



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
BURSA YÜKSEK İHTİSAS SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA  
MERKEZİ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KORONER ANJİYOĞRAFİ SIRASINDA KULLANILAN KONTRAST  
MADDENİN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER ÜZERİNDEKİ  
ANALİTİK İNTERFERANSLARI**

**Dr. Elif YALÇIN ARIKAN**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**BURSA/2025**



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**BURSA YÜKSEK İHTİSAS SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA**  
**MERKEZİ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KORONER ANJİYOGRAFİ SIRASINDA KULLANILAN**  
**KONTRAST MADDENİN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER**  
**ÜZERİNDEKİ ANALİTİK İNTERFERANSLARI**

**Dr. Elif YALÇIN ARIKAN**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kağan HUYSAL**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**BURSA/2025**

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnterferans .....	3
2.2. Koroner Anjiyografi.....	16
2.3. Kontrast Madde .....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	26
3.1. Hasta popülasyonu .....	26
3.2. Kontrast madde .....	27
3.3. Çalışma prensibi.....	28
3.4. Testlerin Analiz Yöntemleri, Kullanılan Kalibratörler, Kontrol Materyalleri ve Parametrelerin Kesinlik (Presizyon) Değerleri .....	30
3.5. İstatistiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Biyokimya ve Tam Kan Parametrelerinin Değerlendirilmesi .....	40
4.2. Kardiyak Belirteçlerin Değerlendirilmesi .....	56
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72
7. KAYNAKLAR .....	74

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, mesleki gelişimime büyük katkılar sağlayan, desteğiyle her zaman yanımda olan saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Kağan HUYSAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Mesleki bilgi ve becerilerimi geliştirmemde büyük rol oynayan, iyi bir uzman doktor ve akademisyen olmam yolunda rehberlik eden, uzmanlık eğitimim boyunca kendisinden sayısız şey öğrenme fırsatı bulduğum kıymetli hocam Prof. Dr. Yasemin ÜSTÜNDAĞ'a katkıları ve emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tez sürecimin her aşamasında destek olup yol gösteren Kardiyoloji Kliniği Eğitim Sorumlusu Prof. Dr. Hasan ARI'ya, istatistiksel değerlendirme sürecinde desteğini esirgemeyen, her türlü sorumu sabırla yanıtlayan Dr. Öğr. Üyesi Oya KALAYCIOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Veri toplama sürecinde yanımda olan ve özverili katkılarıyla çalışmama destek veren Kardiyoloji Kliniği'nden Dr. Esra AKPINAR ve Dr. Bilal AKNUR'a, süreçte emeği geçen tüm Kardiyoloji Kliniği yoğun bakım ve servis hemşirelerine teşekkür ederim.

Asistanlık sürecim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, ilgi, sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim bütün Biyokimya ailesine gönülden teşekkür ederim.

Başta Dr. Fatih YILDIRIM, Dr. Rümeyza YEŞİL, Dr. Said KARACA ve Dr. Furkan ERDOĞAN olmak üzere asistanlık süreci boyunca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, her biri birbirinden değerli tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman ve her kararında yanımda olan, sonsuz sevgileriyle beni büyütüp bugünlere getiren, varlıklarıyla bana güç ve güven veren kıymetli annem ve babama, sevgisini, desteğini her zaman yanımda hissettiğim canım kardeşime, bütün aileme en derin teşekkürlerimi sunarım.

Uzun soluklu asistanlık hayatımda her seferinde yeniden başlayarak pes etmeden el ele yürüdüğüm, sayesinde her yeni başlangıçta yeniden adım atabilme cesaretini bulduğum, hayaller kurduğum, sevgisini, desteğini her an yanımda hissettiğim yol arkadaşım, canım eşim Emre'ye sonsuz minnettarlık duyuyorum.

## KISALTMALAR

- ALT:** Alanin aminotransferaz  
**AÖ:** Anjiyografi öncesi alınan numune  
**AST:** Aspartat aminotransferaz  
**AS1:** Anjiyografiden hemen sonra alınan numune  
**AS2:** Anjiyografiden 1 saat sonra alınan numune  
**BOS:** Beyin omurilik sıvısı  
**CAT:** Clot Activator Tubes  
**CABG:** Coronary Artery Bypass Graft Surgery  
**CK-MB:** Kreatin kinaz MB (Miyokard Bandı)  
**CLIA:** Clinical Laboratory Improvement Amendments  
**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute  
**CMIA:** Kemilüminesans mikropartikül immünoassay  
**CRP:** C reaktif protein  
**CV:** Varyasyon katsayısı  
**CV<sub>A</sub>:** Analitik varyasyon  
**CV<sub>b</sub>:** between-subject variation  
**CV<sub>G</sub>:** Bireyler arası biyolojik varyasyon  
**CV<sub>i</sub>:** Birey içi biyolojik varyasyon  
**CV<sub>w</sub>:** within-subject variation  
**EDTA:** Etilendiamin tetraasetik asit  
**EFLM:** European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine  
**ERCP:** Endoskopik Retrograd Kolanjiyografi Pankreatografi  
**ESUR:** European Society of Urogenital Radiology  
**GFR:** Glomerüler filtrasyon hızı  
**GGT:** Gama glutamil transferaz  
**GKM:** Gadolinyum bazlı kontrast madde  
**HAMA:** Human anti-mouse antibodies  
**HGB:** Hemoglobin  
**hs-TnI:** high sensitivity Troponin I  
**I:** İnterferans

**II:** Bireysellik indeksi

**IFCC:** The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

**IKM:** İyot bazlı kontrast madde

**IV1:** İn vitro 1 (30 µL ioheksol eklenen tüp)

**IV2:** İn vitro 2 (60 µL ioheksol eklenen tüp)

**IV3:** İn vitro 3 (120 µL ioheksol eklenen tüp)

**İSE:** İyon Selektif Elektrot

**NIST:** National Institute of Standards and Technology

**OYD:** Ortalama yüzde değişim

**PLT:** Platelet sayısı

**RBC:** Eritrosit sayısı

**RCPA:** Royal College of Pathologists of Australasia

**RCV:** Reference Change Value

**SD:** Standart sapma

**TAH:** Total analitik hata

**TEa:** Allowable Total Error

**WBC:** Lökosit sayısı

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b> Tüm parametreler için hesaplanan total analitik hata, analitik varyasyon, birey içi ve bireyler arası varyasyon, bireysellik indeksi, %Bias, referans değişim ve %TEa değerleri .....	13
<b>Tablo 2:</b> Tam kan sayımı parametrelerinin ölçüm aralığı ve kalibrasyon verileri.....	37
<b>Tablo 3:</b> Tam kan sayımı parametrelerinin presizyon değerleri.....	37
<b>Tablo 4:</b> Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması / Tekrarlı ölçümler ANOVA testi .....	41
<b>Tablo 5:</b> Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması / Tek yönlü tekrarlı ölçümler ANOVA testi.....	41
<b>Tablo 6:</b> Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri.....	42
<b>Tablo 7:</b> Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri.....	42
<b>Tablo 8:</b> Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin in vitro ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının ortalama yüzde değişimleri.....	43
<b>Tablo 9:</b> Kardiyak parametrelerin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçüm sonuçlarının iki grup için karşılaştırılması / Tekrarlı ölçümler non-parametrik Friedman testi.....	59
<b>Tablo 10:</b> Kardiyak parametrelerin anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının iki grup için karşılaştırılması / Tekrarlı ölçümler non-parametrik Friedman testi .....	59
<b>Tablo 11:</b> Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI grubu için anjiyografi öncesi ve in vitro ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri.....	60

**Tablo 12:** Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI grubu için anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırmaları ve p değerleri.....60

**Tablo 13:** Kardiyak parametrelerin in vitro ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının anjiyografi öncesi ölçümlere göre medyan yüzde değişimleri.....61

**Tablo 14:** Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI gruplarının ikili karşılaştırması için iki grup bağımsız örneklem Mann Whitney U testi p-değerleri...61



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: İnterferograf grafiği.....	9
Şekil 2: Analitik ve biyolojik varyasyon verileri, total analitik hata denklemi.....	11
Şekil 3: İoheksol yapısal formülü.....	24
Şekil 4: İn Vivo ve İn Vitro Çalışma Yöntemlerinin Uygulama Protokolü.....	29
Şekil 5: Glukoz için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	40
Şekil 6: Kreatinin için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	44
Şekil 7: Ürik asit için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	45
Şekil 8: ALT için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	46
Şekil 9: AST için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	47
Şekil 10: Sodyum için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	48
Şekil 11: Potasyum için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	49
Şekil 12: Klorür için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	50
Şekil 13: Kalsiyum için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	51
Şekil 14: WBC için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	52
Şekil 15: HGB için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	53
Şekil 16: RBC için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	54
Şekil 17: PLT için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	55
Şekil 18: hs-Troponin I için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	57
Şekil 19: CK-MB için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	58
Şekil 20: Tüm parametreler için ioheksol interferansını gösteren interferograf.....	62

## ÖZET

### KORONER ANJİYOGRAFI SIRASINDA KULLANILAN KONTRAST MADDENİN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER ÜZERİNDEKİ ANALİTİK İNTERFERANSLARI

**Amaç:** İnterferans, numunedeki bir maddenin, analitin ölçüm sonucunu değiştirme etkisidir. İnvaziv koroner girişimlerin yaygın kullanımıyla birçok hasta kontrast ajanlara maruz kalmaktadır, ancak bu ajanların biyokimya test sonuçları üzerindeki interferans etkilerini değerlendiren çalışmalar yetersizdir ve daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, koroner anjiyografi sırasında kullanılan ioheksolün klinik biyokimya testleri üzerindeki analitik interferans etkilerini değerlendirmeyi ve kontrast madde kullanılan hastalarda bu testlerin sağlıklı şekilde ne zaman analiz edilebileceğine yönelik öneriler sunmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Prospektif olarak tasarlanan çalışmaya, 20 non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü tanısı almış ve anjiyoplasti uygulanmamış hasta ile 90 akut koroner sendrom tanısı bulunmayan ve elektif anjiyografi planlanmış hasta olmak üzere toplam 110 hasta dahil edilmiştir. Anjiyografi öncesi, hemen sonrası ve anjiyografiden bir saat sonra alınan kan örneklerinde tam kan sayımı, biyokimyasal parametreler ve kardiyak belirteçler analiz edilmiştir. Ayrıca, anjiyografi öncesi alınan numune örneklerine farklı konsantrasyonlarda ioheksol in vitro eklenerek aynı ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ortalama yüzde değişim değerleri anjiyografi öncesi sonuçlara göre hesaplanmış ve bu değerler izin verilen toplam analitik hata, %bias, %10 sınırı ve referans değişim değerleri ile kıyaslanmıştır. İstatistiksel olarak sonuçlar arasındaki farklılıklar, tekrarlı ölçümler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** İoheksolün sodyum, potasyum, klorür ve kalsiyum analizlerinde gözlenen negatif interferansı, %bias sınırları doğrultusunda değerlendirildiğinde, in vitro ilk ölçümlerden itibaren anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Glukoz, ürik asit, alanin aminotransferaz, hs-troponin I, kreatin kinaz-miyokard bandı, lökosit sayısı

analizlerinde gözlenen negatif etkisi, belirlenen interferans karar sınırlarını aşmamıştır.

**Sonuç:** Bu çalışma, ioheksolün klinik laboratuvar testleri üzerinde önemli bir interferans etkisi olduğunu göstermiştir. İnterferansın hatalı sonuçlara, yanlış tanı ve tedaviye yol açmasını önlemek amacıyla, laboratuvar testleri anjiyografi gibi radyolojik görüntülemelerde kullanılan kontrast madde enjeksiyonundan sonraki bir saat içerisinde yapılmamalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Anjiyografi, interferans, ioheksol, klinik kimya testleri, kontrast madde



## ABSTRACT

### **Analytical Interferences Of Contrast Agent Used During Coronary Angiography On Biochemical Markers**

**Objective:** Interference is the effect of a substance in the sample altering the measurement result of the analyte. With the widespread use of invasive coronary interventions, many patients are exposed to contrast agents. However, studies evaluating the interference effects of these agents on biochemical test results are insufficient and more comprehensive studies are needed. In this study, we aimed to evaluate the analytical interference effects of iohexol used during coronary angiography on clinical biochemical tests and to provide suggestions on when these tests can be analyzed reliably in patients using contrast material.

**Materials and Methods:** This prospective study included 110 patients: 20 patients diagnosed with NSTEMI who did not undergo angioplasty and 90 patients without acute coronary syndrome, scheduled for elective angiography. Complete blood count, biochemical parameters and cardiac markers were analyzed in blood samples taken before, immediately after and 1 hour after angiography. Additionally, in vitro experiments were conducted by adding different concentrations of iohexol to pre-angiography blood samples, followed by the same measurements. Mean percentage changes were calculated based on pre-angiography results and compared with allowable total analytical error, %bias, 10% limit and reference change values. The differences between the results were statistically evaluated using repeated measures analysis of variance (ANOVA).

**Results:** The negative interference of iohexol in sodium, potassium, chloride and calcium analyses was found to be significant starting with the initial in vitro measurements, based on %bias limits ( $p < 0.001$ ). The negative effect observed in glucose, uric acid, alanine aminotransferase, hs-troponin I, creatine kinase-myocardial band, leukocyte count analyses did not exceed the predetermined interference decision limits.

**Conclusion:** This study has demonstrated that iohexol has a significant interference effect on clinical laboratory tests. To prevent interference from leading to erroneous results, misdiagnosis, and inappropriate treatment, laboratory tests should not be performed within one hour after the injection of contrast agents used in radiological imaging, such as angiography.

**Keywords:** Angiography, clinical chemistry tests, contrast agent, interference, iohexol



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnterferans, numunede bulunan bir maddenin, ölçülen analitin doğru ve güvenilir sonucunu değiştirme etkisi olarak tanımlanır (1). Klinik laboratuvarların temel hedefi, güvenilir ve yüksek doğrulukta sonuçlar elde etmektir. Kan, BOS, idrar, tükürük ve sinoviyal sıvı gibi vücut sıvılarında bulunan endojen/eksojen bileşikler, analitin doğru ve güvenilir bir şekilde tespit edilmesine engel olabilir (1). Klinik uygulamalarda, hastaların tanı ve tedavi süreçlerinde hekimlerin en etkin şekilde değerlendirme yapabilmesi amacıyla, radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuvar testleri birlikte kullanılmaktadır. Radyolojik görüntüleme ve girişimsel işlemler sırasında kontrast madde kullanıldığından dolayı, klinik biyokimya testleri ile görüntüleme yöntemlerinin ideal olarak birkaç gün arayla yapılması önerilmektedir. Ancak, hastalara hızlı tanı konulması ve tedavinin erken başlatılabilmesi amacıyla, kan örneklerinin radyolojik görüntüleme işlemlerinin hemen ardından alınması gerekebilir. Görüntüleme ve girişim amacıyla uygulanan kontrast maddeler, laboratuvar analizlerinde eksojen interferantlar kategorisinde sınıflandırılmaktadır (2).

Analitik süreçlerde interferans, farklı mekanizmalar aracılığıyla test sonuçlarını etkileyebilir. Kimyasal artefaktlar, interferantların reaktiflerle etkileşime girerek reaksiyonları etkilemesi veya analitin yapısını değiştirmesiyle ortaya çıkabilir. İnterferantların ve analitin ölçüm sistemlerinin benzer fiziksel özellikler gösterdiği tespit artefaktları, numune matriksinin özelliklerini değiştirdiği fiziksel artefaktlar ve çapraz reaksiyonlar analit konsantrasyonunda sapmalara neden olabilir. Ayrıca, numune işleme sırasında ortaya çıkan matriks etkisi ve sulu fazda meydana gelen değişiklikler de ölçüm sonuçlarını olumsuz etkileyebilir. Fotometrik interferans, dilüsyon etkileri ve katkı maddesi etkileri de interferans mekanizmaları arasında yer almakta olup, analitik süreçlerin doğruluğu ve güvenilirliğini olumsuz yönde etkileyen kritik faktörlerdir (3).

İnterferans üzerine yapılan çalışmalar genellikle hemoliz, ikter ve lipemi gibi serum indekslerine odaklanmaktadır (4). Bu çalışmalar, interferansın etki düzeylerini belirlemek amacıyla, numunelerin alikotlarına farklı konsantrasyonlarda interferan

madde eklenmesi üzerine tasarlanmıştır (3, 5). Ayrıca kılavuzlarda analitin farklı konsantrasyon seviyelerinde interferans çalışmalarının yapılması gerektiği bildirilmiştir (3).

Koroner anjiyografi, aterosklerotik koroner arter hastalığının belirlenmesi, kapak ve diğer yapısal anomalilerin tanımlanması ve hemodinamik parametrelerin değerlendirilmesinde altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir (6). Koroner anjiyografi, invaziv bir prosedür olup kontrast madde kullanımı ve radyasyon maruziyeti gerektirmesine rağmen, koroner arter hastalığı tanısı konmuş veya risk altındaki birçok hastanın tanı ve tedavi sürecinde rutin olarak uygulanmaya devam etmektedir (7).

İnvaziv koroner girişimlerin tanı ve tedavide yaygın olarak kullanılması, birçok hastanın kontrast ajanlara maruz kalmasına neden olmuştur. Bununla birlikte, kontrast maddelerinin varlığı çeşitli klinik laboratuvar testlerinde interferansa yol açabilir. Kontrast maddelerin laboratuvar test sonuçları üzerindeki potansiyel etkilerine yönelik mevcut çalışmaların sınırlı olması, bu alanda daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır (8, 9).

Tıbbi kullanımı onaylanmış ve güncel klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılan kontrast maddelerin analitler üzerindeki interferans etkisini değerlendiren 29 çalışma, ESUR (European Society of Urogenital Radiology) ve EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) komiteleri tarafından ortak bir kılavuz halinde derlenmiş ve yayımlanmıştır. Çeşitli klinik laboratuvar testlerinin, kullanılan kontrast maddeye veya analiz yöntemlerine bağlı olarak interferanstan etkilendiği tespit edilmiştir (8).

Bu çalışmada, koroner anjiyografi sırasında kullanılan non-iyonik radyografik kontrast madde ioheksolün klinik laboratuvar testlerinde yol açtığı analitik interferansları değerlendirmeyi ve bu süreçte test parametrelerinin ne zaman ve nasıl analiz edilebileceğine dair öneriler sunmayı amaçladık. Araştırmanın sonunda, anjiyografi sonrası kan tetkiklerinin sağlıklı bir şekilde gerçekleştirilebileceği ideal zaman aralıklarını belirlemeyi hedefledik. Böylece, doğru zamanda alınan numunelerle interferansa bağlı hataların önlenmesi ve elde edilen bulguların, aynı kontrast maddenin kullanıldığı alanlar için rehber niteliğinde olması beklenmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnterferans

#### 2.1.1. İnterferansın Tanımı

İnterferans, numunedeki başka bir bileşenin veya özelliğın, ölçülen analitin konsantrasyonunda klinik olarak anlamlı bir sapmaya yol açan etkisi olarak tanımlanır. Ölçümde oluşan yanlılık, ölçüm sisteminin spesifik olmaması, ölçülen analitin inhibe edilmesi veya aktive edilmesi, bir indikatör reaksiyonunun baskılanması gibi etkenler ile numuneye bağılı çeşitli diğerk faktörlerden kaynaklanabilir (3). Ayrıca interferans, bir bileşenin ölçüm sisteminde doğrudan bir sinyal üretmeden sistematik bir hataya neden olması olarak da tanımlanmaktadır (10). Bu tanım analit bulunmadığında interferantın etkisini ve hemoliz, ikter ile lipemi gibi yaygın interferansları kapsamadığı için yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, interferansın kapsamlı tanımı, “Numunede bulunan bir maddenin, genellikle analitin konsantrasyonu veya aktivitesi olarak ifade edilen sonuçların doğru değerini değıştirme etkisi” olarak derlenmiştir (1).

Kontrast maddelerin laboratuvar testleri üzerinde klinik açıdan önemli bir interferansa neden olduğı ve bunun potansiyel olarak olumsuz sonuçlara yol açabileceğı, birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır. Kullanılan analitik yöntem ve kontrast maddenin türüne bağılı olarak pozitif veya negatif interferans oluşabilir (8).

İnterferans çalışmaları genellikle hemoliz, ikter ve lipemi gibi serum indeksleri üzerine yoğunlaşmıştır (4). Son yıllarda koroner anjiyografi oranlarının artmasına rağmen, anjiyografide kullanılan kontrast maddelerin interferansına yönelik çalışmaların sınırlı olması, bu alanda araştırma yapma gerekliliğini ortaya koymuş ve çalışmamızı şekillendirmiştir.

#### 2.1.2. İnterferansın Sınıflandırılması

İnterferans yaratan maddeler, esas olarak endojen ve eksojen olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır:

**Endojen interferans**, biyolojik numunelerde doğal olarak bulunan ya da canlılardan türeyen bileşenlerden kaynaklanır. Bu bileşenler arasında metabolik ürünler, hemoliz sonucu serbest kalan hemoglobın, bilirubin, lipitler, proteinler, otoantikörler veya heterofilik antikörler, yüksek analit konsantrasyonları ve çapraz reaksiyon gösteren maddeler bulunmaktadır (4, 11, 12).

Hemoliz, ikter ve lipeminin neden olduğu interferans, biyokimyasal analizlerde en sık incelenen etkileşimlerden biridir. Bu interferanslar arasında, hemoliz diğerlerine kıyasla daha fazla analiti etkilemektedir (4).

Protein interferansları; büyük ölçüde paraproteinlerle ilişkilidir ve başlıca IgM ile IgG bu süreçte rol oynar. Spektrofotometrik, immünonefelometrik ve immünotürbidimetrik yöntemler dahil olmak üzere çeşitli otomatik testlere müdahale edebilir. Glukoz, total bilirubin, GGT, fosfat, HDL-kolesterol ve CRP gibi parametrelerin ölçümünü etkileyebilir (13, 14).

İmmünoassay interferansları ise daha karmaşık yapıya sahiptir, genellikle tespit edilmesi ve çözüm üretilmesi zordur (15). Bu interferanslar, genellikle poliklonal yapıda olan insan anti-hayvan antikörlerinden kaynaklanmakta olup, bu antikörler arasında en sık insan anti-fare antikörleri (HAMA) bulunmaktadır. Otoimmün hastalıklarda görülen otoantikörler, heterofil antikör benzeri özellikler gösteren romatoid faktörler, sandviç immünoassay testleri bozan heterofil antikörler da endojen interferans nedenleri arasında yer almaktadır (4).

Analit konsantrasyonunun çok yüksek olması ve geniş ölçüm aralıkları, *Hook etkisi* 'ne neden olabilir ve bu da hatalı şekilde düşük sonuçların elde edilmesine yol açabilir. Sıklıkla miyoglobın, insan koryonik gonadotropini (hCG), prolaktin, idrar albümini gibi analitlerin ölçüldüğü testlerde gözlemlenir (15).

**Eksojen interferans**, biyolojik numunelerde doğal olarak bulunmayan ve laboratuvar işlemleri sırasında eklenen ya da maruz kalınan maddelerden kaynaklanan bir interferans türüdür. Bu maddeler arasında intravenöz tedavi ajanları, kimyasallar, doğal ürünler, numune toplama sırasında kullanılan silikon tüp tıpası veya jel ayırıcı gibi sistem bileşenleri yer alabilir. Ayrıca, antikoagülanlar (örneğin heparin, EDTA, tamponlanmış sodyum sitrat) veya pıhtılaşmayı hızlandırmak amacıyla kullanılan

enzimler (örneğin trombin), numune taşıma, depolama veya santrifüj işlemleri sırasında oluşabilecek kontaminasyonlar ve *carry over* (taşıma kontaminasyonu) bu tür interferanslara neden olabilir (4, 16).

Taşıma interferansı, genellikle analitik sistemin, yüksek konsantrasyona sahip önceki örnekten veya reaktiften kalan analiti; prob, karıştırıcı veya küvet gibi yıkama işlemleri sırasında tamamen temizleyememesi durumunda ortaya çıkar (4, 17).

Laboratuvarlarda analizörlerle birlikte kullanılan eksternal ve internal kontrol, kalibrasyon materyalleri genellikle plazma bazlı olup ilgili analitlere özel hazırlanmaktadır. Eklenen eksojen bileşikler genellikle analiz yöntemleri ile interferans yapar. Kalibrasyon ve kontrol materyallerinde bileşiklerin konsantrasyonlarının aynı lot süresince sabit olması, bu tür interferansların tespit edilmesini güçleştirmektedir (1).

İlaç interferansı, ilacın veya metabolitlerinin kimyasal çapraz reaksiyonlarından, test reaksiyonunun ilaç ve metabolitleri tarafından baskılanmasından veya aktive edilmesinden, ilacın veya bileşenlerinin kromojen ile benzer absorpsiyon dalga boylarına sahip olduğu spektrofotometrik mekanizmalardan kaynaklanabilir (4, 18).

Antikoagülasyon, glikolizin inhibisyonu veya vakumlu tüp tıpasının sızdırmazlığını sağlamak amacıyla eklenen katkı maddelerinin interferansa neden olduğu belirlenmiştir. Glikolizi inhibe etmek için kullanılan iyodoasetatın kreatinin kinaz ölçümünü, silikonla kaplanan tüp tıpasının numune ile kontaminasyonunun ise iyon-seçici elektrot yöntemiyle magnezyum ölçümünü etkilediği gösterilmiştir (1).

### 2.1.3. İnterferans Mekanizmaları

İnterferans mekanizmasının anlaşılması, reaksiyon süreçlerini inceleyerek interferansı tahmin etmeyi ve önlemeyi sağlar (19). Analitik süreçler, interferantların etkisiyle çeşitli şekillerde bozulabilir:

- **Kimyasal artefaktlar:** İnterferant, reaktiflerle rekabet ederek reaksiyonun baskılanmasına, indikatör reaksiyonlarının engellenmesine veya ölçülen

maddenin kompleksleşme ya da çökelme yoluyla yapısının değişmesine neden olabilir (3).

- **Tespit artefaktları (Saptama hataları):** İnterferant, floresans, renk-ışık saçılması veya elektrot yanıtı gibi tespit edilip ölçülebilen özellikler açısından, ölçülen maddeye benzer özelliklere sahip olabilir (3).

- **Fiziksel artefaktlar:** İnterferan madde, numune matriksinin yüzey gerilimi, viskozite, bulanıklık, iyonik güç gibi özelliklerini değiştirerek, ölçülen analit konsantrasyonunda değişiklik yapabilir (3).

- **Enzim inhibisyonu:** İnterferant, metal aktivatörlerini bağlayarak, sülfidril gruplarını okside ederek ya da katalitik bölgeye bağlanarak ölçülen madde veya reaktif enzimin aktivitesini değiştirebilir. Ayrıca interferan madde enzimatik ölçüm prosedürlerinde substratla yarışabilir (3).

- **Nonselectivity (Seçici olmama):** İnterferan madde, analit ile benzer şekilde reaksiyon yapabilir (3).

- **Çapraz reaksiyon:** Antijene yapısal olarak benzeyen interferan madde, immünokimyasal ölçüm prosedüründe antikorla “çapraz reaksiyon” yapabilir, bu da seçici olmama mekanizması olarak değerlendirilebilir. Çapraz reaktivite yanıtının derecesi, immünokimyasal yöntemin seçiciliğinin değerlendirilmesinde önemli iken; interferansa karşı duyarlılığın değerlendirilmesinde yararlı değildir (3).

- **Matriks etkisi:** Numunenin işlenmesi sırasında ortaya çıkan ve belirli bir kimyasal bileşene atfedilemeyen analiz sonuçlarında değişikliklere yol açan faktörlerdir. Numunede bulunan tanımlanamayan faktörlerin, materyalin hazırlanma sürecini etkileyerek çözeltinin yapısında değişikliklere yol açması ve bu durumun analiz sonuçlarını etkilemesi olarak da ifade edilebilir. Bu etkiler, çözelti kaynağı (örneğin, hayvan veya insan serumu), sodyum azid gibi koruyucular, asetilsistein gibi stabilize ediciler, liyofilizasyon ve donma gibi fiziksel işlemlerden kaynaklanabilir (1, 20).

- **Suyun yer değiştirmesi:** Lipoproteinler gibi akışkan olmayan maddeler, sulu plazma hacminde değişiklik yaparak aktiviteye bağlı ölçümleri etkileyebilir (3).

- **Aditif madde etkisi:** Hücre lizisi gibi durumlarda hücrelerden salınan ya da intravenöz sıvılardan oluşan etki olarak değerlendirilir. Hücrelere ait olup, hücrelerden salınan analitler, interferant olarak kabul edilmezler (3).
- Ayrıca interferan madde ve ölçülen analitin absorpsiyon-emisyon piklerinin çakıştığı fotometrik interferans ile tanısal uygulamalarda farklı miktardaki infüzyon sıvısından kaynaklanan dilüsyon etkileri de diğer mekanizmalara örnek verilebilir (16).

#### 2.1.4. İnterferans Etkisinin Değerlendirilmesi

İnterferans etkisinin değerlendirilmesinde ilk adım, interferansın hangi yöntem veya analizöre bağlı olarak ortaya çıkabileceğini belirlemektir. Üreticinin yöntem özelliklerinin detaylı bir şekilde değerlendirilmesi ile araştırmalara başlanabilir. Ardından kılavuzlara uygun olarak interferans test prosedürü tasarlanabilir (4).

İdeal olarak, interferans araştırmaları, gerçek süreçleri taklit etmeli ve ilgilenilen analitin en az iki farklı düzeyinde, interferans yapan maddenin artan konsantrasyonları test edilmelidir. Analitin bu düzeylerinden biri kritik bir karar noktası olmalıdır. Bu karar noktası, teşhis, tedavi ve hasta yönetimini doğrudan etkileyebilecek kritik konsantrasyon seviyesini ifade eder. Bazı kılavuzlar, tıbbi karar noktalarını belirlerken referans aralığının alt ve üst sınırlarını esas alırken, referans aralığından bağımsız olarak sabit bir veya birden fazla konsantrasyon değerini kullanan yaklaşımlar da bulunmaktadır (3). İnterferansın değerlendirilmesinde başvurulan temel yaklaşımlar aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

**2.1.4.1. Referans ve alternatif yöntemlerle analiz:** Bir analitte interferansı doğrulamanın en güvenilir yolu, interferansın olmadığı bilinen farklı bir yöntemle analiti ölçmektir. Bu amaçla genellikle bir referans yöntem kullanılır; ancak, interferantın bu yöntemi etkilememesi gereklidir. Bununla birlikte, çoğu laboratuvarında bu tür yöntemlerin bulunmaması yaygın bir sorundur. Örneğin, atomik absorpsiyon yöntemi laboratuvarlarda yaygın olarak bulunmamasına rağmen; kalsiyum ölçümü çoğu kompleksometrik yöntemin aksine atomik absorpsiyon yönteminde sitrat tarafından etkilenmez (1).

Alternatif yöntemde ise, aynı numune farklı bir ölçüm tekniğiyle test edilir. Sonuçlar arasındaki fark, interferansın varlığını gösterebilir. Sonuçlar benzer ise ya interferans bulunmamaktadır ya da interferans her iki yöntemi de benzer şekilde etkilemektedir. Yöntemler arasındaki metodolojik farklılık ne kadar büyük olursa, interferansın tespit edilme olasılığı o kadar artar. Örneğin, kreatinin ölçümünde Jaffe yöntemi ile interferans oluşturan bir madde, kreatinin amidohidrolaz enzimi kullanılan enzimatik yöntemde genellikle interferansa neden olmaz (1, 3).

**2.1.4.2. İnterferant ekleme testi:** Aynı numunenin alikotlarına interferans potansiyeli taşıyan bir maddenin artan konsantrasyonlarda eklenmesi esasına dayanır. Bu yöntem, belirli bir ölçüm yönteminde interferansın varlığını ve derecesini belirlemek için kullanılır. Elde edilen sonuçlar, doğrusal regresyon analizi ile değerlendirilir. Regresyon eğiminin istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermesi, interferansın varlığını desteklemektedir. Glick ve arkadaşları, çeşitli analizörlerde endojen interferansların etkilerini kapsamlı bir şekilde ele alan çalışmalar yayımlamışlardır (5, 21, 22).

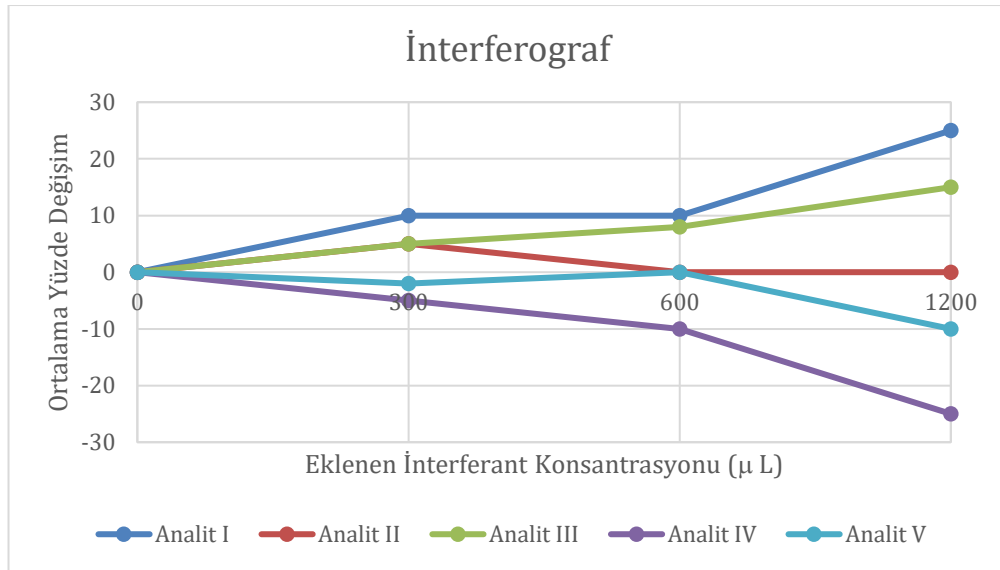
Numuneye bilinen miktarlarda interferant eklenerek sonuçtaki değişikliklerin analizi yapılır. Klinik kimya testlerine yönelik interferans etkisi *in vitro* olarak değerlendirilirken, eklenen interferantın konsantrasyonunun seçimine dikkat edilmelidir. Eklenen maddenin konsantrasyonlarına verilen yanıtın doğrusal olmayabileceği göz önünde bulundurularak, sistemin tüm aralık boyunca farklı konsantrasyonda test edilmesi gereklidir. Bu yaklaşım, interferans etkisinin kapsamlı ve güvenilir bir şekilde değerlendirilmesini sağlayacaktır (5).

İnterferans çalışmalarının ideale uygun gerçekleştirilebilmesi için, hedef analitin en az iki farklı konsantrasyon seviyesinde değerlendirilmesi gerektiği CLSI EP07 interferans kılavuzunda bildirilmiştir (3). Genel mekanizmayı anlamak son derece önemlidir, çünkü interferans çalışmalarının yalnızca tek bir analit konsantrasyonu üzerinde yapılması, analit ve interferantın klinik açıdan önemli düzeylerinde interferansın yeterince değerlendirilememesine neden olabilir. Örnek verecek olursak, hemoglobin ölçümünde bilirubin düzeyleri 32.5  $\mu\text{mol/L}$ 'nin altında olduğunda pozitif interferans, üzerinde olduğunda negatif interferans tespit edilirken, 32.5  $\mu\text{mol/L}$  olan bilirubin düzeylerinde interferans gözlenmez. Farklı analit

konsantrasyonları kullanan araştırmacılar, farklı sonuçlara ulaşabilir ve bu durum uyumsuzluklara veya yanlış anlamalara yol açabilir (23).

İnterferans çalışmalarında hem interferant hem de analiz edilen maddenin konsantrasyonu, interferansın derecesini doğrudan etkileyebilir. Bu nedenle, CLSI (3) interferans kılavuzunda belirtildiği gibi, ölçülen maddenin konsantrasyonları klinik karar süreçlerini etkileyebilecek seviyeleri temsil edecek şekilde seçilmelidir. Tıbbi karar noktaları, klinik tanı ve tedavi süreçlerinde kritik öneme sahip olup, referans aralıklarının sınırları veya klinik kılavuzlarda belirtilen eşik değerler göz önünde bulundurularak belirlenebilir. İnterferans değerlendirmelerinde, serum, plazma ve tam kan numunelerinde analitin en yüksek konsantrasyonunun en az üç katı test edilmesi önerilmektedir. Ancak, interferantların vücut sıvılarına yüksek konsantrasyonlarda eklenmesi, çözünürlük veya numune hazırlama sürecindeki fiziksel sınırlamalar nedeniyle her zaman mümkün olmayabilir (3).

Glick ve arkadaşlarının (5) yaptığı çalışmalarda interferans etkisi; analite interferantın eklenmesiyle elde edilen yeni sonuç ile orijinal sonuç arasındaki farkın, yine orijinal sonuca oranlanmasıyla gösterilir. **Ortalama yüzde değişim (OYD)** değerleri olarak nitelendirebileceğimiz bu değerler ile analite eklenen interferans konsantrasyonlarına göre oluşturulan doz-cevap grafikleri '**İnterferograf**' olarak adlandırılmıştır (5). Örnek bir interferograf grafiği **Şekil 1**'de gösterilmiştir.



**Şekil 1:** İnterferograf grafiği (X eksen: İnterferans konsantrasyonu, Y eksen: % Değişim)

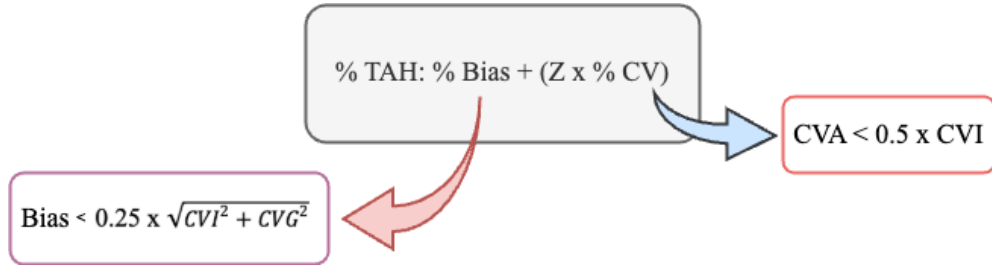
Bu grafiklerde genellikle kullanılan ölçek %0 ile %200 arasında değişmektedir ve %100 çizgisinin çevresindeki  $\pm \%10$ 'luk alan, interferansın kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu bölge olarak belirlenmiştir. Ayrıca, bu çizginin etrafındaki %3'lük alanda interferans etkisinin ihmal edilebilir seviyede olduğu kabul edilmektedir (5, 21). CLSI tarafından yayımlanan EP7-A2 kılavuzu, interferansın derecesini değerlendirmek amacıyla “doz-cevap” serilerinin oluşturulmasını esas alan bu yaklaşımı önermektedir (3). Kit üreticileri ve klinik laboratuvarlar, interferans çalışmalarında genellikle %10 sınırını referans olarak kullanmaktadırlar (24). Tüm analitler için tamamen uygun olmaması nedeniyle, daha rasyonel bir yöntem benimsemek adına analite özgü kriterlerin belirlenmesi daha uygun bir yaklaşım olacaktır. CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) (25), CAP (College of American Pathologists) ve RCPA (Royal College of Pathologists of Australasia) gibi uluslararası kuruluşlar, laboratuvar testlerinin güvenilirliği ve doğruluğunu sağlamak amacıyla birçok test için toplam izin verilen hata sınırlarını (TEa) belirlemiş ve çeşitli rehberler yayımlamıştır (26). Biyolojik varyasyona dayalı limitler ise Ricos ve arkadaşları (27) tarafından geliştirilmiş ve bu veriler, EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) tarafından bir araya getirilmiştir (28). Güncel olarak birey içi ve bireyler arası varyasyonda türetilen toplam hata, imprecizyon ve bias için istenen spesifikasyonlar Westgard veri tabanında birleştirilmiştir (29). Bazı araştırmacılar, analite özgü kriterleri belirlemek adına bu kuruluşların belirlediği analitlere yönelik TEa sınırlarını referans almışlar ve analitin bu sınırı aşmaması ölçütünü benimsemişlerdir (30). Ülkemizde ise, Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü bünyesindeki Tıbbi Laboratuvar Daire Başkanlığı tarafından oluşturulan Analitik Standardizasyon ve Harmonizasyon Komitesi, 15 parametre için izin verilen en yüksek varyasyon katsayısı (% CV) ve TEa değerlerini belirlemiştir (31). Belirlenen Westgard, CLIA ve Türkiye TEa verileri **Tablo 1**'de gösterilmiştir.

Westgard, toplam analitik hatayı (TAH) sistematik hata ve rastgele hatanın toplamı olarak tanımlamış, **% TAH: % Bias + (Z x % CV)** formülünü kullanmıştır (32). Biyolojik varyasyon verileri de dikkate alınarak, formüle edilen izin verilen toplam hataya göre analitik presizyonun, birey içi biyolojik varyasyonun yarısından az veya ona eşit olması gerektiği beklenmektedir (33, 34). Biasın  $0.25x\sqrt{CVI^2 + CVG^2}$

değerinden; izin verilen toplam hatanın bias ve ( $Z \times \%CV$ ) toplamından daha düşük olması hedeflenmektedir (34). Bu denklemler **Şekil 2**'de formüle edilmiştir;

$$[ \%95 \text{ güven aralığı ile } TAH < (0.25 \times \sqrt{CVI^2 + CVG^2}) + 1.65 \times (0.5 \times CVI)]$$

(CVI: Birey içi biyolojik varyasyon, CVG: bireyler arası biyolojik varyasyon)



**Şekil 2:** Analitik ve biyolojik varyasyon verileri, total analitik hata denklemini

**Toplam izin verilebilir hata (TEa, Allowable Total Error):** Bir test sürecinde oluşan hataların, ilgili test sonucu için kabul edilebilir limitler arasında olduğunu değerlendiren analitik kalite spesifikasyonudur (35).

**2.1.4.3. Delta kontrolü:** Hastanın güncel test sonuçları, önceki sonuçlarla karşılaştırılarak sapmalar belirlenir. Bu yöntem, hastada gerçek biyolojik değişiklikleri belirlemenin yanı sıra, numune tanımlama hataları, uygunsuz antikoagülan kullanımı, intravenöz sıvılar ve antikoagülan gibi kontaminasyonlar, hemoliz, ikter, lipemi ve kontrast madde gibi çeşitli interferanslar dahil olmak üzere preanalitik ve analitik hataları tespit etmek için kullanılır. Ayrıca numune hazırlama, cihazlar ve reaktiflerle ilgili sorunları ortaya çıkarmada da yardımcı olur. Delta kontrol yaygın olarak, mutlak değişim, yüzde değişim ve bu değişim değerlerinin günlere bağlı hızlarının hesaplanmasına dayalı formüller kullanılarak elde edilmektedir (36).

Mutlak Değişim:  $\text{Mevcut Sonuç} - \text{Önceki Sonuç}$

Yüzde Değişim:  $\frac{\text{Mevcut Sonuç} - \text{Önceki Sonuç}}{\text{Önceki Sonuç}} \times 100$

Delta kontrolleri, numune etiketleme hatalarının tespitinde önemli bir yöntem olarak ortaya çıkmış ve bu amaçla yaygın olarak kullanılmıştır (37). Ancak bazı araştırmalar, delta kontrol uyarılarının çoğunlukla preanalitik süreçlerde meydana geldiğini göstermektedir. Bu uyarıların oluşumunda intravenöz tedaviler, hemoliz, lipemi ve sarılık gibi eksojen ve endojen interferanslar, diğer preanalitik faktörlere kıyasla daha büyük bir rol oynamaktadır (38, 39).

Ayrıca delta kontrol limitlerinin belirlenmesinde kullanılan yaklaşımlar arasında, analitik varyasyon ve birey içi biyolojik varyasyon katsayılarının kullanılarak hesaplandığı referans değişim değeri öne çıkan yöntemlerden biridir (40).

**Referans Değişim Değeri (RCV):** Bir bireyde, aynı analite ait ardışık iki ölçümün arasındaki farkın istatistiksel ve klinik olarak anlamlı olup olmadığını belirler. Bu farkın klinik anlamını ifade eden sayısal değer referans değişim değeri olarak adlandırılır, analitik (CVA) ve birey içi biyolojik varyasyon katsayıları ile hesaplanır (36, 40).

$$RCV = Z \times \sqrt{2} \times \sqrt{CVA^2 + CVI^2}$$

Z skoru, istenen olasılık düzeyine göre standart sapma sayısını ifade eder. Referans değişim değeri hesaplamalarında, %95 ve %99 olasılık düzeyleri için tek yönlü Z değerleri sırasıyla 1.65 ve 2.33, çift yönlü Z değerleri ise 1.96 ve 2.58 olarak kullanılmaktadır ve bu formüldeki  $\sqrt{2}$  ardışık iki ölçümü temsil etmektedir (41, 42).

Bir bireyin ardışık iki ölçümü arasındaki fark referans değişim değerini aşıyorsa, ölçüm sonuçları referans aralığında bulunsada dahi, istatistiksel ve klinik olarak anlamlı kabul edilir (43).

**Bireysellik İndeksi (II-Index of Individuality):** Laboratuvarında ölçülen analit değerlerinin referans aralıkları ile değerlendirilmesinin klinik uygunluğunu belirleyen parametredir. Bir analit için referans değişim değerinin kullanılıp kullanılmayacağı, o analitin bireysellik indeksi temel alınarak değerlendirilir. Birey içi biyolojik varyasyonun, bireyler arası varyasyona oranıdır (CVI/CVG). İndeks değerinin azaldığı, diğer bir deyişle bireyselliğin arttığı analitlerin değerlendirilmesinde, referans değişim değeri kullanımı daha uygun bir yöntemdir. Ancak, indeks değerinin 1.4'ten büyük olduğu durumlarda, popülasyona dayalı referans aralıklarının tercih edilmesi daha doğru bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (44-46).

**Tablo 1: Tüm parametreler için hesaplanan total analitik hata, analitik varyasyon, birey içi ve bireyler arası varyasyon, bireysellik indeksi, %Bias, referans değişim ve %TEa değerleri**

Parametre	CVA	CVI	CVG	II	%RCV**	%Bias***	%TAH	%TEa <sup>1</sup>	%TEa <sup>2</sup>	%TEa <sup>3</sup>
Glukoz	2.59	4.6	8.1	0.57	14.63	2.34	5.26	6.96	11	8
Kreatin	4.09	4.4	16.2	0.27	16.65	3.96	8.90	8.87	20	10
Ürik Asit	7.98	8.1	22.4	0.36	31.51	4.87	16.90	11.97		10
ALT	4.32	11.4	35.2	0.32	33.79	11.48	10.19	27.48	20	15
AST	4.26	8.6	19.4	0.44	26.60	6.54	10.26	16.69	20	15
Sodyum	1.07	0.5	0.7	0.71	3.27	0.23	4.27	0.73	9	±4mmol/L
Potasyum	2.22	3.9	5.3	0.74	12.44	1.81	7.23	5.61	9	±0.3mmol/L
Klorür	1.73	1	1.3	0.77	5.54	0.5	3.41	1.5	9	5
Kalsiyum	8.69	1.8	2.7	0.67	24.60	0.82	18.84	2.55		±1.0mg/dL
hs-TnI	4.62	12.7	35.7	0.36	37.45	16.32	12.78	27.91		30
CK-MB	12.06	18.4 <sup>1</sup>	61.2 <sup>1</sup>	0.30	60.97	14.88	24.09	30.06		25
WBC	2.22	11.1	17.2	0.65	31.37	6.05	5.83	15.49		10
HGB	0.73	2.7	6.2	0.44	7.75	1.84	1.99	4.19		4
RBC	1.72	2.8	7	0.40	9.11	1.7	3.91	4.4		4
PLT	3.9	7.3	16.3	0.45	22.94	5.9	12.63	13.4		25

\* CVI ve CVG değerleri; CK-MB için Westgard QC, diğer parametreler için EFLM veri tabanından elde edilmiştir.

\*\* RCV hesaplanmasında, %95 güven aralığı için Z skoru 1.96 olarak kabul edilmiştir.

\*\*\* %Bias değerleri için Westgard biyolojik varyasyon veri tabanı kullanılmıştır.

%TEa değerleri, <sup>1</sup>Westgard, <sup>2</sup>Türkiye Sağlık Bakanlığı ve <sup>3</sup>CLIA veri tabanından elde edilmiştir.

#### 2.1.4.4. İnterferans Karar Sınırları

Diğer bir yaklaşım orijinal sonuçlardan sapmayı belirlemek amacıyla karar sınırları oluşturmaktır (4). CLSI EP07 interferans kılavuzuna göre bu sınırlar, interferans çalışmasının objektif olması amacıyla, çalışma öncesinde belirlenmelidir. Değerlendirici, ölçüm sonuçlarının tıbbi kullanımına bağlı olarak, hangi büyüklükteki analitik etkinin interferans olarak kabul edileceğini belirler. Bir interferans testinin uygun şekilde tasarlanması, tıbbi olarak anlamlı kabul edilen farkın boyutuna bağlıdır. Bununla birlikte, kabul kriterlerinin belirlenmesi sürecinde tıbbi önem ile istatistiksel anlamlılık arasındaki ayırım net bir şekilde yapılmalıdır; çünkü her iki unsur, anlamlı ve uygulanabilir kriterler oluşturmak için kritik öneme sahiptir (3). Bu doğrultuda, ortalama yüzde değişimlerin ve interferans karar sınırlarına göre düzenlenen interferografların kullanımının, çalışmamız için daha uygun bir yaklaşım olacağını öngördük.

Literatürde, kabul edilebilir sapma sınırlarına dair öneriler şu şekilde sunulmaktadır:

- Glick ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda orijinal sonuçtaki %3 ila %10 arasında bir sapma, interferans olduğunu doğrular ve % 10 interferans için kabul edilebilir bir sınır olarak belirlenir (5, 47).
- Vermeer ve arkadaşlarının (48) yaptığı diğer bir çalışmada OYD değerinin, yöntemlere göre karşılaştırılmasında enzimatik ve potansiyometrik yöntemler için %5, diğer yöntemler için ise %10, interferans karar sınırı olarak değerlendirilir.
- İnterferant eklenmiş analitin sonucu ile orijinal sonuç arasındaki fark, *paired t-testi* kullanılarak analiz edilir,  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlıdır ve interferans varlığına işaret eder (49).
- Preissner ve arkadaşları (50), immünoassay yöntemlerde interferant eklenen analitin sonucu ile orijinal sonuç arasındaki farkın  $> 5$  SD olmasını heterofil antikor interferansı olarak kabul etmiştir.
- Sapma sınırları, toplam analitik hata değerlendirmesinde kullanılan varyasyon katsayısı ve bias gibi analitik verilerle birlikte, birey içi biyolojik varyasyon dikkate alınarak belirlenir (32, 51, 52).

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), interferansı kabul edilebilir olarak değerlendirmek için; total analitik hata, presizyon, bias gibi analitik performans özellikleri ile analiz edilen parametrenin fizyolojik değişkenliğinin de dikkate alındığı daha geniş kapsamlı bir yaklaşımı benimsemiştir. Bu durumda, CLSI interferansı değerlendirirken, toplam analitik hata miktarından analitik ve fizyolojik değişkenlikler çıkarıldığında kalan hata miktarını kabul edilebilir sınır olarak belirlemektedir (3).

Bu yaklaşımla, interferansın kabul edilebilir sınırını belirlemek için analitik ve biyolojik varyasyon verilerine dayalı çeşitli denklemler geliştirilmiştir:

- **İnterferans (I) < Z x  $\sqrt{CVA^2 + CVI^2}$** , denkleminin için %95 güven aralığında Z değeri için 1.96 kullanılmaktadır (53, 54). (CVA: Analitik varyasyon katsayısı, CVI: Bireysel biyolojik varyasyon (CVw: *within-subject variation*))

- **I < 0.375 x  $\sqrt{CVI^2 + CVG^2}$**  denkleminde birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon verileri kullanılmıştır (55). (CVG: Bireyler arası biyolojik varyasyon (CV<sub>b</sub>: *between-subject variation*)) Gaussian istatistiklere dayalı bu denkleminde, referans aralığı dışında kalan popülasyon oranının normal koşullarda %5 olması beklenirken; bu oranın %6,7 veya daha üzerine çıkması, interferansın varlığını göstermektedir (45).

- **CVA ≤  $\frac{CVI}{2}$**  hedefinin sağlandığı ve ideal olarak sistematik hatanın minimal olarak kabul edildiği [**I < CVI – (1.96 × CVA + Bias)**] denkleminin bazı araştırmacılar tarafından kabul edilmiştir. Eğer analitik varyasyon, birey içi biyolojik varyasyonun yarısından büyükse, analitik varyasyonun test sonuçlarındaki değişkenliğini %10'dan fazla etkilediği düşünülür (56).

**Analitik varyasyon (CVA):** Ölçüm belirsizliği, bias, presizyon gibi analitik sürecin doğal özelliklerinden kaynaklanan varyasyon olarak ifade edilir (34).

**Biyolojik Varyasyon (BV):** Yaşam süresi ve ritmik biyolojik döngülerden kaynaklanabileceği gibi, birçok analitin biyolojik çeşitliliğinin fizyolojik bir denge noktası etrafında meydana gelen rastgele dalgalanmalar olarak tanımlanabilir (45, 57).

**Birey İçi Biyolojik Varyasyon (CVI):** Bireylerin biyolojik denge noktaları etrafında gerçekleşen ortalama rastgele dalgalanmalardır (57).

**Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon (CVG):** Bireylerin belirlenmiş homeostatik denge noktaları arasındaki farklılık olarak tanımlanmaktadır (57).

İnterferans çalışmalarında, Ricos ve arkadaşlarının (27) biyolojik varyasyon verilerine dayanarak Westgard veri tabanında (29) belirlenen  $\pm$  %bias spesifikasyonunu aşan ortalama yüzde değişim değerleri, anlamlı interferans olarak kabul edilmektedir. Birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon verileri kullanılarak üretilen, istenilen toplam izin verilebilir hata (TEa) ise klinik açıdan interferansın önemini değerlendirmek için temel bir ölçüt olarak kullanılabilir. Güncel çalışmalar ortalama yüzde değişimleri değerlendirirken %bias sınırını kullanmayı önermektedir (58). Literatürde, interferans kriteri olarak Glick ve arkadaşlarının (5) belirlediği %10'luk karar sınırının yaygın bir şekilde kabul edildiği ve sıklıkla referans gösterildiği gözlemlenmiştir. Proctor ve arkadaşlarının (59) gadolinyum interferansını incelediği çalışmada, çizilen absorbans-*recovery* grafiklerinde interferans sınırları; kalsiyum ve klorür için %5, sodyum için %2 ve diğer tüm analitler için %10 olarak belirlenmiştir. Bu sınırlar bazı analitler için TEa sınırlarını karşılarken, bazı analitler için ise Glick ve arkadaşlarının belirlediği %10'luk eşik değerini oluşturmaktadır. Vermeer ve arkadaşları (48) ise potansiyometrik ve enzimatik ölçümler için %10 sınırı yerine %5 karar sınırını kullanmışlardır.

Bu çalışmada, interferograflar kullanılarak ortalama yüzde değişimlerin değerlendirilmesinde, interferans karar sınırı için %bias sınırı temel alınmıştır.

## **2.2. Koroner Anjiyografi**

İnvaziv (katater tabanlı) koroner anjiyografi, koroner arter hastalıklarının tanı ve değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntemlerden biri olup, klinik karar alma ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir (60, 61). Teknik olarak radyopak kontrast maddenin koroner arterlere enjeksiyonundan sonra lümen yapısının görüntülenmesi ile uygulanır. Koroner damarların anatomisinin incelenmesi, mevcut lezyonların tanımlanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi,

perkütan koroner girişimler veya cerrahi tedavi seçeneklerinden en uygun olanının seçilmesinde önemli rol oynar. Ayrıca perkütan koroner girişimler sırasında prosedürün güvenli ve etkin bir şekilde yapılmasına olanak tanır (62, 63). Koroner anjiyografinin yaygın kullanımı, koroner arter cerrahisinin hızlı bir şekilde ilerlemesine katkı sağlamıştır. Bu işlem, yalnızca koroner arter hastalığının değil, aynı zamanda koroner arterlerin konjenital anomalilerinin, koroner arteriovenöz fistüllerin ve cerrahi greftlerin değerlendirilmesinde de yararlanan bir metot haline gelmiştir (64).

**Optimal Anjiyografi:** Giriş bölgesine yerleştirilen plastik bir kılıf aracılığıyla ilerletilen özel kateterlerle sağ ve sol koroner arter ostiumlarına, arterin tam dolumunu sağlayacak uygun volüm ve hızda kontrast madde enjekte edilir; böylece koroner arterler ve dalları farklı açılardan ayrıntılı bir şekilde görüntülenmeye çalışılır. Yeterli miktar ve hızda kontrast madde uygulaması, işlemin optimal olup lezyonların doğru değerlendirilebilmesi ve hasta güvenliğini riske atacak çeşitli komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Çok hızlı ve güçlü enjeksiyonlar diseksiyon riskini artırabileceğinden; kontrast madde enjeksiyonuna düşük hızla başlanır ve görüntüleme sonuçlarına göre volüm ve hız kademeli olarak artırılabilir. Sol koroner arter sisteminin değerlendirilmesinde, genellikle 6-7 ml kontrast maddenin 2 ml/sn hızla uygulanmasıyla yeterli sonuçlar elde edilirken; sağ koroner arterde daha az miktarda kontrast maddeyle etkili bir görüntüleme sağlanabilmektedir. Elde edilen radyolojik görüntüler, sine-anjiyografi yöntemiyle bir film üzerine kaydedilerek analiz edilir. Eğer koroner arterler arasında kollateral akım varlığı değerlendirilecekse görüntüleme süresi uzatılmalıdır (63, 64).

Hastanemizde gerçekleştirilen anjiyografi işlemlerinde, yaklaşık 30 dakika içerisinde 60 mL ioheksol enjekte edilmekte ve sine görüntüleme yapılarak işlem tamamlanmaktadır. Perkütan girişim gerektiren durumlarda veya by-pass'lı hastalarda kullanılan kontrast madde miktarı ve işlem süresi uzamaktadır.

## **2.3. Kontrast Madde**

### **2.3.1. Kontrast Madde Tanımı, Önemi ve Kullanım Alanları**

Kontrast maddeler; bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme, radyografi ve anjiyografi gibi çeşitli görüntüleme tekniklerinde vücut dokusu veya organların arasındaki farklılıkları belirginleştirerek daha net görüntüler elde edilmesini sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. En uygun kontrast madde, dokulara en yüksek konsantrasyona ulaşırken, herhangi bir olumsuz etki oluşturmayan ajan olarak değerlendirilebilir (65, 66). Kontrast ajanları, anjiyografi gibi alanlarda kan damarlarını görselleştirmek veya farklı organların parankim yoğunluğunu arttırmak amacıyla geniş bir kullanım alanına sahiptir (67).

Kontrast maddelerin, kardiyovasküler hastalıklardan nörolojik bozukluklara kadar uzanan geniş bir klinik yelpazede kullanım alanı mevcuttur. Örneğin; kardiyovasküler sistemde anjiyografi işlemi esnasında kan damarlarının izlenmesi ve olası tıkanıklıkların tespit edilmesi amacıyla kullanılan kontrast maddeler, aynı zamanda onkoloji alanında da yaygın olarak kullanılmaktadır ve tümörlerin daha net görüntülenmesinde önemli bir rol üstlenmektedir. Bu kullanım alanları, çeşitli tıbbi yaklaşımlarda kontrast maddelerin oynadığı kritik rolü ortaya koymaktadır (67).

Hastaların tanı, izlem ve tedavi süreçlerinde etkili bir değerlendirme sağlamak amacıyla, laboratuvar testleri ve radyolojik görüntüleme gibi kontrast madde kullanılan işlemler sıklıkla eşzamanlı veya ardışık olarak uygulanmaktadır (8). Bu işlemlerin önemi göz önüne alındığında, kontrast maddelerin endotel, kan ve bileşenleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalara yönelim artmıştır (68).

### **2.3.2. Kontrast Maddelerin Sınıflandırılması ve Farmakolojik Özellikleri**

Kontrast madde sınıfında en sık kullanılan ajanlar arasında gadolinyum bazlı kontrast maddeler (GKM) ve iyot bazlı kontrast maddeler (IKM) yer almaktadır (16).

**İyot bazlı kontrast maddeler;** ilk olarak 1950'lerde klinik uygulamaya giren, günümüzde en sık ve en etkili biçimde kullanılan ajanlardır (69). Genellikle intravenöz yollarla kullanılır; intraarteriyel, intraabdominal ve intratekal yoldan da kullanımları mevcuttur. Yan etkilerinin hafif ve kendini sınırlayıcı olması nedeniyle kullanımı genellikle güvenlidir (70).

Üç iyotlu benzen halkası içeren tüm iyotlu kontrast maddelerde, 3 iyot atomu benzen halkasının 2, 4 ve 6. pozisyonlarına kovalent bağlarla bağlıdır ve böylelikle molekülün boyutunun artması sağlanarak uzun dalga boylu X ışınları zayıflatılır, serbest iyottan kaynaklı yan etki riski azaltılır (71). Benzen suda çözünemeyen toksik bir molekül iken, 1. karbon atomuna asit grubu eklenmesiyle benzoik asit oluşur ve hidrofilik özellik kazanır. İyotlu kontrast ajanlar, 3 iyotlu benzen halkası sayısına göre monomer veya dimer, karboksil grubu içermesine göre ise iyonik veya non-iyonik olarak sınıflandırılır. İyonik monomer/dimer, non-iyonik monomer/dimer olmak üzere her birinin farklı özellikleri, toksisitesi ve klinik kullanımları olan dört gruptan oluşur. İyonik ajanlar, hücre membranındaki elektriksel etkilerinden dolayı daha toksiktir. *Diatrizoat* gibi iyonik monomerlerin X ışınlarını azaltma etkileri yeterli olmadığı için yüksek konsantrasyonlarda kullanılırlar ve bundan dolayı hiperozmolar olarak da isimlendirilmektedirler. *İoxaglate* gibi iyonik dimerler ve *ioheksol*, *iopromid* gibi non-iyonik monomerler düşük ozmolariteli grupta değerlendirilir. Kullanımı en kolay ve güvenilir olarak değerlendirilen grup ise *iodixanol* gibi izoozmolar ajanlardan oluşan non-iyonik dimerlerdir (71, 72).

**Gadolinium bazlı kontrast maddeler;** sıklıkla manyetik rezonans görüntüleme için kullanılan ajanlardır. Eşleşmemiş elektronlarından dolayı iyonik formdaki Gadolinium ( $Gd^{+3}$ ) paramanyetik özelliklere sahiptir ve bu nedenle manyetik rezonans uygulamaları için uygundur. Düşük çözünürlüğe sahip olan  $Gd^{+3}$  iyonları toksiktir ve polibazik organik maddelerle şelatlanmasıyla toksisitesi azalırken, suda çözünürlüğü artar. Gadolinium bazlı kontrast maddeler, hidrofilik büyük moleküller olmakla birlikte renal yollarla elimine edilirler. *Gadobenat dimeglumin* ve *gadoksetat disodyum* gibi  $Gd^{+2}$  iyonları içeren kontrast ajanlar daha lipofilik olduklarından hepatobiliyer sistem ile vücuttan uzaklaştırılır. Gadolinium bazlı kontrast maddeler, yapılarına göre lineer veya makrosiklik, özelliklerine göre ise

iyonik veya non-iyonik olarak sınıflandırılır. *Gadodiamid* ve *gadoversetamid* gibi lineer ve non-iyonik olan ajanlar en az stabil olanlardır. *Gadoteridol*, *gadobutrol* ve *gadotere meglumin* gibi iyonik veya non-iyonik olmayan, makrosiklik ajanlar ise tüm gadolinyum bazlı kontrast maddelerin en stabil olanlarıdır. Ara kararlılıktaki gadolinyum bazlı kontrast maddeler *gadopentetat dimeglumin*, *gadobenat dimeglumin*, *gadoxetat disodyum* ve *gadofosveset trisodyum* gibi iyonik ve lineer olanlardır (73-76).

### 2.3.3. Kontrast Maddeler ve İnterferans Mekanizmaları

Analitlerin ölçümünü etkileyen çok sayıda endojen ve eksojen interferant ile her yöntem için kullanılan çok sayıda reaktifin ve cihazın varlığı, interferansları öngörme gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu öngörüü sağlamak için reaksiyonların izlediği mekanizmaların anlaşılması büyük önem taşımaktadır. İnterferans mekanizmaları spesifik veya genel, kimyasal veya analitik olabilir. Analitik mekanizmalar, interferantın davranış biçimini açıklarken; kimyasal mekanizmalar, fiziksel, biyokimyasal, organik ve inorganik kimya prensiplerinden yararlanarak reaksiyonları ayrıntılı şekilde tanımlar. İnterferans mekanizmaları sıklıkla genel analitik mekanizmalar olarak ele alınır, analiti veya analit ürünlerini içerip içermemesine bağlı olarak da analit bağımlı veya analit bağımsız olarak sınıflandırılır. Bu sınıflandırmayı ayırt edebilmek amacıyla, interferantın en az dört farklı konsantrasyonunda analit düzeyi ölçülerek çok değişkenli regresyon analizi uygulanabilir (23, 77, 78).

Analit bağımlı mekanizmalarda interferans varlığı, sistemin özgüllüğünün yetersiz olduğunun bir göstergesidir. Tek bir analit konsantrasyonunda yapılan interferans çalışmaları klinik olarak anlamlı değildir, interferansın gözden kaçırılmasına neden olabilir (23).

### **2.3.3.1. İyot Bazlı Kontrast Maddeler ve İnterferans**

İyonik veya non-iyonik iyotlu kontrast maddelerin kan bileşenleri üzerinde çok sayıda etkiye sahip olduğu ve bu etkilerin, kontrast maddelerin elektriksel yükleri, kimyasal yapısı, uygulandıkları çözeltinin ozmolalitesi ve viskozitesi nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir. Farklı kontrast ajanlar, kandaki birçok parametre üzerinde farklı etkiler gösterir (68).

İyotlu kontrast maddelerin laboratuvar testleri üzerindeki interferans etkisinin yanı sıra, örneğin bütünlüğü ve kalitesi üzerine de olumsuz etkileri olabilir (16). Kontrast madde varlığından dolayı kanın yoğunluğunun değişmesi ile hücre ayırıcı jelin özellikleri de değişebilir ve bu da hatalı serum toplanmasına yol açıp cihazlarda pipet tıkanması gibi mekanik sorunlara yol açabilir (79-81).

İyotlu kontrast maddelerin biyoyumluluğu, iyonik ajanların moleküllerinde bulunan karboksil grupları olmak üzere, kimyasal özellikler ve ozmolalite tarafından belirlenmektedir. Non-iyonik maddelerde ise biyoyumluluğu belirgin bir şekilde arttıran ve sitotoksisiteyi önemli ölçüde azaltan nedenlere, bu maddelerde karboksil gruplarının bulunmaması ve hidrofiliği artıran çok sayıda hidroksil grubunun varlığı gösterilebilir. Yüksek ozmolariteliler başta olmak üzere tüm iyonik kontrast maddeler, enzimler üzerinde daha belirgin etkilere sahiptir ve non-iyonik ajanlara göre proteinler ve lipitlere daha yüksek afinite gösterirler (82, 83).

İyotlu kontrast maddelerin kapiller zon elektroforez-spektrofotometrik (CZE-UV) yöntemlerle belirlenen idrar ve kan monoklonal protein ölçümünde interferansa yol açtığı bildirilmiştir (84). Bu yöntemde kontrast ajan, UV ışığını proteinlerdeki peptit bağları ile benzer dalga boylarında emer, yalancı pozitifliğe neden olur. Buna karşılık, bazı çalışmalarda monoklonal protein pikinin maskelenerek yanlış negatif sonuçlar oluşturabileceği de gösterilmiştir (85).

### **2.3.3.2. Gadolinyum Bazlı Kontrast Maddeler ve İnterferans**

Laboratuvar testlerinde, yaygın olarak kullanılan testlerden daha spesifik testlere kadar geniş bir spektrumda çeşitli interferans türleri tanımlanmıştır (16, 86). Kontrast maddeler için klinik açıdan en anlamlı interferans, gadolinyum bazlı kontrast

maddelerin kolorimetrik testler kullanılarak yapılan serum kalsiyum ölçümleri üzerindeki etkisi olarak saptanmıştır (8).

En sık interferans gösteren kontrast ajanlar için *Gadodiamid* ve *Gadoversetamid* örnek verilebilir (87-89). Bu ajanlar günümüzde kullanılmamakla birlikte, kontrast maddenin lineer/makrosiklik ve iyonik/non-iyonik gibi moleküler özelliklerine bakılmaksızın interferansa neden olduğu gösterilmiştir (90).

Gadolinium bazlı kontrast maddelerin kolorimetrik kalsiyum ölçümlerinde negatif interferansa yol açtığı tespit edilmiştir (91). Farklı gadolinium bazlı kontrast maddeler ve yöntemlerle yapılan çalışmalarda, özellikle *Gadodiamid*'in terapötik konsantrasyonlarda o-kresolftalein kompleksin (OCP) yöntemiyle negatif, yüksek konsantrasyonlarda ise arsenazo-III yöntemiyle pozitif interferansa yol açtığı doğrulanmıştır (92). Yine yetişkin gönüllülerde yapılan benzer kalsiyum interferans çalışmalarında *Gadodiamid* ve *Gadoversetamid*'in, uygulamadan sonraki ilk saat içerisinde OCP yöntemiyle ölçülen kalsiyum seviyelerini, önemli ölçüde azalttığı, ancak diğer yöntemlerde bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (93).

Gadolinium bazlı kontrast maddelerin kalsiyum ölçümünde yaptığı interferansın mekanizması,  $Gd^{+3}$  iyonlarının ligandından ayrılması ve analiz sürecinde kullanılan kromofor ile kompleksleşmesi olarak öngörülmektedir (94). Ayrıca bu ajanların kolorimetrik kalsiyum ve çinko analizlerinde negatif, toplam demir bağlama kapasitesi ve magnezyum analizlerinde ise pozitif interferans yaptığına yönelik çalışmalar mevcuttur. *Gadopentetat dimeglumin*'in demir analizinde, *Gadoteridol*'ün ise kolorimetrik çinko analizinde negatif interferansa yol açtığı da bu çalışmaların bulguları arasında yer almaktadır (59).

#### **2.3.4. Kontrast Maddelerin Atılımı ve Yan Etkileri**

Kontrast maddeler, glomerüler filtrasyon yoluyla ve bazı gadolinium bazlı kontrast maddeler hepatobiliyer yollarla elimine edilirler. Normal böbrek fonksiyonlarında ( $GFR \geq 90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ ) tüm kontrast maddelerin yarı ömrü yaklaşık 2 saat olarak belirlenmiştir. Renal yetmezlik tanılı hastalarda ( $GFR < 30 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ ) bu süre 30 saate kadar uzayabilir. Altı atılım yarı ömrü sonunda,

başlangıç konsantrasyonunun yaklaşık %1.5'ine kadar bir seviyeye ulaşarak neredeyse tam bir eliminasyon gerçekleşmiş kabul edilir (8, 95).

İyotlu kontrast maddeler plazma proteinlerine düşük oranda bağlanıp, değişmeden renal yollarla atılırlar. Renal fonksiyonu bozulmuş olan hastalarda *ioxanol* ve *ioheksol* atılımı sırasıyla 23 saat ve 27.2 saat, *gadodiamid* için ortalama 34 saat olarak tespit edilmiştir (71, 72, 96).

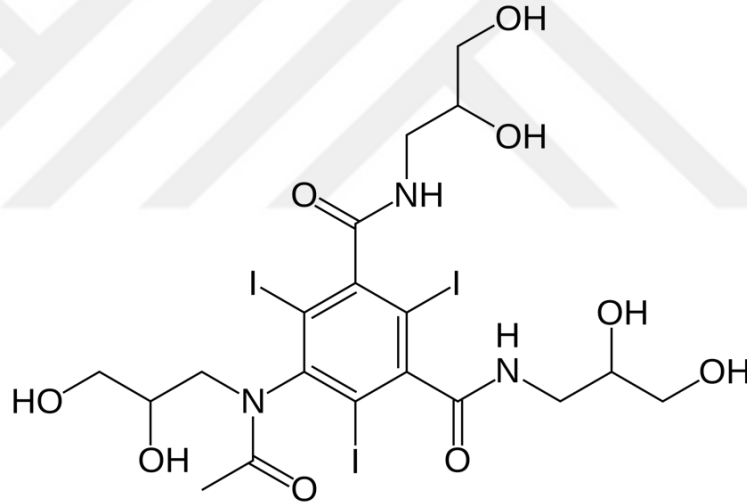
Kontrast madde yan etkileri idiosenkratik veya kemotoksik olarak kategorize edilebilir. Anafilaksi benzeri, anaflaktoid olarak değerlendirilen idiosenkratik reaksiyonlar, maddenin dozundan veya konsantrasyonundan bağımsız olarak öngörülemez bir biçimde gerçekleşmektedir. Anafilaksi benzeri reaksiyonların büyük bir kısmı, aktif mediyatörlerin salınımıyla ilişkilendirilmektedir. Diğer yandan kemotoksik reaksiyonlar, kontrast maddenin viskozite, ozmolalite, suda çözünürlüğü, sodyum içeriği ve kalsiyum bağlaması gibi fizyolojik özellikleri içerir (97).

Kanın ozmolaritesinin 7-8 katı ozmolariteye sahip yüksek ozmolariteli iyot bazlı kontrast maddelerin, ozmolariteleriyle ilişkili olarak ciddi yan etkilere yol açtığı bildirilmiştir (98). Renal toksisite, bozulmuş hemodinami, kardiyak ritim ve fonksiyon bozukluklarının iyotlu kontrast maddelerinin yüksek ozmolalitesi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Yüksek ozmolaliteli bir kontrast ajanın dolaşıma enjekte edilmesi, interstisyel sıvıdan suyun çekilmesine ve bunun sonucunda kan hacminde artışa yol açabilir. Bu durum özellikle kalp yetmezliği tanısı olan hastalarda semptomların şiddetlenmesine yol açabilir (99).

Kontrast maddelerin kullanımından önce çeşitli risk faktörlerinin farkında olunması ve bu faktörlerin varlığının değerlendirilmesi, advers reaksiyonların erken tanınmasını ve hızlıca tedavi edilmesini mümkün kılar. Kontrast maddelerin en önemli yan etkileri arasında aşırı duyarlılık reaksiyonları, tiroid fonksiyon bozuklukları ve kontrast madde nefropatisi bulunmaktadır (100).

### 2.3.5. Çalışmada Kullanılan Kontrast Ajan: İoheksol

Moleküler formülü  $C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$ , moleküler ağırlığı 821.14 g/mol olan, kimyasal adı N,N'-Bis(2,3-dihidroksipropil)-5-[N-(2,3-dihidroksipropil)-asetamido]-2,4,6-triiodoizofthalamid olarak ifade edilen ioheksol, %46.36 oranında iyot içeriğine sahiptir. Aynı zamanda beyaz renkli, kokusuz bir toz olan ioheksol, su ve metanolde büyük ölçüde çözünürken, eter ve kloroformda çözünmez. Erime noktası 174-180°C arasındadır. İoheksol, yetişkin ve çocuklarda miyelografi, artrografi, ürografi, anjiyokardiyografi, sol ventrikülografi, serebral ve periferik arteriyografi, intravenöz dijital subtraksiyon anjiyografisi, periferik venografi, bilgisayarlı tomografi ve gastrointestinal radyografik görüntüleme kullanım alanına sahiptir (101). İoheksolün yapısal formülü Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3: İoheksol yapısal formülü

İoheksolde bulunan organik iyot bileşikleri, vücutta X-ışınlarını bloke ederek iyot içeren anatomik yapıların belirginleşmesini sağlar, bu opaklığın derecesi, uygulanan kontrast maddenin hacmi ve konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Kullanım alanı ve uygulama yöntemine bağlı olarak görüntülenmesi hedeflenen yapılar değişiklik gösterir. Örneğin, koroner anjiyografide intravasküler uygulamadan sonra, görüntülenmek istenen alandaki damarlar opak hale gelir ve böylelikle hemodilüsyon

oluşana kadar değerlendirilebilir. İohexsolün intratekal yarı ömrü ortalama 3.4 saat iken, normal glomerüler filtrasyon hızına sahip hastalarda intravasküler yarı ömrü yaklaşık 2 saattir (102).

Bütün tanısal prosedürlerde, uygun görüntüleme sağlamak amacıyla mümkün olan en düşük etkin hacim ve konsantrasyonun kullanılması önerilmektedir. Yetişkinlerde olası yan etkileri azaltmak için intratekal uygulamalarda toplam 3.060 mg iyot dozu veya 300 mgI/mL konsantrasyonun aşılması; pediatrik anjiyokardiyografide ise tekrarlayan enjeksiyonlarla toplam dozun 4 mL/kg ya da 100 mL'yi geçmemesi önerilmektedir. Ürografide kullanılan kontrast madde dozajı ise, yetişkinlerde 80 mL'yi; bebeklerde toplamda 3.0 mL/kg'yi ve çocuklarda 1.5 mL/kg veya 50 mL'yi aşmamalıdır. Ayrıca yine çocuk hastalarda bilgisayarlı tomografi ve dijital subtraksiyon anjiyografisi uygulamalarında sırasıyla maksimum 40 mL ve 30 mL kontrast madde kullanılması uygundur. Bebeklerde, özellikle tekrarlayan enjeksiyonlardan sonra, yetişkinlere kıyasla konvülsiyon, aritmi, apne, elektrolit ve hemodinamik bozuklukların ortaya çıkma olasılığı daha yüksektir. Çoğu prosedür, genellikle maksimum toplam dozun kullanılmasını gerektirmez. Hekimin klinik değerlendirmesi doğrultusunda yeniden kontrast ajan uygulaması gerekli görüldüğünde, işlemler arasında yeterli bir bekleme süresi tanınması gerekli görülmektedir. Yüksek dozların intravasküler enjeksiyonunu takiben geçici veya kalıcı nörolojik değişikliklerin ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (101, 103).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta popülasyonu

Bu prospektif çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Bilimleri Etik Kurulu'ndan 06.03.2024 tarih 2024-TBEK 2024/03-01 numaralı karar ile onay alınmıştır (Bkz. Ek 1).

01.04.2024 ile 01.09.2024 tarihleri arasında anjiyografi işlemini kabul eden ve yazılı onamları alınan 73'ü erkek ve 37'si kadın olmak üzere toplamda 110 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastalardan 20'si (14 erkek, 6 kadın) non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü (NSTEMI) tanısı almıştır ve bu hastalara anjiyografi sonucuna göre koroner arter bypass (CABG) cerrahisi önerilmiş veya medikal tedavi takibi planlanmıştır. Diğer 90 hasta (59 erkek, 31 kadın) ise akut koroner sendrom (AKS) tanısı bulunmayan, angina tanısı nedeniyle elektif anjiyografi planlanan bireylerdir. Kardiyoloji polikliniğine veya acil servise başvurup anjiyografi kararı alınan bu hastalardan işlem öncesi, işlem bitiminde ve işlem bitiminden 1 saat sonra kan örnekleri alınmış, bu örneklerden in vivo ve in vitro çeşitli analizler gerçekleştirilmiştir.

Endokrin bozukluk, sistemik enfeksiyon veya inflamatuvar hastalık (örneğin endokardit, miyokardit, romatoid artrit), hematolojik veya onkolojik hastalık tanısı bulunan; travma öyküsü ya da alkol, uyuşturucu veya ilaç bağımlılığı olan; alerjik reaksiyon geçmişi bulunan; renal veya hepatik yetmezlik tanısı almış ve son 7 gün içerisinde kontrast maddeye maruz kalmış hastalar, çalışma dışı bırakılmıştır.

İnterferans birden fazla interferantın eş zamanlı etkili olduğu durumlarda oldukça karmaşık bir hal alabilir. Örneğin, ikter ve hemoliz aynı anda kreatinin enzimatik yöntemi üzerine etki edebilir, bu durumda hemogloblin negatif interferansa, bilirubin ise pozitif interferansa neden olur (23). Bu nedenle hemoliz, ikter ve lipemi indeksi yüksek olan numuneler çalışmaya dahil edilmedi. Çalışma sürecinde yaklaşık 20 hasta hemoliz, anjiyografide stent uygulama gibi nedenlerden dolayı çalışma dışı

bırakıldı. Hemoliz, ikter ve lipemi indeksleri sırasıyla 100 mg/dL, 5 mg/dL ve 100 mg/dL'nin altında olan numuneler çalışmaya dahil edildi. Ayrıca hastalar, ilaç kullanımı gibi diğer eksojen interferans varlığı dikkate alınarak seçildi.

### 3.2. Kontrast madde

Hastanemizde koroner anjiyografi işlemlerinde rutin olarak non-iyonik, düşük ozmolar iyot bazlı kontrast madde olan ioheksol (Omnipol 300 mgI/mL; Polifarma İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., Tekirdağ, Türkiye) kullanılmaktadır. Omnipol'ün konsantrasyonu 300 mgI/mL, ozmolalitesi 37°C'de 0,64 Osm/kg H<sub>2</sub>O, ölçülen viskozitesi 20°C'de 11,6 mPa.s (mili Paskal saniye), 37°C'de ise 6,1 mPa.s olarak tespit edilmiştir. Omnipol, her mililitresinde 300 mg iyoda eşdeğer 647 mg ioheksol içermektedir. Aynı zamanda her bir mililitrede 0,012 mg sodyum içerdiği ifade edilmiştir (103). Hastanemizde elektif anjiyografi işlemlerinde tüm hastalara standart olarak 60 mL kontrast madde uygulanmaktadır. Ancak, AKS tanısı alan hastalarda bu miktar 120 mL'ye kadar çıkabilmektedir. Çalışmamız, anjiyografi sırasında 60 mL ioheksol kullanılan hastalar üzerinde gerçekleştirilmiştir.

İoheksolün eklenmesi ile kanın yoğunluğu değiştiğinde, vakumlu tüplerdeki jelin hücre ayırıcı özellikleri değişebilir ve böylelikle örneğin bütünlüğü ve kalitesi etkilenebilir. Bu durum, plazma veya serumun doğru şekilde ayrıştırılamamasına yol açarak sonuçların hatalı değerlendirilmesine neden olabilir (16, 79-81). Spiritus ve arkadaşları (81), iyotlu kontrast maddelerden ioheksol uygulamasının hemen ardından hastalardan alınan kan örneklerini analiz etmişlerdir. Santrifüj işlemi sonrasında, jel içeren tüplerde jelin plazma ile çökelti arasında kalması beklenirken, plazmanın üst kısmına çıktığını gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışmada, yaklaşık 60-80 mL ioheksol enjeksiyonunun jel bariyer oluşumunda interferansa neden olabileceği rapor edilmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada potansiyel mekanik sorunları ve serum numunesinin elde edilmesi sırasında oluşabilecek kontaminasyonları engellemek amacıyla kırmızı kapaklı BD Vacutainer CAT (Clot Activator Tube, REF 368815, Franklin Lakes, NJ, USA) kuru tüpleri kullanılmıştır.

### 3.3. Çalışma prensibi

Çalışma sırasında, anjiyografi işlemi öncesinde hastalardan antekubital venden yaklaşık 15 mL kan, steril enjektör ile alındı. Alınan kan, her biri 2,5 mL olacak şekilde, 4 adet kırmızı kapaklı BD Vacutainer CAT tüpü ve 1 adet mor kapaklı K3-EDTA (Potasyum-Etilendiamin tetraasetik asit) içeren vakumlu tüpe (REF: 70664, Ayset Tıbbi Ürünler San. A.Ş., Adana, Türkiye) paylaştırıldı (**Şekil 4**). Kırmızı kapaklı tüpler sırasıyla anjiyografi öncesi, in vitro 1 (IV1), in vitro 2 (IV2) ve in vitro 3 (IV3) olarak adlandırıldı. Anjiyografi öncesi (AÖ) olarak adlandırılan tüpe ioheksol eklenmedi. IV 1 tüpüne 30 µL, IV 2 tüpüne 60 µL ve IV 3 tüpüne 120 µL ioheksol eklendi ve tüpler, yavaşça 6-8 kez alt üst edilerek karıştırıldı. Tüplerin oda sıcaklığında 30 dakika pıhtılaşması beklendikten sonra 2100 g'de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen serumlarda, belirlenmiş olan parametreler analiz edildi.

İn vivo ve in vitro çalışmaları benzer koşullarda uygulayabilmek amacıyla, santrifüj öncesi kan örneklerine ioheksol eklendi. Tam kan sayımı için santrifüj aşamasına gerek duyulmadığından ve hastadan alınan kan miktarını artırmamak amacıyla, çalışmanın tam kan sayımı aşaması tek tüp üzerinde gerçekleştirildi. Anjiyografi öncesinde alınan kan örneğiyle ilk tam kan sayımı (AÖ) yapıldıktan sonra, örneğe 30 µL ioheksol eklenip birkaç kez yavaşça alt üst edilerek karıştırıldı. Ardından, ikinci tam kan sayımı (IV 1) gerçekleştirildi ve 30 µL daha ioheksol eklenerek karıştırma işlemi tekrarlandı. Üçüncü tam kan sayımı (IV 2) yapıldıktan sonra, son olarak 60 µL ioheksol eklenip dördüncü tam kan sayımı (IV 3) gerçekleştirildi ve böylece bir hemogram tüpüne toplamda 120 µL ioheksol eklenerek planlanan in vitro konsantrasyonlar uygulanmış oldu. Bu süreçte, cihazın her ölçüm için kullandığı 80 µL kan miktarı hesaba katılmadı.

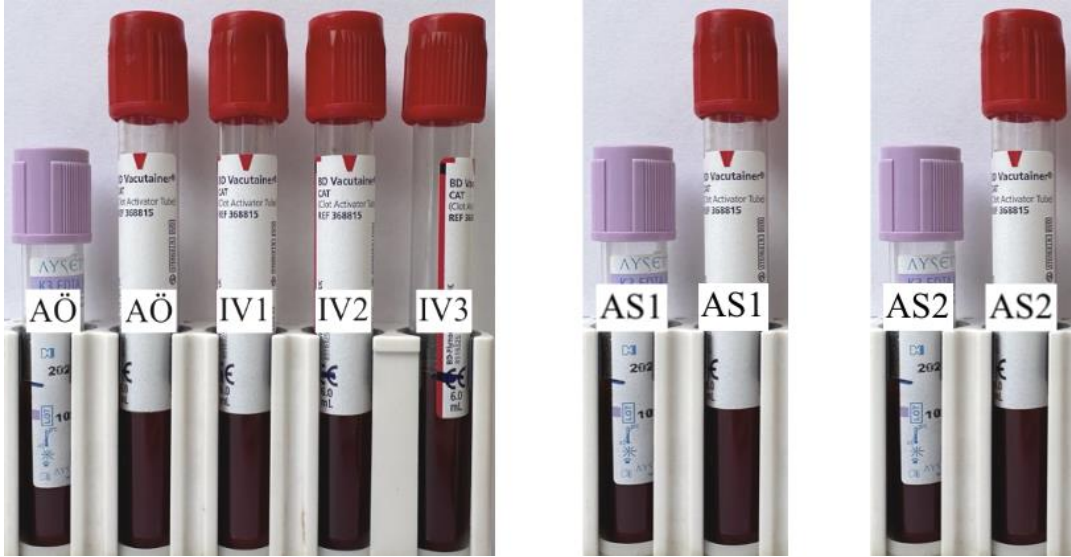
Anjiyografiden hemen sonra, hastadan bir adet kırmızı kapaklı BD Vacutainer CAT tüpü ve bir adet mor kapaklı K3-EDTA tüpüne kan örneği alındı. Numuneler oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, aynı koşullarda santrifüj edildi ve elde edilen serum örnekleri ile tekrar aynı parametreler ölçüldü (AS 1).

Çalışmanın son aşamasında, anjiyografiden 1 saat sonra hastadan bir adet kırmızı kapaklı BD Vacutainer CAT tüpü ve bir adet mor kapaklı K3-EDTA tüpüne daha kan örneği alındı ve anjiyografiden hemen sonra yapılan uygulamalar, bu kan

örneklerinde de aynı şekilde tekrarlandı (AS 2). NSTEMI tanısı konulan 20 hastaya ve elektif anjiyografi planlanan 90 hastaya aynı uygulamalar yapılarak çalışmanın in vitro aşaması tamamlandı.

Kontrast madde eklenen numune sonuçları dilüsyon faktörleri dikkate alınarak yeniden hesaplandı. Rutin uygulamada, yaklaşık 5000 mL kan hacmine sahip olduğu varsayılan bir bireyde anjiyografi sırasında kullanılan 60 mL kontrast madde, toplam kan hacminin %1.2'sine denk gelmektedir. Çalışmamızda, benzer koşulların in vitro ortamda sağlanması amacıyla, 2.5 mL kan örneğine 30 µL kontrast madde (%1.2) eklenmiş ve böylece in vivo duruma benzer bir model oluşturulmuştur. CABG uygulanan hastalarda kullanılan kontrast madde dozları, elektif anjiyografiye kıyasla yaklaşık iki kat daha fazla olup, çalışmamızdaki in vitro ikinci ölçümlerle benzer düzeydedir.

Omnipol, 647 mg/mL ioheksol içermektedir. İn vitro çalışmada, eklenen ioheksol miktarları sırasıyla 30 µL için 19.4 mg, 60 µL için 38.8 mg ve 120 µL için 77.6 mg olarak hesaplanmıştır. Çalışmanın uygulama planı **Şekil 4**'te gösterilmiştir.



**Şekil 4:** İn Vivo ve İn Vitro Çalışma Yöntemlerinin Uygulama Protokolü

**AÖ:** Anjiyografi öncesi, **IV1:** İn vitro 30 µL ioheksol eklenen tüp, **IV2:** İn vitro 60 µL ioheksol eklenen tüp, **IV3:** İn vitro 120 µL ioheksol eklenen tüp, **AS1:** Anjiyografiden hemen sonra alınan numune, **AS2:** Anjiyografiden geldikten 1 saat sonra alınan numune

### 3.4. Testlerin Analiz Yöntemleri, Kullanılan Kalibratörler, Kontrol Materyalleri ve Parametrelerin Kesinlik (Presizyon) Değerleri

#### 3.4.1. Biyokimyasal ve Potansiyometrik Parametreler

Biyokimya parametreleri Abbott Architect c16000 (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) otoanalizöründe ölçüldü.

Çalışma için glukoz (3L82-42), kreatinin (04S9520), ürik asit (04T1330), alanin aminotransferaz (04S8830), aspartat aminotransferaz (04S9030), sodyum (2P32-11), potasyum (2P32-11), klorür (2P32-11) ve kalsiyum (3L79-32) Abbott kitleri (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) seçildi.

Bu parametreler için 12911220 LOT numaralı Multichem S Plus (Technopath Clinical Diagnostics, Ballina, Ireland) Level 2 ve Level 3 kontrol materyalleri ve tüm parametreler için blank kalibratörü olarak deiyonize su kullanılmıştır. Çalışma süresince tüm parametreler, LOT değişimi olmaksızın aynı LOT numaraları üzerinden analiz edildi.

Parametrelerin kesinlik çalışmasında, Level 2 ve Level 3 kalite kontrol örneklerinin günler arası kesinliği değerlendirildi. Varyasyon katsayısı, numunelerin toplandığı beş aylık döneme ait iç kalite kontrol verilerinden elde edilen aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri temel alınarak hesaplandı.

Toplam varyasyon katsayısı ise  $\sqrt{\frac{(CV1^2 + CV2^2)}{2}}$  formülü kullanılarak hesaplandı.

Toplam analitik hata hesaplanmasında ise dış kalite kontrol verilerinden elde edilen bias dikkate alındı.

Tüm parametreler için referans değişim değerleri %95 güven aralığında  $1,65 \times 1,414 \times \sqrt{CVA^2 + CVI^2}$  formülü kullanılarak hesaplandı.

### 3.4.1.1. Glukoz

Heksokinaz/Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz yöntemi kullanılarak, 340/380 nm dalga boylarında ölçüm yapılmıştır. Serum glukoz 5 ila 800 mg/dL'ye (0.28-44.40 mmol/L) kadar lineer olarak belirlenmiştir.

1E65-06 referans kodlu, 04980FD01 LOT numaralı Architect MCC (Multiconstituent Calibrator) kalibratörleri (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Cal 1 için 94.2 mg/dL, Cal 2 için 436.9 mg/dL olarak tanımlanmıştır. Abbott Architect MCC'de glukoz izlenebilirliği ise genellikle NIST (Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü) SRM (Standart Referans Materyali) 965 izlenebilir standartları temel alınarak değerlendirilir. ID-LC/MS (İzotop Dilüsyonu-Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometrisi) yöntemi ile standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Glukoz Level 2 için aritmetik ortalama (mean) 125.35 mg/dL, standart sapma (SD) 3.60 ve %varyasyon katsayısı (CV) 2.87 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 299.10 mg/dL, SD 6.83 ve %CV 2.28 idi.

### 3.4.1.2. Kreatinin

Alkali pikrat (Jaffe yöntemi) metodu ile 500/572 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Ölçüm aralığı 0.09-37.34 mg/dL (8.0-3300.9 µmol/L) olarak saptanmıştır.

04V1501 referans kodlu, 1277UE LOT numaralı Architect ConCC (Consolidated Chemistry Calibrator) kalibratörleri (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Cal 1 için 3.64 mg/dL, Cal 2 için 4.43 mg/dL olarak belirlenmiştir. NIST SRM 967 referansına göre ID-LC/MS yöntemi ile standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Kreatinin Level 2 için mean 1.89 mg/dL, SD 0.09 ve %CV 4.86 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 5.66 mg/dL, SD 0.17 ve %CV 3.14 idi.

#### **3.4.1.3. Ürik asit**

Ürikaz yöntemiyle 604/804 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Ölçüm aralığı 0.2-37.7 mg/dL (0.01-2.22 mmol/L) olarak tespit edilmiştir.

04V1501 referans kodlu, 1277UE LOT numaralı Architect ConCC kalibratörü kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonu Cal 1 için 9.42 mg/dL olarak değerlendirilmiştir. NIST SRM 913 referansına göre gravimetrik yöntemlerle standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Kreatinin Level 2 için mean 4.67 mg/dL, SD 0.44 ve %CV 9.57 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 7.68 mg/dL, SD 0.45 ve %CV 5.97 idi.

#### **3.4.1.4. Alanin Aminotransferaz (ALT)**

NADH (Pridoksal-5-Fosfat olmadan) yöntemi ile 340/380 nm dalga boylarında ölçüm yapılmıştır. Ölçüm aralığı 7-3271 U/L olarak belirlenmiştir.

ALT tetkiki, kalibrasyon ve sonuçlar üretmek üzere Faktör veri azaltma yöntemini kullanmaktadır. Sıfır/Boş (Blank) kalibratöre göre kalibrasyon faktörü 8786 olarak kalibrasyon yapılmıştır. IFCC (Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu) referans yöntemlerine uygundur. Kalibratör ve kalibrasyon faktörü için tayin edilen değerler standardizasyona uygundur.

Multichem S Plus ALT Level 2 için mean 110.78 U/L, SD 5.09 ve %CV 4.59 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 200.30 U/L, SD 8.10 ve %CV 4.04 idi.

#### **3.4.1.5. Aspartat Aminotransferaz (AST)**

NADH (Pridoksal-5-Fosfat olmadan) yöntemi ile 340/380 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Ölçüm aralığı 4-4001 U/L olarak belirlenmiştir.

AST tetkiki, kalibrasyon ve sonuçlar üretmek üzere Faktör veri azaltma yöntemini kullanmaktadır. Blank kalibratöre göre kalibrasyon faktörü 8757 olarak kalibrasyon yapılmıştır. IFCC referans yöntemlerine uygundur. Kalibratör ve kalibrasyon faktörü için tayin edilen değerler standardizasyona uygundur.

Multichem S Plus AST Level 2 için mean 131.68 U/L, SD 5.59 ve %CV 4.25 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 250.79 U/L, SD 10.70 ve %CV 4.26 idi.

#### **3.4.1.6. Sodyum**

İyon seçici elektrot (indirekt potansiyometri) yöntemi ile ölçüm yapılmıştır. Ölçüm aralığı 100-200 mmol/L olarak belirlenmiştir.

1E46-04 referans kodlu, 45847UN23 LOT numaralı ICT Serum Calibrator High ve Low orijinal kalibratörleri kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Low: 120 mmol/L, High: 160 mmol/L olarak değerlendirilmiştir. Gravimetrik yöntemler kullanılarak, NIST SRM referanslarına göre kalibre edilmiş alev fotometrisi kullanılarak standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Sodyum Level 2 için mean 141.27 mmol/L, SD 2.99 ve %CV 2.11 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 165.41 mmol/L, SD 1.92 ve %CV 1.16 idi.

#### **3.4.1.7. Potasyum**

İyon seçici elektrot (indirekt potansiyometri) metodolojisi ile ölçüm yapılmıştır. Ölçüm aralığı 1-10 mmol/L olarak belirlenmiştir.

1E46-04 referans kodlu, 45847UN23 LOT numaralı ICT Serum Calibrator High ve Low orijinal kalibratörleri kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Low: 3.4 mmol/L, High: 8 mmol/L olarak tanımlanmıştır. Gravimetrik yöntemler kullanılarak, NIST SRM referanslarına göre kalibre edilmiş alev fotometrisi kullanılarak standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Potasyum kontrol Level 2 için mean 3.99 mmol/L, SD 0.10 ve %CV 2.67 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 6.87 mmol/L, SD 0.11 ve %CV 1.65 idi.

#### **3.4.1.8. Klorür**

İyon seçici elektrot (indirekt potansiyometri) metodolojisi ile ölçüm yapılmıştır. Ölçüm aralığı 50-150 mmol/L olarak belirlenmiştir.

1E46-04 referans kodlu, 45847UN23 LOT numaralı ICT Serum Calibrator High ve Low orijinal kalibratörleri kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Low: 80 mmol/L, High: 120 mmol/L olarak belirlenmiştir. Gravimetrik yöntemler kullanılarak, NIST SRM referanslarına göre kalibre edilmiş gümüşle titrasyon kullanılarak standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Klorür Level 2 için mean 95.34 mmol/L, SD 1.99 ve %CV 2.09 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 109.50 mmol/L, SD 1.34 ve %CV 1.26 idi.

#### **3.4.1.9. Kalsiyum**

Arsenazo III yöntemi ile 660/700 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Serum kalsiyumun linearitesi 2-24 mg/dL (0.50-6.00 mmol/L) olarak tespit edilmiştir.

E65-06 referans kodlu, 04980FD01 LOT numaralı Architect MCC kalibratörleri kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Cal 1 için 8.6 mg/dL, Cal 2 için 11.76 mg/dL olarak değerlendirilmiştir. Abbott Architect MCC'de kalsiyum izlenebilirliği ise genellikle NIST SRM 956 izlenebilir standartları temel alınarak değerlendirilmektedir. ID-ICP-MS (İzotop Dilüsyonu Etkileşik Çiftlenmiş Plazma Kütle Spektrometrisi) yöntemi ile standardize edilmiştir.

Multichem S Plus Kalsiyum Level 2 için mean 9.21 mg/dL, SD 0.85 ve %CV 9.26 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 12.55 mg/dL, SD 1.01 ve %CV 8.08 idi.

### **3.4.2. Kardiyak Parametreler**

#### **3.4.2.1. Yüksek Duyarlılıklılı Troponin I (hs-Tn I)**

Abbott Architect i2000 (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) otoanalizöründe, CMIA yöntemi ile Chemiflex olarak tanınan iki adımlı (two step) immünolojik yöntemlerle ölçülmektedir. 3P25-37 referans numaralı hs-Troponin I kiti kullanılmıştır. Ölçüm aralığı 3.2-50 000 pg/mL olarak tanımlanmıştır.

3P25-02 referans kodlu, 60259UD00 LOT numaralı Architect STAT High Sensitive Troponin-I kalibratörleri (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Cal A: 0 pg/mL, Cal B: 20 pg/mL, Cal C: 100 pg/mL, Cal D: 500 pg/mL, Cal E: 10 000 pg/mL ve Cal F: 50 000 pg/mL olarak değerlendirildi. Kalibratörler, gravimetrik yöntemlerle ve rekombinant insan kardiyak troponin IC kompleksi kullanılarak üretilmiştir. Kalibratör B, 20 pg/mL'de NIST SRM 2921'e kadar izlenebilir. Ayrıca, bu kalibratörler, rekombinant insan kardiyak troponin IC kompleksi ile hazırlanan dahili referans standartlarına uygundur.

Kontrol materyalleri olarak 58483UD00 LOT numaralı Technopath Clinical Diagnostics Multichem IA Plus Level 1, Level 2 ve Level 3 kullanıldı. Level 1 için mean 19.63 pg/mL, SD 1.03 ve %CV 5.26 ve Level 2 için mean 194.04 pg/mL, SD 8.77 ve %CV 4.52 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 14 255.28 pg/mL, SD 671.99 ve %CV 4.71 idi.

#### **3.4.2.2. Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı (CK-MB )**

Abbott Architect i2000 (Abbott Diagnostic, Abbott Park, Illinois, USA) otoanalizöründe, CMIA teknolojisi ile Chemiflex olarak tanınan iki adımlı immünolojik yöntemlerle ölçülmüştür. 2K42-38 referans numaralı CK-MB kiti kullanılmış, ölçüm aralığı 30.1-300 ng/mL olarak belirlenmiştir.

2K42-01 referans kodlu, 702173 LOT numaralı Architect STAT CK-MB kalibratörleri kullanılmıştır. Kalibrasyon konsantrasyonları Cal A: 0 ng/mL, Cal B: 3.8 ng/mL, Cal C: 12 ng/mL, Cal D: 60 ng/mL, Cal E: 135 ng/mL ve Cal F: 300 ng/mL

olarak değerlendirilmiştir. Kalibratörler, rekombinant CK-MB kullanılarak gravimetrik olarak üretilmiştir. Kullanılan rekombinant CK-MB'ye amino asit analizi kullanılarak değer atanmıştır.

Kontrol materyalleri olarak 37904230 LOT numaralı Technopath Clinical Diagnostics Multichem IA Plus Level 1, Level 2 ve Level 3 kullanıldı. Level 1 için mean 4.15 ng/mL, SD 0.59 ve %CV 14.39 ve Level 2 için mean 8.59 ng/mL, SD 1.22 ve %CV 14.23 olarak hesaplandı. Level 3 için ise mean 33.51 ng/mL, SD 3.15 ve %CV 9.41 idi.

### 3.4.3. Tam Kan Sayımı Parametreleri

Tam kan sayımı parametreleri Mindray BC-6000 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., China) otoanalizöründe çalışıldı.

Bu parametreler için MB0324, MB0524 ve MB0724 LOT numaralı BC-6D Hematoloji Kontrol materyalleri (orta ve yüksek seviye) ve PLUS0324, PLUS0524, PLUS0724 LOT numaralı SC-CAL Plus Hematoloji kalibratörleri kullanılmıştır.

Lökosit Sayısı (WBC) ölçümünde floresan boyalı ışık saçılımını esas alan SF Cube hücre analiz yöntemi kullanılırken, eritrosit sayısı (RBC) ve trombosit sayısı (PLT) sayımları elektriksel empedans yöntemi ile, hemoglobin (HGB) ölçümü ise siyanidsiz kolorimetrik yöntem ile gerçekleştirilmektedir.

Tam kan sayımı parametrelerinin ölçüm aralığı ve kalibrasyon verileri **Tablo 2**'de, presizyon değerleri ise **Tablo 3**'te belirtilmiştir.

**Tablo 2:** Tam kan sayımı parametrelerinin ölçüm aralığı ve kalibrasyon verileri

Kalibratör Adı	Parametreler	Kalibrasyon Konsantrasyonu	Ölçülen Aralık
<b>PLUS0324</b>	Lökosit Sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ )	9.19	8.99-9.39
	Hemoglobin (g/dL)	135.0	133-137
	Eritrosit sayısı ( $10^6/\mu\text{L}$ )	4.64	4.56-4.72
	Trombosit sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ )	248.0	236-260
<b>PLUS0524</b>	Lökosit Sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ )	9.19	8.99-9.39
	Hemoglobin (g/dL)	133.0	131-135
	Eritrosit sayısı ( $10^6/\mu\text{L}$ )	4.58	4.50-4.66
	Trombosit sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ )	257.0	245-269
<b>PLUS0724</b>	Lökosit Sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ )	9.33	9.13-9.53
	Hemoglobin (g/dL)	130.0	128-132
	Eritrosit sayısı ( $10^6/\mu\text{L}$ )	4.53	4.45-4.61
	Trombosit sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ )	249.0	237-261

**Tablo 3:** Tam kan sayımı parametrelerinin presizyon değerleri

Parametreler	Orta Seviye			Yüksek Seviye			Toplam %CV
	Mean	SD	%CV	Mean	SD	%CV	
<b>WBC</b>	7.63	0.18	2.48	21.21	0.41	1.93	2.22
<b>HGB</b>	12.44	0.07	0.63	16.05	0.13	0.82	0.73
<b>RBC</b>	4.26	0.07	1.74	5.14	0.08	1.7	1.72
<b>PLT</b>	213.84	9.19	4.29	419.35	14.57	3.47	3.90

**WBC:** Lökosit sayısı, **HGB:** Hemoglobin, **RBC:** Eritrosit sayısı, **PLT:** Trombosit sayısı, **SD:** Standart sapma, **CV:** Varyasyon katsayısı

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Biyokimya, tam kan sayımı ve kardiyak parametrelerin anjiyografi öncesi, in vitro ve anjiyografi sonrası değerleri tanımlayıcı istatistikler kullanılarak her bir parametre için ortalama  $\pm$  standart sapma veya medyan (25.-75. yüzdelik) değerler ile özetlenmiştir.

Verilerin normallik dağılımı Shapiro-Wilk testi ve histogram grafikleri ile değerlendirilmiştir. Normallik varsayımının sağlanmadığı durumlarda, parametrik yöntemler yerine non-parametrik alternatifler tercih edilmiştir. Normallik varsayımının sağlandığı durumlarda, in vitro, anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası değişimleri değerlendirmek için tekrarlı ölçümler varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. ANOVA'nın küresellik varsayımı, Mauchly'nin testi ile kontrol edilmiş ve varsayımın ihlali durumunda Greenhouse-Geisser düzeltmesi uygulanmıştır.

ANOVA sonuçlarının anlamlı olduğu durumlarda, çiftli karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli post-hoc testlerle yapılmıştır. Normallik varsayımının sağlanmadığı durumlarda ise non-parametrik Friedman testi uygulanmış ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon işaretli sıralar testine dair p-değerleri hesaplanmıştır.

Tüm analizlerde, istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edilmiştir. Veri analizi için SPSS 26.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) programı ve R 4.3.2 (2023, R Core Team) istatistiksel programlama dili kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin artan kontrast madde konsantrasyonları ile in vitro ve anjiyografi öncesi ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması tekrarlı ölçümler ANOVA testi değerlendirme sonuçları **Tablo 4**'te, anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması ise **Tablo 5**'te gösterilmiştir. Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümlerine ilişkin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırmaları **Tablo 6**'da, anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçümlerinin ikili grup karşılaştırmaları ise **Tablo 7**'de verilmiştir. Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin in vitro ve anjiyografi sonrası değerlerinin ortalama yüzde değişimleri **Tablo 8**'de gösterilmiştir. Ortalama yüzde değişimler, anjiyografi öncesi değerlere göre hesaplandı ve Glick ve arkadaşlarının (22) yönergelerine göre %10 karar değeri, %bias, total analitik hata (TAH), referans değişim değeri (RCV), CLIA izin verilen toplam hata (TEa) (25) verilerine göre karşılaştırıldı. Ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirilmesinde, %bias değerleri her bir parametre için Westgard biyolojik varyasyon veri tabanından elde edildi (29).

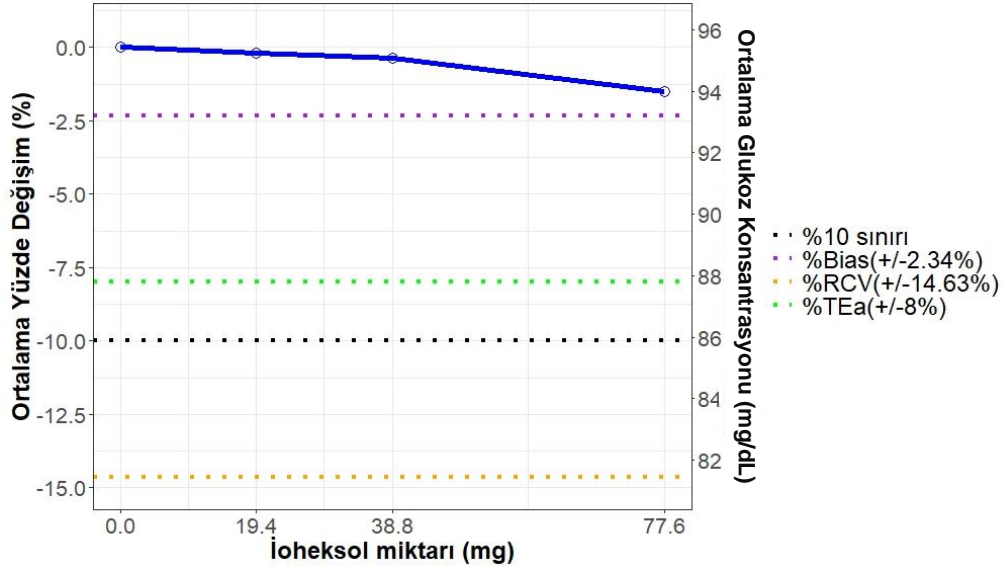
Kardiyak parametrelerin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçüm sonuçlarının karşılaştırılmasına yönelik tekrarlı ölçümler non-parametrik Friedman testi değerlendirme sonuçları **Tablo 9**'da, anjiyografi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırmaları ise **Tablo 10**'da sunulmuştur. Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI grubu için anjiyografi öncesi ve in vitro ölçümlerine ilişkin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırmaları **Tablo 11**'de, anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçümlerinin ikili grup karşılaştırmaları **Tablo 12**'de verilmiştir. Kardiyak parametrelerin in vitro ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının anjiyografi öncesi ölçümlere göre medyan yüzde değişimleri **Tablo 13**'te gösterilmiştir. Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI gruplarının ikili karşılaştırması için iki grup bağımsız örneklem Mann Whitney U testi p-değerleri **Tablo 14**'te verilmiştir.

## 4.1. Biyokimya ve Tam Kan Parametrelerinin Değerlendirilmesi

### 4.1.1. Glukoz

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesi ve in vitro glukoz ölçümleri karşılaştırıldığında farklı oldukları bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 4**). Anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası glukoz ölçümleri arasındaki fark anlamlı olarak değerlendirilmiştir ( $p=0.036$ ) (**Tablo 5**).

Anjiyografi öncesi glukoz değerleri  $95.42 \pm 12.66$  mg/dL iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $95.25 \pm 12.97$  mg/dL,  $95.07 \pm 12.93$  mg/dL ve  $94 \pm 12.92$  mg/dL olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 4**). Anjiyografi sonrası ilk ölçümde glukoz seviyesi artarak  $95.48 \pm 12.49$  mg/dL, ikinci ölçümde ise  $98.21 \pm 15.34$  mg/dL seviyesine yükselmiştir (**Tablo 5**). AÖ-IV3, IV1-IV3, IV2-IV3 ölçümler ( $p<0.001$ ) ve AS1-AS2 ölçümler ( $p=0.047$ ) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (**Tablo 6, Tablo 7**). Glukozun ortalama yüzde değişim değerleri, yalnızca AS2 ölçümlerinde %bias sınırını geçmiştir (**Tablo 8**). Glukoz için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 5**'te gösterilmiştir.



**Şekil 5:** Glukoz için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama glukoz konsantrasyonu (mg/dL), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

**Tablo 4:** Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması / Tekrarlı ölçümler ANOVA testi

Parametreler	AÖ	IV1	IV2	IV3	p-değeri
Glukoz (mg/dL)	95.42 ± 12.66	95.25 ± 12.97	95.07 ± 12.93	94 ± 12.92	<0.001
Kreatinin (mg/dL)	0.83 ± 0.15	0.81 ± 0.14	0.81 ± 0.14	0.79 ± 0.14	<0.001
Ürik asit (mg/dL)	5.41 ± 1.39	5.32 ± 1.37	5.26 ± 1.35	5.16 ± 1.41	<0.001
ALT (U/L)	19.65 ± 9.83	19.18 ± 9.68	18.71 ± 9.51	18.30 ± 9.20	<0.001
AST (U/L)	22.02 ± 10.39	21.63 ± 10.17	21.19 ± 10.29	20.48 ± 10.17	<0.001
Sodyum (mmol/L)	138.34 ± 1.89	135.82 ± 2.37	133.59 ± 2.95	129.98 ± 3.55	<0.001
Potasyum (mmol/L)	4.19 ± 0.38	4.10 ± 0.38	4.04 ± 0.39	3.94 ± 0.39	<0.001
Klorür (mmol/L)	103.22 ± 2.85	101.54 ± 2.89	100.13 ± 3.26	97.75 ± 3.56	<0.001
Kalsiyum (mg/dL)	9.09 ± 0.42	8.93 ± 0.38	8.77 ± 0.38	8.55 ± 0.39	<0.001
WBC (10 <sup>3</sup> /µL)	7.16 ± 1.84	7.32 ± 1.89	7.28 ± 1.91	7.23 ± 1.90	<0.001
HGB (g/dL)	14.00 ± 1.53	13.92 ± 1.47	13.79 ± 1.46	13.68 ± 1.46	<0.001
RBC (10 <sup>6</sup> /µL)	4.90 ± 0.48	4.86 ± 0.46	4.83 ± 0.45	4.79 ± 0.45	<0.001
PLT (10 <sup>3</sup> /µL)	251.07 ± 62.7	251.78 ± 63.16	250.14 ± 63.28	249.66 ± 62.37	0.155

Veriler ort±ss değerleri ile özetlenmiştir. p<0.05 değerleri tekrarlı ölçümler tek yönlü ANOVA testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. **AÖ:** anjiyografi öncesi, **IV1:** in vitro 1, **IV2:** in vitro 2, **IV3:** in vitro 3, **ALT:** Alanin aminotransferaz, **AST:** Aspartat aminotransferaz, **WBC:** Lökosit sayısı, **HGB:** Hemogloblin, **RBC:** Eritrosit sayısı, **PLT:** Trombosit sayısı

**Tablo 5:** Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması / Tek yönlü tekrarlı ölçümler ANOVA testi

Parametreler	AÖ	AS1	AS2	p-değeri
Glukoz (mg/dL)	95.42 ± 12.66	95.48 ± 12.49	98.21 ± 15.34	0.036
Kreatinin (mg/dL)	0.83 ± 0.15	0.81 ± 0.14	0.78 ± 0.14	<0.001
Ürik asit (mg/dL)	5.41 ± 1.39	5.32 ± 1.37	5.26 ± 1.35	<0.001
ALT (U/L)	19.65 ± 9.83	19.38 ± 9.50	19.18 ± 9.46	0.014
AST (U/L)	22.02 ± 10.39	21.45 ± 10.08	21.5 ± 10.02	0.054
Sodyum (mmol/L)	138.34 ± 1.89	137.35 ± 2.02	137.32 ± 2.09	<0.001
Potasyum (mmol/L)	4.19 ± 0.38	4.10 ± 0.38	4.04 ± 0.39	<0.001
Klorür (mmol/L)	103.22 ± 2.85	102.5 ± 2.98	102.55 ± 3.31	<0.001
Kalsiyum (mg/dL)	9.09 ± 0.42	9.00 ± 0.40	8.98 ± 0.38	<0.001
WBC (10 <sup>3</sup> /µL)	7.16 ± 1.84	6.74 ± 1.91	6.90 ± 1.91	<0.001
HGB (g/dL)	14.00 ± 1.53	13.50 ± 1.47	13.51 ± 1.65	<0.001
RBC (10 <sup>6</sup> /µL)	4.90 ± 0.48	4.73 ± 0.46	4.73 ± 0.52	<0.001
PLT (10 <sup>3</sup> /µL)	251.07 ± 62.7	233.65 ± 63.37	236.56 ± 63.13	<0.001

Veriler ort±ss değerleri ile özetlenmiştir. p<0.05 değerleri tekrarlı ölçümler tek yönlü ANOVA testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. **AÖ:** Anjiyografi öncesi, **AS1:** Anjiyografi sonrası 1, **AS2:** Anjiyografi sonrası, **ALT:** Alanin aminotransferaz, **AST:** Aspartat aminotransferaz, **WBC:** Lökosit sayısı, **HGB:** Hemogloblin, **RBC:** Eritrosit sayısı, **PLT:** Trombosit sayısı

**Tablo 6:** Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri

Parametreler	AÖ-IV1	AÖ-IV2	AÖ-IV3	IV1-IV2	IV1-IV3	IV2-IV3
<b>Glukoz</b>	1.000	0.084	<0.001	0.56	<0.001	<0.001
<b>Kreatinin</b>	<0.001	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	<0.001
<b>Ürik asit</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>ALT</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003
<b>AST</b>	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Sodyum</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Potasyum</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Klorür</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Kalsiyum</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>WBC</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>HGB</b>	0.049	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>RBC</b>	0.064	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>PLT</b>	1.000	1.000	1.000	0.341	0.090	1.000

p<0.05 değerleri post-hoc Bonferroni testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. AÖ: anjiyografi öncesi, IV1: in vitro 1, IV2: in vitro 2, IV3: in vitro 3, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit sayısı, HGB: Hemogloblin, RBC: Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı

**Tablo 7:** Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri

Parametreler	AÖ-AS1	AÖ-AS2	AS1-AS2
<b>Glukoz</b>	1.000	0.113	0.047
<b>Kreatinin</b>	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Ürik asit</b>	<0.001	<0.001	<0.001
<b>ALT</b>	0.241	0.032	0.132
<b>AST</b>	0.101	0.214	1.000
<b>Sodyum</b>	<0.001	<0.001	1.000
<b>Potasyum</b>	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Klorür</b>	<0.001	0.005	1.000
<b>Kalsiyum</b>	<0.001	<0.001	0.498
<b>WBC</b>	<0.001	0.015	0.046
<b>HGB</b>	<0.001	<0.001	1.000
<b>RBC</b>	<0.001	<0.001	1.000
<b>PLT</b>	<0.001	<0.001	1.000

p<0.05 değerleri post-hoc Bonferroni testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. AÖ: anjiyografi öncesi, AS1: anjiyografi sonrası 1, AS2: anjiyografi sonrası 2, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit sayısı, HGB: Hemogloblin, RBC: Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı

**Tablo 8:** Biyokimya ve tam kan sayımı parametrelerinin in vitro ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının ortalama yüzde değişimleri

Parametreler	IV1	IV2	IV3	AS1	AS2	Bias	TAH	RCV	TEa
<b>Glukoz</b>	%-0.22	%-0.40	%-1.53	%0.55	%3.56 <sup>b</sup>	%2.34	%5.26	%14.63	%8
<b>Kreatinin</b>	%-1.71	%-2.44	%-4.46 <sup>b</sup>	%-2.53	%-5.37 <sup>b</sup>	%3.96	%8.9	%16.65	%10
<b>Ürik asit</b>	%-1.73	%-2.84	%-4.83	%-0.69	%-1.68	%4.87	%16.9	%31.51	%10
<b>ALT</b>	%-2.44	%-4.80	%-6.69	%-0.68	%-1.61	%11.48	%10.19	%33.79	%15
<b>AST</b>	%-1.41	%-3.76	%-7.15 <sup>b</sup>	%-1.53	%-1.07	%6.54	%10.26	%26.60	%15
<b>Sodyum</b>	%-1.82 <sup>b,c</sup>	%-3.43 <sup>b,d,e</sup>	%-6.05 <sup>b,c,d,e</sup>	%-0.71 <sup>b</sup>	%-0.73 <sup>b,c</sup>	%0.23	%4.27	%3.27	%0.73*
<b>Potasyum</b>	%-2.16 <sup>b</sup>	%-3.48 <sup>b</sup>	%-5.88 <sup>b,c</sup>	%-1.92 <sup>b</sup>	%-1.59	%1.81	%7.23	%12.44	%5.61*
<b>Klorür</b>	%-1.62 <sup>b</sup>	%-3.00 <sup>b</sup>	%-5.31 <sup>b,c,e</sup>	%-0.69 <sup>b</sup>	%-0.64 <sup>b</sup>	%0.50	%3.41	%5.54	%5
<b>Kalsiyum</b>	%-1.70 <sup>b</sup>	%-3.52 <sup>b,c</sup>	%-5.98 <sup>b,c</sup>	%-1.00 <sup>b</sup>	%-1.17 <sup>b</sup>	%0.82	%18.84	%24.60	%2.55*
<b>WBC</b>	%2.34	%1.64	%0.95	%-5.73	%-3.10	%6.05	%5.83	%31.37	%10
<b>HGB</b>	%-0.50	%-1.44	%-2.17 <sup>b,c</sup>	%-3.47 <sup>b,c</sup>	%-3.48 <sup>b,c</sup>	%1.84	%1.99	%7.75	%4
<b>RBC</b>	%-0.67	%-1.40	%-2.13 <sup>b</sup>	%-3.26 <sup>b</sup>	%-3.32 <sup>b</sup>	%1.70	%3.91	%9.11	%4
<b>PLT</b>	%0.34	%-0.41	%-0.47	%-6.44 <sup>b</sup>	%-5.51	%5.9	%12.63	%22.94	%25

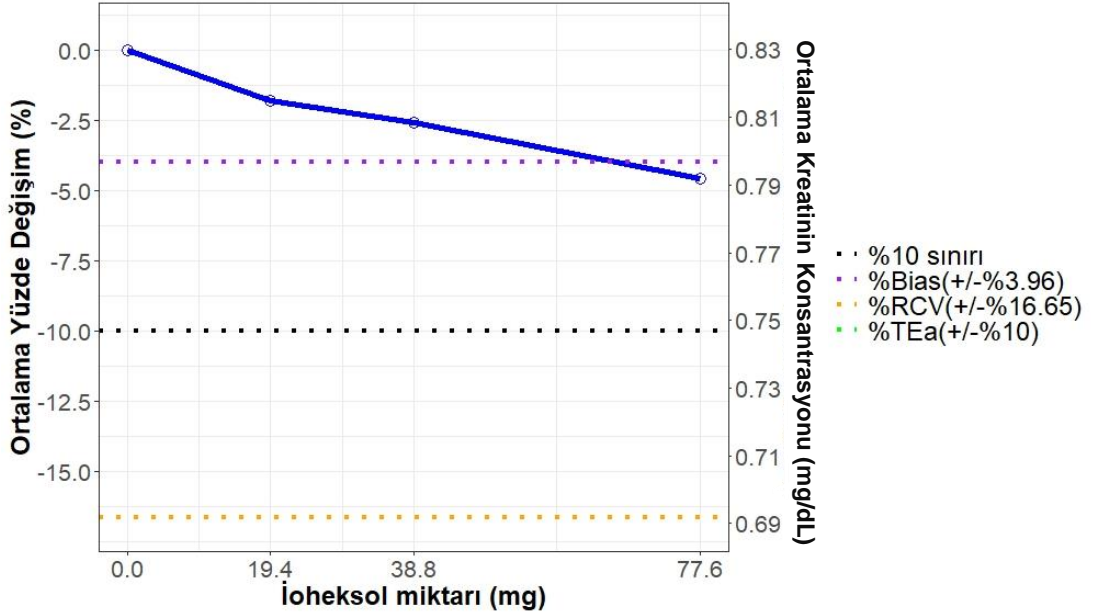
\* Güçlük ve arkadaşlarının yönergelerine göre %10'u aşan değerler, <sup>a</sup> %Bias'ı aşan değerler, <sup>b</sup> Toplam analitik hata (TAH) değerini aşan değerler, <sup>c</sup> Referans değişim değerini (RCV) aşan değerler, <sup>d</sup> Toplam izin verilebilir hata (TEa) verilerini aşan değerler <sup>e</sup> Westgard TEa verileri kullanılmıştır.

IV1: in vitro 1, IV2: in vitro 2, IV3: in vitro 3, AS1: anjiyografi sonrası 1, AS2: anjiyografi sonrası 2, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit sayısı, HGB: Hemogloblin, RBC: Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı

#### 4.1.2. Kreatinin

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen kreatinin değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) (**Tablo 4, Tablo 5**). Anjiyografi öncesi kreatinin değerleri  $0.83 \pm 0.15$  mg/dL iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $0.81 \pm 0.14$  mg/dL,  $0.81 \pm 0.14$  mg/dL ve  $0.79 \pm 0.14$  mg/dL, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $0.81 \pm 0.14$  mg/dL ve ikinci ölçümde  $0.78 \pm 0.14$  mg/dL olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 4, Tablo 5**). Anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler, anjiyografi öncesi ile anjiyografi sonrası ölçümler ve in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (**Tablo 6, Tablo 7**).

Kreatinin ortalama yüzde değişim değerleri, IV3 ve AS2 ölçümlerinde %bias sınırını geçmiştir (**Tablo 8**). Kreatinin için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 6**'da gösterilmiştir.



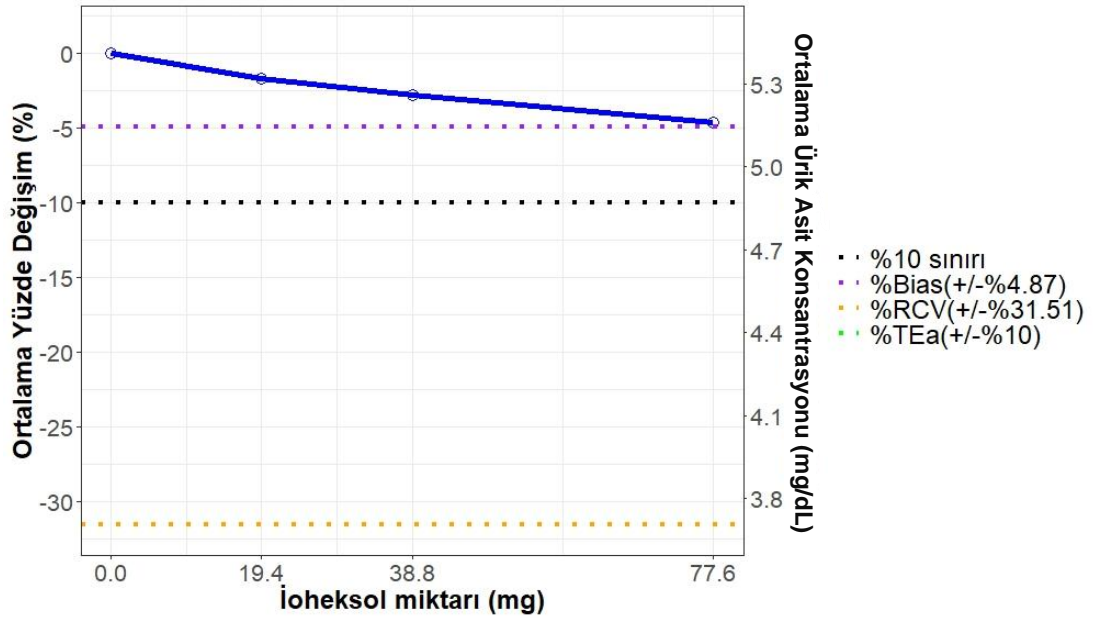
**Şekil 6:** Kreatinin için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama kreatinin konsantrasyonu (mg/dL), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

### 4.1.3. Ürik asit

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen ürik asit değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Tablo 4, Tablo 5). Anjiyografi öncesi ürik asit değerleri  $5.41 \pm 1.39$  mg/dL iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $5.32 \pm 1.37$  mg/dL,  $5.26 \pm 1.35$  mg/dL ve  $5.16 \pm 1.41$  mg/dL, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $5.32 \pm 1.37$  mg/dL ve ikinci ölçümde  $5.26 \pm 1.35$  mg/dL olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (Tablo 4, Tablo 5).

Anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler, anjiyografi öncesi ile anjiyografi sonrası ölçümler ve in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ) (Tablo 6, Tablo 7). Ürik asitin ortalama yüzde değişim değerleri, interferans karar sınırlarını geçmemiş ve kabul edilebilir sınırlar arasında değerlendirilmiştir (Tablo 8). Ürik asit için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği Şekil 7’de gösterilmiştir.



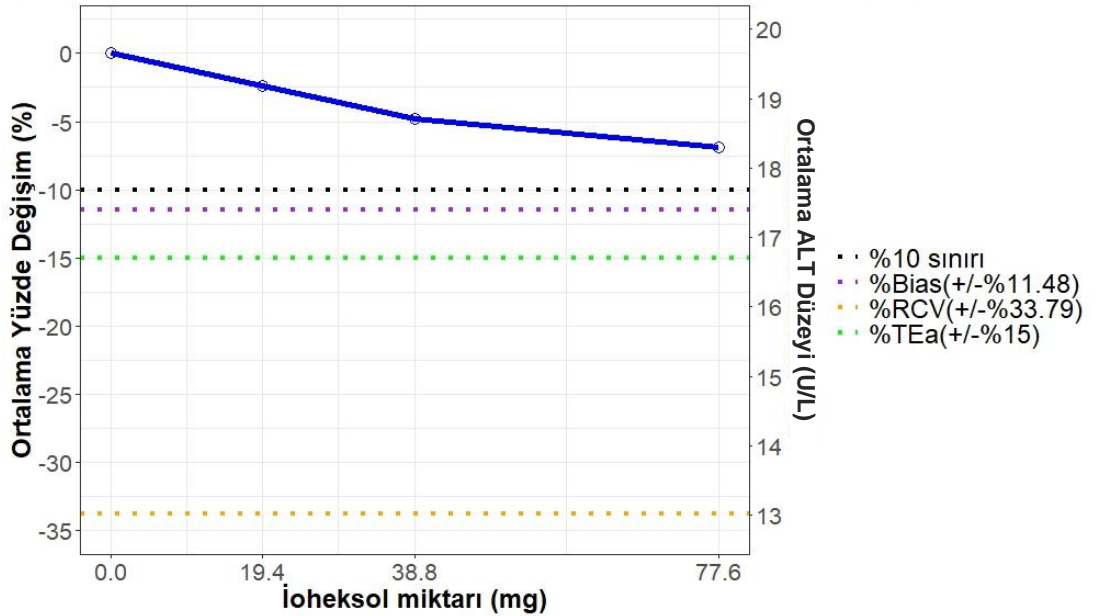
Şekil 7: Ürik asit için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksenini:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksenini:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksenini:** ortalama ürik asit konsantrasyonu (mg/dL), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

#### 4.1.4. Alanin Aminotransferaz (ALT)

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesi ve in vitro ALT ölçümleri karşılaştırıldığında farklı oldukları bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 4**). Anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ALT ölçümleri arasındaki fark anlamlı olarak değerlendirilmiştir ( $p=0.014$ ) (**Tablo 5**). Anjiyografi öncesi ALT değerleri  $19.65 \pm 9.83$  U/L iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $19.18 \pm 9.68$  U/L,  $18.71 \pm 9.51$  U/L ve  $18.30 \pm 9.20$  U/L, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $19.38 \pm 9.50$  U/L ve ikinci ölçümde  $19.18 \pm 9.46$  U/L olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 4**, **Tablo 5**).

Anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler, anjiyografi öncesi ile anjiyografi sonrası ikinci ölçüm ve in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**Tablo 6**, **Tablo 7**). ALT ortalama yüzde değişim değerleri, interferans karar sınırlarını geçmemiş ve kabul edilebilir sınırlar arasında değerlendirilmiştir (**Tablo 8**). ALT için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 8**'de gösterilmiştir.



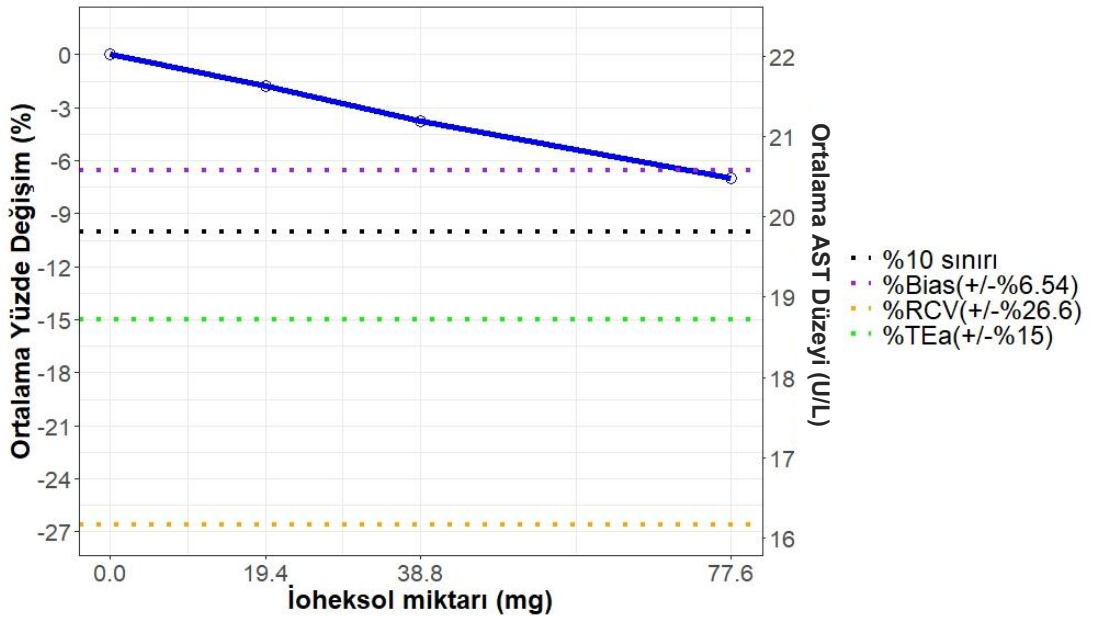
**Şekil 8:** ALT için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama ALT düzeyi (U/L), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

#### 4.1.5. Aspartat Aminotransferaz (AST)

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesi ve in vitro AST ölçümleri karşılaştırıldığında farklı oldukları tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (**Tablo 4**). Tüm hastalarda anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası AST ölçümleri arasında fark anlamlı olarak değerlendirilmemiştir ( $p = 0.054$ ) (**Tablo 5**). Tüm hastalarda AST değerleri anjiyografi öncesi  $22.02 \pm 10.39$  U/L iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $21.63 \pm 10.17$  U/L,  $21.19 \pm 10.29$  U/L ve  $20.48 \pm 10.17$  U/L, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $21.45 \pm 10.08$  U/L ve ikinci ölçümde  $21.5 \pm 10.02$  U/L olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 4**, **Tablo 5**).

Anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler arasındaki ve in vitro ölçümlerin kendi aralarındaki ikili grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (**Tablo 6**). Anjiyografi öncesi ve sonrası ikili grup karşılaştırmalarındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmemiştir (**Tablo 7**). AST ortalama yüzde değişim değerleri, IV3 ölçümlerinde %bias sınırını geçmiştir (**Tablo 8**). AST için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 9**'da gösterilmiştir.



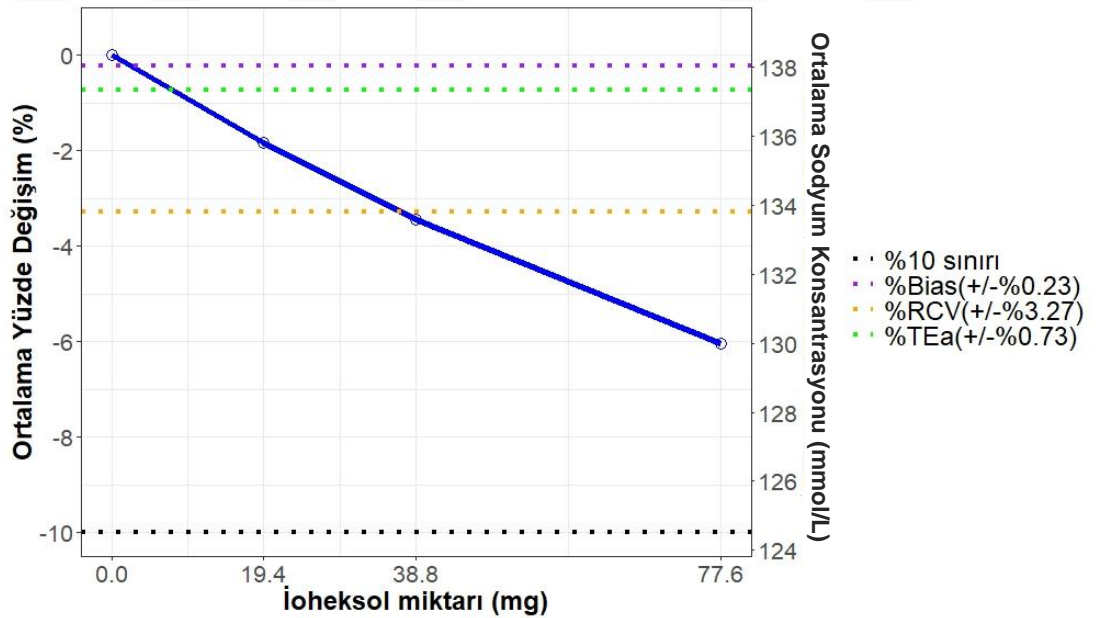
**Şekil 9:** AST için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama AST düzeyi (U/L), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

#### 4.1.6. Sodyum

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen sodyum değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 4, Tablo 5**). Anjiyografi öncesi sodyum değerleri  $138.34 \pm 1.89$  mmol/L iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $135.82 \pm 2.37$  mmol/L,  $133.59 \pm 2.95$  mmol/L ve  $129.98 \pm 3.55$  mmol/L, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $137.35 \pm 2.02$  mmol/L ve ikinci ölçümde  $137.32 \pm 2.09$  mmol/L olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 4, Tablo 5**).

İkili grup karşılaştırmalarında anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler arasındaki, AÖ-AS1 ve AÖ-AS2 ölçümler arasındaki ve in vitro ölçümlerin kendi aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 6, Tablo 7**). Sodyumun ortalama yüzde değişim değerleri, IV1, IV2, IV3 ve AS2 ölçümlerinde %bias ve TEa sınırını aşarken, IV2 ölçümlerinde ek olarak RCV sınırını, IV3 ölçümlerinde TAH ve RCV sınırlarını da geçmiştir. AS1 ölçümlerinde yalnızca %bias sınırını aşmıştır (**Tablo 8**). Sodyum için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 10**'da gösterilmiştir.



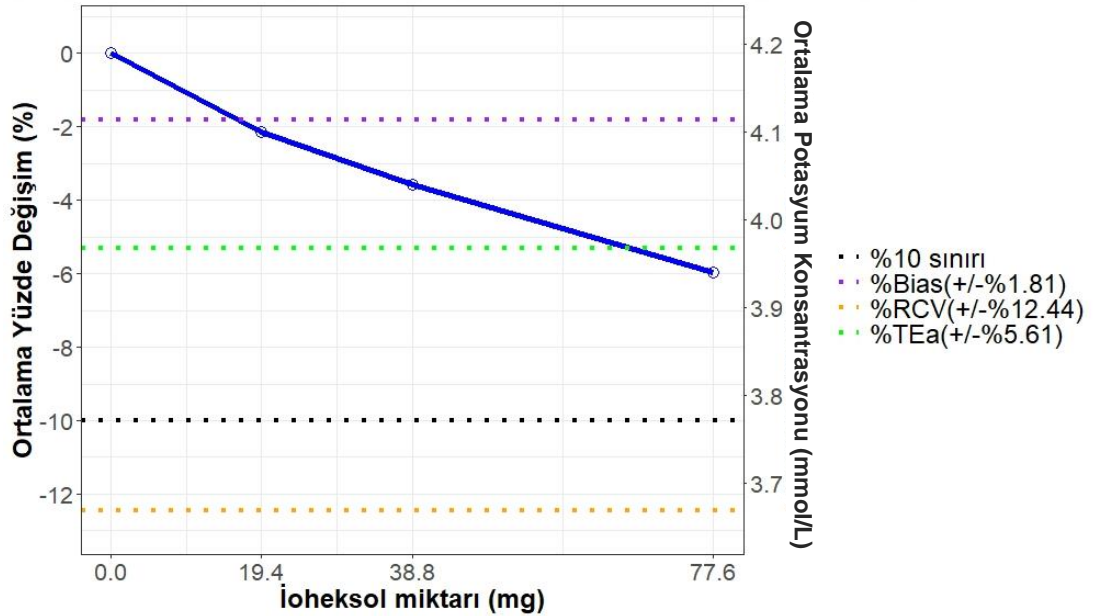
**Şekil 10:** Sodyum için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama sodyum konsantrasyonu (mmol/L), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

#### 4.1.7. Potasyum

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen potasyum değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Tablo 4, Tablo 5). Anjiyografi öncesi potasyum değerleri  $4.19 \pm 0.38$  mmol/L iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $4.10 \pm 0.38$  mmol/L,  $4.04 \pm 0.39$  mmol/L ve  $3.94 \pm 0.39$  mmol/L, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $4.10 \pm 0.38$  mmol/L ve ikinci ölçümde  $4.04 \pm 0.39$  mmol/L olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (Tablo 4, Tablo 5).

Anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler, anjiyografi öncesi ile anjiyografi sonrası ölçümler ve in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ) (Tablo 6, Tablo 7). Potasyumun ortalama yüzde değişim değerleri, tüm in vitro ve AS1 ölçümlerinde %bias sınırını aşarken, IV3 ölçümlerinde ek olarak TEa sınırını geçmiştir (Tablo 8). Potasyum için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği Şekil 11’de gösterilmiştir.



Şekil 11: Potasyum için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama potasyum konsantrasyonu (mmol/L), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

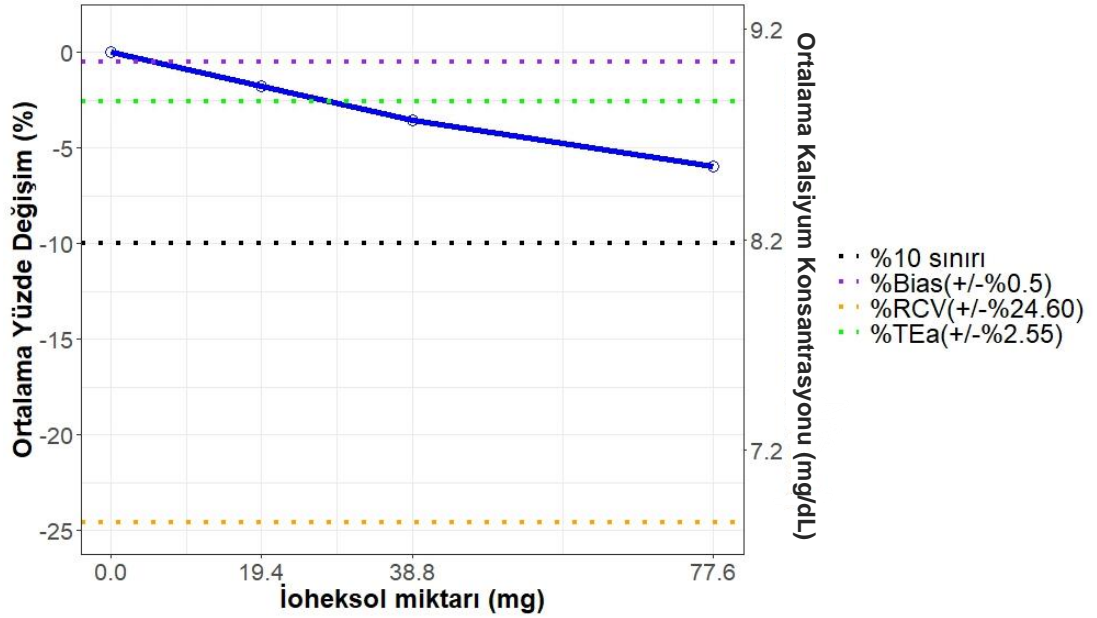


#### 4.1.9. Kalsiyum

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen kalsiyum değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 4, Tablo 5**). Anjiyografi öncesi kalsiyum değerleri  $9.09 \pm 0.42$  mg/dL iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $8.93 \pm 0.38$  mg/dL,  $8.77 \pm 0.38$  mg/dL ve  $8.55 \pm 0.39$  mg/dL, anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $9.00 \pm 0.40$  mg/dL ve ikinci ölçümde  $8.98 \pm 0.38$  mg/dL olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 4, Tablo 5**).

İkili grup karşılaştırmalarında anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler arasındaki, AÖ-AS1 ve AÖ-AS2 ölçümler arasındaki ve in vitro ölçümlerin kendi aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir ( $p<0.001$ ) (**Tablo 6, Tablo 7**). Kalsiyumun ortalama yüzde değişim değerleri, tüm ölçümlerde %bias sınırını aşarken, IV2 ve IV3 ölçümlerinde ek olarak TEa sınırını geçmiştir (**Tablo 8**).

Kalsiyum için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 13**'te gösterilmiştir.



**Şekil 13:** Kalsiyum için ioheksol interferansını gösteren interferograf

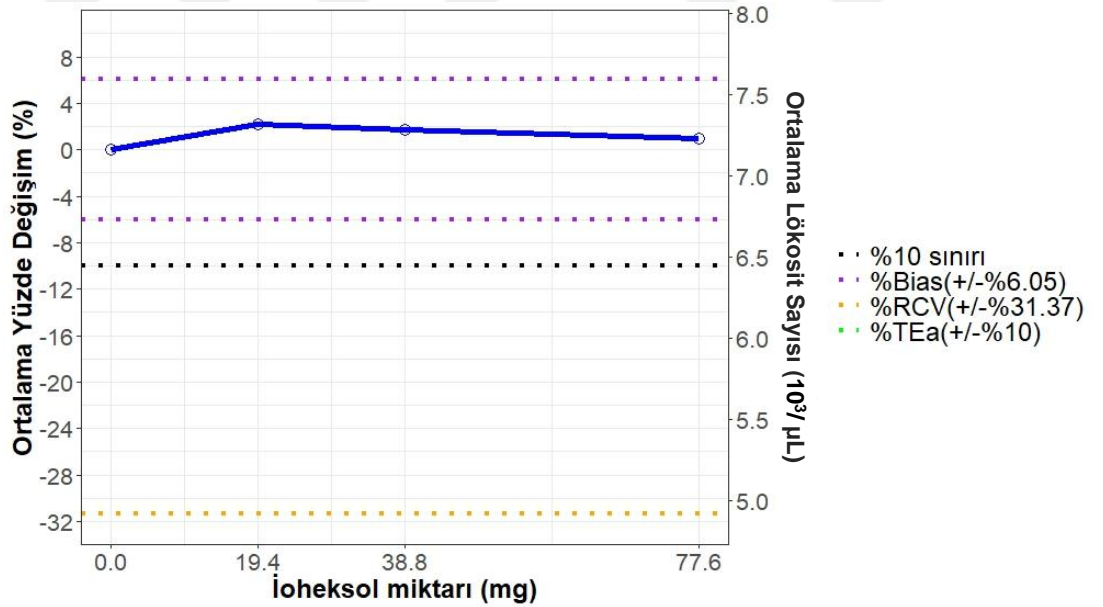
**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama kalsiyum konsantrasyonu (mg/dL), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

#### 4.1.10. Lökosit Sayısı (WBC)

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen WBC değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Tablo 4, Tablo 5). Anjiyografi öncesi WBC değerleri  $7.16 \pm 1.84 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$  iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $7.32 \pm 1.89 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$ ,  $7.28 \pm 1.91 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$  ve  $7.23 \pm 1.90 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$ , anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $6.74 \pm 1.91 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$  ve ikinci ölçümde  $6.90 \pm 1.91 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 4, Tablo 5).

Anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler, anjiyografi öncesi ile anjiyografi sonrası ölçümler ve in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 6, Tablo 7). Lökosit sayısındaki ortalama yüzde değişim değerleri, interferans karar sınırlarını geçmemiş ve kabul edilebilir sınırlar arasında değerlendirilmiştir (Tablo 8).

WBC için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği Şekil 14’te gösterilmiştir.



Şekil 14: WBC için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama lökosit sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ ), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

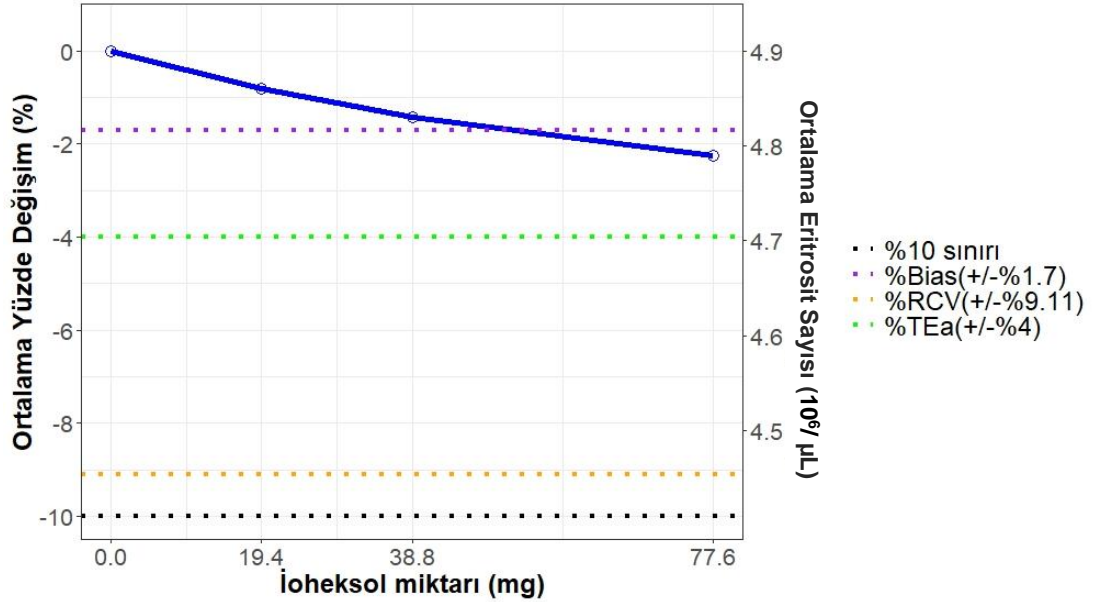


#### 4.1.12. Eritrosit Sayısı (RBC)

Tüm hastalarda (n=110) anjiyografi öncesinde ölçülen RBC değerleri, in vitro ve anjiyografi sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Tablo 4, Tablo 5). Anjiyografi öncesi eritrosit sayısı değerleri  $4.90 \pm 0.48 \cdot 10^6/\mu\text{L}$  iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $4.86 \pm 0.46 \cdot 10^6/\mu\text{L}$ ,  $4.83 \pm 0.45 \cdot 10^6/\mu\text{L}$  ve  $4.79 \pm 0.45 \cdot 10^6/\mu\text{L}$ , anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $4.73 \pm 0.46 \cdot 10^6/\mu\text{L}$  ve ikinci ölçümde  $4.73 \pm 0.52 \cdot 10^6/\mu\text{L}$  olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (Tablo 4, Tablo 5).

İkili grup karşılaştırmalarında, AÖ ile IV2, IV3, AS1, AS2 ölçümleri ve birbirleriyle kıyaslanan tüm in vitro ölçümlerin arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 6, Tablo 7). RBC ortalama yüzde değişim değerleri, IV3, AS1 ve AS2 ölçümlerinde %bias sınırını geçmiştir (Tablo 8).

RBC için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği Şekil 16'da gösterilmiştir.



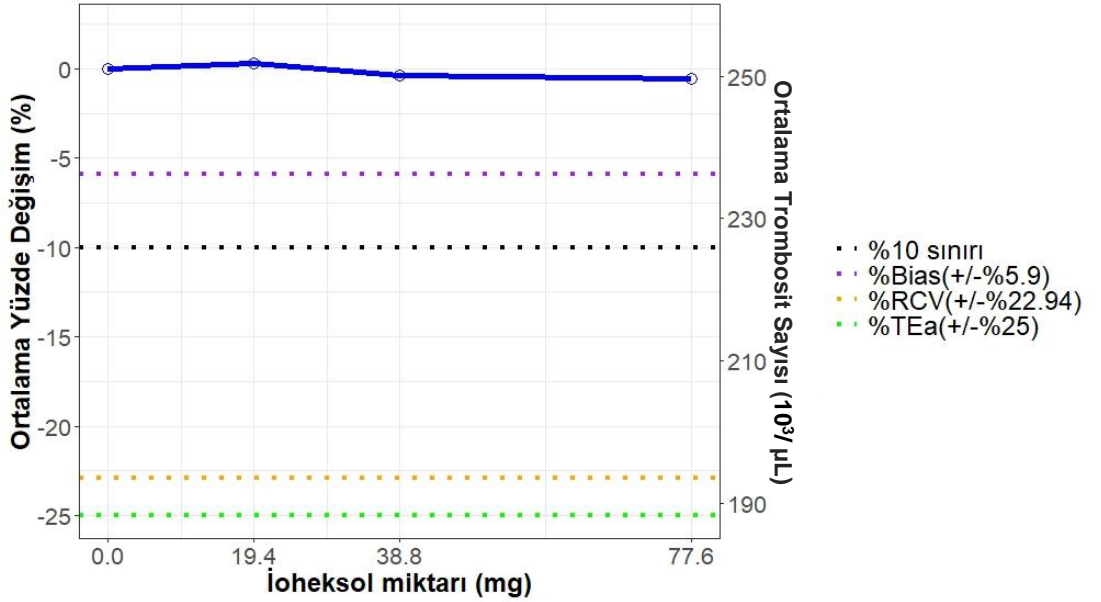
Şekil 16: RBC için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama eritrosit sayısı ( $10^6/\mu\text{L}$ ), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

#### 4.1.13. Trombosit Sayısı (PLT)

Tüm hastalarda (n=110) yalnızca anjiyografi öncesi ile anjiyografi sonrası trombosit sayısı ölçümleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 4, Tablo 5**). Anjiyografi öncesi PLT değerleri  $251.07 \pm 62.7$   $10^3/\mu\text{L}$  iken, in vitro ölçümlerde sırasıyla  $251.78 \pm 63.16$   $10^3/\mu\text{L}$ ,  $250.14 \pm 63.28$   $10^3/\mu\text{L}$  ve  $249.66 \pm 62.37$   $10^3/\mu\text{L}$ , anjiyografi sonrası ilk ölçümde  $233.65 \pm 63.37$   $10^3/\mu\text{L}$  ve ikinci ölçümde  $236.56 \pm 63.13$   $10^3/\mu\text{L}$  olarak tespit edilmiştir (**Tablo 4, Tablo 5**).

İkili grup karşılaştırmalarında anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler ve tüm in vitro ölçümlerin aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır (**Tablo 6**). AÖ-AS1 ve AÖ-AS2 ölçümleri karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (**Tablo 7**). PLT ortalama yüzde değişim değerleri, yalnızca AS1 ölçümlerinde %bias sınırını geçmiştir (**Tablo 8**). PLT için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 17**'de gösterilmiştir.



**Şekil 17:** PLT için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Birincil Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **İkincil Y eksen:** ortalama trombosit sayısı ( $10^3/\mu\text{L}$ ), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri

## 4.2. Kardiyak Belirteçlerin Değerlendirilmesi

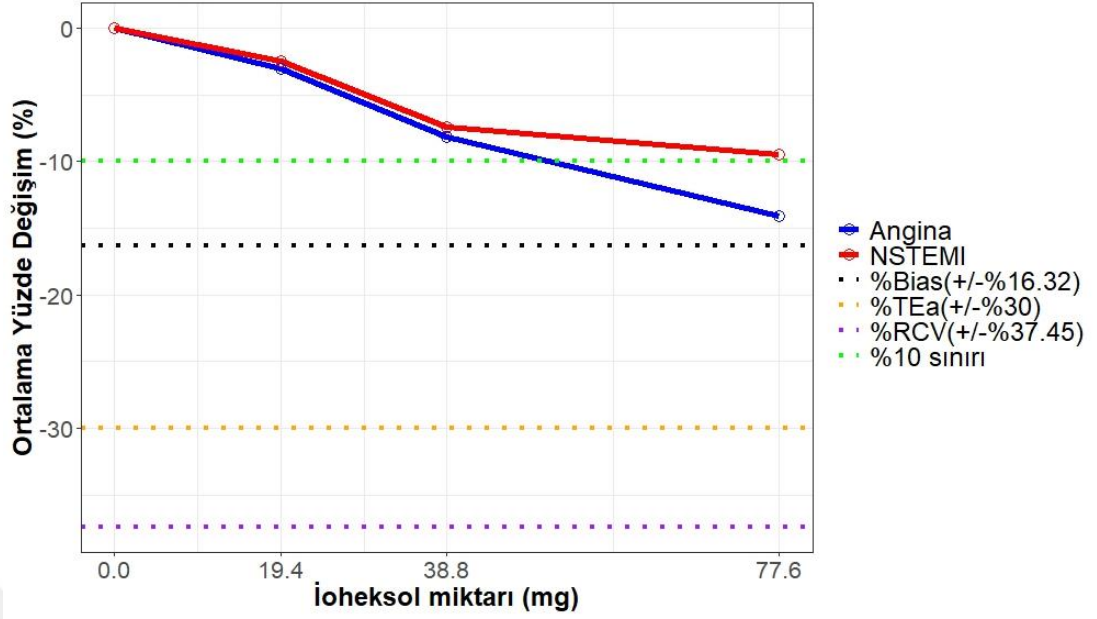
### 4.2.1. Yüksek Duyarlıklı Troponin I (hs-Tn I)

Toplam 110 hastadan oluşan çalışma popülasyonunda (Angina: n=90, NSTEMI: n=20), anjiyografi öncesi ve in vitro hs-TnI ölçümleri karşılaştırıldığında, her iki hasta grubunda da ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 9**). Anjiyografi öncesi ve sonrası ölçümler karşılaştırıldığında, Angina ( $p<0.001$ ) ve NSTEMI ( $p=0.001$ ) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (**Tablo 10**).

Tüm hasta grubu (n=110) için hs-TnI değerleri anjiyografi öncesi medyanı 3.0 pg/mL (1.3-6.33) olarak saptanmış, in vitro ölçümlerinde sırasıyla 2.78 pg/mL (1.21-6.6), 2.61 pg/mL (1.02-6.37) ve 2.31 pg/mL (1.02-5.61) değerleri ile bir düşüş gözlenmiştir (**Tablo 9**). Anjiyografi sonrası birinci ölçüm sonucunun anjiyografi öncesi ölçüme göre düştüğü (2.55 pg/mL; 1.18-6.4) ve anjiyografi sonrası ikinci ölçümde anjiyografi öncesi medyan değere yaklaştığı (2.90 pg/mL; 1.35-7.00) gözlenmiştir (**Tablo 10**).

Angina grubu için ikili grup karşılaştırmalarında anjiyografi öncesi ile in vitro ölçümler arasındaki, IV1-IV2, IV1-IV3 ve anjiyografi öncesi ile sonrası ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. NSTEMI grubu için, tüm in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalar ile AÖ-IV2, AÖ-IV3 ve anjiyografi öncesi ile sonrası ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (**Tablo 11, Tablo 12**). hs-TnI ortalama yüzde değişim değerleri tüm hasta grupları için, IV3 ölçümlerinde %10 ve TAH karar sınırlarını, sadece NSTEMI grubu için AS2 ölçümlerinde %10 sınırını geçmiştir (**Tablo 13**).

Angina ve NSTEMI grupları karşılaştırıldığında, iki grup arasındaki test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir (**Tablo 14**). hs-TnI için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferograf grafiği **Şekil 18**'de gösterilmiştir.



**Şekil 18:** hs-TnI için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**X eksen:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Y eksen:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri, **NSTEMI:** non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü

#### 4.2.2. Kreatin Kinaz – Miyokard Bandı (CK-MB)

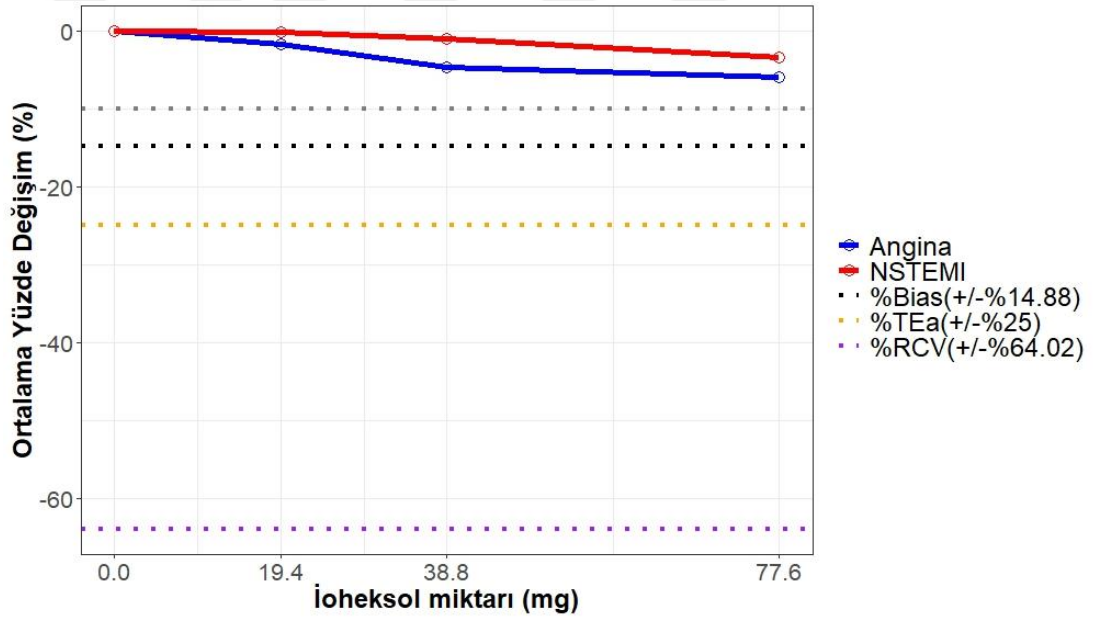
Toplam 110 hastadan oluşan çalışma popülasyonunda (Angina: n=90, NSTEMI: n=20), anjiyografi öncesi ve in vitro hs-TnI ölçümleri karşılaştırıldığında, her iki hasta grubunda da ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (**Tablo 9**). Anjiyografi öncesi ve sonrası ölçümler karşılaştırıldığında, Angina ( $p<0.001$ ) ve NSTEMI ( $p=0.044$ ) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (**Tablo 10**).

Tüm hasta grubu (n=110) için CK-MB değerleri anjiyografi öncesi medyanı 0.9 ng/mL (0.58-1.33) olarak saptanmış, in vitro ölçümlerinde sırasıyla 0.81 ng/mL (0.51-1.42), 0.82 ng/mL (0.51-1.36) ve 0.79 ng/mL (0.52-1.28), anjiyografi sonrası ilk ölçümde 0.80 ng/mL (0.50-1.40) ve ikinci ölçümde 0.80 ng/mL (0.50-1.40) olarak anjiyografi öncesi ölçüme göre düşük gözlenmiştir (**Tablo 9, Tablo 10**).

Angina grubu için ikili grup karşılaştırmalarında AÖ-IV2, AÖ-IV3, IV1-IV2, IV1-IV3 ve anjiyografi öncesi ile sonrası ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak

anlamli bulunmuştur. NSTEMI grubu için, tüm in vitro ölçümler arasındaki ikili karşılaştırmalar ile AÖ-IV2, AÖ-IV3 ve AÖ-AS2, AS1-AS2 karşılaştırmaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (**Tablo 11, Tablo 12**). CK-MB ortalama yüzde değişim değerleri, interferans karar sınırlarını geçmemiş ve kabul edilebilir sınırlar arasında değerlendirilmiştir (**Tablo 13**). Angina ve NSTEMI grupları karşılaştırıldığında, iki grup arasındaki test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir (**Tablo 14**).

CK-MB için, eklenen ioheksol konsantrasyonuna göre ortalama yüzde değişimlerinin değerlendirildiği interferogram grafiği **Şekil 19**'da gösterilmiştir.



**Şekil 19:** CK-MB için ioheksol interferansını gösteren interferogram

**X eksenini:** in vitro çalışmalarda eklenen ioheksol miktarı (mg), **Y eksenini:** ortalama yüzde değişim değerleri (%), **TEa:** toplam izin verilebilir hata, **RCV:** referans değişim değeri, **NSTEMI:** non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü

**Tablo 9:** Kardiyak parametrelerin anjiyografi öncesi ve in vitro ölçüm sonuçlarının iki grup için karşılaştırılması / Tekrarlı ölçümler non-parametrik Friedman testi

Parametreler		AÖ	IV1	IV2	IV3	p-değeri	
hs-TnI (pg/mL)	<b>Tüm hastalar (n=110)</b>	3 (1.3-6.33)	2.78 (1.21-6.6)	2.61 (1.02-6.37)	2.31 (1.02-5.61)	<0.001	
	<b>Tanı Grupları</b>	Angina (n=90)	2.4 (1.1-3.68)	2.18 (0.71-3.95)	2.1 (0.82-3.74)	2.1 (0.81-3.35)	<0.001
		NSTEMI(n=20)	1042.55 (341.35-2590.88)	1023.89 (336.87-2509.03)	1014.07 (310.91-2292.79)	936.39 (293.91-2195.17)	<0.001
CK-MB (ng/mL)	<b>Tüm hastalar (n=110)</b>	0.9 (0.58-1.33)	0.81 (0.51-1.42)	0.82 (0.51-1.36)	0.79 (0.52-1.28)	<0.001	
	<b>Tanı Grupları</b>	Angina (n=90)	0.8 (0.5-1.1)	0.81 (0.51-1.11)	0.82 (0.51-1.05)	0.68 (0.52-1.05)	<0.001
		NSTEMI(n=20)	2.1 (0.88-4.05)	2.07 (0.78-4.07)	2.05 (0.79-3.99)	2.04 (0.81-4.03)	<0.001

Veriler medyan (25. – 75. Yüzdeler) değerleri ile özetlenmiştir. p<0.05 değerleri tekrarlı ölçümler için non-parametrik Friedman testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. **AÖ:** anjiyografi öncesi, **IV1:** in vitro 1, **IV2:** in vitro 2, **IV3:** in vitro 3, **hs-TnI:** Yüksek duyarlılık Troponin I, **CK-MB:** Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı, **NSTEMI:** non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü

**Tablo 10:** Kardiyak parametrelerin anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının iki grup için karşılaştırılması / Tekrarlı ölçümler non-parametrik Friedman testi

Parametreler		AÖ	AS1	AS2	p-değeri	
hs-TnI (pg/mL)	<b>Tüm hastalar (n=110)</b>	3.00 (1.30-6.33)	2.55 (1.18-6.4)	2.90 (1.35-7.00)	<0.001	
	<b>Tanı Grupları</b>	Angina (n=90)	2.40 (1.10-3.68)	2.10 (0.98-3.65)	2.35 (0.98-4.18)	<0.001
		NSTEMI (n=20)	1042.55 (341.35-2590.88)	919.45 (301.45-2409.15)	938.55 (293.48-2591.6)	0.001
CK-MB (ng/mL)	<b>Tüm hastalar (n=110)</b>	0.90 (0.58-1.33)	0.80 (0.50-1.40)	0.80 (0.50-1.40)	<0.001	
	<b>Tanı Grupları</b>	Angina (n=90)	0.80 (0.50-1.1)	0.70 (0.50-1.13)	0.70 (0.50-1.13)	<0.001
		NSTEMI (n=20)	2.1 (0.88-4.05)	1.90 (0.93-4.05)	1.85 (1.00-4.05)	0.044

Veriler medyan (25. – 75. Yüzdeler) değerleri ile özetlenmiştir. p<0.05 değerleri tekrarlı ölçümler için non-parametrik Friedman testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. **AÖ:** anjiyografi öncesi, **AS1:** anjiyografi sonrası 1, **AS2:** anjiyografi sonrası 2, **hs-TnI:** Yüksek duyarlılık Troponin I, **CK-MB:** Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı, **NSTEMI:** non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü

**Tablo 11:** Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI grubu için anjiyografi öncesi ve in vitro ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri

Parametreler		AÖ-IV1	AÖ-IV2	AÖ-IV3	IV1-IV2	IV1-IV3	IV2-IV3
hs-TnI	Angina (n=90)	0.001	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	0.488
	NSTEMI (n=20)	0.066	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	0.037
CK-MB	Angina (n=90)	0.058	<0.001	<0.001	0.037	<0.001	0.068
	NSTEMI (n=20)	0.162	0.041	0.003	0.034	0.003	0.008

p<0.05 değerleri Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon işaretli sıra testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. AÖ: anjiyografi öncesi, IV1: in vitro 1, IV2: in vitro 2, IV3: in vitro 3, hs-TnI: Yüksek duyarlılık Troponin I, CK-MB: Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı, NSTEMI: non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü

**Tablo 12:** Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI grubu için anjiyografi öncesi ve anjiyografi sonrası ölçümlerinin Bonferroni düzeltmesine dayalı post-hoc ikili grup karşılaştırılmaları ve p değerleri

Parametreler		AÖ-AS1	AÖ-AS2	AS1-AS2
hs-TnI	Angina (n=90)	0.002	<0.001	0.391
	NSTEMI (n=20)	0.002	<0.001	0.752
CK-MB	Angina (n=90)	0.001	0.002	0.103
	NSTEMI (n=20)	0.078	0.032	0.037

p<0.05 değerleri Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon işaretli sıra testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. AÖ: anjiyografi öncesi, AS1: anjiyografi sonrası 1, AS2: anjiyografi sonrası 2, hs-TnI: Yüksek duyarlılık Troponin I, CK-MB: Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı, NSTEMI: non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü

**Tablo 13:** Kardiyak parametrelerin in vitro ve anjiyografi sonrası ölçüm sonuçlarının anjiyografi öncesi ölçümlere göre medyan yüzde değişimleri

Parametreler		IV1	IV2	IV3	AS1	AS2	
hs-TnI	Tüm hastalar (n=110)	%-3.05	%-7.95	%-14.23 <sup>a,c</sup>	%-9.09	%-6.12	
	Tanı Grupları	Angina (n=90)	%-4.88	%-8.21	%-15.31 <sup>a,c</sup>	%-9.31	%-4.94
		NSTEMI (n=20)	%-1.83	%-7.69	%-13.79 <sup>a,c</sup>	%-8.13	%-10.38 <sup>a</sup>
CK-MB	Tüm hastalar (n=110)	%1.20	%-4.81	%-6.84	%0	%-0.52	
	Tanı Grupları	Angina (n=90)	%1.20	%-5.48	%-6.84	%0	%0
		NSTEMI (n=20)	%1.20	%-0.02	%-4.73	%-5.91	%-5.28

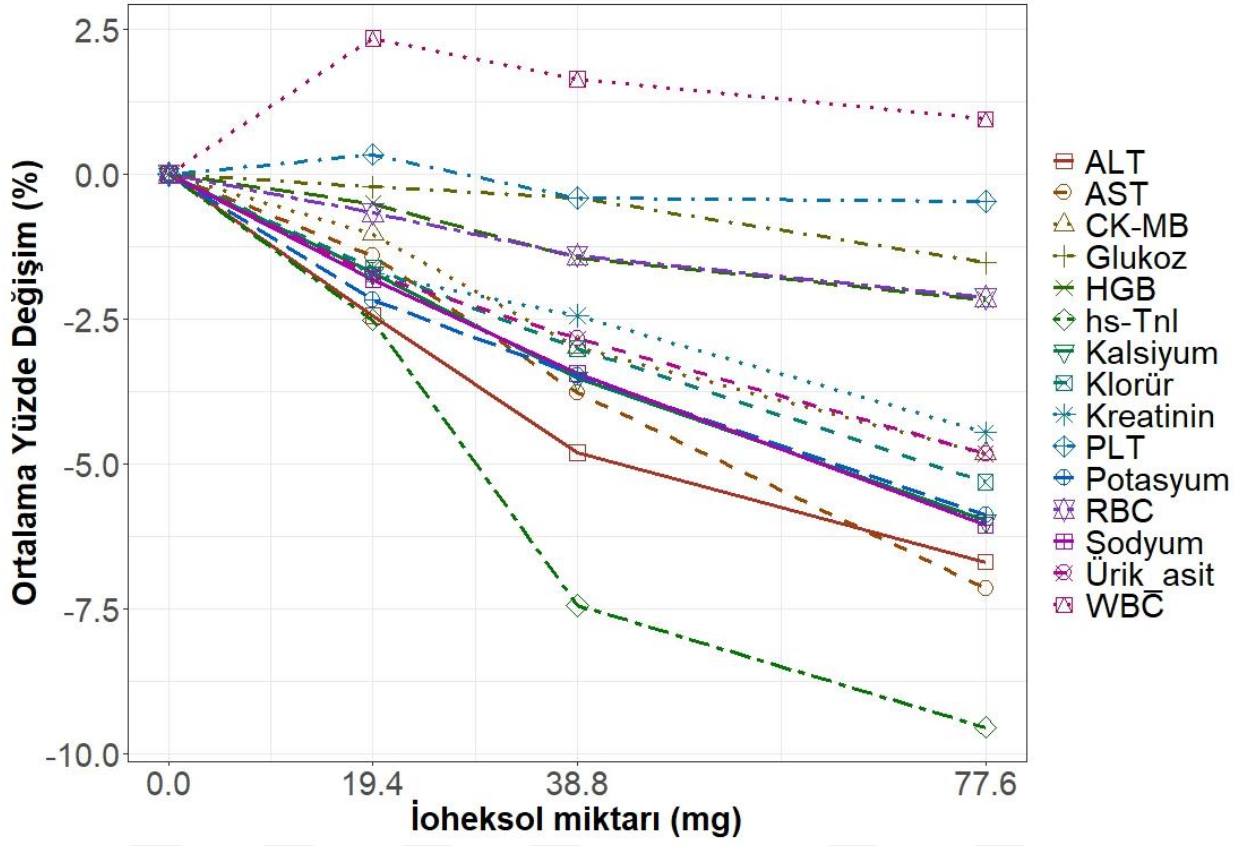
<sup>a</sup> Glick ve arkadaşlarının yönergelerine göre %10'u aşan değerler, <sup>b</sup> %Bias'ı aşan değerler, <sup>c</sup>Toplam analitik hata (TAH) değerini aşan değerler, <sup>d</sup>Referans değişim değerini (RCV) aşan değerler, <sup>e</sup>Toplam izin verilebilir hata (TEa) verilerini aşan değerler. **IV1:** in vitro 1, **IV2:** in vitro 2, **IV3:** in vitro 3, **AS1:** anjiyografi sonrası 1, **AS2:** anjiyografi sonrası 2, **NSTEMI:** non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüs

**Yüksek duyarlılık Troponin I (hs-TnI) → Bias:** %16.32, **TAH:** %12.78, **RCV:** %37.45, **TEa:** %30  
**Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı (CK-MB) → Bias:** %14.88, **TAH:** %24.09, **RCV:** %64.02, **TEa:** %25

**Tablo 14:** Kardiyak parametrelerin Angina ve NSTEMI gruplarının ikili karşılaştırması için iki grup bağımsız örneklem Mann Whitney U testi p-değerleri

Parametreler	AÖ	IV1	IV2	IV3	AS1	AS2
<b>hs-TnI</b>						
Angina vs. NSTEMI	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>CK-MB</b>						
Angina vs. NSTEMI	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

p<0.05 değerleri post hoc Mann Whitney U testi için istatistiksel anlamlılığı gösterir. **AÖ:** anjiyografi öncesi, **IV1:** in vitro 1, **IV2:** in vitro 2, **IV3:** in vitro 3, **AS1:** anjiyografi sonrası 1, **AS2:** anjiyografi sonrası 2, **NSTEMI:** non-ST segment elevasyonlu miyokard enfarktüs



**Şekil 20:** Tüm parametreler için ioheksol interferansını gösteren interferograf

**ALT:** Alanin aminotransferaz, **AST:** Aspartat aminotransferaz, **CK-MB:** Kreatin Kinaz - Miyokard Bandı, **HGB:** Hemoglobin, **hs-TnI:** Yüksek duyarlıklı Troponin I, **PLT:** Trombosit sayısı, **RBC:** Eritrosit sayısı, **WBC:** Lökosit sayısı

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma ile anjiyografi öncesi ve sonrası tam kan sayımı, kardiyak belirteç ve biyokimya parametrelerini inceleyerek, bu testlerin kontrast madde interferansından etkilenip etkilenmediğini hem in vivo hem de in vitro olarak değerlendirdik. Farklı oranlarda kontrast madde ekleyerek in vitro ölçüm sonuçlarını gerçekleştirdik, bu sonuçların anjiyografi öncesi ölçüm sonuçlarına kıyasla ortalama yüzde değişimlerini hesapladık ve bu yüzde değişim değerlerini %bias, izin verilen toplam hata, referans değişim değeri ve %10 karar sınırına göre inceledik.

Klinik uygulamalarda rutinde kullanılan kontrast madde konsantrasyonlarının sodyum, potasyum, klorür ve kalsiyum analizlerinde belirgin negatif interferansa yol açtığını ve ölçüm sonuçlarını anlamlı düzeyde etkilediğini tespit ettik.

Çalışmamız, artan kontrast madde maruziyetinin kreatinin, aspartat aminotransferaz, hemoglobin ve eritrosit sayısı ölçümlerini belirgin şekilde negatif yönde etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. Ancak, bu parametreleri klinik olarak anlamlı düzeyde etkileyebilecek kontrast madde dozlarının rutin klinik pratikte nadiren kullanıldığı görülmektedir. Glukoz, ürik asit, alanin aminotransferaz, lökosit sayısı, trombosit sayısı, hs-TnI ve CK-MB parametrelerinde gözlemlenen interferans etkilerinin, kabul edilebilir karar sınırları aralığında olduğu ve böylelikle bu parametrelerin kontrast madde interferansından etkilenmediği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda laboratuvar parametrelerinde anjiyografi öncesi ve sonrası ilk ölçümlerde anlamlı değişiklik olmasını öngördük. Biyokimya, tam kan sayımı ve kardiyak parametreler in vivo olarak değerlendirildiğinde, anjiyografi sonrası ilk ölçümlerin, anjiyografi öncesi ölçümlere kıyasla ortalama yüzde değişim değerleri analiz edilmiştir. Sodyum, potasyum, klorür, kalsiyum, hemoglobin, eritrosit ve trombosit sayısı ölçümlerinde gözlemlenen negatif interferans, anlamlı olarak değerlendirilmiştir. İn vitro çalışmalar, interferansın varlığını değerlendirmede yol gösterici olmakla birlikte, gerçek klinik durumu yansıtması açısından AÖ-AS1 ölçümleri arasındaki farkın dikkate alınması gerekmektedir.

Ortalama yüzde değişimlerinin karar sınırları ile karşılaştırılması, interferansın anlamlı olup olmadığının değerlendirilmesine olanak sağlar. Uzun yıllardır, interferans çalışmalarında, kit üreticileri de dahil olmak üzere, Glick ve arkadaşlarının (5) önerdiği %10 sınırı temel alınmıştır. Ancak, güncel çalışmalar %bias sınırının kullanılmasının daha uygun bir yöntem olduğunu ve %10 sınırının her parametre için uygun olmayacağını savunmaktadır (3, 58).

Kontrast maddelerin kardiyak Troponin I (cTnI) immünoassay ölçümlerinde interferansa neden olup olmadığını belirlemek için in vivo ve in vitro çalışmalar gerçekleştiren Lin ve arkadaşları (87), koroner anjiyografi yapılan hastalarda anjiyografi öncesi ve sonrası ölçümleri farklı cihazlarda incelemiş ve immünotestlerin üretici firmaya bağlı olarak farklı şekilde etkilenebileceğini ortaya koymuştur. İki farklı sistemi karşılaştıran bu çalışmada 12 farklı iyotlu kontrast madde kullanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmanın in vitro aşaması iki farklı şekilde gerçekleştirilmiş olup, kullanılan kontrast maddeler arasında iohexol de yer almıştır. Sonuçlara göre normal böbrek fonksiyonu olan hastalarda, floresan enzim immünoassay yöntemlerle ölçüm yapan Opus Magnum (Behring Diagnostics) sisteminde pozitif interferans tespit edilirken, iki bölgeyi immünoenzimatik (sandviç) immünoassay yöntemlerle ölçüm yapan Access (Beckman Coulter, Inc.) sisteminde bu kontrast ajanlar için herhangi bir interferans saptanmamıştır. Böbrek fonksiyonları azalmış ya da böbrek yetmezliği tanılı hastalarda saptanan interferans süresi diğer hastalardan daha uzun olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, işlem sonrası yanlış pozitif sonuçların 1 saate kadar gözlemlenebileceği bildirilmiştir. Opus Magnum analizöründe, artan kontrast madde miktarı konsantrasyonlarının cTnI ölçümlerinde bir artışa yol açtığı tespit edilmiştir (87).

Kontrast maddelerin, immünoassay analizlerinde kullanılan poliklonal veya monoklonal antikorlarla potansiyel olarak etkileşime girebilecek tanımlanmamış antijenik bölgelere sahip olabileceği düşünülmektedir. İmmünolojik testlerde kullanılan antikorların özgüllüğünün, testin doğruluğu üzerinde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Lin ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, floresan enzim immünoassay yöntemlerle ölçüm yapan Opus Magnum analizöründe kullanılan sandviç formatındaki iki farklı keçi poliklonal antikorun bağlanma özgüllüğünün yetersiz olduğu ve bu durumun interferansa yol açtığı ifade edilmiştir. Access

analizöründe ise kardiyak troponin I testi, monoklonal fare antikorlarından oluşan iki bölgesel enzimatik immünoassay yöntemlerle ölçülmektedir. Poliklonal antikorların daha az spesifik olması, test sonuçlarında yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilecek interferans riskini artırmaktadır. Access yöntemi gibi monoklonal antikorlar kullanan testlerin ise daha spesifik olduklarından dolayı poliklonal antikora göre interferansa daha az maruz kaldığı öne sürülmüştür (87).

Ayrıca bu araştırmanın (87) in vivo aşamasında, koroner anjiyografi ve anjiyoplasti işlemi uygulanan hastaların işlem öncesi ve sonrası cTnI seviyeleri ölçülmüştür. Ancak tespit edilen pozitif interferans kapsamında, özellikle anjiyoplasti yapılan hastalarda işlemden sonra troponin seviyelerinin artabileceğinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Koroner girişim yapılan hastalarda pozitif interferansın, girişim yapılmadan yalnızca koroner anjiyografi uygulanan hastalara kıyasla daha yüksek olması, çalışmanın yazarları tarafından da gözlemlenmiş ve bu durum invaziv işlemler sırasında daha fazla kontrast madde kullanımına bağlanmıştır. Ayrıca heparin kullanımının, kardiyak troponin I testi ölçümlerinde pozitif interferans etkisinin olabileceği düşünülmüş ve bu durumun araştırılması gerektiği önerilmiştir (87). Biz tüm bunların önüne geçebilmek amacıyla çalışmamızda, NSTEMI tanılı sadece anjiyografi yapılan, herhangi bir invaziv işlem (örneğin stent veya balon yerleştirme) uygulanmayan, heparin kullanılmayan hastalardan kan örnekleri alınmasını tercih ettik.

Taşcanov ve Gönel'in (104) kontrast ajanların kardiyak belirteçler ve koagülasyon testleri üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada, Advia Centaur XP (Siemens Healthcare Diagnostics) cihazında ioheksolün Troponin I analizinde negatif interferansa neden olduğunu tespit etmiş ve bunu çapraz reaksiyonlarla ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda, hs-Troponin I testi, anti-troponin I monoklonal fare antikoruna kaplı paramanyetik mikropartiküller içeren CMIA (kemilüminesan mikropartikül immünoassay) yöntemiyle ölçülen hs-Troponin I analizinin ioheksol interferansından negatif etkilendiğini gözlemledik, bunun çapraz reaksiyonlardan kaynaklanabileceğini düşündük.

Yedi farklı kontrast madde ile gerçekleştirilen Gönel'in interferans değerlendirmesinde, CK-MB analizinin çok yüksek konsantrasyonlarda dahi (20 µL

kontrast madde + 180 µL kan örneği) %0.2 ila %4.2 arasında değişen bir etkileşime maruz kaldığı belirlenmiş ve çalışmada kontrast madde interferansından en az etkilenen immünolojik analiz olarak saptanmıştır. Çalışmamız ile benzer şekilde, kütle CK-MB ölçümü yapılan çalışmada, CK-MB'nin ioheksol interferansından negatif etkilendiği tespit edilmiştir. Ayrıca, yine aynı çalışmada immünolojik analizlerde gadolinyum bazlı kontrast maddelerin iyot bazlı olanlara kıyasla daha fazla interferansa neden olduğu tespit edilmiş olup, bu durum gadolinyumun işaretli reaktif antikor veya analit ile bağlanma yeteneğinin daha fazla olmasına bağlanmıştır (104).

Taşcanov ve Gönel'in (104) çok yüksek iyot ve gadolinyum bazlı kontrast maddeler kullanarak gerçekleştirdiği bu çalışmada, Abbott c16000 cihazında enzimatik yöntemlerle ölçülen AST'nin, incelenen parametreler arasında kontrast madde interferansından en az etkilenen analizlerden biri olduğu belirlenmiştir. Enzimatik yöntemlerde enzim aktivitesi, reaktif substratının belirli bir zaman diliminde parçalanma miktarıyla doğru orantılı olarak ölçülmektedir. Bu çalışmada enzimatik yöntemlerle gerçekleştirilen analizlerde interferans etkisinin düşük seviyelerde tespit edilmesinin temel nedeni, kontrast madde ile substratlar arasındaki şelasyonun az olması olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise ALT ve AST parametreleri çok yüksek kontrast madde varlığında negatif etkilendi. Bu interferans %bias sınırına göre AST için anlamlı olarak değerlendirildi.

Spektrofotometrik interferans mekanizması için hemoliz örnek olarak verildiğinde, hemoglobinin 320-450 nm ve 540-580 nm dalga boylarında absorptans gösterir. Bu dalga boylarında kolorimetrik yöntemlerle ölçülen lipaz, albümin, demir ve GGT gibi analitler ve enzimler hemoliz interferansından daha çok etkilenir (49, 105). Bu referanstan yola çıkarak çalışmamızda kullanılan kontrast madde (Omnipol 300 mg I/mL) ile spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirdik. Laboratuvarımızda bulunan ölçüm aralığı 325-1100 nm olan spektrofotometre (Shimadzu, UV-1201, Kyoto, Japan) ile kontrast madde absorptansı değerlendirildi. 325-350 nm dalga boyları arasında daha yüksek absorptans değerleri elde edildi. Böylelikle çalışmamızda belirtilen dalga boylarında ölçümü yapılan glukoz, ALT ve AST parametrelerinin ioheksol tarafından negatif yönde etkilenmesinin, spektrofotometrik mekanizmalar ile ilişkilendirilebileceği düşünüldü.

Volk ve arkadaşlarının (106) çalışmasında, yanlış pozitif kardiyak Troponin I (cTnI) sonuçları değerlendirilmiş ve cTnI analizlerinin heterofilik antikörelere, diğer kardiyak belirteçlere kıyasla daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, yüksek cTnI seviyeleri tespit edilmesine rağmen, CK-MB sonuçlarının normal aralıkta olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, immünoassay yöntemlerle ölçülen hs-TnI'nin ioheksol interferansından etkilendiği, ancak CK-MB analizlerinin bu interferanstan etkilenmediği gözlemlenmiştir. Bu durumun, her iki molekülün yapısal farklılıklarından kaynaklandığı düşünölmektedir.

İmmünoassay ölçümlerde en yaygın görölen interferans türünün, numunede veya analitte bulunan bileşenlerle oluşun çapraz reaksiyonlar olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (1). Loh ve arkadaşlarının (107) yaptığı interferans çalışmasında ise, ioheksolün endokrinolojik immünotestlerin sonuçları üzerindeki etkileri in vitro olarak incelenmiş ve interferansa neden olabileceği tespit edilmiştir. İmmünotestlerdeki interferansın; kontrast maddede bulunan, antikörelarla çapraz reaksiyona girme potansiyeli taşıyan veya antiköreları inhibe edebilecek tanımlanamamış antijenik bölgelerin varlığı, ioheksolün yüksek ozmolalitesinin neden olduğu seyreltme etkileri veya spektrofotometrik özelliklerinin UV ölçümlerinde interferansa yol açma olasılığı ile açıklanabileceği düşünölmüştür. Loh ve arkadaşlarının (107) yaptığı bu çalışmada iyotlu kontrast maddelerden yalnızca ioheksol değerlendirilmiş ve tespit edilen interferans etkisinin, klinikte nadiren karşılaşılan çok yüksek kontrast madde konsantrasyonlarında gözlemlendiği belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da in vitro 3 ölçümlerinde klinikte nadir kullanılan düzeylerde kontrast madde konsantrasyonları incelenmiş ve bu ölçümlerde, daha fazla sayıda parametrede interferans yüzdelerinin karar sınırlarını aşığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda tüm potansiyometrik ölçümler in vitro ilk ölçümden itibaren % bias sınırını geçmiştir. Sodyum tüm ölçümlerde ek olarak TEa sınırını, IV2 ve IV3 ölçümlerinde ise RCV sınırını da aşmıştır. Potasyum ve klorür IV3 ölçümlerde TEa sınırını da aşmıştır.

Kontrast ajanların kimyasal özellikleri zamanla önemli ölçüde değiştirilmiş olup, ilk nesil iyonik kontrast maddeler yüksek ozmolariteleri nedeniyle kontrasta bağlı nefropati riskini artırmıştır. Bu riski azaltmak amacıyla geliştirilen yeni nesil

iyonik olmayan kontrast maddeler, polar ancak ayrışmaz yapıları sayesinde daha düşük ozmolariteye sahip olmalarına rağmen, viskoziteleri daha yüksektir (16). Yeni nesil iyonik olmayan kontrast maddelerin yüksek viskozitesi, plazmanın fiziksel özelliklerini değiştirerek dolaylı yoldan hacim yer değiştirme etkisi oluşturabilir. Bu durum, indirekt iyon-seçici elektrot yöntemleriyle yapılan sodyum ölçümlerinde daha belirgin hatalara yol açabilir. Literatürde hacim yer değiştirme etkisinden dolayı hiperproteinemide psödohiponatremi ya da hipoproteinemide psödohipernatremi gelişebileceği belirtilmiştir (108). Bu tür fiziksel artefaktlar veya matriks etkilerinden kaynaklanan sapmaların sayıca fazla olduğu çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir (109). Çalışmamızda potansiyometrik ölçümlerde tespit edilen anlamlı düzeydeki interferansın, suyun yer değiştirme özelliği gibi interferans mekanizmalarıyla ilişkili olabileceği değerlendirilmiştir.

Otnes ve arkadaşlarının (2) iyot ve gadolinyum bazlı kontrast maddelerle yaptığı interferans araştırmasında, düşük ve yüksek kontrast madde konsantrasyonlarının kalsiyum, demir, sodyum, çinko ve magnezyum analizlerinde interferansa neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada üre, kreatinin, albümin, iyonize kalsiyum, koagülasyon faktörleri ve tam kan parametrelerinin in vitro inkübasyon süresine göre interferans varlığının değiştiği tespit edilmiştir.

Arsenazo-III kolorimetrik yöntemlerle ölçülen kalsiyum testinde iyodiksanol ve iomeprol gibi iyot bazlı kontrast maddeler için pozitif interferans gözlemlenmiştir (2). İyotlu kontrast ajanların da kalsiyum bağlayıcı bileşenler içerdiği ve interferans nedeniyle yanlış hipokalsemiye yol açtığı bilinmektedir (110). İohexsol interferansı araştırdığımız çalışmamızda ise, arsenazo-III yöntemi ile analiz edilen kalsiyum testi, Otnes ve arkadaşlarının (2) çalışmasındaki iyot bazlı kontrast maddelerden farklı olarak negatif interferans göstermiştir. Kolorimetrik yöntemlerle gerçekleştirilen biyokimyasal analizlerde, kromoforlar belirli dalga boylarında ışığı absorbe ederek renkli kompleksler oluşturur. Ancak, kontrast maddeler kromoforun bağlanma bölgesine etkileşerek veya absorpsiyon dalga boyunu değiştirerek ölçüm sonuçlarını etkileyebilir (94). Bu tür etkileşimler, spektrofotometrik ölçümlerde hatalara yol açabileceğinden, kolorimetrik analizlerin doğruluğunu değerlendirmek için bu durumun göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Ayrıca, iyodksanol ve iomeprol için direkt potansiyometrik sodyum analizlerinde negatif interferans tespit edilmiştir. Ve bu analizlerin, in vitro çalışmalarda kontrast madde havuzu oluşturulurken dilüsyon amaçlı kullanılan salin çözeltiden dolayı yanlılık gösterdiği gözlemlenmiştir. 12 mgI/mL yüksek konsantrasyon olarak belirlenmiş ve bu konsantrasyonlarda gözlemlenen interferansların, kontrast ajanların enjeksiyonlarından kısa bir süre sonra ya da glomerüler filtrasyon hızı düşük olan hastalarda klinik açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir (2).

Kontrast madde etkisini incelemek için kontrast madde eklenen numunelerin, salin eklenen numunelerle farkını ölçüm belirsizliğine göre değerlendiren Johansson'un çalışmasında (111), biyokimyasal belirteçler, tam kan sayımı ve koagülasyon testleri analiz edilmiştir. Biyokimyasal ve tam kan sayımı analizleri Cobas 6000 (Roche Diagnostic, Almanya), Sysmex XN-2000 (Sysmex Corporation, Japonya) cihazlarında gerçekleşmiş, kontrast madde olarak ioheksol ve gadoterik asit araştırılmıştır. Çalışmalar, kontrast maddenin klorür, sodyum, ürik asit, hemoglobin ve platelet seviyeleri üzerinde interferansa neden olduğunu ortaya koymuştur. ALT, kalsiyum, glukoz, potasyum, üre analizleri etkilenmemiş olarak kabul edilmiştir. Ölçüm belirsizliği ile karşılaştırıldığında ise kreatinin de etkilenmeyen gruba dahil edilmiştir. Sodyum ve klorür için ioheksolün yüksek konsantrasyonlarında interferans gözlemlenmiştir. Bu çalışmaya göre; özellikle gadoterik asit içeren kontrast maddeler, trombosit konsantrasyonunu belirgin şekilde etkileyerek bu analizlerin klinik açıdan güvenilirliğini azaltmaktadır. Hemoglobin interferansı ioheksol için belirsizlik sınırını aşmazken, gadoterik asit için anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Kontrast madde eklenmesinin analizlerin büyük kısmın üzerinde ya hiç etkisinin olmadığı ya da minimal düzeyde bir etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

Hitachi 7600 (Hitachi High-Technologies Corporation, Japan), AU 5800 (Beckman Coulter Inc., USA) ve Cobas c702 (Roche Diagnostics, USA) analizörlerinde iopamidol ve ioheksol %1.8, %3.6, %5.5, %7.3 ve %9.1 konsantrasyonlarda numune alikotlarına ekleyerek interferans çalışması yapan Park ve arkadaşları (112), ortalama yüzde değişimleri referans değişim değerine göre incelemiştir. Tüm analizörlerde en anlamlı interferansı ise, iopamidol ile total protein ölçümünde tespit etmişlerdir. Kalsiyum, glukoz, kreatinin, ürik asit, AST, ALT,

potasyum bu çalışmadaki 28 parametreden bizim çalışmamızla ortak olan analizlerdir ve ioheksol interferansından etkilenmemişlerdir.

Çalışmamızda tam kan sayımı parametreleri incelendiğinde, eritrosit sayısı IV3, AS1 ve AS2 ölçümlerde %bias sınırını aşarak negatif etkilenmiştir. Hemoglobinin IV3, AS1 ve AS2 ölçümlerinde %bias ve TAH sınırlarını geçmesi anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Bu durumun, Hardeman ve arkadaşlarının (113) da belirttiği üzere, eritrosit morfolojisinde meydana gelen değişikliklerin RBC analizlerinde gözlenen negatif interferansa yol açabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Hardeman ve arkadaşlarının (113), non-iyonik (ioheksol, iopamidol) ve iyonik (iyoksaglat) iyot bazlı kontrast maddelerin kan viskozitesi ve eritrosit morfolojisi üzerindeki etkilerini incelediği çalışmada, ioheksolün eritrositlerin şeklini bozarak ekinosit morfolojisi kazanmasına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bu etkinin çok düşük kontrast madde konsantrasyonlarında bile meydana geldiği ve eritrositlerin rulo formasyonunda azalma görüldüğü de çalışmanın sonuçları arasında yer almaktadır. Bu nedenle, kontrast madde kan hücrelerinin boyut ve morfolojisine dayalı analizleri dolaylı olarak etkileyebilmektedir. Ayrıca yine bu çalışmada eritrositlerin ioheksol varlığında hiperozmolar strese daha duyarlı olduğu bulunmuştur (113).

Kontrast maddenin tam kan sayımı interferans çalışmalarında, negatif veya pozitif etkilerden ziyade, kan hücrelerinin morfolojisi, agregasyonu ve kanın akış özellikleri üzerindeki etkileri öncelikli olarak değerlendirilmiştir (68). Bu parametrelerin daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi için ileri düzey araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Çalışmamızda, her bir parametre için farklı iki konsantrasyona uygun hasta bulmadaki zorluklar nedeniyle, yalnızca hs-Troponin I ve CK-MB parametreleri için farklı konsantrasyonlarda interferans çalışması tamamlanabilmiş ve bu durum çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak değerlendirilmiştir. Düşük konsantrasyonlar, elektif anjiyografi uygulanan hastaların sonuçları üzerinden değerlendirilirken, yüksek konsantrasyonlar için NSTEMI tanısı alan hastaların sonuçları kullanılmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda, hs-Troponin I için belirlenen referans aralığının en yüksek değerinin 3 ila 500 katına kadar olan sonuçlar incelenirken, CK-MB için ise en fazla

5 katına kadar olan sonuçlar değerlendirilmiştir. Kılavuzlara göre hs-TnI testlerinde potansiyel interferans etkilerinin değerlendirilmesinde, akut miyokard enfarktüsü geçirmemiş bireyler için %99 persentil değeri düşük konsantrasyon olarak kabul edilirken, yüksek konsantrasyon olarak bu değerin 25 ila 50 katı kullanılmalıdır (3). Laboratuvarımızda kullandığımız kitlerde, kadın ve erkek hasta popülasyonları için ortak hs-TnI %99 persentil değeri, 26.2 pg/mL ile referans aralığında değerlendirilmektedir.

Glukoz ölçümü, in vitro çalışmalarda anjiyografi öncesi ölçümlere kıyasla negatif etkilenirken, anjiyografi sonrası ölçümlerde pozitif bir artış gözlemlendi. Kortizol, adrenalin gibi stres hormonları, glukoz metabolizmasını etkileyerek kan glukoz düzeylerinde artışa neden olabilir. Özellikle stres koşullarında, bu hormonların glukoz homeostazını bozarak hiperglisemi gelişimine katkıda bulunabileceğini yapılan araştırmalarla gösterilmiştir (114). Çalışmamızda anjiyografi sonrası kan glukoz düzeylerindeki öngörülenden yüksek artış göstermesinin, interferanstan ziyade anjiyografi sürecinde salınan stres hormonlarına sekonder olarak geliştiği düşünüldü.

Literatürde, kontrast madde interferansını değerlendiren çalışmalarda, CLSI kılavuzunun interferans tespitine yönelik önerdiği protokollere uygun şekilde interferan madde havuzlarının hazırlandığı çalışmaların (2) yanı sıra, dilüsyon faktörleri kullanılarak uygulanan çalışmalar da (107, 111, 112) yer almaktadır. Kontrast madde havuzlarının hazırlandığı çalışmalarda dilüsyon amacıyla %0.9 sodyum klorür çözeltileri kullanılmıştır (2). Çalışmamızda, dilüsyon faktörleri dikkate alınarak değerler yeniden hesaplanmış ve istatistiksel analizler bu düzeltilmiş veriler üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Kontrast madde interferans çalışmalarının en büyük sınırlılıklarından biri de interferans mekanizmasını anlamak için çalışmalar yapılmamış olmasıdır. Bu durum, gerçek (in vivo) etkilerin, artefakt (in vitro) etkilerden ayırt edilmesini zorlaştırmaktadır (2). İn vitro çalışmalar, çok yüksek kontrast madde konsantrasyonu ve uzun inkübasyon süreleri gerektirir. İn vivo çalışmalar ise, hastaya bağlı faktörler ve uygulama şekline bağlı değişkenlerinden etkilenebilir. Tüm bunlar dikkate alındığında in vitro çalışmalarda gözlemlenen etkilerin klinik olarak anlamlı olmadığını öne süren çalışmalar mevcuttur (68).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda ölçümü gerçekleştirilen tam kan sayımı, biyokimyasal testler ve kardiyak belirteçler üzerinde, koroner anjiyografi sürecinde kullanılan iohexsolün olası interferans etkileri araştırıldı. İn vivo ve in vitro yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada, anjiyografi öncesi ve sonrası sonuçlar karşılaştırılmış ve kontrast maddenin laboratuvar analizlerinde oluşturabileceği olası etkiler sistematik bir şekilde incelenmiştir. Elde edilen bulgular, incelenen parametrelerin çoğunda negatif interferansın meydana geldiğini göstermiştir. Ancak in vitro çalışmalarda, güncel klinik uygulamalarda kullanılan kontrast madde dozlarında sodyum, potasyum, klorür ve kalsiyum parametreleri için anlamlı negatif interferans gözlemlenmiştir.

Literatürde kontrast maddeye bağlı interferanslara dair çeşitli araştırmalar bulunmasına rağmen, günlük pratikte yaygın olarak kullanılan biyokimyasal parametreler ve kardiyak belirteçler, özellikle hs-Troponin I ve CK-MB üzerindeki etkilerini ayrıntılı bir şekilde inceleyen çalışmalar sınırlıdır. Çalışmamız hem in vivo hem de in vitro yöntemlerin kullanılması, çalışma protokolünün standardizasyonu ve kılavuzlara uygunluğu sayesinde, klinik laboratuvar pratiği için güvenilir bir referans olma potansiyeline sahiptir.

İnterferans olasılığı nedeniyle hatalı sonuçların yanlış tanı ve tedaviye yol açmaması için laboratuvar testleri, mümkün olduğunca radyolojik görüntülemelerden önce yapılmalıdır. Klinik olarak acil bir gereklilik bulunmadığı sürece, kan ve idrar örneklerinin analizinin, kontrast madde enjeksiyonundan sonraki ilk saat içinde gerçekleştirilmemesi önerilir. Kontrast maddenin ölçüm sonuçları üzerindeki interferans etkisini en aza indirmek ve güvenilir sonuçlar elde etmek için en uygun numune alım zamanının belirlenmesi gerekmekte olup, bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Rutin laboratuvar uygulamalarında interferans olasılığını yönetmek için kapsamlı bir kalite sistemi oluşturulmalı; bu kapsamda laboratuvar ve klinik

personelinin eğitimi, tespit sürecine yönelik uyarı mekanizmalarının (örneğin delta kontrolleri, kritik limitler, analizör işaretleri, uyumsuz klinik sonuçların farkındalığı ve klinik konsültasyon gerekliliği) geliştirilmesi sağlanmalıdır. Yeni bir interferans tespit edildiğinde, interferantın analit üzerindeki etkilerini değerlendirmek ve gerekli metodolojik düzenlemeleri yapmak amacıyla kit üreticisi ile iş birliği sağlanması önemlidir.

Pozitif veya negatif interferans varlığı, bileşiğin yapısına bakılarak her zaman açıkça belirlenmemektedir. İnterferansın nasıl ve neden meydana geldiğini açıklayabilmek için, eksojen interferantın kimyasal özelliklerini ve analitik reaksiyonlarla etkileşim mekanizmalarını anlamak önemlidir. Bu nedenle ioheksol kaynaklı interferans mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için kapsamlı araştırmalar yapılması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clinical chemistry*. 1994;40(11):1996-2005.
2. Otnes S, Fogh-Andersen N, Rømsing J, Thomsen HS. Analytical interference by contrast agents in biochemical assays. *Contrast media & molecular imaging*. 2017;2017(1):1323802.
3. McEnroe R, Dimeski G, Durham A. CLSI Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. Clsi ep07 3rd ed Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2017.
4. Dimeski G. Interference testing. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2008;29(Suppl 1):S43.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clinical Chemistry*. 1986;32(3):470-5.
6. Collet C, Grundeken MJ, Asano T, Onuma Y, Wijns W, Serruys PW. State of the art: coronary angiography. *EuroIntervention*. 2017;13(6):634-43.
7. Garrone P, BIONDI-ZOCCAI G, Salvetti I, Sina N, Sheiban I, Stella PR, Agostoni P. Quantitative coronary angiography in the current era: principles and applications. *Journal of interventional cardiology*. 2009;22(6):527-36.
8. van der Molen AJ, Krabbe JG, Dekkers IA, Geenen RW, Bellin M-F, Bertolotto M, et al. Analytical interference of intravascular contrast agents with clinical laboratory tests: a joint guideline by the ESUR Contrast Media Safety Committee and the Preanalytical Phase Working Group of the EFLM Science Committee. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2024;62(4):608-14.
9. Thomsen HS, Webb JA. *Contrast media: safety issues and ESUR guidelines*: Springer; 2009.
10. Thomas L. Haemolysis as influence and interference factor. *eJIFCC vol 13 no 4*. 2013.
11. Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ, editors. *Interference in coagulation testing: focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia*. Seminars in thrombosis and hemostasis; 2013: Thieme Medical Publishers.
12. Bolstad N, Warren DJ, Bjerner J, Kravdal G, Schwettmann L, Olsen KH, et al. Heterophilic antibody interference in commercial immunoassays; a screening study using paired native and pre-blocked sera. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2011;49(12):2001-6.
13. Pantanowitz L, Horowitz GL, Upalakalin JN, Beckwith BA. Artifactual hyperbilirubinemia due to paraprotein interference. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2003;127(1):55-9.
14. Dimeski G, Carter A. Rare IgM interference with roche/hitachi modular glucose and  $\gamma$ -glutamyltransferase methods in heparin samples. *Clinical chemistry*. 2005;51(11):2202-4.
15. Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *The clinical biochemist reviews*. 2004;25(2):105.
16. Lippi G, Daves MD, Mattiuzzi CM. Interference of medical contrast media on laboratory testing. *Biochimica Medica*. 2014;24(1):80-8.
17. Redondo FL, Bermudez P, Cocco C, Colella F, Graziani MS, Fiehn W, et al. Evaluation of cobas integra® 800 under simulated routine conditions in six laboratories. 2003.

18. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. *Annals of clinical biochemistry*. 1997;34(6):579-81.
19. Jencks WP. *Catalysis in chemistry and enzymology*: Courier Corporation; 1987.
20. Rej R. Accurate enzyme activity measurements. *Arch Pathol Lab Med*. 1993;117(352):64.
21. Glick M, Ryder K. Analytical systems ranked by freedom from interferences. *Clinical chemistry*. 1987;33(8):1453-8.
22. Glick M, Ryder K. *Interferographs: a user's guide to clinical chemistry instruments*. Indianapolis, IN: Science Enterprises, Inc. 1987.
23. Kroll M. Analyte-dependent interference and multi-interference. *Dtsch Ges Klin Chem Mitt*. 1991;22:13-20.
24. Farrell C-JL, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. *Annals of clinical biochemistry*. 2016;53(5):527-38.
25. CLIA Requirements for Analytical Quality 1992. [cited Jan 04, 2025]. Available from: <https://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/clia.html> [updated Jan 01, 2025].
26. Westgard JO, Westgard SA. The quality of laboratory testing today: an assessment of  $\sigma$  metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance. *American journal of clinical pathology*. 2006;125(3):343-54.
27. Ricós C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario J, Hernandez A, Jimenez C, et al. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation. *Scand J Clin Lab Invest*. 2014;59:491-500.
28. EFLM Biological Variation Database. Available from: <https://biologicalvariation.eu/> [cited Dec 13, 2024].
29. Westgard QC. Desirable Specifications for Total Error, Imprecision and Bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation [cited Jan 08, 2025] [Available from: <https://www.westgard.com/biodatabase1.html> ].
30. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *Biochemia medica*. 2011;21(1):79-85.
31. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Tıbbi Laboratuvar Hizmetleri Daire Başkanlığı; 95966346 numaralı ve İzin Verilen Toplam Hata Sınırları konulu, 13/10/2016 tarihli genelge. [cited Dec 04, 2024] [Available from: <https://dosyamerkez.saglik.gov.tr/Eklenti/2581/0/genelge-201618izin-verilen-toplam-hata-sinirlaripdf.pdf>]
32. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. *Clinical chemistry*. 1974;20(7):825-33.
33. Fraser GG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1989;27(5):409-37.
34. Ricós C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario J, Hernandez A, Jimenez C, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1999;59(7):491-500.

35. Badrick T. Biological variation: understanding why it is so important? *Practical Laboratory Medicine*. 2021;23:e00199.
36. Randell EW, Yenice S. Delta checks in the clinical laboratory. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2019;56(2):75-97.
37. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2009;47(2):143-53.
38. Schifman RB, Talbert M, Souers RJ. Delta check practices and outcomes: a Q-probes study involving 49 health care facilities and 6541 delta check alerts. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2017;141(6):813-23.
39. He S, Kang F, Wang W, Chen B, Wang Z. National survey on delta checks in clinical laboratories in China. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020;58(4):569-76.
40. EP33 C. Use of delta checks in the medical laboratory. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016.
41. Petersen PH, Rustad P. Prerequisites for establishing common reference intervals. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2004;64(4):285-92.
42. Ricós C, Iglesias N, García-Lario J-V, Simón M, Cava F, Hernández A, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Annals of clinical biochemistry*. 2007;44(4):343-52.
43. Iglesias N, Petersen PH, Ricós C. Power function of the reference change value in relation to cut-off points, reference intervals and index of individuality. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2005;43(4):441-8.
44. Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Sandberg S, Goldschmidt H. The index of individuality is often a misinterpreted quantity characteristic. 1999.
45. Fraser CG. *Biological variation: from principles to practice*: Amer. Assoc. for Clinical Chemistry; 2001.
46. Fraser C. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data, 1988-1991. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 1992;116(9):916-23.
47. Ryder K, Glick M. Erroneous laboratory results from hemolyzed, icteric, and lipemic specimens. *Clinical chemistry*. 1993;39(1):175-6.
48. Vermeer HJ, Thomassen E, de Jonge N. Automated processing of serum indices used for interference detection by the laboratory information system. *Clinical chemistry*. 2005;51(1):244-7.
49. Lippi G, Luca Salvagno G, Montagnana M, Brocco G, Cesare Guidi G. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2006;44(3):311-6.
50. Preissner CM, Dodge LA, O'Kane DJ, Singh RJ, Grebe SK. Prevalence of heterophilic antibody interference in eight automated tumor marker immunoassays. *Clinical chemistry*. 2005;51(1):208-10.

51. Westgard Q. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biologic variation. Annex I, Part I: Within-subject and between-subject CV values of analytes and Desirable Analytical Quality Specifications for imprecision, bias and total error[serial online] citado. 2011.
52. Fraser C, Petersen PH. Quality goals in external quality assessment are best based on biology. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1993;53(sup212):8-9.
53. Dolci A, Panteghini M. Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible? *Clinica Chimica Acta*. 2014;432:38-43.
54. Fraser CG. Test result variation and the quality of evidence-based clinical guidelines. *Clinica chimica acta*. 2004;346(1):19-24.
55. Uldall A, Loikkanen M, Olafsdottir E, Örnemark U, Nordin G, NKK HS. NORDIC INTERFERENCE STUDY, March 2002.
56. Fuentes-Arderiu X, Fraser CG. Analytical goals for interference. *Annals of clinical biochemistry*. 1991;28(4):393-5.
57. Peterson JC, Hill RH, Black RS, Winkelman J, Tholen D. Review of proficiency testing services for clinical laboratories in the United States—final report of a Technical Working Group. Battelle Memorial Institute. 2008.
58. Çolak Samsum E, Sürer H, Bolat S, Şeneş M, Yücel D. Comparison of lipemia interference created with native lipemic material and intravenous lipid emulsion in emergency laboratory tests. *Biochemia medica*. 2024;34(2).
59. Proctor KA, Rao LV, Roberts WL. Gadolinium magnetic resonance contrast agents produce analytic interference in multiple serum assays. *American journal of clinical pathology*. 2004;121(2):282-92.
60. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, Bridges CR, Califf RM, Casey DE, et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non–ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non–ST-Elevation Myocardial Infarction) developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(7):e1-e157.
61. MEMBERS WC, Mark DB, Berman DS, Budoff MJ, Carr JJ, Gerber TC, et al. ACCF/ACR/AHA/NASCI/SAIP/SCAI/SCCT 2010 expert consensus document on coronary computed tomographic angiography: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents. *Circulation*. 2010;121(22):2509-43.
62. Grossman W. *Grossman's cardiac catheterization, angiography, and intervention*: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

63. Tanıdan Girişime Perkütan Koroner İşlemler. Cevat Kıırma, Ali Metin Esen. Bölüm 16. Akademi Yayınevi, İstanbul,2014. p. 130-4.
64. Scanlon P, Faxon D, Audet A-M, Carabello B, Dehmer G, Eagle K, et al. ACC/AHA guidelines for coronary angiography1. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999;33(6):1756-824.
65. Pomara C, Pascale N, Maglietta F, Neri M, Riezzo I, Turillazzi E. Use of contrast media in diagnostic imaging: medico-legal considerations. *La radiologia medica*. 2015;120:802-9.
66. Thomsen H, Morcos S. Radiographic contrast media. *BJU international*. 2000;86.
67. Klein J, Pohl J, Vinson EN, Brant WE, Helms CA. Brant and Helms' fundamentals of diagnostic radiology: Lippincott Williams & Wilkins; 2018.
68. Radiology CMSCotESoU, Aspelin P, Stacul F, Thomsen HS, Morcos SK, van der Molen AJ. Effects of iodinated contrast media on blood and endothelium. *European radiology*. 2006;16:1041-9.
69. Christiansen C. X-ray contrast media—an overview. *Toxicology*. 2005;209(2):185-7.
70. Singh J, Daftary A. Iodinated contrast media and their adverse reactions. *Journal of nuclear medicine technology*. 2008;36(2):69-74.
71. Pasternak JJ, Williamson EE, editors. Clinical pharmacology, uses, and adverse reactions of iodinated contrast agents: a primer for the non-radiologist. *Mayo Clinic Proceedings*; 2012: Elsevier.
72. Spampinato MV, Abid A, Matheus MG. Current radiographic iodinated contrast agents. *Magnetic Resonance Imaging Clinics*. 2017;25(4):697-704.
73. Dickinson M, Kam P. Intravascular iodinated contrast media and the anaesthetist. *Anaesthesia*. 2008;63(6):626-34.
74. Boyd B, Zamora CA, Castillo M. Managing adverse reactions to contrast agents. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2017;25(4):737-42.
75. Ramalho J, Semelka R, Ramalho M, Nunes R, AlObaidy M, Castillo M. Gadolinium-based contrast agent accumulation and toxicity: an update. *American Journal of Neuroradiology*. 2016;37(7):1192-8.
76. Hao D, Ai T, Goerner F, Hu X, Runge VM, Tweedle M. MRI contrast agents: basic chemistry and safety. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2012;36(5):1060-71.
77. Kroll M, Chesler R. Rationale for using multiple regression analysis with complex interferences. 1992.
78. Kroll MH, Ruddel M, Blank DW, Elin R. A model for assessing interference. *Clinical chemistry*. 1987;33(7):1121-3.
79. Daves M, Lippi G, Cosio G, Raffagnini A, Peer E, Dangelia A, et al. An unusual case of a primary blood collection tube with floating separator gel. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2012;26(4):246-7.
80. Kaleta EJ, Jaffe AS, Baumann NA, Block DR. A case of floating gel. *Clinical chemistry*. 2012;58(11):1604-5.
81. Spiritus T, Zaman Z, Desmet W. Iodinated contrast media interfere with gel barrier formation in plasma and serum separator tubes. *Clinical chemistry*. 2003;49(7):1187-9.

82. Krause W, Niehues D. Biochemical characterization of X-ray contrast media. *Investigative radiology*. 1996;31(1):30-42.
83. Dawson P. X-ray contrast-enhancing agents. *European journal of radiology*. 1996;23(3):172-7.
84. Quirós C, Cillero AI, Bretaña L, García M, Prieto B, Álvarez FV. In vivo interference of Ioversol in serum and urine capillary electrophoresis: an optimized protocol for sample collection. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018;56(2):e53-e5.
85. Capaldo C, El Aouni MC, Laurelli D, Leven C, Carré J-L. Detection of monoclonal protein by capillary zone electrophoresis can be challenged by iodinated contrast agent interference: a case report. *Biochemia Medica*. 2021;31(2):359-62.
86. Day P, Erdahl S, Eckdahl S, Bornhorst J, Jannetto PJ. Gadolinium-based contrast agents: a clinically significant analytical interference in inductively coupled plasma mass spectrometry elemental analysis. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2019;56(6):638-45.
87. Lin CT, Lee HC, Voon WC, Yen HW, Tang MH, Chin TT, et al. Positive interference from contrast media in cardiac troponin I immunoassays. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2006;22(3):107-13.
88. Normann P, Frøysa A, Svaland M. Interference of gadodiamide injection (OMNISCAN®) on the colorimetric determination of serum calcium. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1995;55(5):421-6.
89. Zhang HL, Ersoy H, Prince MR. Effects of gadopentetate dimeglumine and gadodiamide on serum calcium, magnesium, and creatinine measurements. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*. 2006;23(3):383-7.
90. Prince MR, Erel HE, Lent RW, Blumenfeld J, Kent KC, Bush HL, Wang Y. Gadodiamide administration causes spurious hypocalcemia. *Radiology*. 2003;227(3):639-46.
91. Doorenbos CJ, Ozyilmaz A, van Wijnen M. Severe pseudohypocalcemia after gadolinium-enhanced magnetic resonance angiography. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(8):817-8.
92. Yan R, Tarr H, McNally M, Cartier L-J, Chen Y. Interference of gadolinium-based contrast agents on colorimetric calcium assays. *Clinical Biochemistry*. 2014;47(7-8):648-53.
93. Brown JJ, Hynes MR, Wible Jr JH. Measurement of serum calcium concentration after administration of four gadolinium-based contrast agents to human volunteers. *American Journal of Roentgenology*. 2007;189(6):1539-44.
94. Lin J, Idee J-M, Port M, Diai A, Berthommier C, Robert M, et al. Interference of magnetic resonance imaging contrast agents with the serum calcium measurement technique using colorimetric reagents. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 1999;21(5):931-43.
95. van der Molen AJ, Dekkers IA, Geenen RW, Bellin M-F, Bertolotto M, Brismar TB, et al. Waiting times between examinations with intravascularly administered contrast media: a review of contrast media pharmacokinetics and updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *European radiology*. 2024;34(4):2512-23.

96. Joffe P, Thomsen HS, Meusel M. Pharmacokinetics of gadodiamide injection in patients with severe renal insufficiency and patients undergoing hemodialysis or continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Academic radiology*. 1998;5(7):491-502.
97. Grainger RG. Intravascular contrast media. *The British Journal of Radiology*. 1982;55(655):544-.
98. Lusic H, Grinstaff MW. X-ray-computed tomography contrast agents. *Chemical reviews*. 2013;113(3):1641-66.
99. Widmark JM, editor *Imaging-related medications: a class overview*. Baylor University Medical Center Proceedings; 2007: Taylor & Francis.
100. Thomson KR, Varma DK. Safe use of radiographic contrast media. *Australian Prescriber*. 2010;33(1).
101. Omnipaque [Product Monograph]. GE Healthcare Canada. [cited Oct 24, 2024]. Available from: [https://pdf.hres.ca/dpd\\_pm/00073966.PDF](https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00073966.PDF) [updated Dec 28, 2023].
102. PubChem. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 3730, Iohexol. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Iohexol> [cited 2024 Nov. 6] [Internet].
103. Omnipol [Kısa Ürün Bilgisi]. Polifarma İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., Tekirdağ, Türkiye. Available from: [https://www.polifarma.com.tr/media/1768/33\\_kub\\_02-18022020.pdf](https://www.polifarma.com.tr/media/1768/33_kub_02-18022020.pdf) [cited Nov 7, 2024] [Internet].
104. Tascanov MB, Gönel A. How do contrast agents affect cardiac markers and coagulation tests? experimental study. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2019;22(5):355-60.
105. Grafmeyer D, Bondon M, Manchon M, Levillain P. The influence of bilirubin, haemolysis and turbidity on 20 analytical tests performed on automatic analysers. 1995.
106. Volk AL, Hardy R, Robinson CA, Konrad RJ. False-positive cardiac troponin I results: two case reports. *Laboratory medicine*. 1999;30(9):610-2.
107. Loh TP, Mok SF, Ang BWL, Chuah TY, Sethi SK. Non-ionic radiologic contrast (iohexol) interferes with laboratory measurements of endocrine hormones. *Pathology-Journal of the RCPA*. 2013;45(5):527-9.
108. Dimeski G, Barnett R. Effects of total plasma protein concentration on plasma sodium, potassium and chloride measurements by an indirect ion selective electrode measuring system. *Critical Care and Resuscitation*. 2005;7(1):12-5.
109. Saibaba K, Bhaskar MV, Rao PS, Ramana G, Dakshinamurty K. Interferences in clinical chemistry analysis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 1998;13:55-62.
110. Mallette L, Gomez L. Systemic hypocalcemia after clinical injections of radiographic contrast media: amelioration by omission of calcium chelating agents. *Radiology*. 1983;147(3):677-9.
111. Johansson I. *The Effect of Contrast Media on Several Common Laboratory Assays*. 2018.
112. Park YJ, Rim JH, Yim J, Lee S-G, Kim J-H. Effects of two types of medical contrast media on routine chemistry results by three automated chemistry analyzers. *Clinical biochemistry*. 2017;50(12):719-25.

113. Hardeman M, Goedhart P, Koen I. The effect of low-osmolar ionic and nonionic contrast media on human blood viscosity, erythrocyte morphology, and aggregation behavior. *Investigative radiology*. 1991;26(9):810-8.

114. Kyrou I, Tsigos C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current opinion in pharmacology*. 2009;9(6):787-93.

