

# Hämatologische und blutchemische Referenzbereiche bei Pferden unterschiedlicher Rasse und Altersgruppen basierend auf neuesten labordiagnostischen Methoden

Gabor Köller, Tina Gieseler und Gerald F. Schusser

Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

**Zusammenfassung:** Ziel dieser Arbeit war es, hämatologische und klinisch-chemische Referenzbereiche für Pferde unter Berücksichtigung des Alters und der Rassen zu erstellen. Es wurden Haflinger, Kaltblutpferde, Islandpferde, Ponies (Reitponys und Shetlandponys) und Warmblutpferde untersucht. Bei den Warmblutpferden wurden die Referenzwerte für Fohlen (1.–4. Lebensmonat), Jungpferde (1–3 Jahre) und erwachsenen Warmblutpferden (>3 Jahre) berechnet. Dabei wurden 19 hämatologische und 25 klinisch-chemische Serumparameter mittels neuester labordiagnostischer Methoden untersucht. Zu den hämatologischen Parametern zählen die Erythrozyten-, Leukozyten-, Thrombozytenzahl, Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenvolumen (MCV), mittlere Hämoglobingehalt der Erythrozyten (MCH), mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC), die Anzahl der neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten, die Lymphozyten- und Monozytenzahl, Parameter des Differenzialblutbildes das Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis, die relativen Zellzahlen der neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten sowie der Lymphozyten und Monozyten. Die untersuchten klinisch-chemischen Serumparameter umfassten die Konzentrationen von Totalproteins, Albumin, Globulin, das Albumin-Globulin-Verhältnis, die Elektrolyt- (Na, K, Cl), Mineralstoff- (Mg, Ca, anorg. Phosphat, Fe) und Metabolitkonzentrationen (Gesamtbilirubin, direktes Bilirubin, Harnstoff, Kreatinin, Glukose, Laktat, Cholesteroll, Triglyceride) sowie die Enzymaktivitäten der alkalischen Phosphatase (ALP), Aspartataminotransferase (AST), -Glutamyltransferase (GGT), Glutamatdehydrogenase (GLDH), Laktatdehydrogenase (LDH) und Creatinkinase (CK). Die Erstellung von Referenzbereichen erfolgte nach der Richtlinie EP28-A3C der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) vom Jahre 2010. Es zeigte sich, dass Haflinger, Kaltblutpferde und Ponys, bis auf das Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis, der Globulin- und Triglyzeridkonzentration identische Referenzbereiche haben. Islandpferde dagegen zeigten deutlich veränderte Referenzbereiche gegenüber den anderen Rassen.

**Schlüsselwörter:** Referenzbereiche / Pferde / klinische Chemie / Hämatologie / IFCC-Richtlinie

---

## Hematology and serum biochemistry reference ranges of horses of different breeds and age measured with newest clinicopathological methods

Reference intervals were used from clinicians to interpret clinicopathological findings. They are usually reported as population-based reference intervals (RIs) comprising 95% of the healthy population. Recommendations based on guideline EP28-A3C of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) from 2010 are more than 120 reference individuals and a nonparametric test as the preferred statistical method. The robust method is recommended if less than 120 individuals are included. The aim of this study was to establish new reference ranges using the newest laboratory medicine methods and actual instruments according to the recommendations of the IFCC. Blood samples of 649 horses with an age between 1 month and 27 years from different breeds were collected. EDTA-blood was used for analyzing hematological parameters like erythrocyte, leukocyte and thrombocyte numbers, packed cell volume, haemoglobin concentration, erythrocyte volume (MCV), mean hemoglobin content (MCH) and mean hemoglobin concentration (MCHC), cell counts of neutrophil, eosinophil and basophil granulocytes, lymphocytes and monocytes. Total protein, albumin, globulin, albumin/globulin ratio, concentrations of electrolytes (Na, K, and Cl), minerals (Mg, Ca, inorganic phosphate and Fe), metabolites (total bilirubin, direct bilirubin, urea, creatinine, glucose, lactate, cholesterol, triglyceride) and enzyme activities of alkaline phosphatase (ALP), aspartate amino transferase (AST), glutamyl transferase (GGT), glutamate dehydrogenase (GLDH), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) were determined using serum samples. Age-related and breed-dependent reference ranges lead on to different approach to diagnostic decisions.

**Keywords:** reference range / horse / clinical chemistry / hematology / IFCC-Guideline

---

**Korrespondenz:** Gerald F. Schusser, Prof. Dr. Dipl. ECEIM, Universität Leipzig, Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig, Germany, E-Mail: schusser@uni-leipzig.de

**Zitation:** Köller G., Gieseler T., Schusser G. F. (2014) Hämatologische und blutchemische Referenzbereiche bei Pferden unterschiedlicher Rasse und Altersgruppen basierend auf neuesten labordiagnostischen Methoden. *Pferdeheilkunde* 30, 381-393

## Einleitung

In der Interpretation von klinisch-chemischen oder hämatologischen Blutwerten spielen Referenzbereiche eine zentrale Rolle. Referenzbereiche sind von vielen Faktoren (Spezies, Geschlecht, Alter, Rasse, Art der Probenahme, analytische Untersuchungsmethode) abhängig (Knoll und Rowell 1996). Innerhalb einer Spezies sind Blutwerte altersabhängig. Bei der

Interpretation von Blutwerten muss dies berücksichtigt werden (Messer 1995). Oft sind Referenzbereiche auch laborspezifisch, aufgrund der Verwendung von unterschiedlichen Methoden und Geräten. Auch die uneinheitliche Temperatur bei klinisch-chemischen Bestimmungsmethoden führt nur zu einer bedingten Vergleichbarkeit von Referenzbereichen. Zur Interpretation von Laborwerten sind die Referenzbereiche des

entsprechenden Labors zu berücksichtigen (Stockham 1995). Die Erstellung von Referenzbereichen erfolgt nach der Richtlinie EP28-A3C, die von der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) im Jahre 2010 herausgegeben worden ist (Horowitz 2010). Diese Richtlinie bezieht sich hauptsächlich auf die Erstellung der Referenzbereiche in humanmedizinischen Laboratorien. Sie kann aber auch in der Veterinärmedizin angewendet werden (Friedrichs et al. 2012). Nach der IFCC-Richtlinie gliedert sich der Prozess der Referenzbereicherstellung in mehrere Schritte. Im ersten Schritt, der Planung, müssen für die labor-diagnostischen Parameter mögliche analytische Interferenzen und Quellen biologischer Variabilität identifiziert werden. Dies kann für bekannte Parameter durch eine intensive Literaturrecherche erreicht werden. Für neue und weniger gut untersuchte Laborparameter müssen zusätzliche Laboruntersuchungen durchgeführt werden. Zur Selektion der entsprechenden Tiere müssen Einschluss- und Ausschlusskriterien, hinsichtlich Rasse, Alter, Geschlecht festgelegt werden. Die Erstellung der Referenzbereiche erfordert somit die Auswahl von klinisch gesunden Tieren. Weiterhin muss ein Untersuchungsformular erarbeitet werden, die die klinische Untersuchung des Tieres zum Zeitpunkt der Blutentnahme dokumentiert. Ein weiterer Aspekt, der in der Planungsphase berücksichtigt werden muss, ist die Fallzahl (Horowitz 2010).

Nach Abschluss der Planungsphase kann das Untersuchungsmaterial gesammelt werden. Hierbei ist es wichtig, sich an die in der Planungsphase festgelegten, Rahmenbedingungen zu halten. Der Zeitpunkt der Probenahme sollte möglichst konstant gehalten werden, insbesondere bei Blutparametern, die einem zirkadianem Rhythmus unterliegen oder fütterungsabhängig sind. Die eigentliche Probenahme und die anschließende Probenbehandlung haben nach einem festgelegten Protokoll zu erfolgen, um mögliche auftretende Varianzen zu minimieren (Horowitz 2010). Die Probenlagerung und die anschließende Untersuchung der Proben, haben unter definierten Bedingungen und im Einklang mit der Routinediagnostik zu erfolgen. Der nächste Schritt der statistischen Auswertung, gemäß der oben angeführten IFCC-Richtlinie, ist die Untersuchung der Verteilung der Messwerte. Hierzu wird ein Histogramm aus den Messwerten erstellt. Der Test auf Normalverteilung erfolgt nach dem Anderson-Darling-Test. Dieser Test ist ein abgewandelter Kolmogoroff-Smirnoff-Test, der die beiden äußeren Bereiche der Verteilung besser berücksichtigt (Solberg 1986, Anderson und Darling 1954). Liegen die Werte nicht normalverteilt vor, kann entweder eine logarithmische oder eine Box-Cox-Transformation vorgenommen werden (Box und Cox 1964). Ziel der Transformation ist es, die Daten für die weitere Statistik in eine Normalverteilung zu überführen. Danach müssen die Daten auf mögliche Ausreißer getestet werden. Wenn Ausreißer durch falsche Probenahme oder Probenbehandlung entstanden sind, können sie von der weiteren statistischen Untersuchung ausgeschlossen werden. Dies schließt auch präanalytische Effekte, wie z.B. Pseudothrombozytopenie, aufgrund der EDTA-vermittelten Aggregation der Thrombozyten in einem EDTA-Vollblut, mit ein. Ein wichtiges Kriterium bei der Bewertung der Ausreißer sind die in der Planungsphase identifizierten Quellen biologischer und analytischer Variabilität. Kann keine Ursache für einen Ausreißer gefunden werden, wird empfohlen, den Wert nicht zu entfernen. Die Bestimmung von Ausreißern kann entweder mit dem Ausreißertest nach Dixon (Dixon 1953) oder mit der Methode

nach Tukey (Tukey 1977) durchgeführt werden. Da für den Ausreißertest nach Tukey die Werte normalverteilt vorliegen müssen, werden nur normalverteilte oder transformierte Daten mit diesem Test untersucht. Im anschließenden Schritt werden die Referenzbereiche berechnet. Für die Berechnung des Referenzbereiches wird die nichtparametrische Methode empfohlen. Bei dieser Methode werden die einzelnen Messwerte nach ihrer Größe sortiert und danach das 95%-Referenzintervall bestimmt. Die Intervallgrenzen befinden sich beim 2,5%- und 97,5%-Perzentil. Diese Methode ist einfach und wird auf normal- und nichtnormalverteilten Daten angewendet. Mindestens 120 Einzelwerte sind Voraussetzung für die Berechnung der Referenzbereiche und der dazugehörigen 90%-Konfidenzintervalle. Bei kleineren Datensätzen können keine 90%-Konfidenzintervalle berechnet werden (Friedrichs et al. 2012). Die Erstellung von großen Datensätzen ist sehr teuer und zeitaufwendig. Um auch für kleinere Datensätze mit einer Größe zwischen 20 und 120 Fällen, Referenzbereiche zu berechnen, kann die robuste Methode von Horn et al. (1998) angewendet werden. Diese Methode beinhaltet einen Algorithmus, bei dem das Zentrum und die Breite der Verteilung iterativ berechnet werden. Aus dem Zentrum und der Breite der Verteilung wird der Referenzbereich berechnet. Für die Anwendung dieser Methode müssen die Daten allerdings normalverteilt vorliegen. Zur Berechnung der Referenzbereichsgrenzen gehört auch die Berechnung der 90%-Konfidenzintervalle. Ein 90%-Konfidenzintervall zeigt, in welchem Bereich sich die Grenzen des Referenzbereichs mit 90%-Wahrscheinlichkeit bewegen. Je größer das Konfidenzintervall ist, desto größer ist die Unsicherheit der Referenzbereichsgrenze. Aus diesem Grund wird in der IFCC-Richtlinie empfohlen, dass die Breite des Konfidenzintervalles nur 20% des Interquartilabstandes betragen soll. Ist das Konfidenzintervall breiter, ist das ein Hinweis auf eine zu geringe Probenanzahl. Somit ist die Breite des Konfidenzintervalles ein Qualitätsmaß für die Grenzen des Referenzbereiches. Das Konfidenzintervall kann für Datensätze mit mehr als 120 Werten nichtparametrisch ermittelt werden. Für Referenzbereiche, die aus Datensätzen mit weniger als 120 Werten ermittelt wurden, kann die Berechnung der Konfidenzintervalle durch Bootstrapping- und Resampling-Methoden durchgeführt werden (Efron 1982, Horn et al. 1998). Eine Fallzahl unter 20 eignet sich nicht für die Berechnung von Referenzbereichen (Friedrichs et al. 2012). Wenn ein Datensatz in zwei Unterdatensätze aufgespalten wird, müssen die Referenzbereiche der beiden Subpopulationen auf Unterschiedlichkeit getestet werden. Hierfür wird ein Verfahren von Harris und Boyd (1990) verwendet. Dieser Test setzt eine Normalverteilung der Daten voraus. Bei der Bewertung von Referenzbereichen müssen auch die empirisch gewonnenen Erfahrungen mit einfließen (Horowitz 2010).

Die alters- und rasseabhängigen, hämatologischen und blutchemischen Werte wurden aus der Dissertation von Tina Gieseler entnommen (Gieseler 2012). Ziel dieser Arbeit war es, die Referenzbereiche gemäß der international anerkannten IFCC-Richtlinie EP28-A3C zu erstellen (Horowitz 2010).

## Material und Methoden

Es wurden insgesamt 649 Pferde der Rassen Warmblut, Kaltblut, Haflinger, Islandpferd, Shetlandpony und Reitpony aus Sachsen, Thüringen und Sachsen-Anhalt im Alter zwischen 1 Woche und 27 Jahren untersucht. Die Entnahme der Blut-

proben erfolgte von April bis Juni. Die Blutentnahmen wurden im Rahmen der Bestandsbetreuung aufgrund tierärztlicher Beauftragung durchgeführt.

Zur Überprüfung der Referenztauglichkeit für die ausgewählten Pferde wurde eine Anamnese hinsichtlich früherer Erkrankungen, Fütterung, Haltungsbedingungen sowie deren Nutzung erhoben. Danach erfolgte die Überprüfung des klinischen Gesundheitszustandes, in Form einer Einzeltieruntersuchung, gemäß des allgemeinen Untersuchungsganges (Schusser 2009). Folgende Befunde führten zum Ausschluss von 74 Pferden aus den anschließenden Blutuntersuchungen (Ausschlusskriterien):

- Pferde mit mittelgradig gesteigerten Allgemeinverhalten (Einsatz einer Nasenbremse)
- Pferde mit Fieber (adulte Pferde  $>38,0$  °C; Saugfohlen  $>38,5$  °C)
- Pferde mit Verletzungen
- Pferde mit Durchfall
- Pferde mit Kolik
- Pferde mit Herzarrhythmie bzw. Herzgeräuschen ( $>$  Grad 3/6)
- Pferde mit chronischen Atemwegserkrankungen- Pferde mit akuter oder chronischer Hufrehe
- Pferde, die zum Zeitpunkt der Untersuchung medikamentell behandelt wurden
- Mutterstuten im Puerperium.

Nach der klinischen Untersuchung erfolgte die Blutentnahme vormittags zwischen 8:00 und 12:00 Uhr nach der morgendlichen Fütterung, durchgeführt zwischen 6 und 7 Uhr. Das Blut wurde nach Desinfektion der Haut im Bereich der Einstichstelle mittels einer sterilen  $1,2 \times 40$  mm Luer-Kanüle (Fa. Terumo Europe, Leuven, Belgien) aus der Vena jugularis externa dextrum sinistram gewonnen. Die Stauung des Gefäßes erfolgte unmittelbar vor der Blutentnahme und beschränkte sich auf ein notwendiges Maß. Das Blut wurde direkt wandständig einfließend in 10 ml Serumröhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) und in 4 ml EDTA-Röhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) gesammelt. Bis zur Untersuchung wurden die Proben vier bis sechs Stunden in einem gekühlten, isolierten Behälter aufbewahrt. Nach Ankunft im Labor erfolgten sofort die hämatologische Untersuchung und die Gewinnung des Serums durch Zentrifugation bei 4 °C. Das Serum wurde bis zur Untersuchung bei -22 °C maximal 2 Monate aufbewahrt.

Die Erstellung der Blutbilder, einschließlich der Differenzierung der Leukozyten, aus dem EDTA-Blut, erfolgte mit dem Hämatologiesystem ADVIA 120 (Fa. Siemens Healthcare Diagnostics, Dreieich, Deutschland) durch eine Dreifachbestimmung. Die Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter aus dem gewonnenen Serum erfolgte mit dem Analyseautomaten Hitachi 912 (Fa. Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Deutschland). Die Reagenzien für den Automaten wurden von Fa. Roche Diagnostics und von Fa. Randox (Randox Ltd, Krefeld, Deutschland) bezogen. In Tabelle 1 sind die untersuchten klinisch-chemischen Parameter und eine kurze Beschreibung der Methodik aufgeführt.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem freien Statistikprogramm R (R Core Team 2013). Die Berechnung der Referenzbereiche erfolgte nach den IFCC-Regeln der

Richtlinie EP28-A3C vom Oktober 2010 (Horowitz 2008). Nach der Aufteilung der Daten in die entsprechende Alters- bzw. Rassegruppe erfolgte für jeden Parameter in jeder Gruppe die Prüfung auf Normalverteilung mit dem Anderson-Darling-Test (Anderson und Darling 1954). Daten, die nicht normalverteilt vorlagen, wurden mit der BoxCox-Transformation bearbeitet und erneut auf Normalverteilung getestet. Danach wurden die Daten auf Ausreißer mit dem Test nach Dixon (1953) getestet. Für die Berechnung der Referenzbereiche wurden die ausreißerbereinigten Daten verwendet, die sowohl mit der nichtparametrischen als auch mit der robusten Methode nach Horn et al. (1998) ermittelt wurden. Bei Datensätzen mit weniger als 120 Proben wurden die Referenzbereiche mit der robusten Methode berechnet. Alle anderen Referenzbereiche wurden mit der nichtparametrischen Methode berechnet. Der Vergleich der errechneten Referenzbereiche erfolgte mit Hilfe einer z-Statistik, wie sie in der IFCC-Richtlinie angegeben wird. Konnte kein signifikanter Unterschied in den Referenzbereichen zwischen zwei Gruppen festgestellt werden, wurden die beiden Gruppen zusammengelegt und der Referenzbereich nach der oben beschriebenen Methode erneut berechnet. Gemeinsame Referenzbereiche sind in den Tabellen 2, 3, 4 und 5 durch gemeinsame Zellen erkennbar. Die Zahl der Hengste der aufgelisteten Rassen und Gruppen war stets kleiner als 120. Die Blutwerte der Hengste ( $n=138$ ), Wallache ( $n=174$ ) und Stuten ( $n=290$ ) der angeführten Rassen und Altersgruppen waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich, so dass eine Auflistung der geschlechtsspezifischen Referenzbereiche, berechnet nach der robusten Methode nach Horn et al. (1998), im Kapitel Ergebnisse unterblieb.

## Ergebnisse

### *Altersabhängige Referenzbereiche bei Warmblutpferden*

Die 368 Warmblutpferde wurden aufgrund ihres Alters in die folgenden 4 Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 bildeten 29 Fohlen im Alter von 1 Woche bis 4 Monaten. In Gruppe 2 wurden 75 Jungpferde mit einem Alter zwischen 1 und 2 Jahren zusammengefasst. Adulte Warmblutpferde mit einem Alter zwischen 3 und 17 Jahren bilden mit 230 Pferden die Gruppe 3. In der Gruppe 4 sind 23 Pferde mit einem Alter über 17 Jahren zusammengefasst. Elf Pferde wurden von der statistischen Untersuchung aufgrund stark veränderter Werte, die auf krankhafte Befunde hinweisen, ausgeschlossen. In Tabelle 2 sind die altersabhängigen hämatologischen und in Tabelle 3 die altersabhängigen klinisch-chemischen Referenzbereiche dargestellt. Aufgrund der geringen Fallzahl, in den Gruppen 1 und 4 wurden keine Konfidenzintervalle für die Referenzbereiche berücksichtigt. Für die anderen beiden Gruppen wurde für die untere und obere Referenzbereichsgrenze jeweils das 90 % Konfidenzintervall berechnet. Der Referenzbereich bei einigen Parametern zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In diesen Fällen wird ein gemeinsamer Referenzbereich für alle identischen Gruppen angegeben.

### Hämatologische Parameter

Die Referenzbereiche der Parameter des kleinen Blutbildes ändern sich im Laufe des Lebens. Die Erythrozytenzahl sinkt

in den ersten beiden Lebensjahren stark. Bei alten Pferden über 17 Jahren ist die maximale, physiologische Erythrozytenzahl ebenfalls etwas abgesenkt. Im Gegenzug dazu steigt der Hämatokrit im Laufe der ersten Lebensjahre von 0,24–0,34 l/l auf 0,27–0,39 l/l leicht an. Die sinkende

Erythrozytenzahl bei steigendem Hämatokrit ist Ausdruck einer Erhöhung des Erythrozytenvolumens (MCV). Der MCV steigt mit zunehmendem Alter. Pferde über 17 Jahre haben einen signifikant höheren Referenzbereich für MCV als jüngere Pferde. Parallel zum MCV steigt auch der mittlere

**Tab. 1** Beschreibung der angewendeten Methoden der klinisch-chemischen Blutparameter / *Description of used clinicochemical methods*

Test	Bezeichnung	Hersteller	Beschreibung
Laktat	L-Laktat	Roche	Oxidation von L-Laktat mittels Laktatoxidase zu Wasserstoffperoxid und Pyruvat. Wasserstoffperoxid wird mit 4-Aminoantipyrin zu einem Farbstoff umgesetzt.
CK	Kreatinin-kinase	Roche	Kreatininphosphat wird von CK unter Verwendung von ADP dephosphoryliert. Das entstandene ATP wird mit Glucose über Hexokinase/Glucose-6-phosphat-dehydrogenase zu Guconat-6-Phosphat umgewandelt. Das bei der Reaktion entstehende NADPH wird photometrisch erfasst.
LDH	Laktat-dehydrogenase	Roche	LDH katalysiert die Umsetzung von L-Laktat und NAD <sup>+</sup> zu Pyruvat und NADH. Die Bildungsgeschwindigkeit von NADH ist proportional zur LDH-Aktivität.
GLDH	Glutamat-dehydrogenase	Roche	GLDH katalysiert die NADH-abhängige Umsetzung von $\alpha$ -Ketoglutarat, NADH und Ammoniumionen zu Glutamat, NAD <sup>+</sup> und Wasser. Die NADH-Abnahme wird photometrisch verfolgt und ist proportional zur GLDH-Aktivität.
AST	Aspartatamino-transferase	Roche	AST katalysiert die Umsetzung von $\alpha$ -Ketoglutarat und L-Aspartat zu L-Glutamat und Oxalacetat, dass mit NADH, durch Malatdehydrogenase zu Malat umgewandelt wird. Der photometrisch gemessene Verbrauch von NADH ist proportional zur AST-Aktivität.
ALP	Alkalische Phosphatase	Roche	p-Nitrophenylphosphat wird in Gegenwart von ALP zu Phosphat und Nitrophenol gespalten. Das freigesetzte Nitrophenol wird bei 450nm photometrisch gemessen.
Kreatinin	Kreatinin	Roche	Kreatinin bildet mit Pikrat in alkalischer Lösung einen gelb-orange-gefärbten Farbkomplex dessen Farbintensität proportional zur Creatininkonzentration ist.
Bilirubin	Gesamtbilirubin und dir. Bilirubin	Randox	Direktes Bilirubin reagiert mit diazotierter Sulphanilsäure im alkalischen zu einem blaugefärbten Komplex, der photometrisch erfasst wird. Gesamtbilirubin wird in Anwesenheit von Koffein zu dem blauen Farbkomplex diazotiert.
Albumin	Albumin	Roche	Albumin bildet mit Bromkresolgrün bei pH 4,1 einen blaugrünen Farbkomplex.
Harnstoff	Harnstoff	Roche	Harnstoff wird durch Urease zu CO <sub>2</sub> und Ammonium hydrolysiert. Das gebildete Ammonium reagiert anschließend mit $\alpha$ -Ketoglutarat und NADH in Gegenwart von GLDH zu Glutamat und NAD <sup>+</sup> . Die Konzentrationsabnahme von NADH wird photometrisch verfolgt.
Gesamt-Ca	Kalzium	Roche	Ca reagiert mit o-Kresolphthalein-Komplexon in alkalischer Lösung zu einem Farbkomplex.
Cholesterol	Cholesterol	Roche	Cholesterinester werden unter Einwirkung der Cholin-esterase und Cholesterinoxidase Cholest-4-en-3-on und Wasserstoffperoxid umgesetzt. Das entstandene Wasserstoffperoxid bildet mit 4-Aminophenazon unter katalytischer Wirkung der Peroxidase einen roten Farbstoff, der photometrisch gemessen werden kann.
GGT	g-Glutamyl-transferase	Roche	GGT überträgt den g-Glutamylrest von L-g-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid auf Glycylglycin. Dabei wird das entstandene 5-Amino-2-nitrobenzoesäure, das proportional zur GGT-Aktivität ist, photometrisch erfasst.
Fe	Eisen	Roche	Fe wird im sauren Bereich von Transferrin abgelöst und durch Ascorbat zu Fe <sup>2+</sup> -Ionen reduziert, die dann mit Ferrozine einen Farbkomplex bilden. Die Farbintensität ist hierbei proportional zur Eisenkonzentration.
Mg	Magnesium	Roche	Magnesium bildet in alkalischer Lösung mit Xylidylblau einen purpurroten Komplex. Die Magnesiumkonzentration wird durch die Abnahme der Xylidylblauextinktion photometrisch gemessen.
anorg. Phosphat	anorganisches Phosphat	Roche	Anorg. Phosphat bildet mit Ammoniummolybdat in schwefelsaurer Lösung einen Ammoniumphosphomolybdat-Komplex. Der Komplex wird bei 340nm gemessen und ist proportional zur Phosphatkonzentration.
Totalprotein	Totalprotein	Roche	Kupfer-(II)-Ionen reagieren in alkalischer Lösung mit Proteinen zum purpurfarbenen Biuret-Komplex. Die gemessene Farbreaktion ist proportional zur Proteinkonzentration.
Glukose	Glukose	Roche	Glukose wird durch ATP und Hexokinase zu Glukose-6-Phosphat (G6P) phosphoryliert. G6P wird in Gegenwart von G6P-Dehydrogenase mit NADP <sup>+</sup> zu Glukonat-6-Phosphat oxidiert. Die Geschwindigkeit der NADPH-Zunahme ist direkt proportional zur Glukosekonzentration und wird photometrisch vermessen.
Triglyzeride	Triglyzeride	Roche	TG werden durch Lipoproteinlipase in Glycerin und FFS gespalten. Glycerin wird anschließend in Gegenwart von ATP, Glycerinphosphatase und Sauerstoff zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid oxidiert. Das entstandene Wasserstoffperoxid wird mit 4-Aminophenazon in einen roten Farbstoff überführt.
Na	Natrium	Roche	ionensensitive Elektrode
K	Kalium	Roche	ionensensitive Elektrode
Cl	Chlorid	Roche	ionensensitive Elektrode

Hämoglobingehalt (MCH) der Erythrozyten. Der Referenzbereich der mittleren Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) ändert sich mit zunehmendem Alter dagegen nicht. Die Gesamthämoglobinkonzentration des Blutes ist in den ersten beiden Lebensjahren etwas geringer als bei den adulten Pferden. Der Referenzbereich der Thrombozytenzahl liegt mit 140–331 G/l bei Fohlen etwas über dem der Jungpferde (98–311 G/l) und adulten Pferde (113–236 G/l). Der Referenzbereich der Leukozytenzahl liegt bei den Fohlen und Jungpferde über dem Referenzbereich der adulten Pferde. Bei der Differenzierung der Leukozyten zeigt sich, dass der Referenzbereich der neutrophilen Granulozyten im Vergleich zu dem Referenzbereich der Lymphozyten schneller sinkt. Das Verhältnis der Zellzah-

len der neutrophilen Granulozyten zu den Lymphozyten ist bei Fohlen größer als den adulten Pferden. Die Zahl der eosinophilen und basophilen Granulozyten sollten beim gesunden Fohlen nicht über 0,3 G/l bzw. 0,1 G/l vorkommen. Erst ab einem Alter von 1 Jahr können 0,1–0,7 G/l toleriert werden.

#### Klinisch-chemische Parameter

Die Referenzbereiche (Tab. 3) der klinisch-chemischen Parameter ändern sich zu Beginn des Lebens und bleiben ab einem Alter von 3 Jahren konstant. In den ersten beiden Lebensjahren steigt der Referenzbereich für Totalprotein von

**Tab. 2** Altersabhängige, hämatologische Referenzbereiche der Warmblutpferde (Referenzbereich ermittelt bei  $n < 120$  mittels robuster Methode nach Horn et al. (1998); Referenzbereich ermittelt bei  $n > 120$  mittels nichtparametrischer Methode nach Horowitz et al. (2008), in Klammern gesetzte Werte bedeuten die 90 %-Konfidenzintervalle der Referenzbereichsgrenzen)  
*Age-dependent hematological reference ranges of warmblood horses (reference range calculated by robust method for  $n < 120$ ; non parametric method were used in  $n > 120$ ; 90 % confidence intervals of reference limits are shown in parenthesis)*

	1-4 Monate n=27	1-2 Jahre n=75	3-17 Jahre n=230	>17 Jahre n=23
Erythrozyten (T/l)	7,1 bis 11,9	7,4 bis 10,2 (7,27-7,479) - (9,64-10,29)	6,6 bis 9,8 (6,45-6,86) - (9,45-10,52)	6,6 bis 8,5
Leukozyten (G/l)	4,8 bis 16,5	6,9 bis 15,9 (6,4-8,4) - (15,41-15,9)	4,4 bis 12,0 (3,3-5,4) - (11-13,6)	
Thrombozyten (G/l)	136 bis 332	98 bis 311 (96-122,1) - (291,7-339)	113 bis 236 (38-125) - (223-241)	
Hämatokrit (l/l)		0,24 bis 0,34 (0,23-0,25) - (0,33-0,37)	0,27 bis 0,39 (0,27-0,28) - (0,38-0,4)	
Hämoglobin (mmol/l)		6,2 bis 9,1 (5,9-6,6) - (8,67-9,6)	7,2 bis 10,2 (6,9-7,3) - (9,9-10,8)	7,0 bis 9,7
MCV (fl)	26,10 bis 34,94	29,64 bis 38,58 (29,1-31,04) - (37,48-39,3)	36,06 bis 45,90 (34,6-36,6) - (45-46,5)	39,67 bis 48,53
MCH (fmol)	0,68 bis 0,90	0,80 bis 1,02 (0,79-0,82) - (0,99-1,02)	0,94 bis 1,19 (0,92-0,96) - (1,18-1,22)	1,02 bis 1,26
MCHC (mmol/l)		25,32 bis 27,64 (25,24-25,38) - (27,48-27,87)		
Neutroph. Granulozyten (G/l)	3,4 bis 11,5	3,1 bis 8,2 (2,8-3,57) - (7,3-9,1)	2,0 bis 6,9 (1,3-2,9) - (6,5-7,4)	
Monozyten (G/l)	0,2 bis 0,9	0,2 bis 0,7 (0,2-0,29) - (0,7-1)	0,2 bis 0,6 (0,1-0,2) - (0,5-0,6)	
Lymphozyten (G/l)	1,4 bis 7,6	2,3 bis 7,2 (2,1-3,14) - (6,56-7,2)	1,5 bis 5,6 (1,3-1,6) - (4,9-6,3)	0,9 bis 3,4
N:L	0,60 bis 4,58	0,60 bis 2,12 (0,5-0,69) - (1,65-2,28)	0,70 bis 2,90 (0,625-0,76) - (2,74-3,1)	0,95 bis 4,19
Eosinophile (G/l)	0,0 bis 0,3		0,1 bis 0,7 (0-0,1) - (0,6-0,8)	
Basophile (G/l)			0,0 bis 0,1 (0-0) - (0,1-0,2)	
Neutroph. Granulozyten (%)	29,9 bis 78,4	30,4 bis 65,4 (27,9-36,55) - (59,85-65,4)	37,8 bis 72,3 (35,4-40,3) - (71-74,2)	48,3 bis 77,3
Monozyten (%)		2,4 bis 6,4 (1,8-2,7) - (6,2-6,7)		
Lymphozyten (%)	16,1 bis 58,3	27,6 bis 55,8 (23,8-32,411) - (54,02-57,7)	20,1 bis 53,9 (18,7-22,2) - (51,8-56,8)	14,6 bis 42,2
Eosinophile (%)	0,2 bis 2,8		0,9 bis 7,7 (0,7-0,9) - (7,4-9,4)	
Basophile (%)		0,1 bis 1,3 (0,1-0,2) - (1,1-1,6)		

48,5–61,7 g/l für Fohlen über 52,9–72,1 g/l für Jungpferde auf 57,8–78,7 g/l für adulte Pferde an. Im Gegensatz dazu haben Fohlen und Jungpferde den gleichen Referenzbereich für Albumin von 24,8–32,7 g/l. Der Referenzbereich

für Albumin bei adulten Pferden liegt bei 27,3–37,0 g/l. Bei den Elektrolyten Na, K und Cl haben Fohlen und Jungpferde den gleichen Referenzbereich. Bei den adulten Pferden liegt der Referenzbereich für Na bei 137–144 mmol/l und für K

**Tab. 3** Altersabhängige, klinisch-chemische Serumreferenzbereiche der Warmblutpferde (Referenzbereich ermittelt bei  $n < 120$  mittels robuster Methode nach Horn et al. (1998); Referenzbereich ermittelt bei  $n > 120$  mittels nicht parametrischer Methode nach Horowitz et al. (2008); in Klammern gesetzte Werte bedeuten die 90 %-Konfidenzintervalle der Referenzbereichsgrenzen)

*Age-dependent serum biochemistry reference ranges of warmblood horses (reference range calculated by robust method for  $n < 120$ ; non parametric method were used in  $n > 120$ ; 90 % confidence intervals of reference limits are shown in parenthesis)*

	1-4 Monate n=27	1-2 Jahre n=75	3-17 Jahre n=230	>17 Jahre n=23
PROT (g/l)	48,0 bis 61,3	52,9 bis 72,1 (51,2-54,1) - (69,7-76)	57,8 bis 78,7 (57-58,6) - (74,3-82,1)	
ALB (g/l)	24,8 bis 32,7 (23,8-25,6) - (32,2-33,6)		27,3 bis 37,0 (26,1-28,9) - (36,1-37,8)	
Globulin (g/l)	19,5 bis 32,1	25,0 bis 43,6 (25-25,6) - (39,8-45,6)	24,3 bis 44,7 (23,5-25,1) - (40,6-55,5)	23,8 bis 48,4
A:G	0,70 bis 1,37	0,66 bis 1,15 (0,62-0,72) - (1,11-1,17)	0,70 bis 1,50 (0,5-0,8) - (1,4-1,6)	
Na (mmol/l)	135 bis 144 (133-136) - (142-146)		137 bis 144 (136-137) - (144-146)	
K (mmol/l)	3,30 bis 4,84 (3,1-3,63) - (4,74-5,3)		2,60 bis 4,65 (2,4-2,9) - (4,6-4,8)	
Cl (mmol/l)	88,8 bis 111,3 (86,8-91,5) - (108,8-112,2)		93,6 bis 110,1 (92-97,6) - (109,9-114)	98,8 bis 114,6
Mg (mmol/l)	0,61 bis 0,95	0,61 bis 0,90 (0,59-0,65) - (0,86-0,91)	0,67 bis 0,96 (0,65-0,69) - (0,93-1)	
Gesamt-Ca (mmol/l)	2,62 bis 3,05		2,79 bis 3,23 (2,75-2,83) - (3,18-3,28)	
PHOS (mmol/l)	2,27 bis 3,03	1,40 bis 2,16 (1,28-1,46) - (2,12-2,2)	0,66 bis 1,50 (0,56-0,74) - (1,44-1,59)	
Fe ( $\mu$ mol/l)		20,66 bis 47,67 (18,5-21,6) - (45,3-50,4)		
Gesamtbilirubin ( $\mu$ mol/l)	16,10 bis 53,60	9,48 bis 36,60 (9,3-11,46) - (32,87-42,9)	15,07 bis 46,96 (13,4-16,5) - (41,6-50)	
Bilirubin dir. ( $\mu$ mol/l)	4,00 bis 12,00	3,00 bis 11,00 (2-4) - (10-11)	5,00 bis 11,40 (4,5-5,4) - (11,1-11,8)	
HST (mmol/l)	1,22 bis 5,34		2,51 bis 7,34 (2,22-2,77) - (7-7,63)	
CREA ( $\mu$ mol/l)	71,4 bis 148,1	80,7 bis 125,7 (78-82,8) - (121,2-132)	83,7 bis 156,4 (74-92) - (151-168)	
GLU (mmol/l)	5,00 bis 9,17 (4,54-5,18) - (8,78-9,19)		3,28 bis 6,98 (2,83-3,56) - (6,39-8,82)	
LACT (mmol/l)	1,40 bis 4,76		0,97 bis 3,68 (0,91-1,06) - (3,23-4,01)	
CHOL (mmol/l)	2,69 bis 5,26		1,72 bis 2,95 (1,66-1,79) - (2,84-3,18)	
TG (mmol/l)	0,34 bis 1,50		0,13 bis 0,61 (0,12-0,15) - (0,56-0,64)	
ALP (U/l)	427,1 bis 1.026,9	160,2 bis 432,9 (153-181,4) - (403,2-477)	89,3 bis 267,7 (82-92) - (258-328)	
AST (U/l)	182,3 bis 352,2		213,2 bis 626,7 (205,2-231,9) - (537,8-699,3)	
GGT (U/l)		6,39 bis 44,80 (3,7-7,3) - (39,6-48,4)		
GLDH (U/l)		1,39 bis 11,41 (1,2-1,5) - (7,8-12,5)		
LDH (U/l)	361,0 bis 909,0	311,7 bis 620,0 (303-342,6) - (577,8-633)	223,9 bis 536,3 (203-237) - (507-572)	
CK (U/l)	152 bis 374 (23-180) - (354-386)		146 bis 354 (123-157) - (324-377)	

bei 2,60–4,65 mmol/l. Bei dem Referenzbereich für Cl zeigt sich, dass ältere Pferde einen erhöhten Referenzbereich gegenüber den 3–17-jährigen Pferden haben. Der Referenzbereich von Mg schwankt zwischen Fohlen und Jungpferden und adulten Pferden. Jungpferde haben gegenüber Fohlen einen etwas engeren Referenzbereich. Im Gegensatz dazu gibt es keinen Unterschied zwischen Fohlen und Jungpferden beim Referenzbereich für das Gesamtkalzium (Ca). Allerdings liegt der Referenzbereich für Ca bei den Jungtieren unter dem Referenzbereich der adulten Pferde. Der Referenzbereich für anorg. Phosphat sinkt vom Fohlen bis zu den adulten Pferden. Dagegen ist der Referenzbereich für die Eisenkonzentration bei allen Altersgruppen identisch. Der Referenzbereich für die Bilirubinkonzentration liegt bei den

Jungpferden mit 9,48–36,60 µmol/l etwas niedriger als bei den Fohlen und adulten Pferden. Auch die Konzentration des direkten Bilirubins liegt mit 2,80–11,10 µmol/l niedriger als bei den anderen beiden Altersgruppen. Der Referenzbereich für Harnstoff liegt bei den Fohlen mit 1,28–5,29 mmol/l deutlich unter dem Referenzbereich für die anderen Altersgruppen, wobei es keinen Unterschied zwischen den Jungpferden und den adulten Pferden gibt. Bei der Kreatininkonzentration unterscheiden sich die Referenzbereiche zwischen den Fohlen, Jungpferden und adulten Pferden. Die untere Grenze dieser drei Referenzbereiche nimmt zu. Fohlen und Jungpferde haben mit 5,00–9,17 mmol/l einen signifikant höheren Referenzbereich für Glukose als adulte Pferde mit einem Referenzbereich von 3,28–6,98 mmol/l. Auch der

**Tab. 4** Rasseabhängige, hämatologische Referenzbereiche der Haflinger, Kaltblutpferde, Ponys und Islandpferde (Alter: 1-26 Jahre; Referenzbereich ermittelt bei  $n < 120$  mittels robuster Methode nach Horn et al. (1998)  
*Breed-dependent hematological reference ranges of Haflinger, draft horses, ponys and icelandic horses (reference range calculated by robust method for  $n < 120$  according to Horn et al. 1998)*

	Haflinger/Kaltblut n=83	Ponys n=51	Islandpferde n=73
Erythrozyten (T/l)		5,1 bis 8,8 (4,8-5,4) - (8,5-9,6)	
Leukozyten (G/l)		5,2 bis 13,0 (4,9-5,4) - (12,1-14,4)	
Thrombozyten (G/l)	105 bis 330 (56-150) - (310-342)		171 bis 344 (164-187) - (317-361)
Hämatokrit (l/l)		0,22 bis 0,35 (0,22-0,23) - (0,34-0,4)	
Hämoglobin (mmol/l)		5,8 bis 9,2 (5,6-5,8) - (8,8-10,3)	
MCV (fl)	36,35 bis 47,13 (35,7-37,4) - (46,1-48)		35,69 bis 46,05 (35,6-36,16) - (44,53-46,9)
MCH (fmol)		0,93 bis 1,20 (0,92-0,95) - (1,18-1,22)	
MCHC (mmol/l)	24,52 bis 26,77 (24,35-24,86) - (26,48-27,01)		25,26 bis 27,55 (25,18-25,36) - (27-27,94)
Neutrophile (G/l)		2,3 bis 7,5 (1,4-2,6) - (6,5-8,7)	
Lymphozyten (G/l)		1,4 bis 6,9 (1,3-1,6) - (5,5-8,4)	
Neutr. Gr:Lymphoz.	0,58 bis 4,11 (0,44-0,66) - (3,36-4,72)	0,47 bis 3,17 (1,7-2) - (5,4-7,5)	0,65 bis 3,42 (0,53-0,76) - (2,45-4,2)
Monozyten (G/l)	0,2 bis 0,8 (0,1-0,2) - (0,6-1)		0,1 bis 0,5 (0,1-0,2) - (0,4-0,5)
Eosinophile (G/l)		0,1 bis 0,9 (0,1-0,1) - (0,8-1)	
Basophile (G/l)		0,0 bis 0,2 (0-0) - (0,1-0,3)	
Neutrophile (%)		33,7 bis 73,9 (25,8-36,3) - (69,5-75,3)	
Lymphozyten (%)	18,0 bis 57,9 (14,7-20,5) - (54,4-62,8)		20,8 bis 55,4 (17-26,5) - (52,8-60,3)
Monozyten (%)	2,2 bis 7,7 (2,1-2,6) - (7,3-11,4)		1,9 bis 5,4 (1,6-2,4) - (4,8-5,4)
Eosinophile (%)	0,9 bis 9,1 (0,8-1) - (8,4-13,1)		1,4 bis 10,5 (1,2-1,7) - (9,1-11,5)
Basophile (%)	0,2 bis 1,8 (0,1-0,2) - (1,4-2,7)		0,1 bis 1,0 (0,1-0,2) - (0,9-1,1)

Referenzbereich für Laktat von Fohlen und Jungpferden ist deutlich höher als von adulten Pferden. Fohlen zeigen deutlich höhere Referenzbereiche für Cholesterin und Triglyceride als Jungpferde und adulte Pferde, zwischen denen es keinen Unterschied gibt. Der Referenzbereich für die alkalische

Phosphatase (ALP) sinkt im Laufe des Lebens. Zwischen dem Referenzbereich der 3–17 jährigen Pferde und der über 17-jährigen Pferde gibt es keinen Unterschied. Der Referenzbereich für die Aktivität der Aspartataminotransferase (AST) lag bei den Fohlen etwas niedriger als bei den anderen Alters-

**Tab. 5** Rasseabhängige, klinisch-chemische Serumreferenzbereiche der Haflinger, Kaltblutpferde, Ponys und Islandpferde (Alter: 1-26 Jahre; Referenzbereich ermittelt bei  $n < 120$  mittels robuster Methode nach Horn et al. (1998)  
*Breed-dependent serum biochemistry reference ranges of Haflinger, draft horses, ponys and icelandic horses (reference range calculated by robust method for  $n < 120$  according to Horn et al. 1998)*

	Haflinger/Kaltblut n=83	Ponys n=51	Islandpferde n=73
Totalprotein (g/l)	59,0 bis 81,4 (55,7-61,3) - (79,4-82,5)		58,2 bis 79,8 (58,1-61,5) - (77,3-84,8)
Albumin (g/l)	23,0 bis 35,1 (21,3-23,6) - (33,7-37,4)		27,7 bis 34,8 (27,7-28,1) - (33,3-36)
Globulin (g/l)	30,0 bis 52,6 (29,6-32,3) - (50,1-54,3)	30,9 bis 53,3 (30,8-31,8) - (48,8-53,5)	28,6 bis 50,6 (27,9-30,1) - (45,8-55,2)
Albumin:Globulin	0,50 bis 1,11 (0,39-0,52) - (1-1,26)		0,58 bis 1,15 (0,54-0,66) - (1,1-1,21)
Na (mmol/l)		135 bis 144 (132-135) - (143-150)	
K (mmol/l)	2,00 bis 4,70 (1,7-2,5) - (4,5-4,9)		2,74 bis 4,52 (2,4-3,39) - (4,5-4,6)
Cl (mmol/l)		93,6 bis 111,4 (93,1-95,4) - (110,7-113,1)	
Mg (mmol/l)		0,64 bis 0,98 (0,6-0,66) - (0,96-1,03)	
Gesamt-Ca (mmol/l)		2,69 bis 3,16 (2,52-2,72) - (3,1-3,23)	
anorg. Phosphat (mmol/l)	0,42 bis 1,65 (0,3-0,5) - (1,54-1,71)		0,93 bis 1,73 (0,9-0,96) - (1,57-1,75)
Fe ( $\mu$ mol/l)	15,94 bis 49,48 (13,3-17) - (44,1-57,5)		17,82 bis 43,12 (16,8-19,87) - (36,13-43,2)
Gesamtbilirubin ( $\mu$ mol/l)	6,35 bis 27,15 (5,5-7,5) - (24,9-32,5)		6,79 bis 33,69 (5,6-8,19) - (24,61-34,2)
Bilirubin dir. ( $\mu$ mol/l)	1,72 bis 9,59 (0,7-2,1) - (9-10)		1,94 bis 11,55 (1,2-3,15) - (9,44-11,8)
Harnstoff (mmol/l)	2,49 bis 7,94 (1,33-2,9) - (7,56-10,62)		3,60 bis 8,95 (3,41-3,95) - (8,24-8,99---
Kreatinin ( $\mu$ mol/l)	51,0 bis 136,6 (44-58) - (127-171)		57,0 bis 132,6 (51-64,8) - (122,9-147)
Glukose (mmol/l)		2,18 bis 6,05--- (1,52-2,72) - (5,78-6,36----	
Laktat (mmol/l)		1,25 bis 3,81 (1,04-1,5) - (3,66-3,93)	
Cholesterin (mmol/l)		1,60 bis 3,03 (1,48-1,71) - (2,84-3,16)	
Triglyceride (mmol/l)	0,07 bis 0,45 (0,07-0,09) - (0,37-0,51)	0,11 bis 1,40 (0,09-0,17) - (0,72-1,59)	0,16 bis 0,69 (0,14-0,2) - (0,56-0,89)
ALP (U/l)	99,7 bis 350,8 (95-112) - (328-416)		90,9 bis 279,4 (90-111,4) - (271,6-293)
AST (U/l)	229,9 bis 647,3 (212,5-245,8) - (560,1-761,6)		274,0 bis 739,4 (272,8-283,5) - (604,6-749,1)
GGT (U/l)		9,28 bis 44,61 (8,1-11,5) - (39,4-47,3)	
GLDH (U/l)	1,90 bis 8,90 (1,8-2,4) - (6,54-9,6)		2,94 bis 10,00 (2,9-3,24) - (8,86-10)
LDH (U/l)		293,8 bis 822,8 (265-309) - (779-966)	
CK (U/l)		181 bis 652 (170-188) - (595-726)	

gruppen. Bei den beiden Enzymen Glutamyltransferase (GGT) und Glutamatdehydrogenase (GLDH) konnten keine altersabhängigen Unterschiede der Referenzbereiche festgestellt werden. Die Referenzbereiche für Creatinkinase (CK) und Laktatdehydrogenase (LDH) liegen bei den Fohlen und Jungtieren über dem Referenzbereich der adulten Pferde. Hierbei zeigt sich, dass die Referenzbereiche der LDH zwischen Fohlen und Jungpferden unterschiedlich sind. Im Gegensatz dazu haben Fohlen und Jungpferde für die Aktivität der CK den gleichen Referenzbereich.

#### Rasseabhängige Referenzbereiche

Es wurden adulte Pferde der Rassen Haflinger ( $n = 59$ ), Kaltblut ( $n = 24$ ), Islandpferde ( $n = 73$ ) und Shetlandpony ( $n = 19$ ) sowie Reitpony ( $n = 32$ ) untersucht. Nach Berechnung der Referenzbereiche zeigte sich, dass sowohl Kaltblutpferde und Haflinger als auch Shetlandponys und Reitponys gleiche Referenzbereiche haben. Aus diesem Grund wurden Haflinger und Kaltblutpferde sowie Shetlandponys und Reitponys zu jeweils einer Gruppe zusammengefasst. In Tab. 4 sind die hämatologischen und klinisch-chemischen Referenzbereiche der Gruppen Kaltblut/Haflinger, Islandpferde und Ponys aufgeführt. Da in allen 3 Gruppen eine ausreichend hohe Fallzahl vorliegt, ist für die untere und obere Grenze des Referenzbereichs das 90%-Konfidenzintervall berechnet. Zwischen den Gruppen Haflinger/Kaltblut und den Ponys gibt es ebenfalls keine Unterschiede in den Referenzbereichen. Nur der Referenzbereich der Triglyceridkonzentration liegt bei den Ponys höher als bei den Kaltblutpferden und Haflingern. Deshalb werden in Tabelle 4 und 5 für die Gruppen Kaltblut/Haflinger und Pony für jeden Parameter nur ein Referenzbereich angegeben.

#### Hämatologische Parameter

Hinsichtlich des Referenzbereiches für die Erythrozytenzahl konnte zwischen den drei Gruppen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der Referenzbereich für die Erythrozytenzahl liegt bei den untersuchten Pferden signifikant unter dem Referenzbereich für Warmblutpferde. Auch für die Referenzbereiche der Leukozyten, Thrombozyten, Hämatokrit und der Hämoglobinkonzentration des Blutes wurden keine Unterschiede zwischen den Kaltblutpferden, Haflingern, Ponys und Islandpferden festgestellt. Der Referenzbereich für den MCV ist bei den Islandpferden etwas enger als bei den Haflingern, Kaltblutpferden und Ponys. Da der Referenzbereich für MCH sowohl bei Kaltblutpferden, Haflingern, Ponys als auch bei Islandpferden identisch ist, ist der Referenzbereich des MCHC bei den Islandpferden gegenüber den anderen Pferden geringgradig erhöht. Im Differenzialblutbild zeigen Islandpferde einen leicht erniedrigten Referenzbereich für die Monozytenzahl. Die Referenzbereiche der Zahl der neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten sowie Lymphozyten hingegen, sind für alle drei Gruppen identisch.

#### Klinisch-chemische Parameter

Zwischen den Islandpferden und der Gruppen Haflinger, Kaltblutpferde und Ponys zeigte sich ein einheitlicher Referenzbe-

reich für Totalprotein. Im Gegensatz dazu liegt die untere Referenzbereichsgrenze der Islandpferde bei ALB um 4,7 g/l höher als bei den anderen Pferden. Die Referenzbereiche der Globulinkonzentration unterscheiden sich signifikant zwischen den Islandpferden, den Ponys und den Kaltblutpferden. Jedoch haben nur Islandpferde ein leicht erhöhtes Albumin-Globulin-Verhältnis in Bezug zu den anderen Pferderassen. Die Referenzbereiche für Na, Cl, Mg und Ca sind für die vorhin aufgeführten Pferderassen identisch. Der Referenzbereich für anorg. Phosphat liegt bei den Islandpferden etwas höher als bei den anderen Rassen. Islandpferde haben gegenüber den anderen Rassen auch erhöhte Referenzbereiche für Gesamtbilirubin und direktem Bilirubin. Bei den Islandpferden zeigt sich, dass der Referenzbereich für Harnstoff höher liegt als bei den Kaltblutpferden, Haflingern und Ponys. Islandpferde unterscheiden sich auch im Referenzbereich für Kreatinin. Die Referenzbereiche für Glukose, Laktat und Cholesterin sind bei den untersuchten Pferderassen identisch. Bei den Referenzbereichen für die Triglyceride zeigt sich, dass Kaltblutpferde/Haflinger das niedrigste und Ponys den höchsten Referenzbereich haben. Der Referenzbereich für die ALP ist bei den Islandpferden höher als bei den beiden anderen Rassen. Im Gegensatz dazu liegt der Referenzbereich der AST bei den Ponys und Kaltblutpferden bzw. Haflingern niedriger als bei den Islandpferden. Der Referenzbereich für die GGT-Aktivität ist bei allen Pferderassen identisch. Allerdings zeigen Islandpferde gegenüber Ponys, Kaltblutpferden und Haflingern einen leicht höheren Referenzbereich für GLDH. Die Referenzbereiche der Enzyme LDH und CK sind bei allen Pferderassen identisch.

#### Diskussion

Die Erstellung von von hämatologischen Referenzbereichen Blutbildern erfolgte in der Vergangenheit häufig über Zellzähler mit Impedanzmessung. Dieses Messprinzip ist gegenüber der Methode mit Laserstreulicht deutlich unpräziser. Die in dieser Arbeit erstellten hämatologischen Referenzbereiche basieren auf der exakteren Laserstreulichtmethode. Der Vergleich klinisch-chemischer Daten wurde in der Vergangenheit durch die Verwendung unterschiedlicher Messtemperaturen (z.B. 25°C oder 37°C) erschwert. Die Einführung einer einheitlichen Messtemperatur bei 37°C führte dazu, dass sich die Referenzbereiche, erhöhten. Die in dieser Arbeit untersuchten klinisch-chemischen Parameter wurden bei 37°C bestimmt und entsprechen somit dem aktuellen Standard der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Desweiteren entsprechen die Referenzbereiche der Warmblutpferde einer geforderten, optimalen Fallzahl.

#### Altersabhängige Referenzbereiche

##### Hämatologische Parameter

Die Altersabhängigkeit der Erythrozytenzahl ist von vielen Autoren beschrieben worden (Schalm 1979, Seiser 2001). Durch den Ersatz maternaler Erythrozyten ist die erythropoetische Aktivität bei Fohlen besonders hoch. Deshalb ist der Referenzbereich der Erythrozyten bei Fohlen höher als bei Jungpferden und adulten Pferden. Die Hämoglobinkonzentration des Blutes steigt im Alter von 3 Jahren abrupt an. Dieser

Anstieg im Alter von etwa 3 bis 5 Jahren lässt sich mit der beginnenden Nutzung der Tiere und dem damit verbundenen erhöhten Sauerstoff- und somit Hämoglobinbedarf, wie es von Engelhardt et al. bei Junghengsten beschrieben wurde (Engelhardt et al. 1970), zurückführen. Der altersabhängige Anstieg des MCV (Waelchli et al. 1994), reflektiert durch einen höheren Referenzbereich bei adulten Pferden gegenüber Fohlen, kann mit altersabhängigen Reifungsprozessen im Knochenmark, wie die verminderte Zellteilungsaktivität und die erhöhte Knochenmarkdurchgangszeit (Allen et al. 1984) erklärt werden. Die mit dem Alter zunehmenden MCV und MCH führen dazu, dass der MCHC in allen Altersgruppen auf dem gleichen Niveau liegt. Aus diesem Grund kann für alle Altersgruppen ein Referenzbereich verwendet werden. Die Thrombozytenzahl nimmt mit zunehmendem Alter ab. Dies wird auch durch die Untersuchungen von Zinkl et al. und McFarlane bestätigt (McFarlane et al. 1998, Zinkl et al. 1990). Auch die Gesamtleukozytenzahl ist altersabhängig und nimmt mit steigendem Alter ab (Cebulj-Kadunc et al. 2003, Jain et al. 2000). Fohlen zeigen im Allgemeinen höhere Leukozytenzahlen als adulte Pferde. Im Saugfohlenalter kommt es zu einer starken Erhöhung der Lymphozyten bei gleichzeitiger geringen Abnahme der neutrophilen Granulozyten (Brommer et al. 2001, Medeiros et al. 1971). Smith et al. stellten fest, dass sich alle Lymphozytensubtypen erhöhen (Smith et al. 2002). Diese Dynamik innerhalb der Fohlengruppe führt zu einem sehr breiten Referenzbereich für die absoluten Zellzahlen der Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten. Die beschriebene Altersabhängigkeit der Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten ließ sich auch in der Fohlengruppe nachvollziehen. Der sehr breite Referenzbereich des Verhältnisses der neutrophilen Granulozyten zu den Lymphozyten (N/L-Verhältnis) mit 0,63–4,76 hat seine Ursache in der sehr starken Streuung in den ersten Lebensmonaten. Der erhöhte Referenzbereich für die absolute Anzahl der eosinophilen Granulozyten im Fohlenalter stimmt mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen überein (Cebulj-Kadunc et al. 2003, Harvey et al. 1984). Jungpferde und adulte Pferde haben den gleichen Referenzbereich. Mayer berichtet von jahreszeitlichen Schwankungen bezüglich der Anzahl der eosinophilen Granulozyten. Besonders im Spätsommer und Herbst kann auch bei entwürmtten Pferden die Anzahl der eosinophilen Granulozyten, aufgrund des vermehrten Vorhandenseins von adulter Strongyloiden im Darmlumen, erhöht sein (Mayer 1994). Die Anzahl der Monozyten ist leicht altersabhängig (Cebulj-Kadunc et al. 2003). Im Fohlenalter sollte deshalb ein Referenzbereich von 0,2–0,9 G/l gelten.

#### Klinisch-chemische Parameter

Der Referenzbereich der Totalproteinkonzentration reflektiert die in verschiedenen Studien (Gossett und French 1983, Waelchli et al. 1994) gefundene Altersabhängigkeit. Der Referenzbereich der Albuminkonzentration für Fohlen und Jungtiere ist etwas geringer als der Referenzbereich für adulte Pferde. Der Unterschied in der Albuminkonzentration zwischen den Jungtieren und den adulten Pferden ist signifikant. Somit ist die Altersabhängigkeit der Totalproteinkonzentration mit einer Zunahme der Globulinfraction zu erklären, wie Zinkl es auch bei Eseln beobachtet hat (Zinkl 1990). Hierbei spielt wahrscheinlich die Erlangung der Immunkompetenz der Jungtiere eine Rolle.

Die in verschiedenen Studien beobachtete Altersunabhängigkeit der Na-Konzentration (Brommer et al. 2001, Hacklechner 1993, McFarlane et al. 1998, Waelchli et al. 1994) kann bestätigt werden. Die Unterschiede der K-Konzentration zwischen den Jungtieren und den adulten Tieren scheint auf unterschiedliches Fütterungsmanagement zurückzuführen sein. Eine erhöhte Aufnahme von Grünfutter kann zu höheren K-Konzentrationen im Blut führen (Hacklechner 1993). Da ältere Fohlen und Jungtiere meist in Gruppen gehalten werden, stehen in der Regel Gras und Heu ad libitum bzw. mengenmäßig mehr als bei adulten Pferden zur Verfügung. Bei adulten Pferden dagegen, wird ein Teil des Energie- und Nährstoffbedarfes durch Kraftfutter gedeckt und Grundfuttermittel (Heu, Silage, Gras) portioniert zugeführt. Der leicht steigende Referenzbereich für die Chloridkonzentration kann auf die Aufnahme von Raufutter bei älteren Pferden zurückgeführt werden. Die von Seiser et al. und anderen beschriebene Altersunabhängigkeit der Kalziumkonzentration bei adulten Pferden (Seiser 2001) führt zu einem Referenzbereich von 2,79–3,23 mmol/l. Fohlen und Jungpferde haben ein etwas kleineren Referenzbereich aufgrund des erhöhten Kalziumbedarfes während des Wachstums (Zepperitz und Gürtler 1992). Der Referenzbereich für die Mg-Konzentration ist in allen Altersgruppen ähnlich. Aufgrund des erhöhten Mgbedarfes während des Wachstums (Seiser 2001) ist die untere Grenze bei Fohlen und Jungtieren etwas niedriger als bei den adulten Pferden. Wie von Hacklechner und anderen beschrieben nimmt die Konzentration des anorganischen Phosphates mit zunehmendem Alter ab (Hacklechner 1993). Deshalb haben Fohlen einen deutlich höheren Referenzbereich als die anderen Altersgruppen. Ursache für die höhere Phosphatkonzentrationen bei Fohlen und Jungtieren sind zum einen Wachstumsvorgänge (Seiser 2001) und zum anderen eine erhöhte renale Reabsorption aufgrund verschiedener Wachstumshormone (Kaneko 1997). Im Gegensatz dazu ist die Eisenkonzentration im Blutplasma, wie auch von Schorr beschrieben (Schorr 1988), altersunabhängig und führt zu einem Referenzbereich für alle Altersgruppen von 20,66–47,67 µmol/l. Die Gesamtbilirubinkonzentration und die Konzentration des direkten Bilirubins der Saugfohlen befinden sich im Bereich der adulten Pferde (Rumbaugh und Adamson 1983). Dies zeigen auch die hier berechneten Referenzbereiche für die Fohlen und die adulten Pferde. Beide Referenzbereiche sind vergleichbar. Im Gegensatz dazu ist der Referenzbereich der Gesamtbilirubinkonzentration für die Jungpferde signifikant niedriger. Die erniedrigte Gesamtbilirubinkonzentration bei den Jungpferden konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden (Brommer et al. 2001). Wie in verschiedenen Studien beschrieben wurde, liegt der Referenzbereich für die Harnstoffkonzentration bei den Fohlen unter dem Referenzbereich der Jungpferde und adulten Pferde (Brommer et al. 2001, Waelchli et al. 1994). Durch den Aufbau der Muskelmasse während des Wachstums erhöht sich die Kreatininkonzentration im Blut (Waelchli et al. 1994). Dies kommt auch in den steigenden Referenzbereichen für Fohlen, Jungpferden und adulten Pferden zum Ausdruck. Bei Fohlen und Jungpferden liegen wachstumsbedingt die Referenzbereiche von Glukose und Laktat über den Referenzbereichen der adulten Pferde. Der in dieser Studie gefundene signifikant erhöhte Referenzbereich für Cholesterol bei Fohlen stimmt mit anderen Untersuchungen überein (Rumbaugh und Adamson 1983). Nach Bauer et al. steht eventuell die Nachfrage an Cholesterol durch die reifende Leber und

andere steroidassoziierte Gewebe mit dem Anstieg der Cholesterolkonzentration in Verbindung (Bauer et al. 1984). Eine andere Ursache könnte die Aufnahme tierischer Fette durch die Stutenmilch sein (Rumbaugh und Adamson 1983, Waelchli et al. 1994). Dabei steigt nicht nur die Cholesterolkonzentration sondern auch die Triglyceridkonzentration im Blut. Dies führt dazu, dass der Referenzbereich für Triglyceride bei Fohlen höher liegt, als bei Jungpferden und adulten Pferden. Die hohen Aktivitäten der ALP bei den Saugfohlen spiegeln die aktive Knochenbildung wider (Price 1995). Im Laufe des Lebens sinkt die Aktivität der ALP (Seiser 2001). Aus diesem Grund unterscheiden sich die Referenzbereiche der ALP in allen Altersgruppen. Aufgrund der gesteigerten Muskelstoffwechselaktivität zeigen die 1–2-jährigen und adulten Pferde einen erhöhten Referenzbereich für die AST-Aktivität im Vergleich zu den Fohlen (Grimminger-Heigl 1993). Die in verschiedenen Studien beobachteten höheren Referenzbereiche der GGT-Aktivität bei Fohlen (Gossett und French 1983, Hauck 1992) kann in dieser Studie nicht ermittelt werden, da die höheren GGT-Aktivitäten nur im ersten Lebensmonat auftreten und sich langsam dem ermittelten Referenzbereich annähern. Im Gegensatz dazu unterliegt die GLDH-Aktivität keinerlei Altersschwankungen (Grimminger-Heigl 1993). Dies spiegelt auch der gemeinsame altersunabhängige Referenzbereich der GLDH-Aktivität wieder. Der bei Fohlen und Jungpferden leicht erhöhte Referenzbereich der CK-Aktivität gegenüber den adulten Pferden kann mit den Aufbauvorgängen in der Muskulatur erklärt werden. Die gegenüber adulten Pferden erhöhten LDH-Aktivitäten bei Fohlen (Hauck 1992) und Jungtieren (Kirschvink et al. 2006) zeigen eine Adaptation des Leber- und des Muskelstoffwechsels an. Die berechneten Referenzbereiche für Fohlen, Jungtiere und adulte Pferde zeigen ein Absinken der LDH-Aktivität mit zunehmendem Alter an.

### Rasseabhängige Referenzbereiche

#### Hämatologische Parameter

Warmblutpferde besitzen im Gegensatz zu den Kaltblutpferden, Haflingern, Ponys und Islandpferden eine höhere Erythrozytenzahl (Mayer 1994). Dies zeigt sich auch bei den Referenzbereichen. Obwohl bei Kaltblutpferden, Ponys und Islandpferden in verschiedenen Studien unterschiedliche Erythrozytenzahlen gemessen wurden, konnten keine signifikant unterschiedlichen Referenzbereiche für die Erythrozytenzahl bei diesen Rassen ermittelt werden. Der gemeinsame Referenzbereich für die Thrombozytenzahl bei Kaltblutpferden, Ponys Haflingern unterscheidet sich signifikant von dem Referenzbereich der Warmblutpferde. Der verringerte Referenzbereich der Warmblutpferde könnte mit der häufigeren sportlichen Nutzung zusammenhängen (Mayer 1994). Islandpferde haben von den untersuchten Rassen den höchsten Referenzbereich. Warmblutpferde haben gegenüber den anderen Rassen einen erhöhten Referenzbereich sowohl für den Hämatokrit als auch für die Hämoglobinkonzentration. In anderen Untersuchungen wurde dieser Trend ebenfalls bestätigt (Kollakowski und Keller 1990, Mayer 1994). Zwischen adulten Warmblut- und Kaltblutpferden, Haflingern und Ponys konnten keine statistisch signifikanten Rasseunterschiede zwischen den entsprechenden Referenzbereichen für MCV und MCH gefunden werden. Die in der Literatur gefun-

dene Rasseabhängigkeit für den MCV und den MCH konnte nicht gefunden werden (Kollakowski und Keller 1990). Nur Islandpferde zeigen einen statistisch signifikanten leicht erniedrigten MCV. Die Rasseabhängigkeit des MCHC (Kollakowski und Keller 1990) spiegelt sich auch in den signifikant unterschiedlichen Referenzbereichen für den MCHC zwischen Warmblut- und Kaltblutpferden, Ponys und Haflingern wider. Keinen signifikanten Unterschied des Referenzbereichs des MCHC konnte zwischen den Warmblut- und den Islandpferden festgestellt werden. Zwischen den Referenzbereichen für die Leukozytenzahl bei adulten Warmblut- und Kaltblutpferden, Haflingern, Ponys und Islandpferden konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Somit gilt für die Leukozytenzahl für alle untersuchten Pferderassen ein einheitlicher Referenzbereich. Zwischen den Referenzbereichen für die Zahl der neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, obwohl der Referenzbereich für die Warmblutpferde etwas niedriger scheint als der Referenzbereich der anderen Pferde. Obgleich die Referenzbereiche für die neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten keine signifikanten Unterschiede aufweisen, stellt sich das N:L-Verhältnis stark rasseabhängig dar (Mayer 1994). Auch die Anzahl der Monozyten scheint rasseabhängig zu sein. Da die Zellzahlen sehr klein sind, ist eine eindeutige statistische Auswertung der Werte schwierig. Dies gilt auch für die Zellzahlen der eosinophilen und basophilen Granulozyten. Für die beiden Zellpopulationen konnten aufgrund der sehr niedrigen Zellzahlen keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Rassen errechnet werden.

#### Klinisch-chemische Parameter

Der Referenzbereich für die Totalproteinkonzentration ist rasseabhängig (Grimminger-Heigl 1993). Hierbei zeigen adulte Warmblutpferde einen niedrigeren Referenzbereich als Island- und Kaltblutpferde. Die Rasseunabhängigkeit der Albuminkonzentration, wie sie von Riond et al. beschrieben wurde, kann nicht bestätigt werden (Riond et al. 2009). Kaltblutpferde, Haflinger und Ponys haben einen deutlich niedrigeren Referenzbereich als Island- und Warmblutpferde. Warmblutpferde zeigen die kleinsten Totalprotein- und die höchsten Albuminkonzentrationen. Damit weisen Warmblutpferde auch die geringste Globulinkonzentration auf. Obwohl Ponys und Kaltblutpferde oft gemeinsame Referenzbereiche haben, zeigt sich, dass Ponys einen höheren Referenzbereich haben als Kaltblutpferde. Dagegen ist der Referenzbereich für das Albumin-Globulin-Verhältnis bei diesen Rassen identisch. Aufgrund der geringeren Globulinkonzentration bei den Warmblutpferden liegt auch das Albumin-Globulin-Verhältnis bei Warmblutpferden deutlich höher als bei anderen Rassen. Die Rasseunabhängigkeit der Na-Konzentration (Hacklechner 1993) führt zu einem einheitlichen Referenzbereich für alle Rassen. Hinsichtlich der K-Konzentration sind Unterschiede zwischen Warmblut-, Island- und Kaltblutpferden, Haflingern und Ponys zu beobachten. Bei den Warmblutpferden ist die untere Grenze des Referenzbereiches deutlich höher als bei den anderen Pferderassen. Ähnlich der Na-Konzentration ist die Chloridkonzentration rasseunabhängig (Hacklechner 1993). Die Referenzbereiche der Mg- und Kalziumkonzentration sind statistisch geringgradig rasseabhängig. Da die Unterschiede aber sehr klein sind, werden

einheitliche rasseunabhängige Referenzbereiche für Magnesium und Kalzium vorgeschlagen. Im Gegensatz dazu ist die anorganische Phosphatkonzentration stark rasseabhängig (Hacklechner 1993), wobei Kaltblut- die niedrigsten und Islandpferde die höchsten Referenzbereiche haben. Auch die Eisenkonzentrationen im Blutserum sind rasseabhängig. Kaltblutpferde, Haflinger und Ponys haben niedrigere Eisenkonzentrationen als Island- oder Warmblutpferde (Schorr 1988). Bei den Warmblutpferden ist der Referenzbereich der Eisenkonzentration am höchsten. Deutliche Unterschiede zwischen den Rassen besteht auch in der Konzentration des Gesamtbilirubins und direkten Bilirubins (Stark 1995). Dabei zeigen Warmblutpferde die höchsten Konzentrationen an Gesamtbilirubin und direktem Bilirubin. Islandpferde haben für Harnstoff einen höheren Referenzbereich als die anderen untersuchten Rassen, bei denen es keine Unterschiede gibt. Die untere Grenze des Referenzbereichs für die Kreatininkonzentration ist bei Warmblutpferden deutlich höher als bei den anderen Rassen. Im Gegenzug dazu, ist die obere Grenze des Referenzbereichs bei allen Rassen ähnlich. Zwischen den Referenzbereichen der Glukosekonzentration von Haflingern, Kaltblutpferden, Ponys und Islandpferden konnten keine Unterschiede festgestellt werden, so dass diese Rassen zu einer Gruppe zusammengefasst wurden. Der gemeinsame Referenzbereich ist deutlich breiter als der Referenzbereich der Glukosekonzentration bei den Warmblutpferden. Der Referenzbereich für die Laktatkonzentration ist rasseunabhängig, wogegen der Referenzbereich für die Cholesterolkonzentration rasseabhängig ist. Die Neigung Fette schnell zu mobilisieren (Stark 1995), führt bei Ponys zu einem höheren Referenzbereich für Triglyceride. Zwischen den Referenzbereichen der Triglyceride bei Island- und Warmblutpferden konnten keine Unterschiede beobachtet werden. Bei der Ermittlung der Referenzbereiche für die Aktivität der alkalischen Phosphatase konnten keine Unterschiede zwischen Warmblut- und Kaltblutpferden, Ponys und Haflingern beobachtet werden. Islandpferde zeigen einen geringgradig niedrigen Referenzbereich als die anderen Rassen. Die Rasseabhängigkeit des Referenzbereiches der AST-Aktivität zeigt sich auch in den ermittelten Referenzbereichen. So zeigen Islandpferde einen signifikant höheren Referenzbereich als Ponys, Kaltblutpferde, oder Warmblutpferde. Dies wird auch durch andere Studien bestätigt (Unkel 1984). Der Referenzbereich der GGT-Aktivität ist rasseunabhängig. Dies entspricht den Ergebnissen anderer Studien (Grimminger-Heigl 1993). Die Referenzbereiche der GLDH-Aktivitäten sind stark rasseabhängig. Rasseabhängige Referenzbereiche für Ponys, Island- und Kaltblutpferde konnte auch von Grimminger-Heigl festgestellt werden (Grimminger-Heigl 1993). In dieser Studie zeigen Warmblutpferde die höchsten GLDH-Aktivitäten. Die rasseunabhängigen Referenzbereiche für CK und LDH sind bei Warmblutpferden deutlich niedriger als bei den anderen Rassen (Grimminger-Heigl 1993).

## Fazit für die Praxis

Die in der vorliegenden Untersuchung ermittelten Referenzbereiche wurden mittels aktuellen, klinisch-chemischen und hämatologischen Laborautomaten und Labormethoden erhoben und gemäß der Richtlinie EP28-A3C der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) vom Jahre 2010 ermittelt. Alters- und rasseabhängige

Referenzbereiche erlauben eine gezielte und abgestimmte Bewertung dieser wichtigen, diagnostischen Blutparameter.

## Literatur

- Allen B. V., Kane C. E., Powell D. G. (1984) Leucocyte counts in the healthy English Thoroughbred in training. *Equine Vet. J.* 16, 207-209
- Anderson T. W., Darling D. A. (1954) A test of goodness of fit. *J. Amer. Stat. Assn.* 49, 765-769
- Bauer J. E., Harvey J. W., Asquith R. L., McNulty P. (1984) Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life. *Equine Vet. J.* 16, 361-363
- Box G., Cox D. (1964) An analysis of transformation. *J. Royal. Statist. Soc. B26*, 211-252
- Brommer H., van Sloet Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M. (2001) Haematological and blood biochemical characteristics of Dutch warmblood foals managed under three different rearing conditions from birth to 5 months of age. *Vet. Quart.* 23, 92-95
- Cebulj-Kadunc N., Kosec M., Cestniki V. (2003) The variations of white blood cell count in Lipizzan horses. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 50, 251-253
- Dixon W. J. (1953) Processing data for outliers. *Biometrics* 9, 74-89
- Efron B. (1982) The jackknife, the bootstrap, and other resampling plans. Society for Industrial and Applied Mathematics Philadelphia, PA.
- Ehrlein H. J., Hornicke H. (1970) Hämoglobinkonzentration, Sauerstoffsättigung und Sauerstoffgehalt des Blutes bei Zucht und Sportpferden in unterschiedlichem Trainingszustand. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 83, 229-234
- Faber P. (1993) Normalwerte des roten und weißen Blutbildes bei Schwarzwälder Kaltblutpferden (Fohlen, Jährlinge, Stuten, Wallache und Hengste) Diss. Med. Vet. Berlin
- Schalm O. W. (1979) *Equine Hematology: Part 1 – The Erythrocytes and Plasma.* *Equine Pract.* 1, 37-42
- Friedrich K. R., Harr K. E., Freeman K. P., Szladovits B. (2012) ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet. Clin. Pathol.* 41, 441-453
- Gieseler T. (2012) Alters- und rasseabhängige Referenzbereiche für hämatologische und klinisch-chemische Parameter beim Pferd Diss. Med. Vet. Leipzig
- Gossett K. A., French D. D. (1983) Effect of age on anion gap in clinically normal Quarter Horses. *Am. J. Vet. Res.* 44, 1744-1745
- Grimminger-Heigl (1993) Referenzbereiche in der Labordiagnostik beim Pferd (Blutglucose, Gesamteiweiß, AST, AP, LDH,  $\alpha$ -HBDH, G-GT, GLDH) Diss. Med. Vet. München
- Hacklechner B. (1993) Referenzbereiche in der Labordiagnostik beim Pferd (Natrium, Kalium, Calcium, anorganisches Phosphat, Chlorid, Creatinin, Harnstoff). Diss. Med. Vet. München
- Harris E. K., Boyd J. C. (1990) On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin. Chem.* 36, 265-270
- Asquith R. L., McNulty P. K., Kivipello J. und Bauer J. E. (1984) Haematology of foals up to one year old. *Equine Vet. J.* 16, 347-353
- Hauck S. (1992) Enzyme, Substrate, Mineralstoffe und Spurenelemente im Blut von Schwarzwälder Kaltblutpferden: (Fohlen, Jährlinge, Erwachsene und Arbeitspferde) Diss. Med. Vet. Berlin
- Horn P. S., Pesce A. J., Copeland B. E. (1998) A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin. Chem.* 44, 622-631
- Horowitz G. L. (2008/2010) Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory. 3. Auflage, Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA
- Jain N. C. (2000) *Schalm's Veterinary hematology.* 5. Auflage, Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia
- Kirschvink N., de Moffarts B., Farnir F., Pincemail J., Lekeux P. (2006) Investigation of blood oxidant/antioxidant markers in healthy competition horses of different breeds. *Equine Vet. J. Suppl.* 239-244

- Knoll J., Rowell S. L. (1996) Clinical hematology. In-clinic analysis, quality control, reference values and system selection. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 26, 981-1002
- Kollakowski T., Keller H. (1990) Normalwerte des roten Blutbildes beim Pferd unter Berücksichtigung der Rasse, des Geschlechtes, des Alters und der Jahreszeit. *Pferdeheilkunde* 6, 65-71
- Mayer J. (1994) Referenzbereiche in der Hämatologie beim Pferd. Dissertation med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München
- McFarlane D., Sellon D. C., Gaffney D., Hedgpeth V., Papich M., Gibbs S. (1998) Hematologic and serum biochemical variables and plasma corticotropin concentration in healthy aged horses. *Am. J. Vet. Res.* 59, 1247-1251
- Medeiros L. O., Martins L. F., Ferri S., Barcelos S. R. (1971) Effect of age on erythrogram values of thoroughbred horses from 1 to 12 months of age. *Zentralbl Veterinärmed A* 18, 395-400
- Messer N. T. (1995) The use of laboratory tests in equine practice. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 11, 345-350
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria
- Riond B., Wenger-Riggenbach B., Hofmann-Lehmann R., Lutz H. (2009) Serum protein concentrations from clinically healthy horses determined by agarose gel electrophoresis. *Vet Clin Pathol* 38, 73-77
- Rumbaugh G. E., Adamson P. J. (1983) Automated serum chemical analysis in the foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183, 769-772
- Schorr G. (1988) Eisen und Eisenbindungskapazität im Serum klinisch gesunder Pferde. *Tierärztl. Praxis* 16, 163-165
- Schusser G. (2009) Allgemeiner klinischer Untersuchungsgang, Probenahme, Laboruntersuchungen und invasive diagnostische Maßnahmen. In: Baumgartner W. (Hrsg.) *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. Enke Verlag, Stuttgart, 41-195, 431-495
- Seiser M. A. H. B. (2001) Der Einfluss von Alter und Geschlecht auf diagnostisch wesentliche Blutparameter bei Islandpferden. *Tierärztl. Praxis* 29, 324-331
- Smith R., Chaffin M. K., Cohen N. D., Martens R. J. (2002) Age-related changes in lymphocyte subsets of quarter horse foals. *Am. J. Vet. Res.* 63, 531-537
- Solberg H. E. (1986) Statistical treatment of reference values in laboratory medicine: testing the goodness-of-fit of an observed distribution to the Gaussian distribution. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl* 184, 125-132
- Stark B. (1995) Referenzbereiche in der Labordiagnostik beim Pferd (Bilirubin, sekundäres Bilirubin, Cholesteron, Triglyzeride, Lipase, alpha-Amylase, Cholinesterase) Diss. Med. Vet. München
- Stockham S. L. (1995) Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 11, 391-414
- Tukey J. W. (1977) *Exploratory data analysis*. Addison-Wesley Pub. Co. Reading, MA
- Unkel M. (1984) Die Aktivität der Enzyme GOT (AST), CK, GGT, LDH und GPT (ALT) im Blutserum von Islandpferden. *Tierärztl. Umsch.* 39, 697-702
- Waelchli R. O., Lutz H., Hermann M., Rüegg C., Eggenberger E. (1994) Hämatologische Referenzwerte beim Fohlen in den ersten zwei Lebensmonaten. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 136, 127-136
- Zepperitz H., Gürtler H. (1992) Ionisiertes Calcium und Gesamtcalcium im Blut von Rindern Schafen Schweinen und Pferden verschiedener Alters- und Reproduktionsstadien und Nutzungsrichtungen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 105, 328-332
- Zinkl J. G., Mae D., Guzman M. P., Farver T. B., Humble J.A. (1990) Reference ranges and the influence of age and sex on hematologic and serum biochemical values in donkeys (*Equus asinus*). *Am. J. Vet. Res.* 51, 408-413

## Danksagung

Die Autoren danken den Medizinisch-Technischen Assistentinnen Frau Annkathrin Ruhland, Carola Näther und Maria Heun herzlich für die unermüdliche Unterstützung und korrekte Kontrolle aller Messwerte.