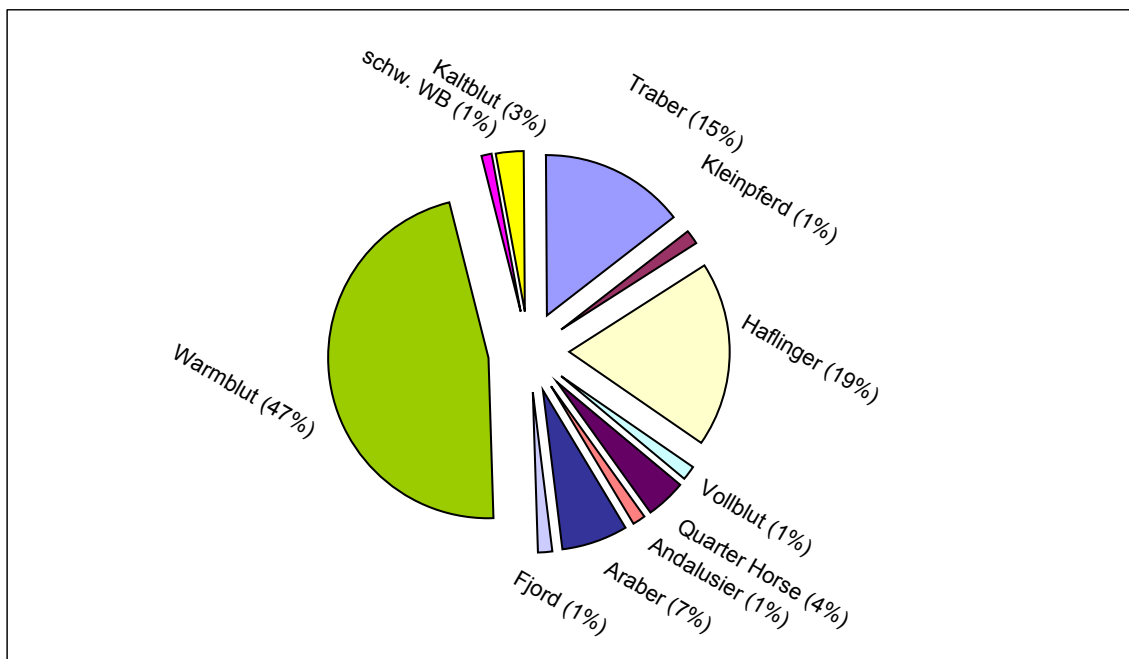


III Tiere und Methoden

1. Tiere

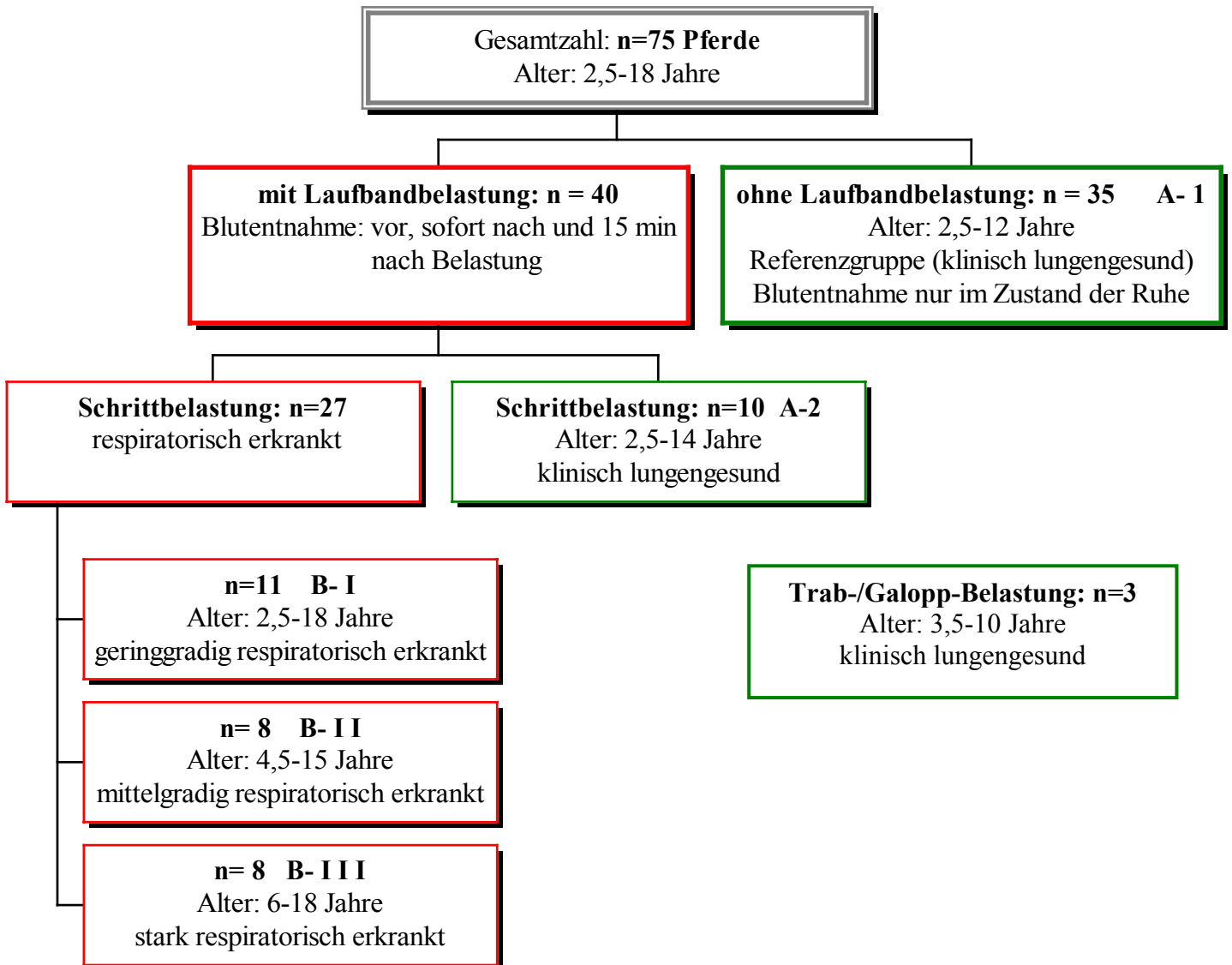
In der Zeit von Februar 2000 bis Juli 2001 wurden n=75 Pferde in die Auswertung einbezogen. Mir standen Pferde unterschiedlicher Rassen zur Verfügung (Abb. III.1.).

Abb. III.1. Rasseverteilung der insgesamt in die Untersuchung einbezogenen n=75 Pferde



Bezüglich des Geschlechts waren 57% männlich (45% Wallache, 12% Hengste) und 43% weiblich. Von den n=75 Pferden wurden n=40 Tiere standardisiert auf einem Laufband motorisch belastet. Die restlichen Pferde (n= 35) blieben ohne Belastung (s. Abb. III.2.).

Bei den einbezogenen Pferden handelt es sich um Patienten und Propädeutik-Pferde der Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin sowie um Patienten und klinikeigene Pferde der Großtierklinik des fzmb, Bad Langensalza (Thüringen). Die untersuchten Pferde unterteilen sich in n=48 klinisch lungenunauffällige Probanden und n=27 Pferde mit einer respiratorischen Erkrankung unterschiedlichen Schweregrades (Abb. III.2.).

Abb. III.2. Einteilung der in die Untersuchung einbezogenen Pferde

Der Schweregrad der respiratorischen Erkrankung wurde über ein Score-System ermittelt. Der Score-Wert diente zur Einteilung der erkrankten Pferde in drei Gruppen (siehe Kap. III 2.1).

Wertung (Faktor)	2						3		
Parameter	Blutgasanalyse						Blutgasanalyse		
	paO ₂ (kPa) in Ruhe			paO ₂ (kPa) nach Bel.			paCO ₂ (kPa) in Ruhe		
	≥12,7	<12,7 ≥11,3	<11,3 >10,6	<10,6	≥11,3	<11,3 ≥10,6	<10,6	≤ 6,4	> 6,4
Punktzahl	0	1	2	3	0	1	2	0	1
Proband									

Wertung (Faktor)	2			Gesamt-Punktzahl		
Parameter	Tracheobronchial-Sekret			Grad der respiratorischen Erkrankung		
	o.b.B.	ggr. Veränd.	hgr. Veränd.	gering	mittel	stark
Punktzahl	0	1	2	1 - 15	16 - 30	31 - 61
				Gruppen-Zuteilung		
				I	II	III
Proband						

Die Auswertung des Score-Systems der 27 respiratorisch erkrankten Probanden ist in Tabelle III.2. zusammengefasst.

Tab. III.2. Auswertung der Score-Gruppen

	Gruppe I ggr. respir. erkr. n = 11	Gruppe II mgr. respir. erkr. n = 8	Gruppe III stark respir. erkr. n = 8
Punktgrenzen	1 - 15	16 - 30	31 - 57
Variationsbreite	2 - 11	16 - 29	34 - 51
<u>Gesamt- Punktzahl</u> (Σ)	75	170	326

ggr. respir. erkr. = geringgradig respiratorisch erkrankt
mgr. respir. erkr. = mittelgradig respiratorisch erkrankt
stark respir. erkr. = stark respiratorisch erkrankt

2.2. Versuchsablauf

Die Untersuchung der klinisch lungengesunden, motorisch nicht belasteten Pferde beschränkte sich auf die zeitnahe Entnahme jugularvenöser und arterieller Blutproben mit anschließender Blutgasanalyse und Hämoximetrie sowie Bestimmung von Vollblut-Laktat und Serum-Pyruvat.

Die n=40 Pferde mit motorischer Belastung wurden vor Versuchsbeginn klinisch nach dem Protokoll der Abbildung III.3. untersucht. Die zeitnah entnommenen arteriellen und venösen Blutproben erfolgten bei den Probanden (A) vor, (B) sofort nach und (C) 15 min nach der Laufbandbelastung.

Drei klinisch lungenunauffällige Pferde wurden auf einem Hochgeschwindigkeitslaufband mit einem Intervall-Training belastet. Die Pferde befanden sich in einem unterschiedlichen Trainingszustand. Die Gruppe setzte sich aus einem untrainierten Weidepferd (P-1), einem antrainierten Schulpferd (P-2) und einem gut im Training stehenden Privatpferd (P-3) zusammen. Die Hochgeschwindigkeitsbelastung dieser 3 Pferde setzte sich aus folgenden Intervallen zusammen: *5 min Schritt (1,7m/s), 10 min Trab (3,8 m/s bei 3 % Steigung), 1,5 min Galopp (9,2 m/s), 8 min Trab (3,8 m/s), 2 min Galopp (9,2 m/s), 1,5 min Trab (3,8 m/s)*. Auch bei diesen Probanden erfolgten die zeitnah entnommenen arteriellen und venösen Blutproben (A) vor, (B) sofort nach und (C) 15 min nach der Laufbandbelastung.

Nach Abschluss der motorischen Belastung entnahmen wir bei allen respiratorisch erkrankten Pferden (n=27) mittels Endoskopie Tracheobronchial-Sekret.

Um Einblick in einen eventuellen circaseptanen Rhythmus des Erythropoetin zu erlangen, wurde bei 5 lungenunauffälligen Pferden 7 Tage lang jeden morgen zwischen 10⁰⁰ - 11⁰⁰ Uhr jugularvenöses Blut in Serumröhrchen entnommen. Das Blut wurde zentrifugiert (10 min bei 5000 U/min, RCF= 2795×g) und der Überstand bei -70°C eingefroren.

Bei 2 lungenunauffälligen Pferden wurde alle 4 h jugularvenöses Blut in Serumröhrchen entnommen, zentrifugiert (10 min bei 5000 U/min, RCF= 2795×g) und bei -70°C eingefroren.

Die Erythropoetin-Bestimmung erfolgte im Labor von PD Dr. Gunga (FU-Berlin).

Abb. III.3. Untersuchungsprotokoll der respiratorisch erkrankten Pferde

Pferd-Nr.:			
Name des Pferdes:			Besitzer:
Geschlecht:	Rasse :		
Alter:			
Körpermasse:			
Grund der Einstellung:			
Vorbericht:			
Vorbehandlung:			
Nutzungsrichtung:			
Impfstatus: Tetanus ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> Influenza ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> Herpes ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>			
KFZ (s):	Besonderheiten Herz ? , Geräusche ? :		
Rektaltemp. (°C):			

Respiratorische Einschätzung:

Seit wann bestehen klinisch erkennbare respiratorische Störungen ?	
Behandlung nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> - womit ?	Hyperinfusionstherapie ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Heu nass: ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Haltungsbedingungen: Stall/innen <input type="checkbox"/> Außenbox <input type="checkbox"/> Weide <input type="checkbox"/>	
Nasenausfluss : seit wann ?	Husten : seit wann ? auslösbar : ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Ruhedyspnoe ?	
Auskultation path. verändert ? Beschreibung :	Perkussion pathologisch verändert ? Beschreibung :
Röntgen : angefertigt ? ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Bronchoskopiebefund path. verändert ? ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Tracheobronchialsekret-Zytologie (TBS): Beurteilung:	

	vor	Sofort nach	5 min nach	15 min nach
	Motorischer Belastung			
Herzfrequenz				
Atemfrequenz				
Rektaltemperatur				

2.3. Gewinnung und Bearbeitung der Blutproben

Als Proben wurden arterielles und venöses Blut entnommen und je nach Fragestellung weiterbehandelt.

Das während der Endoskopie entnommene TBS (Tracheobronchial-Sekret) ging in der Auswertung nur im Bereich der Score-Einteilung der respiratorisch erkrankten Gruppen ein.

Probengewinnung: Venöse Blutproben entnahmen wir aus einer V. jugularis. Nach Vorbereitung der Punktionsstelle mit Alkohol oder Merfen-Spray punktierten wir im mittleren Halsdrittel mit einer sterilen Einmalkanüle (Sterican 50 x 1,2 mm der Firma Braun Melsungen AG) die leicht angestaute V. jugularis. Mit den entsprechenden Probenbehältnissen wurde das Blut unmittelbar aufgefangen.

Die arterielle Blutentnahme erfolgte aus der rechten A. carotis communis. Nach Desinfektion der Punktionsstelle (ca. 10–15 cm dorsal des Manubrium sterni) in der Drosselrinne punktierten wir etwa im Winkel von 45° mit einer sterilen Einmalkanüle (Sterican 50 x 0,8 mm der Firma Braun Melsungen AG). Das Blut wurde sofort in das entsprechende Sarstedt-Röhrchen gefüllt. Anschließend drückten wir die Punktionsstelle ca. 2 min ab, um eine Hämatombildung zu vermeiden.

Entnahmebehältnisse: Für die unterschiedlichen Bestimmungen kamen folgende Röhrchen zum Einsatz.

1,5 ml EDTA-K Probenröhrchen, KABE Labortechnik	- kleines Blutbild
10,0 ml Serumröhrchen mit Perlen, KABE Labortechnik	- Creatinkinase (CK), Aspartaminotransferase (ASAT), Erythropoetin (EPO)
1,8 ml Kabevette, NaF-beschichtet, KABE Labortechnik	- Glucose
3,5 ml Kabevette, Gerinnung, KABE Labortechnik	- Fibrinogen
1,8 ml Kabevette, NaF-beschichtet, KABE Labortechnik	- Laktat
2,0 ml Einmalspritze, sofortiges Überführen in steriles	
10 ml-Einmalröhrchen mit 4,0 ml eiskalter Perchlorsäure	- Pyruvat
2,0 ml LH Monovette, SARSTEDT	- Blutgasanalyse und Hämoximetrie

Probenaufbearbeitung:

Die Erfassung des kleinen Blutbildes (kl.BB.)¹, Laktat und Glucose¹ erfolgten im Vollblut.

Für die Bestimmung von CK¹, ASAT¹ und Fibrinogen¹ wurde Vollblut in den entsprechenden Probenröhrchen aufgefangen und nach Zentrifugation (10 min bei 5000 U/min, RCF= 2795×g) Serum gewonnen.

Für die Pyruvat-Bestimmung saugten wir 2 ml Vollblut aus einer schwach gestauten Vene in eine sterile Einmalspritze und gaben dies sofort in 4 ml eiskalte Perchlorsäure. Diese Mischung wurde geschwenkt und kühl (Eiswasser) aufbewahrt sowie anschließend 2-mal zentrifugiert (2 × 10 min bei 5000 U/min, RCF= 2795×g). Die Messung erfolgte so schnell wie möglich, in jedem Fall noch am gleichen Tag.

Für die Bestimmung des Erythropoetins² (EPO) fingen wir Vollblut mit den entsprechenden Röhrchen auf und zentrifugierten es ab (10 min bei 5000 U/min, RCF= 2795×g). Der Überstand wurde zügig bei -70°C eingefroren und bis zur Hormonbestimmung etwa 3-10 Wochen gelagert.

Die Blutentnahmen für Blutgas- und Hämoximetrie-Bestimmung geschahen unter weitgehendem Ausschluss von Luftaspiration. Falls das Ansaugen geringer Luftmengen nicht vermieden werden konnte, wurden diese sofort entfernt (über den Monovettenkonus herausgedrückt). Anschließend verschlossen und rollten wir die Monovette. Danach lagerten wir die Proben bis zur Bestimmung der Werte (≤ 10 min) in Eiswasser.

¹ Die Bestimmung der Parameter erfolgte dankenswerterweise im Institut für Veterinärmedizinische Diagnostik (Direktor: Dr. Schmidt), Berlin-Lankwitz.

² Die Bestimmung von Erythropoetin erfolgte dankenswerterweise im Labor von PD Dr. Gunga, Institut für Physiologie, FB Humanmedizin, Klinikum Benjamin Franklin (FU-Berlin).

2.4. Blutgasanalyse und Hämoximetrie

Die Bestimmungen der Blutgasanalyse und der Hämoximetrie erfolgten über die Kombination des ABL™555 mit dem OSM™3 der Firma Radiometer Copenhagen.

Folgende Parameter bestimmten wir, die hier mit einer kurzen Beschreibung von Definition und Aussagekraft dargestellt werden. Die folgenden Angaben basieren zum großen Teil auf den Informationen des Blutgas-Handbuches von Radiometer, Copenhagen (Radiometer Medical A/S, Dänemark, 1999) und sind auf die Bestimmungen mit diesem Gerät bezogen.

Blutgasanalyse:

- pH-Wert (**pH**);

Der pH-Wert ist der negative, dekadische Logarithmus der Konzentration an H^+ -Ionen in einer Lösung. Er ist ein Maß für eine Azidämie oder Alkalämie. Zwischen pH-Wert und H^+ -Ionenaktivität existiert folgende Beziehung:

$$[H^+] \text{ in nmol/l} = 10^{9-pH} \quad \text{oder} \quad pH = 9 - \lg [H^+ \text{ in nmol/l}].$$

- Sauerstoff-Partialdruck (**pO₂**) in kPa;

Der pO₂ ist der Sauerstoffpartialdruck in einer Gasphase im Gleichgewicht mit Blut.

Der arterielle Sauerstoffpartialdruck paO₂ wird als Indikator für die Sauerstoffaufnahme in der Lunge anerkannt.

- Kohlendioxidpartialdruck (**pCO₂**) in kPa;

Der pCO₂ ist der Kohlendioxidpartialdruck in einer Gasphase im Gleichgewicht mit Blut. Mit Hilfe des paCO₂ und des paO₂ kann zwischen Partial- und Globalinsuffizienz unterschieden werden.

- Sauerstoffpartialdruck bei Hb-Halbsättigung (**p50**) in kPa;

Der p50 ist der Sauerstoffpartialdruck, bei dem 50 % des Hämoglobin mit Sauerstoff gesättigt sind. Er charakterisiert die aktuelle Lage der O₂-Bindungskurve und reflektiert die Affinität des Hämoglobins zu Sauerstoff.

- Basenüberschuss (**ABE**) in mmol/l – berechneter Wert;

Der ABE ist die Konzentration von titrierbarer Base bzw. Säure, die man zur Rücktitration auf den Normalwert benötigen würde. Er repräsentiert die Gesamtpufferkapazität im Blut.

- aktueller Bicarbonat-Wert (**HCO₃⁻**) in mmol/l – berechneter Wert;

Der HCO₃⁻-Wert ist die Bicarbonatkonzentration im Plasma der Blutprobe. Das aktuelle Bicarbonat wird mit den gemessenen pH- und pCO₂-Werten nach der Henderson-Hasselbalch-Gleichung berechnet.

- Konzentration des Gesamt-Sauerstoffgehalt im Blut (**tO₂**) in ml/l – berechneter Wert

Der tO₂ gibt die Summe des chemisch gebundenen und physikalisch gelösten Sauerstoffes an und ist ein Maß zur Beurteilung des aktuellen O₂-Transportes.

Berechnung: $tO_2 = sO_2 \times (1 - \text{COHb} - \text{MetHb}) \times \text{tHb} + \alpha O_2 \times pO_2$

αO_2 = Löslichkeitskoeffizient für O₂

Die Berechnung des maximalen O₂-Gehaltes tO₂^b (ml/l) erfolgte über die Formel nach Clapham (1991):

$$tO_2^b \text{ (ml/l)} = \frac{(\text{Hb} \times sO_2 \times 1,39)}{100} + pO_2 \times 0,23$$

Hb = Hämoglobinkonzentration

sO₂ = Sauerstoffsättigung

1,39 = Hüfner-Zahl.

pO₂ = Sauerstoffpartialdruck im art. Blut (kPa)

0,23 = Volumen des O₂ (ml/l) pro kPa pO₂

Zu beachten ist, dass die beiden Dyshämoglobine MetHb und COHb nicht zum Sauerstofftransport zur Verfügung stehen. Es gibt zwei Möglichkeiten, dies in der Berechnung des tO₂-Wertes zu berücksichtigen. Kann man die Dyshämoglobine mit genauen Werten belegen, so zieht man diese vom Hämoglobingehalt ab. Bestehen keine Angaben über die Dyshämoglobine, so wird eine Hüfner-Zahl von 1,34 angenommen.

Der Blutgasanalyse mit dem ABLTM555 und OSMTM3 von Radiometer Copenhagen sind genaue Werte über die Dyshämoglobine zu entnehmen. Durch diese Angaben konnten wir folgende Formel zu Berechnung des tO₂-Wertes nutzen:

$$\frac{(\text{Hb} - (\text{MetHb} + \text{COHb})) \times sO_2 \times 1,39}{100} + pO_2 \times 0,23.$$

- Alveolär-arterielle O₂-Partialdruck-Differenz (**AaDO₂**) in kPa – berechneter Wert

Die AaDO₂ ist die berechnete alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz und wird folgendermaßen ermittelt:

1. Die Messung des paO₂ und des paCO₂

2. die Berechnung des p_AO₂

$$p_A O_2 = (P_B - P_{H_2O}) \times F_i O_2 - p_a CO_2$$

P_{H₂O} = Wasserdampfpartialdruck bei 37°C (6,25 kPa)

F_iO₂ = prozentualer Anteil des Sauerstoffs an der Inspirationsluft (~ 20,95%)

3. Subtraktion des gemessenen p_{aO_2} vom errechneten p_{AO_2}

$$AaDO_2 = p_{AO_2} - p_{aO_2}.$$

- Hämatokrit (**Hkt**) in l/l – berechneter Wert (vom ABL, nicht über Zentrifugation);
Der Hämatokrit ist der relative Volumenanteil der Erythrozyten am Volumen des Gesamtblutes.

Hämoximetrie:

Das OSM^{TM3}, Radiometer Copenhagen, misst über ein Spektrometer. Dies besteht aus einem feststehendem Diffraktionsgitter als Monochromator und misst mit sechs Wellenlängen die Absorptionen in unverdünntem hämolysiertem Vollblut.

Über das OSM^{TM3}, Radiometer Copenhagen können u.a. folgende Parameter bestimmt werden:

- Gesamt-Hämoglobin (**tHb**) in g/l;
Das tHb ist die Gesamthämoglobin-Konzentration im Blut, d.h. einschließlich aller Dyshämoglobine, wie $tHb = O_2Hb + rHb + COHb + MetHb$.
Das tHb ist ein Maß für die potentielle Kapazität den Sauerstoff zu transportieren. Die tatsächliche Sauerstoffkapazität kann jedoch nur durch das effektive Hämoglobin (tHb - Dyshämoglobine) definiert werden.
- Sauerstoff-Sättigung (**sO₂**) in % – berechneter Wert;
Die Sauerstoffsättigung sO_2 ist der Prozentsatz an oxygeniertem Hämoglobin in Bezug auf die Hämoglobinmenge, die Sauerstoff transportieren kann (tHb minus Dyshämoglobine). Die sO_2 ist also ein Maß für die Auslastung der augenblicklichen O_2 -Transportkapazität.
- oxygeniertes Hb (**O₂Hb**) in % – berechneter Wert;
Das O_2Hb ist das Verhältnis zwischen den Konzentrationen von O_2Hb und tHb und somit ein Maß für die Ausnutzung der *potentiellen* O_2 -Transportkapazität (mit MetHb und COHb).
- deoxygeniertes, reduziertes Hb (**rHb**) in % – berechneter Wert;
Das reduzierte Hb ist das Hämoglobin, das nicht mit Sauerstoff beladen ist. Es steht potentiell zur Beladung mit Sauerstoff zur Verfügung.

- Methämoglobinfraktion (**MetHb**) in %;

Das MetHb bezeichnet das Verhältnis der Konzentration von MetHb zu tHb. MetHb wird gebildet, wenn das zweiwertige Eisenion (Fe^{2+}) in der Hämgruppe zu einem dreiwertigen Eisenion (Fe^{3+}) oxidiert.

- Carboxyhämoglobinfraktion (**COHb**) in %;

Die COHb-Fraktion bezeichnet das Verhältnis der Konzentration von Kohlenmonoxid-Hb zum Gesamt-Hämoglobin (tHb).

2.5. Laktat

Der Laktat-Wert wird über einen interferenzfreien Laktat-Sensor innerhalb der Blutgasanalyse mit dem ABLTM555 von Radiometer Copenhagen bestimmt. Im Sinne der Qualitätskontrolle wurden vergleichende Messungen derselben Probe über eine photometrische Bestimmung und dem ABLTM555 von Radiometer Copenhagen erstellt. Es lag eine Übereinstimmung im Rahmen der Messungengenauigkeit vor.

2.6. Pyruvat

Die Bestimmung von Pyruvat im Serum erfolgte in Doppelbestimmungen mittels dem von SIGMA-Diagnostics herausgebrachten Pyruvat-Kit. Eine photometrische Messung liegt der Analyse zugrunde. Nach kleineren, im folgenden beschriebenen Modifikationen, ließ sich der Pyruvat-Kit für Pferdeserum problemlos anwenden.

Bei der Probenvorbereitung ist unbedingt zu beachten, dass 2 ml Serum aus einer nur schwach gestauten Vene sofort nach dem Aufsaugen (sterile 2ml Spritze) in 4 ml eiskalte Perchlorsäure gegeben werden müssen. Das anschließende Schwenken ermöglicht eine vollständige Ausfällung der Eiweiße. Wiederholte Messungen einer Probe erwiesen sich nur dann als reproduzierbar, wenn das Serum-Perchlorsäure-Gemisch erst 10 min bei 5000 U/min ($\text{RCF} = 2795 \times g$) zentrifugiert wurde und anschließend der Überstand nochmals einer Zentrifugation (10 min bei 5000 U/min ($\text{RCF} = 2795 \times g$)) unterzogen wurde. Der so entstandene Überstand kann zur Messung eingesetzt werden. Es ist, wie in der Literatur beschrieben, wichtig, die Bestimmung

noch am selben Tag und so schnell wie möglich durchzuführen. Ansonsten ist mit einem Absinken der Pyruvat-Werte nach 12h sicher zu rechnen.

In der Anleitung zum Testkit wird der Einsatz von 2ml zentrifugiertem Serumüberstand vorgegeben. Meine Doppelbestimmungen ergaben jedoch bei einem Einsatz von 1ml Aqua bidest plus 1ml Probe (mit anschließender Multiplikation x 2) eine größere Übereinstimmung der Messdaten. Werden hohe Pyruvat-Werte von über 0,340 mmol/l (>3 mg/dl) erwartet, so gibt die Vorschrift gleich eine Verdünnung von 1:1 mit Aqua bidest vor. Das Photometer wurde zu allen Messungen auf 37°C temperiert.

Die Analysen erfolgten als Doppelbestimmung und bei jeder Messreihe lief mindestens eine Standardprobe mit. Bei Anbruch eines neuen Testkits wurde einmalig eine Calibrationskurve erstellt. Auffällig war, dass die Standardproben bei allen Messungen immer um ca. 0,004 mmol/l (Soll= 0,068 mmol/l - Ist= 0,072 mmol/l) höher lagen, als angegeben.

2.7. Erythropoetin

Die Erythropoetinbestimmung beruht auf dem Testprinzip des sogenannten "Sandwich"-ELISA. In diesem Sandwich-ELISA wird EPO durch einen immobilisierten Kaninchen-anti-EPO-Antikörper an die Festphase gebunden. Nach einem Waschschrift bindet sich ein zweiter, mit Biotin konjugierter Kaninchen-anti-EPO-Antikörper an das gebundene EPO. Nach einer weiteren Inkubation mit einem Anti-Biotin-Antikörper, konjugiert an alkalische Phosphatase und einem Chromogen (PNPP), entsteht eine gelbliche Färbung. Diese Färbung ist der Konzentration an EPO im Probenmaterial proportional und kann photometrisch erfasst werden. Der Intra-Assay Variationskoeffizient wird vom Hersteller mit 4,8 % angegeben.

Diese Methode ist für die Bestimmung von humanem Erythropoetin entwickelt worden. In einigen Vorversuchen mit Pferdeserum konnten jedoch reproduzierbare Ergebnisse gemessen werden, so dass diese Methode in dieser Dissertation zur Bestimmung des Pferde-Erythropoetin eingesetzt wurde.

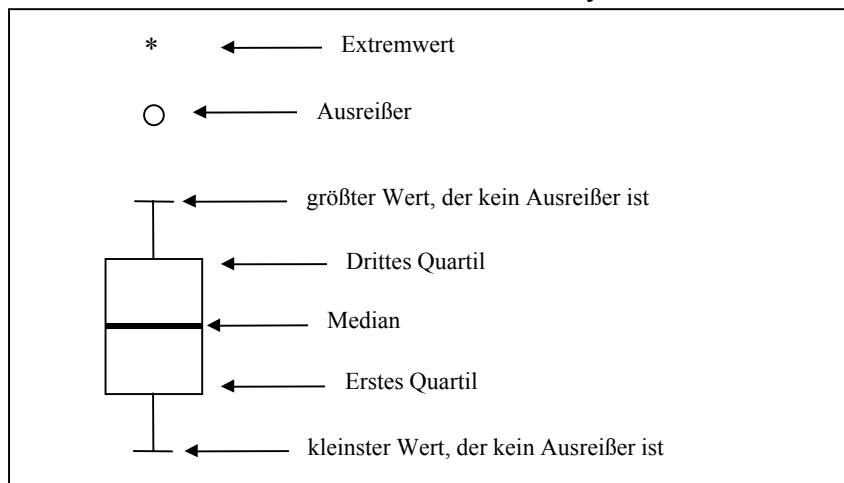
2.8. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte über das Computerprogramm SPSS (Version 10.0 für Windows). Die Tabellen, sowie die Darstellungen der Einzelverläufe wurden mit Hilfe des Computerprogrammes Exel (Mikrosoft® Exel 97) erstellt.

Für die Auswertung wurden folgende Testverfahren herangezogen:

- für die Übersichts-Signifikanzmessungen der Gruppen (post-hoc) nutzten wir Bonferroni und Dunett-T3 Tests
 - für zwei unabhängige Stichproben gelangte der nichtparametrischen U-Test nach Mann-Whitney zur Anwendung
 - zwei verbundene Stichproben beurteilten wir mittels nichtparametrischen Wilcoxon-Test
- Zur graphischen Darstellung wählten wir neben den Tabellen noch Einzelverlaufskurven und kombinierte Boxplots (Box- und Wisker-Plot, s. Abb. III.4.).

Abb. III.4. Box- und Whisker-Plot einer symmetrischen Messreihe



Innerhalb der Box (Kasten) befinden sich 50% der Werte. Die Whisker („Schnurrhaare“) erstrecken sich bis hin zum kleinsten und größten Wert, der nicht als Ausreißer eingestuft ist. In der Box ist der Median eingezeichnet. Er lässt auf eine symmetrische oder asymmetrische Verteilung schließen. Letzteres ist der Fall, wenn 1. und 3. Quartil (obere bzw. untere Grenze der Box) unterschiedliche Abstände zum Median aufweisen. Man unterscheidet zwischen links- und rechtsschiefen Verteilungen. Variabilität oder Ausdehnung können aufgrund der

Länge der Box beurteilt werden. Als Ausreißer werden die Untersuchungsergebnisse gewertet, die sich außerhalb der Box und ab dem nächstliegenden Quartil gemessen im 1,5 bis 3-fachen Bereich befinden. Ausreißer werden mit einem kleinen Kreis gekennzeichnet. Untersuchungsdaten, die mehr als drei Boxenlängen vom oberen bzw. unteren Boxenrand entfernt liegen, werden als Extremwerte bezeichnet. Sie werden mit einem Sternchen dargestellt.

Die von uns erstellten und im Ergebnisteil dargestellten Berechnungen von Signifikanzen beschreiben nur die Zusammenhänge der Daten, die wir in unserer explorativen Arbeit erhoben haben. Von einer Verallgemeinerung auf die Grundgesamtheit der Pferdepopulation kann man statistisch gesehen nicht ausgehen.