirilmiştir.

Multipleks Yöntemi

Çeşitli nükleer antijenlere karşı, insan serumunda bulunan IgG grubu antikörleri eş zamanlı olarak saptayan floresan mikro boncuk temelinde bir test kullanılmıştır (AtheNA, Zeus Scientific, Inc. USA). Mikro boncukların her biri akış sitometresinde ayrımlanabilecek ayrı renk koduna sahiptir. Her kod başka bir öz antijen ile kovalent olarak bağlanmıştır. Kullandığımız set; SSA, SSB, U snRNP B/B', U1 snRNP A, U1 snRNP C, Scl-70, Jo-1, Sentromer B, dsDNA, Histone H, Histone HLY ve HEP-2 hücresi nükleer antijenleri ile kaplanmıştır. Özgün olmayan antikör bağlanmalarını dışında tutmak için her çalışmada 4 mikro boncuk karışımından oluşan ölçümleme seti kullanılmıştır. Her biri özgün işaretli mikro boncuklar sonik banyoda 30 saniye süresince karıştırılarak 1:21 oranında sulandırılmış hasta ve kontrol serumlarıyla karşılaştırılmıştır. Floresan işaretli (fikoeritrin) anti-human IgG ile inkübe edilmiş ve iki lazer okuyuculu akış sitometresi (Luminex corp. USA) ile değerlendirilmiştir. Nicel ölçümleme her boncuk içeriğinde bulunan ve diğer analitlerle eş zamanlı olarak ölçümleme olanağı veren kuyucuk-içi ölçümleme tekniği ile yapılmıştır (Luminex corp. USA).

Tablo 2. Olguların otoantikör dağılımı

Durum	ANA +GRI ZON	dsDNA IU/mL	SS-A AU/mL	SS-B AU/mL	Sm AU/mL	RNP AU/mL	Scl-70 AU/mL	Jo-1 AU/mL	Cent. AU/mL	Histon AU/mL
Toplam (% 100)	1136	1118	1132	1128	1113	1132	1097	1088	1136	949
Gri-zon (% olgu)	54 (4.75)	42 (3.76)	4 (0.35)	2 (0.18)	3 (0.27)	1 (0.09)	2 (0.18)	1 (0.09)	3 (0.26)	6 (0.63)
Olumlu (% olgu)	88 (7.75)	25 (2.24)	40 (3.53)	14 (1.24)	8 (0.72)	10 (0.88)	9 (0.82)	4 (0.37)	7 (0.62)	17 (1.80)

İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Otoimmünite Laboratuvarına sistemik otoimmün hastalık ön tanısı ile gönderilen olgulardan derlenmiştir.

BULGULAR

Uygulama Özellikleri

Laboratuvara; çalışma süresince gelen olgu dağılımına göre; 88 olguda ANA pozitifliği, 25 olguda dsDNA pozitifliği bulunmuş; 54 olguda ANA testi, 42 olguda dsDNA testi “gri zon” olarak değerlendirilmiştir (Tablo 2). Seçilmiş olgularda, IFA yöntemi ile HEp-2 hücre hattı kullanılarak saptanan floresan boyanma özellikleri ile multipleks test sonuçları karşılaştırılmıştır. CLIA 88 düzenlemesinde otoantikörlerin tanımlanmış boyanma özellikleri ile değerlendirildiğinde uyumlu bulunmuştur. Ancak IFA testine göre ANA testi negatif olan ve multipleks testinde gri zonda bulunan ya da dsDNA gri zonda yer alan olgularda bir eşleşme bulunamamıştır (Tablo 3). Referans yöntemle yapılan değerlendirmede doğruluk için $r:0.657$; $p=0.020$ olarak hesaplanmıştır.

Yöntem Özellikleri

Testin olası tüm duyarlılık ve seçicilik çiftlerinde değerlendirilmesini sağlayan ROC eğrisi tanımlanmıştır. IFA testi, altın standart olarak tanımlanarak gerçekleştirilen ROC eğrisinde (Şekil 1) multipleks için eğri altında kalan alan 0.829 ± 0.134 bulunmuştur (total alan 1.000 olarak alınmış; değer, alan \pm SE olarak verilmiştir). IFA ve multipleks eğrileri istatistiki olarak anlamlı olarak farklı bulunmamıştır (non parametrik $p=0.062$).

Yerine Getirme Özellikleri

Multipleks testi için gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik ile saptama limitindeki değerlerde (negatif kontrol) tekrarlanabilirlik değerlendirilmiştir (Tablo 4). Gün içi tekrarlanabilirlikte en yüksek değer % CV olarak antisentromer için 4.21 olarak saptanmıştır. Günler arası tekrarlanabilirlikte en yüksek değer % CV olarak HEp-

Tablo 3. Seçilmiş olgularda IFA ANA boyanma özellikleri ile Multiplex değerlerinin karşılaştırılması

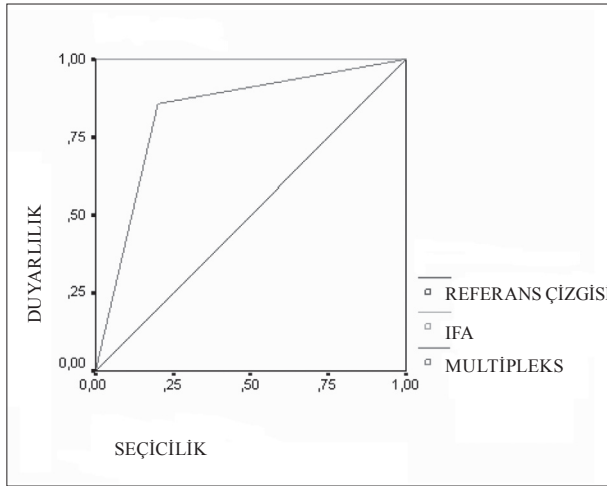
IFA ANA Boyanma Özellikleri	Multiplex değeri									
	ANA +/- GRIZON	dsDNA IU/mL	SS-A AU/mL	SS-B AU/mL	Sm AU/mL	RNP AU/mL	Sci-70 AU/mL	Jo-1 AU/mL	Cent. AU/mL	Histon AU/mL
CLIA 88 DE TANIMLANAN PATERNLER	Homojen rim, both	Homojen, rim, both	Sitoplazmik, saptanamaz	Spectled	Spectled	Spectled	Atipik Spectled	sitoplazmik	Discreet Spectled	Homo, Rim, both
NEGATİF	-	94	21	7	20	15	15	22	43	8
NEGATİF	+/-	103	23	5	14	18	17	20	21	11
NEGATİF	+/-	114	45	6	14	37	37	19	7	37
NEGATİF	+	135	45	7	17	19	26	23	21	18
NEGATİF	+/-	114	27	8	19	18	17	9	25	8
1:40 + SPECKLED	+	99	156	78	13	14	56	24	28	11
1:160 + HOMOJEN	+	711	42	112	445	100	630	109	71	736
1:320 +/- NÜKLEAR	+	122	15	9	23	27	54	14	25	116
1:320 + NÜKLEAR	+	130	32	11	15	52	286	22	36	18
1:320 + NÜKLEOLAR/ SPECKLED	+	101	145	64	93	271	55	90	100	91
1:320 + SPECKLED/RNP	+	126	67	7	70	1541	48	30	232	34
1:320 + GRANÜLER/ HOMOJEN	-	94	14	2	10	14	9	12	27	12

Multipleks otoantikör değerlendirmelerinde <100 negatif; 100-120 gri zon;> 120 pozitif değerler olarak alınmıştır. Her ölçüm için 50 boncuk ölçümü temel alınmıştır.

Tablo 4. Multipleks testinin yerine getirme özellikleri

	HEp2DNA	dsDNA IU/mL	SS-A AU/mL	SS-B AU/mL	Sm AU/mL	RNP AU/mL	Scl-70 AU/mL	Jo-1 AU/mL	Cent. AU/mL	Histon AU/mL
Günler arası tekrarlanabilirlik % CV	15.68	11.91	7.74	6.65	10.11	9.57	10.26	6.25	8.26	13.41
Gün içi tekrarlanabilirlik % CV	1.55	3.85	2.81	2.96	2.52	2.32	3.28	3.21	4.21	3.24
Negatif kontrol için tekrarlanabilirlik % CV	7.07	8.84	14.14	10.10	8.32	3.72	5.66	8.84	21.75	10.88
Kabul edilebilir tekrarlanabilirlik % CV	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Günler arası tekrarlanabilirlik 4 ayrı düzeyde 15'er kez tekrarlanarak çalışılmıştır (n=60); gün içi tekrarlanabilirlik pozitif ve negatif kontrol serumlarında 16 farklı örnekte en az 3 kez tekrarlanarak belirlenmiştir (n=48).



Şekil 1. ROC eğrisi

Testin olası tüm duyarlılık ve seçicilik çiftlerinde değerlendirilmesini sağlayan ROC eğrisi; IFA testi, altın standart olarak tanımlanmıştır.

2 için 15.68 olarak saptanmıştır. Saptama limitlerindeki değerlerdeki tekrarlanabilirlik, pozitif serumlara göreli olarak daha yüksek bulunmuştur.

TARTIŞMA

Sistemik otoimmün hastalıklar geniş bir spektrum gösterirler. Oluşan otoantikorlar tanı amaçlı kullanılırlar (2). Bu otoantikorların saptanması amacıyla bugüne değin, IFA, WB, ELISA gibi yöntemler kullanılmıştır (7).

Ancak bu yöntemlerin klinik ve laboratuvar sınırlılıkları nedeniyle yeni teknoloji ve belirteç arayışları sürmektedir. IFA yöntemi günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Olguya bağlı farklı sulandırmalarla çalışma gereksinimi, süre ve karşılaştırmalı izlemler açısından sorun oluşturmaktadır. Değerlendirme öznel olmaktadır. WB testinde, ancak 10–12 otoantikor değerlendirilebilir.

İzlem gereken olgularda sayısal değerlendirme yapılamamaktadır. ELISA testlerinde ise her belirteç ayrı değerlendirilmektedir. Yöntemin teknik bir özelliği nedeniyle kuyucuklarının ilk ve son sıralarında yer alan serumların aynı kalibrasyon eğriyle değerlendirilmesi analitik sapmalara neden olmaktadır (8).

Yeni teknoloji yaklaşımlarında daha düşük saptama limitlerine sahip ve eş zamanlı daha fazla belirteci değerlendirebilen yöntemler bulunmaktadır. Bu çalışmada, otoimmün antikorların ölçülmesinde geliştirilen yeni çoklu test sisteminin (Multipleks) laboratuvar geçerlilikleri ve yöntem performanslarının bağımsız bir örnek grubunda araştırılması amaçlanmıştır.

Westgard, yeni bir yöntemi tartışırken temel olarak üç başlık önermektedir (9). Yöntemin uygulama özellikleri, yöntem özellikleri, yerine getirme özellikleri değerlendirilmelidir.

Uygulama özellikleri açısından; küçük örnek miktarıyla eş zamanlı 10 belirteç değerlendirilmesi fiyat ve zaman açısından olumlu görülmektedir. 100 kadar yeni belirteç, laboratuvar gereksinimlerine bağlı olarak eklenebilmektedir. Ölçümleme akış sitometresi ile yapılmaktadır. Sayısal ve nicel değerlendirme tanısal ve izlem amaçlı kullanıma olanak sağlamaktadır. Kuyucuk içi ölçümleme yöntemi, kalibrasyon eğrilerinin her kuyucuk için ve analitlerle eş zamanlı olarak yapılmasına olanak sağlamaktadır.

Klinik laboratuvarlarda kullanılan testlerin yöntem özelliklerinin değerlendirilmesinde ROC eğrileri yararlı veriler sunmaktadır. Bu açıdan olası tüm duyarlılık ve özgüllük çiftlerinin görülmesini sağlar. Karar eşiklerinin tümü kapsar. Prevalanstan bağımsızdır ve direkt görsel kıyaslamaya izin vermektedir (10). Buna göre yapılan değerlendirmede, IFA ve Multipleks eğrileri istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı bulunmamıştır.

Tanısal yeterlilik için eğri altında kalan alan bir ölçü olarak kullanılabilir. Bu araştırma grubunda, eğri altında kalan alana göre, hastalıklı gruptan rastgele seçilecek bir birey % 82.9 olasılıkla, hastaliksız gruptan rast-

gele seçilmiş bir bireye göre daha yüksek test sonucu vereceği söylenebilmektedir. Bu değerlendirmeye göre; multipleks testi hastalıklı ve sağlıklı durumlar arasında ayırt edici bir testin temel özelliklerini göstermektedir. Yöntemin yerine getirme özellikleri aslında yöntem özelliklerinin uygulamadaki yansımaları olarak değerlendirilmelidir. Yöntemin tekrarlanabilirliği, doğruluğu, analitik sınırlarının laboratuvarca seçilen hedeflere uygunluğu önemlidir (11). Bu açıdan yöntem, laboratuvarca belirlenen hedefleri yerine getirmiştir.

Sonuç olarak; gerek eş zamanlı ölçüm olanağı ve yöntem performansları açısından; gerekse parametre sayılarının laboratuvar gereksinimlerine göre belirlenebilmesi nedeniyle multipleks yönteminin otoimmün hastalıkların tanısında ve izleminde rutin olarak kullanılabilir olduğu kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada; IFA yöntem uygulamaları ve değerlendirmeleri için Zeus Scientific Uygulama Uzmanı **Mr. Mark Kopnitsky**'ye ve teknik destekleri **Sayın Levent Güllüer**'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- [1] Abbas AK, Lichtman AH. (2007) Basic Immunoloji 2ed. Elsevier Inc., New York. Temel İmmünoloji, İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları, çev. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz. İstanbul Medikal Yayıncılık, s161-176.
- [2] İyidir ÖT, Erten Ş. (2007) Clinical evaluation of autoantibodies in connective tissue disorders: medical education. J Med Sci. 27: 236-246.
- [3] Wiik AS. (2005) Anti-nuclear autoantibodies: clinical utility for diagnosis, prognosis, monitoring, and planning of treatment strategy in systemic immunoinflammatory diseases. Scand J Rheumatol. 34: 260-8.
- [4] Von Venrooij WJ, Charles P, Maini RN. (1991) The consensus workshop for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. J Immunol Meth. 140: 181-189.
- [5] Davidson A, Diamond B. (2001) Autoimmune diseases. N Engl J Med. 345: 340.
- [6] Craft JE. (2003) Diagnostic tests in rheumatic diseases. Cecil Textbook of Medicine. 22nd ed., s. 1627-30, Saunders Company.
- [7] Yılmaz Ö, Kahraman M, Ergon MC, Bahar İH, Yuluğ N. (2005) Konnektif Doku Hastalıklarının Tanısında Antinükleer (ANA) ve Anti-Double Stranded DNA (Anti-dsDNA) antikörlerinin önemi. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 29 (4): 287-290.
- [8] Kern P, Kron M, Hiesche K. (2000) Measurement of antinuclear antibodies: assesment of different test systems. Clin Diagn Lab Immunol. 7: 72-78.
- [9] Westgard QC, Inc., Lesson: Method validation- selecting a method to validate. <http://www.westgard.com/lesson20.htm>. download time 05.02.2008.
- [10] Fawcett T. (2004) ROC Graphs: Notes and Practical Considerations for Researchers, s. 12-56, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- [11] Tıbbi Laboratuvarlarda Analitik Kalite Yönetimi Kursu Kitabı (Olguya Dayalı) (2008) Ed. Aslan D, Güner G, Demir S. Türk Biyokimya Derneği, DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü.