

## Neonatal İshalli Buzağlarda İki Farklı Hematokrit Ölçüm Tekniğinin Karşılaştırılması

Hasan ERDOĞAN\*, Mehmet GÜLTEKİN, Serdar PAŞA, Kerem URAL

*Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın/TÜRKİYE*

\*Corresponding author e-mail: hasan.erdogan@adu.edu.tr

### ÖZ

Bu çalışmada veteriner hekimlikte sıklıkla kullanılan hücre sayımı temel prensipli ve amperometrik yöntem ile ölçüm yapan iki farklı hematokrit ölçüm tekniğinin karşılaştırılması amaçlandı. Farklı etiyojileri bulunan her iki cinsiyetten toplam 84 neonatal ishalli buzağı çalışmaya dahil edildi. Hematokrit ölçümleri için buzağlardan lityum heparin içeren kan gazı enjektörlerine ve tüplere kan örnekleri, toplamda 4 ml olacak şekilde alındı. Hematokrit ölçümleri için Abacus Junior Vet 5 kan sayım cihazı ve Irma Truepoint kan gazı analiz cihazından yararlanıldı. Linear regresyon analizi ve pearson korelasyonu sonuçlarına göre hematokrit ölçümlerinden elde edilen verilerin her iki ölçüm tekniği arasında  $r=0.90$  ( $p<0.000$ ) düzeyinde pozitif yönde korelasyona sahip olduğu, ancak iki test tekniğinin ortalama değerleri arasında istatistiksel yönden farklılıkların bulunduğu belirlendi. Passing-bablok regresyon analizinde ise  $y= 0.88x+1.81$  denklemi elde edildi. Çalışma sonuçlarına göre, klinikte yoğun şekilde yapılan hematokrit ölçümlerinin değerlendirilmesinde her iki ölçüm tekniğinden yararlanılabileceği ancak iki ölçüm metodu arasında farklılıkların bulunmasına bağlı olarak hasta hayvanlarda şüpheye düşüldüğü durumlarda klasik santrifüj yöntemine dayalı mikrohematokrit ölçümlerinin yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Buzağı, Hematokrit, İshal, Ölçüm tekniği, Passing-bablok

### Comparison of Two Hematocrite Measurement Methods in Diarrheic Neonatal Calves

#### ABSTRACT

In this study, it was aimed to compare two different hematocrit measurement techniques which are commonly used in veterinary medicine by cell count, and amperometric method. A total of 84 neonatal diarrheic calves from both sexes with different etiologies were included in the study. For hematocrit measurements, blood samples (4 ml) were taken to blood gas injectors and tubes containing lithium heparin from calves. The Abacus Junior Vet 5 whole blood cell counter and Irma True Point blood gas analyzer were used for hematocrit measurements. According to the results of linear regression analysis and Pearson correlation, it was determined that the data obtained from the hematocrit measurements had positive correlations between  $r = 0.90$  ( $p < 0.000$ ) between the two measurement techniques, but statistically significant differences were found between the mean values of the two test techniques. In Passing-bablok analysis  $y = 0.88x + 1.81$  equation was found. According to the results, both measurements can be utilized in assessing hematocrit measurement, but in case of the difference between the two measuring methods, it was concluded that suspected cases should be made based on the conventional measurement microhematocrit centrifugation.

**Keywords:** Calf, Diarrhoea, Hematocrit, Measurement technique, Passing-bablok

## GİRİŞ

Hematokrit değer toplam kan içerisindeki hücresel elemanların hacimsel dağılımlarını ifade etmekte ve paketlenmiş hücre volümü olarak da isimlendirilmektedir. Hematokrit ölçümleri yalnızca hastaların kan volümündeki değişimlerin değerlendirilmesinde değil aynı zamanda laboratuvarların rutin konvansiyonel değerlendirmelerinde kalite kontrol programları içerisinde de değerlendirilen parametreler arasındadır (CLSI 2000, Kathleen 2007). Hematokrit değerlerin belirlenmesi sırasında laboratuvar ortamında yapılabilecek hataların hastaların klinik değerlendirmelerinin ve takiplerinde meydana gelebilecek geri dönüşümsüz sonuçlar doğurabileceğinden ölçümlerin muhakkak güvenilir ve doğru sonuçlar vermesi gerekmektedir (Brian ve Karen 2001, Bull ve ark. 2003). Son yıllarda, gelişen teknoloji ile birlikte hematokrit ölçümlerinin gerçekleştirilmesi için hızlı ve kolay yöntemler geliştirilmiştir. Bu teknikler kısaca 1) Klasik mikrohematokrit ölçümleri 2) tam kan sayımı 3) kan gazı cihazları 4) toplam hemogloblin konsantrasyonları ile hesaplamalardır (Bull ve ark. 2000, Linne ve Ringsrud 1999). Tam kan sayım cihazları ile yapılan ölçümlerin prensibi, eritrosit sayılarının ve büyüklüklerinin hesaplanması temeline dayanırken (Anonim), kan gazı cihazları ise toplam kan içerisindeki iyonların oluşturduğu elektriksel iletkenliğe dayalı olarak gerçekleştirilmektedir (Mock ve ark. 1995). Her iki teknik de tam kan içerisindeki toplam iyon dengesi, total protein konsantrasyonları ve beden ısısı gibi değişimlerden etkilendiği için kullanımlarında yanlış sonuçlar verebilmekte ve belirli sınırlamalara sahip olduğu görülmektedir (Stott ve ark. 1995). Özellikle ishali buzağular göz önüne alındığında ishal etiolojisindeki farklılıklara bağlı olarak vücut sıcaklığı, total protein konsantrasyonları ve iyon dengesinin değiştiği görülmektedir. Veteriner hastanelerin sahip olduğu laboratuvar olanakları da göz önüne alındığında hematokrit ölçümleri için altın standart ölçüm tekniği olan mikrohematokrit ölçümlerinin terk edilmeye başlandığı görülmektedir. Söz konusu çalışmada veteriner sahada hematokrit ölçümlerinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan tam kan sayımı ve amperometrik bir yöntem olan kan gazı analizörlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlandı.

## MATERYAL VE METOT

### Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan hayvanlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ana bilim Dalı büyük hayvan kliniklerine Ağustos 2015

ve Mayıs 2017 yılları arasında farklı etiyojilere bağlı ishal şikâyeti ile getirilen hayvanlardan seçildi. Bu kapsamda her iki cinsiyetten, Holştayn ırkı, toplam 84 ishali buzağıya ait hematokrit ölçüm sonuçlarından yararlanıldı.

### Kan örneklerinin alınması ve Hematokrit ölçümleri

İshal şikâyetine sahip ve farklı derecelerde dehidrasyonu bulunan buzağuların rutin klinik değerlendirmelerinin yapılabilmesi için *V.jugularis*' den toplamda 4 ml olacak şekilde lityum heparin içeren kan gazı enjektörüne (BD, Almanya) ve tüplere (Vacutte, Amerika) kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden tekniğine uygun olarak tam kan sayımı işlemi (Abacus Junior Vet, Macaristan) ve kan gazı analizi (Irma True Point, Amerika) değerlendirmeleri yapıldı.

### İstatistiksel analizler

Her iki ölçüm tekniği kullanılarak elde edilen hematokrit değerlerin normalite testleri yapıldı Kolmogorov-Smirnov analizi sonuçlarına göre değerlendirildi ve dağılımların normal olduğu belirlendi. Her iki tekniğin sonuçları doğrusal regresyon analizi ve Pearson korelasyonuna göre değerlendirildi. Bland altman ve Passing-Bablok plot regresyon testlerinin değerlendirilmesinde XLSTAT (Free Trial Version) paket programından regresyon analizleri için ise SPSS 15.0 paket programından yararlanıldı. Tüm analizler de  $p < 0,05$  değeri istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

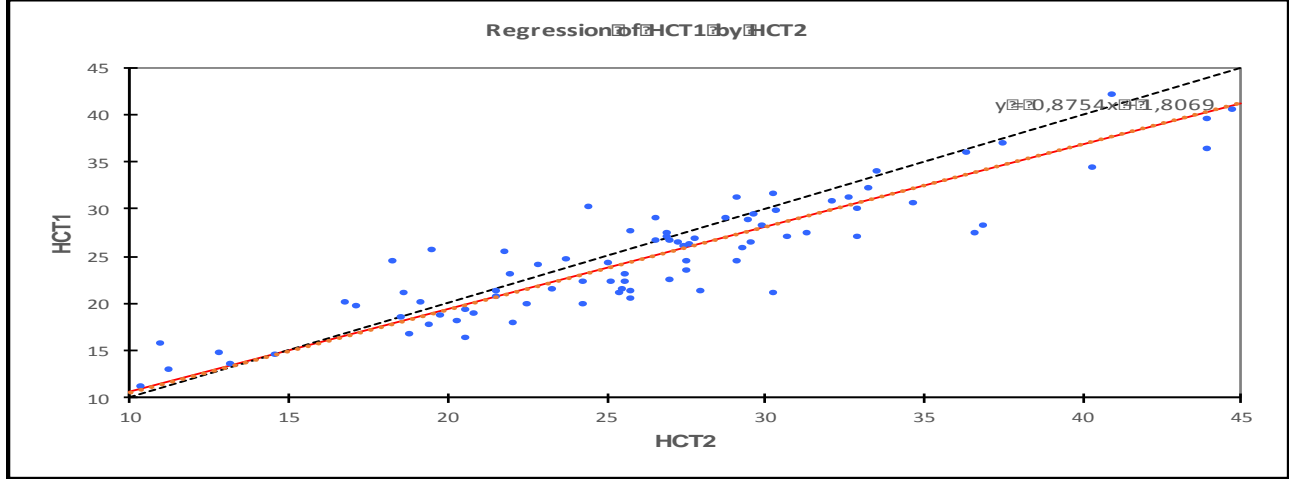
Lineer regresyon analizi ve Pearson korelasyonu sonuçlarına göre her iki ölçüm tekniğinden elde edilen hematokrit sonuçlarının arasında  $r=0.90$  ( $p < 0.000$ ) düzeyinde pozitif yönde anlamlı korelasyon olduğu belirlendi. Kan sayım cihazından (HCT1) ve Kan gazı ölçüm cihazından (HCT2) elde edilen verilerin ortalamaları karşılaştırıldığında her iki ölçüm tekniği arasındaki grup ortalamalarının ( $24,8 \pm 0,70 - 26,3 \pm 0,8$ ) birbirinden istatistiksel anlamlı farklı olduğu tespit edildi. Passing-bablok analizi sonuçlarında  $y=0.88x+1.81$  denklemi elde edildi (Şekil 1,2).

## TARTIŞMA

İnsan hekimliği ve veteriner hekimliği alanında hematokrit ölçümlerinin değerlendirilmesi hastanın anemi durumunu, dehidrasyon derecesini, kan kayıplarını ya da diğer laboratuvar parametrelerinin değerlendirilmelerinde özellikle de hasta başı hızlı testlerin güvenilirliklerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan yöntemler arasındadır (McMahon ve ark. 1990, Kronenberg ve ark. 1998,

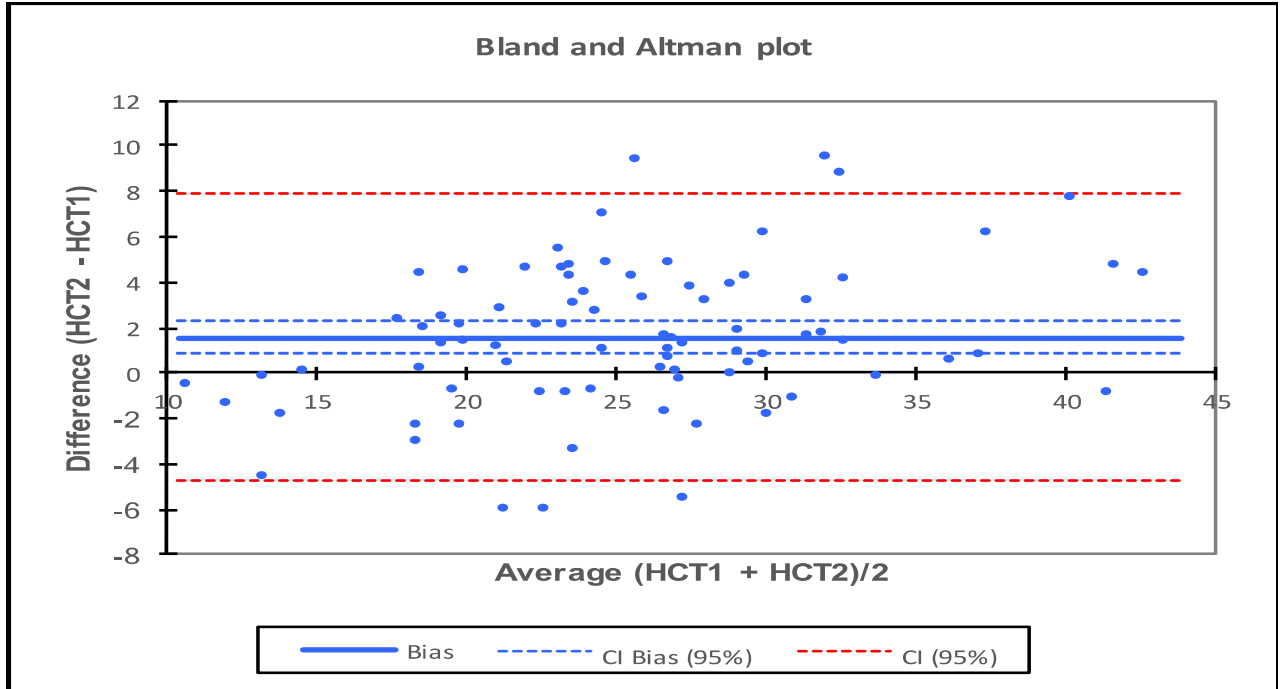
Rao ve ark. 2005). Hematokrit ölçümleri arasında mikrohematokrit ölçümleri halen altın standart metot olarak belirtilmekte ve diğer ölçüm tekniklerinin karşılaştırılmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Gebretsadkan ve ark. 2015). Bunun yanında hasta başı ölçüm tekniklerinin de

karşılaştırıldığı araştırmalar da bulunmaktadır (Peiro ve ark. 2010). Söz konusu çalışmada ise ishali buzağuların rutin klinik değerlendirmelerinde sıklıkla kullanılan tam kan sayımı ve kan gazı analizinden elde edilen hematokrit ölçümleri karşılaştırılmıştır.



**Şekil 1.** Buzağılardan elde edilen kan örneklerinin tam kan ve kan gazı analiz HCT ölçümlerinin Passing-Bablok plot regresyon analizi. HCT1: Kan sayım cihazı sonuçları, HCT2: Kan gazı analizatörü sonuçları

**Figure 1.** Comparison between cell counter and blood gas analyzer methods for measurement of HCT in blood samples from calves. Passing-Bablok plot regression test. HCT1: Cell counter results, HCT2: Blood gas analyser results.



**Şekil 2.** Buzağılardan elde edilen kan örneklerinin tam kan ve kan gazı analiz HCT ölçümlerinin Bland and Altman difference plot analizi. HCT1: Kan sayım cihazı sonuçları, HCT2: Kan gazı analizatörü sonuçları

**Figure 2.** Comparison between cell counter and blood gas analyzer methods for measurement of HCT in blood samples from calves. Bland and Altman difference plot. HCT1: Cell counter results, HCT2: Blood gas analyser results.

Neonatal buzağlarda ishal sonucu gelişen dehidrasyona bağlı HCT değeri ile HGB, serum TP ve albümin konsantrasyonlarında artışla laboratuvar olarak ortaya konulmaktadır. Söz konusu parametrelerdeki bu artışlar ve düzeyleri ishali şiddeti ve süresi ile yakından ilişkilidir (Slanina 1988, Hartmann ve Reder 1995, Constable ve ark 1998). İshalli buzağlarda özellikle dehidrasyona bağlı olarak gelişen bu değişimler göz önüne alındığında hematokrit ölçüm tekniklerinin birbiri ile uyumlu olması ve güvenilir sonuçlar vermesi gerektiği görülmektedir. Çalışmamızda tam kan sayımı ve kan gazı analizörü sonuçlarına göre her iki ölçüm tekniğinden elde edilen bulguların  $r=0,90$  düzeyinde pozitif yönde anlamlı bir korelasyonunun bulunduğu ancak değerlerin ortalamalarının istatistiksel anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlendi. Köpek ve kedi kanlarının hematokrit ölçümlerinin manuel ve otomatik cihazlar ile karşılaştırılmasında otomatik cihaz ile elde edilen sonuçların doğruluğunun ve güvenilirliğinin yeteri derece olmadığı bildirilmektedir (Prihirunkit ve ark. 2008). Kan transfüzyonu uygulanan hastalarda ise infüzyon sonrası değerlendirmelerin yapılması amacı ile de hematokrit ölçümlerinden yararlanılmaktadır. Bu kapsamda transfüzyon işlemi uygulanan insanlardan alınan kan örnekleri klasik metot ve elektriksel iletim değişimleri bazlı hematokrit ölçümleri ile değerlendirilmiş ve sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ancak hastaların kristalloid sıvıları alanlarda ve plazma iyon dengesizlikleri bulunanlarda sonuçların klasik metoda göre farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir (McMahon ve ark. 1990).

Stott ve ark. (1995), kan gazları cihazı, tam kan sayım cihazı ve klasik mikrohmatokrit ölçümlerini insan hastalarda karşılaştırmış ve konduktivite bazlı ölçüm tekniklerinin elektrolit ve protein kompozisyonu sağlıklı insanlarda güvenilir sonuçlar verdiğini göstermiştir. Tam kan sayım cihazının hematokrit ölçümlerinin klasik metot ölçümleri ile yapılan başka bir karşılaştırma araştırmasında ise klasik metot ölçümlerinin birbirine yakın sonuçlar verdiğini ve aralarında yüksek düzeyde pozitif yönlü korelasyon bulunmasına rağmen bu değerlerin klasik metodun yerini alabilecek ölçüde olmadığı tespit edilmiştir (Gebretsadkan ve ark. 2015).

Çalışmamızda elde edilen sonuçlarında beşeride yapılan diğer araştırmalar (McMahon ve Carpenter 1990, Peiró ve ark. 2010, Gebretsadkan ve ark. 2015) ile uyumlu sonuçların bulunduğu belirlendi. İshalli buzağlarda serum total protein konsantrasyonları ve hematokrit değeri üzerinden hemokonsantrasyona bağlı beklenen değişimlerin hesaplanması ile dehidrasyon derecesi ortaya konulabilmektedir (Şen ve Constable 2013).

Genellikle artış yönünde şekillenen bu değişimlerin protein katabolizmasına ve bağırsak lümenine sızıntı sebebi ile azalma eğiliminde de olabileceği bildirilmektedir (El-sheikh ve ark 2012). Neonatal ishalli buzağlarda dehidrasyon ve metabolik asidozis yanında elektrolit anormallikleri şekillendiği bir çok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (El-sheikh ve ark 2012, Smith ve Berchtold 2014). Çalışmamızda kan gazı analizatörü ile gerçekleştirilen ölçümlerin (HCT2) araştırmada kullanılan buzağlarda meydana gelebilecek olası total protein ve elektrolit seviyelerindeki değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle iki ölçüm tekniği arasında bulunan yüksek korelasyona rağmen ortalama değerler arasında anlamlı farklılıkların bulunması kan gazı prensibi temelinde yapılan ölçümlerde hatalı sonuçların alınmasına sebebiyet verebileceği belirlendi. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) kullanımına bağlı olarak plazma osmotik basıncında artışlar olabileceği ve bu durumda eritrositlerin büzülmesine neden olarak HCT ölçümlerinde hatalı sonuçlar şekillendirebileceği bildirilmektedir (Dubin ve ark. 1976). Farklı bir araştırmada ise EDTA kullanımının HCT değeri üzerine olumsuz etkisinin bulunmadığı bildirilmektedir (Bamberg ve ark. 2008). Bununla birlikte heparinin benzer etkisinin yalnızca trombositler üzerine göstermesi sebebi ile hematokrit konsantrasyonlarını etkilemediği ve söz konusu ölçümler için kullanılabilir antikoagülanlar arasında yer aldığı bildirilmektedir (Pennock ve Jones 1966, Dubin ve ark. 1976). Çalışmamızda tam kan sayımı ve kan gazı ölçümlerinde kullanılan tüp ve enjektörlerde antikoagülan ajan olarak heparin kullanılmış ve ölçümlerin antikoagülan ajandan etkilenme derecesinin minimize edilmesi sağlanmıştır. Söz konusu cihazlar yardımı ile yapılan hematokrit ölçümlerinin doğruluğunun ve güvenilirliğinin yüksek olması hematokrit değeri baz alınarak her iki cihaz içerisinde de hesaplamaya dayalı değerlerde de değişimler gerçekleştirilebilmektedir (Kronenberg ve ark. 1998, Lokinendi ve ark. 2005).

Sonuç olarak araştırma kapsamında kullanılan her iki hematokrit ölçüm tekniğinin birbirine pozitif yönde yüksek korelasyon gösterdiği ve kullanılabilir olduğu tespit edildi. Kan gazı ölçümlerinin HCT değeri ortalamasının, kan sayım cihazına göre daha yüksek olduğu ve sağlıklı hayvanlara yakın değerler gösterebileceği belirlendi. Bu bağlamda rutin klinik değerlendirmeler esnasında şüpheli vakaların klasik mikrohmatokrit ölçümlerinden yararlanılarak değerlendirmeye alınmasının daha uygun olabileceği kanısına varıldı.

## KAYNAKLAR

- Anonim.** <http://www.beckman.com/products/instrument/partchar/technology/coulterprinciple.asp>. Erişim tarihi: 30.10.2017.
- Bamberg R, Gwyn T, Miller J, Thompson M, Transou P.** The effects of over-anticoagulated blood on hematocrit values by the microcentrifuge method. *Clin Lab Sci*, 2008; 21(3), 146.
- Brian SB, Karen LH.** Is the Packed Cell Volume (PCV) Reliable? *Lab Hematol*. 2001; 7: 191-196.
- Bull BS, Fujimoto K, Houwen B, Klee G, van Hove L, Van Assendelft OW, Lewis SM.** International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for "Surrogate Reference" Method for the Packed Cell Volume. *Lab Hematol*. 2003; 9: 1-9.
- Bull BS, Koepke JA, Simson E.** Procedure for Determining Packed Cell Volume by the Hematocrit Method. 3<sup>th</sup> Ed., . NCCLS publication H7-A3. Wayne, Pennsylvania, NCCLS, 2000.
- CLSI.** Procedure for Determining Packed Cell Volume by the Microhematocrit Method; Approved Standard. 3<sup>rd</sup> Ed., Wayne, Pennsylvania, USA, 2000.
- Constable PD, Walker PG, Morn DE, Foreman JH.** Clinical and Laboratory Assessment of Hydration Status of Neonatal Calves with Diarrhea. *J Am Vet Med Assoc*. 1998; 212: 991-996.
- Dubin S, Piszczek J, Beard R, Schmukler R.** Effects of anticoagulants on packed cell volume measurement. *Lab Anim Sci*. 1976; 26: 586-591.
- El-sheikh AKR, Hayam M, Morsy S, Tarek H, Abbas A, Wafaa M.** Clinical and laboratory examinations of diarrhea and dehydration in newborn Friesian calves with special reference to therapy with hypertonic and isotonic solution. *Life Sci J* 2012; 9(4)
- Gebretsadkan TK, Ambachew G, Birhaneselassie H.** The Comparison Between Microhematocrit and Automated Methods for Hematocrit Determination. *Int J Blood Res Disord*. 2015; 2(1): 1-3.
- Hartmann H, Reder S.** Effect of Dehydration on Functional Indicators of Fluid Metabolism in Calves and the Efficacy of Rehydration with Crystalline or Colloidal Saline Infusions. *Tierarztl Prax*. 1995; 23: 342-350.
- Kathleen K.** The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) and the Physician's Office Laboratory. *Continuing Medical Education*. 2007.
- Kronenberg F, Trenkwalder E, Kronenberg MF, König P, Utermann G, Dieplinger H.** Influence of Hematocrit on the Measurement of Lipoproteins Demonstrated by the Example of Lipoprotein. *Kidney Int*. 1998; 54(4): 1385-1389.
- Linné JJ, Ringsrud KM.** Principles and Practice of Clinical Hematology, In: *Clinical Laboratory Science, the Basics and Routine Techniques*, Ed; Turgeon ML, 4<sup>th</sup> Ed., St. Louis, Missouri, Mosby, 1999; pp. 279-295.
- McMahon DJ, Carpenter RL.** A Comparison of Conductivity-based Hematocrit Determinations with conventional Laboratory Methods in Autologous Blood Transfusions. *Anesth Analg*. 1990; 71(5): 541-544.
- Mock T, Morrison D, Yatscoff R.** Evaluation of the i-STAT<sup>TM</sup> System: A Portable Chemistry Analyzer for the Measurement of Sodium, Potassium, Chloride, Urea, Glucose, and Hematocrit. *Clin Biochem*. 1995; 28(2): 187-192.
- Peiró JR, Borges AS, Gonçalves RC, Mendes L.** 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(5): 515-521.
- Pennock C, Jones K.** Effect of ethylene-diamine-tetra-acetic (dipotassium salt) and heparin on the estimation of packed cell volume. *J Clin Pathol*. 1966; 19: 196-199.
- Prihirunkit K, Lekcharoensuk C, Pisetspaian K.** Comparison between manual and automated methods for determination of canine and feline hematocrit and hemoglobin concentration. *Kasetsart Journal (Natural Science)*. 2008; 42(4): 655-659.
- Rao LV, Jakubiak F, Sidwell JS, Winkelman JW, Snyder ML.** Accuracy evaluation of a new glucometer with automated hematocrit measurement and correction. *Clin Chim Acta*. 2005; 356(1): 178-183.
- Slanina L.** Stoffwechselüberwachung in Kaelbernbestaende, In: *Innere Krankheiten der Haustiere*, Ed; Rossow N, Horvath Z, Bd II: Funktionelle Störungen, G. Fischer, 1998; pp. 536-544.

- Smith GW, Berchtold J.** Fluid Therapy in Calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2014;30(2):409-427
- Stott RAW, Hortin GL, Wilhite TR, Miller SB, Smith CH, Landt M.** Analytical Artifacts in Hematocrit Measurements by Whole-blood Chemistry Analyzers. Clin Chem. 1995; 41(2): 306-311.
- Şen İ, Constable PD.** General overview to treatment of strong ion (metabolic) acidosis in neonatal calves with diarrhea. Eurasian J Vet Sci, 2013; 29(3): 114-120.