

Troponin I Ölçümünde Hemolizin İmmünoassay Sisteminin Analitik Performansına Etkisi

The Effect of Hemolysis on Analytical Performance of Immunoassay System Troponin I Assay

Nuri Orhan

Hayriye Ak Yıldırım

Hatice Yüksel

Özlem Yavuz

Ramazan Memişoğullar

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce

ÖZET

Amaç: Miyokard hasarının oldukça duyarlı ve özgül belirteçleri olan kardiyak troponinlerin ölçümünde kullanılan bazı immünometrik yöntemlerin hemoliz interferansından etkilendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, kemiluminesens immünometrik yöntemi kullanan Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) cihazında troponin I ölçümünde, hemolizin önemli bir interferant olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Hemolizsiz hasta serum örneklerinden üç farklı konsantrasyonda troponin I içeren (düşük: 1.17, orta: 3.75, yüksek: 22.15 ng/mL) serum havuzları oluşturuldu. Osmotik şok yöntemi kullanılarak tam kandan hemolizat hazırlandı. ABL 800 Flex (Radiometer, Denmark) cihazıyla hemogloblin ölçümü yapılarak üç farklı konsantrasyonda hemogloblin (0.60, 1.50 ve 3.00 g/dL) içeren hemolizat elde edildi. Hazırlanan hemolizatlar, farklı konsantrasyonlarda troponin I içeren serum havuzlarına eklendi ve hemoliz indeksleri (hafif, orta ve yoğun Architect c8000 (Abbott Diagnostics, Japan) cihazında spektrofotometrik yöntemle saptandı.

Bulgular: Düşük troponin I konsantrasyonu içeren yoğun hemolizli örneklerde en yüksek negatif bias gözlemlendi. Tüm hemoliz düzeylerindeki troponin I serilerinin ölçümünün analitik performans kriteri TE (toplam hata) < % TEa (izin verilebilir toplam hata) (TEa = %30, CLIA 2003) olarak hesaplandı.

Sonuç: Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) sisteminde düşük analit konsantrasyonlarında, hemoliz, hemolizat konsantrasyonuna bağlı olarak negatif biasa neden olmakta ancak testin analitik performansını bozmamaktadır. Düşük troponin I konsantrasyonlarının klinik karar düzeyine yakın olması nedeniyle, hemolizin derecesinin belirlenmesi ve preanalitik dönemde önlenmesi yaşamsal önem taşımaktadır.

Anahtar Sözcükler: Hemoliz, immunoassay, troponin I

ABSTRACT

Objective: The cardiac troponins are sensitive and specific biochemical markers of myocardial damage. It has been suggested that hemolysis causes interference in the immunometric cardiac troponin assay. The current study aimed to determine the significance of hemolysis as an interferant in Immulite 2000 (Siemens/ DPC, USA) troponin I chemiluminescent immunometric assay.

Materials and Methods: Serum pools containing three different concentrations of troponin I (low 1.17, moderate: 3.75, high: 22.15 ng/mL) were created from nonhemolysed patient serum samples. The osmotic shock method was utilized to prepare hemolysate. Hemolysates were obtained at three different concentrations of hemoglobin (0.60, 1.50 and 3.00 g/dl). Hemoglobin measurement was made with ABL 800 Flex (Radiometer, Denmark). Hemolysate prepared was added to the pool containing different concentrations of serum troponin I and hemolysis index (slight, moderate and gross) were determined with spectrophotometric method in Architect c8000 (Abbott Diagnostics, Japan) system.

Results: The greatest negative bias was observed for those samples in which the lowest concentrations of troponin I with gross hemolysis. Analytic performance criteria of troponin I assay in all hemolysis index was calculated as TE (total error) < % TEa (total allowable error) (TEa = %30, CLIA 2003).

Conclusion: In low analyte concentrations, hemolysis depending on hemolysate concentration leads to negative bias, but does not disrupt the analytical performance of the test in Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) chemiluminescent immunometric assay. Since the low concentrations of troponin I is close to the level of clinical decisions, the determination of hemolysis degree and prevention of hemolysis at preanalytical period is vital.

Key Words: Hemolysis, immunoassay, troponin I

GİRİŞ

Kalp kasının yapısal ve düzenleyici proteinleri arasında yer alan kardiyak troponin I ve T (cTnI ve cTnT) yüksek klinik duyarlılık ve özgüllükleri nedeniyle akut koroner sendromların tanı, risk belirleme ve tedavi yaklaşımında tercih edilen belirteçlerdir (1). Son yıllarda, sağlıklı kişilerin kanında ölçülemeyecek kadar düşük konsantrasyonlarda bulunan ve miyokard infarktüsünün (MI) başlangıcından 3-6 saat sonra nekrotik miyokarttan salınan cTnI'nın, akut MI tanısında başlıca kriterlerden biri olduğu kabul edilmektedir (2). Akut koroner sendromlarda (AKS) klinik kararlar, cTn'lerdeki oransal küçük artışlara dayanılarak verilebilmektedir. Bu nedenle cTn ölçümünde kullanılan yöntemler ile elde edilen sonuçların doğru ve güvenilir olması önem taşımaktadır (3).

Serumda cTnI ölçümünde kullanılan çok sayıda ticari immünometrik yöntem vardır. Aralarında bizim laboratuvarımızın da bulunduğu birçok klinik laboratuvarında kullanılan Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) cTnI, solid faz enzim işaretli kemiluminesens immünometrik yöntemdir (4). Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) cihazı kullanılarak saptanan artmış cTnI düzeylerinin ST segment yükselmesi bulunmayan AKS'li hastalarda

tanı ve risk belirleme amacıyla kullanılabilirliği gösterilmiştir (5).

Kan örneklerinde sıklıkla karşılaşılan hemolizin çeşitli laboratuvar testlerinde hata kaynağı olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir (6). Hemoglobin konsantrasyonu serumda 20 mg/dL'nin üzerinde olduğunda, hemoliz plazmanın kırmızı rengi ile gözle görülebilir (7). Hemolizin gözle değerlendirilmesi subjektif olduğundan, örnekteki hemoliz miktarı, hemoliz indexi olarak otomatize spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmektedir (8). Son yıllarda çeşitli immünometrik cTnI analizlerinde hemolizin interferansa neden olduğu gösterilmiştir (9-14). Mikro-partikül enzim immunoassay (MEIA) veya kemiluminesans immunoassay ile TnI ölçümünde orta derecedeki hemolizin herhangi bir etkisinin olmadığı; ağır hemolizin (hemoglobin >40 mg/dL) ise cTnI analizlerini interfere ettiği bildirilmiştir (10).

Hemoliz, eritrositlerin parçalandığı yere göre vücut içinde (in vivo) veya kan alındıktan sonra vücut dışında (in vitro) oluşabilir. İn vivo hemolize yol açan nedenler arasında hemolitik anemiler, uygunsuz kan transfüzyonları, toksik maddeler ve enfeksiyonlar yer almaktadır. Kan örneklerinde daha sık rastlanan in vitro hemoliz, kan alınması

veya örneklerin işlenmesi ve transportu sırasında yapılan hatalardan kaynaklanmaktadır. Hemolizin laboratuvar test sonuçlarını etkilemesi ile ilgili çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar arasında en kesin olan, eritrositlerin içeriğinin seruma geçmesi sonucunda hücre içindeki konsantrasyonu serumdakinden yüksek olan analitlerin test sonuçlarını direkt olarak etkilenmesidir. Ayrıca hemoglobinin görünür ve ultraviyole spektruma yakın dalga boylarında (300-500 nm) ışığı absorbe ettiği için hemoliz, bu dalga boylarının kullanıldığı spektrofotometrik ölçüm yöntemlerini etkiler. Hemoliz sırasında eritrositlerden salınan hemoglobin dışındaki diğer hücre bileşenleri, test reaktifleri ile reaksiyona girerek kimyasal interferansa neden olmaktadır (8).

Farklı cTnI konsantrasyonlarını içeren örneklerin hemolizden etkilenip etkilenmediğinin anlaşılması önemlidir. Çünkü bu test için, kan alma ünitesi dışında görev yapan acil servis personeli tarafından alınan kanların hemolizli olma olasılığı çok yüksektir. Bu nedenle cTnI test sonuçlarının doğruluğu ve güvenilirliği riske girebilir. Bu çalışmada Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) cihazında kemiluminesens immüno-metrik yöntemle farklı cTnI konsantrasyonlarının ölçümünde, hemolizin önemli bir interferant olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Düşük (1.17 ng/mL), orta (3.75 ng/mL) ve yüksek (22.15 ng/mL) konsantrasyonlarda cTnI içeren üç ayrı hemolizis (hemoglobin <0.50 g/dL) serum havuzu hazırlandı. Yüksek olan serum havuzu, acil servise başvuran, MI tanısı almış, cTnI düzeyi yüksek olan bir hastadan çeşitli zamanlarda alınan venöz kan örneklerinden elde edildi. Diğer serum havuzları benzer cTnI konsantrasyonları içeren serumların karıştırılması ile hazırlandı. cTnI düzeyleri kemiluminesans immüno-metrik yöntemle Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) cihazında ölçüldü.

Hemolizatın hazırlanmasında ozmotik şok yöntemi kullanıldı (15). Kan grubu ORh (-) olan sağlıklı bir gönüllüden alınan heparinize tam kan örneği 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı. Eritrositler %0.9'luk serum fizyolojik ile 2 kez yıkandı. 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrıldı ve bu işlem iki kez tekrarlandı. Yıkanan hücreler eşit hacimdeki distile su ile iyice karıştırılarak dilue edildi ve -20°C'de dondurulup bir gece bekletildi. Ertesi gün çözülerek oda sıcaklığına getirildi ve 30 dakika santrifüj edilerek hücre kalıntılardan arındırıldı. Süpernatant hemolizat temiz bir tüpe aktarıldı ve distile su ile seyreltilerek hemoglobin konsantrasyonu önce 13 g/dL'ye ayarlandı; daha sonra 0.60, 1.50 ve 3.00 g/dL olarak üç farklı hemoglobin konsantrasyonu içeren hemolizatlar elde edildi. Hemolizatların hemoglobin konsantrasyonları ABL 800 Flex (Radiometer, Denmark) cihazı ile ölçüldü.

Üç farklı konsantrasyonda cTnI içeren serum örnekleri için 1, 2, 3, 4 olarak numaralandırılmış üç ayrı seri tüp hazırlandı. Farklı konsantrasyonda cTnI içeren serum havuzlarının her birinden 1 ml serum alınarak ait olduğu tüp serisindeki her bir tüpe bu miktar aktarıldı. Daha sonra her serinin üç tüpüne, üç farklı konsantrasyonda hemoglobin içeren 0.1 ml hemolizat eklendi. Hemolizat içermeyen birinci tüplere 0.1 ml distile su eklendi ve bu tüpler karşılaştırmalarda kullanılmak üzere C1 olarak işaretlendi. Örneklerin hemoliz indeksleri Architect c8000 (Abbott Diagnostics, Japan) cihazı ile belirlendi. Hemolizat eklenen tüplerdeki hemoglobin konsantrasyonlarının (0.6, 1.50 ve 3.00 g/dl) hemoliz indekslerinin, sırasıyla hafif, orta ve yoğun hemoliz karar düzeylerine karşılık geldiği kabul edildi.

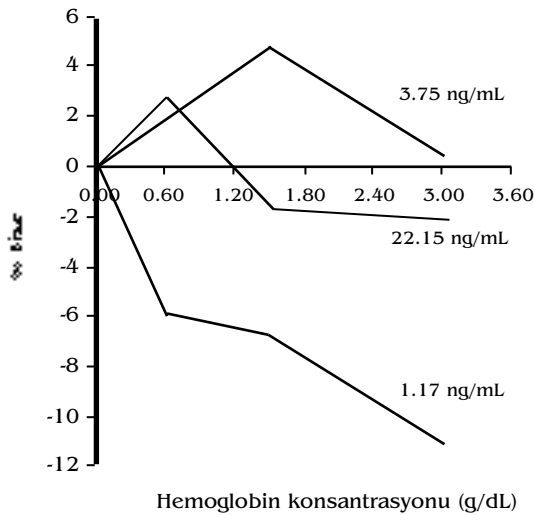
Tekrarlanabilirlik çalışması için serilerin cTnI düzeyleri her örnekte 20 kez ölçüldü ve varyasyon katsayısı (%CV) değerleri hesaplandı. Hemolizat eklendiğinde cTnI konsantrasyonlarında saptanan farkların yüzdesi veya bias $((C_x - C_1)/C_1) \times 100$ formülü kulla-

ılarak hesaplandı. C_1 , hemolizat içermeyen örneklerdeki; C_x ise tüm hemoliz düzeylerindeki analit konsantrasyonunu göstermektedir.

Klinik karar düzeyi 1 ng/mL olarak kabul edildi (16). Performans kriteri olarak alınan testin toplam hatası (%TE), Westgard'ın Metod Değerlendirme Karar (MEDx) grafiklerine göre hesaplandı (17). %TE'nin hesaplanmasında %Bias + 2 x %CV formülü kullanıldı. Tüm hemoliz düzeylerinde farklı konsantrasyonlarda cTnI içeren seriler için hesaplanan %TE'ler, %TEa ile karşılaştırıldı (18). cTnI için TEa değeri, 2003 CLIA yeterlilik testleri raporlarından alındı.

BULGULAR

Klinik karar düzeyine yakın, düşük cTnI konsantrasyonu (1.17 ng/ml) içeren seride, yoğun hemolizli örnekte en yüksek oranda olmak üzere, tüm hemoliz düzeylerinde negatif bias gözlemlendi (Şekil 1, Tablo 1). Orta (3.75 ng/ml) cTnI konsantrasyonu içeren örneklerde ise tüm hemoliz düzeylerinde düşük oranda pozitif bias saptandı. Yüksek (22.15 ng/ml) cTnI konsantrasyonu içeren seride hafif hemolize bağlı pozitif bias; orta ve yoğun hemolize bağlı düşük oranda negatif bias gözlemlendi (Şekil 1, Tablo 1).



Şekil 1. Farklı hemoliz düzeylerinde cTnI serilerinin interferogramı.
(*): cTnI konsantrasyonu

Tablo 1. Hemolizat eklenen farklı konsantrasyonlarda cTnI içeren seriler için hesaplanan CV, Bias ve Toplam hata değerleri.

cTnI (ng/ml) % CV	Bias / Toplam hata (%TE)	İzin verilebilir toplam hata (%TEa)
1.17 ng/ml CV= %4.5	Hafif hemolizli : -5.98 / 15 Orta hemolizli : -6.841 / 6 Yoğun hemolizli: -11.11 / 20	30
3.75 ng/ml CV= %2	Hafif hemolizli : +1.86 / 6 Orta hemolizli : +4.80 / 9 Yoğun hemolizli: +0.53 / 5	30
22.15 ng/ml CV = 2,1	Hafif hemolizli : +2.71 / 7 Orta hemolizli : -1.58 / 6 Yoğun hemolizli: - 2.03 / 6	30

cTnI serilerinde tekrarlanabilirlik çalışmasından elde edilen varyasyon katsayısı sonuçları (%CV) Tablo 1'de gösterildi.

Tüm hemoliz düzeylerindeki troponin I serilerinin ölçümünün analitik performans kriteri %TE (toplam hata) <%TEa (izin verilebilir toplam hata) (TEa = %30, CLIA 2003) olarak hesaplandı (Tablo 1).

TARTIŞMA

Bu çalışmada hemolizin immünoimetrik yöntemle cTnI analizinde, özellikle düşük cTnI konsantrasyonu (1.17 ng/ml) içeren seride negatif yönde biasa yol açtığı; yoğun hemolizli örnekte ise negatif biasın en yüksek oranda olduğu gösterildi.

Hemoliz kan örneklerinde sıklıkla rastlanan bir interferanttır ve laboratuvar sonuçlarında hemolize bağlı interferanslar hastaların tanı ve tedavisinin yönlendirilmesini ciddi derecede olumsuz etkilemektedir. Yanlış pozitif laboratuvar sonuçları hastaya gereksiz, ağırlı medikal işlemler uygulanmasına neden olmakta ve hasta üzerinde gereksiz duygusal ve fiziksel stres yaratmaktadır (19). Yanlış negatif test sonuçları da aynı ciddiyette hekimin hastanın önemli medikal durumunu atlamasına ve bu nedenle hastalığın alevlenmesine ve hatta ölüme bile neden olabilmektedir (18).

Yapılan analizlerde hemolizat biasının istatistiksel önemi izin verilebilir toplam hataya (TEa) ve laboratuvarın belirlediği kabul edilebilir analitik performansa bağlıdır (18). Çalışmamızda hemolizat eklenen tüm cTnI serilerinde %TE < %TEa (TEa = %30) olarak bulundu (Tablo 1). Bu sonuçlar 3 g/dl'ye kadar hemolizin kemiluminesans immüno-metrik yöntemle Immulite 2000 (Siemens/DPC, USA) cihazında cTnI ölçümünün performansını bozmadığını göstermektedir.

Tablo 1 ve Şekil 1 karşılaştırıldığında düşük cTnI konsantrasyonlarında, CV değerlerinin ve biasın daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Bu düzeydeki biasın, bir performans kriteri olan TEa'yı aşmadığı için kabul edilebileceği düşünülebilir. Ancak çalıştığımız düşük cTnI konsantrasyonları klinik karar düzeylerine yakındır, bu düzeylerde biasın yüksek olmasının klinik kararı etkilemesi açısından yaşamsal önemi vardır. Beklediğimiz gibi yoğun hemoliz, düşük cTnI konsantrasyonu içeren örneklerde, hafif ya da orta derecede hemolize göre daha yüksek düzeyde negatif bias değerine neden olmuştur (Tablo 1, Şekil 1). Düşük cTnI konsantrasyonunda negatif yönde, yüksek konsantrasyonda ise pozitif yönde olan bias hem hemolizin derecesine hem de analit konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir.

İmmüno-metrik yöntemlerin, spektral analiz yöntemleri ile karşılaştırıldığında hemoliz interferansından daha az etkilendiği kabul edilmektedir (20). İmmüno-metrik yöntemlerde pozitif ya da negatif biasa yol açan analitik interferansın genellikle nonspesifik nedenlerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (21). İmmüno-metrik cTnI analizinde yanlış negatif sonuçlara göre daha sık rastlanan yanlış pozitif sonuçlar çoğunlukla heterofilik antikolar, romatoid faktör veya bilinmeyen makromoleküler komplekslerin serumdaki varlığına bağlanmaktadır (8). Ancak immüno-metrik yöntemler hemoliz interferansına daha az duyarlı gibi gözükse de, yöntemde spesivitesi düşük antikolar kullanıldığında,

bu antikoların hemoliz sonucunda eritrositlerden salınan bazı bileşiklerle çapraz reaksiyona girebileceği bunun da pozitif biasa neden olabileceği düşünülmelidir. Öte yandan eritrosit bileşenlerinin ölçülen analite bağlanarak üzerindeki antikor bağlama bölgelerini kapatacağı, reaksiyona girmesini engelleyeceği ve negatif biasa neden olabileceği de göz önüne alınmalıdır (18). Bu varsayımlara göre immüno-metrik yöntemlerin de hemoliz interferansından etkilenebileceği söylenebilir.

Snyder ve arkadaşlarının hemolizin immüno-assay sistemlerine etkisini inceledikleri bir çalışmada, cTnI analizinde daha düşük (0.015, 0.144 ng/ml) analit konsantrasyonlarında CV'nin daha yüksek, ancak biasın pozitif yönde ve çok düşük olduğu bulunmuştur (18). Araştırmacılar çalışılan düzeyler klinik karar düzeylerine yakın olduğu için hemoliz interferansının neden olabileceği potansiyel problemler konusunda laboratuvarların dikkatli olması gerektiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise düşük (1.17 ng/ml) cTnI konsantrasyonlarında yüksek CV ve yüksek negatif yönde bias saptanmıştır.

Diğer kardiyak belirteçlerin aksine, sağlıklı kişilerde periferik kanda düşük konsantrasyonda bulunan kardiyak troponinlerin, miyosit hasarı durumunda, erken dönemde sitozolik havuzdan periferik kana salınmaları nedeniyle, çok düşük düzeydeki artışları bile miyokard hasarını göstermesi açısından önemlidir (22). Harris ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada TnI, TnT, CK-MB düzeyleri karşılaştırılmış ve cTnI'nin 0,1 µg/L eşik değerinde minör miyokard hasarının en duyarlı göstergesi olduğu bildirilmiştir (23).

Göğüs ağrısı yakınması ile acil servise başvuran, EKG değişiklikleri bulunmayan ve CK-MB düzeyleri normal olan hastaların %30'unda cTn düzeyi ölçüldüğünde yüksek bulunmakta ve bu hastalar ST-segment yükselmesi MI tanısı almaktadır. cTn'ler klinik uygulamaya girdikten sonra MI tanısı konan

hasta oranı, yalnızca CK-MB düzeyinin tanıda kullanıldığı döneme göre önemli oranda artmıştır (24). AKS'da ise artmış cTn düzeylerinin hem prognoz hem de tedavinin yönlendirilmesi açısından önem taşıdığı gösterilmiştir (25). cTn düzeyi ölçümleri acil serviste ve yoğun bakım ünitelerinde AKS'nin ayırıcı tanısında da yarar sağlamaktadır.

Üretici firma tarafından sağlıklı kişilerde kullanılan yöntemle cTnI konsantrasyonlarının ölçülemeyen düzeylerde, çoğu kişide de 1 ng/ml'nin altında olduğu ve yöntemin analitik duyarlılığının da 0.2 ng/ml olduğu bildirilmektedir (16). Bu çalışmada klinik karar düzeyi sayılabilecek bir konsantrasyonda (1.17 ng/ml) cTnI ölçümünde artan hemolizat konsantrasyonları ile testin performansını etkilemese de negatif yöndeki biasın yüksek olduğu gözlemlendi.

cTnI ölçümü için çoğunlukla kan alma ünitesi dışında görev yapan acil servis personeli tarafından alınan kanların hemolizli olma olasılığı çok yüksektir. Klinik karar düzeyinde cTnI içeren bir örnekte yoğun hemolizin neden olacağı biasa bağlı yanlış negatif sonuç rapor edilebilecektir. Bu sonuç hastaya uygun olmayan bakım verilmesine veya tedavide uygun olmayan değişikliklerin yapılmasına yol açabilir. Bu nedenle laboratuvar çalışanlarının hemoliz intefransının farkında olması, numune kalitesinin artması ve hatalı test sonuçlarının en aza indirilmesi için hemoliz derecesinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Ancak her örneğin santrifüjden sonra görsel olarak incelenmesi, hemoliz derecesinin ve potansiyel interferans özelliğinin doğru olarak saptanması gibi işlemler güçtür ve güvenilir değildir (26). Bu nedenle klinik örneklerde hemoliz derecesini ölçen ve sınıflandıran yöntemler kullanılmalıdır.

Sonuç olarak bu çalışma Immulite 2000 (Siemens/ DPC, USA) cTn I kemiluminesans immünometrik ölçüm yönteminde düşük analit konsantrasyonlarında hemolizin hemolizat konsantrasyonuna bağlı olarak negatif

biasa neden olabileceğini ancak testin analitik performansını bozmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, MI'nin ve AKS'nin tanı, takip ve tedavisinde klinik karar düzeyine yakın düşük analit konsantrasyonlarında, hemolizin derecesinin belirlenmesi ve preanalitik dönemde önlenmesi yönünde çalışmalar yapılması yaşamsal önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Heide nreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, McDonald KM, Go AS, Hlatky MA. The prognostic value of troponin in patients with non-ST elevation acute coronary syndromes: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 478-85.
2. Thygesen K, Alpert JS, White HD, on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 2007; 116: 2634-53.
3. Panteghini M. Performance of today's cardiac troponin assays and tomorrow's. *Clin Chem* 2002; 48: 809-10.
4. Witherspoon LR, Babson AL, Olson DR. Immulite chemiluminescent immunoassay system. In: Chan DW. *Immunoassay automation*. San Diego: Academic Press, 1996: 103-30.
5. Collinson PO, Gaze DC, Stubbs PJ, Swinburn J, Khan M, Senior R, et al. Diagnostic and prognostic role of cardiac troponin I (cTnI) measured on the DPC Immulite. *Clinical Biochemistry* 2006; 39: 692-96.
6. Sonntag O. Hemolysis as an interference factor in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 27-39.
7. Young DS, Bermes EW. Specimen collection and processing: sources of biological variation. In: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999: 49.
8. Guder WG. Haemolysis as an influence and interference factor in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 125-6.
9. Eriksson S, Junikka M, Laitinen P, Majamaa-Voltti K, Alfthan H, Pettersson K. Negative Interference in Cardiac Troponin I Immunoassays from a Frequently Occurring Serum and Plasma Component. *Clin Chem* 2003; 49: 1095-104.
10. Dasgupta A, Wells A, Biddle DA. Negative interference of bilirubin and hemoglobin in the MEIA troponin I assay but not in the MEIA CK-MB assay. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 76-80.

11. Hawkins RC. Hemolysis interference in the Ortho-Clinical Diagnostics Vitros ECI cTnI assay. Clin Chem 2003; 49: 1226.
12. ver Elst KM, Chapelle JP, Boland P, Demolder JS, Gorus FK. Analytic and clinical evaluation of the Abbott AxSYM cardiac troponin I assay. Am J Clin Pathol 1999; 112: 745-52.
13. Wenk RE. Mechanism of interference by hemolysis in immunoassays and requirements for sample quality. Clin Chem 1998; 44: 2554.
14. Hammett-Stabler CA, Snyder JA, Chapman JF, Rogers MW, King MS, Phillips JC. Hemolysis interferes with troponin I and troponin T Immunoassays. Clin Chem 2003; 49(S6): A89.
15. Interference Testing in Clinical Chemistry. NCCLS Document EP7-P 6(13) (1986).
16. Immulite 2000 Troponin I (PIL2KTI-18, 2008.08.13) Siemens.
17. Westgard JO. A method evaluation decision chart (MEDx chart) for judging method performance. Clin Lab Sci 1995; 8: 277-83.
18. Snyder JA, Rogers MW, King MS, Phillips JC, Chapman JF, Hammett-Stabler CA. The impact of hemolysis on Ortho-Clinical Diagnostic's ECI and Roche's elecsys immunoassay systems. Clinica Chimica Acta 2004; 348: 181-7.
19. Rotmensch S, Cole LA. False diagnosis and needless therapy of presumed malignant disease in women with false-positive human chorionic gonadotropin concentrations. Lancet 2000; 355: 712-5.
20. Jones G. Handling common laboratory interferences. Clin Biochem Rev 2002; 23: 105-11.
21. Selby C. Interference in immunoassay. Ann Clin Biochem 1999; 36: 704-21.
22. Hillis GS, Fox KAA. Cardiac troponins in chest pain. BMJ 1999; 319: 1451-2.
23. Harris BM, Nageh T, Marsden JT, Thomas MR, Sherwood RA. Comparison of cardiac troponin T and I and CK-MB for the detection of minor myocardial damage during interventional cardiac procedures. Ann Clin Biochem 2000; 37: 764-9.
24. Roger VL, Killian JM, Weston SA, Jaffe AS, Kors J, Santrach PJ, et al. Redefinition of myocardial infarction: prospective evaluation in the community. Circulation 2006; 114: 790-7.
25. Wu AH, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. Clin Chem 1998; 44: 1198-208.
26. Hinckley CM. Defining the best quality-control systems by design and inspection. Clin Chem 1997; 43: 873-9.

Yazışma adresi:

Dr. Özlem Yavuz
Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce
E-posta : oyavuz08@gmail.com,
