

Klinik Laboratuvar Testlerinde Sık Karşılaşılan İnterferanslar

Common Interferences in Laboratory Test

Beliz Akçakoca  Arzu Yılmaztepe Oral  Melehat Dirican 

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, Bursa, Türkiye

Received / Başvuru Tarihi: 04 Nisan 2024 Accepted / Kabul Tarihi: 16 Nisan 2024

ÖZET

Tıbbi laboratuvar raporları, klinisyenlerin vereceği kararlar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. İnterferans hatalı sonuçlara neden olduğundan laboratuvar raporlarının güvenilirliğini tehdit etmektedir. İnterferans nedenleri ve etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bu derlemede klinik laboratuvar uygulamasında sıklıkla ölçümleri yapılan çeşitli biyokimyasal, hematoloji ve idrar analizi testlerinde karşılaşılabilecek interferans nedenlerine ve bunlarla başa çıkma yöntemlerine yer verilmiştir. Laboratuvar uzmanları doğru sonuç elde edebilmek için interferansın farkında olmalı, başa çıkma stratejilerini bilmeli ve gerektiği durumda klinisyen ile iletişime geçmelidir.

Anahtar kelimeler: İnterferans, biyokimya, hematoloji, tam idrar analizi

ABSTRACT

Medical laboratories and their reports significantly impact the decisions made by clinicians. Interference for different reasons can threaten the reliability of these results. Many studies have investigated the causes and effects of interferences. This review describes the causes of interferences encountered in various biochemical, haematological and urinalysis tests frequently measured in clinical laboratory practice and the methods to deal with them. To obtain accurate results, laboratory specialists must be aware of interferences, know handling strategies with them, and contact the clinician when necessary.

Keywords: Interference, biochemistry, hematology, urinalysis

Yazışma adresi: Beliz Akçakoca

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, Bursa, Türkiye

e-posta: belizakcakoca@uludag.edu.tr

GİRİŞ

Tıbbi laboratuvar raporları klinik kararlar üzerinde önemli etkiye sahiptir. Klinik kararların %60-70'nin laboratuvar sonuçlarına göre alındığı bilinmektedir (1). Bu nedenle tıbbi laboratuvarlar, test sonuçlarının güvenilirliğini sağlamak amacıyla yöntemlerini ve faaliyetlerini sürekli gözden geçirmeli, pre-analitik, analitik ve post-analitik evrelerde karşılaşılabilecek hatalarla ilgili gerekli önlemleri almalıdır (2). Laboratuvarların güvenilir ve doğru sonuçların elde edilmesini için yürüttüğü çeşitli kalite kontrol çalışmalarına rağmen, hasta numunesi kaynaklı interferanslar, gözden kaçabilir ve sonuç güvenilirliğini tehdit edebilir (3).

Tıbbi biyokimyada interferans, ölçümü yapılan numunenin bir bileşeni ya da özelliği nedeniyle test sonucunda oluşan klinik anlamlı farklılığın nedeni olarak tanımlanmaktadır (4). İnterferansın ölçüm değerlerinde neden olduğu hatalar; hastaların yanlış teşhis almasına, hastalara yanlış tedavi uygulanmasına, uygulanması gereken tedavilerin uygulanmamasına ve hatalı ya da gereksiz tetkik istemlerine neden olabilir (5). Bunun en belirgin örneklerinden biri Nevramount ve ark.nın kardiyak belirteçlerdeki interferansın kliniğe olan etkisinin retrospektif olarak değerlendirildiği çalışmalarında vurgulanmıştır (6). Temmuz 1996 ile Ağustos 2021 tarihleri arasında yayınlanmış 222 vaka raporunun %45'inde test interferansının birçok gereksiz ileri tetkike, hastane yatışına ve ilaç düzenlemesine yol açtığı gözlenmiştir.

Klinik açıdan önemli sonuçlar doğuran bu hataları olabildiğince gözden kaçırmamak adına bu derlemede, yaygın olarak kullanılan laboratuvar parametrelerinde sık karşılaşılan interferans nedenleri ele alınmış, interferansların oluşum mekanizmaları konusunda laboratuvar uzmanlarının farkındalığını artırmak ve uygun çözüm önerileri ile doğru sonuç üretebilme konusunda destek olabilmek amaçlanmıştır.

BİYOKİMYASAL TESTLERDE İNTERFERANS

Biyokimya testlerinde en sık görülen ve bilinen interferans, Hemoliz-İkter-Lipemi (HIL) kaynaklıdır. Bununla beraber paraprotein ve ilaç/kontrast maddeler de laboratuvar ölçümlerini sıklıkla interfere etmektedir.

HIL İnterferansı

HIL interferansı, klinik laboratuvar uygulamasında yaygın bir sorun olarak devam etmektedir. Bu interferans, geleneksel olarak serum ya da plazmanın renginde ve/veya berraklığındaki değişikliklerin görsel olarak incelenmesiyle belirlense de günümüzde modern klinik biyokimya analizörleri çoklu spektrofotometrik ölçümler kullanarak objektif değerlendirme yapılmasını sağlamaktadır. Bu spektrofotometrik ölçümlerde, hemoglobin, bilirubin ve lipemi/bulanıklığın belirli dalga boylarında verdikleri absorbansların grafiklerinden faydalanılır. Burada dikkat edilmesi gereken indeksin ölçümü için seçilen dalga boyunun tek bir indeksi saptayabilmesidir. Birden fazla indeksin spektral aralığına denk gelen dalga boylarının kullanımı nedeniyle absorbansın hangi indeksten kaynaklandığı belirlenemeyebilir. Bu durum, indekslerin birbirlerini interfere etmesine neden olabilir (7). HIL indeksleri, Laboratuvar Bilgi Sistemi (LIS)'ne semikantitatif ya da kantitatif bir sonuç olarak iletilebilir. Laboratuvar uzmanları interferansın derecesini bu sayede değerlendirebilirler. (8).

Hemoliz, eritrositlerin in vivo veya in vitro parçalanması olarak tanımlanır. En sık rastlanılan interferans nedenidir. Hemolizli numune oranları sağlık kurumlarında kalite göstergesi olarak takip edilir ve bu oranın %2'nin altında olması beklenir (8-9). Hemoliz %95-97 oranında numunenin toplanması, taşınması, işlenmesi ve saklanması sırasındaki mekanik yıkıma bağlı olarak in vitro olarak meydana gelir. Donma, hiperozmotik şok, deterjanlar, numunedeki glikozun

tükenmesi veya kalıtsal hastalıklara bağlı artan eritrosit kırılabilirliği de hemolize neden olabilir. Serum veya plazmada hemoglobinin konsantrasyonu 20 mg/dL düzeylerine eriştiğinde hemoliz gözle görünmeye başlar. Ancak ikter veya lipemiyenin varlığında bir miktar maskelenebilir (8).

Hemoliz birden fazla mekanizma ile interferansa yol açar;

- Hemoglobinin ile aynı dalga boylarında ölçüm yapan yöntemleri interfere eder. Örneğin hemoliz BCG yöntemi ile albümin ölçümünde hatalı yüksek sonuçlara neden olur.
- Hemoliz sonucu açığa çıkan hem veya serbest demir, ölçüm yapacak kit bileşenleri ile reaksiyona girerek interferansa neden olabilir (Örn. Malloy-Evelyn yöntemi ile ölçülen total bilirubin)
- Eritrositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan analitlerin/enzimlerin hemolize bağlı serum/plazmaya salınımı (örn: Potasyum, Magnezyum, AST, LDH, Fosfor) hatalı yüksek sonuçların raporlanmasına neden olabilir.
- Hemolize bağlı eritrosit hücre içi sıvı salınımı serumu/plazmayı dilüe ederek analitlerin hatalı düşük bulunmasına neden olabilir.
- Hemoglobinin haptoglobine bağlanmasıyla haptoglobin testlerinde hatalı düşük sonuçlar gözlemlenebilir.
- Salınan hemoglobinin bazı kimyasal reaksiyonları doğrudan baskılayabilir (8,10).

Hemoliz indeksi değeri, çalışılan test için interferans sınırının üzerindeyse, hemolizin nedeni ve kaynağı araştırılmalı, in-vitro ve in-vivo hemoliz ayrımı yapılmalıdır. Bunun için yapılabiliyorsa serumda haptoglobin düzeyi ölçülebilir. Serum haptoglobin düzeyi düşüklüğü var olan hemolizin in-vivo kaynaklı olduğunu gösterebilir. Ancak karaciğer fonksiyon bozukluklarında haptoglobin düzeyinin hemolizden bağımsız düşük olacağı unutulmamalıdır. Haptoglobinin aynı zamanda bir akut faz reaktanı olması nedeniyle test

gerçekleştirmeden önce eşlik eden enfeksiyon varlığı dışlanmalıdır. Hemoliz nedeni pre-analitik süreçle ilişkili bir hatadan kaynaklı ise (in-vitro) test reddedilerek yeni bir numune istenebilir. İn-vivo hemoliz durumlarında, klinisyenler bilgilendirilmeli ve hastanın klinik durumuna göre alternatif testler önerilmelidir. Örneğin, karaciğer fonksiyonunu değerlendirmeye yardımcı olması için AST yerine ALT ölçümü önerilebilir (7-8), (11-12).

İkter, numunede artmış bilirubin konsantrasyonunu gösterir. Artan bilirubin konjuge ve/veya ankonjuge bilirubin olabilir. İki mekanizma ile tanısız testleri interfere edebilir:

- Bilirubin ile aynı dalga boyunda (400-540 nm) ölçüm yapılan testler yanlış sonuçlanabilir.
- Bilirubin, bazı analitlerin ölçümlerinde kullanılan reaktiflerin bileşenleriyle kimyasal reaksiyona girerek yanlış ölçümlere neden olabilir. Örneğin H₂O₂ ile etkileşime giren bilirubin kolesterol, glukoz, ürik asit, trigliserit ölçümlerini interfere eder (13).

İkter indeksi yüksek gelen bir numunede, öncelikle numunenin seyreltilmesi önerilir. Bu uygulama, ölçülen analitin ölçüm aralığı içinde olduğu durumlarda kullanılabilir. Seyreltilmeyen numuneler için çalışılan teste göre alternatif metotlar denenebilir. Örneğin kreatinin ölçümlerinde ikterden etkilenen Jaffe metodu yerine enzimatik metot ile sonuç verilebilir. Aksi durumda test ve/veya numune reddedilmelidir (14-15).

Lipemi/bulanıklık indeksi, trigliseritten zengin VLDL ve şilomikron gibi lipoprotein fraksiyonlarının varlığının bir göstergesidir. Lipemi indeksinin ölçülemediği durumlarda trigliserit konsantrasyonu da lipemi/bulanıklığın yerine geçen bir belirteç olarak kullanılabilir (8). Lipemiyenin en sık nedeni öğünlerden sonra kan alınmasıdır. Bununla beraber fazla miktarda alkol alınması, diabetes mellitusta, total parenteral nutrisyon uygulanmasında, böbrek yetmezliğinde (nefrotik sendrom), oral kontraseptifler, proteaz inhibitörleri gibi bazı ilaçların kullanılması durumunda veya

primer hipertrigliseridemi, pankreatit, primer biliyer siroz, multiple myelom gibi bazı hastalık tablolarında lipemi indeksi yüksek görülebilir. Eritrosit kalıntıları, trombositler, fibrin pıhtıları ve kontamine partiküller de bulanıklık oluşturarak interferansa neden olabilir. Lipemi interferansından en fazla ışık saçılımını kullanan nefelometrik/türbidimetrik yöntemler etkilenir.

Lipitler birkaç farklı mekanizma ile interferansa neden olur;

- Trigliseridenden zengin lipoproteinler, büyük boyutları nedeniyle daha fazla ışık saçılmasına neden olur. Saçılma derecesi; asılı parçacıkların sayısına, boyutuna ve kırılma indisine bağlıdır. Bu nedenle şilomikron ve VLDL gibi daha büyük çapa sahip lipoproteinler, en yüksek derecede kırılmaya neden olarak ölçümü interfere edebilir.
- Ayrıca lipoproteinler, büyük boyutları ve hidrofobik yapıları nedeniyle hacim yer değiştirme etkisine neden olur. Normal plazma %92 sulu fazdan, %8 katı fazdan oluşur. Lipemik örneklerde sulu faz azalır, indirekt iyon selektif elektrotlar (ISE) gibi toplam plazma hacmindeki (katı faz dahil) elektrolitleri ölçen yöntemlerde seyrelmeye bağlı olarak hatalı düşük sonuçlar gözlenir. Bu durumdan en çok sodyum düzeyi etkilendiği için yüksek lipit konsantrasyonuna sahip numunelerde psödohiponatremi görülebilir. Elektrolit konsantrasyonunu yalnızca su fazında ölçen yöntemler (direkt ISE), gerçek konsantrasyonu ölçer ve lipemiden etkilenmez.
- Lipoprotein parçacıkları, lipofilik bölgelere sahip olmaları nedeniyle hidrofobik analitleri, reaktifleri veya reaksiyon ürünlerini absorbe edebilmektedir. Bu durum özellikle steroid hormonlar, fenitoin, fenobarbital düzeyi ölçümlerinde hatalı düşük sonuçlara neden olabilir. Bekleyen numunelerde şilomikron ve VLDL gibi düşük yoğunluklu lipoproteinler, numunenin üst tabakasında bir katman oluşturur. Bu katman, hidrofobik analitlerin de üst tabakaya toplanmasına neden olmaktadır.

Analizörün pipetleme seviyesine bağlı olarak bu analitlerin test sonuçları değişkenlik gösterebilmektedir.

Numunelerde öncelikle lipeminin nedeni belirlenmelidir. Ekzojen (örneğin total paratenal nütrisyon) nedenlere bağlı indeks yüksekliğinde test ve/veya numune reddedilmelidir. Endojen nedenlere (örneğin ailesel hipertrigliseridemi) bağlı yüksek durumlarda numuneden lipitlerin uzaklaştırılması için ek süreçler gözden geçirilmelidir; numune seyreltilebilir, lipit temizleyici ajanlar kullanılabilir ya da ultrasantifüj sonrası numune tekrar çalışılabilir. Özellikle lipit tabakaya absorbe olmuş terapötik ilaç analitleri için lipitlerin uzaklaştırılması önerilmez. Bu durumda numune seyreltilmelidir. Ancak ölçülen analit konsantrasyonunun yöntemin analitik sınırları içerisinde kalabilmesi için numunenin yalnızca 2 ya da 3 kat seyreltilmesi önerilir. Ayrıca lipemik numunelerde bazı testler için metot değişikliği yapılabilir. Örneğin; elektrolit ölçümleri için indirekt iyon selektif elektrot (ISE) yöntemi yerine direkt ISE yöntemi kullanılarak karşılaştırma yapılabilir (7-8),(16-18).

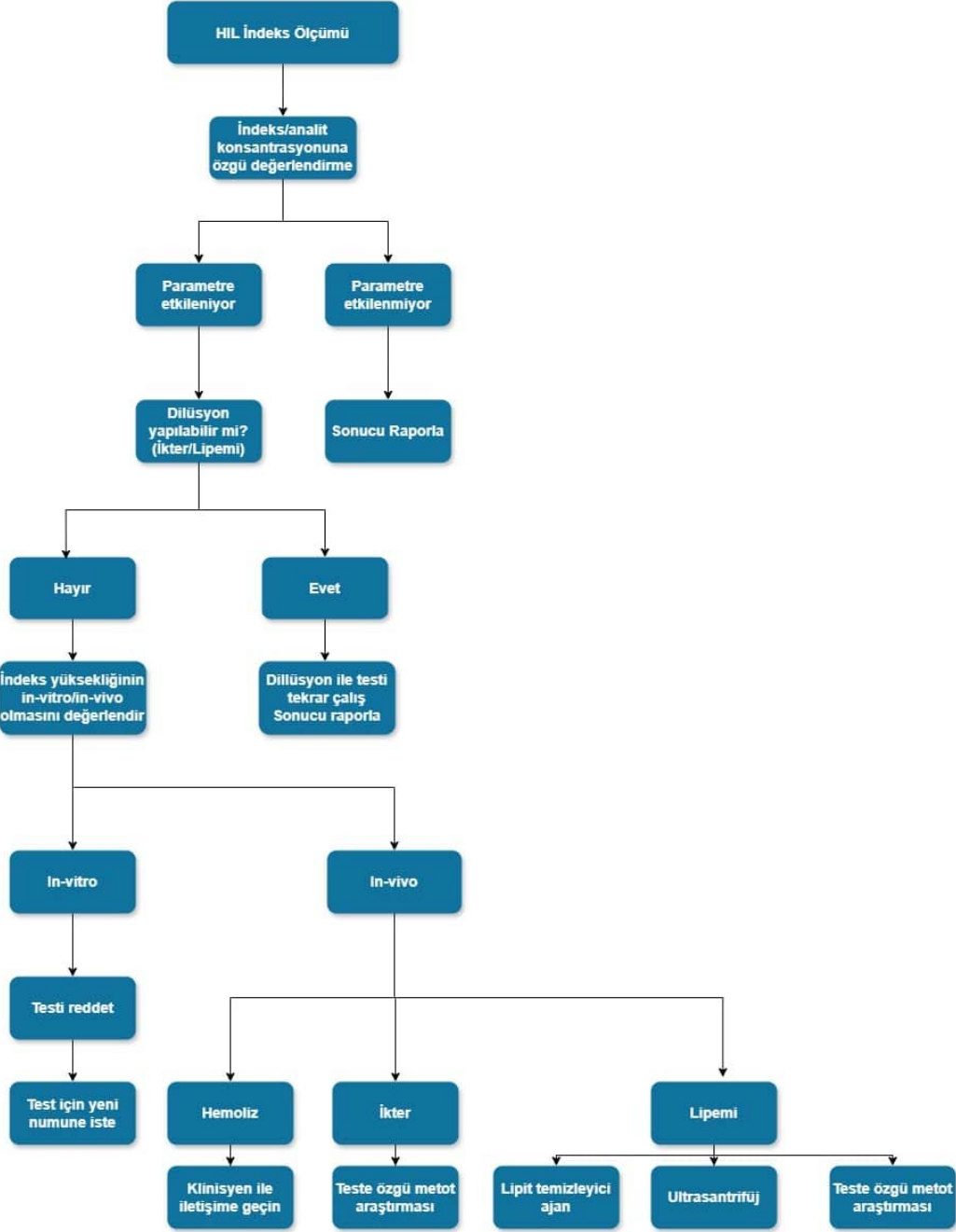
Özetle, laboratuvarlar en sık karşılaşılan interferans kaynaklarından biri olan HIL interferansı ile başa çıkabilmek için test sonuçlarının nasıl ele alınacağına karar vermeli ve HIL etkileşimi ile analit konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi doğru bir şekilde değerlendirmelidir. Parametre bazında interferansa neden olan moleküllerin konsantrasyonlarına bağımlı olarak ölçülen moleküllerin etkileşim düzeyleri değişkenlik gösterdiğinden, farklı analitler için farklı eşik değerleri kullanılabilir. Bunun dışında indeks değerlerine bağlı ek süreçler tanımlanabilir ya da hastadan aynı anda toplanan diğer numunelerden farklı yöntemlerle ilgili testler çalışılabilir. HIL indekslerinin değerlendirilmesine yönelik önerilen algoritma Şekil 1'de özetlenmiştir.

Paraproteinemi

Paraproteinemi, plazma hücrelerinin tek klonu tarafından üretilen monoklonal immü-

noglobülin veya hafif zincirlerin (paraprotein, M protein) kanda anormal yüksek miktarda bulunmasıdır. Genellikle Multiple Myelom ve Walderström makroglobulinemisi gibi hastalıklarda görülür (19). Sıklıkla türbidimetrik, nefelometrik ve spektrofotometrik yöntemleri

interfere eder (20). Direkt bilirubin değerlerinin total bilirubin değerlerinden yüksek olması (19) ve enzimatik metot ile yalancı kreatinin düşüklüğü şeklinde karşımıza çıkabilir (21).



Şekil 1. HIL interferansı değerlendirme algoritması

İmmüoglobulin düzeylerinin yüksek seyrettiği numunelerde veya paraproteineminin varlığında, yalancı yüksek lipemi /bulanıklık indeksi görülebilir. Bu interferans, proteinlerin indeks ölçümünde kullanılan dilüent ile etkileşimleri sonucu presipitasyon ve kriyoglobulin davranışı göstermesi nedeniyle meydana gelir (7). Numune pH'sının çok yüksek veya çok düşük olduğu durumlarda da numunedeki IgM'in agregatlar oluşturarak interferansa yol açabileceği gözlenmiştir (22).

Yüksek lipemi indeksine sahip, görsel olarak bulanık olmayan 202 numunenin incelendiği bir çalışmada, numunelerin %87'sinde monoklonal veya biklonal gammopati, %13'ünde de poliklonal gammopati tespit edilmiştir. Monoklonal gammopatisi olan numunelerin yaklaşık %25'inde yüksek lipemi indeksi görüldüğü bildirilmiştir (23).

Paraproteinemi interferansından şüphelenildiği durumda numunelerin dilüe edilerek çalışılması, ultrasantrifüj yöntemi ile uzaklaştırma, monoklonal proteinlerin çeşitli ajanlarla çöktürülmesi veya paraprotein interferansına daha az duyarlı bir yöntem ile testin tekrarlanması şeklinde yollar izlenebilir (24). Paraproteinleri çöktürerek uzaklaştırmak için etanol (25), metanol (26), polietilen glikol (PEG) (27) ve amonyum sülfat (28) gibi maddeler kullanılabilir.

İlaç/Kontrast Madde/Vitamin İnterferansları

İlaç ve kontrast maddeler farklı mekanizmalarla, örneğin hemolize veya test edilecek numunenin yapısında değişikliklere yol açarak, test reaktifleri ile doğrudan etkileşime girerek ya da ölçülecek ilaçların farmakokinetiklerini etkileyerek, interferansa neden olabilir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'ne göre sıklıkla test sonuçlarını interfere eden ilaç grupları, antibiyotikler, psikotropik ilaçlar ve kontrast maddelerdir. Sefalosporin grubu ilaçlar, bakır iyonlarını indirgeyerek idrarda redükthan madde testlerinde yanlış pozitifliğe ve Jaffe

metodu ile ölçüm yapan kreatinin testlerinde hatalı yüksek sonuçlara neden olabilir. Amfetamin ve benzodiazepin gibi ilaçların kimyasal yapıları diğer psikotropik ilaçların ve metabolitlerinin kimyasal yapıları ile benzerlik gösterdiği için, bu ilaçların kullanımı diğer ilaç düzeylerinin yanlış yüksekliğine neden olabilir (29).

Manyetik rezonans görüntüleme yöntemlerinde kullanılan kontrast madde gadolinyumun da çeşitli testleri interfere ettiği bildirilmiştir. Örneğin Arsenazo-III metoduyla ölçülen kalsiyum düzeyleri hatalı yüksek, orto-kresolftalein metoduyla ölçülen kalsiyum düzeyleri hatalı düşük bulunmuştur (30-31). Bir başka çalışmada da Jaffe metodu ile ölçülen kreatinin düzeylerinin de gadolinyum alımına bağlı hatalı yüksek ölçüldüğü tespit edilmiştir (32).

Vitamin ve gıda takviyesi olarak geçen ürünler de benzer şekilde interferansa yol açabilir. Covid-19 pandemisi esnasında destek tedavi olarak yüksek dozda (>30 gr/gün) intravenöz askorbik asit verilen hastalarda yapılan bir çalışmada; hasta başı glukoz, alkali pikrat yöntemiyle ölçülen kreatinin, diazo reaksiyonu ile ölçülen bilirubin ve sodyum sonuçlarında pozitif; lipit profili testlerinde, total demir bağlama kapasitesi ve lipaz ölçümlerinde negatif yönde interferans raporlanmıştır (33).

Laboratuvar uzmanları, sonuçları yorumlarken bu olası etkileşimleri akılda tutmalı ve potansiyel interferans kaynaklarından haberdar olmak için hastaların kullandığı tüm ilaçların ve gıda takviyelerinin eksiksiz ve doğru bir kaydını elde edebilmelidir. Daha doğru sonuçlar elde edilebilmesi için hastaların kullandıkları ilaçlarla etkileşim göstermeyen alternatif bir test yöntemi veya reaktif ile ölçüm yapılmalıdır. Gıda veya takviye kaynaklı interferans durumlarında ise yapılabiliyorsa bunlar kesilmeli, aksi halde alternatif yöntemler ve reaktifler ile ölçüm yapılmalıdır (29). Kontrast madde maruziyeti durumunda kontrast maddelerin yanı

ömürlerini dikkate alarak bu hastalardan kan alınması daha güvenlidir (34).

HEMATOLOJİK TESTLERDE İNTERFERANS

Laboratuvar tıbbında sıklıkla kullanılan hematolojik testlerden hematoloji ve enfeksiyon hastalıkları başta olmak üzere birçok hastalığın tanısının konmasında, tedavi yanıtlarının ve ilaç yan etkilerinin değerlendirilmesinde yararlanılmaktadır. Hematolojik testlerde ortaya çıkacak interferans kaynaklı hatalı sonuçlar, hastaların yanlış teşhis ve tedavi almasına ya da gerekli tedavileri almamasına ve buna bağlı olarak da hastalık seyrinin ciddileşmesine neden olabilir.

Tam Kan Sayımı Analizinde İnterferans

Tam kan sayımı (CBC) analizlerinde güvenilir olmayan sonuçlar, numune özelliklerinden, anormal hücrelerden, anormal/normal hücreleri taklit eden ve bu nedenle yanlış tanımlanan durumlardan veya bunların bir kombinasyonundan kaynaklanabilir (35).

İmpedans yöntemi ile CBC yapılan bir çalışmada, oluşan in vitro hemolizin derecesine göre kırmızı kan hücresi (RBC) sayısının ve hemotokrit yüzdesinin (HCT) düşük, ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonunu (MCHC) ve trombosit sayısının (PLT) yüksek ölçüldüğü gözlenmiştir (36). Yapılan başka bir çalışmada in vitro hemolizin RBC, HCT, ortalama korpüsküler volüm (MCV) değerlerini, lenfosit, bazofil, PLT sayılarını ve ortalama trombosit hacmini (MPV) dramatik olarak etkilediği; buna karşın hemoglobin (Hb), eritrosit dağılım genişliği (RDW) değerleri, nötrofil ve eozinofil sayısında belirgin değişikliklere yol açmadığı rapor edilmiştir (37). Ayrıca CBC analizörlerinin birçoğu eritrosit Hb ile serbest Hb arasındaki farkı ayırt edemediği için CBC'de ölçülen Hb konsantrasyonu hemolizin şiddetini göstermemektedir (38).

Yüksek bilirubin konsantrasyonunda (25-35 mg/dL üzeri), spektrofotometrik interferansa dayalı yanlış yüksek Hb, MCH ve MCHC sonuçları görülebilir. Güvenilir sonuçlar elde

etmek için numune, izotonik bir solüsyonla uygun bir oranda seyreltilir ve ölçüm tekrar yapılabilir. Raporlamadan önce, yeni çalışmadan elde edilen WBC sayımı, RBC sayımı, Hb, Hct ve PLT sayımı sonuçları seyreltme oranı hesaba katılarak uygun şekilde düzeltilmelidir. MCV, MCH, MCHC ve RDW değerleri düzeltme gerektirmez (39).

Lipemi spektrofotometrik interferansa yol açarak yanlış yüksek Hb, MCV ve MCHC sonuçlarına neden olur (40). Bu durumda, tam kandan elde edilen plazma eşit hacimde izotonik solüsyonla değiştirildikten sonra numune yeniden analiz edilebilir. Alternatif olarak Hb düzeyleri lipemiden etkilenmeyen hasta başı testlerle çalışılabilir. MCH ve MCHC ölçülen Hb'den tekrar hesaplanabilir (39).

Soğuk aglütininer, eritrosit yüzeyindeki karbonhidrat bir molekül olan I antijenine spesifik, genellikle monoklonal yapıda ve sağlıklı bireylerde düşük titrelerde bulunan antikordur. Soğuk aglütinin hastalığında bu antikordur, yüzey antijenine 0-4 °C sıcaklıkta bağlanırlar, bu da eritrositlerin aglütinasyonuna neden olarak hatalı CBC değerlerinin gözlenmesine neden olur. Hb-Hct uyumsuzluğu tespit edilen 70 yaşında bir hastanın numunesi 37 derecede 2 saat inkübe edildikten sonra uyumsuzluğun ortadan kalktığı görülmüştür. Ayrıca MCV, ortalama korpüsküler hemoglobin (MCH) ve MCHC parametrelerinin soğuk aglütininden etkilendiği, ancak Hb, WBC ve PLT sayılarının etkilenmediği gözlenmiştir (41).

Bazı EDTA'lı tam kan numunelerinde görülen WBC ve PLT kümelenmesi, WBC ve PLT sayılarının yalancı düşüklüğüne neden olmaktadır. Bu numunelerde kümelenmenin periferik yayma ile doğrulanması gerekir. Numuneler vortekle karıştırılarak, 37 derecede inkübe edilerek ya da sitratlı tüpe kan alınarak yeniden çalışılabilir (42-43). Sodyum sitrat, sıvı formda olduğu için bu numuneden elde edilen sonuçlar dilüsyon katsayısına göre düzeltilmelidir. Bu numunelerden doğru sonuç elde edebilmek için kan alımını takiben 3 saat içerisinde çalışılması önerilmektedir (42).

Koagülasyon Testlerinde İnterferans

Plazma numunelerinde HIL interferansının varlığı; koagülasyon cihazlarındaki optik okuyucuların çalışmasını etkileyebilir (44). Koagülasyon testlerinden protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve fibrinojenin HIL interferansından etkilenme düzeylerini araştıran bir çalışmada PT ve fibrinojenin bu interferanslardan etkilenmediği, aPTT'nin ise hemolizli numunelerde kısalmış olarak hatalı ölçüldüğü gözlenmiştir (45). Diğer bir çalışmada ise PT ve Anti-trombin testlerinin hemolizden etkilenmezken aPTT, D-Dimer ve fibrinojenin hemolizden anlamlı düzeyde etkilendiği; ikter ve lipemi için ise her bir test için klinik anlamlılık saptanmadığı gözlenmiştir (46). Buna ek olarak D-Dimer ölçümleri, antikor temelli ölçüm yöntemine bağlı interferanslara da açıktır. Yapılan bazı çalışma ve vaka sunumlarında immünoassay analizlerde sıklıkla gözlenen heterofilik antikor interferansının, immünotürbidimetrik yöntemle analiz edilen D-Dimer testlerinde yanlış yüksek sonuçlara neden olduğu bildirilmiştir (47-49).

TAM İDRAR ANALİZİNDE İNTERFERANS

Tam idrar analizi (TİT); hızlı, güvenilir ve uygun maliyetli işlemlerle idrarın analiz edilmesidir. Fiziksel analiz (renk, bulanıklık), kimyasal analiz (glukoz, keton, bilirubin vb.) ve mikroskopik analiz (eritrosit, lökosit, kristal, silendir vb.) aşamalarını içerir. TİT; hastalığın teşhisini desteklemek, seyrini, tedavi etkinliğini ve komplikasyonları izlemek için kullanılabilir (50).

Tam İdrar Analizi Kimyasal Analizde İnterferans

TİT kimyasal analizinde idrar striplerinin birçok avantajı vardır. Bu striplerin kullanımı kolaydır, ucuzdur, hızlı sonuçlanır. Birden fazla parametre tek bir strip üzerinde

çalışılabilir, ayrıca otomatize cihazlarda ve hasta başında kullanıma oldukça uygundur. Ancak bu striplerin kullanımı klinik kararlar için tek başına yeterli değildir, çünkü ölçümü yapılan testler hastanın diyeti, kullandığı ilaçlar ve idrar kontaminasyonundan etkilenebilir (51).

Güçlü bir antioksidan olan ve diyetle sıkça tüketilen askorbik asidin (AA), üriner atılımı, 100 mg ve üzeri dozların alınmasından sonra saptanır. Birçok ticari idrar strisinde glukoz, nitrit, bilirubin ve kan gibi peroksidaz reaksiyonları ile analiz edilen testler için interferans oluşturabilen AA'nin interferansı uzun yıllardır bilinmekte ve bu nedenle de ayrı bir öneme sahiptir (52-53). Bu interferans böbrek hastalıklarının çok erken bir aşamada teşhis edilememesine veya antibiyotik tedavisi gerektiren idrar yolu enfeksiyonlarının gözden kaçmasına, teşhisin ve tedavinin gecikmesine veya etkisiz kalmasına yol açabilir (53).

TİT kimyasal analizinde interferanstan şüphelenilen test parametreleri için; idrar mikroskopisi ve/veya diğer kimyasal analizler ile doğrulama yapılmalı, idrar numunelerinin saklama koşulları incelenmeli, ayrıca klinisyen ile iletişime geçilerek interferansa yol açabilecek mevcut gıda, gıda takviyeleri ve ilaç alımı sorgulanmalı ve gerekirse yeni numune istenmelidir. Tablo 1'de tam idrar analizi sırasında karşılaşılabilecek bazı interferans nedenleri verilmiştir.

SONUÇ

İnterferanslar, çeşitli mekanizmalar ile birçok ölçüm yönteminin sonuç güvenilirliğini tehdit etmektedir. Güncel rehberler ve vaka raporları ile zenginleştirilmiş bu derleme ile interferanslar konusunda hekimlerin özellikle de mesleğe yeni başlayan klinik biyokimya uzmanlarının farkındalığını artırmak ve olası durumlarda çözümler konusunda destek olmak hedeflenmiştir.

Tablo 1. Tam İdrar Analizi testinde karşılaşılan çeşitli interferans nedenleri (50-51),(54-61)

Test	Yanlış Negatif	Yanlış Pozitif
Dansite	Alkali pH	Asidik pH İdrar proteini > 5 g/L* İdrar glukoza > 1 g/L* İdrarda üre > 1 g/L* İdrarda kontrast madde varlığı
Protein	Albuminüri dışı diğer proteinüriler Seyreltik idrar	Kuarterner amonyum bileşikleri Antiseptikler Alkali pH Yüksek dansite Hematüri Vajinal sekresyonlar
Glukoz	Alkali pH Yüksek dansite Yüksek askorbik asit Yüksek keton konsantrasyonu Uyumsuz saklanan numuneler	Asidik pH Düşük dansite Okside edici ajanlar (HOCl)
Keton	Asetoasetik asit dışı keton cisimleri Uyumsuz saklama sonucu asetoasetik asidin parçalanması	L-DOPA metabolitleri Sülfidril grubu içeren ilaçlar (Kaptopril)
Bilirubin	Askorbik asit Yüksek nitrit düzeyi Işık maruziyeti	İndikan Etodolak metabolitleri Klorpromazin Fenazopiridin
Ürobilinojen	Uygun koşulda saklanmayan numuneler** Yüksek nitrit düzeyi** Formaldehit kullanımı**	Fenazopiridin**
Nitrit	Yüksek dansite Düşük pH Askorbik asit Nitratın fakir beslenme Nitrit oluşturmeyen bakteriler İdrarın mesanede yeterince beklememesi	Fenazopiridin kullanımı Uyumsuz saklama koşulları
Lökosit Esteraz	Asidik pH Yüksek dansite Yüksek glukoz ve protein konsantrasyonu Oksalik asit Antibiyotikler (Tetrasiklin, gentamisin, tobramisin, sefalosporin)	Alkali pH Düşük dansite Formaldehit koruyucular Renkli gıdaların tüketimi (pancar) Vajinal sekresyon kontaminasyonu Güçlü okside edici ajanlar Nitrofurantoin
Kan	Yüksek dansite Askorbik asit Formaldehit Yüksek protein ve nitrit konsantrasyonu Bazı ilaçlar (Kaptopril)	Oksidan ajanlar Bakteriyel peroksidazlar (E.coli ve Lactobacillus) Menstruel-hemoroidal kanama Myoglobinüri

*Refraktometre metodu ile ölçüm sonucunu etkilemektedir.

**Diazonyum reaksiyonu metodu ile ölçüm sonucunu etkilemektedir.

Hem laboratuvar uzmanları hem de klinisyenler, ne zaman ve hangi durumda interferanstan şüphe etmesi gerektiğini bilmelidir.

Klinisyenler hastalarının klinik tabloları ile uyumsuz bir sonuç aldıklarında derhal laboratuvar ile iletişime geçmelidirler. Labora-

tuvar uzmanları da çalıştıkları cihazların yöntemlerini, kit içeriklerini, numune/kit saklama koşullarını bilmeli, hastaların klinik durumlarını, kullandıkları ilaçları, gıdaları ve takviye edici ürünleri, yaşam tarzlarını öğrenebilmelidir. İnterferansla baş etmek için

alternatif yöntemleri uygulayabilmelidir. Sonuç olarak interferans kaynaklı olası yanlış sonuçları gözden kaçırmamak, laboratuvar uzmanlarının klinisyenlerle iletişim halinde beraberce üstesinden gelebilecekleri sorumluluklarıdır.

KAYNAKLAR

1. Plebani M. Harmonization in laboratory medicine: more than clinical chemistry? *Clin Chem Lab Med* 2018;56(10):1579-86.
2. Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliği. Resmî Gazete, Sayı: 28790, 9 Ekim 2013. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/10/20131009-11.htm> (Son erişim tarihi:13.03.2024)
3. Sturgeon CM. External quality assessment of hormone determinations. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013;27(6):803-22.
4. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
5. Dimeski G. Interference testing. *Clin Biochem Rev* 2008;29(Suppl 1):43-8.
6. Nevaumont A, Deltombe M, Favresse J, Guillaume L, Chapelle V, Twerenbold R, et al. Interferences with cardiac biomarker assays: understanding the clinical impact. *Eur Heart J* 2022;43(24):2286-8.
7. Farrell CJL, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. *Ann Clin Biochem Int J Lab Med* 2016;53(5):527-38.
8. CLSI. Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline. CLSI document C56-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
9. Hawkins R. Managing the Pre- and Post-analytical Phases of the Total Testing Process. *Ann Lab Med* 2012;32(1):5-16.
10. Dolci A, Panteghini M. Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible? *Clin Chim Acta* 2014;432(October 2013):38-43.
11. Azman WNW, Omar J, Koon TS, Ismail TST. Hemolyzed specimens: Major challenge for identifying and rejecting specimens in clinical laboratories. *Oman Med J* 2019;34(2):94-8.
12. Marques-Garcia F. Methods for hemolysis interference study in laboratory medicine - a critical review. *Electron J Int Fed Clin Chem Lab Med* 2020;31(1):85-97.
13. Nicolay A, Lorec A, Gomez G, Portugal H. Icteric human samples: Icterus index and method of estimating an interference-free value for 16 biochemical analyses. *J Clin Lab Anal* 2018;32(2):1-7.
14. Kroll MH, McCudden CR. Endogenous Interferences in Clinical Laboratory Tests: Icteric, Lipemic and Turbid Samples. 1st ed. Berlin, Boston: De Gruyter; 2013.
15. Charifa A, Bunch DR, El-Khoury JM. Practical Approach to Eliminate Bilirubin Interference in Icteric Samples for Creatinine Measurement. *J Appl Lab Med* 2019;4(3):477-9.
16. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Medica* 2014;24(1):57-67.
17. Calmarza P, Cordero J. Lipemia interferences in routine clinical biochemical tests. *Biochem Medica* 2011;21(2):160-6.
18. Fernández Prendes C, Castro Castro MJ, Sánchez Navarro L, Rapún Mas L, Morales Indiano C, Arrobas Velilla T. Handling of lipemic samples in the clinical laboratory. *Adv Lab Med* 2023;4(1):5-15.
19. Quiñones-Torrelo C, Villanueva-Gil MP, Rodríguez-Muñoz A, Abellán-Tejada L, Aparici-Ibáñez M, Carratalá-Calvo A. When an Analytical Interference Is a Useful Diagnostic Tool: Finding Monoclonal Gammopathies in Routine Analysis. *J Clin Lab Anal* 2016;30(2):140-4.
20. Yılmaz NS, Sen B, Gulbahar O. Contribution of the laboratory to a diagnosis process by sequential reflective testing: Paraprotein interference on a direct bilirubin assay. *Biochem medica* 2021;31(2):351-8.
21. Ting HY, Ting IPL, Lo SC, Loh TP. Falsely low serum creatinine caused by immunoglobulin M paraprotein interference with enzymatic method. *Pathology* 2022;54(7):959-62.
22. Alberti MO, Drake TA, Song L. The pH of chemistry assays plays an important role in monoclonal immunoglobulin interferences. *Pract Lab Med* 2015;3:8-16.
23. Fliser E, Jerković K, Vidović T, Gorenjak M. Investigation of unusual high serum indices for lipemia in clear serum samples on Siemens analysers Dimension. *Biochem Medica* 2012;22(3):352-62.
24. Wong SL, Pudek M, Li D. A Spuriously High Phenytoin Level and an Abnormal Lipemic Index: When Aberrant Laboratory Results Lead to a Medical Diagnosis. *J Appl Lab Med* 2017;1(6):745-50.
25. Dimeski G, Bassett K, Brown N. Paraprotein interference with turbidimetric gentamicin assay. *Biochem Medica* 2015;25(1):117-24.

26. Brauchli YB, Scholer A, Schwietert M, Krähenbühl S. Undetectable phenytoin serum levels by an automated particle-enhanced turbidimetric inhibition immunoassay in a patient with monoclonal IgM λ . *Clin Chim Acta* 2008;389(1-2):174-6.
27. Madenci ÖÇ, Yücel N, Dağdelen LK, Temel Y, Bölük A, Kaptanağası AO. Bir paraprotein interferansı vakasının klinik laboratuvarında yönetimi. *Turkish J Biochem* 2016;41(2):127-30.
28. Burgess RR. Protein Precipitation Techniques. In: Burgess RR, Deutscher MP, eds. *Guide to Protein Purification*. 2nd ed. California: Elsevier Inc.; 2009. p.331-42.
29. Yao H, Rayburn ER, Shi Q, Gao L, Hu W, Li H. FDA-approved drugs that interfere with laboratory tests: A systematic search of US drug labels. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017;54(1):1-17.
30. Brown JJ, Hynes MR, Wible JH. Measurement of Serum Calcium Concentration After Administration of Four Gadolinium-Based Contrast Agents to Human Volunteers. *Am J Roentgenol* 2007; 189(6):1539-44.
31. Löwe A, Breuer J, Palkowitsch P. Evaluation of the effect of two gadolinium-containing contrast-enhancing agents, gadobutrol and gadoxetate disodium, on colorimetric calcium determinations in serum and plasma. *Invest Radiol* 2011; 46(6):366-9.
32. Haylor J, Vickers ME, Morcos SK. Interference of gadolinium-based contrast agents with the measurement of serum creatinine by the Jaffe reaction. *Br J Radiol* 2009;82(977):438-9.
33. Yesildal F, Isman FK. High dose ascorbic acid treatment in COVID-19 patients raised some problems in clinical chemistry testing. *Turkish J Biochem* 2020;45(5):491-8.
34. Lippi G, Daves M, Mattiuzzi C. Interference of medical contrast media on laboratory testing. *Biochem Medica* 2014;24(1):80-8.
35. De la Salle B. Pre and postanalytical errors in haematology. *Int J Lab Hematol* 2019;41(S1):170-6.
36. de Jonge G, dos Santos TL, Cruz BR, S Mackelly, Bittencourt JIM, Krum EA, et al. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. *J Clin Lab Anal* 2018;32(5):1-8.
37. Lippi G, Musa R, Avanzini P, Aloe R, Pipitone S, Sandei F. Influence of in vitro hemolysis on hematological testing on Advia 2120. *Int J Lab Hematol* 2012;34(2):179-84.
38. Lippi G, Cadamuro J, Von Meyer A, Simundic AM. Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2018;56(5):718-27.
39. Gulati G, Uppal G, Gong J. Unreliable Automated Complete Blood Count Results: Causes, Recognition, and Resolution. *Ann Lab Med* 2022;42(5):515-30.
40. Zeng SG, Zeng TT, Jiang H, Wang LL, Tang SQ, Sun YM, et al. A simple, fast correction method of triglyceride interference in blood hemoglobin automated measurement. *J Clin Lab Anal* 2013;27(5):341-5.
41. Ercan Ş, Çalışkan M, Koptur E. 70-Year old female patient with mismatch between hematocrit and haemoglobin values: The effects of cold agglutinin on complete blood count. *Biochem Medica* 2014;24(3):391-5.
42. Lardinois B, Favresse J, Chatelain B, Lippi G, Mullier F. Pseudothrombocytopenia—a review on causes, occurrence and clinical implications. *J Clin Med* 2021;10(4):1-19.
43. Anand M, Gulati HK, Joshi AR. Pseudoleukopenia due to ethylenediaminetetraacetate induced leukoagglutination in a case of hypovolemic shock. *Indian J Crit Care Med* 2012;16(2):113-4.
44. Lippi G, Plebani M, Favalaro EJ. Interference in coagulation testing: Focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia. *Semin Thromb Hemost* 2013;39(3):258-66.
45. Woolley A, Golmard JL, Kitchen S. Effects of haemolysis, icterus and lipaemia on coagulation tests as performed on Stago STA-Compact-Max analyser. *Int J Lab Hematol* 2016;38(4):375-88.
46. Montaruli B, Guiotto C, Cosseddu D. Influence of hemolysis, icterus and lipemia on coagulation tests as performed on Cobas t511 new analyzer. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2020;31(1):48-54.
47. Wu Y, Xiao Y, Huang T, Zhang X, Zhou H, Zhang X, et al. What makes D dimer assays suspicious—heterophilic antibodies? *J Clin Lab Anal* 2019;33(2):1-7.
48. Ozbalci D, Doguc DK, Yilmaz G, Ozturk O, Sirin FB, Akcam FZ. Interference of D-dimer levels from heterophilic antibody in COVID-19: A serious concern in treatment and follow-up of patients. *Int J Lab Hematol* 2022;44(1):13-6.
49. Çevlik T, Turkal R, Haklar G, Airikçi Ö. A case of falsely elevated D-dimer result. *Turkish J Biochem* 2022;47(5):686-9.
50. CLSI. *Urinalysis; Approved Guideline*. CLSI Document GP16-A33rd Ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
51. Kavuru V, Vu T, Karageorge L, Choudhury D, Senger R, Robertson J. Dipstick analysis of urine chemistry: benefits and limitations of dry chemistry-based assays. *Postgrad Med* 2020;132(3):225-33.
52. Unic A, Nikolac Gabaj N, Miler M, Culej J, Lisac A, Horvat A, et al. Ascorbic acid-A black hole of urine chemistry screening. *J Clin Lab Anal* 2018;32(5):1-8.
53. Nikolac Gabaj N, Miler M, Unic A, Milevoj Kopcinovic L, Vrtaric A, Culej J. Ascorbic acid in urine still compromises urinalysis results. *Ann Clin Biochem* 2020;57(1):64-8.
54. Strasinger SK, Schaub Di Lorenzo M. *Urinalysis and Body Fluids*. 6th ed. Philadelphia: F. A. Davis Company; 2014.

55. Riley RS, McPherson RA. Basic Examination of Urine. In: McPherson RA, Pincus MR, eds. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 24th ed. Missouri: Elsevier Inc.; 2022. p.468-509.
56. Echeverry G, Hortin GL, Rai AJ. Introduction to Urinalysis: Historical Perspectives and Clinical Application. In: The Urinary Proteome: Methods and Protocols. Vol 641. New Jersey: Humana Press; 2010. p.1-12.
57. Manoni F, Gessoni G, Fogazzi GB, Alessio MG, Caleffi A, Gambaro G, et al. Physical, chemical and morphological urine examination: Proposed guidelines for the analytical phase by the Intersociety Urinalysis Group. *Biochim Clin* 2016;40(4):353-82.
58. Fan SL, Bai S. Urinalysis. In: Clarke W, Mark A. Marzinke, eds. Contemporary Practice in Clinical Chemistry. 4th ed. London: Elsevier Inc.; 2020. p.665-80.
59. Ridley JW. Fundamentals of the Study of Urine and Body Fluids. 1st ed. Cham: Springer International Publishing; 2018.
60. Kouri T, Hofmann W, Falbo R, Oyaert M, Schubert S, Berg Gertsen J, et al. The EFLM European Urinalysis Guideline Update 2023; 2023.
61. Oyaert MN, Himpe J, Speeckaert MM, Stove V V., Delanghe JR. Quantitative urine test strip reading for leukocyte esterase and hemoglobin peroxidase. *Clin Chem Lab Med* 2018;56(7):1126-32.