

A. Ü. Veteriner Fakültesi  
Doğum ve Jinekoloji Kürsüsü  
Doç. Dr. Çetin Kılıçoğlu

## İNEKLERDE SAHADA KULLANILABİLEN BİR TEST İLE SERUM KALSİYUM ORANININ SAPTANMASI ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Çetin Kılıçoğlu

**Research on the estimation of the serum calcium levels of  
cows by a test suitable for field use.**

**Summary:** *A Quantitative laboratory test for the estimation of the serum calcium level by using different concentrations of disodium ethylenediamine tetraacetate (EDTA) were used in a field trial.*

*To compare this field test to a standart laboratory method, blood samples from 41 cows 23 of which had parturient paresis were taken simultaneously for laboratory analysis.*

*The results of the corresponding laboratory analysis fell in the appropriate range as determined by the field test in 36 and in an adjoining range to the laboratory analysis while 2 were lower.*

*A more rapid and a safer treatment can be achieved and the risk of intravenous calcium therapy can be avoided with the help of this test.*

**Özet:** *Bu çalışmamızda çeşitli konsantrasyonlarda Disodium ethylenediamine tetraacetate (EDTA) kullanmak suretiyle serumdaki kalsiyum oranını hesaplamak esasına dayanan laboratuvar testini saha uygulamasında kullandık.*

*Kırkbir olgunun 36'sında saha çalışmaları ile elde edilen sonuçlar, laboratuvar sonuçları ile uyum göstermiş, 5 tanesinde ise sonuçlar farklı bulunmuştur. Bunların 3 tanesinde laboratuvar sonuçlarından düşük, 2 tanesinde ise yüksek sonuçlar saptanmıştır.*

Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum Bilgisi ve Jinekoloji Kürsüsü Ankara Türkiye.

*Bu test yardımıyla sağıtımın daha çabuk ve bilinçli yapılabilmesi yanında intra venöz kalsiyum uygulamasının tehlikesi de ortadan kalkmaktadır.*

### Giriş

Günümüz yetiştiriciliğinde aşırı besleme, başarılı seleksiyon, produktiviteye yönelik tohumlamalar yardımıyla süt prodüksiyonu çok yüksek düzeye ulaşmış ve bunun doğal sonucu olarak insan yapısı hastalıklar görülmeğe başlanmıştır.

Bunların başında süt humması, fievre vitulaire, hypocalcemia, hypocalcemic doğum felci adını verdiğimiz hastalık gelmektedir.

Hypocalcemia yüksek verimli ineklerde gebeliğin sonuna doğru, doğum anında veya büyük bir olasılıkla laktasyonun başlangıcında görülür. Sütteki kalsiyum iskelet ve besin maddelerinden sağlanan kan kalsiyumundan oluşur. Kan kalsiyumu iskelet kalsiyumu ile denge içersindedir. Bu nedenle sütteki kalsiyum miktarını, yemdeki kalsiyum oranını arttırmak suretiyle fazlalaştırmak mümkün değildir (10).

Hypocalcemia'nın doku sıvılarında iyonize olmuş kalsiyum seviyesinin düşmesi sonucu şekillendiği kabul edilmektedir. Normal şartlarda ineklerde 100 ml. kan serumundaki kalsiyum oranı 8-12 mgr. dır ve bu oran hypocalcemia'lı ineklerde 8 mgr. ın altına düşer (2, 9, 10). Bununla beraber bu değerin çok altındaki durumlarda da ineklerin paresis veya sendromun diğer semptomları görülmiyebilir (2, 7).

Mayer ve arkadaşları (7) 32 adet yeni doğum yapmış, 3 adet laktasyonda ve uzun süre disodium ethylenediamine tetraacetate (EDTA) verilmiş 4 inek olmak üzere toplam 39 inekte 8 mgr/100 ml. nin altında paresis görmemişlerdir. Paresis genellikle 5 mgr/100 ml. seviyesinin altında oluşmuştur.

Mayer ve arkadaşları (8) idrarda kalsiyum oranını saptamada yararlanılan Sulkowitch testiyle bulunan oranın, serum kalsiyum seviyesinin ortaya konmasında inanılır bir indikatör olamayacağını belirtmişlerdir.

Bu nedenle antikoagulan olan disodium ethylenediamine tetraacetate'ı (EDTA) serumdaki kalsiyum oranını, diğer bir deyişle koagulyasyonu önleyecek çeşitli oranlardaki EDTA kullanmak suretiyle kandaki kalsiyum konsantrasyonunu hesaplayabilmek esasına dayanan laboratuvar testini saha uygulamasında klinik ve subklinik hypocalcemia'nın diğer hastalıklardan ayırmada kullanılmasının yararlı olacağına inandığımız için bu çalışmayı yaptık.

### Materyal ve Metot

Çalışmamız 9.12.1977 tarihinde başladı 29, 12, 1978 tarihinde sona erdi. Bu tarihler arasındaki materyalimizi 23 adet hypocalcemia'lı, 18 adet normal çeşitli yaşlarda ineklerden alınan kan meydana getirdi.

Test, kan damardan alınır alınmaz hiç bir işleme tabi tutulmaksızın uygulandı. Bu nedenle hemotokrit değer ortalama % 33.3 (6,7) olarak kabul edildikten sonra çeşitli serum seviyelerinde kandaki kalsiyum konsantrasyonu ve buna eşdeğer disodium ethylenediamine tetraacetate (EDTA) değerleri saptandı. Bu durumda, 6 mgr/100 ml. serum kalsiyumu bulunması halinde 1 ml. kan 40 g kalsiyum içerip bunun 1 M/ml yoğunluğun karşılığı olduğu ve 1 ml. kana 0.001 M EDTA çözeltisinden 1 ml. ilave edildiğinde bu miktar kan içerisinde bulunan kalsiyumun tamamını bağladığı, daha büyük kalsiyum oranlarının bağlanabilmesi için ise EDTA çözeltisinin daha büyük molar konsantrasyonda olması (6) esasına dayanılarak 0.1 molar EDTA solusyonunu hazırlamak için 37.2 gr. EDTA 1 litrelik bir kaptan 900 ml. distile suda eritildi ve bu miktar 1000 ml.'ye tamamlandı. Daha sonra EDTA'nın ana solusyonundan tablo 1 de belirtilen oranlarda 100 ml.'lik balonlara kondu ve distile su ile 100 ml.'ye tamamlandı.

Tablo I

Kandaki Ca konsantrasyonu (Hemotokrit değeri % 33.3)	Her bir 100 ml. balonlara EDTA (0.1 M) ana solusyonundan konulan miktar
6	1.00 ml.
7	1.175 ml.
8	1.325 ml.
9	1.50 ml.
10	1.675 ml.

Her bir 100 ml.'lik balondan aynı rakamı taşıyan vidalı kapaklı tüplere (10 × 5 × 1.7 cm.) 1'er ml. kondu, hazırlanan tüpler 105 C derecede, elektrikli sterilizatörde evaporasyona bırakıldı. Bu suretle her bir seri, kan serumundaki 6, 7, 8, 9, 10 mg/100 ml. kalsiyuma eşdeğer EDTA miktarlarını içeren 5 tüp ve bir de içinde hiç bir şey bulunmayan kontrol olmak üzere 6 tüpten meydana geldi.

Her bir ineğin vena jugularisinden alınan (distile su ile yıkanmış ve sterilize edilmiş enjektör ile) toplam 6 cc. kan her bir tüpe 1 ml. olacak şekilde dağıtıldı. EDTA ile karışımın sağlanabilmesi için tüpler hafif hafif sallandı. Tüpleri elle sıkıca tutmak veya 37 C derecelik su banyosuna koymak suretiyle, vücut ısısına yakın derece sağlamakla

15 dakikada test sonuçları okunabildi, bununla beraber oda ısısında 18-20 C derecede tutulan tüpler kan alındıktan sonra 25-30-45 dakikalarda ve onu takip eden her saat başında kontrol edildi. Bu arada hangi EDTA konsantrasyonunda kan pıhtılaşmasının görüldüğü ve hangisinde pıhtılaşmanın görülmediği saptandı. Kan serumundaki kalsiyum oranı pıhtılaşmanın olduğu ilk tüpün üstündeki rakam olarak belirlendi. Örneğin; 6-7 nolu tüplerde pıhtılaşmanın görülmesi 8,9,10 nolu tüplerde görülmemesi serum kalsiyum oranının 7-8 arasında olduğunu gösterdi (Resim I, II).

Diğer taraftan ayrı iki tüpe alınan 10 ml. kanın serum kalsiyum oranının saptanması için Fakültemiz Biyokimya Kürsüsünde laboratuvar incelemeleri yapıldı. Çalışmalarımıza paralel olarak gönderilen bu kan serumlarında kalsiyum oranının belirlenmesi laboratuvarında Kramer-Tisdall yöntemi (3) ile ortaya kondu.

Bu metoda göre; serum kalsiyumu amonyum okzalat ile kalsiyum okzalat halinde çöktürüldü. Tortu sulu amonyak ile yıkandıktan sonra sülfirik asit ilavesi ile serbest hale geçirilen okzalik asit, potasyum permanganat ile titre edildi.

Kan hücrelerinde kalsiyum bulunmaması ve kan serumundan hücrelere doğru kalsiyum diffüzyonunu önlemek amacı ile, laboratuvar incelemelerinin yapılacağı tüplerde serumun hücrelerden mümkün olduğu kadar çabuk ayırt edilmesine (1) gereken dikkat gösterildi.

### **Bulgular**

Bu çalışmada 23 tanesini hypocalcemic semptomlar gösteren ineklerden, 18 tanesini ise her hangi bir klinik semptom göstermeyen yeni doğurmuş ineklerden alınan toplam 41 adet kanın incelenmesinde şu sonuçlar elde edildi.

Tablo II'deki toplu komparatif sonuçlardan da anlaşılacağı üzere 41 olgunun 36'sında saha çalışmaları ile elde edilen sonuçlar laboratuvarında Kramer-Tisdall yöntemi ile varılan sonuçlarla uyum göstermektedir. 5 tanesinde ise sonuçlar farklı bulunmuştur. Bunlardan 3 tanesinde laboratuvarında elde edilenlerden düşük, 2 tanesinde ise yüksek bulunmuştur. 16-19 nolu örneklerde saha bulguları ile laboratuvar bulguları arasındaki farkın 2 birim değer olduğu saptanmıştır.

9 ve 10 nolu örnekler 16.3.1978 günü hypocalcemia tanısı konduktan sonra ve uygulanan sağıtımın ertesi günü 17.3.1978 de aynı inekten alınan kandan yapılan testlerin sonucunu vermektedir.

Tablo II

Materyal No. Su	Saha Testi Sonuçları	Lab. Testi Sonuçları	Hayvanın Durumu	Materyalin al. tarih
1	6 mg/100 ml.	4 mg/100 ml.	Hypocalcemia	20.12.1977
2	7-8 mg/100 ml.	9 mg/100 ml.	Hypocalcemia	20.12.1977
3	6-7 mg/100 ml.	6 mg/100 ml.	Hypocalcemia	26.12.1977
4	6-7 mg/100 ml.	6 mg/100 ml.	Hypocalcemia	3.1.1978
5	6-7 mg/100 ml.	7 mg/100 ml.	Hypocalcemia	10.1.1978
6	6 mg/100 ml.	6 mg/100 ml.	Hypocalcemia	10.1.1978
7	6 mg/100 ml.	4 mg/100 ml.	Hypocalcemia	10.1.1978
8	6-7 mg/100 ml.	6 mg/100 ml.	Hypocalcemia	14.3.1978
9	6 mg/100 ml.	2 mg/100 ml.	Hypocalcemia	16.3.1978
10	10 mg/100 ml.	11 mg/100 ml.	Tedavi sonu	17.3.1978
11	6 mg/100 ml.	5 mg/100 ml.	Hypocalcemia	31.3.1978
12	8-9 mg/100 ml.	9 mg/100 ml.	Hypocalcemia	9.5.1978
13	6-7 mg/100 ml.	7 mg/100 ml.	Hypocalcemia	25.5.1978
14	6 mg/100 ml.	3 mg/100 ml.	Hypocalcemia	5.6.1978
15	6 mg/100 ml.	3 mg/100 ml.	Hypocalcemia	12.6.1978
16	10 mg/100 ml.	8 mg/100 ml.	Hypocalcemia	13.6.1978
17	8-9 mg/100 ml.	9 mg/100 ml.	Hypocalcemia	14.6.1978
18	9-10 mg/100 ml.	9 mg/100 ml.	Hypocalcemia	13.7.1978
19	6-7 mg/100 ml.	4 mg/100 ml.	Hypocalcemia	17.7.1978
20	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Hypocalcemia	12.9.1978
21	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Hypocalcemia	27.9.1978
22	6-7 mg/100 ml.	7 mg/100 ml.	Hypocalcemia	13.10.1978
23	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Normal	16.10.1978
24	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Normal	17.10.1978
25	8-9 mg/100 ml.	8 mg/100 ml.	Normal	24.11.1978
26	10 mg/100 ml.	11 mg/100 ml.	Normal	4.12.1978
27	8-9 mg/100 ml.	10 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
28	10 mg/100 ml.	11 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
29	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
30	10 mg/100 ml.	11 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
31	8-9 mg/100 ml.	8 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
32	10 mg/100 ml.	10 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
33	9-10 mg/100 ml.	10 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
34	8-9 mg/100 ml.	9 mg/100 ml.	Normal	20.12.1978
35	10 mg/100 ml.	13 mg/100 ml.	Normal	28.12.1978
36	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Normal	28.12.1978
37	10 mg/100 ml.	13 mg/100 ml.	Normal	28.12.1978
38	10 mg/100 ml.	11 mg/100 ml.	Normal	28.12.1978
39	10 mg/100 ml.	11 mg/100 ml.	Normal	28.12.1978
40	10 mg/100 ml.	12 mg/100 ml.	Normal	29.12.1978
41	6 mg/100 ml.	5 mg/100 ml.	Hypocalcemia	29.12.1978

41 olgunun 14 tanesinde serum kalsiyum seviyesi normalin altında veya çok altında bulunmuştur.

Yine bu 41 olgudan kliniğimizde hypocalcemia tanısı konarak ve bu yönde tedavi uygulanan 23 olgunun 8'inde laboratuvar ve saha testi sonuçlarına göre hypocalcemia'nın söz konusu olmadığı ancak detaylı laboratuvar kontrollerinde hypophosphatemi'nin varlığı saptanmıştır.

### Tartışma

Sahada hypocalcemic sendromun erken tanısının, sağtımdan önce hemen hastanın bulunduğu yerde saptanmasındaki yararı düşünülerek yapılan bu çalışmada, 23 tanesinde klinikman hypocalcemia semptomlarının görüldüğü, 41 inekten kan alınarak saha ve laboratuvar çalışmaları komparatif olarak ortaya konmuştur. Bu 41 olgudan 36'sında tam bir uyum sağlanmakla birlikte 5 olguda yakın değerler elde edilmiştir. Bu 5 olgudan 3'ünde laboratuvar da elde edilenlerden düşük, 2 tanesinde ise yüksek değerler bulunmuştur. 16 ve 19 nolu örneklerde saha bulguları ile laboratuvar bulguları arasındaki farklılığın iki birim değer olduğu görülmüştür.

Mayer ve arkadaşları (8) 5'i hypocalcemia'lı olan 37 inekten alınan 118 adet kan örneğini serumdaki kalsiyum oranını saptamak için laboratuvar da hem saha testi ve hemde laboratuvar titrasyon yöntemi ile kontrollü olarak incelemişler, saha testi ile laboratuvar yönteminin 94 örnekte tam bir uyum sağladığını bulmuşlar, 24'ünde ise yakın sonuçlar elde etmişlerdir.

Martig ve arkadaşları (6) 50 inek üzerinde yaptıkları komparatif çalışmada 39 inekte sonuçların birbirini tuttuğunu, 9 adedinin normalden yüksek, 5 adedinin de normalin altında kalsiyum içerdiğini bildirmişlerdir. Bununla beraber gerek diğer araştırmacıların, gerekse bizim elde ettiğimiz sonuçlara göre hiç bir zaman ne normokalsemik bir hayvan hypocalcemic, ne de hypocalcemic bir hayvan hypercalcemic olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle her ne kadar çok düşük düzeyde bazı sapmalar söz konusu ise de bu testin güvenilirliğinin devamı için bazı hususlara dikkat etmek gerekmektedir.

Bu sapmalarının nedenlerinin başında % 33.3 olarak kabul edilen (6,7) hemotokrit değerinin serum kalsiyum üzerine etkisi gelmektedir. Saha testisinin üzerine kurulduğu hemotokrit değerden yani % 33.3 ten daha yüksek değerlerde saha testisinde laboratuvar titrasyonuna göre daha düşük serum kalsiyum seviyesi bulunabilecektir, kaldı ki bu işlemin tersi de her zaman söz konusudur.

İkinci neden tüplere alınacak kan miktarının dikkatli ve hassas olarak alınması, tüplere tam istenen miktarın konması gerekmektedir. Şöyleki serum kalsiyum seviyesi 10 mg/100 ml. olduğu kabul edilirse 0.1 ml. kan ortalama 7 g kalsiyum içerir, tüplere konan kanın 0.1 ml' den fazla olması halinde ise 1 mg/100 ml. bir oynamaya neden olabilir (8).

Belirlenmesinde yarar olan diğer bir hususta saha çalışması esnasında alınan kanın EDTA ile tam karışımının sağlanması için tüplerin çok iyi çalkalanmasıdır.

Mayer ve arkadaşları (7) paresis bazen de hiç bir semptom görülmeden hypocalcemia'nın oluşacağını, yeni doğmuş inekte bilinmeyen bir nedenle iştahsızlığın şekillenmesi halinde ve başkaca semptom görülmediğinde bu taşra yöntemi uygulanarak hypocalcemia'nın saptanıp hemen sağıtımının yapılabileceğini bildirmektedirler. Bundan başka Mayer ve arkadaşları (8) intra venöz kalsiyum sağıtımının normal ve hypercalcemic hayvanlarda çok tehlikeli olduğunu belirterek sağıtım öncesi serum kalsiyum oranının saptanması yoluyla bu riskin ortadan kalkabileceğini ifade etmişlerdir.

Gerçekten araştırmamızda da 23 hypocalcemic semptom gösteren 23 hayvandan alınan kanda serum kalsiyum oranının gerek saha yöntemi ve gerekse laboratuvar yöntemiyle yapılan kontrollerinde 2, 9, 12, 16, 17, 18, 20, 21 nolu kan örneklerinde yani 8 adet inekte hypocalcemia'nın söz konusu olmadığı saptanmıştır. Bu olguların daha detaylı laboratuvar kontrolleri bu hayvanlarda hypophosphatemia'nin şekillendiğini ortaya koymuştur.

Kliniğimizde metabolizma hastalıklarında ayırıcı bir tanı yapılmadan kombine olarak kalsiyum, magnezyum ve fosfor vermek suretiyle sağıtım yapılmaktadır. Bu nedenle olumlu sonuçlar yanında kimi olaylarda başarılı olunamamakta ve hayvan yitilmektedir. Ayrıca hayvan sahibinin ödediği daha çok ilaç parası ile ekonomik kayıp artmaktadır. Oysa ki çalışmalarınızda uyguladığımız saha testinin sağıtım öncesi denenmesi ile kısa sürede ayırıcı bir tanı yapılabilecek ve bu sakıncalar ortadan kaldırılacaktır.

Ülkemizde süt verimi yüksek hayvanların artarak kullanıldığı, metabolizma hastalıklarının ise bu tür hayvanlarda daha çok rastlandığı (2) göz önünde tutulduğunda; Sonuç olarak denebilir ki, saha testinin uygulanması pratikte meslektaşlara, ekonomik açıdan da hayvan sahiplerine büyük yararlar sağlayabilecek niteliktedir.

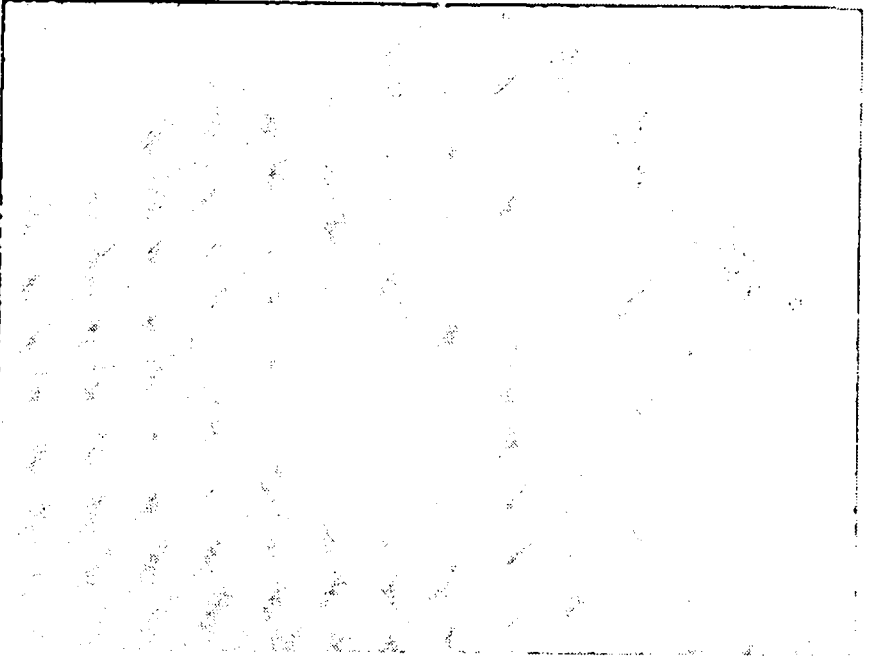
### **Teşekkür**

Bu çalışmamızın laboratuvar incelemelerinde yardımlarını esirgemiyen Biyokimya Kürsüsü elemanlarına, özellikle Dr. Hilâl Ergun'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

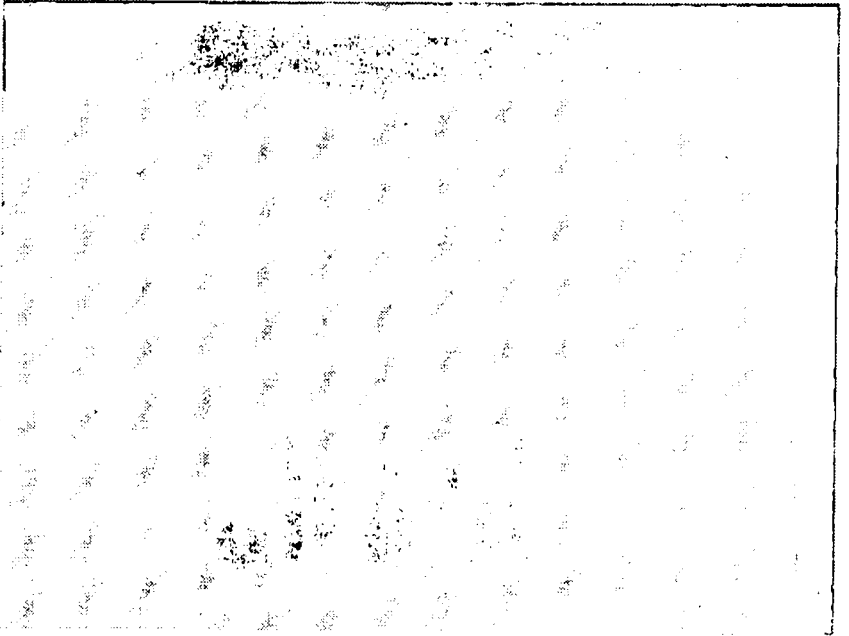
**Literatür**

1. **Bayşu, N.** (1970): *Besi sığırlarının kan serumunda magnezyum, kalsiyum, anorganik fosfor ve total kolesterol yönünden araştırmalar*. Doktora tezi., A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 256, Çalışmalar: 156. Ankara 55.
2. **Erk, H., Doğaneli, M. Z., Akkayan, C.** (1972): *Veteriner Doğum Bilgisi (Obstetrik) ve Jinekoloji*. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 275. Ders kitabı: 175. Ankara. 611.
3. **Ersoy, E.** (1955): *Çukurova harası damızlık merkeplerinde serumda Ca ve anorganik P tayini*. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 63, Çalışmalar: 32. Ankara. 45.
4. **Hepler, O. E., Simonds, P. L.** (1957): *Manuel of Clinical Laboratory methods*. Charles C. Thomas Publisher Springfield III. U.S.A. 387.
5. **Kaneko, J. J., Cornelius, C. E.** (1971): *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press. New York-London. Vol- I II. 791.
6. **Martig, J., Gerber, H., Berger, M.** (1947): *Untersuchungen über die Zuverlässigkeit eines Stalltests zur Bestimmung des Kalziumgehalts im Blut von Kühen*. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 81, 129-152.
7. **Mayer, G. P., Ramberg, C. F., Kronfeld, D. S.** (1966): *Hypocalcemia without paresis in cows*. J. A. V. M. A. 149, 4, 402-405.
8. **Mayer, G. P., Raggi, F., Ramberg, C. R.** (1965): *A rapid semi-quantitative test for serum calcium suitable for field use*. J. A. V. M. A. 146, 8, 839-842.
9. **Schalm, O. W., Carroll, E. J., Jain, N. C.** (1971): *Bovine Mastitis*. Lea-Febiger. Philidelphia. 360.
10. **Schmidt, G. H.** (1971): *Biology of Lactation*. W. H. Freeman and Comp. San Francisco. 317.
11. **Swenson, M. J.** (1977): *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. Comstock Publishing Ass. Ithaca-London. 914.





Resim I. Taşra testi ile inekte kan kalsium oranının saptanması 7-8 mgr./100 m kanda



Resim II. Taşra testi ile inekte kan kalsium oranının saptanması 6 mgr. altında/100 ml kanda