

Zeisler Metodu İle Hesaplanan İyonize Kalsiyum Düzeyi Direkt İyonize Kalsiyum Ölçümüne Alternatif Olabilir Mi?

Can Ionized Calcium Level Calculated by Zeisler Method Can be an Alternative to Direct Ionized Calcium Measurement?

Erdem Çokluk^{1*}, Fatıma Betül Tuncer¹, Mehmet Ramazan Şekeroğlu¹, Sezen Irmak Gözükar², Mehmet Özdin²

¹Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Sakarya

ÖZET

Amaç: Zeisler Metodu ile hesaplanan iyonize kalsiyum düzeylerinin kan gazı cihazı ile ölçülen iyonize kalsiyum değerleri ile karşılaştırılarak birbirinin alternatifi olup olmayacağını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda geçmiş 1 yıllık sürede (Nisan 2018 - Nisan 2019 arası) 388 adet aynı hastanın eş zamanlı olarak ölçülen serum total kalsiyum ve venöz kan gazı iyonize kalsiyum değerleri retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Kan gazı iyonize kalsiyum (KGiCa) ortalaması $1,164 \pm 0,20$ mmol/L olarak bulunurken, Zeisler Metodu ile serum total kalsiyumundan hesaplanan iyonize kalsiyum düzeyi (ZMiCa) $0,99 \pm 0,16$ mmol/L idi. Her iki yöntemle bulunan değerler arası fark (KGiCa - ZMiCa) ortalaması ise $0,17 \pm 0,22$ mmol/L idi. Kan gazı iyonize kalsiyum düzeyleri için %Bias=8,91, Total%CV=7,60, ve %TAH=21,44 olarak saptandı.

Sonuç: İyonize kalsiyum için direkt ölçüm yönteminin kullanılmasının daha uygun olacağını düşünüyoruz. Ancak Zeisler Metodu ile iyonize kalsiyum hesaplanması durumunda, bu çalışmada bulduğumuz iki yöntem arasındaki ortalama farkın, regresyon denkleminin ve iyonize kalsiyum için hesaplanan total izin verilebilir hata aralıklarının dikkate alınarak değerlendirilmesinin uygun olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Sözcükler: İyonize Kalsiyum, Kan gazı analizi, Zeisler metodu

ABSTRACT

Objective: To investigate whether the ionized calcium levels calculated by Zeisler Method can be an alternative to each other by comparing the ionized calcium values measured with blood gas device.

Materials and Methods: In this study, serum total calcium and venous blood gas ionized calcium values of 388 same patients were evaluated retrospectively in the past 1 year (April 2018 - April 2019).

Results: The mean blood gas ionized calcium (KGiCa) was found to be 1.164 ± 0.20 mmol /L, while the ionized calcium level (ZMiCa) calculated from the serum total calcium by Zeisler Method was 0.99 ± 0.16 mmol /L. The difference between the two methods (KGiCa - ZMiCa) was 0.17 ± 0.22 mmol /L. Blood gas ionized calcium levels were % Bias = 8.91%, Total CV% 7.60, and % TAH = 21.44%.

Conclusion: We think that it is more appropriate to use direct measurement method for ionized calcium. However, if ionized calcium is calculated by Zeisler Method, we think that it is appropriate to evaluate the mean difference between the two methods we found in this study by considering the regression equation and the total permissible error intervals calculated for ionized calcium.

Key Words: Ionized Calcium, Blood gas analysis, Zeisler method

Giriş

Kalsiyum insan vücudunda en yaygın bulunan katyondur. Dağılım olarak kemikte %99, yumuşak dokuda %1 civarında bulunmaktadır. Hücre dışı sıvıda ise $\leq 0,2$ bulunduğunu kabul edilmektedir. Ekstraselüler kalsiyum miktarının yaklaşık %50'si serbest, %40'ı proteinlere bağlı, %10'u ise kompleks (HCO_3 , sitrat, laktat vb.) halindedir. Proteine bağlı miktarının %80'i albumine geri kalanı ise globulinlere bağlıdır (1).

Kalsiyumun kas kasılması, hücre içi ikincil haberci olarak hormon salımı, sinir iletimi, kemik mineralizasyonu, koagülasyon sistemi gibi birçok fizyolojik görevi vardır. Ayrıca plazma membran potansiyelinin devamlılığında da aktif rol oynamaktadır. Serbest kalsiyum düzeyinde azalma nöromusküler eksitabilitede artmaya ve tetaniye; artma ise nöromusküler eksitabilitede azalmaya neden olmaktadır (1).

Yetişkinlerde total kalsiyumun referans aralıkları 8,6–10,3 mg/dL (2.15-2.56 mmol/L)'dir. Serbest kalsiyum referans aralığı ise, 4.64-5.28 mg/dL (1.16-1.32 mmol/L)'dir (1). Kalsiyum ölçümünde serum ya da lityum heparinli plazma kullanılabilir. Total kalsiyum tayininde Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik (AAS) metodu ile ölçüm referans yöntem olarak bilinmektedir. Ancak AAS'nin klinik kullanımı nadirdir. Rutin biyokimya laboratuvarlarında total kalsiyum ortakrezolfitalein kompleksi ya da arsenozo III boyası kullanılarak ölçülmektedir. İyonize kalsiyum ($\text{iCa}/\text{Ca}^{2+}$) düzeyleri ise iyon selektif elektrod (ISE) metodu kullanılarak ölçülmektedir. ISE yönteminde özgül moleküller ile doyurulmuş zarlar kullanılır ve kalsiyum iyonları geri dönüşümlü olarak zara bağlanır. Zarlar boyunca meydana gelen elektrik potansiyeli kalsiyum konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (2). Eğer iyonize kalsiyum ölçüm imkânı bulunmuyorsa total kalsiyum ve protein düzeyi kullanılarak Zeisler Metodu ile aşağıdaki formül kullanılarak iyonize kalsiyum düzeyi hesaplanabilmektedir.

İyonize Kalsiyum (Zeisler metodu) = $[6.25 \times \text{Total Kalsiyum}(\text{mg/dL})] - [\text{Total protein}(\text{gr/dL}) \times 3/8] / (\text{Total protein}(\text{gr/dL}) + 6.5)$ İyonize kalsiyum düzeyinin tespit edilmesi için kullanılan diğer bir alternatif metod da kan gazı cihazlarında ölçüm yapmaktır. Kan gazı cihazlarında pH, bikarbonat, pCO_2 ve pO_2 ' e ek olarak sodyum, potasyum ve kalsiyum gibi elektrolit değerleri de ölçülebilmektedir. Acil servise başvuran kritik hastalarda elektrolitler venöz kan serumunda çalışılmaktadır. Bu laboratuvar tetkiklerinin rutin

analizi zaman alıcı olduğu için Acil servislerde hızlı ve güvenilir sonuç veren sistemlerin kullanımı acil servis yönetimi açısından bir zorunluluktur (3).

Bu iki yöntemin de (kan gazı cihazında ve otoanalizörlerde kullanılan) birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Serumdan çalışılan numunelerin çalışma şartları daha kolay ve ucuzdur. Ayrıca numune stabilitesi de daha uzundur. Ancak kan gazına göre biraz daha uzun sürede sonuç verilmektedir. Kan gazı cihazının kısa sürede sonuç vermesi otoanalizörlere göre avantaj sayılır. Ancak çalışmak için numunenin soğuk zincirde taşınmasının gerekmesi, numunenin bekleme süresinin kısa olması, her kan gazı cihazında da iyonize kalsiyum parametresinin bulunmaması bu yöntemin dezavantajlarındandır. Buna ek olarak kullanılan heparin türü ve miktarı da elektrolit sonuçlarını etkileyebilmektedir. Fizyolojik aktiviteye sahip asıl fraksiyon olması ve hızlı bir şekilde ölçülmeyi gerektiren durumlarda (örneğin; karaciğer nakli ve sitratlı kanın hızlı ya da fazla miktarda nakli) total kalsiyumla ilgili yorum yapılması neredeyse imkansız hale geldiği zaman total kalsiyum yerine iyonize kalsiyum ölçümünün tercih edilmesi gerektirmektedir (4).

Bu çalışmada laboratuvarında rutin olarak kullanılan ve arsenazo III yöntemiyle ölçülen total kalsiyum düzeylerinden Zeisler metodu ile iyonize kalsiyum düzeylerinin hesaplanması ve yine aynı hastalarda kan gazı cihazında ölçülen iyonize kalsiyum değerleri ile hesaplanan bu değerlerin karşılaştırılması planlandı. Böylece farklı yöntemle elde edilen İki sonucun korelasyonu ve birbirlerinin alternatififi olarak kullanılıp kullanılmayacağı değerlendirildi.

Gereç ve yöntem

Bu çalışma retrospektif olarak Nisan 2018 - Nisan 2019 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran ve eş zamanlı olarak serumda kalsiyum, total protein ve venöz kan gazında iyonize kalsiyum değerleri bakılan 18-65 yaş arası 217 Erkek 171 Kadın hasta olmak üzere toplam 388 hastanın tahlil sonuçları kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi girişimsel olmayan etik kurulundan 29/05/2019 tarih ve 191 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır.

İyonize kalsiyum düzeyleri Radiometer ABL800 Flex (Radiometer Medical ApS, Bronshoj, Denmark) kan gazı cihazında, diğer parametreler ise Olympus AU5800 (Beckman Coulter, Inc.

Brea, CA92821 U.S.A.) ve AU680 Beckman Coulter (Beckman Coulter, Inc. Brea, CA92821 U.S.A.) biyokimya otoanalizörüyle çalışılmıştı. Otoanalizör ile ölçülen total kalsiyum değerleri Zeisler metodu ile hesaplanarak iyonize kalsiyum değerlerine dönüştürüldü. Zeisler metodu ile mg/dL olarak hesaplanan kalsiyum düzeyleri mmol/L ye çevrildi ($\text{mg/dx} \times 1/4 = \text{mmol/L}$ kalsiyum) (5).

İstatiksel Analiz: Elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamaları SPSS 20.0 programıyla yapıldı. Hastaların hem toplam ve hem de cinsiyet ayrımı yapılarak, her iki yöntemle de ölçülen kalsiyum düzeylerinin ve iki yöntemin farklarının ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. Shapiro-wilk testi ile normal dağılıma uymadığı tespit edilen veriler için Spearman Korelasyon analizi yapıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi. İki yöntem arasında doğrusal regresyon grafiği çizildi. Ayrıca verilere Excel Programında Bland-Altman analizi yapıldı. İyonize kalsiyum düzeyi için US CLIA (The Clinical Laboratory Improvement Amendments) kabul edilebilir hata değerleri bulunmadığı için çalışmanın yapıldığı kan gazı cihazının 2 senelik dış kalite kontrol sonuçları ile % Bias ve 2 seviye 20 günlük iç kalite kontrol sonuçları ile de %CV hesaplandı. Daha sonra bu değerler kullanılarak total izin verilebilir hata (TAH) hesaplandı (6).

Bulgular

18-65 yaş aralığı dışında olan ve eş zamanlı olarak (aynı gün içinde) serumda kalsiyum, total protein ve venöz kan gazında iyonize kalsiyum değerleri bakılmayan hastalar çalışma dışında bırakıldı. Hastaların genel yaş ortalaması $47,9 \pm 27,0$ (erkekler için ortalama $48,5 \pm 26,4$, kadınlar için $47 \pm 27,6$ yaş) olarak hesaplandı. Tablo 1'de görüldüğü gibi çalışmaya alınan tüm hastaların kan gazı iyonize kalsiyum (KGiCa) ortalaması $1,164 \pm 0,20$ mmol/L, Zeisler Metodu ile hesaplanan iyonize kalsiyum düzeyi (ZMiCa) ise $0,99 \pm 0,16$ mmol/L idi. Her iki yöntemle bulunan değerler arası fark (KGiCa – ZMiCa) ortalaması da $0,17 \pm 0,22$ mmol/L olarak hesaplandı. Ayrıca aynı tabloda cinsiyetlere göre de sonuçlar ayrı ayrı verilmiştir (Tablo 1).

Verilere ait Bland-Altman Grafiği Grafik 1'de gösterilmiştir. Bland-Altman Grafiği iki metodun uyumunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle iki ölçüm arasındaki farkların, iki ölçümün ortalamasına karşı saçılım grafiği çizilir (7). İki ölçüm arasındaki farkın %95 güven aralığında, ortalama $\pm 1,96$ SD(standart değişim) olarak hesaplanan uyum

sınırları (Lower LOA-Upper LOA) içinde olması beklenir.

İki yöntem arasında doğrusal regresyon denklemi Zeisler $iCa = 0,71 X$ kan gazı $iCa + 0,304$ olarak bulundu (Grafik 2).

CLIA88 (The Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988) de total kalsiyum düzeyi için izin verilebilen performans sınırı $1 \text{ mg/dL} = 0,25 \text{ mmol/L}$ (CLIA88) dür (8). Fakat literatürde iyonize kalsiyum için bu yönde belirtilen bir değer yoktur. Laboratuvarlar kendi analitik kalitesini belirlerken toplam analitik hatalarını hesaplayıp izin verilen hata sınırı ile kıyaslayabilirler. Hasta güvenliği için toplam analitik hatanın, izin verilen toplam hata sınırını aşmaması gereklidir. TAH raslantısal ve sistematik hatanın test sonucuna yansımaları olarak bilinmektedir ve sıklıkla varyasyon katsayısı ve % sapmanın toplamı olarak ifade edilmektedir. Bu nedenle Zeisler metodu ile bulduğumuz sonuçları değerlendirmek amacıyla laboratuvarımızdaki kan gazı iyonize kalsiyum için toplam analitik hata sınırlarımızı hesapladık. Bu değeri hesaplarken %Bias=8,91 ve Total %CV=7,60 olarak bulundu. Toplam hatamız ise; %TAH=21,44 olarak hesaplandı.

Tartışma

Acil servise ya da polikliklere-başvuran hastalarda birçok nedenle iyonize kalsiyum tayini yapılmaktadır. Kan gazı cihazlarında iyonize kalsiyum düzeyi ölçülebilirken, rutin biyokimya otoanalizörlerinde genelde total kalsiyum ölçülür. Rutin laboratuvarlarda İyonize kalsiyum sonucu direk olarak verilemez. Bu durumlarda eğer hastanın total proteini de biliniyorsa Zeisler metodu kullanılarak iyonize kalsiyum düzeyi hesaplanabilir.

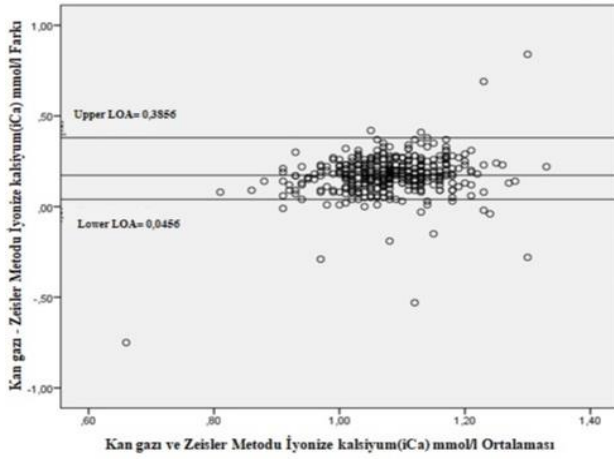
Biz bu çalışmada laboratuvarlarda aktif olarak kullandığımız arsenazo III yöntemiyle ölçülen total kalsiyum düzeyinden Zeisler metodu ile hesaplanan iyonize kalsiyum düzeyini; kan gazı cihazında ölçülen iyonize kalsiyum değerleri ile karşılaştırdık. Elde edilen İki sonucun farklarını, birbiriyle korelasyonunu, kan gazı cihazının kısıtlı olduğu ve iyonize kalsiyum düzeyi bakılmadığı durumlarda birbirlerinin alternatifi olarak kullanılıp kullanılmayacağını ve aralarındaki regresyon denklemini değerlendirdik. Literatürde iyonize kalsiyum düzeyini çeşitli formüller ile hesaplayıp, bunu direkt iyonize kalsiyum ölçüm sonuçları ile karşılaştıran çeşitli çalışmalar mevcuttur (9,14)

Tablo 1. Kan Gazı İyonize Kalsiyum (KGiCa) ve Zeisler Metodu İle Hesaplanan İyonize

	N	KGiCa X ± SD	ZMiCa X ± SD	KGiCa –ZMiCa X ± SD	r
Toplam Hasta	388	1,164 ± 0,20	0,99 ± 0,16	0,17 ± 0,22	0,441
Erkek	217	1,16 ± 0,24	0,99 ± 0,17	0,17 ± 0,25	0,471
Kadın	171	1,15 ± 0,17	0,99 ± 0,17	0,16 ± 0,19	0,373

Kalsiyum (ZMiCa) Sonuçlarının Karşılaştırılması (mMol/L)

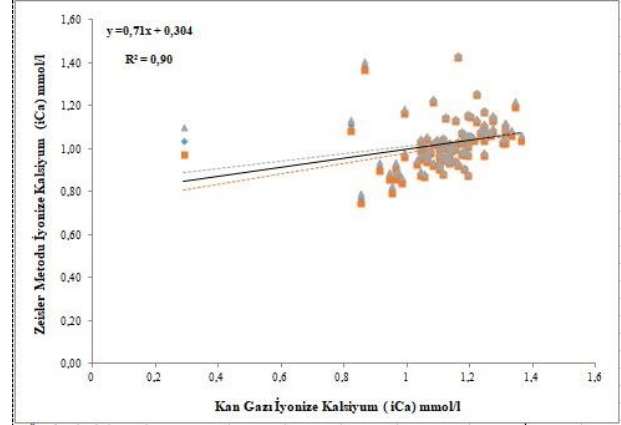
r: Spearman Korelasyon Katsayısı



Grafik 1. Bland-Altman Grafiği (Lower LOA (Kabul edilebilir en düşük değer) =0,0456; Upper LOA (Kabul edilebilir en yüksek değer) =0,3856)

Basseto ve ark. (9) 50 tane yeni doğan hastasında otoanalizörde ölçtükleri total kalsiyum sonuçlarını iyonize kalsiyuma dönüştürerek aynı hastalarda potansiyometrik metotla ölçtükleri direkt iyonize kalsiyum ölçüm sonuçlarını ile karşılaştırmışlardır. Total kalsiyum sonuçlarını iyonize kalsiyuma dönüştürmede şu formülü kullanmışlardır: $iCa = \{6 \times \text{total calcium (TCa)} - [\text{albumin} + (0.19 \times \text{total protein})/3]\} / [\text{albumin} + (0.19 \times \text{total protein}) + 6]$. Elde edilen sonuçlardan iki yöntem arasındaki korelasyonu $r=0,609$ olarak bulmuş ve bu bulgu ile iki yöntemde birbirinin yerine kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Mir ve ark. (13) yaptıkları çalışmalarında 254 hastanın serum örneğini TCa için standart spektrofotometrik yöntemle ve iyonize kalsiyum için de ISE yöntemiyle analiz etmişlerdir. Düzeltilmiş TCa'yı hesaplamak için ise Orrell (10), Berry ve ark. (11) ve Payne ve ark. (12)'nin formüllerini ayrı ayrı kullanmışlar ve buldukları bu değerlerin % 50'sini iyonize kalsiyum olarak kabul etmişlerdir. ISE ile ölçtükleri direkt iCa düzeylerini bu üç formül ile ayrı ayrı hesapladıkları iyonize kalsiyum değerleri ile karşılaştırmışlardır. Albumin düzeyi referans aralık içerisinde olan hastalarda (35-52 g / L), Orrell formülü kullanılarak elde edilen hesaplanmış iyonize kalsiyum ile ISE iyonize



Grafik 2. Doğrusal Regresyon Grafiği

kalsiyum düzeyleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Ancak diğer iki grup için hesaplanmış iyonize kalsiyum ve ISE iyonize kalsiyum düzeyleri arasında anlamlı fark saptamışlardır.

Doğan (14) retrospektif olarak yaptığı çalışmada hipokalsemik hastalarda Zeisler Metodu ile indirek hesaplanan iyonize kalsiyum sonuçlarını karşılaştırmış ve iki sonuç arasında anlamlı ilişki saptamamıştır.

Leino ve Kurvinen (15) kan gazı sistemi ve rutin laboratuvarındaki otoanalizör ile ölçülen elektrolit ve metabolit değerlerinin birbirinin yerine kullanılabilirliğini inceledikleri çalışmalarında kan gazı sistemiyle ölçülen K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , glukoz, laktat değerlerinin; otoanalizörde ölçülen değerlere alternatif olabileceğini belirtmişlerdir.

Zeisler Metodu ve diğer dolaylı kalsiyum hesaplamaları kullanılarak yapılan çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Bu sonuçların farklılığı çalışılan hasta popülasyonlarının farklılığına ve hesaplamada farklı formüllerin kullanılmasına bağlanabileceğini gibi, retrospektif olarak planlanan çalışmalarda kullanılan verilerin standardize edilememesine de bağlanabilir.

CLIA88 de total kalsiyum düzeyi için izin verilebilen performans sınırı $1 \text{ mg/dL}=0.25 \text{ mmol/L}$ olarak bildirilmesine rağmen (8), iyonize kalsiyum için herhangi bir değer belirtilmediği için

iki yöntem arasında bulduğumuz farkı CLIA izin verilen performans aralıklarına göre değerlendirememekteyiz. Bu nedenle biz Zeisler metodunu ile bulduğumuz sonuçları değerlendirmek amacıyla kendi laboratuvarımızda kan gazı cihazıyla direkt olarak ölçülen iCa'un performans değerlerini %Biası 8,91, Total%CV'yi 7,60 ve %TAH'ı 21,44 olarak hesapladık.

Çalışmamızda ölçülen ve hesaplanan iyonize kalsiyum değerlerinin karşılaştırılmasıyla bulduğumuz korelasyon katsayıları arzu edilen büyüklükte değildi. Bizim çalışmamızda bulduğumuz korelasyon katsayısının küçük çıkması, çalışmaya dahil etme kriterlerimizi uyguladığımızda elde ettiğimiz örneklem sayısının azlığından kaynaklanabilir. Bununla birlikte çalıştığımız parametrenin(iCa) referans aralığının dar olması da bir başka neden olabilir. Korelasyon, dağılım genişliği büyük olan örneklerde, dar olan örneklerle göre daha yüksek çıkabilmektedir. Örneğin bu durum 3.0 ve 5.5 g/dL gibi dar dağılım genişliğine sahip Albumin ölçümleri için dezavantajken, 0 ve 43 gibi büyük dağılım genişliğine sahip ALT ölçümleri için avantajdır (16). Bu nedenle bizim çalışmamızda kullandığımız iyonize kalsiyum için referans aralık değeri 1.16-1.32 mmol/L olduğu için korelasyon katsayımız dağılım aralığı daha geniş parametrelerden daha küçük olarak hesaplanmış olabilir. İyonize kalsiyum gibi referans aralığı dar olan parametrelerde örneklem sayısı artırılarak sonuçların doğruluğunun teyit edilmesinin uygun olacağını düşünüyoruz.

Sonuç olarak İyonize kalsiyum hesabı için çeşitli çalışmalarda farklı metot (formül) kullanıldığında farklı sonuçların elde edildiği göz önüne alındığında, hesaplama yerine mümkünse direkt iyonize kalsiyum ölçen yöntemlerin tercih edilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Ancak Zeisler Metodu ile iyonize kalsiyum hesaplanması yapıldığında bu çalışmamızda bulunan iki yöntem arasındaki ortalama farkın, regresyon denkleminin ve iyonize kalsiyum için hesaplanan total izin verilebilir hata aralıklarının dikkate alınarak değerlendirilmesinin uygun olacağı kanaatindeyiz.

Kısıtlılıklar: Retrospektif olarak planlanan bir çalışma olması nedeniyle bu çalışmamızın çeşitli kısıtlılıklarının bulunması kaçınılmazdır. Bunlar arasında kan gazı numunelerinin uygun şartlarda alınıp alınmadığı, alınan numunenin bekleme süresi, kan gazı numunelerinin arteriyel ya da venöz kandan alınmış olabileceğinden dolayı standardize edilememesi; total kalsiyum için serumdan çalışılan numunelerin hemoliz, lipemi vb. interfere edici etkenlere sahip olup

olmadığının kontrol ve tespit edilememesi başlıca sayabileceğimiz kısıtlılıklardır. Ayrıca çalışmaya alınan hastaların mevcut hastalık ve buna bağlı olarak kullanılan ilaç durumları da dikkate alınmadığı için bu faktörlerin de analiz yöntemi ve sonuçlar üzerine etkisinin olabileceği akıldan tutulmalıdır.

Kaynaklar

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Health Sciences; 2012.p.1422-1490.
2. Akbıyık F, editor. Bishop M, Fody EP, Schoeff LE Klinik Biyokimya. Akademisyen Tıp Kitabevi; 2016.
3. Bozkurt S, Altunören S, Doğan O. Comparison of the Results of Venous Blood Gas and Laboratory Measurement of Potassium. Eurasian Journal of Emergency Medicine. 2012 <https://doi.org/10.5152/jaem.2012.02>
4. Williamson MA, Snyder LM, 9th editors. Wallach's interpretation of diagnostic tests. United States;2011.
5. Zeisler EB. Determination diffusible serum calcium. American Journal of Clinical Pathology. 1954; 24(5): 588-593.
6. Genelge-201618izin-verilen-toplam-hata-sinirlari, <https://dosyamerkez.saglik.gov.tr/Eklenti/2581> (ET: 30.06.2019).
7. Barnhart H, Haber B, Lın L. An overview on assessing agreement with continuous measurement.J. Biopharm.2007; 17:529-569.
8. Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA). Regulations and Federal Register Documents. Standards and Certification: Laboratory Requirements (42 CFR 493).CLIA Code of Federal Regulations.Subpart I Proficiency Testing Programs by Specialty and Subspecialty. Routine Chemistry. <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/42/493.931>. (ET: 30.06.2019).
9. Basseto TP, Ligia , Azzalis A, Edimar, Pereira C, Berlanga V, et al. Comparison between two methods of ionized calcium measurement in newborns Comparação entre dois métodos de determinação de cálcio ionizável em amostras de recém-nascidos .J Bras Patol Med Lab. 2013; 49(5): 317-319.
10. Berry EM, Gupta MM, Turner SJ, Burns RR. Plazma kalsiyumundaki değişimin plazmaya özgü yerçekimi, toplam protein ve albüminde indüklenen değişiklikler olması. Br Med J. 1973; 4: 640-643.

11. Orrell DH. Serum kalsiyumunun yorumlanmasına yardımcı olarak albümin. Clin Chim Acta. 1971; 35: 483-489.
12. Payne RB, Küçük AJ, Williams RB, Milner JR. Anormal serum proteinli hastalarda serum kalsiyumun yorumlanması. Br Med J. 1973; 4: 643-646.
13. Mir AA, Goyal B, Datta SK, Ikkurthi S, Pal A. Comparison Between Measured and Calculated Free Calcium Values at Different Serum Albumin Concentrations. Journal of Laboratory Physicians. 2016; 8(2):71-76.
14. Doğan Ö. Hipokalsemi Olan Hastalarda Serum Kalsiyum Düzeylerinin İyonize ve Düzeltilmiş Kalsiyum ile İlişkisi. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2019; 9(2): 67-70
15. Leino A, Kurvinen K. Interchangeability of blood gas, electrolyte and metabolite results measured with point-of-care, blood gas and core laboratory analyzers. Clin Chem Lab Med. 2011; 49(11):87-91.
16. Genç Y, Sertkaya D, Demirtaş S. Klinik Araştırmalarda İki Ölçüm Tekniğinin Uyumunu İncelemede Kullanılan İstatistiksel Yöntemler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2003; 56(1).