

## **4. DISKUSSION**

### **4.1 DISKUSSION DER METHODIK**

#### **4.1.1 PATIENTENMATERIAL UND GRUPPENEINTEILUNG**

Bei dem Patientenmaterial handelte es sich um Pferde, welche in der MVK I der Justus-Liebig-Universität Gießen zwischen Januar 1997 und September 1999 zur stationären Behandlung vorgestellt wurden. Es wurden alle Pferde in die Untersuchung einbezogen, wenn die folgenden Voraussetzungen erfüllt waren: 1. die Ergebnisse der Routinelaboruntersuchungen (Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild, Blutsenkungsreaktion, Hämatokrit, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline und Fibrinogen) lagen vollständig vor und 2. der Patient konnte eindeutig einer der drei vorgegebenen Gruppen zugeordnet werden. Die Einteilung erfolgte ausschließlich nach den Ergebnissen der klinischen Untersuchung ohne Berücksichtigung von labordiagnostischen Blutuntersuchungen.

Die Pferde der Kontrollgruppe (Gruppe 1) waren meist aufgrund milder bis mittelgradiger Koliksymptomatik in der MVK I vorgestellt worden. Diese Symptomatik war i.d.R. nach einmaliger medikamenteller Behandlung mit Spasmoanalgetika (Buscopan<sup>®</sup> compositum; Boehringer Ingelheim GmbH, Ingelheim oder Novalgin<sup>®</sup>; Hoechst Veterinär GmbH, Unterschleißheim) und/oder abführender Therapie (Paraffinöl und/oder Natriumsulfat, beides WDT eG, Hannover) nicht mehr vorhanden. Die Blutuntersuchungen erfolgten ein bis drei Tage nach Vorstellung und Behandlung, zu diesem Zeitpunkt waren Allgemeinbefinden und klinische Untersuchung der Tiere weitgehend ohne besonderen Befund. Dies berechtigt zur Definition dieser Tiere als Kontroll- und Vergleichsgruppe.

Die Einteilung der Patienten mit entzündlichen Veränderungen (Gruppe 2) wurde ausschließlich nach dem Ergebnis der klinischen Untersuchung (siehe 3.1.2; S. 51 ff.) und nicht nach der Dauer der Erkrankung vorgenommen. Hieraus resultiert auch die breite Streuung der Erkrankungsdauer auf einen Zeitraum zwischen einem Tag und 4 Wochen, wobei die Erkrankungsdauer bei der überwiegenden Zahl der Patienten eine Woche nicht überschritt. Patienten mit Erkrankungsbeginn von mehr als einer Woche waren häufig mit wechselndem Erfolg vorbehandelt und zeigten zum Zeitpunkt der

Vorstellung in der Klinik einen akuten Rückfall. Ein Grund für das „Nichtberücksichtigen“ der Erkrankungsdauer lag in der Fragestellung, welcher Laborparameter am besten zur Diagnostik entzündlicher Erkrankungen, unabhängig von der Dauer der Erkrankung, geeignet sei. Für den behandelnden Tierarzt gestaltet sich zudem die Einschätzung der Erkrankungsdauer häufig nicht ganz einfach, da er sich lediglich auf die Angaben der Besitzer, die ihre Tiere nicht ständig unter Kontrolle haben, berufen kann.

Der dritten Gruppe wurden schließlich Patienten zugeordnet, bei denen eine chronisch obstruktive Bronchitis diagnostiziert wurde.

#### 4.1.2 LABORDIAGNOSTIK

##### 4.1.2.1 Routineuntersuchungen

Alle Routineuntersuchungen wurden von erfahrenem Laborpersonal durchgeführt, methodische Fehler können aus diesem Grund weitgehend ausgeschlossen werden. Die Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl, die Differenzierung des weißen Blutbildes, die Bestimmung von Hämatokrit und den Plasmaeiweißen erfolgte nach Routinemethoden, sie werden im Rahmen dieser Arbeit daher nicht diskutiert.

##### 4.1.2.1.1 Blutsenkungsreaktion (BSR)

Die bei Pferden in der Literatur am häufigsten eingesetzte Methode zur Durchführung der BSR stellt die Methode nach Westergren dar. Es existieren jedoch keine gängigen Normwerte für das gesunde Pferd. Aus der Literatur zugängliche Werte lassen sich häufig nicht vergleichen, da auch bei Verwendung des gleichen Labormaterials Unterschiede v.a. in der Zeit, nach der die Senkung abgelesen wird, bestehen (siehe auch Tab. 1; S. 12). Die nach unterschiedlicher Zeit abgelesenen Werte lassen sich auch nicht umrechnen, da die BSR nicht gleichmäßig linear, sondern in 3 Phasen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit verläuft (v. ZIJL 1948, HAMMERL 1982). HAMMERL (1982) verglich im Rahmen seiner Untersuchung verschiedene Methoden zur Durchführung der BSR miteinander. Es handelte sich hierbei um die Methode nach Westergren, die Standzylindermethode und die Durchführung mittels Auslaufpipette. Er

kam zu dem Ergebnis, dass die Westergrenmethode zur Anwendung beim Pferd wenig geeignet sei, da die Wiederholbarkeit der Methode nicht gegeben war. Die Durchführung mittels Auslaufpipette und Standzylinder war in Bezug auf die Wiederholbarkeit zuverlässiger, die Standzylindermethode war zudem noch sehr einfach und schnell durchzuführen. Sie wurde als Methode der Wahl für die Ermittlung der Blutsenkungsreaktion empfohlen und wurde in der vorliegenden Arbeit ausschließlich angewandt. HAMMERL (1982) stellt zudem eine deutliche Abhängigkeit der BSR von der Rasse fest. Aus diesem Grund wurden in der eigenen Untersuchung bei der Untersuchung der Zusammenhänge die Ergebnisse der BSR ebenfalls nach Rassen getrennt dargestellt.

#### 4.1.2.1.2 Fibrinogen

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Bestimmung der Fibrinogenkonzentration ist nur dann gegeben, wenn die verwandte Methodik übereinstimmt, bzw. denselben Prinzipien folgt. Es muss unterschieden werden zwischen Bestimmung der hämostatisch aktiven Anteile des Fibrinogens und der Bestimmung aller Fibrinogenmoleküle unabhängig von ihrer Funktion. In vorliegender Arbeit wurde die Methode nach Clauss zur Konzentrationsbestimmung eingesetzt. Bei dieser Methode werden nur hämostatisch aktive Anteile gemessen, indem Zitratplasma mit Thrombin zur Gerinnung gebracht wird. Die Gerinnungszeit ist hierbei proportional zum Fibrinogengehalt.

Von der Autorin konnte in der Literatur lediglich eine Angabe eines Referenzbereiches (1,5 - 3,3 g/l) für Fibrinogen beim Pferd gefunden werden (KRAFT et al 1997), bei der die Konzentration mittels der Methode nach Clauss bestimmt wurde.

#### 4.1.2.2 Serumproteinelektrophorese (SPE)

Aufgrund der Angaben in der Literatur lassen sich keine grundsätzlichen methodischen Unterschiede zwischen der Durchführung der SPE mittels Zellulose-Azetat-Folie bzw. Agarose-Gel erkennen. Beide Verfahren finden in der Routinediagnostik Verwendung. Die Anzahl der differenzierten Proteinfractionen unterscheidet sich nicht nach der Methodik, sondern nach der Interpretation des Untersuchers. Aus diesem Grund ist die Vergleichbarkeit der einzelnen Untersuchungen schwierig, wenn nicht unmöglich. Auch

unterscheiden sich in den Publikationen angelegte Stromstärke und Dauer der Stromzufuhr, wodurch ein direkter Vergleich möglicherweise unzulässig wird.

Die Auswertung der Träger erfolgte in den Untersuchungen aller im Schrifttum zitierten Autoren und in den eigenen Untersuchungen mittels Densitometrie nach dem „Drop-Line“-Verfahren (s. Kap. 2.3.2; S. 44).

Ein Nachteil bei der Verwendung von Agarose-Gelen besteht in den relativ hohen Materialkosten ( z.Zt. rund 40 DM netto pro Gel). Bei optimaler Ausnutzung sollten zur gleichen Zeit mindestens 2 Gele beschickt werden, das bedeutet die Untersuchung von 16 Serumproben. In großen Untersuchungslaboren, die tägliche eine Vielzahl an Proben untersuchen ist dies durchführbar. In vielen Fällen werden aber erst genug Proben gesammelt, so dass es in der Verfügbarkeit der Ergebnisse zu Verzögerungen kommen kann.

## **4.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE**

### **4.2.1 ROUTINEBESTIMMUNGEN**

#### **4.2.1.1 Leukozyten**

Der Mittelwert der Gesamtleukozyten liegt bei allen drei Gruppen im Normbereich der in der Literatur angegebenen Werte (siehe Tab. 2, S. 17). Der hohe Streufaktor der Gruppe 2 (1,63 im Vergleich zu 1,27 bei Gruppe 1) zeigt, dass in dieser Gruppe Patienten mit sehr niedriger und solche mit sehr hoher Leukozytengesamtzahl vorhanden sind. Die Erklärung hierfür liegt in der Inhomogenität der Gruppe bezüglich der Erkrankungsursachen und Organmanifestationen. In der Gruppe 2 befinden sich einige Tiere mit akuter bis subakuter Enteritis, welche sich häufig in einer massiven Leukopenie äußert (DORN et al. 1975, STEWART et al. 1995). Von den 107 Patienten der Gruppe 2 zeigten 14% (=15 Tiere) eine Leukopenie mit Leukozytenzahlen  $<5 \times 10^9/l$ . Zum anderen beinhaltet die Gruppe 2 auch Tiere mit akuten bis subakuten bakteriellen Infektionen v.a. der Atemwege. Die bakteriellen Infektionen gehen i.d.R. mit einer massiven Leukozytose einher (SCHALM 1979, JAIN 1986b). Eine Leukozytose mit Leukozytenzahlen  $>10 \times 10^9/l$  zeigten 49% (=53 Tiere) der Patienten in Gruppe 2. Da

auch Stress zu einer Erhöhung der Leukozyten führen kann (siehe Kap. 2.2.1.2.2; S. 14ff.) sind vermutlich erst Erhöhungen der Leukozytenzahl  $>12 \times 10^9/l$  ein sicheres Zeichen für das Vorliegen eines entzündlichen Prozesses. Über diesem Wert liegen nur 33,6% (=36 Pferde) der Patienten der Gruppe 2.

Die Leukozytenzahlen zeigen somit bei 36% (39 Pferde) der Patienten der Gruppe 2 mit klinisch gesicherten Entzündungen keine Abweichungen von dem Referenzwert von  $5 - 10 \times 10^9$  Zellen pro Liter. Werden erst Leukozytenzahlen  $>12 \times 10^9/l$  als entzündlich bedingte Leukozytose interpretiert, liegen 52% (56 Pferde) der Patienten der Gruppe 2 im Referenzbereich.

Ein Erklärungsansatz für die beim Pferd so unterschiedlichen Reaktionen der Leukozyten bei Infektionen des Magen-Darm-Traktes oder der Atemwege war in der Literatur nicht zu finden, und kann auch von der Autorin nicht gegeben werden.

Die Beobachtung, dass sich im Rahmen einer COB keine Veränderungen der Leukozytenzahlen im Blut zeigen (CHABCHOUB und GUELFY 1989, VANDENPUT und LEKEUX 1996) wurde durch die Ergebnisse der eigenen Untersuchung bestätigt.

Die Mittelwerte der Zellzahlen der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) der drei Gruppen liegen ebenfalls im Referenzbereich der in der Literatur angegebenen Werte. Auch hier finden sich keine für den Kliniker relevanten Differenzen zwischen den Mittelwerten der drei Gruppen. Gleichwohl zeigt auch bei den PMN der sehr große Streufaktor der Gruppe 2 (2,19), dass sowohl stark erhöhte als auch stark verminderte Zellzahlen bei Pferden dieser Gruppe vorliegen. Es gilt hier die gleiche Erklärung wie bei der Gesamtleukozytenzahl, da entzündliche Reaktionen der Leukozytenpopulation meist durch Reaktionen der PMN hervorgerufen werden (JAIN 1986b, MORRIS et al. 1990, MILLS et al. 1998).

Die in der angloamerikanischen Literatur angegebenen Referenzbereiche (siehe Tab. 2; S. 17) für stabkernige neutrophile (n.) Granulozyten (G.) liegen deutlich unter dem hier verwandtem und von KRAFT et al. (1997) angegebenen Referenzbereich. In der vorliegenden Untersuchung liegen die Mittelwerte aller drei Gruppen innerhalb des eigenen, aber deutlich über den übrigen Referenzbereichen. Ein Grund hierfür könnte in der statistischen Methodik liegen. Insgesamt wurden stabkernige neutrophile Granulozyten nur bei 58 der 500 Pferde (11,6 %) differenziert. Die rechtsschiefe Verteilung der Werte erfordert eine logarithmische Transformation der Daten. Hierbei müssen Nullwerte ersetzt werden, da das Logarithmieren der Null nicht möglich ist. Da

davon ausgegangen wird, dass die wirkliche Anzahl an Zellen im Blut mit Sicherheit größer Null ist, wird in der statistischen Methodik der halbe Wert der unteren Nachweisgrenze (hier entspricht dies  $150 \times 10^6/l$ ) anstatt der Null eingesetzt. Dies erklärt den hohen Mittelwert der stabkernigen n. G. in der Gruppe 1, wenngleich nur bei 19 der 300 Patienten (6,3 %) diese Zellen im Ausstrich differenziert wurden. Hierbei lag nur bei einem Pferd der Wert über dem an unserer Klinik festgelegten oberen Grenzwert von  $600 \times 10^6/l$ . Im Vergleich hierzu wurden bei 28 der 107 Pferde (26,2 %) der Gruppe 2 stabkernige n. G. gezählt. Von diesen Patienten überschritten 3 Tiere unseren oberen Grenzwert. In der Gruppe 3 schließlich konnten bei 11 der 93 Pferde (11,8 %) im gefärbten Ausstrich stabkernige n. G. gefunden werden. Auch hier lag der Wert bei einem Tier über dem oberen Grenzwert. Somit werfen die ermittelten Zahlen die Frage auf, ob der obere Grenzwert von  $600 \times 10^6/l$  stabkernige n. G. nicht zu hoch angesetzt ist, da dieser Wert auch bei den Patienten mit entzündlichen Erkrankungen praktisch nicht überschritten wurde.

Die Leukozytenzahlen bestätigen insgesamt Angaben in der Literatur, dass Pferde mit wesentlich geringeren Anstiegen der Leukozyten und v.a. der neutrophilen Granulozyten reagieren als Karnivoren (JAIN 1986c, ANDREWS et al. 1994, KRAFT et al. 1997a).

Bei den Mittelwerten der Zellzahlen der Monozyten und Lymphozyten ergeben sich keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Fehlende Unterschiede v.a. der Gruppe 2 zur Gruppe 1 erklären sich wiederum durch die Verschiedenartigkeit der Ursachen und die Dauer der entzündlichen Erkrankung. So kommt es während der Akut-Phase-Reaktion der Entzündung zunächst zu einer Monozytopenie (SCHALM 1975a), mit Fortschreiten der Erkrankung stellt sich eine Monozytose ein (DOXEY 1971, SCHALM 1975a). Hingegen beschreiben ALLEN et al. (1982) bei Virusinfektionen in den ersten Tagen das Auftreten einer Monozytose als charakteristisch. Auch bei den Lymphozyten zeigen sich unterschiedliche Reaktionen auf einen Entzündungsreiz. SCHALM (1975a) und BARTON et al. (1998) beschreiben zu Beginn der Entzündung eine Lymphopenie, wohingegen MILLS et al. (1998) keine Veränderungen der Zahl der Lymphozyten feststellen konnten. Bei viralen Infektionen werden sowohl Lymphopenien (DOXEY 1971, RUSSEL et al. 1998) als auch Lymphozytosen (ALLEN et al. 1982) beschrieben. Problematisch stellt sich dar, dass in den entsprechenden Literaturstellen häufig keine

Angaben gemacht werden, ob es sich um absolute oder relative Zu- bzw. Abnahmen der Zellzahlen handelt. Bestehende Unterschiede könnten sich auf diese Gegebenheiten zurückzuführen lassen.

Die Übertragung der biologischen Leukozytenkurve von *Schilling* auf Veränderungen innerhalb der Leukozytenpopulation bei entzündlichen Erkrankungen des Pferdes ist in Ermangelung von Verlaufsuntersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Jedoch kann aus den aus der Literatur zugänglichen Ergebnissen geschlossen werden, dass die Leukozytenkurve grundsätzlich auch die Veränderungen während einer Infektion beim Pferd wiedergibt.

*Zusammenfassend lässt sich anmerken, dass die Bestimmung von Leukozytenzahlen häufig nicht sehr hilfreich in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen ist. Dies zeigt sich besonders, wenn nur eine Blutuntersuchung vorgenommen wird. So besteht die Möglichkeit, dass bei einer einzigen Messung z.B. eine durch Stress ausgelöste Leukozytose als Entzündungshinweis fehlinterpretiert wird. Ebenso kann eine sich entwickelnde Enteritis durch das Fehlen der entzündungstypischen Leukozytose übersehen werden. Wichtiger erscheint jedoch v.a. die Problematik einer fehlenden Leukozytose trotz eindeutigen klinischen Zeichen einer Entzündung. Im Rahmen der eigenen Untersuchung lag (bei einem Referenzbereich von  $5 - 12 \times 10^9/l$ ) bei der Hälfte der Pferde der Gruppe 2 die Zahl der Gesamtleukozyten im Referenzbereich.*

#### 4.2.1.2 Blutsenkungsreaktion (BSR)

Die beim Pferd beschriebene hohe Geschwindigkeit der BSR (v. ZIJL 1948, OSBALDISTON 1970, HAMMERL 1982, ALLEN 1988a) konnte trotz teilweise anderer Methodik auch in dieser Untersuchung bestätigt werden. Die Gründe für diese, im Vergleich mit anderen Tieren oder dem Menschen, schnelle Senkungsgeschwindigkeit sind letztlich nicht bekannt. OSBALDISTON (1970) vermutet eine Besonderheit der Pferde-Erythrozyten, die zu einer verstärkten Geldrollenbildung und somit einer Senkungsbeschleunigung führt. So beträgt die BSR, durchgeführt mittels Methode nach Westergren, nach einer Stunde beim Mann 3 bis 8 mm bzw. 6 bis 11 mm bei der Frau (ROCHE LEXIKON MEDIZIN 1993), beim Hund 0

bis 2 mm (KRAFT et al. 1997a). Beim Pferd werden bereits nach einer halben Stunde Werte von 34 mm (HAMMERL 1982) erreicht.

Auffallend sind beim Pferd jedoch nicht nur die sehr hohen Mittelwerte, die im Rahmen der verschiedenen Untersuchungen berechnet wurden (siehe Tab. 1; S. 12), sondern auch die durchweg hohen Standardabweichungen. Diese Beobachtung musste auch in der vorliegenden Untersuchung gemacht werden. Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt zwar statistisch signifikant über dem der Gruppe 1; durch die umfangreiche Überschneidung der Standardabweichungen der Gruppen 1 und 2 erscheint jedoch der von SCHWAB (1986) beschriebene Einsatz der BSR in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen beim einzelnen Pferd sehr fraglich. Denkbar wäre der Einsatz innerhalb von Verlaufsuntersuchungen, jedoch bleibt der Zusammenhang zwischen Beschleunigung der Senkung und Schwere der Erkrankung unklar. Ob sich die BSR zumindest zur Therapiekontrolle eignen könnte, bleibt offen und wurde im Rahmen dieser Untersuchung auch nicht überprüft.

*Zusammenfassend ist zu sagen, dass in vorliegender Untersuchung die Beschleunigung der BSR bei entzündlichen Prozessen des Pferdes nachzuvollziehen war, die Eignung als Diagnostikum im Einzelfall durch die umfangreiche Überschneidung der Standardabweichung mit der der klinisch unauffälligen Pferde jedoch fraglich bleibt.*

#### 4.2.1.2.1 Prüfung von Einflussfaktoren auf die BSR

Der von HAMMERL (1982) beschriebene Einfluss der Rasse auf die BSR konnte nur teilweise in der eigenen Untersuchung nachvollzogen werden. Araber (n=7) und Kaltblüter (n=4) lassen sich, bedingt durch die geringe Probandenzahl im Rahmen der eigenen Untersuchung, nicht mit den anderen Rassen vergleichen. Aus denselben Gründen ist ein Vergleich mit der Untersuchung von HAMMERL (1982) für diese Rassen nicht möglich. Die Abbildung 22 stellt die eigenen Ergebnisse bei den klinisch unauffälligen Pferden (Gruppe 1) denen von HAMMERL (1982) gegenüber. Auffallend ist hierbei die deutliche Diskrepanz der Mittelwerte der BSR bei den Vollblütern. Die 23 Pferde der Vergleichuntersuchung befanden sich alle auf der Rennbahn und standen im Training, die 15 Patienten der eigenen Untersuchung wurden als Freizeitpferde



genutzt. HAMMERL (1982) vermutet als Ursache der von ihm bei Vollblütern gemessenen extrem langsamen BSR genetische Einflüsse. Dies scheint nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchung eher unwahrscheinlich.

Auch v. ZIJL (1948) findet bei den Vollblütern ( $SR/10=17,1\pm0,89$ ) eine langsamere BSR als bei den Warmblütern ( $SR/10=21,9\pm0,61$ ), allerdings verwendet er eine andere Methodik (Westergren), so dass die Werte nicht direkt vergleichbar sind.

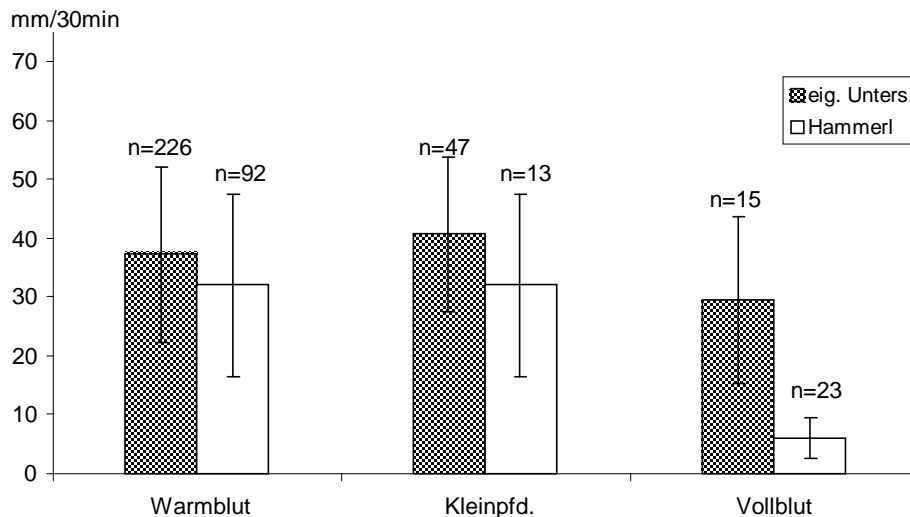


Abb. 22: Vergleich der Mittelwerte der BSR klinisch unauffälliger Pferde verschiedener Rassen zwischen der eigenen Untersuchung und der von HAMMERL (1982)

Beim Menschen (STUART und WHICHER 1988) und beim Pferd (v. ZIJL 1948, OSBALDISTON 1970, SCHWAB 1986, ALLEN 1988) wurde ein umgekehrt proportionaler Einfluss des Hämatokrits (Hkt) auf die BSR festgestellt, wobei v. ZIJL (1948) und OSBALDISTON (1970) keine Korrelationsfaktoren (KF) berechnen. Steigt der Hämatokrit, und somit auch die Zahl der Erythrozyten in der Blutprobe, behindern sich die Erythrozyten beim Absinken gegenseitig, so dass die Senkung verlangsamt ist (OSBALDISTON 1970, HAMMERL 1982). Im Rahmen der eigenen Untersuchung konnte nur bei den Vollblütern eine negative Korrelation ( $r = -0,65$ ) ermittelt werden. ALLEN (1988) ermittelte bei 123 Vollblütern für Hkt und BSR einen Korrelationsfaktor von  $r = -0,64$ , obgleich er die Methode nach Westergren verwendete. Bei den hier untersuchten Warmblütern und Kleinpferden lag der KF über dem als klinisch relevant

angesehenen Wert von  $r = -0,5$ , bei den übrigen Rassen (Araber und Kaltblüter) wurden, vermutlich bedingt durch die geringe Probandenzahl, die Korrelationsfaktoren als nicht signifikant berechnet. Der von OSBALDISTON (1970) als „sehr dramatisch“ beschriebene Einfluss des Hkt auf die BSR zeigt sich in seiner Untersuchung in Bereichen von sehr niedrigen bzw. sehr hohen Werten. Liegt der Hämatokrit zwischen Werten von 0,28 bis 0,40 l/l, scheint der Einfluss nach Analyse seiner Ergebnisse für die Autorin jedoch eher gering. In den eigenen Untersuchung liegen, bei gleichzeitiger Betrachtung aller Rassen sehr wenige Einzelwerte außerhalb dieses Bereiches, wodurch sich der mangelnde Zusammenhang von Hkt und BSR erklären lassen könnte. SCHWAB (1986) ermittelte in seinem Patientengut, welches überwiegend aus Warmblütern besteht, ebenfalls einen negativen KF zwischen -0,5 und -1 (keine genaue Zahlenangabe). Die Untersuchung von SCHWAB (1986) beinhaltet jedoch auch Verlaufsmessungen einzelner Patienten, wobei aus der Versuchsbeschreibung nicht eindeutig hervorgeht, welche Tiere mehrfach untersucht wurden und ob diese Verlaufuntersuchungen in seine Berechnung der KF einbezogen wurden. Möglicherweise könnten so einzelne mehrfach gemessene Patienten einen größeren Einfluss erhalten als solche Tiere, bei denen nur eine Messung vorgenommen wurde.

In den eigenen Untersuchungen konnten für die Rassen Vollblut und Kaltblut statistisch signifikante positive Korrelationsfaktoren für die Gesamtleukozytenzahl und die BSR ermittelt werden. Dies widerspricht den Ergebnissen von ALLEN (1988), der 123 Vollblüter untersuchte und keine Korrelationen feststellen konnte. Eine sinnvolle Erklärung für den hier festgestellten Zusammenhang könnte in der relativ geringen Zahl der Pferde dieser Rasse in der eigenen Untersuchung liegen, zudem unterscheiden sich auch die Methoden der eigenen und der Untersuchung von ALLEN (1988). Ein kausaler Einfluss der Leukozyten auf die BSR ist nach Kenntnis der Autorin nicht bekannt. Bei den Warmblütern und Kleinpferden, die zahlenmäßig sehr viel größere Gruppen stellen, finden sich auch in der eigenen Untersuchung keine Zusammenhänge von Gesamtleukozytenzahl und BSR. Dies deckt sich mit der Untersuchung von SCHWAB (1986), der bei 208 Pferden (v.a. Warmblüter) ebenfalls keine Korrelation von Leukozyten und BSR feststellt.

Um den bei Voll- und Kaltblütern ermittelten Zusammenhang zu überprüfen, müsste eine Untersuchung mit einer größeren Zahl an Pferden erfolgen.

REINHART und SINGH (1990) schreiben den Plasmaproteinen den größten Einfluss als anziehende Kraft auf die Erythrozyten, und somit auf die Ausprägung der Geldrollenbildung, zu. Das Fibrinogen, dem beim Menschen der größte Einfluss zugesprochen wird (STUART und WHICHER 1988), spielt in der eigenen Untersuchung auch beim Pferd eine wichtige Rolle. Es ergeben sich mit Ausnahme der Kaltblüter für alle anderen Rassen statistisch signifikante positive Korrelationen zwischen Fibrinogen und BSR. Diese liegen bei den Warm- und Vollblütern, den Arabern bzw. Kleinpferden ( $r = 0,62; 0,71; 0,71$  bzw.  $0,57$ ) größtenteils im gleichen Bereich wie in der Untersuchung von ALLEN (1988). Er ermittelt bei 123 Vollblütern einen KF von  $r = 0,61$ , wobei er die Methode nach Westergren verwendet. OSBALDISTON (1970) findet hingegen keinen Zusammenhang zwischen Fibrinogen und BSR, jedoch verwendet er die Methodik nach Wintrobe.

Beim Pferd wurde in der Literatur der mathematische Zusammenhang (mittels Berechnung von KF) von Gesamtserum- und -plasmaproteinen und der BSR nach Wissen der Autorin nicht untersucht, sondern es wurden einzelne Proteinfractionen oder die Gesamtglobuline betrachtet. Es erscheint jedoch wahrscheinlich, dass bestehende Zusammenhänge einzelner Proteine sich auch in einem Zusammenhang von Gesamteiweiß und BSR zeigen. In der vorliegenden Untersuchung war dies bei den Rassen Kleinpferde [ $r = 0,63$  (Plasma) bzw.  $0,56$  (Serum)] und Vollblüter [ $r = 0,63$  (Plasma) bzw.  $0,53$  (Serum)] zu ermitteln. Die höheren Plasmawerte sind vermutlich auf den o.g. Zusammenhang von Fibrinogen und BSR zurückzuführen.

Der Zusammenhang von Albumin und BSR wurde in der Literatur widersprüchlich angegeben. LÖTSCH und MÜLLER (1962) beschreiben eine positive Korrelation ( $r = 0,6$ ) von Albumin und BSR, wobei sie das Albumin durch die Papierelektrophorese bestimmen und nur seine prozentualen Werte vergleichen. SCHWAB (1986) bestimmt die Konzentration von Albumin ebenfalls mittels Serumproteinelektrophorese. Er berechnet jedoch für die absoluten und prozentualen Albuminwerte einen negativen KF (zwischen 0 und  $-0,5$ , keine genaue Angabe) mit der BSR. ALLEN (1988) ermittelt ebenfalls eine negative Korrelation ( $r = -0,35$ ), die aber nach der von ihm durchgeführten

Hkt-Korrektur der BSR nicht mehr besteht. In der eigenen Untersuchung wurde für die Warmblüter ein KF von  $r = -0,23$  berechnet. Dieser Wert wurde als nicht klinisch relevant eingestuft.

Fraglich ist, ob die Angaben der Autoren vergleichbar sind, da sowohl die Bestimmung des Albumins als auch die Methodik der BSR nicht übereinstimmten. Gleichwohl zeigen zumindest die eigenen Ergebnisse, die von SCHWAB (1986) und die von ALLEN (1988), dass der Zusammenhang von Albumin und BSR eher umgekehrt proportional ist. Warum LÖTSCH und MÜLLER (1961) zu vollkommen anderen Ergebnissen kamen, ist nicht nachzuvollziehen.

Der negative Zusammenhang könnte seine Erklärung im Ablauf der Akut-Phase-Reaktion (APR) haben. Im Rahmen dieser APR kommt es beim Pferd zu einer Abnahme der Albuminkonzentration im Blut (AUER et al. 1989, MAIR et al. 1993, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, MILLS et al. 1998). Zugleich wird bei Mensch und Pferd bei akuten Entzündungen die Beschleunigung der BSR beschrieben (SCHWAB 1986, STUART und WHICHER 1988).

Der Zusammenhang von Globulinen und BSR wurde von den Autoren in unterschiedlichem Umfang untersucht. LÖTSCH und MÜLLER (1962) berechneten für die Einzelfractionen negative Korrelationen zwischen  $r=0$  und  $-0,4$ , der Zusammenhang von Gesamtglobulinen und BSR wurde nicht untersucht. SCHWAB (1986) findet dagegen sowohl für die Gesamtglobuline als auch für die Einzelfractionen (mit Ausnahme der  $\alpha_1$ -Globuline) signifikante positive Korrelationen. Auch ALLEN (1988) beschreibt eine positive Korrelation ( $r=0,38$ ) von Globulinen und BSR. Einzelfractionen der Globuline wurden von ihm nicht untersucht.

In der eigenen Untersuchung bestehen ebenfalls positive KF für die Gesamtglobuline bei allen Rassen. Auch im Falle der Einzelfractionen sind positive KF zu berechnen. Allerdings liegen nur wenige der KF über einem Wert von  $r=0,5$ , was ihren tatsächlichen Einfluss auf die BSR fraglich macht.

*Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Plasmaproteine deutliche positive Zusammenhänge mit der BSR aufweisen. Dies wird durch die Verstärkung der Geldrollenbildung der Erythrozyten durch die anziehenden Kräfte der Proteine*

*hervorgerufen (REINHART und SINGH 1990). Ein unerwartetes Ergebnis stellt die Beobachtung dar, dass im Rahmen der eigenen Untersuchung der Hämatokrit nur einen sehr schwachen Einfluss auf die BSR zu haben scheint. Bestehende Unterschiede in den Ergebnissen der eigenen Untersuchung und denen anderer Autoren könnten v.a. in der unterschiedlichen Messmethodik der BSR liegen.*

#### 4.2.1.3 Proteine

##### 4.2.1.3.1 Gesamteiweiß

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchung ermittelten Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen des Gesamteiweißes im Serum liegen bei allen Gruppen im Bereich des von KRAFT et al. (1997) angegebenen Referenzwertes für Pferde von 55 bis 75 g/l. Verglichen mit dem Referenzwert von JAIN (1986a) für adulte Pferde (60-75 g/l) sind die Werte geringfügig niedriger. Dies könnte mit der Tatsache zu erklären sein, dass sich in allen drei Gruppen der vorliegenden Untersuchung auch Jungtiere befanden, deren Konzentration an Gesamteiweiß niedriger ist, als das der adulten Tiere (KANEKO 1980, JAIN 1986a).

Wie auch bei den Leukozyten zeigt die große Standardabweichung bei den Ergebnissen der Gruppe 2, dass hier sowohl Patienten mit deutlich verminderter als auch solche mit deutlich erhöhter Konzentration an GE zu finden sind. Dies ist durch die Gruppenzusammensetzung zu erklären. In der Gruppe 2 befinden sich zum einen Pferde mit akuten bis chronischen Entzündungsreaktionen, welche zu einer Erhöhung der Plasma- bzw. Serumproteine führen (SCHALM 1975b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, Kraft et al. 1997b). Andererseits umfasst die Gruppe 2 auch Pferde, die an akuten bis chronischen Enteritiden litten. Diese führen i.d.R. über Verlust bzw. Malresorption zu einer Hypoproteinämie (JAIN 1986d, FLOTHOW und DEEGEN 1994, KRAFT et al. 1997b).

#### 4.2.1.3.2 Albumin

Die Mittelwerte der Konzentrationen an Albumin im Plasma entsprechen im Falle der Gruppen 1 und 3 den Angaben in der Literatur, wonach der Referenzbereich bei gesunden adulten Tieren bei 25 bis 45 g/l liegt. Bei Pferden, welche an COB erkrankt sind (Gruppe 3) sind Veränderungen der Albuminkonzentration nicht zu erwarten (CHABCHOUB und GUELFY 1991).

Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt mit  $23,0 \pm 5,7$  g/l knapp unter dem unteren Grenzwert des Referenzbereiches. Die große Standardabweichung zeigt auch hier, dass sich in der Gruppe 2 sehr viele Pferde befinden, bei denen die Albuminkonzentration im Referenzbereich liegt. Gleichwohl zeigen die Ergebnisse, dass es im Rahmen einer entzündlichen Erkrankung zu einer Verminderung der Albuminkonzentration im Blut kommt. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Autoren (ALLEN und KOLD 1988, AUER et al. 1989, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, MILLS et al. 1998), und bestätigt die Bezeichnung des Albumin als sogenanntes „negatives“ Akut-Phase-Protein (PEPYS und BALTZ 1983).

#### 4.2.1.3.2 Globuline

Aus der Methodik der Globulinbestimmung (Subtraktion des Albumingehaltes von der GE-Konzentration) ergibt sich, da die Mittelwerte der Konzentrationen von GE und Albumin der Gruppen 1 und 3 im jeweiligen Referenzbereich liegen, dass sich auch die Mittelwerte der Konzentrationen der Globuline in ihrem Referenzbereich befinden müssen. Für die Gruppe 2 ergibt sich ein statistisch signifikant höherer Wert, da der Mittelwert der GE-Konzentration im Referenzbereich liegt, der Mittelwert der Albuminkonzentration aber statistisch signifikant erniedrigt ist. Diese Erhöhung der Globulinkonzentrationen ist mit der Synthese der Akut-Phase-Proteine (ANDUS et al. 1989, JAIN 1993b) und vermehrter Synthese von Immunglobulinen, besonders bei chronischen Entzündungen (JEFFCOTT 1971, SCHALM 1975b, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984) zu erklären.

*Zusätzlich zur Bestimmung des GE sollte auch die Konzentration des Albumins bestimmt werden, um eine Dysproteinämie in Form einer Störung des Verhältnisses von Albumin und Globulinen erkennen zu können. Eine reduzierte Albuminkonzentration bei einer GE-Konzentration im Referenzbereich bedeutet zugleich eine Erhöhung der Globuline, diese Befunde gemeinsam lassen auf eine entzündliche Erkrankung schließen.*

#### 4.2.1.3.3 Fibrinogen

Die im Rahmen der eigenen Untersuchung ermittelten Mittelwerte und Standardabweichungen der Fibrinogenkonzentration lassen sich lediglich mit dem Referenzbereich von KRAFT et al. (1997) vergleichen, da dies nach Kenntnis der Autorin die einzige Literaturangabe darstellt, in der die Methodik nach Clauss zur Ermittlung der Fibrinogenkonzentration beim Pferd Anwendung findet. Sowohl die Werte der Gruppe 1 als auch der Gruppe 3 liegen in diesem Referenzbereich (1,5 - 3,3 g/l). Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt mit 4,0 g/l statistisch signifikant höher. Diese Ergebnisse bestätigen die Angaben in der Literatur, dass entzündliche Prozesse mit einer Erhöhung des Fibrinogens einhergehen (SCHALM et al. 1970, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988, MILLS et al. 1997, BARTON et al. 1998), die maximal das 2 bis 3,5-fache des Normalwertes erreicht (WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988). Diese Beobachtung konnte auch in der vorliegenden Untersuchung gemacht werden. Der höchste gemessene Wert lag bei 10,4 g/l. Die erhöhten Konzentrationen wurden in der vorliegenden Untersuchung bei bakteriellen Infektionen ermittelt (Druse, Pleuro-/Bronchopneumonie, Enteritis, Abszesse, Phlegmonen). Dies entspricht den Angaben der Literatur (SCHALM et al. 1970, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988, TOPPER und PRASSE 1998, BARTON et al. 1998). Die Aussage von WUIJCKHUISE-SJOUKE (1984), bei Werten über 10 g/l sei die Prognose schlecht bis infaust konnte in der eigenen Untersuchung nicht bestätigt werden. Werte von >10 g/l wurden nur in 2 Fällen ermittelt, beide Tiere konnten geheilt entlassen werden. Es ist jedoch anzumerken, dass in der Untersuchung von WUIJCKHUISE-SJOUKE (1984) eine andere Methode der Fibrinogenbestimmung gewählt wurde, was die Vergleichbarkeit von Werten praktisch

unmöglich macht. In der eigenen Untersuchung war der von WUIJKHUISE-SJOUKE (1984) und ALLEN und KOLD (1988) beschriebene Zusammenhang von Schwere der Erkrankung und Konzentration des Fibrinogens nicht überzeugend nachzuvollziehen. Eine mögliche Erklärung könnte im Bestimmungszeitpunkt der Fibrinogenkonzentration liegen. Wie bereits erwähnt, wurde von jedem Patient nur eine Blutuntersuchung berücksichtigt, die unter Umständen vor der maximalen Erhöhung des Fibrinogens nach 5 bis 7 Tagen (WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988) erfolgt war. Die Eignung der Fibrinogenbestimmung zur Kontrolle von Therapie und/oder körpereigener Heilung (SCHALM 1975b, WUIJKHUISE-SJOUKE 1984) erscheint etwas fraglich, da erhöhte Werte bis 50 Tage nach Beginn der Erkrankung gemessen werden können (AUER et al. 1989). Die in der Literatur beschriebene Altersabhängigkeit des Fibrinogens (BRUGMANNS et al. 1998) wurde im Rahmen der eigenen Untersuchung nicht überprüft, da keine gesunden Fohlen untersucht wurden. Beim Vergleich der von BRUGMANNS et al. (1998) angegebenen Werte der drei von ihnen gewählten Altersgruppen zeigt sich, dass die Werte sehr dicht beieinander und zudem im von ihnen festgelegten Referenzbereich liegen. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen anderer Autoren, die keinen Einfluss des Alters auf die Fibrinogenkonzentration ermitteln (SCHALM et al. 1970, JAIN 1986d), erscheinen altersabhängige Unterschiede als zumindest für den Kliniker unbedeutend.

Die in der eigenen Untersuchung ermittelte Korrelation von Fibrinogen und den  $\alpha$ -Globulinen ( $r=0,53$ ) könnte darauf beruhen, dass es sich sowohl beim Fibrinogen als auch den  $\alpha$ -Globulinen um Akut-Phase-Proteine handelt, die während der Akut-Phase-Reaktion vermehrt synthetisiert werden. Diese Akut-Phase-Proteine wandern in der Elektrophorese fast ausnahmslos in der  $\alpha$ -Globulinfraktion.

*Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration ist laut Literatur und nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchung ein wichtiger Parameter in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen. Trotz der Heterogenität der Gruppe 2, in der entzündliche Erkrankungen von unterschiedlicher Genese und Erkrankungsdauer zusammengefasst wurden, ist eine deutliche Erhöhung der durchschnittlichen Fibrinogenkonzentration festzustellen.*



#### 4.2.2 SERUMPROTEINELEKTROPHORESE (SPE)

##### 4.2.2.1 Einteilung der Fraktionen

Wie bereits im Schrifttum eingehend wiedergeben (Kap. 2.3.2; S. 44) hat sich in der Auswertung der SPE beim Pferd kein Standard durchgesetzt. Die Einteilung der Fraktion variiert je nach Untersucher. Hierbei werden zwischen 5 und 10 Einzelfraktionen unterschieden. Die Anzahl der Fraktionen ist jedoch unabhängig von dem gewählten Träger (Zellulose-Azetat-Folie oder Agarose-Gel). Die wichtigsten Unterschiede in der Interpretation der Elektropherogramme liegen im Bereich zwischen kathodaler Seite des Albumin und dem in Richtung der Kathode folgenden nächsten Peak, dem  $\alpha$ -Globulin. Hier wird beim Pferd die sogenannte „Schulter“ am kathodalen Schenkel des Albumin beschrieben (BIERER 1969, MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, BIAGI 1980, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982), die nach KRISTENSEN und FIRTH (1977) immer vorhanden ist. In der eigenen Untersuchung war die Schulter in 79,8 % (272 von 341) der Fälle eindeutig zu erkennen. Da das Albumin keine Heterogenität aufweist (KRISTENSEN und FIRTH 1977), muss es sich bei dieser Schulter um eine Überlappung der Bande des Albumin mit der einer Globulinfraktion handeln. Von anderen Autoren wird diese Schulter überwiegend ignoriert. KANEKO (1980) erkennt zwar die Schulter, beschreibt auch ihre deutlichere Ausprägung im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion, gleichwohl wird die Schulter dem Albumin zugerechnet. Durch diese unterschiedlichen Interpretationen von Albumin und v.a.  $\alpha$ -Globulinen lassen sich Referenzwerte aus den unterschiedlichen Untersuchungen praktisch nicht vergleichen, da die Benennungen der Unterfraktionen der  $\alpha$ -Globuline nicht mehr übereinstimmen. Ein Vergleich ist nur dann möglich, wenn anhand eines Elektropherogramms die Einteilung der Fraktionen dargestellt wird, um zu überprüfen, ob sie mit der eigenen Methodik übereinstimmt. Betrachtet man die Referenzwerte in den verschiedenen Quellen wird deutlich, dass bedingt durch die unterschiedliche Zahl an Fraktionen und unterschiedliche Beurteilung des Überganges zwischen Albumin und Globulinen (o.g. Schulter), ein Vergleich der Werte zumeist unmöglich ist. Problematisch stellt sich auch die Tatsache dar, dass nur in wenigen Fällen (PIERCE 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, MATTHEWS 1982, FLOTHOW und DEEGEN 1994) prozentuale und absolute

Werte der Fraktionen angegeben werden. Es finden sich praktisch keine Untersuchungen, bei denen Anzahl der Fraktionen, Methodik und Einteilung der Fraktionen übereinstimmen und Angaben über prozentuale und absolute Werte gemacht werden. Eine Übersicht der Ergebnisse der aufgeführten Untersuchungen ist im Anhang tabellarisch wiedergegeben (Tab. Xa und Xb, Anhang S. 14-15). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde ein weiteres Problem deutlich: bei mehrfacher Wiederholung der Fraktionseinteilung am gleichen Elektropherogramm durch den gleichen Untersucher ergeben sich unterschiedliche Werte bei den Unterfraktionen der a- und b-Globuline. Die Werte der a- und b-Gesamtglobuline unterscheiden sich jedoch praktisch nicht bei diesen Kontrollen, weil die Abgrenzung zwischen den Hauptfraktionen a-, b- und g-Globuline i.d.R. problemlos möglich ist. Weiterhin ist anzumerken, dass es in der eigenen Untersuchung und auch in der von BIAGI (1980) schwierig bzw. nicht möglich war, innerhalb jedes Elektropherogramms 6 Proteinfaktionen exakt zu unterscheiden. Hieraus kann der Schluss gezogen werden, dass die Einteilung in Unterfraktionen fehlerträchtig sein kann, und möglicherweise wenig sinnvoll ist.

*Aus den angeführten Gründen ist eine Übernahme von Referenzwerten aus der Literatur nicht möglich, jeder Untersucher bzw. jedes Labor muss eine Methodik der Fraktionseinteilung erarbeiten und eigene Referenzbereiche ermitteln. Um Fehlerquellen zu minimieren, sollten die Globulinfraktionen in möglichst wenige Unterfraktionen weiterunterteilt werden.*

#### 4.2.2.2 Veränderungen der Proteinfaktionen

##### 4.2.2.2.1 Albumin

Im Rahmen der eigenen Untersuchung zeigt sich auch bei der elektrophoretisch bestimmten Albuminkonzentration, dass der Mittelwert der Gruppe 2 deutlich unter dem der Gruppen 1 und 3 liegt. Dieses Ergebnis ist bereits in Kap. 4.2.1.3.2 (S. 96) diskutiert worden, und wird aus diesem Grund an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt. Vergleicht man jedoch die direkt im Plasma gemessenen Albuminwerte mit denen mittels

Elektrophorese bestimmten fällt auf, dass bei allen drei Gruppen die Mittelwerte aus der SPE niedriger sind, als die direkt gemessenen. Ein möglicher Grund könnte die Interpretation der „Schulter“ darstellen, die in vorliegender Untersuchung den  $\alpha$ -Globulinen zugerechnet wurde. Geht man von der Tatsache aus, dass sich an dieser Stelle auf dem Träger das Albumin und ein Teil der  $\alpha_1$ -Fraktion überlagern, „fehlt“ dem Albumin sozusagen ein Teil, wenn die übliche „Drop-line“-Methode (siehe Kap. 2.3.2; S. 44 ff.) angewandt wird. Von Interesse könnte es sein, die Albuminkonzentration aus dem Elektropherogramm mittels Gaußscher Näherung (siehe Kap. 2.3.2; S. 44 ff.) zu ermitteln. Möglicherweise würden in diesem Fall die Werte besser übereinstimmen.

#### 4.2.2.2.2 $\alpha$ -Globuline

Entzündliche Erkrankung führen zu einer Erhöhung der  $\alpha$ -Globuline. Dies wird sowohl bei akuten Entzündungen (KANEKO 1980, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994) als auch bei subakuten und chronischen Entzündungen (JEFFCOTT 1971, FLOTHOW und DEEGEN 1994) beschrieben. Diese Erhöhung ist auch in den eigenen Untersuchung festzustellen. Der prozentuale und absolute Gehalt der  $\alpha$ -Globuline ist bei Pferden der Gruppe 2 im Mittel signifikant größer als bei der Kontrollgruppe. Diese höheren Werte beruhen ausschließlich auf einer Erhöhung der  $\alpha_2$ -Fraktion. Pferde, die an COB erkrankt sind, zeigen keine von der Kontrollgruppe abweichenden Konzentrationen. Dies wurde auch von anderen Autoren berichtet (CHABCHOUB und GUELFY 1991).

#### 4.2.2.2.3 $\beta$ -Globuline

Die in der eigenen Untersuchung ermittelte Erhöhung der  $\beta$ -Globuline bei der Gruppe 2 beruht praktisch ausschließlich auf einer Erhöhung der  $\beta_2$ -Fraktion. Eine Erhöhung dieser Fraktion kann durch die Erhöhung der Konzentration an Immunglobulinen (IgM, IgG(T) und IgA) hervorgerufen sein, da diese Immunglobuline in der  $\beta_2$ -Fraktion wandern (MAKIMURA et al. 1975). Eine Zunahme der Immunglobuline ist i.d.R. Zeichen einer subakuten bis chronischen Entzündung, wobei IgM und IgA als erstes ansteigen (JAIN 1993b). Im Patientengut der Gruppe 2 befinden sich v.a. Pferde mit subakuten Entzündungsreaktionen. Aus diesem Grund könnten die  $\beta$ -Globuline der

Gruppe 2 im Mittel höher sein als bei den Kontrolltieren. Die COB führt nicht zu Veränderungen der b-Globuline (CHABCHOUB und GUELFİ 1991), dies kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden.

#### 4.2.2.2.4 g-Globuline

Eine Erhöhung der g-Globuline wird häufig als typisches Zeichen einer chronischen Entzündung gedeutet (JEFFCOTT 1971, SCHALM 1975a, KANEKO 1980, WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Da sich im Patientengut der eigenen Untersuchung nur wenige Patienten mit chronischen Entzündungen befinden, sind diese Erhöhungen anhand der Mittelwerte nicht zu erkennen. Jedoch weist der Mittelwert der Gruppe 2 einen sehr umfangreichen Streufaktor auf, dies spricht für das Auftreten sehr hoher Werte. Ein Beispiel hierfür wäre ein Patient mit Abszess mit g-Globulinwerten von 27,4 g/l bzw. 29,5% (Abb. 13, Kap. 3.2.2.2). Alle im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Pferde mit Abszessbildung wiesen erhöhte g-Globulinkonzentrationen auf. Die Gruppe mit den an COB erkrankten Pferden zeigt keine Erhöhung der g-Globuline, was den Angaben von ROBINSON et al. (1996) und VANDENPUT und LEKEUX (1996) entspricht. Andere Autoren hingegen ermitteln eine Erhöhung der Werte (CHABCHOUB und GUELFİ 1991, FLOTHOW und DEEGEN 1994), wobei in der Untersuchung von CHABCHOUB und GUELFİ (1991) diese Erhöhung nur bei knapp der Hälfte der untersuchten Pferde festgestellt wurde.

*Der Einsatz der Serumproteinelektrophorese in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen des Pferdes bleibt durch die relativ aufwendige Methodik und die hohen Anschaffungskosten der Bestimmungsgeräte größeren Laboren vorbehalten. Zudem lässt sich feststellen, dass die Serumproteinelektrophorese eine unspezifische Bestimmungsmethodik darstellt, und nur sehr vereinzelte Krankheiten beim Pferd (CID, monoklonale Gammopathie) zu spezifischen pathognomonischen Veränderungen des Elektropherogramms führen (KANEKO 1980). Sinnvoll erscheint der Autorin der Einsatz der SPE bei Verdacht einer entzündlichen Veränderung, wenn die Bestimmung der üblichen Entzündungsparameter (Leukozyten, Fibrinogen) ohne eindeutigen Befund bleibt. Hier kann das Elektropherogramm wichtige Hinweise auf eine bestehende*

*Dysproteinämie geben, die durch eine Erhöhung der Akut-Phase-Proteine oder der Immunglobuline hervorgerufen wird.*

#### 4.2.3 LAGERUNG VON SEREN

Wie die Ergebnisse des Lagerungsversuchs zeigen, kann die Bestimmung von Gesamteiweiß und Albumin mittels Biuret bzw. Bromcresolgrün durch das Einfrieren und Lagern der Serumproben bei  $-18^{\circ}\text{C}$  beeinflusst werden. Die Ergebnisse der Messungen vor und nach Einfrieren und Lagerung unterscheiden sich erheblich voneinander. Die Ursachen für diese Abweichungen konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht weitergehend untersucht werden. Ein Laborfehler kann ausgeschlossen werden, da die Messungen von routiniertem Laborpersonal ausgeführt wurden und eine tägliche Kontrolle und Eichung der Messgeräte erfolgt. Ähnliche Beobachtungen über Proteinveränderungen wurden nach Wissen der Autorin in der Literatur nicht beschrieben. Allein SATOH et al. (1995) beschreiben, dass die Serumkonzentration von Serum Amyloid A durch die Aufbewahrung der Serumproben bei  $-20^{\circ}\text{C}$  nicht beeinflusst wird.

Aufgrund der Ergebnisse des Einfrierversuches sollten Konzentrationen von Gesamteiweiß und Albumin mit den hier verwendeten Messmethoden immer in frischen Serumproben ermittelt werden. Die Bestimmung aus gefrorenen Serumproben kann sehr fehlerträchtig sein. Von Bedeutung ist die Bestimmung der Eiweißkonzentrationen v.a. für die Ermittlung absoluter Konzentrationen der mittels Serumproteinelektrophorese ermittelten Proteinfractionen, da das Serum bis zur Durchführung der Elektrophorese i.d.R. tiefgefroren gelagert wird. Ob Unterschiede der Referenzwerte der absoluten Proteinfractionen in der Literatur mit der Bestimmung der Gesamteiweißkonzentration aus gefrorenen Proben zu erklären sein könnten, lässt sich meist nicht eruieren, da sich i.d.R. keine Angabe findet, zu welchem Zeitpunkt die Konzentration an GE ermittelt wurde.

*Werden Gesamteiweiß- und Albuminkonzentrationen mittels Biuret bzw. Bromcresolgrün bestimmt, sollten die Messungen in frischen, nicht tiefgefrorenen Serumproben erfolgen.*

#### 4.2.4 TESTSICHERHEIT

Betrachtet man die Sensitivitäten der einzelnen untersuchten Parameter (Gesamtleukozytenzahl, Fibrinogen, Gesamteiweiß und Albumin) wird deutlich, dass jeder Parameter für sich nur in unbefriedigenderer Weise richtig positive Ergebnisse erbringt.

Je nach Referenzbereich zeigen nur 64 bzw. 48 % der kranken Tiere ein abweichendes Ergebnis bei Zählung der Gesamtleukozyten. Dies bedeutet gleichzeitig, bei 36 bzw. 52 % der kranken Tiere liegt ein falsch negatives Ergebnis vor, die Erkrankung könnte somit unerkannt bleiben.

Bei 60 % der kranken Pferde ergibt die Bestimmung des Fibrinogens ein richtig positives Ergebnis, aber auch hier sind 40 % der Fälle falsch negativ.

Bei der Berechnung der Sensitivität der Bestimmung von GE und Albumin wird deutlich, dass diese Parameter allein zur Erkennung richtig positiver Ergebnisse vollkommen ungeeignet sind: 62 bzw. 82 % der Werte zeigen ein falsch negatives Ergebnis.

Werden jedoch sowohl GE als auch Albumin bestimmt, zeigen immerhin 45% der Fälle ein richtig positives Ergebnis, die Zahl der falsch negativen Fälle sinkt somit auf 55%.

Anders verhält es sich bei der Berechnung der Spezifität. Hier werden durchweg bei allen Parametern sehr gute Werte erreicht, d.h. in nur einer geringen Zahl der Fälle sind falsch positive Ergebnisse zu beobachten. Bei der Gesamtleukozytenzahl findet sich je nach Referenzbereich bei 18 bzw. 4% der Pferde ein falsch positives Ergebnis. Die Bestimmung des Fibrinogens führt in 12 % der Fälle zu einem falsch positiven Ergebnis, beim GE werden 29 % der Fälle falsch positiv eingestuft. Ein optimales Ergebnis wird bei der Messung der Albuminkonzentration erreicht. Hier lag in keinem Fall ein falsch positives Ergebnis vor. Allerdings ist hier zu berücksichtigen, dass auch andere Erkrankungen als Entzündungen wie z.B. Mangelernährung zu einer Verminderung der Albuminkonzentration führen können.

Fasst man nun verschiedene Untersuchungsmethoden zusammen, zeigt sich, dass bei gleichzeitiger Bestimmung von Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen 83% (Leukozytenreferenzwert  $5-10 \times 10^9/l$ ) bzw. 79 % (Leukozytenreferenzwert  $5-12 \times 10^9/l$ ) der Untersuchungen ein richtig positives Ergebnis haben. Die Zahl der falsch negativen Werte ist mit rund 20% deutlich herabgesetzt. Die Kombination der Bestimmung von Leukozytengesamtzahl und Albumin erbringt nur unbefriedigende Verbesserungen der Werte (Sensitivität = 0,68 und Spezifität = 0,98).

Bei der Bestimmung aller 3 Parameter (Leukozytengesamtzahl, Fibrinogen und Albumin) ergeben sich praktisch identische Werte wie im Falle der Kombination von Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen.

Eine Berechnung von Sensitivität und Spezifität für die mittels Serumprotein-elektrophorese ermittelten Globulinfraktionen ist in Ermangelung gesicherter Referenzwerte nicht sinnvoll. Zudem erscheint der Autorin wie bereits erwähnt (siehe 4.2.2.2; S. 98 ff.) die Analyse des Elektropherogramms selbst wichtiger als die Betrachtung der absoluten und prozentualen Werte der Globulinfraktionen.

*Aus diesen Beobachtungen lässt sich schlussfolgern, dass die gleichzeitige Bestimmung von Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen in etwa 80 % der Fälle ein richtig positives Ergebnis für das Vorliegen einer entzündlichen Erkrankung ergibt.*