

Utvärdering av en snabbtest för diagnostisering av hypokalcemi hos nötkreatur

Bo Lundgren

Handledare: Camilla Björkman
Inst. för kliniska vetenskaper.
Avd. idisslarmedicin och epidemiologi

ABSTRACT

Clinical signs of hypocalcaemia in dairy cows are easily recognized, and a rapid response to treatment generally confirms the diagnosis in the field. However, clinical signs of other disorders in cows, such as toxemia, calving paralysis, or musculoskeletal injury, may mimic those associated with hypocalcaemia. Therefore, making a diagnosis of hypocalcaemia on the basis of clinical signs alone may be difficult. In ambulatory veterinary practices, cow-side tests are useful to make the diagnosis and prognosis easier.

Kruuse's Kalcium Test is a cow-side test based on the principle that calcium ions are necessary for coagulation of blood, and that chelation with EDTA prevent coagulation. It consists of a test tube prepared with EDTA and thrombin to which 10 ml blood is added. According to the manufacturer's instructions, the test result shall be evaluated after 5 minutes. Serum calcium concentration is estimated to be greater than or less than, 1,75 mmol/l. The aim of this study was to evaluate the accuracy of Kruuse's Kalcium Test, in its ability to identify hypocalcaemic cows. Two different cut-off values (1,75 and 2,1 mmol/l) of the reference test were used to show the clinical usefulness for the cow-side test.

Blood were collected from 42 dairy cows, of which 11 had clinical signs of hypocalcaemia, 5 suffered from other diseases and 26 were clinically healthy. Ten ml was used directly to perform the kalcitest. The rest was kept for later serum-Ca analysis. Initially the cow-side test was evaluated after five minutes. When 21 samples were analysed, the preliminary results indicated a high proportion of false positive test results. Therefore the remaining samples (n=21) of the tests were evaluated at 5, 6, 7, 8, 9, and 10 minutes. The test results were compared with serum calcium concentration. Sensitivity, specificity, and predictive values of positive and negative test results were calculated on the basis of Kruuse's Kalcium test results and two different serum calcium levels (1,75 and 2,1 mmol/l).

When the time for evaluating the cow-side test was prolonged from 5 to 10 minutes, the specificity increased from 18 % to 100 % and the sensitivity decreased from 100 % to 80 %. In Sweden, a cow is often considered to be hypocalcaemic if the serum calcium value is lower than 2,1 mmol/l. The specificity was 100 % and the sensitivity was 62 % after ten minutes using this cut-off value.

Innehåll

| | |
|--------------------------------|----|
| Inledning | 7 |
| Hypokalcemi | 7 |
| Diagnostisering | 8 |
| Snabbtest | 10 |
| Jämförande av tester | 10 |
| Syfte | 12 |
| Material och metoder | 13 |
| Djurgrupper | 13 |
| Provtagning | 13 |
| Analysmetoder | 13 |
| Kalcitest | 13 |
| Analys av serumkoncentrationen | 14 |
| Resultat | 14 |
| Diskussion | 16 |
| Tack till... | 17 |
| Litteraturförteckning | 18 |
| Bilaga 1 | 20 |
| Bilaga 2 | 21 |
| Bilaga 3 | 22 |

Inledning

Hypokalcemi

Hypokalcemi är en metabolisk sjukdom som drabbar nötkreatur när de homeostatiska mekanismerna inte klarar av att vidmakthålla kalciumnivån i blodet. Hos mjölkkor kan hypokalcemi uppkomma i alla stadier av laktationen. De flesta fallen uppstår dock inom 48 timmar efter partus, men det är en ökad risk upp till 10 dagar efter kalvning (Andrews et al, 2004). Kalvningsförlamning (puerperal pares orsakad av hypokalcemi) är en av de vanligaste metaboliska sjukdomarna hos mjölkkor som inrapporteras till Svensk mjölks kokontroll. Under kontrollåret 2002/2003 så rapporterades det in en sjukdomsfrekvens på 3,6 % per 100 avslutade/avbrutna laktationer från deras ko-kontrollanslutna besättningar (Svensk Mjolk, 2003). Motsvarande siffra för vanliga differentialdiagnoser såsom förlamningar/kramper och hypomagnesi ligger idag på 1 % (personligt meddelande Ann Lindberg, Svensk Mjolk, 2004).

Kliniska symtom vid hypokalcemi är ofta progressiva. Djuren förlorar ofta aptiten, verkar trötta samt kan få en lindrig temperatursänkning. Detta utvecklas till en muskelsvaghet och korna blir ostadiga. De får nedsatt våmmotorik och träckavgång. Hjärtsvikt kan uppstå med kollapsade vener, en svag puls och tachykardi. Mulen blir torr samt att djuret blir kallt perifert. Till slut kan det leda till förlamning och dödsfall (Radostits et al, 2000). Om kon vid kalciumbehandling svarar med muskelryckningar, får ”svettpärlor” på mulen, träcken avgår och djuret återfår förmågan att resa sig upp kan man anta att hypokalcemi förelåg. Kliniska symtom vid andra metaboliska sjukdomstillstånd såsom hypofosfatemi, hypomagnesi eller olika toxemier, men även traumatiska nerv- eller skelettskador i pelvis eller bakbenen kan likna de symtom man ser vid hypokalcemi (Radostits et al, 2000). Det kan därför vara svårt att ställa diagnosen hypokalcemi på enbart kliniska symtom samt hos de kor som ej svarar på en inledande kalciumbehandling.

Många kor är hypokalcemiska under den tidiga postpartumperioden men har enbart subkliniska symtom. Oavsett om hypokalcemiska kor uppvisar symtom eller inte så har de en 4,8 gångers högre risk att

utveckla vänstersidig löpmagsförskjutning jämfört med normokalcemiska kor (Massey et al, 1993). I Sverige anses vanligen att kor är hypokalcemiska vid värden lägre än 2,0-2,1 mmol/l, och att de är i behov av kalkinfusion om det samtidigt finns kliniska symtom. Med detta som bakgrund så torde det finnas ett stort behov för ambulering veterinärer att snabbt och säkert kunna fastställa om hypokalcemi föreligger eller inte med hjälp av ett snabbtest.

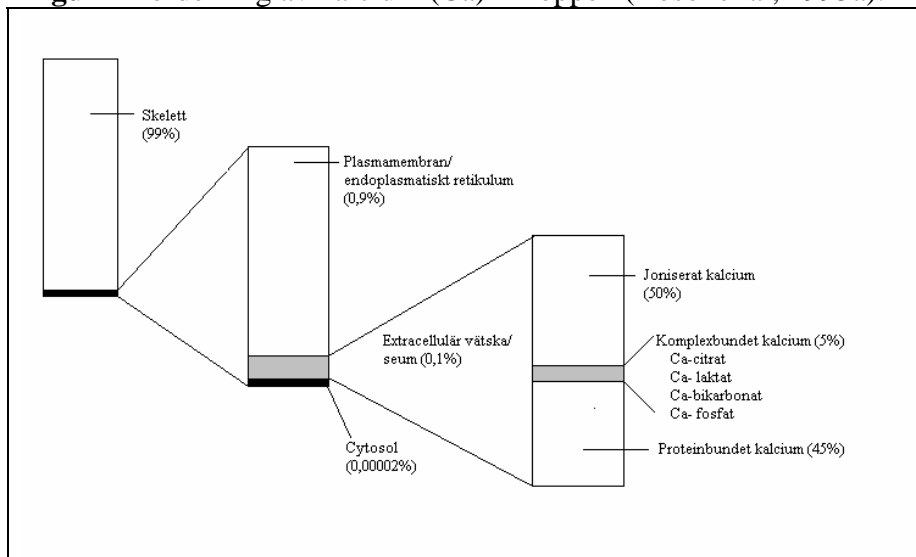
Diagnostisering

Diagnosen hypokalcemi ställs ofta baserat på de kliniska fynden samt när sjukdomssymtomen uppträtt i förhållande till när kon kalvade. För att bekräfta diagnosen kan man använda sig av blodkemiska analyser. En nackdel med dessa är att man får inte svar direkt, kanske inte ens inom det närmaste dygnet ifall provet måste skickas till ett laboratorium.

Större delen av kroppens kalcium (99 %) finns bundet som kalciumsalter i skelettet och 0,9% finns i plasmamembran och i cellernas endoplasmatiske reticulum. Den extracellulära vätskan innehåller 0,1 % av kroppens totala kalciummängd (Rosol et al. 1995, se även figur 1). Kalciumkoncentrationen i den extracellulära vätskan är cirka 2,1-2,6 mmol/l (Kaneko et al 1997, Andrews et al 2004). Uppskattningsvis är 50 % av detta extracellulära kalcium fria kalciumjoner (Ca^{2+} ; joniserat kalcium), vilket är den biologiskt aktiva formen av kalcium. De fria kalciumjonerna befinner sig i jämvikt med kalciumjoner i komplex- och proteinbunden form. Komplexbildning sker främst med citrat-, fosfat och sulfat joner samt lipider (Nilsson-Ehle, 2003).

Man kan mäta kalciumkoncentration i blod på två sätt, totalkalcium i serum samt joniserat kalcium. Joniserat kalcium (Ca^{2+}) i blod eller plasma mäts med instrument som har Ca^{2+} -jon selektiva elektroder. Det är mest informativt att mäta joniserat kalcium på grund av dess biologiska aktivitet, men i de flesta fall så sker det parallella förändringar samtidigt med både totalt serum-Ca och joniserat kalcium (Kaneko et al, 1997).

Figur 1 Fördelning av kalcium (Ca) i kroppen (Rosol et al, 1995a).



Totalkalcium kan mätas direkt i serum eller hepariniserad plasma med hjälp av absorptionsspektrofotometri eller olika kolorimetriska metoder. Hos nötkreatur finns det en signifikant positivt linjärt samband mellan halterna av kalcium och albumin i serum (Bienzle et al, 1993). Vid misstanke om hypoalbumini eller njurinsufficiens är det därför bättre att mäta joniserat kalcium (Nilsson-Ehle, 2003). De flesta diagnostiska analysmetoderna mäter dock den totala kalciummängden.

Faktorer som kan påverka testresultaten så att man underskattar serum- och blodkalciumvärdet, är att en liggande ko kan ha 0,05-0,07 mmol/l lägre kalciumnivå. Förhöjd hematokrit och sänkt Mg värde ger också en underskattning av kalciumvärdet. Överskattning av testresultaten kan ske vid sänkt hematokrit och förhöjda Mg-nivåer. Om blodprovet tas med hjälp av stas kan det orsaka en förhöjning på 0,05-0,07 mmol/l. Kalciumkontamination av kanyler och rör vid provtagning ger falskt höga värden. Bristande precision vid påfyllandet av teströret kan leda till både över- och underskattning av blodkalciumvärdet.

Snabbtest

Mayer et al beskrev 1965 en metod som kan användas för att i fält testa om hypokalcemi föreligger. Metoden innebär att man tillsätter EDTA till ett blodprov, och baseras på det faktum att EDTA komplexbinder kalcium. När koncentrationen av fria Ca^{2+} -joner i blodet är högre än mängden tillsatt EDTA så koagulerar blodet (Mayer et al. 1965). Denna metod hade dock en stor nackdel i att man fick observationstider på flera timmar. Den modifierades senare av Sandholm och medarbetare genom att man först lät allt kalcium i blodet komplexbinda med ett överskott av EDTA, därefter återtitrerades överskottet med en bestämd mängd av tillsatta Ca^{2+} -joner. Koagulationen påskyndades med hjälp av ett tromboplastintillskott så att en avläsning kunde ske redan efter fem minuter (Sandholm et al, 1970). Metoden vidareutvecklades i sin tur genom att både Ca^{2+} -joner och tromboplastin placerades i teströrets lock och därigenom kunde analysen ske i ett och samma teströr (Pehrson et al, 1988).

Idag marknadsför Kruuse (Kruuse Svenska AB, Solna) ett kalciumtest som sker enligt Linharts metod. Teströret innehåller Na_2 -EDTA samt en tablett thrombin. Principen sker enligt ovan att EDTA binder till joniserat kalcium i blodet och att thrombinet påskyndar koaguleringen. Den mängd Na_2 -EDTA som är tillsatt är beräknat att komplexbinda med 0,466 mg kalcium. Det motsvarar den beräknade mängden av joniserat kalcium i 10 ml helblod, vid en koncentration av 1,75 mmol/l och en hematokrit av 33,5 volym % (normalvärde:28-42). Snabbtestets resultat är semikvantitativt istället för absolut.

När detta test på prov användes vid IME's undervisningsklinik, SLU, fann man dock att ett flertal snabbtestresultat visade på hypokalcemi hos kliniskt friska undervisningskor. Därför initierades denna studie.

Jämförande av tester

För att korrekt kunna tolka ett testresultat måste man känna till testens tillförlitlighet (Smith, 1995). Det bästa måttet på

tillförlitligheten får man genom att jämföra testresultaten med en ”gold standard”, dvs en metod som med 100 % säkerhet påvisar om sjukdom föreligger eller inte. En sådan gold standard ger en bas till bestämmandet av värdet hos ett diagnostiskt test, behandlingsstrategier eller prognos (Smith, 1995).

I många fall har man dock inte tillgång till en ”gold standard” utan man får förlita sig på andra referenstester. I denna undersökning vi använt serumkalciumvärdet uppmätt med en torrkemisk metod som referenstest. Metoden har i andra studier bedömts vara ett tillförlitligt sätt för att bestämma graden av kalcium i serum (Gustavsson och Kallner, 1991).

”Test accuracy” är proportionen av alla provsvar, både positiva och negativa, som är korrekta och är ett mått för den totala tillförlitligheten hos ett test. Dess nackdel är att värdet bara gäller för den population som används i utvärderingen (Smith 1995). Ett alternativt sätt att ange hur väl ett test fungerar är att uttrycka det i form av sensitivitet och specificitet (se faktaruta).

Ett test med hög sensitivitet är oftast positivt när sjukdom föreligger. En sådan test är att föredra när det är viktigt att identifiera ett sjukt djur. Den har även fördelar som ”screening test”, när många olika sjukdomar kan vara tänkbara. Ett test med hög specificitet har en låg andel positiva resultat när djuren ej är sjuka. Tester med hög specificitet är användbara för att bekräfta en diagnos som man misstänker på grund av andra fynd/symtom. De är speciellt användbara när en falskt positiv diagnos kan resultera i fysiska, känslomässiga eller ekonomiska belastningar för patienten eller djurägaren. Genom att kunna ställa en korrekt diagnos så behöver man ej behandla kor som är normokalcemiska med en kalkinfusion, därmed minskar man risken för hjärtarytmier (Kvart, 1989) och eventuella dödsfall. Detta ger att ett sensitivt test mest användbart för klinikern när testresultatet är negativt och specifika tester är mest användbara när testresultaten är positiva (Smith, 1995).

Även om ett tests sensitivitet och specificitet är viktiga egenskaper så är dess prediktionsvärde, det vill säga sannolikheten att ett testresultat visar den sanna sjukdomsstatusen hos ett djur, av större intresse för en klinisk veterinär. Positivt prediktionsvärde är sannolikheten att djuret är sjukt när testsvaret är positivt. Negativt

prediktionsvärde är sannolikheten att ett djur som gett ett negativt testsvar är friskt (se faktaruta). Medan sensitivitet och specificitet är absoluta egenskaper hos ett test och inte ändras för ett visst givet "cut-off"-värde, så varierar prediktionsvärdet med sjukdomsprevalensen i den testade populationen. Om sjukdomsprevalensen ökar så höjs även det positiva prediktionsvärdet för testen, medan det negativa prediktionsvärdet sjunker. Det prediktiva värdet kan förbättras genom att man väljer mer sensitiva eller specifika tester. Ett test med högre sensitivitet förbättrar det negativa prediktionsvärdet, det vill säga det ger färre falskt negativa provsvar. Ökad specificitet förbättrar det positiva prediktionsvärdet, det vill säga färre falskt positiva provsvar (Smith, 1995).

Faktaruta

Mått på ett tests tillförlitlighet

Sensitivitet: Hur stor andel av de sjuka djuren som testen identifierar.

Specificitet: Hur stor andel av de friska djuren som testen friar.

Prediktionsvärde: Beror på sjukdomsprevalens, i den undersökta populationen samt testens sensitivitet och specificitet.

Positivt utfall: Hur stor andel av alla positiva test där djuren har sjukdom.

Negativt utfall: Hur stor andel av alla negativa test där djuren är friska.

Syfte

Denna undersökning genomfördes med avsikt att fastställa tillförlitligheten hos Kruuse's kalcium test vad avser att identifiera kor med hypokalcemi. Två olika "cut-off"-värden (1,75 och 2,1 mmol/l) för serumkalcium-värdet användes för att bedöma snabbtestets kliniska användbarhet.

Material och metoder

Djurgrupper

I studien ingick totalt 42 nötkreatur som alla var tre år eller äldre. De klassades in i tre olika grupper; kor med kliniskt diagnostiserad puerperal pares (n=11), kor med annan klinisk sjukdom (n=5) samt kliniskt friska kor (n=26). Kor med puerperal pares diagnostiserades och behandlades inom Roma distriktsveterinärsområde på norra Gotland. Djuren med annan klinisk sjukdom var patienter vid IME's undervisningsklinik. De kliniskt friska djuren var undervisningskor på IME, samt djur på Kungsängens forskningscentrum, SLU.

Provtagning

Blodprov togs från jugularvenen. För att undvika skumbildning och därmed ökad risk för hemolys så användes en 20 ml spruta för att samla upp blod. Hos kor med klinisk pares togs blod via kalkkanylen innan behandling sattes in. Tio ml blod överfördes till snabbteströret och återstående mängd samlades i ett serumrör. Serumröret förvarades i rumstemperatur och centrifugerades inom åtta timmar. Serumet frystes och sparades vid -20° C för vidare analys.

Analysmetoder

Kalcitest

Teströret fylldes med 10 ml helblod (upp till nivåmarkeringen). Det vändes därefter med lugna rörelser fram och tillbaka 20 gånger, varefter det ställdes undan för att avläsas efter fem minuter. Vid avläsning bedömdes graden av koagulation. Enligt Kruuse's bruksanvisning så koagulerar provet, fortsättningsvis kallat ett negativt testsvar, när blodkalciumkoncentrationen överstiger 1,75 mmol/l. Om provet inte koagulerar, hädanefter kallat ett positivt testsvar, är blodkalciumkoncentrationen lägre än 1,75 mmol/l.

Partiell koagulation betyder att blodkalcium koncentrationen ligger omkring 1,75 mmol/l.

Snabbtesten utfördes till en början enligt Kruuse's bruksanvisning. När 21 prover var utförda på kliniskt friska kor samt på kor med annan klinisk sjukdom än hypokalcemi så visade preliminära resultat på en stor andel falskt positiva provsvar. Dessutom sågs att ett flertal av proverna hade koagulerat ett par minuter senare. Studien modifierades då så att proverna (n=21) i fortsättningen avlästes efter 5, 6, 7, 8, 9 samt 10 minuter för att se om koagulation hade skett eller inte. Temperaturen varierade mellan 15 och 25 °C när dessa tester utfördes .

Analys av serumkalciumkoncentrationen

Kalciumhalten i serum analyserades med Kodak Ektachem DT60 (numera Vitros DT60; Medinor, Lidingö). Analysen är baserad på en reaktion mellan kalcium och en indikator som tillsammans bildar ett färgat komplex. Densiteten av det färgade komplexet är relaterat till kalciumkoncentrationen i provet och mäts med reflekterande spektrofotometri. Kodak Ektachems analys område är 0,75-3,49 mmol/l, <http://www.orthoclinical.com/Products.aspx?id=4> (hämtat den 8 december 2004). Normalvärde för nötkreatur är med denna metod 2,10-2,54 mmol/l (Veterinary Reference Guide, 1993)

Resultat

Av totalt 42 undersökta blodprover så gav 37 stycken (88 %) ett positivt kalcitestsvar (dvs de hade ej koagulerat) efter fem minuter. Serumkalciumnivåerna i dessa 37 prover varierade mellan <0,75-2,8 mmol/l. Tolv av dem hade serumkalciumnivåer \leq 1,75 mmol/l medan nivåerna i 18 stycken var under 2,1 mmol/l enligt Kodak Ektachem DT60 (figur 2, se även bilaga 1). Beroende på vilket serumkalciumvärde som används (1,75 eller 2,1 mmol/l) för att skilja mellan hypo- och normokalcemiska kor (cut-off värde) så får man olika sensitivitet och specifitet för Kruuses kalciumtest. Ett cut-off-värde på 1,75 mmol/l efter 5 minuters avläsning ger en sensitivitet på

1 och en specificitet på endast 0.18. Motsvarande resultat för ett cut-off-värde på 2,1 mmol/l blir 1 respektive 0,25 (tabell 1).

Figur 2. Överensstämmelse mellan Kalcitest avläst efter 5 minuter och kalciumkoncentration i serum. Positiv Kalcitest = ingen koagulation. N = 42 kor.

| | | Kalcitest | |
|--------------|--------------|-----------|---------|
| | | positiv | negativ |
| Serumcalcium | ≤1,75 mmol/l | 12 | 0 |
| | >1,75 mmol/l | 25 | 5 |

| | | Kalcitest | |
|--------------|-------------|-----------|---------|
| | | positiv | negativ |
| Serumcalcium | ≤2,1 mmol/l | 18 | 0 |
| | >2,1 mmol/l | 19 | 5 |

Tjugoen kalcitester som genomfördes under senare delen av studien avlästes under en längre tid. Åtta stycken (38 %) gav ett positivt testsvar efter 10 minuter. Serumkalciumnivåerna hos dessa var alla lägre än 1,23 mmol/l (figur 3A, se även bilaga 2). Hos två prover var testresultatet negativt (koagulerat) efter 10 minuter trots att serum-Ca var ≤1,75 mmol/l, men deras värden var 1,68 respektive 1,69 mmol/L vilket är inom 4 % spridningsintervall. Detta ger en sensitivitet på 0,8 samt en specificitet på 1 vid 1,75 mmol/l serumkalciumnivå. Motsvarande värden vid ett "cut-off" värde på 2,1 mmol/l är; 0,62 respektive 1 (tabell 1).

Figur 3. Överensstämmelse mellan Kalcitest avläst efter 10 minuter och kalciumkoncentration i serum. Positiv Kalcitest = ingen koagulation. N = 21 kor.

| | | Kalcitest | |
|--------------|--------------|-----------|---------|
| | | positiv | negativ |
| Serumcalcium | ≤1,75 mmol/l | 8 | 2 |
| | >1,75 mmol/l | 0 | 11 |

| | | Kalcitest | |
|--------------|-------------|-----------|---------|
| | | positiv | negativ |
| Serumcalcium | ≤2,1 mmol/l | 8 | 5 |
| | >2,1 mmol/l | 0 | 8 |

Tabell 1. Sensitivitet, specificitet, positivt (PPV) och negativt prediktionsvärde (NPV) för Kruuses Kalciumtest vid avläsning efter 5-10 minuter i jämförelse med kalciumkoncentration i serum (cut-off-värden 1,75 respektive 2,1 mmol/l). Blodprover från 21 kor analyserades.

| Cut off serum-Ca värde | | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|------------------------|--------------|------|------|------|------|------|------|
| | | min | min | min | min | min | min |
| 1,75 mmol/l | Sensitivitet | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,8 | 0,8 |
| | Specificitet | 0,18 | 0,18 | 0,36 | 0,82 | 1 | 1 |
| | PPV | 0,32 | 0,53 | 0,59 | 0,83 | 1 | 1 |
| | NPV | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,85 | 0,85 |
| 2,1 mmol/l | Sensitivitet | 1 | 1 | 1 | 0,92 | 0,62 | 0,62 |
| | Specificitet | 0,25 | 0,25 | 0,50 | 1 | 1 | 1 |
| | PPV | 0,49 | 0,68 | 0,76 | 1 | 1 | 1 |
| | NPV | 1 | 1 | 1 | 0,89 | 0,62 | 0,62 |

Diskussion

Snabbtester användas inom den ambulatoriska verksamheten med syfte att underlätta för veterinären att ställa diagnos och prognos. I Sverige skulle ett snabbtest för hypokalcemi framför allt användas vid kliniska pareser och inte som ett screeningtest för hypokalcemi. Detta innebär att man som kliniker har mest nytta av ett test med en hög specificitet, dvs att testet friar de djur som verkligen är friska och inte inkluderar falskt positiva djur.

Om man följer Kruuses bruksanvisning och avläser snabbtesten efter fem minuter så är det en stor risk att man ställer diagnosen hypokalcemi trots att kon inte lider av det. Med ett cut-off värde på 1,75 mmol/l så gav 25 testsvar av 42 (60 %) ett positivt utslag trots att serumkalciumnivåerna var högre än 1,75 mmol/l. Detta skulle leda till en onödig behandling av djuren med risk för hjärtstörningar samt extra kostnader för djurägaren.

Om man istället avläser testet efter tio minuter så försvinner de falskt positiva resultaten och specificiteten ökar från 0,18 till 1 medan sensitiviteten sjunker något. Orsaken till detta kan vara att det behövs mer tid för att tabletten i teströret skall lösas upp. I den tyska bruksanvisningen som är mycket mer informativ jämfört med den svensk/danska (se bilaga 1), och som tyvärr inte följer med testet när

den säljs i Sverige, får man tips om att ibland så behöver avläsningstiden förlängas till åtta minuter. Det som har kommit fram i denna studie är att man alltid bör förlänga avläsningstiden till nio eller tio minuter.

I Sverige anses vanligen att kor är hypokalcemiska vid serumkalciumvärden lägre än 2,0-2,1 mmol/l, och att de är i behov av kalkinfusion om det samtidigt föreligger kliniska symtom. Att då använda ett cut-off-värde för snabbtesten på 1,75 mmol/l innebär att ett flertal kor som har kalciumvärden mellan 1,75-2,1 mmol/l blir utan behandling trots att de lider av hypokalcemi. Om testet skulle modifieras till ett cut-off-värde på ca 2,0-2,1 mmol/l så skulle det innebära att man kan identifiera dessa kor men även att testet skulle bli mer användbart även vid pareser i andra delar av laktationen, dvs. då ingen fysiologisk hypokalcemi föreligger. Även om inte detta test är tänkt att användas för ett cut-off-värde på 2,1 mmol/l så tyckte vi att det var intressant att se hur väl testet skulle klara av att identifiera dessa kor. Vid avläsning efter fem minuter så var det 19 stycken prover av 42 (45 %) som låg över 2,1 mmol/L i serumkalciumvärde, enligt Kodak Ektachem, trots att det inte skett någon koagulation hos snabbtestet. Men specificiteten förbättrades även här om man förlängde avläsningstiden. Den höjdes då från 0,25 vid fem minuter till 1 vid tio minuter, men att sensitiviteten sjönk från 1 till 0,62.

Tack till...

Ett stort och varmt tack till Camilla Björkman för hennes entusiasm, goda råd samt stora tålamod under hela arbetet.

Kristina Forslund för värdefulla synpunkter och råd.

Daniel Svensson och Kristi Anne Veien för hjälp vid insamling av provmaterial samt att de har varit ett gott stöd under hela arbetet.

Litteraturförteckning

- Andrews, AH Blowey, RW Boyd, H, Eddy, RG. 2004. *Bovine Medicine*, 781-787. Blackwell Publishing.
- Bienzle, D Jacobs, RM, Lumsden, JH. 1993. Relationship of serum total calcium to serum albumin in dogs, cats, horses and cattle. *Can. Vet. J.* 34, 360-364.
- Björzell, KA. 1972. parturient paresis and clinical signs. *Svensk Veterinär Tidning*, 17, 592-597.
- Gustavsson, E Kallner, A. 1991. Kan kliniken lita på våra s-calcium bestämningar? Riksstämman 1991. Stockholm. Svenska Läkaresällskapets handlingar Hygien 100.
- Hesters, NL Yaytes, DJ Hunt, E. 1996 Disorders of calcium metabolism. In: Smith, BP ed. *Large animal internal medicine*. 2nd ed. St Louis. Mosby-Year Book Inc. 1464-1468.
- Kaneko, JJ Harvey, JW Bruss, ML.1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5th edition. Academic Press.
- Kvart, C.1983. The effect of calcium infusion on the electrocardiogram of parturient paretic cows. *Br Vet J*, 139, 192-199.
- Kvart, C. 1989. Hjärtstörningar vid kalciuminfusion hos nötkreatur med puerperal pares. *Svensk Veterinärtidning* 41, 1-7: 349-354.
- Kvart, C Björzell, KA Larsson, L.1982. Parturient paresis in the cow. *Acta Vet Scand*, 23, 184-196.
- Kvart, C & Larsson, L. 1978. Studies on ionized calcium in serum and plasma from normal cows. Its relation to total calcium and the effects of sample storing. *Acta Vet Scand*, 19, 487-496.
- Lincoln, SD Lane, VM. 1990. Serum ionized calcium concentration in clinically dairy cattle, and changes associated with calcium abnormalities. *J Am Vet Med Assoc*, 197, 1471-1474.
- Massey, CD Wang, C Donovan, GA et al. 1993. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc*, 203, 852-853.
- Mayer, GP, Raggi, F Ramberg, CF. 1965. A rapid semiquantitative test for serum calcium suitable for field use. *J Am Vet Med Assoc*, 146, 839-842.
- Nilsson-Ehle, P (red.).2003. *Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin*. Studentlitteratur.
- Pehrson, M Jönsson, G. 1988. Bestämning av kalcium i blodet hos ko. *Svensk Veterinärtidning*, 40, 10, 497-500.

- Radostits, OM Gay, CC Blood, DC, Hinchcliff, KW. 2000. Veterinary Medicine, 9th edition. WB Saunders Company Ltd.
- Radostits, OM Mayhew, IG Houston, DM. 2000. Veterinary Clinical Examination and Diagnosis. WB Saunders Company Ltd.
- Rosol, TJ Chew, DJ Nagode, LA Capen, CC. 1995. Pathophysiology of calcium metabolism. Vet Clin. Pathol. 24(2), 49-63.
- Sandholm, M Jönsson, G Pehrson, B & Zewi, G. 1970. A New rapid method for determination of blood calcium in cows. Zentralbl Veterinarmed A, 26, 411-416.
- Smith, RD. 1995. Veterinary Clinical Epidemiology, A Problem-Oriented Approach. CRC Press
- Svensk mjölk, 2003. <http://www.kunskapsbonden.svenskmjolk.se/pdf/djurhalsovard2003.pdf>, 07/12/04.
- Veterinary Reference Guide. 1993. Eastman Kodak Company, NY 14650.

Bilaga 1 42 provtagna kor med olika kliniska diagnoser. Kalcitestet avlästes vid 5 respektive 10 minuter. 1) = positivt testsvar (ej koagulerat), 3) = negativt testsvar (koagulerat). Serum-Ca värde analyserat på Kodak Ektachem DT60.

| Identitet | Klinisk Diagnos | Kalcitest | | Serum-Ca (mmol/l) |
|-----------|--------------------|-----------|--------|----------------------|
| | | 5 min | 10 min | |
| 292 | Pares | 1 | | <0,75 |
| 435 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 436 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 466 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 2006 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 702 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 5197 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 254 | Pares | 1 | 1 | 1,23 |
| 1036 | Pares | 1 | 1 | <0,75 |
| 289 | Pares | 1 | 3 | 1,76 |
| 1612 | Pares | 1 | 3 | 1,68 |
| 1612 | Pares | 1 | 3 | 1,93 |
| 956 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,43 |
| 528 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,22 |
| 1020 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 1,69 |
| 985 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,06 |
| 988 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,50 |
| 871 | Kliniskt frisk | 3 | 3 | 2,35 |
| 994 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,11 |
| 845 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,45 |
| 864 | Kliniskt frisk | 1 | 3 | 2,31 |
| 1082 | Kliniskt frisk | 3 | 3 | 2,17 |
| 957 | Kliniskt frisk | 1 | | 1,98 |
| 1008 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,39 |
| 848 | Kliniskt frisk | 3 | | 2,31 |
| 939 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,33 |
| 867 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,52 |
| 937 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,44 |
| 985 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,3 |
| 866 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,47 |
| 953 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,80 |
| 915 | Kliniskt frisk | 3 | | 2,32 |
| 864 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,5 |
| 1038 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,44 |
| 829 | Kliniskt frisk | 1 | | 2,36 |
| 752 | RDA ^a | 1 | | 1,55 |
| 272 | LDA ^b | 1 | | 2,09 |
| 428 | LDA ^b | 1 | | 2,19 |
| 368 | RDA ^a | 1 | | 2,26 |
| 451 | GI ^c | 1 | | 2,25 |
| 1113 | Hasböld | 3 | | 2,22 |
| 422 | LDA ^b | 1 | | 2,08 |

^a) RDA=högersidig löpmagsförskjutning. ^b) LDA=vänstersidig löpmagsförskjutning.

^c) GI=Gastrointestinala symtom.

Bilaga 2 21 stycken provtagna kor. Kalcitest avläst vid 5,6,7,8,9 och 10 min.

1 = positivt testsvar (ej koagulerat), 3 = negativt testsvar (koagulation).

Serum Ca värde analyserat på Kodak Ektachem DT60.

| Identitet | Avläsningstid | | | | | | Serum-Ca mmol/l |
|-----------|---------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------------------|
| | 5 min | 6 min | 7 min | 8 min | 9 min | 10 min | |
| 435 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 436 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 466 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 2006 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 702 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 5197 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 254 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | < 0.75 |
| 1036 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,23 |
| 1612 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 1,68 |
| 1020 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 1,69 |
| 289 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 1,76 |
| 1612 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 1,93 |
| 985 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 2,06 |
| 994 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2,11 |
| 1082 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2,17 |
| 528 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2,22 |
| 864 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2,31 |
| 871 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2,35 |
| 956 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2,43 |
| 845 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2,45 |
| 988 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2,50 |

Bilaga 3 Medfølgende brugsanvisning for Kruuse's kalciumtest.

Brugsanvisning:

Testudførelse

- 10 ml blod overføres (uden luftbobler) til testrøret.
Proppen sættes i.
- Røret vendes med jævne, rolige bevægelser 20 gange.
NB ! ikke ryste !
- Herefter stilles røret et roligt sted i 5 minutter.

Testbedømmelse

Efter 5 minutters henstand tippes røret og graden af størkning bedømmes:

► **Fuldstændig størkning**

- Blodkalcium koncentrationen ligger over tærskelværdier på 7 mg/dl

Ingen størkning

- Blodkalcium koncentrationen ligger under tærskelværdie på 7 mg/dl = kalcium mangel

Delvis størkning

- Grænseværdi; Blodkalcium koncentrationen ligger i nærheden (lidt under/over) af tærskelværdien på 7 mg/dl