

## Serum Total Kalsiyum Tayininde Üç Değişik Yöntemin Kıyaslanması

Zehra Serdar\*, A. Neşe Ağaogulları\*\*, H. Asuman Tokullugil\*\*\*

**ÖZET.** Bu çalışmada, serum total kalsiyum ölçümünde kullanılan titrimetrik ve kolorimetrik yöntemlerin kıyaslanması amaçlandı. Titrimetrik yöntem olarak kompleksometri yöntemi, kolorimetrik yöntem olarak ta "Methylthymol Blue" (MTB) yöntemi hem manuel olarak, hem de otoanalizörde çalışıldı.

Ölçümler aynı serum havuzundan ayrılan örneklerde yapıldı. Çalışmalarımız sonucunda deney içi değişkenlik katsayısı (%CV) kompleksometri yöntemi için %1.78, manuel çalışılan MTB yöntemi için %1.65 ve otoanalizörde çalışılan MTB yöntemi için de %1.16 olarak saptandı. Deneyler arası %CV değerleri ise kompleksometri yöntemi için %3.07, manuel çalışılan MTB yöntemi için %2.58 ve otoanalizörde çalışılan MTB yöntemi için de %1.66 bulundu. "Recovery" değerleri ise kompleksometri yöntemi için %96, manuel MTB yöntemi için %98, otoanalizörde çalışılan MTB yöntemi için ise %101 olarak bulundu.

Sonuç olarak, manuel çalışılan kolorimetrik MTB yönteminin lineerite sınırı ve "recovery" değerlerinin daha yüksek, % CV değerlerinin ise otoanalizör değerlerine daha yakın olması nedeniyle, titrimetrik kompleksometri yöntemine göre daha güvenilir olduğu kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler .Kalsiyum .kompleksometri ."Methylthymol Blue" (MTB) yöntemleri.**

### The Comparison of Three Different Methods in Serum Total Calcium Detection

**SUMMARY.** In this study we have aimed at comparing the titrimetric and colorimetric methods which are used to measure total calcium in serum. Complexometry as a titrimetric method and "Methylthymol Blue" (MTB) as a colorimetric method have been studied. The method of MTB has been used both manually and in an autoanalyzer. The measurement have been carried out in the samples obtained from the same serum pool. As a result of our studies, intraassay "Coefficient of Variation (% CV)" for complexometry, MTB (manual) and for MTB (in an autoanalyzer) has been found to be 1.78 %, 1.65 % and 1.16 % respectively, but interassay % CV has been found to be 3.07 %, 2.58 % and 1.66 % respectively. Analytical recovery for complexometry and MTB (manual) and for MTB (in an autoanalyzer) methods has been found to be 96 %, 98 % and 101 % respectively.

Finally, it is seen that the colorimetric MTB (manual) method has wider ranges of linearity and higher analytical recovery than the titrimetric complexometry method and also its CV % is closer to the autoanalyzer's. So we can say that it is much more reliable and sensitive than the titrimetric complexometry method.

**Key Words. Calcium .complexometry .Methylthymol Blue (MTB) methods.**

Kalsiyum vücuttaki en yaygın 5. element ve en önde gelen katyondur. Ayrıca kemik yapısında da en fazla bulunan minerallerden birisidir. Hücre içi kalsiyum; kas kasılması, hormon sekresyonu, glikojen metabolizması ve hücre bölünmesinde rol oynar. Hücre dışı kalsiyum ise; kemik mineralizasyonu, koagülasyon ve membran potansiyelinde rol oynarken, ayrıca hücre içi fraksiyona da kalsiyum sağlayan bir depodur<sup>1,2</sup>. Kalsiyum, bir hastanın sağlığını değerlendirmede hekimin sıklıkla başvurduğu önemli bir elektrolittir.

Vücut sıvılarında genellikle stabil olan kalsiyum konsantrasyonlarında ortaya çıkacak değişiklikler, çeşitli önemli patolojik durumları gösterebilir. Bu nedenle kalsiyum ölçüm yöntemlerinin güvenilir olması çok önemlidir.

Bugüne kadar serum kalsiyum tayini için çok çeşitli yöntemler kullanılmıştır<sup>1,3</sup>. Bunların arasında;

- Presipitasyon sonucu oluşan anyonun fotometrik tayini
- Alevli fotometre
- Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS)
- İyonize kalsiyum tayininde ion-selektif elektrod kullanımı sayılabilir.

\* Araş. Gör.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya ABD

\*\* Uzm. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya ABD

\*\*\* Prof. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya ABD

Geliş Tarihi : 17.10.1995

Kabul Tarihi: 14.5.1996



Bunların dışında daha ileri teknikler de geliştirilmiştir. Örneğin; X-ray floresans ve nötron aktivasyonu gibi yöntemlerle daha duyarlı serum kalsiyum tayini yapılabilmesi sağlanmıştır<sup>4</sup>. Bizim bu çalışmadaki amacımız, basit iki yöntemin kıyaslanması ve rutin laboratuvarındaki otoanalizörde de kullanılan "Methylthymol Blue" (MTB) yönteminin klasik kompleksometri yöntemi ile kıyaslanması ve güvenilirliklerinin gösterilmesidir.

### Gereç ve Yöntem

**Örnek:** Tüm ölçümler rastgele ve hemolizsiz serumlardan oluşan bir serum havuzundan yapıldı. Serum örnekleri, nitrik asitte yıkanmış plastik tüpler içinde, çalışılacağı güne kadar ağızları parafilm ile kapatılarak -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

#### Gereçler:

##### 1- Cihazlar: Otoanalizör (Technicon Dax 72.

Amerika)

Spektrofotometre (Photometer 4010 .

Boehringer, Almanya)

Vorteks (Heidolph . Almanya)

Otomatik pipet (Socorex 811/821.

İsveç)

Büret (Teknik Cam . Türkiye)

##### 2- Kimyasal maddeler ve araçlar:

###### a) Kompleksometri yöntemi için kullanılanlar:

- Alkali tampon çözeltisi (ph: 12.66)

(Glisin: Art 4201 Merck Co. Almanya)

(NaOH : Art 6462 Merck Co. Almanya)

- EDTA sodyum (Komplekson III) çözeltisi

(Merck Co. Almanya)

- Standart kalsiyum ana çözeltisi (CaCO<sub>3</sub>)

(1 ml = 1 mg Ca) (Art 2067 Merck Co.

Almanya)

- Standart kalsiyum çalışma çözeltisi

(1 ml = 0.1 mg Ca)

- Endikatör tozu

(Calcein : Art 2215 Merck Co. Almanya)

Thymolphthalein: Art 8167 Merck Co .

Almanya

KCl : Art 4936 Merck Co. Almanya)

###### b) Manuel MTB yöntemi için kullanılanlar:

Biosystems S.A (İspanya) firmasının 11507 kod no'lu kiti kullanıldı.

- Araç A: (250 ml)

Potasyum siyanid 7.7 mmol/L

Dietilamin 0.4 mol/L

- Araç B: (250 ml )

"Methylthymol blue" 0.1 mmol/L

HCl 10 mmol/L

Hidroksikolin 17 mmol/L

(Hidroksikolin, magnezyumun neden olabileceği interferansı gidermek amacı ile ayrıca eklenmiştir.)

- Kalsiyum / Magnezyum standartı (3 ml)

Ca 10 mg/dl

Mg 2 mg/dl

A ve B araçları eşit miktarda karıştırılarak çalışma ayracı hazırlandı. Çalışma ayracı 28°C'de 2 gün stabildi.

c) Otoanalizörde de manuel çalışılan MTB yönteminde olduğu gibi Biosystems S.A (İspanya) firmasının 11507 no'lu kiti kullanıldı.

### 3- Standartlar :

a) *Kompleksometri yöntemi için:* 1 ml'de 1 mg Ca içeren standart kalsiyum ana çözeltisi ve bundan da 1 ml'de 0.1 mg Ca içeren standart kalsiyum çalışma çözeltisi hazırlandı.

- Standart Ca ana çözeltisi: 1 L'lik cam kapaklı balon jodede; 2.5 gr. CaCO<sub>3</sub> ( proanalysi, 105°C'lik etüvde 4 saat kurutulup desikatörde soğuduktan sonra hassas olarak tartılır.) 200 ml distile suyla ve 50 ml N HCl ile eritilir, bir gece beklenir ve 1000 ml'ye distile su ile tamamlanır. iyice karıştırılır.

- Standart Ca çalışma çözeltisi: 10 ml standart ana çözelti alınır ve distile su ile 100 ml'ye tamamlanır, iyice karıştırılır.

b) *Manuel MTB yöntemi için:* Biosystems S.A (İspanya) firmasının kalsiyum/magnezyum standartı kullanıldı . Bu standart 10 mg/dl kalsiyum ve 2 mg/dl magnezyum içermekteydi.

4- *Cam malzeme temizliği:* Kullanılan tüm cam malzemeler 24 saat 2N HNO<sub>3</sub> çözeltisinde bekletildi. Distile su ile beş kez çalkalandı ve 160°C'de etüvde kurutuldu.

### Yöntemler :

a) *Kompleksometri yöntemi:* EDTA ve EDTA tuzlarının bazı katyonlarla (Ca, Mg, Ni vb.) sabit kompleksler yapması ve böylece, bu katyonları boyayabilen özel boyalardan (endikatörlerden) bunları adeta saklaması (dissimulation) özelliğine dayanarak, bu katyonların miktar belirtimini yapma yöntemidir .

Titrimetrisel bir yöntem olup, bu çalışmada kalsiyum için endikatör olarak "calcein - thymolphthalein" kullanılmıştır. Deneyin yapılış sırasında örnek , standart ve kör için üç tane erlenmeyer alınarak, örnek yazılı olana 5 ml tampon çözelti ile 1 ml serum ve 1 mg endikatör tozu konuldu. 0.01 ml taksimatlı bir bürete konmuş olan EDTA çözeltisi damlatılarak renk turuncu - yeşilden pembeye dönünceye kadar titrasyon yapıldı ve harcanan EDTA miktarı bulundu. Standart yazılı erlenmeyer içine ise 1 ml serum yerine 1 ml % 10 mg standart kalsiyum çalışma çözeltisi konularak aynı şekilde titrasyon yapıldı ve renk sarı - yeşilden mora dönünceye kadar



büretten EDTA damlatıldı ve yine harcanan EDTA miktarı bulundu. Kör yazılı erlenmeyer içine ise 1 ml serum yerine 1 ml distile su konularak, yine aynı şekilde titrasyon yapıldı. Temiz şartlarda çalışmada, kör deney için harcanan EDTA çözeltilisi miktarı sıfır olmalıdır.

Deneyin sonunda serumdaki Ca miktarı şu formüle göre hesaplandı;

$$\text{Serum Ca}(\% \text{ mg}) = \frac{\text{Örnek için harcanan EDTA hacmi}}{\text{Standart için harcanan EDTA hacmi}} \times 10$$

Örnek titrasyonunda, başlangıçta ortamın turuncu - yeşil rengi kalsiyum iyonlarının endikatörle verdiği renkten ileri gelmektedir. Ortamdaki bu kalsiyum iyonları EDTA ile birleşip sabit kompleks yaparak tükenince renk kaybolmakta ve endikatörün kendi rengi ortaya çıkmaktadır<sup>5,6</sup>.

b) Manuel MTB yöntemi: Bu yöntemde, örnekteki kalsiyum alkali ortamda MTB ile reaksiyona girerek spektrofotometre ile ölçülebilen yeşil - mavi renkli bir kompleks oluşturur. Kolorimetrik bir yöntemdir<sup>7-9</sup>.

Bu yöntemde kör, standart ve örnek tüpleri şu şekilde hazırlanmıştır; örnek tüpüne önce otomatik pipet ile 10 mikrolitre serum alındı ve üzerine 1 ml çalışma ayracı ilave edildi. Vortekste karıştırıldı. Standart tüpüne de aynı şekilde 10 mikrolitre standart ve 1 ml çalışma ayracı, kör tüpüne ise sadece 1 ml çalışma ayracı konulup, karıştırıldı. Hazırlanan tüpler oda ısısında 2 dakika bekletildikten sonra 578 nm'de köre karşı spektrofotometrede okundu. Bu yöntem Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarındaki spektrofotometrede (Photometer 4010, Boehringer) çalışıldı.

c) Otoanalizörde ise, manuel çalışığımız MTB yönteminin kiti kullanılarak, kolorimetrik olarak serum total kalsiyum miktarı belirlendi.

Bu çalışmada ana gruplar (A,B,C) ve onların alt grupları (1,2,3,4. günler) varyans analizi ile karşılaştırıldı.

### Bulgular

Kompleksometri yöntemi ile MTB yönteminin kalite kontrol çalışması için yaptıklarımız sırası ile şöyledir<sup>10,11</sup>.

#### 1- İsbet derecesi (precision) çalışmaları:

a) Deneyiçi %CV değerleri: Bir örnek aynı gün 20 kez çalışılarak saptandı. 4 gün için 4 tane deneyiçi %CV değeri bulundu. 4 günün ortalaması olarak, kompleksometri yöntemi (A) için %1.78, manuel MTB yöntemi (B) için %1.65, otoanalizör'de MTB yöntemi (C) için %1.16 değerleri bulundu (Tablo I).

b) Deneyler arası %CV değerleri: 20 gün süreyle aynı örnek günde bir kez çalışıldı. n = 20 için deneylerarası %CV değerleri kompleksometri yöntemi (A) için %3.07, manuel MTB yöntemi (B)

için %2.58 ve otoanalizör'de MTB (C) için %1.66 bulundu (Tablo I).

**Tablo: I- Yöntemlerin isabet dereceleri ("precision" değerleri)**

YÖNTEM	DENEYİÇİ		DENEYLERARASI	
	Günler	% CV	Günler	% CV
A n = 20	1. Gün	1.87	1 - 20. Günler	3.07
	2. Gün	1.88		
	3. Gün	1.73		
	4. Gün	1.67		
B n = 20	1. Gün	1.90	1 - 20. Günler	2.58
	2. Gün	1.60		
	3. Gün	1.69		
	4. Gün	1.43		
C n = 20	1. Gün	1.30	1 - 20. Günler	1.66
	2. Gün	1.11		
	3. Gün	1.19		
	4. Gün	1.05		

A: Kompleksometri Yöntemi (Deneyiçi x ± SS; SH: 1.78 ± 0.10; 0.05)

B: Manuel MTB Yöntemi (Deneyiçi x ± SS; SH: 1.65 ± 0.19; 0.09)

C: Otoanalizör'de MTB Yöntemi (Deneyiçi x ± SS; SH: 1.16 ± 0.10; 0.05)

#### 2- Standart eğri grafiği incelemeleri:

Kompleksometri yönteminin duyarlılığını göstermek amacıyla standart eğri grafiklerinin eğimleri değerlendirildi. n = 5 için %CV : 2.25 bulundu.

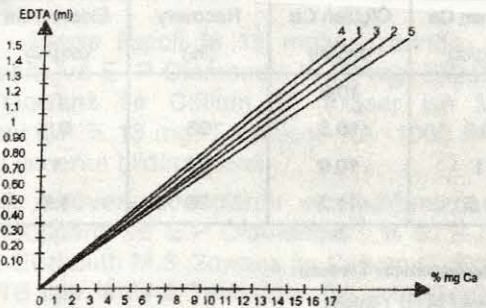
Eğim (slope), 5 eğrinin ortalaması olarak 0.093 ml/mg: dL bulundu (Tablo II, şekil 1).

Harcanan EDTA miktarı (ml)

$$\text{Eğim formülü} = \frac{\text{Harcanan EDTA miktarı (ml)}}{\text{Kalsiyum konsantrasyonu (mg/dl)}}$$

**Tablo: II- Standart eğri grafiklerinin eğimi (Kompleksometri yöntemi için)**

Eğim 1	0.095 ml/mg:dL
Eğim 2	0.092 ml/mg:dL
Eğim 3	0.094 ml/mg:dL
Eğim 4	0.096 ml/mg:dL
Eğim 5	0.091 ml/mg:dL
X ± SS-SH	0.093 ± 0.021, 0.0009
% CV	2.25



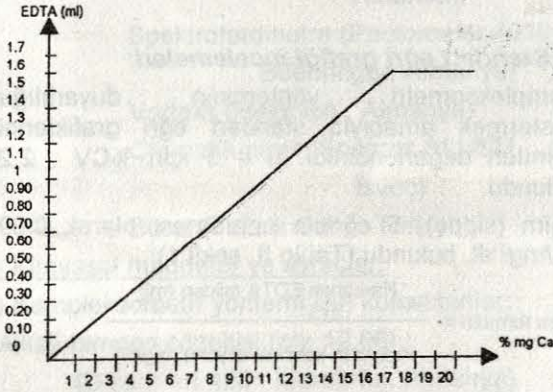
Şekil: 1

Deney süresince çizilen beş adet standart eğri grafiği ve eğimleri (Kompleksometri Yöntemi için)



3- MTB yönteminin duyarlılığını göstermek için ise 20 gün boyunca ölçtüğümüz kör absorbanlarından duyarlılık sınırı (LOD, limit of detection) ve ölçüm sınırı (LOQ, limit of quantitation) değerlerini saptadık. LOD'u kör absorban değerleri ortalama standart sapmasının üç katını alarak LOQ'u ise kör absorban değerleri ortalama standart sapmasının on katını alarak hesapladık<sup>12</sup>. 20 kez ölçtüğümüz kör absorbanlarının  $x = 0.685$  ve  $SD = 0.0033$  olarak bulduk ve bu verilerden yararlanarak  $LOD = \% 0.34$ ,  $LOQ = \% 1.13$  olarak bulundu.

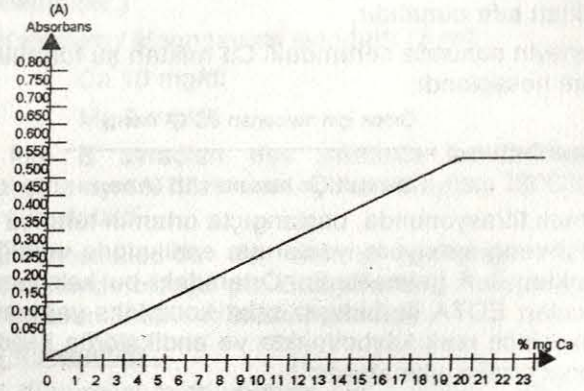
4- Lineerite için, standart kalsiyum ana çözeltisi (1 ml = 1 mg Ca) distile su ile uygun oranlarda sulandırılarak % 5, % 10, % 15, % 16, % 17, % 18, % 19 ve % 20 mg'lık konsantrasyonlarda kalsiyum standartları hazırladık. Ve kompleksometri yöntemi için % 17 mg'dan sonra lineeritenin bozulma eğilimine girdiğini saptadık (Şekil 2).



Şekil: 2

Kompleksometri yöntemi için yapılan lineerite çalışması

Yine aynı şekilde manuel MTB yöntemi için yapılan lineerite çalışmasında % 19 mg'dan sonra lineeritenin bozulduğu saptandı (Şekil 3).



Şekil: 3

Manuel MTH yöntemi için yapılan lineerite çalışması

### 5- Recovery çalışmaları:

Her üç yöntem için de, yapılan ölçümlerin doğruluk derecesini belirlemek amacıyla normal serum havuzunda bir dizi "recovery" çalışması yapıldı. Standart ekleme "recovery" çalışması, belli miktarda örnek üzerine belli miktarlarda madde içeren standartların eklenmesi ile yapılır. Örnekteki bazal madde konsantrasyonu saptandıktan sonra bunun üzerine konsantrasyonu giderek artan standartlardan eklenerek, o maddenin her seferinde miktar belirtimi yapılır. Böylece, eklenen kadar bulunup bulunmadığı ve elde edilirlilik yüzdesi saptanmış olur.

Üç yöntemde de her seferinde aynı serum havuzundan alınan-üç ayrı örneğe Ca içeriği % 100 mg olan standarttan sırasıyla 25, 50 ve 75 mikrolitre eklendi. Böylece her eklemede kalsiyum içeriği sırasıyla 0.5, 1 ve 1.5 mg/dL artırılmış oldu (Tablo III).

**Tablo: III-** Kompleksometri yöntemi, Manuel MTB yöntemi ve otoanalizörde MTB ile normal serum havuzlarında elde edilen "Recovery" değerleri

A Yöntemi			B Yöntemi			C Yöntemi		
Eklenen Ca (mg/dl)	Ölçülen Ca (mg/dl)	Recovery (%)	Eklenen Ca (mg/dl)	Ölçülen Ca (mg/dl)	Recovery (%)	Eklenen Ca (mg/dl)	Ölçülen Ca (mg/dl)	Recovery (%)
-	10.2	-	-	9.9	-	-	9.8	-
0.5	10.3	96	0.5	10.2	98	0.5	10.4	101
1	10.9	97	1	10.5	97	1	10.7	99
1.5	11.2	96	1.5	11.1	98	1.5	11.6	103

A: Kompleksometri Yöntemi

B: Manuel MTB Yöntemi

C: Otoanalizör'de MTB



Elde edilen recovery değerleri; kompleksometri yöntemi için ortalama % 96, manuel MTB yöntemi için % 98 ve otoanalizör'de MTB yöntemi için % 101 olarak saptandı.

6- Tablo IV 'de görüldüğü gibi aynı serum havuzuna ait üç farklı veri sütunu (A, B, C) oluşturuldu ve bu sütunlar varyans analizi kullanılarak birbirleri ile karşılaştırıldı (Tablo IV).

**Tablo: IV-** Değişik yöntemlerle elde edilen serum kalsiyum ortalama değerlerinin varyans analizi ile karşılaştırılması

n = 20	A Yöntemi	B Yöntemi	C Yöntemi	P	P'	P''
	X ± SS, SH	X ± SS, SH	X ± SS, SH			
1. Gün	9.985 ± 0.1872; 0.04	10.005 ± 0.1905; 0.04	9.97 ± 0.1294; 0.02	*	AD	**
2. Gün	10.025 ± 0.1888; 0.04	9.91 ± 0.1599; 0.03	9.90 ± 0.1106; 0.02	**	**	AD
3. Gün	10.025 ± 0.1743; 0.03	9.9250 ± 0.1682; 0.03	9.919 ± 0.1182; 0.02	**	**	AD
4. Gün	9.95 ± 0.1673; 0.03	9.945 ± 0.1432; 0.03	9.939 ± 0.104; 0.02	AD	*	AD
1-20. Günler	9.998 ± 0.3069; 0.06	10.005 ± 0.2585; 0.05	9.98 ± 0.1642; 0.03	AD	*	AD

A: Kompleksometri Yöntemi

B: Manuel MTB Yöntemi

C: Otoanalizör'de MTB

\*: P < 0.05

\*\* : P < 0.001

P = A ile B arasındaki farkın anlamlılık derecesi

P' = A ile C arasındaki farkın anlamlılık derecesi

P'' = B ile C arasındaki farkın anlamlılık derecesi

AD = Anlamlı Değil

### Tartışma

Bu çalışmada, serum total kalsiyum ölçümünde kullanılan titrimetrik kompleksometri yöntemi ile , hem manuel olarak hem de otoanalizörde çalışılan "Methylthymol blue" (MTB) yöntemleri birbirleri ile kıyaslandı. Elde edilen sonuçlara hem deney içi, hem de deneyler arası değerler açısından bakıldığında, otoanalizörde çalışılan MTB yöntemine en yakın yöntemin manuel çalışılan MTB yöntemi olduğu görülmektedir. Çünkü, bu iki yöntem arasında 2, 3 ve 4. günler elde edilen deney içi değerlerinin kıyaslanmasında, aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Aynı şekilde, deneyler arası değerler açısından da aralarındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Kompleksometri yöntemi ile elde edilen değerler otoanalizörde çalışılan MTB yöntemi ile karşılaştırıldığında ise, deney içi değerleri açısından iki yöntem arasında ilk üç gün anlamlı fark bulunurken, sadece dördüncü gün aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur.

Jean - Pierre Ripol, manuel MTB yönteminde intraassay % CV : 0.9, interassay % CV : 1.05 bulmuştur. Bu sonuçlar bizimkilerden daha iyidir<sup>13</sup>.

M.A Koupparis ile E.P Diamandis'in O - CPC (ortho - cresolphthalein complexone) ile çalıştıkları başka bir kolorimetrik yöntemde ise intraassay %CV : 1.5, interassay %CV : 2.5 olarak bildirilmiştir ki, bu değerler bizim sonuçlarımıza benzerdir<sup>14</sup>.

Elizabeth M.S Gowans ve Callum G. Fraser'in materyel olarak sığır serumu, liyofilize idrar, doğal idrar ve aköz referans CaCO<sub>3</sub> çözeltisi kullanarak yaptıkları bir çalışmada ise %CV değerleri her bir materyel için sırasıyla şöyle bulunmuştur; MTB yöntemi için sığır serumunda intraassay % 4.08, interassay % 2.42, liyofilize idrarda intraassay

%2.49, interassay %5.89, doğal idrarda intraassay %1.50, interassay %2.24, CaCO<sub>3</sub> (1.5 mmol / L) çözeltisinde intraassay %1.65, interassay % 2.73<sup>15</sup>.

Yine bu araştırmacıların kalsiyum için referans yöntem olarak kabul edilen AAS (Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi)'de buldukları %CV değerleri ise şöyledir; sığır serumunda intraassay % 2.41, interassay % 3.17, liyofilize idrarda intraassay %3.72, interassay % 3.23, doğal idrarda intraassay %0.94, interassay % 2.61, CaCO<sub>3</sub> çözeltisinde intraassay %1.73, interassay %2.64<sup>15</sup>.

Otoanalizör (Technicon - RA 1000) %CV sonuçları sığır serumu için intraassay % 0.73, interassay % 1.31, liyofilize idrar için intraassay % 4.16, interassay % 7.53, doğal idrar için intraassay % 1.55, interassay % 1.87, CaCO<sub>3</sub> çözeltisi için intraassay % 0.95, interassay % 1.21'dir<sup>15</sup>.

Kompleksometri yöntemi ile ilgili olarak çizdiğimiz standart eğri grafiğinde eğimi, 5 eğrinin ortalaması olarak 0.093 ± 0.0021 ml /mg : dL bulduk. Lineerite sınırını ise kompleksometri yöntemi için % 17 mg, manuel MTB yöntemi için % 19 mg bulduk.

Jean - Pierre Ripoll % 15 mg'ın üzerinde, M.A Koupparis ve E. P Diamandis % 20 mg, Elizabeth M.S Gowans ile Callum G. Fraser ise MTB yöntemi için % 18 mg, Technicon RA -1000 için % 18 mg lineerite bildirmişlerdir<sup>13-15</sup>.

Analitik recovery sonuçlarını incelediğimizde ise M.A Koupparis ve E.P Diamandis<sup>14</sup> % 97.8 (O - CPC), Elizabeth M.S Gowans ile Callum G. Fraser ise MTB için % 94.2 Technicon RA - 1000 için % 99.4, AAS için de % 100.4 recovery değeri bildirmişlerdir<sup>15</sup>. Bu değerlerle bizim bulduğumuz recovery değerlerinin uyumlu olduğu görülmektedir.



Yöntemleri (A , B , C) kendi aralarında aritmetik ortalamalarının farklılığı açısından karşılaştırdığımızda ise Tablo I'de de görüldüğü gibi manuel MTB yönteminin (B) sonuçlarının otoanalizör 'de çalışılan MTB sonuçları (C) ile daha uyumlu olduğunu saptadık. Çünkü birinci gün hariç aralarında anlamlı farklılıkların olmadığını gördük. Oysa, kompleksometri yönteminin (A) otoanalizörle uyumu iyi değildi. Ve her ne kadar ortalamalar birbirine yakın iseler de istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılıklar vardı. Bu farklılığın olası sebeplerinden biri, kompleksometri yöntemi için hazırlanan çözeltilerin stabilitelerinin zamanla değişmiş olabileceği, diğeri ise titrasyon sırasında meydana gelen renk değişimlerini anında saptayabilmede başarısız kalınması olabilir. Bu da bize manuel MTB yöntemi ile çalışmanın kompleksometri yöntemine göre daha güvenilir olduğunu düşündürdü.

Araş. Gör. Dr. Zehra SERDAR  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya ABD  
Tel: 442 82 00  
16059 Görükle / BURSA

#### Kaynaklar

1. Endres DB, Rude RK: Mineral and bone metabolism, in Tietz NW (ed): Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Comp 1994, pp 1887-1906.
2. Granner DK: Hormones that regulate calcium metabolism, in Harper (ed): Harper's Biochemistry. Middle East Edition Beirut/ Lebanon: Appleton and Lange 1991, pp 492-498.

3. Weissman N, Pileggi VJ: Inorganic ions, in Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW (eds): Clinical Chemistry Principles and Technics, Second edition. New York: Harper and Row Publish 1974, pp 639-755.
4. Latner AL: Calcium and inorganic phosphate metabolism. Clinical Biochemistry. Philadelphia: WB Saunders Company 1975, pp 279-315.
5. Özkan K, Türkvan M (ed): Klinik Biyokimya Laboratuvar El Kitabı, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No: 2 Bursa: Seyhan Matbaası 1975, ss 329-332.
6. Yenon M: Klinik Biokimya Laboratuvar Çalışmaları. İstanbul Beta Yayıncılık 1986, ss 415-420.
7. Gindler EM, King JD: Rapid colorimetric determination of calcium in biological fluids with methylthymol blue. Am J Clin Path 58:376-382, 1972.
8. Barnett RN et al. Am J Clin Path 59:836, 1973.
9. İmren AH, Turan O: Klinik Tanıda Laboratuvar. İstanbul Beta Yayıncılık, 1985, 672.
10. Güler A: Klinik biokimyada yöntem seçimi ve ön hazırlıklar. UÜ Tıp Fakültesi Dergisi 17/3: 537-542, 1990.
11. Güler A : Klinik biokimyada yöntemlerin kalite kontrolü. UÜ Tıp Fakültesi Dergisi 18/1:169-174, 1991.
12. Mac Dougall D, Crummett WB: Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. Anal Chem 52:2242-2249, 1980.
13. Ripoll JP: Colorimetric, determination of calcium in serum using methylthymol blue. Clin Chim Acta 72:133-139, 1976.
14. Koupparis MA, Diamandis EP: Total calcium and magnesium determined in serum with an automated stopped - flow analyzer. Clin Chem 28/10:2149 - 2152, 1982.
15. Gowans EMS, Fraser CG: Five methods for determining urinary calcium compared. Clin Chem 32/8: 1560-1562, 1986.