T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

PORTATİF BİR KLİNİK ANALİZÖRÜN SIĞIRLARDA KAN İYONİZE KALSİYUM KONSANTRASYONUNU BELİRLEMEDEKİ GEÇERLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öznur YILMAZ

2018

ONAY SAYFASI

Prof.Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Engin BALIKCI

Veteriner Programı İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tolga KARAPINAR

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Engin BALIKCI

Prof. Dr. Tolga KARAPINAR

Yrd. Doç. Dr. Akın KIRBAŞ

ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Öznur YILMAZ
25.01.2018
İmza



Prof. Dr. Tolga KARAPINAR

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında, benden yardımını hiç esirgemeyen başta Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine, tez danışman hocama, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı araştırma görevlilerine ve çalışmaya vermiş olduğu destekten dolayı FÜBAP koordinatörlüğüne teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI **i**

ONAY SAYFASI **ii**

TEŞEKKÜR **iv**

İÇİNDEKİLER **v**

TABLO LİSTESİ **vi**

ŞEKİL LİSTESİ **vii**

KISALTMALAR LİSTESİ **viii**

1. ÖZET **1**

2. ABSTRACT **3**

3. GİRİŞ **5**

3.1. Kalsiyum Homeostazisi 5

3.1.1. Vücuttaki Kalsiyum Depoları 5

3.1.2. Paratiroid Hormonun Rolü 6

3.1.2.1. Renal Kalsiyum Reabsorpsiyonu 7

3.1.2.2. Osteoklastik Kemik Kalsiyum Rezorpsiyonu 7

3.1.2.3. Kemik Kalsiyumunun Osteositik Osteolizisi 8

3.1.3. Diyeter Kalsiyum Absorpsiyonu 8

3.2. Hipokalseminin İnek Sağlığına Etkisi 12

3.4. Point-of-Care Analizleri 13

4. GEREÇ ve YÖNTEM **16**

4.1. Hayvan Materyali 16

4.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Ölçümlerin Yapılması 16

4.2.1. i-STAT ve Radiometer ABL 800'ün Çalışma Prensibi 17

4.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistikî Analizi 17

5. BULGULAR **18**

6. TARTIŞMA **26**

7. KAYNAKLAR **31**

8. ÖZGEÇMİŞ **35**

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan sığırların i-STAT ve Radiometer ABL 800 ile belirlenen iyonize kalsiyum konsantrasyonları 20

Tablo 2. Çalışmada kullanılan sığırların iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının Radiometer ABL 800 ve i-STAT ile ölçümlerinin eşli *t* testi ile karşılaştırılması. 22

Tablo 3. i-STAT'ın konkordans analiz sonuçları 22

Tablo 4. i-STAT'ın Radiometer ABL 800 ile karşılaştırılmasıyla elde edilen Passing-Bablok regresyon analizi sonuçları 22

Tablo 5. Sığırlarda Radiometer ABL 800 ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değerlerini belirlemede i-STAT'ın sensitivitesi ve spesifitesi 23

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Radiometer ABL 800 ve i-STAT ile belirlenen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının Passing-Bablok regresyon analizi. 23

Şekil 2. Radiometer ABL 800 ve i-STAT ile ölçülen ortalama kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarına karşı i-STAT ve Radiometer ABL 800 ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu farklarının (mmol/L) Bland-Altman plot analizi. 24

Şekil 3. i-STAT'ın, Radiometer ABL 800'le ölçülen < 1 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunda sensitivitesi ve spesifitesi 24

Şekil 4. i-STAT'ın, Radiometer ABL 800'le ölçülen < 1.18 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunda sensitivitesi ve spesifitesi 25

KISALTMALAR LİSTESİ

$1,25(OH)_2D$ **:** 1,25-dihidroksivitamin D

PTH **:** Paratiroid Hormon

POC **:** Point-of-Care

VDR **:** Vitamin D reseptörü

1. ÖZET

Portatif bir analizör olan i-STAT'ın sığırlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu belirlemedeki güvenilirliği hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun portatif bir cihazla belirlenmesi, hayvanın kalsiyum durumunun hızlı bir şekilde değerlendirilmesine ve saha şartlarında etkili bir tedavinin yapılmasına imkân tanır. Bu çalışmanın amacı, i-STAT'ın sığırlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu belirlemedeki güvenilirliğini değerlendirmektir. Bu çalışmada değişik hastalıklara sahip 121 sığır kullanılmıştır. Venöz kan örnekleri kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun belirlenmesi için i-STAT ve Radiometer ABL 800 analizörlerine uygulanmıştır. Elde edilen veriler karşılaştırma, doğruluk, uyum ve güvenilirliği ortaya koymak için eşli t testi, konkordans analizi, Passing-Bablok regresyon analizi ve Bland-Altman analizine tabi tutulmuşlardır. Radiometer ABL 800 referans metot olarak i-STAT ise test metodu olarak kabul edilmiştir. i-STAT'ın performansı, iki farklı kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değerinde (< 1 mmol/L; <1.18 mmol/L) receiver operating characteristics (ROC) eğrisi ile değerlendirilmiştir. i-STAT ve Radiometer ABL 800 ile ölçülen ortalama kan iyonize kalsiyum konsantrasyonları benzer olarak belirlenmiştir (1.09 vs 1.09 mmol/L; *P*=.82). i-STAT'ın sonuçlarının Radiometer ABL 800 ile oldukça yüksek korelasyona sahip olduğu tespit edilmiştir (r= 0.98, P < .0001). i-STAT ile ölçülen kan iyonize kalsiyum (Y) ve Radiometer ABL 800 ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun (X) regresyon eğrisi Y=-0.108276+1.103448×X olarak ortaya konulmuştur. Benzerlik çizgisinden sapma önemsiz olarak tespit edilmiştir (P = .64). Bland-Altman analizi ortalama

hatanın olmadığını belirlemiştir. i-STAT < 1 mmol/L ve < 1.18 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değerlerinde sırasıyla % 100 (95% güven aralığı, 87.7 – 100.0) ve % 94.8 (95 % güven aralığı, 87.2-98.6) sensitiviteye sahip olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, i-STAT sığırlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu doğru bir şekilde belirlemiş ve özellikle hipokalsemiyi yüksek sensitivite ile tahmin etmiştir.

Anahtar Kelimeler: kalsiyum, sensitivite, süt ineği, portatif analizör.

2. ABSTRACT

THE EVALUATION OF VALIDITY A PORTABLE CLINICAL ANALYZER FOR THE DETERMINATION OF BLOOD IONIZED CALCIUM CONCENTRATION IN CATTLE

Information on reliability of the i-STAT, a point-of-care (POC) device, to determine blood ionized calcium (iCa^{2+}) concentration is limited. Rapid determination of blood iCa^{2+} concentration can help evaluation of calcium status and delivery of effective therapy in field conditions. The goal of this study was to evaluate reliability of the i-STAT (Abbott Point of Care, Abbott Laboratories, Chicago, IL) in measuring blood iCa^{2+} concentration in cattle. In this prospective study 121 cattle with various diseases were used. Venous blood samples were run the i-STAT and the Radiometer ABL 800 (Radiometer, Copenhagen, Denmark) analyzer for determination of blood iCa^{2+} concentration. Data were subjected to paired Student t-test, concordance analysis, Passing-Bablok regression and Bland-Altman plots for comparison, accuracy, agreement and reliability. The Radiometer ABL 800 was reference method however the i-STAT was the test method. The i-STAT performance was also evaluated at two different cut-off values for blood iCa^{2+} concentration (< 1 mmol/L; <1.18 mmol/L) using the receiver operating characteristics (ROC) curve. The mean blood iCa^{2+} concentration measured by the i-STAT was similar to the mean blood iCa^{2+} concentration measured by the Radiometer ABL 800 (1.09 versus 1.09 mmol/L; P = .82). The i-STAT results were highly correlated with the Radiometer ABL 800 results (r= 0.98, P < .0001). Regression equation fitting blood iCa^{2+} concentration measured by the i-STAT (Y) and blood iCa^{2+} concentration measured by the Radiometer ABL 800 (X), was Y= -0.108276+1.103448× X, with a residual deviation (RSD) of 0.02. The

deviation from the identity line was not significant (P = .64). The Bland-Altman difference plot revealed that the mean bias was zero. The i-STAT had Se of 100 % (95% CI, 87,7 - 100,0) and Se of % 94.8 (95 % CI, 87.2-98.6) at the cut-off blood iCa^{2+} concentration < 1 and < 1.18 mmol/L, respectively. The i-STAT yielded precise and accurate blood iCa^{2+} results in cattle. The i-STAT especially predicted hypocalcemia with high sensitivity.

Key Words: calcium, dairy cow, point-of-care (POC), sensitivity.

3. GİRİŞ

Sığır yetiştiriciliğinde verimli ve ekonomik bir üretimin yapılabilmesi için vücut kalsiyum dengesinin sağlanması çok önemlidir. Son yıllarda sığırlarda özellikle postpartum dönemde şekillenen hastalıklarla kalsiyum dengesi arasındaki ilişki başta olmak üzere kalsiyum metabolizmasına ilişkin çeşitli çalışmalar sıklıkla yapılmaktadır. Hem hasta sığırların klinik muayenelerinde hem de süt sığırı sürülerinin takibinde kalsiyum durumunun incelenmesi önem arz edebilmektedir. Geleneksel olarak vücut kalsiyum durumunun değerlendirilmesi, serum veya plazma örneklerinde total kalsiyum konsantrasyonunun ölçülmesine dayanır. Fakat son yıllarda iyon elektrot teknolojisindeki son gelişmeler, klinisyenlere ve araştırmacılara kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun incelenmesi için de imkânlar sunmaktadır.

3.1. Kalsiyum Homeostazisi

3.1.1. Vücuttaki Kalsiyum Depoları

Kan kalsiyum konsantrasyonu erişkin bir inekte 8.5-10.0 mg/dL arasında korunur (2.1-2.5 mmol/L). Kan kalsiyumunun yaklaşık yarısı albümin gibi proteinlere bağlıdır ve % 42-48'i iyonize formdadır. İyonize kalsiyum konsantrasyonu, kandaki kalsiyumun biyolojik olarak aktif kısmını oluşturur. Asidik şartlarda kan kalsiyumunun iyonize kısmı % 48'e, alkali şartlardaysa bu oran % 42'ye yaklaşır. Kan kalsiyumunun diğer % 3-7'lik kısmı sitrat, fosfat, bikarbonat ve sülfat gibi çözünen anyonlara bağlıdır. Total serum protein konsantrasyonu önemli derecede azalırsa (hipoalbuminemi) kanda normal iyonize kalsiyum konsantrasyonuna nispeten düşük total kalsiyum konsantrasyonu

oluşması muhtemeldir (1,2). Total kalsiyum konsantrasyonlarının ölçümü klinikte kullanışlı olmasına rağmen iyon elektrot teknolojisindeki son gelişmeler portatif iyonize kalsiyum ölçümlerini pratik kılmaktadır.

Canlı ağırlığı 600 kg olan bir inekte plazmadaki kalsiyum havuzu 3.0-3.5 g iken plazmanın ve kemiğin dışındaki tüm ekstrasellüler sıvılardaki kalsiyum miktarı 8-9 gramdır. İskelet yapıda 7.8-8.5 kg kalsiyum, intrasellüler alanda ise 1 gramın altında kalsiyum bulunmaktadır. Kolostrum (kolostrumun her kilogramında 1.7-2.3 g kalsiyum bulunur) ya da süt (her kilogramında 1.1 g kalsiyum bulunur) üreten süt inekleri laktasyonun ilk günlerinde her gün bu havuzlardan 20-30 g kalsiyum çeker. Çoğu inekteki kalsiyum talebi, kolostrumun yapımı süresince kalsiyum kandan ayrılıp meme bezinde biriktiğinden doğumdan önce bile belirgin şekilde artar. Laktasyonun başlangıcında inek şiddetli veya uzun süreli hipokalsemiden uzak kalsa bile süt üretimi için kullanılan ekstrasellüler kalsiyumu yerine koymalıdır (1).

3.1.2. Paratiroid Hormonun Rolü

Kalsiyum homeostazisi, başlıca kan kalsiyum konsantrasyonundaki azalmaya son derece duyarlı olan ve hipokalsemiye cevap olarak paratiroid hormonu (PTH) salgılayan paratiroid bezlerince kontrol edilir (3). Paratiroid bezindeki hücreler, kalsiyuma duyarlı reseptör moleküllerini kullanarak ekstrasellüler iyonize kalsiyum konsantrasyonunu belirleyebilirler. Bu hücreler milimolar düzeyinde iyonize kalsiyumu bağlama yeteneğine sahiptirler. Ekstrasellüler iyonize kalsiyum konsantrasyonu olması gereken düzeyin altına düşerse büyük miktarda PTH salgılanır. PTH, hedef dokularının yüzeyindeki reseptörlere bağlanan 84 aminoasitten oluşan bir peptitdir. Primer derecedeki

hedef hücreleri osteoblastlar, osteositler ve renal tubuler epitel hücreleridir (4-6).

3.1.2.1. Renal Kalsiyum Reabsorpsiyonu

PTH üç büyük aktivite ile kalsiyum konsantrasyonunu arttırır. İlki, proksimal renal tubuler sıvıdan kalsiyum reabsorbsiyonunu arttırmasıdır. Yüksek diyeter anyon-katyon farkı (DCAD) ile beslenen ineklerde idrar kalsiyum ekskresyonu her gün 0.5 g'ın altındadır. Kan kalsiyum konsantrasyonundan sapma küçükse idrar kalsiyum kaybını azaltma, kan kalsiyum konsantrasyonunu normal düzeye getirmeye yeterli olabilir. Fakat laktasyonun başlangıcında süt ineği kolostrum ve süt ile günde 20-30 g kalsiyum kaybeder. İnek normokalsemiyi korumak için idrar ile kalsiyum kaybetmeyi azaltmanın ötesinde mekanizmalar kullanmalıdır. Hipokalsemiyi önlemek için kemikten kalsiyumu çekmeli ve diyetteki kalsiyumun absorpsiyon verimliliğini arttırmalıdır (1,5,7).

3.1.2.2. Osteoklastik Kemik Kalsiyum Rezorpsiyonu

Kemikte depolanan kalsiyumun mobilizasyonu, hipokalsemiyle mücadele etmek için kana büyük miktarda kalsiyum getirmenin bir yoludur. Kalsiyum homeostazisine katkıda bulunabilen kalsiyum, kemikte 2 formda bulunur. İskelette bulunan kalsiyum yığını (>%99) kollajen matrikse bağlı olarak hidroksi apatit kristalleri içinde bulunur. Hidroksiapatit'in genel formülü 10 Ca^{+2}: 6 Fosfat (PO_4^3): 2 hidroksil anyon (OH^-)'dur. Bu kemik kristallerinin içindeki kalsiyum yalnızca osteoklastlar tarafından mobilize edilebilir. Osteoklastlar kollajen matriksi sindiren enzim ve asit sekrete ederler. Bu aktivite kalsiyum ve fosfatın kristallerden kana geçmesini sağlar. Osteoklastlar, PTH reseptörlerine sahip değildir. Tüm kemiğin yüzeyini örten osteoblastlarda PTH reseptörleri bulunur.

Osteoblastlar, PTH'a nuklear faktör κβ ligandın reseptör aktivatörü ve makrofaj koloni stimülan faktör gibi faktörleri sekrete ederek cevap verir. Bu sitokinler, mevcut osteoklastların kemik kollajeninin rezorpsiyonuna başlamasına ve dolayısıyla kemikteki kalsiyumun serbest bırakılmasına neden olur. Ayrıca osteoklast progenitör hücrelerin farklılaşmasına ve yeni osteoklastların oluşumuna sebebiyet verir. Osteoklastik kemik rezorpsiyonunun tamamen aktif hale gelmesi birkaç günü alır (8,9).

3.1.2.3. Kemik Kalsiyumunun Osteositik Osteolizisi

Çok daha küçük miktardaki fakat çok kritik bir önemdeki kalsiyum, kemiğin içindeki osteositleri bağlayan kanaliküler sistem içinde ve her bir osteositi çevreleyen lakunların içindeki solüsyonda bulunur. Bu kemik sıvı kompartmanı tamamen osteositlerce örtülmüştür. Bu kalsiyum kolaylıkla mobilize edilir ve PTH salgılanmasına dakikalar içinde kemik sıvı kalsiyumunu ekstrasellüler alana pompalayarak cevap verir. Metabolik alkaloz durumunda kemik sıvı kompartmanından pompalanan kalsiyum miktarı yaklaşık 9 g olurken inek asidotik duruma geldiğinde bu miktar yaklaşık 15 g'a yükselir (1,10,11).

3.1.3. Diyeter Kalsiyum Absorpsiyonu

Nihai olarak ineği hipokalsemiden korumak için diyetteki kalsiyum verimli bir şekilde kullanılmalıdır. Kalsiyum, tüm minerallerde olduğu gibi intestinal bölgeden geçmek ve kana girmek için çözülmüş olmalıdır. Abomazumun asit ortamı inorganik diyeter kalsiyumunun çoğunun solubulize olmasına imkan sağlar. Fakat yemlerle alınan kalsiyumun çoğu oksalat ve lignin gibi organik materyallere bağlıdır ve inek için kullanılabilir değildir (12,13).

Solubul diyeter kalsiyum gastrointestinal epitelden aşağıda açıklanan 2 mekanizma ile geçebilir.

a- Vitamin D Bağımlı Transellüler İntestinal Absorpsiyon

İlk mekanizma intestinal epitel hücrelerden kalsiyumun aktif transportunu içerir. Bu olay başlıca duodenum ve jejunumda oluşur. Bu proses vitamin D'nin hormonal formu olan 1,25-dihidroksivitamin D ($1,25[OH]_2D$) tarafından epitel hücrelerin uyarılmasına bağlıdır. Güneşin ultraviole ışınlarına maruz kalmasına takiben deride sentezlenen ya da diyetle alınan vitamin D bu hormonun prekürsörüdür. Hormonun üretiminde ilk basamak vitamin D'nin dolaşıma girmesi ve kandan karaciğer tarafından alınmasıdır. Karaciğerde vitamin D, 25 numaralı karbonda hidroksile olarak 25-OH vitamin D oluşur ve bu form dolaşıma girer. Bu form vitamin D'nin kandaki en büyük formudur ve 25-OH vitamin D'nin serum seviyeleri vitamin D durumunu değerlendirmek için kullanılır. 25-OH vitamin D daha sonra böbreğe gider. Eğer böbrek PTH tarafından uygun bir şekilde uyarılmışsa 1α-hidroksilaz enzimi tarafından 25-OH vitamin D $1,25\ (OH)_2D$'ye dönüştürülür. $1,25\ (OH)_2D$ böbreklerden kana sekrete edilir ve bağırsağa gider. $1,25\ (OH)_2D$ hedef hücrelerin içine difüze olan steroid bir hormondur ve hücrenin nukleusu içindeki reseptörü olan vitamin D reseptörü (VDR) ile etkileşime girer. VDR gastrointestinal kanalın neredeyse tüm epitel hücrelerinde bulunur (1).

Transellüler kalsiyum transportu için ilk engel hücrelerin apikal membranlarından kalsiyumun hareketidir. İntrasellüler iyonize kalsiyum konsantrasyonları son derece düşük olduğundan bağırsak lumeninde yeterli kalsiyum konsantrasyonunu sağlayan hemen hemen tüm diyetler intestinal kanalı

örten epitel hücrelerinin içindeki kalsiyum konsantrasyonunu aşar. Apikal membran kalsiyumun serbestçe geçişine uygunsa bu konsantrasyon farkı apikal membrandan kalsiyumun geçişine neden olan elektrokimyasal bir gradiyent oluşturacaktır. 1,25 $(OH)_2D$'nin bir fonksiyonu apikal membran kalsiyum kanal proteinlerinin üretimini uyarmaktır. Bu proteinlerden biri olan geçici reseptör potansiyel katyon kanal subfamily V proteininin açılması, kalsiyumun sitosola ulaşmasını sağlar. Bu aşamadan sonra kalsiyum calbindin-9KD olarak bilinen ikinci bir vitamin D'ye bağımlı proteine bağlı olur. Bu kalsiyuma bağlanan protein sitosol içinde kalsiyumu taşıyarak epitel hücrenin basolateral membranına ulaştırır. Hücre içindeki kalsiyum konsantrasyonu, ekstrasellüler alandaki kalsiyum konsantrasyonundan neredeyse 10.000 kat düşük olduğu için kana kalsiyumun geçişi için elektrokimyasal gradiyente karşı basolateral membrandan kalsiyumun pompalanması gereklidir. Bu proses bir diğer vitamin D bağımlı protein kullanarak gerçekleştirilir. Kalsiyum-ATPaz pompası, ATP kullanarak kalsiyumu kana pompalar. Bu 3 proteinin tümü intestinal hücrelerden kalsiyumun aktif transportu için gereklidir ve bu proteinlerin epitel hücrelerindeki varlığı hücrelerin 1,25 $(OH)_2D$ ile uyarılmasına bağlıdır. Bu steroid hormon vitamin D'ye bağlı bu proteinlerin transkripsiyonunu ve translasyonunu başlatmak için nukleustaki reseptörleriyle etkileşime girmek zorundadır. Bu proses zaman gerektirir. Duodenal epitel hücrelerdeki calbindin-9KD düzeyleri kandaki 1,25 $(OH)_2D$'nin artışından yaklaşık 18 saat sonra artar. İnekte 1,25 $(OH)_2D$ stimüle edildiğinde kan kalsiyum konsantrasyonunu önemli derecede artırmak için kalsiyumun transellüler aktif transport prosesinin tam olarak etkisini göstermesi için gereken süre muhtemelen 48 saati alır (14-19).

b- Parasellüler İntestinal Kalsiyum Absorpsiyonu

Kalsiyum absorpsiyonu için vitamin D'den bağımsız ikinci bir mekanizmada mevcuttur. Bu mekanizma bağırsak lumeninden ekstrasellüler sıvılara intestinal epitel hücrelerinin arasından kalsiyumun hareketini kapsar. Bu mekanizma, parasellüler kalsiyum transportu olarak bilinir ve mekanizma yalnızca epitel hücrelere ulaşan solubul kalsiyum konsantrasyonu ile yürütülür. Epitel hücreler arasındaki sıkı bağlantı noktalarının en yakın kısmındaki iyonize kalsiyum konsantrasyonu ekstrasellüler alandaki iyonize kalsiyum konsantrasyonunu (yaklaşık 1.25 milimol) aştığında kalsiyum sıkı bağlantı noktalarından doğrudan ektrasellüler sıvıya ve kana geçer (19). Kuru dönemdeki bir ineğin günlük kalsiyum oranı % 0.5 olan 14 kg kuru madde yediği ve günlük 35 kg su içtiği düşünüldüğünde içerikteki total kalsiyum konsantrasyonunun 30 milimol'e yakın bir yoğunluğa dilue olduğu tahmin edilebilir. Rasyonda bulunan % 0.5 kalsiyumun çoğunluğunun otlardan sağlandığı göz önüne alındığında muhtemeldir ki bu kalsiyumun yalnızca yaklaşık % 30'u absorbe edilebilir formdadır (20). Bu durum da göz önüne alınırsa muhtemeldir ki bağırsak içeriğindeki iyonize kalsiyum konsantrasyonu 10 mM'a yaklaşır. İçerikte proteinlerin ve serbest minerallerin öteki şelatörlerinin varlığı bu tahmin edilen miktarı daha da düşürecektir. İneklerde özellikle de periparturient ineklerde parasellüler kalsiyum transportunun transsellüler absorpsiyona nisbi oranı bilinmemektedir fakat diyeter kalsiyum düşük olduğunda Vitamin D'ye bağlı aktif transportun katkısı kritik olmakta ve diyeter kalsiyum yüksek olduğunda (rasyondaki oran %1'e yaklaştığında) parasellüler transport daha baskın hale gelmektedir (1).

3.2. Hipokalseminin İnek Sağlığına Etkisi

Erişkin bir ineğin total kan kalsiyum konsantrasyonu 8.5-10 mg/dL (2.1-2.5 mmol/L) arasında korunur. Hemen hemen tüm inekler laktasyonun başlangıcında değişen derecelerde hipokalsemiye sahip olurlar. Fakat hipokalseminin şiddeti ve süresi ineğin kalsiyum homeostazisine bağlıdır (5). Tipik olarak en düşük kan kalsiyum konsantrasyonu doğumdan sonraki 12-24 saatte oluşur. Her sene Amerika Birleşik Devletleri'nde ineklerin yaklaşık %5'inin klinik hipokalsemi(<5 mg/dL) gösterdiği, 4-5. laktasyondaki ineklerde subklinik hipokalsemi insidensinin (kan kalsiyum konsantrasyonu 5.5-8.0 mg/dL ya da 1.38-2.0 mmol/L) % 50 civarında olduğu tespit edilmiştir (1,21). Subklinik hipokalsemili ineklerde daha yüksek esterleşmemiş yağ asidi konsantrasyonu, ketosis ve abomazum deplasmanı riskinde artışla sonuçlanan daha fazla vücut yağ mobilizasyonu şekillenir (1,22,23). Chamberlin ve arkadaşları (24), hipokalsemik süt ineklerinde postpartum 7. ve 35. günlerde karaciğerde daha fazla lipit birikmesi tespit etmişlerdir. Subklinik hipokalsemili ineklerde iyonize kalsiyum konsantrasyonundaki düşüşle paralel olarak yem yeme ve ruminasyon sırasında çiğneme için harcanan zamanın azaldığı tespit edilmiştir (25). Eksperimental olarak subklinik hipokalsemi oluşturulan sığırlarda kuru madde tüketiminin ve rumen kontraksiyonlarının azaldığı belirlenmiştir (26). Hipokalsemi, sağımdan sonra meme deliğinin kapanmasından sorumlu olan meme sfinkter kasının kontraksiyonunu azaltır ve bu nedenle mastitis riskini arttırır. Hipokalsemiye kandaki mononuklear hücrelerin endoplazmik retikulum ve mitokondrilerinin kalsiyum depolarında azalma eşlik eder. İntrasellüler kalsiyum depolarının azalması; immun hücrelerin sitokinlere, antijenlere veya öteki uyaranlara karşı

cevabını bozar. Subklinik hipokalseminin nötrofil cevabını bozduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 8.59 mg/dL'nin altındaki serum kalsiyum konsantrasyonunda her 1 mg/dL azalmanın metritis riskini % 22 arttırdığı tespit edilmiştir (27). Klinik hipokalsemi ve subklinik hipokalsemi tam verimlilikle laktasyonun devam etme şansını azaltan hastalıklar olarak düşünülmelidir (1).

3.4. Point-of-Care Analizleri

Veteriner hekimlikte biyokimyasal parametrelerinin ve elektrolitlerin ölçümünde otoanalizörler ve kan gazı cihazları yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hayvan hastanelerinin diyagnostik birimlerinde bulunan bu cihazlar ekseriyetle portatif olmayan masa üstü analizörlerdir. Son senelerde hızla sonuç veren ve point-of-care (POC) cihazları olarak da isimlendirilen sistemler yaygın kullanım alanı bulmaktadır. POC testi, rutin laboratuvar uygulamasının dışında gerçekleştirilen herhangi bir test olarak tanımlanır ve hastanın hemen yakınında kullanıldığına işaret eder (28). Değişik POC analizörleri mevcuttur. POC analizörleri; cihaz içermeyen sistemleri (idrar test şeritleri, hızlı test kitleri gibi), küçük elde taşınabilir (ketonmetreler, laktatmetreler gibi) ve masa üstünde kullanılan analizörleri (portatif kan gazı ve hematoloji cihazları gibi) içerir. Bu analizörlerin kısa sürede sonuç verme özellikleri hastaya acil müdahaleyi kolaylaştırır. Önemli bir avantajı ise daha az miktarda numune ile çalışarak özellikle kan miktarı az olan türlerde kullanım alanı bulmasıdır. Ayrıca POC analizörleri, teşhis laboratuarlarının çalışma saatleri dışında kullanılabilmesi ve bu laboratuvarlara ulaşmanın mümkün olmadığı yerlerde de analizlerin yapılmasına imkân sağlaması nedeniyle özellikle saha şartlarında da kullanım alanı bulmaktadır. POC cihazları Veteriner Hekimlikte; özellikle akademik veteriner

medikal merkezlerin yoğun bakım ünitelerinde, acil servislerinde, gezici kliniklerinde, iç hastalıkları, cerrahi ve anestezi birimlerinde kullanılmasının yanında özel veteriner kliniklerde ve ilaç şirketlerinde kullanım alanı bulmaktadır (28). POC cihazların hızla geliştirilmesi ve kullanıma sunulmasıyla birlikte bu cihazların güvenilirliğine dair çalışmalar da yaygınlaşmaktadır. Örneğin; ketonmetre ve glukometre olarak kullanılan Precision Xtra'nın sığırlarda kan β-hidroksi bütirat ve glukoz konsantrasyonunu belirlemede güvenilirliğine ilişkin değişik araştırmalar yapılmaktadır (29,30). Yine farklı laktatmetrelerin köpek, koyun, sığır ve atlarda güvenilirliğinin araştırıldığı çalışmalar son yıllarda yayınlanmıştır (31-34). Bir POC cihazı olan i-STAT'ın veteriner sahada yaygın bir kullanım alanı bulmaya başlamasından ötürü cihazın farklı hayvan türlerinde değişik parametreleri belirlemedeki güvenilirliği araştırılmaktadır. Atların venöz kan örneklerinde i-STAT'ın kan gazlarını (pH, $_{P}CO_2$, $_{P}O_2$) ve laktat konsantrasyonunu belirlemedeki güvenilirliği araştırılmış ve atlarda bu parametrelerin ölçümünde i-STAT'ın kullanılabileceği ifade edilmiştir (31). Tavuklarda i-STAT'ın kan pH, pO_2, pCO_2 ve sodyum konsantrasyonunu güvenilir bir şekilde belirlediği tespit edilmiştir (35). Köpeklerde kan potasyum, iyonize kalsiyum konsantrasyonunu ölçmede ve pH, pO_2'yi belirlemede standart analizör ile karşılaştırıldığında i-STAT'ın güvenilir sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur (36). i-STAT'ın sağlıklı sığırların, atların ve koyunların venöz kan örneklerinde kan gazlarını (pH, $_{P}CO_2$, $_{P}O_2$), oksijen saturasyonunu, sodyum, potasyum, iyonize kalsiyum, bikarbonat konsantrasyonunu, hematokrit değeri ve hemoglobin miktarını belirlemedeki güvenilirliği araştırılmıştır (37). Bahsi geçen çalışmada 24 sağlıklı sığır kullanılmış ve sonuç olarak sağlıklı sığırlarda kan gazı, sodyum,

potasyum ve iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının i-STAT ile güvenli bir şekilde ölçülebileceği tespit edilmiştir. Fakat bahsi geçen çalışma sağlıklı sığırlarda yapılmış olup ayrıca örnek sayısı fazla değildir. Sığırların değişik hastalıklarında daha geniş bir aralıkta kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun şekillenmesi mümkündür. Bu nedenle farklı kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarında i-STAT'ın ne kadar doğru ölçüm yaptığı ve dolayısıyla ne kadar güvenilir olduğu bilinmemektedir. Ayrıca i-STAT'ın hipokalsemiyi belirlemedeki sensitivitesini ve spesifitesini ortaya koyan bir çalışma henüz yapılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, kısa sürede sonuç veren ve kullanımı kolay olan i-STAT'ın (Abbott Point of Care, Abbott Laboraties, Chicago, USA) sığırların kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu belirlemedeki güvenilirliğinin araştırılmasıdır.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne getirilen değişik hastalıklara sahip 121 sığır kullanılmıştır. Çalışma Fırat Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Geniş bir aralıkta ve farklı konsantrasyonlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu ölçümü yapılabilmesi için değişik hastalıklara sahip sığırların kullanılmasına dikkat edilmiştir.

4.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Ölçümlerin Yapılması

Kan örnekleri tüm sığırların Vena Jugularis'lerinden 80 IU kuru, elektrolit dengeli heparin içeren kan gazı enjektörüne alınmıştır (Pico 50, Radiometer Medical, Danimarka). Kan örneklerinin iyonize kalsiyum konsantrasyonları alındıktan sonraki 30 dakika içinde ölçülmüştür. Ölçüm yapılmadan önce kan gazı enjektörü içindeki kan yavaşça döndürülmüş ve yine yavaş bir şekilde alt üst edilmiştir. Aynı enjektördeki kan örneği önce i-STAT'a sonra da Radiometer ABL 800 (Radiometer Medical, Danimarka) kan gazı analiz cihazına uygulanmıştır. Analiz sırasında her iki kan gazı cihazı da aynı odada tutulmuştur. i-STAT ile iyonize kalsiyum konsantrasyon ölçümü CG8+ kartuşları (CG8+ Kartuş, Abbott Laboratories, Chicago, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her iki analizörün ölçtüğü kan iyonize kalsiyum konsantrasyonları kaydedilmiştir. CG8+ kartuşları kullanılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır ve kullanımdan önce 10 dakika süresince oda ısısında tutulmuştur. Her iki analizör de üretici firmaların direktifleri doğrultusunda kalibre edilmiş ve kullanılmıştır. İyonize

kalsiyum ölçüm aralığı i-STAT için 0.25-2.5 mmol/L ve Radiometer ABL 800 içinse 0.20-9.99 mmol/L'dir.

4.2.1. i-STAT ve Radiometer ABL 800'ün Çalışma Prensibi

i-STAT ve Radiometer ABL 800 iyon selektif elektrot potentiometri yöntemi ile kan iyonize kalsiyum ölçümünü gerçekleştirir.

4.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistikî Analizi

Her iki analizörle elde edilen ortalama değerlerin karşılaştırılması için veriler eşli Student *t* testine tabi tutulmuştur. Validasyon işleminde Radiometer ABL 800 referans metot, i-STAT ise test metodu olarak düşünülmüştür. i-STAT'ın kesinlik (precision) ve doğruluğu (accuracy) konkordans ve Pearson's korelasyon coefficientleri ile belirlenmiştir. i-STAT'ı referans metot ile karşılaştırmak için Passing-Bablok regresyon analizi yapılmıştır (38). Sistematik, orantısal ve rastgele hataları belirlemek için Bland-Altman plot analizi yapılmıştır (39). Son olarak, receiver operating characteristics (ROC) eğrileri kullanılarak (40) kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu < 1 mmol/L ve < 1.18 mmol/L eşik değerler olarak kabul edilerek i-STAT'ın hipokalsemiyi belirlemedeki spesifitesi (öznellik) ve sensitivitesi (nesnellik) belirlenmiştir. İstatistiksel analizlerde MedCalc Programı kullanılmıştır (Medcalc Software, Versiyon 17.9, MedCalc, Ostend, Belçika).

5. BULGULAR

Bu çalışmada Simental ırkı 87, Holştayn ırkı 18 ve İsviçre Esmeri ırkı 16 sığır kullanıldı. Sığırlar 1 gün – 8 yıl yaşlıydılar. Çalışmada kullanılan hayvanların olası klinik tanıları; sindirim sistemi bozukluklarını (n= 62, retiküloperitonitis travmatika, gıdai indigesyon, enteritis, abomasitis, vagal indigesyon, sekal dilatasyon), neonatal problemleri (n= 19, neonatal enfeksiyon, neonatal diyare), solunum sistemi problemlerini (n= 18, pnömoni, aspirasyon pnömonisi), metritisi (n=6), ketosisi (n=4), güç doğumu (n=4), mastitis (n=3), theileriosisi (n=2), perikarditis travmatikayı (n=1), hepatik apseyi (n=1) ve ascaridiosisi (n=1) içermekteydi.

Çalışmada kullanılan sığırların, i-STAT ve Radiometer ABL 800 ile belirlenen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonları Tablo 1'de verilmiştir. Bu çalışmada Radiometer ABL 800 kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu 0.57-1.57 mmol/L (1.09±0.01 mmol/L), i-STAT ise 0.49-1.50 mmol/L (1.09±0.01 mmol) arasında ölçmüştür (*P*=.82) (Tablo 2). i-STAT ile Radiometer ABL 800 arasındaki Konkordans korelasyon katsayısı (r) 0.976 olarak tespit edilmiştir. Konkordans ve Pearson's Korelasyon Coeffcient i-STAT'ın % 97.8 kesinliğe (Pearson ρ) ve % 99.7 doğruluğa (bias correction factor, Cb) sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Passing-Bablok regresyon analizi sonucu Tablo 4 ve Şekil 1'de gösterilmiştir. Passing-Bablok regresyon analizinde benzerlik çizgisi, en iyi tanımlayan doğrudan farklılık göstermemiştir (P = .64) (Şekil 1). Radiometer ABL 800 (Y) ve i-STAT (X) ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu arasındaki hataları karşılaştırmak için yapılan Bland-Altman analiz sonucu ise

Şekil 2‘de gösterilmiştir. Bland-Altman analizi sonucu i-STAT ile Radiometer ABL 800 arasında fark tespit edilmemiştir (95% CI, 0,006-0,007 mmol/L) (*P* = .82). i-STAT’ın hipokalsemiyi belirlemedeki sensitivitesi ve spesifitesi Tablo 5’te ve Şekil 3-4‘te gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan sığırların i-STAT ve Radiometer ABL 800 ile belirlenen iyonize kalsiyum konsantrasyonları (mmol/L).

Vaka No.	i-STAT	ABL800
1	1,11	1,15
2	1,11	1,11
3	1,1	1,12
4	1,2	1,2
5	1,04	1,08
6	1,1	1,14
7	1,33	1,37
8	1	1,05
9	0,8	0,87
10	1,19	1,21
11	0,86	0,89
12	0,86	0,9
13	0,8	0,82
14	1,22	1,21
15	1,1	1,11
16	1,1	1,13
17	1,13	1,16
18	1,2	1,16
19	1,22	1,19
20	1,06	1,04
21	0,84	0,87
22	1,09	1,13
23	1	1,04
24	1,24	1,25
25	0,96	1,02
26	0,84	0,86
27	1	0,99
28	1,27	1,3
29	0,85	0,88
30	1,1	1,08
31	1,2	1,19
32	1,08	1,11
33	1,05	1,05
34	1,15	1,15
35	1,11	1,18
36	1,26	1,24
37	1,24	1,23
38	0,94	0,95
39	1,41	1,35
40	1,21	1,16
41	0,79	0,81
42	1,25	1,29
43	1,06	1,03
44	1,16	1,22
45	0,96	0,98
46	1,07	1,08
47	1,29	1,27
48	1,23	1,22
49	1,13	1,12
50	1,12	1,11

Tablo 1. (Devam)

Vaka No.	i-STAT	ABL800
51	1,11	1,11
52	1,26	1,24
53	0,93	0,95
54	1,19	1,16
55	1,23	1,19
56	1,12	1,11
57	1,28	1,21
58	1,21	1,16
59	1	1
60	1,26	1,23
61	1,14	1,13
62	1,5	1,57
63	1,22	1,2
64	1,35	1,29
65	1,3	1,25
66	0,92	0,87
67	1,04	1,01
68	1,28	1,24
69	1,11	1,09
70	1,08	1,07
71	1,19	1,15
72	1,3	1,25
73	1,13	1,08
74	1,27	1,22
75	1,06	1,01
76	1,05	1,04
77	1,06	1,04
78	1,31	1,27
79	1,14	1,09
80	0,94	0,96
81	1,16	1,1
82	1,21	1,15
83	1,26	1,24
84	0,92	0,92
85	0,93	0,94
86	1,22	1,2
87	1,08	1,08
88	0,91	0,99
89	1,24	1,27
90	1,13	1,16
91	1,39	1,51
92	1,03	1,04
93	1,23	1,22
94	1,13	1,12
95	1,11	1,11
96	0,95	0,96
97	1,19	1,15
98	1,09	1,07
99	0,76	0,8
100	1,04	1,01

Tablo 1. (Devam)

Vaka No.	i-STAT	ABL800
101	0,99	0,97
102	0,51	0,57
103	1,06	1,07
104	1,25	1,23
105	1	1,01
106	1,23	1,21
107	1,14	1,12
108	1,18	1,15
109	0,9	0,9
110	1,13	1,15
111	0,49	0,58
112	0,91	0,92
113	1,09	1,11
114	1,08	1,05
115	1,32	1,25
116	1,27	1,27
117	0,81	0,84
118	0,93	0,93
119	0,83	0,8
120	0,67	0,69
121	0,96	0,93

Tablo 2. Çalışmada kullanılan sığırların (n= 121) iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının Radiometer ABL 800 ve i-STAT ile ölçümlerinin eşli *t* testi ile karşılaştırılması.

Ölçülen Değişken	ABL 800*	i-STAT*	Ortalama Fark‡
İyonize Kalsiyum (mmol/L)	1.09±0.01[a]	1.09±0.01[a]	0,0007±0,003

* Ortalama±SD ‡ Ortalama±SE

[a,] Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak önemliliğe işaret eder (P≤0.05; paired *t* test).

Tablo 3. i-STAT'ın konkordans analiz sonuçları (n=121).

Ölçülen Değişken	Konkordans Korelasyon Coefficient	% 95 CI	Kesinlik (Precision)(Pearson ρ)	Doğruluk (Accuracy) (Hata düzeltme faktörü, C_b)
İyonize Kalsiyum	0.976	0.966-0.982	0.978	0.997

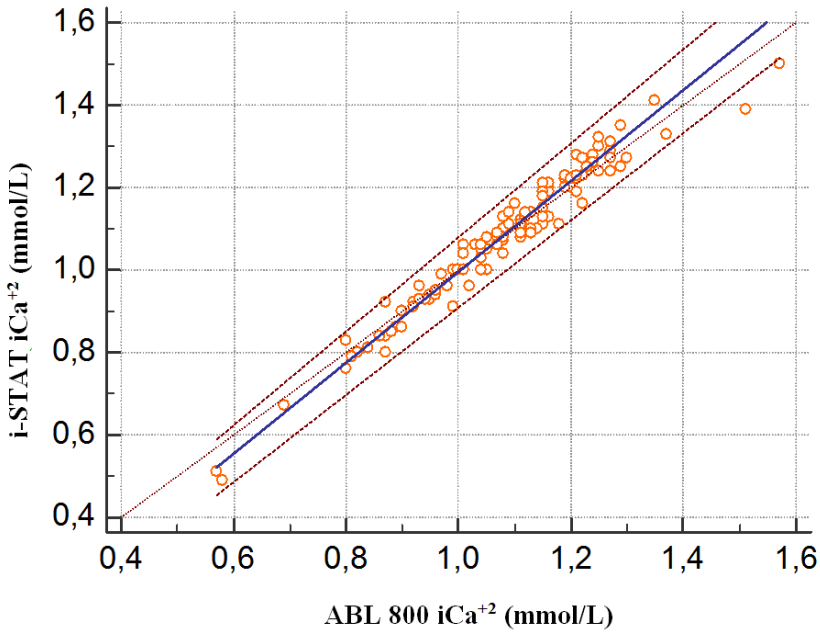
Tablo 4. i-STAT'ın Radiometer ABL 800 ile karşılaştırılmasıyla elde edilen Passing-Bablok regresyon analizi sonuçları (n=121).

Ölçülen Değişken	Farklar			Linearitenin Cusum Test Validitesi
	Sistematik İntersept A (% 95 CI)	Orantısal Slope B (% 95 CI)	Rastgele RSD (± RSD Aralığı)	
İyonize Kalsiyum	-0.10 (-0.15/-0.06)	1,10 (1,06-1.14)	0,02 (-0,04/0.04)	P= 0.64

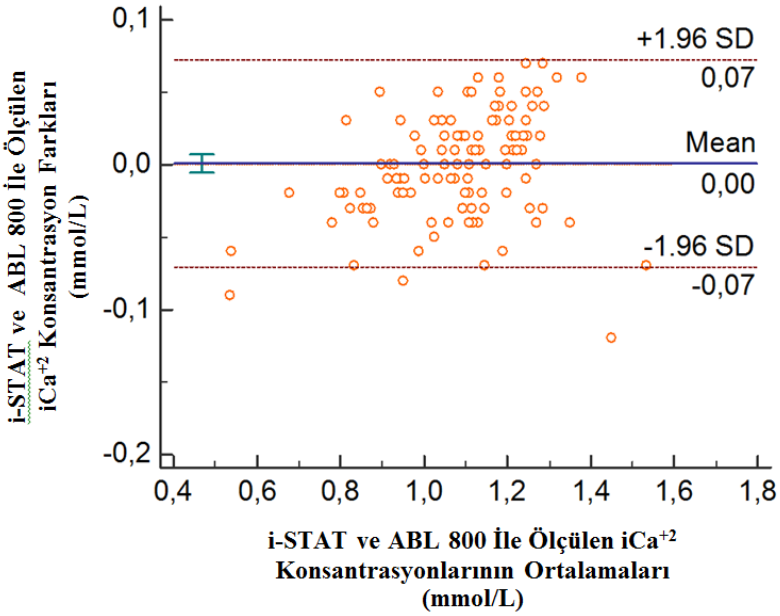
Tablo 5. Sığırlarda Radiometer ABL 800 ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değerlerini (< 1 mmol/L ve < 1.18 mmol/L) belirlemede i-STAT'ın sensitivitesi ve spesifitesi (n = 121).

				Area Under Curve		
	Kritik Eşik Sınır[a]	**Sensitivite (95% CI)**	**Spesifite (95% CI)**	**Ortalama ± SE (95% CI)**	***z***	***P***
Hipokalsemi (n=28)	≤ 0.99	100 (87.7-100.0)	98.92 (94.2 – 100.0)	0.994±0.006 (0.959-1.000)	81.830	<.0001
Hipokalsemi (n=77)	≤ 1.21	94.81 (87.2-98.6)	63.64 (47.8-77.6)	0.739±0,058 (0.651-0.815)	4,077	<.0001

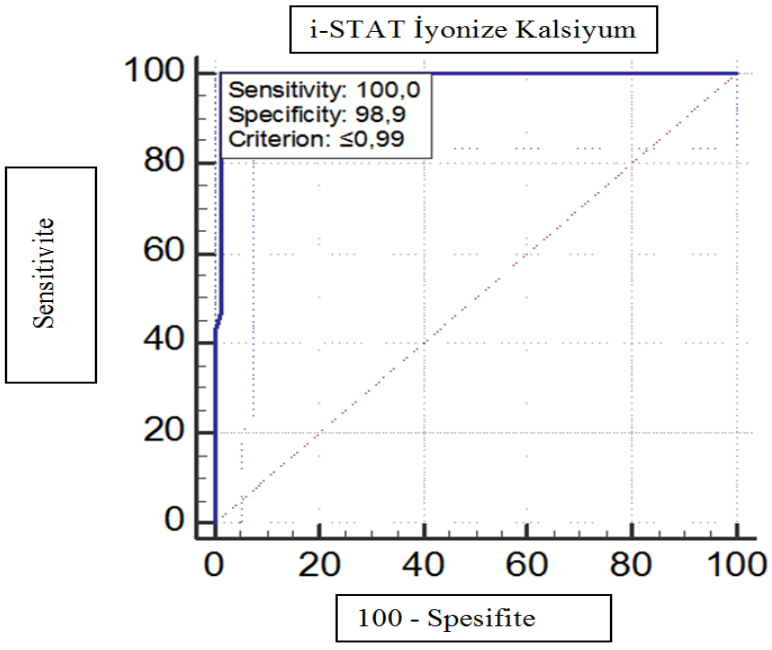
a En yüksek Youden indeks.



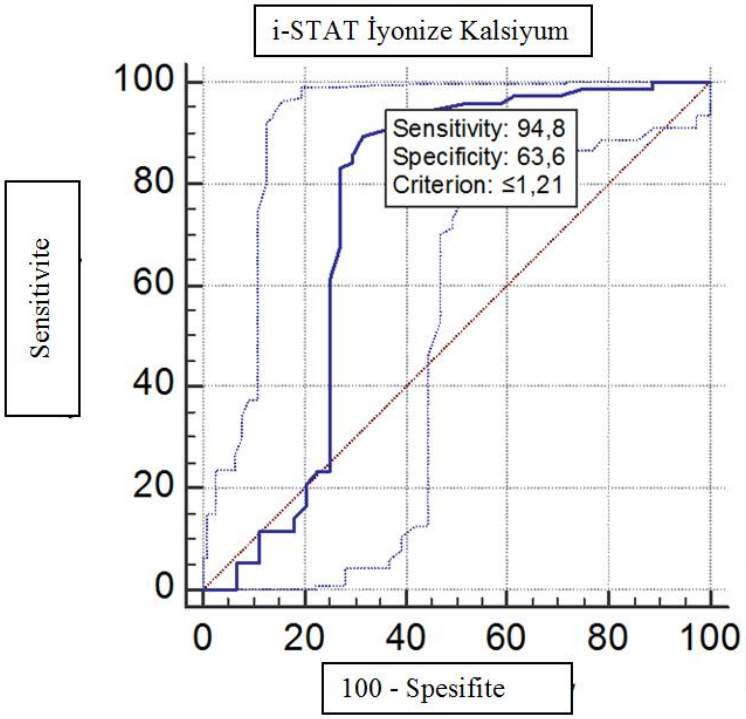
Şekil 1. Radiometer ABL 800 ve i-STAT ile belirlenen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının (mmol/L) Passing-Bablok regresyon analizi. Diagonal kesikli çizgi benzerlik çizgisini (identity line), tüm çizgi en iyi tanımlayan doğruyu (the best fit) ve bu çizginin yanındaki kesikli çizgiler % 95 güven aralığını gösterir.



Şekil 2. Radiometer ABL 800 ve i-STAT ile ölçülen ortalama kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarına (mmol/L) karşı i-STAT ve Radiometer ABL 800 ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu farklarının (mmol/L) Bland-Altman plot analizi. Düz tüm çizgi ortalama farkı, kesikli düz çizgiler ortalama farkın üst ve alt limitlerini, kısa düz çizgiler ortalama farkın % 95 CI'sını tanımlar.



Şekil 3. i-STAT'ın, Radiometer ABL 800'le ölçülen < 1 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunda sensitivitesi ve spesifitesi (n= 121).



Şekil 4. i-STAT'ın, Radiometer ABL 800'le ölçülen < 1.18 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunda sensitivitesi ve spesifitesi (n= 121).

6. TARTIŞMA

Geleneksel olarak kalsiyum durumunun incelenmesinde kullanılan total serum kalsiyum konsantrasyonu iyonize, proteine bağlı ve kompleks kalsiyum kısımlarından oluşmaktadır. İyonize kalsiyum kısmı normalde total kalsiyum konsantrasyonunun % 40-60'ını oluşturmaktadır. Asit-baz dengesizliklerinin ve kan protein konsantrasyonundaki değişimlerin kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu üzerinde etkisi olmakta ve kan iyonize kalsiyum total kalsiyum oranını etkilemektedir. Kan iyonize kalsiyumu biyolojik olarak aktif olmasına rağmen klinisyenler total serum kalsiyum konsantrasyonu ölçümünden iyonize kalsiyumu tahmin etmektedirler. Kedi ve köpeklerde kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun tahmini için formülasyonlar geliştirilmiştir. Fakat total serum kalsiyum konsantrasyonundan veya bu formülasyonlardan kedi ve köpeklerin iyonize kalsiyum durumunu tahmin etmek kabul görmemektedir (41,42). Süt ineklerinde kan iyonize kalsiyum ve total kalsiyum konsantrasyonu arasındaki ilişkinin doğumdan hemen sonra değişmekte olduğu ve subklinik hipokalseminin teşhisinde kullanılacak kalsiyum parametresine bağlı olarak teşhiste bazı farklılıklara yol açabileceği ifade edilmektedir (43). Bahsi geçen çalışmada erken postpartum dönemdeki ineklerin in vitro nötrofil fonksiyonu ile kan iyonize kalsiyumu arasında total serum kalsiyumuna kıyasla daha tutarlı bir ilişki tespit edilmiş olup kan iyonize kalsiyumunun postpartum kalsiyum konsantrasyonu ile ilişkili olan fonksiyonel sonuçları daha duyarlı bir şekilde tahmin edebileceği ileri sürülmüştür (43). Kan iyonize kalsiyum konsantrasyon ölçümleri, diyagnostik laboratuvarlardaki konvansiyonel kan gazı analizörleri ile gerçekleştirilmektedir ve total serum kalsiyum ölçümlerindeki gibi genellikle masa üstü spesifik

ekipman gerektirmektedir. Hasta örneklerinin teşhis laboratuvarlarına taşınırken maliyeti ve geçen süre göz önüne alındığında çiftliklerde ve sahada çalışan hekimlerce bu masa üstü analizörlerin kullanımı pek mümkün olmamaktadır. Fakat iyon elektrot teknolojisindeki gelişmeler ile kan iyonize kalsiyumu daha yaygın kullanılır bir parametre olmaya başlamaktadır. Hayvan hastanelerinde, gezici kliniklerde yaygın bir şekilde kullanılan ve portatif bir analizör olan i-STAT, sığırlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu doğru ölçme potansiyeline sahiptir ve bu çalışmada i-STAT'ın sığırların kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu belirlemedeki güvenilirliği belirlenmiştir.

Sağlıklı 24 sığırın kullanıldığı bir çalışmada, i-STAT'ın kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu ölçmede güvenilir olduğu ifade edilmiştir (37). Fakat bahsi geçen çalışmada kullanılan örnek sayısı metot karşılaştırma için az olup kullanılan örneklerin sağlıklı hayvanlardan alınması da ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyon aralığının sınırlı olmasına neden olmuştur. Bu çalışmada ise farklı hastalıklara sahip 121 sığır kullanılmış ve bu durum bahsi geçen çalışmaya kıyasla daha geniş aralıkta kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu ölçümü ile sonuçlanmıştır. Bu çalışmada, i-STAT'la kan iyonize kalsiyum konsantrasyon aralığı 0.49-1.50 mmol/L olarak ölçülürken Peiro ve arkadaşlarının (37) yaptıkları çalışmada i-STAT ile ölçülen aralık 0.8-1.40 mmol/L olarak tespit edilmiştir. Her iki analizörün belirlediği kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarının ortalaması arasındaki fark önemsiz olarak belirlenmiştir (*P=.82*) (Tablo 2). i-STAT tarafından ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonları ile Radiometer ABL 800 ile ölçülen kan iyonize kalsiyum konsantrasyonları arasında oldukça yüksek bir korelasyon da tespit edilmiştir (*r*=

0.98, *P*<.0001). Çalışmamızda tespit ettiğimiz bu sonuçlar Peiro ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları çalışma ile uyum içerisinde olup o çalışmada i-STAT, AVL Omni kan gaz analizörü ile karşılaştırılmıştır. Benzer şekilde i-STAT köpeklerde ve atlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun ölçümünde Radiometer ABL 600 ile yüksek bir korelasyon göstermiştir (36). Bu çalışmada, i-STAT'ın oldukça yüksek bir doğruluk (0.997) ve kesinliğe (0.978) sahip olduğu da ortaya konulmuştur ki bu bulgu her iki analizörün ölçümleri arasında çok kuvvetli linear bir ilişki olduğunu göstermektedir. Passing-Bablok regresyon analizi, i-STAT'ın kan iyonize kalsiyum ölçümlerinde orantısal ve sistematik hataya sahip olduğunu ortaya koymuş olmasına rağmen sistematik fark 0'a orantısal fark ise 1'e çok yakın olarak görülmektedir. Ayrıca benzerlik çizgisinden deviasyonun önemli olmaması i-STAT'ın sığırlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu ölçümünde güvenilir sonuçlar ürettiğine işaret etmektedir (Şekil 1). Bu çalışmada, Passing-Bablok regresyon analizi ile elde edilen sonuçlara benzer şekilde sığırlarda ve tavuklarda yapılan diğer çalışmalarda da Deming regresyon analizi sonucu ortaya çıkan orantısal farkların 1'e çok yakın olduğu görülmektedir (35,37). i-STAT Asya fillerinde kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun ölçümünde sistematik ve orantısal hatalar göstermesine rağmen yaklaşık 1.2 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunda klinik olarak kabul edilebilir ölçümler gerçekleştirmiştir (44).

Bland-Altman analizi 2 analizör arasındaki uyumu, uyum sınırlarını çizerek belirlemek ve iki metot arasındaki farkı değerlendirmek için uygun bir metottur (45,46). Bland Altman analizinde her iki metot arasındaki ölçümlerin farkları, % 95 güven aralığına ve özellikle ortalama fark çevresine yerleşmiştir. Bland-Altman analizi, Peiro ve arkadaşlarının (37) sonucuyla benzer bir şekilde i-

STAT ile Radiometer ABL 800 arasında farkın olmadığını ortaya koymuştur. Fakat i-STAT tavukların kan iyonize kalsiyum konsantrasyonlarını referans metoda göre önemsiz derecede düşük tahmin etmiştir (35). Tüm bu veriler i-STAT'ın sığırların kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu belirlemede güvenilir bir cihaz olduğuna işaret etmektedir.

Hipokalsemi uzun süreden beri süt sığır yetiştiriciliği için önemli bir problemdir. Süt hummasının insidensi azalmasına rağmen subklinik hipokalseminin prevalansı modern süt sığırı çiftliklerinde hala yüksektir (21). Hipokalsemi, süt ineklerini ketosis, abomazum deplasmanı, mastitis, metritis, karaciğer yağlanması gibi hastalıklara predispoze eder (1,24,27). Hipokalsemi laktasyon boyunca verimliliği bozan hastalıkların giriş kapısı olarak düşünülmelidir (1). Bu nedenle hipokalseminin süt sığırı sürülerinde takibi çok önemlidir. i-STAT'ın hipokalsemiyi belirlemedeki sensitivitesi ve spesifitesi şu ana kadar belirlenmemiştir. Subklinik hipokalsemiyi belirlemek için değişik eşik değerler kullanılmaktadır. Subklinik hipokalseminin süt ineklerinin immun hücre fonksiyonlarına etkilerinin değerlendirildiği eksperimental bir çalışmada < 1 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değer olarak kabul edilmiş ve bu çalışmada hipokalseminin iştahı azalttığı, lipit mobilizasyonunu arttırdığı ve immun sistem hücrelerinin fonksiyonunu bozduğu belirlenmiştir (26). Bir diğer çalışmada kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu < 1 mmol/L subklinik hipokalseminin eşik değeri olarak kabul edilmiş ve hipokalsemik ineklerde plazma esterleşmemiş yağ asidi konsantrasyonunda artış ve karaciğerde lipit birikimi görülmüştür (24). Süt ineklerinde subklinik hipokalseminin prevalansının araştırıldığı çalışmalarda 2 mmol/L total serum kalsiyum konsantrasyonu eşik

değer olarak kabul edilmiştir (21,47). Son bir araştırmada ≤ 2 mmol/L total serum kalsiyum konsantrasyonu hipokalseminin eşik değeri olarak kabul edildiğinde erken postpartum dönemdeki süt ineklerinde ≤ 1.17 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunun en yüksek sensitivite ve spesifite gösterdiği belirlenmiştir (43). Bu bilgiler göz önünde tutularak bu çalışmada hipokalsemiyi belirlemede 2 farklı eşik değer kullanılmıştır. <1 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değerinde i-STAT çok yüksek sensitivite (% 100) ve spesifite (% 98.9) göstermiş olup < 1.18 mmol/L kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu eşik değerinde daha düşük sensitivite (%94.8) ve spesifite (%63.6) ortaya koymuştur. Bu çalışma ile ortaya konan bilgiler, i-STAT'ın sığırlarda hipokalsemiyi teşhis etmede uygun bir portatif analizör olduğuna işaret etmektedir.

Sonuç olarak i-STAT sığırlarda kan iyonize kalsiyum konsantrasyonunu doğru bir şekilde ölçmüş ve özellikle hipokalsemiyi tanımada yüksek sensitivite göstermiştir.

.

7. KAYNAKLAR

1- Goff JP. Calcium and magnesium disorders. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2014; 30: 359-381.

2- Stampfli H, Oliver-Espinosa O. Clinical chemistry tests. In: Smith BP. (Editor). Large Animal Internal Medicine 5th Edition, St. Louis: Mosby Co 2015: 350-373.

3- Brown EM. Clinical lessons from the calcium-sensing receptor. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2007; 3: 122-133.

4- Brown EM, Gamba G, Riccardi D, et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca2+-sensing receptor from bovine parathyroid. Nature 1993; 366: 575–580.

5- Goff JP. The monitoring, prevention and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. Vet J 2008; 176: 50-57.

6- Martín-Tereso J, Martens H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). Vet Clin North Am Food Anim Pract 2014; 30: 643-670.

7- Martín-Tereso J, Verstegen MW. A novel model to explain dietary factors affecting hypocalcemia in dairy cattle. Nutr Res Rev 2011; 24: 228-143.

8- Goff JP, Littledike ET, Horst RL. Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: prevention of hypocalcemic parturient paresis. J Dairy Sci 1986; 69: 2278–2289.

9- Hoorn EJ, Zietse R. Disorders of calcium and magnesium balance: a physiology-based approach. Pediatr Nephrol 2013; 28: 1195–1206.

10- Teti A, Zallone A. Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis? Osteocytic osteolysis revisited. Bone 2009; 44: 11–16.

11- Goff JP, Horst RL, Mueller FJ, et. al. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. J Dairy Sci 1991; 74:3863-3871.

12- Ward G, Harbers LH, Blaha JJ. Calcium-containing crystals in alfalfa: Their fate in cattle. J Dairy Sci 1979; 62: 715–722.

13- Martz FA, Belo AT, Weiss MF, Belyea RL, Goff JP. True absorption of calcium and phosphorus from alfalfa and corn silage when fed to lactating cows. J Dairy Sci 1990; 73: 1288–1295.

14- Goff JP, Horst RL, Littledike ET, Boris A, Uskokovic MR. Bone resorption, renal function and mineral status in cows treated with 1,25-dihydroxycholecalciferol and its 24-fluoro analogues. J Nutr 1986; 116: 1500–1510.

15- Wasserman RH, Fullmer CS. Vitamin D and intestinal calcium transport: Facts, speculations and hypotheses. J Nutr 1995; 125(Suppl 7): 1971S–1979S.

16- Bouillon R, Van Cromphaut S, Carmeliet G. Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms. J Cell Biochem 2003; 88: 332–339.

17- Bronner F. Mechanisms of intestinal calcium absorption. J Cell Biochem 2003; 88: 387–393.

18- Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ. Calcium absorption across epithelia. Physiol Rev 2005; 85: 373–422.

19- Christakos S. Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) regulation of intestinal calcium absorption. Arch Biochem Biophys 2012; 523: 73–76.

20- National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, DC: National Academy Press; 2000.

21- Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. Vet J 2011; 188: 122-124.

22- Seifi HA, Leblanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. Vet J 2011; 188: 216-220.

23- Overton TR, McArt JAA, Nydam DV. A 100-Year Review: Metabolic health indicators and management of dairy cattle. J Dairy Sci 2017; 100: 10398-10417.

24- Chamberlin WG, Middleton JR, Spain JN, et al. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. J Dairy Sci 2013; 96: 7001-7013.

25- Hansen SS, Nørgaard P, Pedersen C, et al. The effect of subclinical hypocalcaemia induced by Na2EDTA on the feed intake and chewing activity of dairy cows. Vet Res Commun 2003; 27: 193-205.

26- Martinez N, Sinedino LD, Bisinotto RS, et. al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. J Dairy Sci 2014; 97: 874-887.

27- Martinez N, Risco CA, Lima FS, et al. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. J Dairy Sci 2012; 95: 7158-7172.

28- Flatland B, Freeman KP, Vap LM, Harr KE. American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) Guidelines: Quality assurance for point-of-care testing in veterinary medicine. Available at http://www.asvcp.org/pubs/qas/index.cfm. Accessed 20.11.2017.

29- Iwersen M, Falkenberg U, Voigtsberger R, Forderung D, Heuwieser W. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. J Dairy Sci 2009; 92: 2618-2624.

30- Zakian A, Tehrani-Sharif M, Mokhber-Dezfouli MR, Nouri M, Constable PD. Evaluation of a point-of-care electrochemical meter to detect subclinical ketosis and hypoglycaemia in lactating dairy cows. Aust Vet J 2017; 95: 123-128.

31- Silverman SC, Birks EK. Evaluation of the i-STAT hand-held chemical analyser during treadmill and endurance exercise. Equine Vet J Suppl 2002; 34: 551-554.

32- Acierno MJ, Mitchell MA. Evaluation of four point-of-care meters for rapid determination of blood lactate concentrations in dogs. J Am Vet Med Assoc 2007; 230: 1315-1318.

33- Karapinar T, Kaynar O, Hayirli A, Kom M. Evaluation of 4 Point-of-Care Units for the Determination of Blood L-Lactate Concentration in Cattle. J Vet Intern Med 2013; 27: 1596-1603.

34- Kaynar O, Karapinar T, Hayirli A, Baydar E. Reliability of the Lactate Scout point-of-care instrument for the determination of blood L-lactate concentration in sheep. Vet Clin Pathol 2015; 44(4): 559-563.

35- Steinmetz HW, Vogt R, Kästner S, Riond B, Hatt JM. Evaluation of the i-STAT portable clinical analyzer in chickens (Gallus gallus) J Vet Diagn Invest 2007; 19: 382-388.

36- Looney AL, Ludders J, Erb HN, Gleed R, Moon P. Use of a handheld device for analysis of blood electrolyte concentrations and blood gas partial pressures in dogs and horses. J Am Vet Med Assoc 1998; 213: 526-530.

37- Peiro JR, Borges AS, Gonçalves RC, Mendes LC. Evaluation of a portable clinical analyzer for the determination of blood gas partial pressures, electrolyte concentrations and hematocrit in venous blood samples collected from cattle, horses and sheep. Am J Vet Res 2010; 71: 515-521.

38- Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in Clinical Chemistry, Part I. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21:709–720.

39- Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. Stat Methods Med Res 1999; 8: 135–160.

40- Fawcett T. An introduction to ROC analysis. Pattern Recogn Lett 2006; 27: 861-874.

41- Schenck PA, Chew DJ. Prediction of serum ionized calcium concentration by use of serum total calcium concentration in dogs. Am J Vet Res 2005; 66: 1330-1336.

42- Schenck PA, Chew DJ. Prediction of serum ionized calcium concentration by serum total calcium measurement in cats. Can J Vet Res 2010; 74: 209-213.

43- Leno BM, Martens EM, Felippe MJB, et. al. Short communication: Relationship between methods for measurement of serum electrolytes and the relationship between ionized and total calcium and neutrophil oxidative burst activity in early postpartum dairy cows. J Dairy Sci 2017; 100: 9285-9293.

44- Tarbert DK, Behling-Kelly E, Priest H, Childs-Sanford S. Evaluation of the i-STAT portable clinical analyzer for measurement of ionized calcium and selected blood chemistry values in Asian elephants (*Elephas Maximus*). J Zoo Wildl Med 2017; 48: 319-327.

45- Hanneman SK. Design, analysis, and interpretation of method-comparison studies. AACN Adv Crit Care. 2008; 19: 223-234.

46- Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. Biochem Med (Zagreb). 2015; 25: 141-151.

47- Venjakob PL, Borchardt S, Heuwieser W. Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. J Dairy Sci 2017; 100: 9258-9266.

8. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ ilinde doğdum, ilk, orta ve lise tahsilimi Elazığ'da tamamladım. 2010-2015 yıllarında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde Lisans öğrenimimi tamamladım. 2015 yılında Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım.