

İSHALLİ VE YETERLİ KOLOSTRUM ALAMAMIŞ BUZAĞILARDA BAZI PLAZMA PROTEİN DEĞERLERİNİN BELİRLENMESİNDE REFRAKTOMETRENİN KULLANIMI

Aslan KALINBACAK¹

Use of the refractometer in detection of some plasma protein values in diarrheic and colostrum deprived calves.

Summary : *In this study, it was aimed to detect the changes in Plasma Total Protein (PTP), Fibrinogen(F), Plasma Protein(PP) and Plasma Protein/ Fibrinogen(PP/F) values in diarrheic and colostrum deprived calves and to determine the usefulness of the refractometer in measurement of that parameters.*

Totally 30 newborn calves were used including 15 calves with diarrhea (Group 1), 7 calves with colostrum deprived (Group 2) and 8 healthy calves (Group 3). PTP, F, PP and PP/F values were measured both refractometer and biüret method.

In group 1, the fibrinogen value was higher ($P < 0.001$, $P < 0.01$) and PP/F value was lower ($P < 0.001$, $P < 0.05$) than those of group 2 and 3. In group 2, PTP and PP values were lower ($P < 0.01$, $P < 0.05$) than those of group 1 and 3.

PTP and PP values of group 1 were high ($P < 0.05$) in refractometer than that of biüret method. Other results were similar in both methods.

As a result, it was concluded that F value was higher and PP/F value was lower in diarrheic calves than those of healthy, and PTP and PP values were lower in colostrum deprived calves than those of healthy, and these parameters can be measured easily and safely by refractometer.

Key Words : *Calf, plasma proteins, refractometer.*

Özet : *Bu çalışmada ishaller ve yeterli kolostrum alamamış buzağılarda Plazma Total Protein (PTP), Fibrinojen (F), Plazma Protein (PP) ve Plazma Protein/Fibrinojen (PP/F) değerlerindeki değişikliklerin belirlenmesi ve bu parametrelerin elde edilmesinde refraktometrenin yararlılığının araştırılması amaçlandı..*

Çalışmada 15' i ishaller (1. grup), 7 'si yeterli kolostrum alamamış (2. grup) ve 8 ' i sağlıklı (Kontrol grubu) olmak üzere toplam 30 yenidoğan buzağı kullanıldı. PTP, F, PP ve PP/F değerleri hem refraktometre hem de biüret metotları ile belirlendi.

¹ Yrd. Doç. Dr. A.Ü Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı - ANKARA

Gruplar arası değerlendirmede, 2. grup ve kontrol grubuna göre 1. grubun F değerinin yüksek ($P < 0.001$, $P < 0.01$), buna karşılık PP/F değerinin düşük ($P < 0.001$, $P < 0.05$) ve 2. grubun PTP ve PP değerlerinin 1. grup ve kontrol grubuna göre düşük ($P < 0.01$, $P < 0.05$) olduğu belirlendi.

Metotların karşılaştırılmasında, 1. grubun PTP ve PP değerlerinin refraktometre metodunda biüret metoduna göre yüksek ($P < 0.05$) olduğu saptandı. Diğer sonuçlar her iki metotta benzerlik gösterdi.

Sonuç olarak, ishalleri buzağılarda sağlıklılara göre F değerinin yüksek, PP/F değerinin düşük, yeterli kolostrum alamamış buzağılarda ise PTP ve PP değerlerinin sağlıklılara göre düşük olduğu ve bu değerlerin refraktometre ile kolay ve güvenli bir şekilde elde edilebileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler : Buzağı, plazma proteinleri, refraktometre,

Giriş

Yenidoğan buzağılarda kolostral immunglobulinlerin yeterli düzeyde transfer edilmesi hayvanın enfeksiyöz hastalıklara karşı direncinde önemli bir faktördür (2, 9, 13, 16). Neonatal dönemde buzağuların kanlarındaki PTP'nin büyük bir bölümünü immunglobulinler oluşturmakta ve albumin düzeyi oldukça sabit olduğu için plazma total protein değeri pratik olarak immunglobulinlerin transfer düzeyini göstermektedir (7, 9, 10). Yangısal temele dayanan hastalıklarda plazma total protein miktarına fibrinojenin de belirgin oranda katkıda bulunacağı ve fibrinojen miktarının akut faz proteini olarak travmatik, neoplastik ve enfektif yangılarda arttığı bildirilmektedir (1, 3, 12, 15).

Yenidoğan sağlıklı buzağılarda F miktarının 0.3 g/dl olduğu (12), doğum sonrası enfeksiyonlarda 0.4 - 0.5 g/dl ' ye, daha şiddetli enfeksiyonlarda ise 1 g/dl'ye kadar yükselebileceği bildirilmektedir (3).

Neonatal dönemdeki buzağılarda septisemik hastalıklar başta enteritis olmak üzere göbek kordonu, eklem, akciğer ve bronşların yangısı olarak ortaya çıkmaktadır. İshalleri buzağılarda ve doğum sonrası yeterli miktarda anne sütü alamayan buzağılarda meydana gelen dehidrasyon ve elektrolit kaybı kan protein ve mineral madde analizlerinde hatalı sonuçlara neden olabilmekte (1, 8, 12), bu durumda vücuttaki yangının gösterilmesinde PP/ F değerinin yararlı olacağı belirtilmektedir (1, 6, 12,

15). PP değeri, PTP değerinden F değerinin çıkarılması ile elde edilmektedir (8). PP/F değerinin normal sağlıklı buzağılarda 15/1 ' den yüksek olduğu, fibrinojen düzeyindeki hafif yükselmelerde 15/1 ila 10/1 arasında, şiddetli yükselmelerde ise 10/1 ' den daha düşük bir oranın saptanabileceği vurgulanmaktadır (1, 12, 15).

Refraktometre, ışığın kırılma oranların dan yararlanarak plazma, serum, idrar ve çeşitli vücut sıvılarında protein ve solütlerin belirlenmesi amacıyla kullanılan bir araçtır (8, 12). Refraktometrenin pratik olarak taşınabilir basit bir araç olması ve bir damla serum veya plazmada 30 saniyeden daha kısa bir sürede protein ölçümlerini gerçekleştirmesi yönünden diğer metotlara göre daha avantajlı olduğu belirtilmektedir (7, 8, 9, 10). Buzağılarda neonatal dönem hastalıklarının kısa zaman içinde gelişip hayvanı ölüme götürmesi nedeniyle sağaltıma en kısa sürede başlanmasının önemi fazladır. Biüret metodu genel olarak plazma veya serum proteinlerinin ölçülmesinde laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmakta, ancak zaman alıcı olması ve laboratuvar şartlarına ihtiyaç göstermesi yönleriyle saha şartları için uygun olmamaktadır

Bu çalışmanın amacı ishalleri, yeterince kolostrum alamamış ve sağlıklı buzağılarda PTP, F, PP ve PP/F değerlerindeki değişikliklerin belirlenip, klinik olarak yorumlanması ve bu değerlerin elde edilmesinde refraktometrenin etkinliğinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada 15 'i ishalleri (1. grup), 7'si erken doğum ya da doğum sonrası ayağa kalkamama nedeniyle yeterli kolostrum alamamış (2. grup) ve 8 'i sağlıklı (Kontrol grubu) olmak üzere toplam 30 yenidoğan buzağı kullanıldı. Birinci gruptaki ve kontrol grubundaki buzağular, 1-4 günlük, doğumlarını normal olarak yapmış ve ilk 24 saatte normal miktarda kolostrum almış, 2. gruptakiler ise en fazla 24 saatlik yaşta ve doğum sonrası annesini yeterli miktarda ememeyen buzağılardan oluştu. Birinci ve 2. gruptaki buzağular AÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Kliniğine getirilen hastalar arasından seçilirken, sağlıklı hayvanlar AÜ Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden sağlandı. Tüm hayvanların anamnezleri alınıp gerekli klinik kontrollerden geçirildikten sonra Vena jugularis ' lerinden EDTA'lı tüplere tekniğine uygun olarak 5 ml kan alınıp santrifüj edilerek plazma elde edildi.

Refraktometre ile yapılan ölçümler :

Elde edilen plazmada refraktometre (Atago hand refraktometer) yardımıyla PTP (Kırılma oranlarına karşılık gelen miktar okunarak) ölçümü yapıldı (1). Plazmanın bir miktarı mikrohematokrit tüpüne doldurularak 56 ± 1 °C ' lik su banyosunda 3-4 dakika bekletilerek fibrinojen çöktürüldü. Tüp santrifüj edilerek çöken fibrinojen, tüpün dibinde toplandı. Daha sonra bu kısım kırılıp atılarak üstteki sıvı kısımda yine refraktometre ile total protein ölçümü gerçekleştirildi. Bu ikinci değer, plazma

proteini (PP) olarak kaydedildi. PTP değerinden PP değeri çıkarılarak fibrinojen (F) miktarı elde edildi (8).

Büret metodu ile yapılan ölçümler :

Aynı plazma örneklerinde Büret (4) metodu kullanılarak PTP ölçümü yapıldı. Normal cam tüp içine konan plazma 56 ± 1 °C' -lik su banyosunda tutularak fibrinojenin pıhtılaşması sağlandı. Tüp santrifüj edilerek fibrin tabakası ve berrak kısım birbirinden ayrıldı. Berrak kısımda yine büret metodu ile protein tayini yapıldı (PP). İlk okunan değer ile ikinci okunan değer arasındaki fark fibrinojen değeri olarak kaydedildi.

Çalışmada gruplar arası farkların önem kontrolleri " Kruskal-Wallis varyans analizi", her iki metot sonuçları arasındaki farkların önem kontrolleri ise " Wilcoxon Eşleşmiş gruplar testi kullanılarak yapıldı (14).

Bulgular

Her üç gruptaki buzağılardan refraktometre metodu ve Büret metodu ile elde edilen Plazma Total protein (PTP), Fibrinojen (F), Plazma Protein (PP) ve Plazma Protein/Fibrinojen (PP:F) ortalama (x), Standart hata (Sx), minimum-maksimum (Min-maks) değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri tablo 1'de, ayrıca refraktometre ile saptanan sonuçlar şekil 1'de gösterildi.

Tablo 1 : Her üç gruptaki buzağılardan elde edilen Plazma Total Protein (PTP), Fibrinojen (F), Plazma Protein (PP) ve Plazma Protein/ Fibrinojen (PP:F) değerleri.

Table 1 : Plasma Total Protein (PTP), Fibrinogen (F), Plasma Protein (PP) and Plasma Protein/ Fibrinogen (PP:F) values in all three groups of calves.

		1. Grup (n: 15) X ± Sx Min - Maks	2. Grup (n : 7) X ± Sx Min - Maks	Kontrol grubu(n: 8) X ± Sx Min - Maks	X ²
Plazma Total Protein (g / dl)	Refr.	7.60 ± 0.47 ^a 4.60 - 10.40	4.73 ± 0.20 ^b 4.10 - 5.80	6.95 ± 0.29 ^a 5.70 - 8.20	12.5611**
	Biür.	7.13 ± 0.40 ^a 4.40 - 9.37	5.11 ± 0.29 ^b 4.15 - 5.87	7.07 ± 0.33 ^a 5.95 - 7.97	10.6561**
	Z	2.1583 *	1.3522'	0.3145'	
Fibrinojen (g / dl)	Refr.	1.03 ± 0.08 ^a 0.55 - 1.60	0.31 ± 0.06 ^b 0.15 - 0.50	0.47 ± 0.06 ^b 0.20 - 0.80	20.7566***
	Biür.	1.09 ± 0.09 ^a 0.60 - 1.77	0.56 ± 0.07 ^b 0.32 - 0.84	0.63 ± 0.14 ^b 0.13 - 1.05	12.4215**
	Z	0.5336'	1.8593'	0.9435'	
Plazma Protein (g / dl)	Refr.	6.57 ± 0.47 ^a 3.90 - 9.70	4.42 ± 0.17 ^b 3.95 - 5.30	6.48 ± 0.32 ^a 5.10 - 7.90	10.2730**
	Biür.	6.03 ± 0.40 ^a 3.09 - 8.28	4.55 ± 0.31 ^b 3.39 - 5.45	6.44 ± 0.31 ^a 5.07 - 6.97	7.3841*
	Z	2.4422 *	0.8452'	0.3145'	
PP/F	Refr.	7.08 ± 0.80 ^a 3.5 - 13.86	17.68 ± 3.35 ^b 8.40 - 30.33	16.61 ± 3.20 ^b 6.37 - 34.00	13.7894***
	Biür.	6.13 ± 0.62 ^a 1.92 - 9.53	9.26 ± 1.48 ^b 4.46 - 13.74	17.60 ± 7.40 ^b 5.76 - 52.77	6.1069*
	Z	1.4767'	1.8593'	0.1048'	

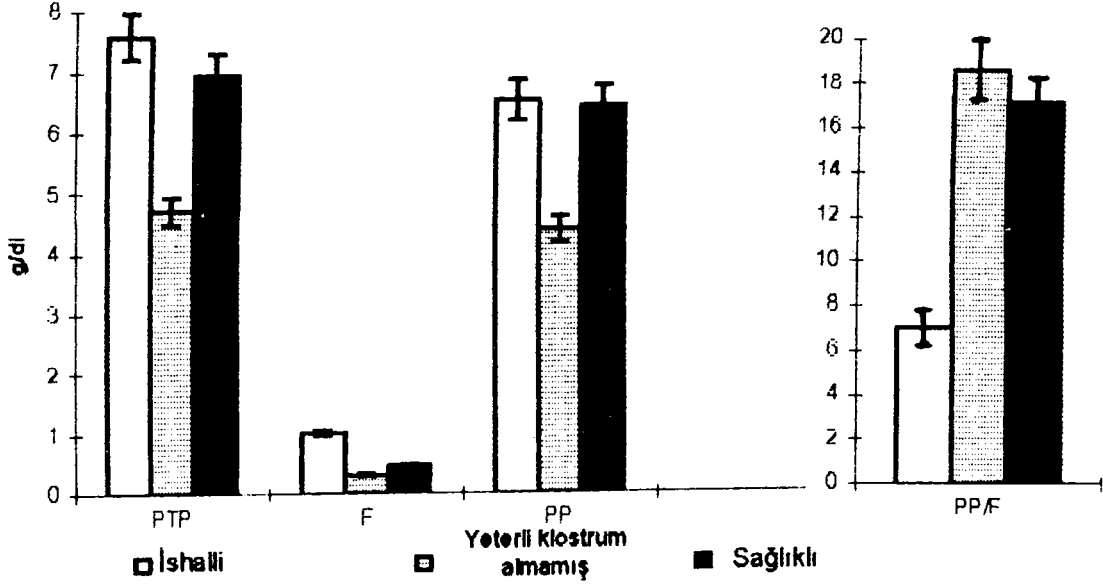
a,b : Aynı satırda farklı harfi taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemlidir. Refr: Refraktometre

Grup 1 : İshalli buzağular Grup 2 : Yeterli kolostrum alamamış buzağular Biür: Biüret

* : P< 0.05 ** : P<0.01 *** : P<0.001 ' : Önemli değil

Şekil 1 :Refraktometre ile buzağılardan elde edilen PTP, F, PP ve PP/F değerleri

Figure 1 : PTP, F, PP and PP/F values obtained from calves by refractometer.



Tablo 1'de görüldüğü gibi, 1. grupta refraktometre ile saptanan PTP ve PP değerlerinin Biüret metodu değerlerine göre önemli düzeyde ($P < 0.05$) yüksek olduğu belirlendi. Her iki metotla belirlenen diğer tüm değerlerde önemli farklılık saptanamadı.

Gruplar arası değerlendirmede her iki metotta, 1. grubun fibrinojen değerinin 2.grup ve kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($P < 0.001$, $P < 0.01$) yüksek olduğu ve 2. grup ile kontrol grubu arasında önemli farklılığın olmadığı, 1. grubun PP/F değerinin 2. grup ve kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($P < 0.001$, $P < 0.05$) düşük olduğu ve 2. grup ile kontrol grubu arasında önemli farklılığın olmadığı, 2. grubun PTP ve PP değerlerinin 1. grup ve kontrol grubuna göre önemli düzeyde($P < 0.05$, $P < 0.01$) düşük olduğu, 1. grup ve kontrol grubu arasında önemli farklılığın olmadığı belirlendi (Tablo 1 ve Şekil 1).

Tartışma ve Sonuç

Yenidoğan buzağlarda plazma ve serum total protein ölçümleri, kolostral antikorların yeterli miktarlarda absorbe edilme durumunun kontrolü, hayvanların yaşama şanslarının tahmin edilmesinde, fibrinojen miktarı yangısal temele dayanan hastalıkların saptanmasında, ve serum proteinleri ile fibrinojenin birbirlerine oranı ise dehidrasyon veya hipoproteinemi durumlarında yangının daha doğru olarak ortaya konulmasında yararlanılan önemli parametrelerdir (2, 6, 7, 9, 10, 11, 13).

Neonatal dönemde albumin miktarları oldukça sabit olduğundan total protein değerlerinin direkt olarak absorbe edilen kolostral immunglobulin miktarından etkileneceği bildirilmektedir (2). Naylor ve Kronfelt (9) plazma total protein miktarının, hem total immunglobulin miktarı hem de IgG1 alt sınıfı değerleri ile sıkı bir bağlantı içinde olduğunu belirtmektedirler. Bu bildirimler ile bu çalışmadaki yeterli kolostrum alamamış buzağlardan (2. grup) elde edilen ve diğer iki gruba göre düşük bulunan PTP ve PP değerleri arasında benzerlik dikkati çekti.

Plazma fibrinojen miktarı yangısal, travmatik ve neoplastik hastalıklarda artmaktadır (1, 12). Fibrinojen düzeylerinin saptanması, birçok hayvan türünde yangının ortaya konması amacıyla kullanılan yararlı bir parametre olarak bildirilmektedir (1, 3, 5, 12). Bu çalışmada ishalleri buzağlarda (1. grup) fibrinojen miktarında belirlenen yüksekliğin, bu dönemde meydana gelen ishallerin büyük oranda yangısal temele dayandığına işaret ettiği düşünülmektedir.

Vücutta anormal protein kaybına bağlı hipoproteinemi ya da dehidrasyona bağlı hiperproteineminin söz konusu olduğu durumlarda plazma fibrinojen düzeyleri gerçek değerinden düşük veya yüksek bulunabileceğinden bu durumlarda fibrinojen düzeylerinin doğru yorumlanmasında PP/F

değerinden yararlanılabileceği bildirilmektedir (1, 6, 12, 15). Bu çalışmada hem fibrinojenin ve hem de PP/F oranı değerlerinin birbirlerini destekler nitelikte sonuçlar vermesi, fibrinojen değerlerinde yukarıdaki nedenlere bağlı hatalı ölçüm olasılığının çok düşük oranda oluştuğunu ortaya koymuştur. Sağlıklı hayvanlarda PP/F oranının 15/1 ' den yüksek olacağı, 15/1 - 10/1 arasındaki değerlerin hafif fibrinojen artışını ve 10/1'in altındaki değerlerin ise şiddetli fibrinojen artışını gösterdiği yönündeki bildirimlerin (1, 12, 15) ışığı altında bu çalışmada ishalleri buzağlarda hem refraktometrik metotta hem de biüret metodunda bu değer 10/1 ' in altında, sağlıklı buzağlarda (Kontrol grubu) ise yine her iki metotta 15/1 ' in üzerinde olduğu belirlendi (Tablo 1).

Bu çalışmada 1. grupta PTP ve PP değerleri refraktometre metodunda biüret metoduna göre yüksek ($P < 0.05$) bulunmuştur. Bu farklılık refraktometre yardımıyla elde edilen plazma total protein değerlerinin biüret metoduna göre 0.2 gr / dl düzeyinde farklılık gösterebileceği bildirimleriyle (12) açıklanabilir. Diğer tüm sonuçlarda her iki metot arasında istatistik olarak önemli farklılıklar saptanmamıştır.

Sonuç olarak, ishalleri buzağlarda, sağlıklılara göre, F değerinin yüksek, buna paralel olarak PP/F değerlerinin düşük, yeterince kolostrum alamayan buzağlarda ise PTP ve PP değerlerinin sağlıklılara göre düşük olduğu ve bu değerlerin saptanmasında refraktometrenin güvenle kullanılabileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- 1 . Benjamin, M. M. (1978). *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. 3. ed. Iowa USA.
- 2 . Boyd, J.W. (1972). *The relationship between serum immunoglobulin deficiency and disease in calves: A farm survey*. Vet Rec, **90**, 645-649.
- 3 . Bradford, P.S. (1996). *Large Animal Internal Medicine*. 2. ed. Mosby-year book Inc. St. Louis. Missouri. USA.

- 4 . **Gradwohl R.B.H.** (1956). *Clinical Laboratory Method and diagnosis*. Vol. 1, 5. ed. pp. 300 The C.V. Mosby Company. St. Louis. USA.
- 5 . **Kent, J.** (1992) : *Acute phase proteins: Their use in veterinary diagnosis*. Br Vet J, **148**, 279-282.
- 6 . **Khan, M.Z., Muhammad, G., Umar, A. and Khan, S.A.**(1994). *Preliminary observations on plasma fibrinogen and plasma protein concentrations and on plasma protein: fibrinogen ratios in clinically healthy buffaloes*. Vet Res Commun, **18** , 103-107.
7. **McBeath, D.G., Penhale, W.J. and Logan, E.F.** (1971). *An examination of the influence of husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content*. Vet Rec, **88**, 266-270.
8. **Mourlan, N.** (1995). *Utilisation du rrefractometre en biochimie clinique*. Pratique medicale et Chirurgicale de L'animal de Compagnie. Supplement No. 1-95, 10-14.
9. **Naylor, J.M. and Kronfelt, D.S.**(1977). *Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: Comparison with the zinc sulphate turbidity test and single radial immuno diffusion*. Am J Vet Res, **38**. : 1331-1334.
10. **Naylor, J.M., Korenfelt, D.S., Bech-Nielsen, S. and Bartholomew, R.C.** (1977). *Plasma total protein measurement for prediction of disease and mortality in calves*. JAVMA, **171**, 635-638.
11. **Reid, J.F.S. and Martinez, A.A.**(1975) : *A modified refractometer method as a practical aid to the epidemiological investigation of disease in the neonatal ruminant*. Vet Rec, **96**, 177-179.
12. **Schalm,O.W., Jain, N.C. and Carrol, E.J.** (1975). *Veterinary Hematology*. 3. ed. pp. 611. Lea and Febiger. Philadelphia. USA.
13. **Selim, S.A., Smith, B.P., Cullor, J.S.** (1995). *Serum immunoglobulins in calves: their effect and two easy reliable means of measurement*. Vet Med, **90**, 387-404.
14. **Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V.** (1995) *Biyoistatistik*. 6. Baskı. Özdemir Yayıncılık Ankara.
15. **Turgut, K.**(1995) *Veteriner klinik laboratuvar teşhis*. Özel basım.
16. **Turgut, K. ve Ok, M.** (1997). *Veteriner Gastroenteroloji. Semptomdan teşhise*. Bahçıvanlar Basım San. A.Ş. Konya.