

5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der hier vorliegenden Untersuchung war es zu ermitteln, ob und wenn ja welche Blutparameter bei Untersuchung einer einzelnen Blutprobe am besten geeignet sind, einen Hinweis auf einen entzündlichen Prozess, unabhängig von der Dauer der bestehenden Erkrankung, zu geben.

Untersucht wurden die Parameter Blutsenkungsreaktion (BSR), Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline, Fibrinogen und Serumproteinelektrophorese (SPE). Die Blutproben stammten von Pferden, die aufgrund klinischer Untersuchungen in 3 Gruppen eingeteilt wurden: Gruppe 1 waren klinisch unauffällige Patienten (n=300), Gruppe 2 enthielt Patienten mit klinisch bestätigter Entzündung (n=107) und in Gruppe 3 (n=93) wurden Pferde mit chronisch obstruktiver Bronchitis (COB) zusammengefasst.

Die BSR ist nach Literaturangaben durch die beim Pferd physiologisch beschleunigte Senkung und den Einfluss z.B. von Rasse und Hämatokrit in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen nur bedingt einzusetzen. In der hier vorliegenden Untersuchung konnten keine diagnostisch verwertbaren Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Der beschriebene Einfluss der Rasse war nicht nachzuweisen.

Die Ergebnisse der Leukozytengesamtzahl und des Differentialblutzellbildes zeigten bei Untersuchung in einer Einzelprobe keine relevanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Werden Leukozytenzahlen $>12 \times 10^9/l$ als sicheres Zeichen für das Vorliegen einer Entzündung gedeutet, ergibt die Untersuchung bei 52% der Patienten der Gruppe 2 ein falsch negatives Ergebnis. Die eigenen Untersuchungen bestätigen des Weiteren Angaben in der Literatur, dass beim Pferd deutlich weniger umfangreiche entzündlich bedingte Reaktionen der Leukozyten auftreten als z.B. bei Karnivoren.

Anhand eines Lagerungsversuches konnte nachgewiesen werden, dass die Bestimmung der Blutkonzentrationen von Gesamteiweiß und Albumin aus tiefgefrorenen Serumproben unzuverlässig ist. Ursachen für die abweichenden Ergebnisse vor bzw. nach Einfrieren sollten im Rahmen einer weiteren Untersuchung geklärt werden.

Die Messung der Proteinkonzentrationen erfolgte im Rahmen der eigenen Untersuchung innerhalb weniger Stunden nach Blutentnahme. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die in der Literatur beschriebenen entzündlich bedingten Dysproteinämien mit Ver-

minderung der Albumin- und Erhöhung der Globulinkonzentration lediglich bei 45% der Pferde der Gruppe 2 nachzuweisen waren. Gleichwohl lag der Mittelwert der Albuminkonzentration der Gruppe 2 hoch signifikant unter dem Mittelwert der Gruppe 1.

Ein eindeutiger Nachweis, welche Globulinfraktion die Erhöhung der Gesamtglobuline verursacht, kann nur durch die SPE erbracht werden. So wurde bei Gruppe 2 eine hoch signifikante durchschnittliche Erhöhung sowohl der a- als auch der b-Globuline ermittelt. Durch die Unterschiede bei der Einteilung der Fraktionen anhand des Elektropherogramms ist ein Vergleich von Referenzwertangaben innerhalb der Literatur und mit den eigenen Werten nicht möglich. Angaben verschiedener Autoren, wonach im Verlauf der Entzündung zunächst die a- und bei zunehmender Chronizität die b- und letztendlich auch die g-Globuline ansteigen, konnten wegen des hier gewählten Untersuchungsaufbaus nicht bestätigt werden.

Aufgrund von Verlaufsuntersuchungen wurde von verschiedenen Autoren gefolgert, dass das Fibrinogen beim Pferd ein Akut-Phase-Protein (APP) darstellt. Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration erwies sich in der eigenen Untersuchung auch bei Messung einer Einzelprobe zur Erkennung eines entzündlichen Prozesses als sehr hilfreich. Der Mittelwert der Gruppe 2 (4,03 g/l) lag trotz des relativ hohen Streufaktors von 1,52 statistisch hoch signifikant über dem der Gruppe 1 (2,52 g/l; SF 1,31) und auch dem Referenzbereich von 1,5-3,5 g/l. Gleichwohl führt die alleinige Bestimmung des Fibrinogens bei 40% der Patienten der Gruppe 2 zu einem falsch negativen Ergebnis. Werden jedoch Gesamtleukozytenzahl und Fibrinogen gemeinsam betrachtet, sinkt die Gefahr eines falsch negativen Ergebnisses auf rund 20%.

Die Literaturlauswertung zeigte, dass in Zukunft nach Etablierung einer geeigneten Messmethode möglicherweise auch das APP Serum Amyloid A (SAA) in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen beim Pferd wichtige Hinweise auf Schwere und bestehende Dauer des Prozesses geben kann. Es fehlen jedoch noch Untersuchungen mit umfangreichem Patientengut. Die bisher verfügbaren Ergebnisse stammen überwiegend aus experimentellen Studien. Interessant und sinnvoll wären insbesondere vergleichende Studien bezüglich der Reaktionen von Gesamtleukozyten, Fibrinogen und SAA im Verlauf eines entzündlichen Prozesses. Möglicherweise könnte die Anzahl falsch negativer Ergebnisse noch deutlicher reduziert werden.

Nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen bestanden keine klinisch relevanten Unterschiede in den genannten Parametern zwischen Gruppe 1 und 3. Daher sind diese Blutuntersuchungen nicht geeignet, die Diagnose der COB zu bestätigen.

Als Schlussfolgerungen ergeben sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit:

- 1. bei dem Verdacht einer entzündlichen Veränderung beim Pferd sollte die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration in die Routineblutuntersuchung einbezogen werden,*
- 2. die Bestimmung der Gesamteiweißkonzentration sollte immer durch die Bestimmung der Albuminkonzentration ergänzt werden,*
- 3. Konzentrationen von GE und Albumin sollten nicht in tiefgekühlt gelagerten Proben bestimmt werden,*
- 4. die Bestimmung der Blutsenkungsreaktion ist beim Pferd zumindest mit der hier gewählten Methodik wertlos.*

6. SUMMARY

The aim of the study was to determine the most suitable hematological or biochemical parameter for detection of an inflammatory disorder in horses, regardless of duration of the disease and by using just one sample.

The following parameters were examined: erythrocyte sedimentation rate (ESR), white blood cell (WBC) and differential blood count, total protein, albumin, globulins, fibrinogen and serumproteinelectrophoresis (SPE). Samples were derived from horses divided into 3 groups, according to the results of the clinical examination: group 1 were horses with normal clinical findings (n=300), group 2 consisted of patients with clinically confirmed inflammation (n=107) and in group 3 (n=93) horses diagnosed as suffering from chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were summarized.

The use of the ESR for diagnosing inflammatory disorders in horses is discussed in the literature because of the physiologically accelerated settling of erythrocytes in this species and the effects of breed and hematocrit. In the present study, there were no diagnostically usable differences between the 3 groups. An influence of breed was not confirmed.

The results of WBC and differential blood counts showed no relevant differences between the 3 groups. If the upper limit of the normal WBC range is set at $12 \times 10^9/l$ in group 2, 52% of horses had a wrong negative result. Furthermore, the results of the present study confirm the observation, that changes in WBC and differential blood counts generally are less marked in horses, than for example in carnivores.

In this study, storage of serum at -18°C has proven, that determination of total protein respectively albumin (methods: biuret resp. bromcresolgreen) was unreliable in frozen samples. Causes for the differences between results before and after storage are unknown and should be evaluated in a following study.

In the present study, total protein and albumin serum concentrations were determined a few hours after taking the samples. The results showed, that dysproteinemias with decrease of albumin and increase of globulins, which are said to be typical in inflammatory conditions, were present in only 45% of horses in group 2. Nevertheless the mean concentration of albumin in group 2 was significantly reduced in comparison to group 1.

Measurement of fractions of globulins was achieved by electrophoresis. In this thesis, there was a significant increase in a- and b-globulins in group 2. It is impossible to compare absolute or relative globulin values between studies because of highly individual division of the electropherogram into fractions. Raised values of g-globulins in chronic inflammation have been reported, but could not be detected in this study probably because of varying duration of the disease in group 2.

Several authors concluded from their studies of the course of continued inflammatory disease, that fibrinogen is an acute-phase-protein (APP) in horses. In the present study, measurement of fibrinogen was helpful to detect an inflammatory disorder, even by examining just a single sample. The mean concentration of fibrinogen (4.03 g/l) in the group 2 was significantly raised in comparison to group 1 (2.52 g/l) and also higher than the reference range (1.5-3.5 g/l). However, even measurement of fibrinogen showed 40% wrong negative results in group 2. Combined consideration of WBC count and fibrinogen reduces the possibility of wrong negative results to 20%.

The analysis of references showed, that the APP serum amyloid A (SAA) could become an important diagnostic aid to specify degree and duration of inflammation. However, a routinely usable method for measurement of SAA in horses still needs to become established. Studies comparing WBC count, fibrinogen and SAA are of special interest and might further reduce the possibility of wrong negative results in laboratory diagnosis of inflammation in horses.

In the present study, there were no relevant differences in the chosen parameters between group 1 and 3. These examinations of bloodsamples are not suitable for diagnosing chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

The conclusions of the present study are as follows:

- 1. measurement of fibrinogen should be added to the routine diagnostic procedures in cases of suspected inflammation in horses,*
- 2. measurement of albumin should be added to that of total protein,*
- 3. measurements of total protein and albumin have to take place in samples which are not stored frozen, and*
- 4. measurement of ESR in horses is worthless at least by using the method of this study.*