

Erstellung von Referenzwerten für die Zinkkonzentration in Kotproben durch vergleichende Analyse der Zinkkonzentrationen in Blut- und Kotproben von Pferden aus Deutschland

Cedric-Bo Lüpckemann¹, Anja-Elvira Müller², Lydia Staufenbiel³ und Heidrun Gehlen¹

¹ Klinik für Pferde, Freie Universität Berlin, Berlin

² Vet Med Labor GmbH, IDEXX Laboratories, Ludwigsburg

³ Galgenberghof Müncheberg, Neustadt-Glewe

Zusammenfassung: Zink übernimmt eine zentrale Rolle in vielen Stoffwechselfvorgängen im Organismus und ist dementsprechend eins der wichtigsten Spurenelemente in der Pferdefütterung. Daher ist die ausreichende Versorgung und Supplementation von Zink unabdinglich für die Erhaltung der Gesundheit und der Leistung des Pferdes. In dieser Studie wird die Spurenelementkonzentration von Zink in verschiedenen Blutprobenmedien mit denen in Kotproben verglichen und analysiert. Des Weiteren sollten Referenzwerte für die Zinkkonzentration in Kotproben erstellt werden, um eine valide, minimalinvasivere, diagnostische Alternative zur Auswertung des Blutserums darzulegen. Hierbei ist ebenfalls kritisch zu hinterfragen, ob die koprologische Untersuchung der serologischen Untersuchung vorzuziehen ist. Die Auswertung der Spurenelementkonzentration von Zink erfolgte nach einem standardisierten, analytischen Verfahren. Es wurde von jeweils 10 Probanden aus 13 Bundesländern Blut- (Serum, Plasma und EDTA-Blut) und Kotproben entnommen, analysiert und vergleichend dargestellt. Die Probanden waren Pferde aller Rassen, im Alter zwischen 3 und 35 Jahren, welche als klinisch gesund eingestuft wurden. Weiterhin wurden die Pferde sowohl freizeitlich als auch sportlich genutzt. Die Pferde stammten aus unterschiedlichen Betrieben und wurden in konventioneller Stallhaltung, Offenstallungen und Ganzjahresbeweidungen gehalten. Es erfolgte keine einheitliche Fütterung von Kraft- und Zusatzfuttermitteln. Die Fütterung von kupferhaltigem Mineralfutter konnte bei einigen Pferden festgestellt werden, wird allerdings in dieser Studie nicht gesondert berücksichtigt. Die Analyse der Zinkkonzentration erfolgte mittels ICP-OES (optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma). Die Kotproben wurden zuvor aufbereitet und getrocknet. Eine biologisch relevante Korrelation zwischen der Zinkkonzentration in Kot- und Serumproben lag nicht vor. In den Blutproben konnte dagegen eine starke Korrelation zwischen Serum- und Plasmaproben, aber nicht zwischen Serum- und EDTA-Blutproben aufgezeigt werden. Die ermittelten Referenzwerte für die Zinkkonzentration in Kotproben liegen zwischen 29 und 413 mg/kg. Vorliegend wurden Referenzwerte für die Zinkkonzentration in Kotproben eruiert. *Staufenbiel et al.* postulierte hierzu bereits erste methodische Rahmenbedingungen. Die koprologische Untersuchung stellt unter anderem das weniger invasive Diagnostikum dar. Des Weiteren gibt die Kotprobenuntersuchung anders als die serologische Untersuchung Aufschluss über die nutritive Versorgungsgrundlage von Zink, wodurch eine genauere Aussagekraft über die Zinkkonzentration im Mechanismus getroffen werden kann. Aufgrund der Praktikabilität ist die Kotprobenanalyse der serologischen Auswertung vorzuziehen.

Schlüsselwörter: Messmethodenvergleich, Blutserumanalyse, Kotprobenanalyse, Zink, Referenzwerte, Pferde

Establishment of reference values for zinc concentration in fecal samples by comparative analysis of zinc concentrations in blood and fecal samples from horses in Germany

Zinc plays a central role in many metabolic processes in the organism and is therefore one of the most important trace elements in horse nutrition. Therefore, the adequate supply and supplementation of zinc is essential for maintaining the health and performance of horses. In this study, the trace element concentration of zinc in different blood sample media will be compared and analyzed with those in faecal samples. Furthermore, reference values for the zinc concentration in fecal samples are to be established in order to present a valid, minimally invasive, diagnostic alternative to the evaluation of blood serum. It should also be critically examined whether the coprological examination is preferable to the serological examination. The evaluation of the trace element concentration of zinc was carried out using a standardized, analytical procedure. Blood (serum, plasma and EDTA blood) and faecal samples were taken from 10 test subjects from 13 federal states, analyzed and compared. The test subjects were horses of all breeds, aged between 3 and 35 years, which were classified as clinically healthy.^[1] Furthermore, the horses were used both recreationally and for sport. The horses came from different farms and were kept in conventional stables, open stables and year-round grazing. There was no uniform feeding of concentrates and supplementary feed. The feeding of copper-containing mineral feed was detected in some horses, but was not considered separately in this study. The zinc concentration was analyzed using ICP-OES (optical emission spectrometry with inductively coupled plasma). The faecal samples were prepared and dried beforehand. There was no biologically relevant correlation between the zinc concentration in fecal and serum samples. In the blood samples, however, a strong correlation could be demonstrated between serum and plasma samples, but not between serum and EDTA blood samples. The reference values determined for the zinc concentration in fecal samples are between 29 and 413 mg/kg. Reference values for the zinc concentration in fecal samples were determined. *Staufenbiel et al.* already postulated the first methodological framework for this. Among other things, the coprological examination is the less invasive diagnostic tool. Furthermore, unlike the serological examination, the fecal sample examination provides information about the nutritive supply basis of zinc, which means that a more precise statement can be made about the zinc concentration in the mechanism. Due to its practicability, fecal sample analysis is preferable to serological evaluation.

Keywords: comparison of measurement methods, blood serum analysis, fecal sample analysis, zinc, reference values, horses

Zitation: Lüpke mann C.-B, Müller A.-E, Staufenbiel L, Gehlen H (2024) Erstellung von Referenzwerten für Zinkkonzentration in Kotproben durch vergleichende Analyse der Zinkkonzentrationen in Blut- und Kotproben von Pferden aus Deutschland. *Pferdehilk Equine Med* 40, 350–356, DOI 10.21836/PEM20240408

Korrespondenz: Cedric-Bo Lüpke mann, Klinik für Pferde der FU Berlin, Oertzenweg 19b, 14163 Berlin; cedric-bo.luepkemann@fu-berlin.de

Eingereicht: 30. März 2024 | **Angenommen:** 30. April 2024

Einleitung

Eine balancierte Nährstoffversorgung von Spurenelementen ist für die Gesundheit und die Vitalität des Pferdes entscheidend. Hierbei übernimmt unter anderem Zink eine zentrale Rolle in der Pferdefütterung.^[1] Als essentielles Spurenelement kommt Zink in zahlreichen physiologischen Stoffwechselprozessen vor.^[2] So ist Zink zum Beispiel vor allem bezüglich der Stabilisierung des Hufhorns von Relevanz.^[3] Dementsprechend ist eine bedarfsdeckende Zinkversorgung unabdinglich für die Hufhornqualität. Des Weiteren wirkt sich Zink auf die Polarität von Enzymen und diverse katalytische Prozesse aus.^[4] Zink fungiert als Cofaktor für viele enzymatische Prozesse, die unter anderem für die Unterstützung der Hufintegrität sowie für die Verbesserung der Regeneration der Haut und für die Förderung des Immunsystems verantwortlich sind. Dadurch wird eine gezielte Zinksupplementierung bei Patienten mit akuter Hufrehe sowie mit PPID (Pituitary Pars Intermedia Dysfunction) und entzündlichen dermatologischen Erkrankungen empfohlen.^[1] Ein ausgeprägter Zinkmangel kann daher eine Manifestation diverser klinischer Symptome zur Folge haben wie zum Beispiel die Bildung von schlechter Hufhorn-, Fell- oder Hautqualität sowie Kachexie, Inappetenz und Infektanfälligkeit. Dies konnte von *Harrington et al.* bereits 1973 in einer Studie zu Zinkmangel bei Fohlen untersucht werden. Hierbei wiesen Fohlen mit einer Zinkunterversorgung innerhalb von 6–7 Wochen eine klinische Mangelsymptomatik auf.^[4] Dies liegt unter anderem daran, dass Zink an diversen Transkriptionsfaktoren beteiligt und Bestandteil von zinkabhängigen Proteinen ist, daher kann eine Unterversorgung zur Beeinflussung der Genexpression führen. Dies kann sich vor allem auf die Entwicklungsphase teratogen auswirken.^[5] Die gleichzeitig gesteigerte Genexpression von Appetitregulatoren kann den Appetit reduzieren, was wiederum zu einer verminderten Zinkaufnahme führt.^[6] Weiterhin wird davon ausgegangen, dass alle Symptome, die durch eine Zinkunterversorgung hervorgerufen werden, eine Störung der Zelldifferenzierung verursachen. Dies liegt daran, dass wie bereits oben beschrieben Zink für die Aktivierung der Genexpression verantwortlich ist.^[7] Schlussendlich führt die Zinkunterversorgung zu diversen sekundären Mangelerscheinungen.^[8] Viele Spurenelemente wie Eisen oder Mangan werden bereits über das Grundfutter, vor allem über das Heu, bedarfsdeckend aufgenommen. Daher weisen gesunde Pferde, die ausschließlich auf der Weide gehalten werden geringere Zinkgehalte in Serum- und Plasmaproben auf als Pferde, welche unter Stallbedingungen gehalten werden.^[3] Dies liegt vor allem daran, dass die Zinkgehalte im Grundfutter teilweise stark variieren und daher oftmals nicht eindeutig eingeschätzt werden können, wodurch die Notwendigkeit besteht, eine ausreichende Zinkmenge zu supplementieren.^[3] Gleichzeitig muss auf eine ausgewogene Versorgung von anderen Spurenelementen geachtet werden, da unter anderem Eisen und Zink die gleichen

Transportsysteme im Darm aktivieren, wodurch bei einer Eisenübersversorgung die intestinale Zinkaufnahme blockiert werden kann.^[9] Um eine angemessene Versorgung gewährleisten und eine Aussagekraft über die nutritive Versorgungsgrundlage von Spurenelementen treffen zu können, ist es unerlässlich, die Zinkkonzentration in Kotproben zu analysieren und entsprechend Referenzwerte zu etablieren. Vor allem da die Zinkkonzentration in Serumproben sehr variabel sein kann und durch multiple Faktoren wie zum Beispiel Alter, Saisonalität, akute Entzündungen oder chronische Erkrankungen beeinflusst wird.^[10,11] Dadurch weist die serologische Auswertung eine geringere Aussagekraft auf.^[12] In dieser Publikation werden daher die Zinkkonzentrationen in Kot- und Blutproben vergleichend dargestellt. Resultierend hieraus sollen erste Referenzwert für die Zinkkonzentration in Kotproben bestimmt werden.

Material und Methodik

Probanden, Probengewinnung und Analysen

Die vorliegende Studie basiert auf der Auswertung von Blut- und Kotproben, welche von 130 Pferden aus 13 Bundesländern im Rahmen einer Vorsorgeuntersuchung entnommen wurden. Die Probanden waren Pferde zwischen 3 und 35 Jahren, aller Rassen und wurden als klinisch allgemeinesund befundet.^[13] Die Pferde wurden weiterhin sowohl als Freizeit-, als auch als Sportpferde genutzt. Die Pferde stammten aus unterschiedlichen Betrieben und wurden in konventioneller Stallhaltung, Offenstallungen und Ganzjahresbeweidungen gehalten. Des Weiteren erfolgte keine einheitliche Fütterung von Kraft- und Zusatzfuttermitteln. Die Fütterung wurde daher in dieser Studie nicht berücksichtigt. Weiterhin entspricht die vorliegende Studie den Kriterien eines Feldexperimentes, welches eine repräsentative Stichprobe unter tatsächlichen Lebensbedingungen darstellt.^[14]

Die Kotprobe wurde manuell aus der Mitte eines spontan abgesetzten Kothaufens unter Vermeidung von Bodenkontaminationen gewonnen. Diese Entnahmetechnik wurde von *Staufenbiel et al.* im Rahmen der Untersuchung der Einflussnahme auf die Probengewinnung eruiert.^[15,16] Weiterhin wurden die Kotproben 48 Stunden bei 60°C im Wärmeschrank getrocknet und anschließend bis zur weiteren Verarbeitung bei -18°C gelagert. Im Labor (IDEXX, Labor Kornwestheim) wurden die Kotproben vor der Analyse fein gesiebt. Hierbei erfolgte die Separation und Zerkleinerung von groben Partikeln. Mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES (inductively coupled plasma – optical emission spectrometry): Zn) nach zertifizierten Standardanweisungen wurde eine definierte Probenmenge (Einwaage zwischen 0,028 g und 0,04 g) analysiert. Dieses Analyseverfahren wurde bereits in

Untersuchungen von Rinder- und Pferdekotproben angewendet.^[6,15] Die Blutproben wurden nach antiseptischer Vorbereitung der Punktionstelle der Vena jugularis externa entnommen. Das Blut wurde in drei verschiedenen Blutprobemedien (Serum-, Plasma- und EDTA-Blutproben) aufgefangen. Das Blut im Serumröhrchen wurde zunächst für 10 Minuten ruhen gelassen und anschließend zentrifugiert. Die Lagerung der Serumproben erfolgte bei 2–8°C und die der Plasma- und EDTA-Blutproben bei 15–25°C. Die Analyse der Blutproben im Labor (IDEXX, Labor Ludwigsburg) fand innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme statt. Hierbei wurde ebenfalls mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES: Zn) nach zertifizierten Standardanweisungen eine definierte Probenmenge analysiert.

Statistische Auswertung

Die Datenerfassung und -verwaltung erfolgte mit dem Programm Excel (Microsoft Excel 2016, Microsoft Corporation) und die statistische Auswertung mithilfe von Python (Visual Studio Code). In Tabelle 1 wird die deskriptive Statistik der Zinkkonzentration in Kot-, Serum-, Plasma und EDTA-Blutproben von 130 Pferden (n = 130) aus insgesamt 13 Bundesländern vorgestellt. Die Wertebereiche in Kot- und Blutproben

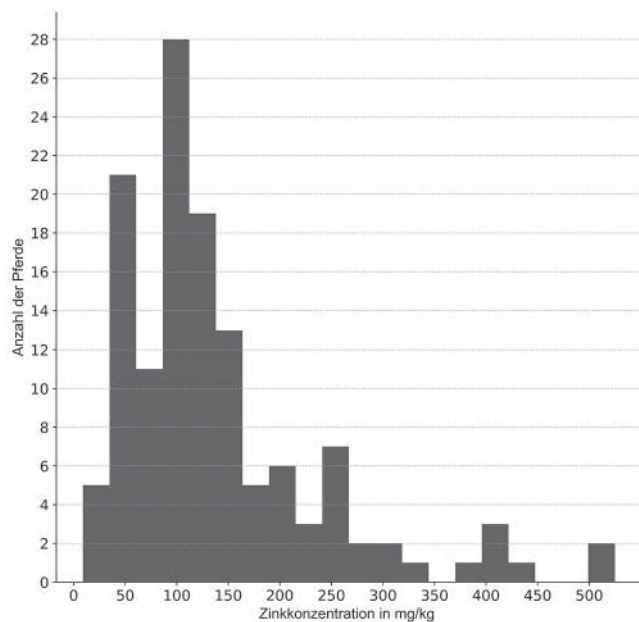


Abb. 1 Verteilung der Zinkkonzentration (mg/kg) in Kotproben von 130 klinisch gesunden Pferden. | Distribution of zinc concentration (mg/kg) in faecal samples from 130 clinically healthy horses.

unterscheiden sich aufgrund der angegebenen Einheiten. Die Zinkkonzentration in Kotproben wird in mg/kg TS und in Blutproben in µg/l angegeben, sodass eine direkte Vergleichbarkeit dahingehend nicht möglich ist.

In Abbildung 1 wurde die Häufigkeitsverteilung der Zinkkonzentration in Kotproben graphisch dargestellt. Die Verteilung stellt sich hierbei rechtsschief dar. Abbildung 2 zeigt weiterhin eine vergleichende Darstellung der Zinkkonzentration in den verschiedenen Blutprobemedien. Mit dem Shapiro-Wilk-Test wurde untersucht, ob eine Normalverteilung vorliegt. Hierbei wurde das Signifikanzniveau auf 0,05 festgesetzt. Die p-Werte für Serum- und Plasmaproben liegen mit 0,41 und 0,33 deutlich über dem Signifikanzniveau, sodass hier von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann. Des Weiteren erfolgte die Ermittlung des Rangkorrelationskoeffizientens nach Spearman zwischen Serum- und Plasma-, sowie Serum- und EDTA-Blutproben und Serum- und Kotproben. Durch die bereits bestehenden Referenzwerte der Zinkkonzentration in Serumproben (IDEXX Referenzwerte: 327–941,76 µg/l) werden diese zur Vergleichbarkeit verwendet.

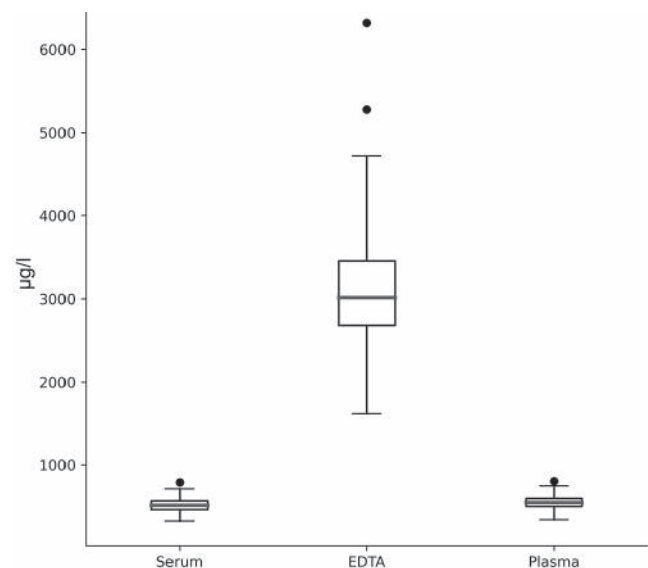


Abb. 2 Vergleichende Verteilung der Zinkkonzentration (µg/l) in Serum-, EDTA-Blut- und Plasmaproben von 130 klinisch gesunden Pferden als Boxplot-Diagramm. Dargestellt sind Medianwert (–), der Interquartilsbereich, Erwartungsbereich (Federn) sowie Ausreißer (•). | Comparative distribution of the zinc concentration (µg/l) of serum, EDTA blood and plasma in clinically healthy horses as a boxplot. The diagram shows the median (–), interquartile range, expected minimum and maximum as well as statistical outliers (•).

Tab. 1 Zinkwerte von klinisch gesunden Pferden (n = 130). | Zinc content of clinically healthy horses (n = 130) ©Cedric-Bo Lüpckemann

Parameter Zn	Kot (mg/kg)	Serum (µg/l)	Plasma (µg/l)	EDTA (µg/l)
Min. Wert	9,00	330,00	345,00	1620,00
Max. Wert	525,00	789,00	802,00	6320,00
Mittelwert	139,00	517,77	547,53	3098,85
Median	113,00	512,00	544,50	3015,00
Standardabweichung	99,00	76,45	81,51	629,64
Variationskoeffizient (%)	71,03	14,82	14,94	20,40

Um die Korrelation zwischen den verschiedenen Probemedien zu visualisieren, wurden diese in einem kartesischen Koordinatensystem dargestellt (Abb. 3, 4 und 5). Weiterhin wurde eine Korrelations-Analyse durchgeführt. Der Korrelationskoeffizient zwischen Serum- und Plasmaproben lag demnach bei 0,75, der zwischen Serum- und EDTA-Blutproben bei 0,05 und der zwischen Serum- und Kotproben bei 0,09. Liegt eine Korrelation zwischen den Variablen vor, liegt der Wert bei 1 (positive lineare Korrelation) oder -1 (negative lineare Korrelation). Ein Korrelationskoeffizient von 0 zeigt auf, dass keine Korrelation vorliegt. Zur Verdeutlichung wurde ebenfalls eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

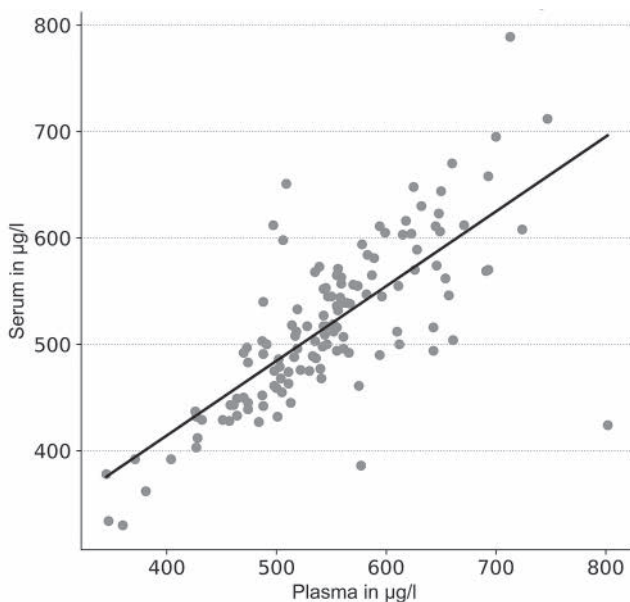


Abb. 3 Korrelation der Zinkkonzentration ($\mu\text{g/l}$) von Serum- und Plasmaproben, Streudiagramm mit Regressionsgerade. (schwarz) | Correlation of the zinc concentration of serum and plasma blood samples, declaration in $\mu\text{g/l}$, scatterplot with linear regression. (black)

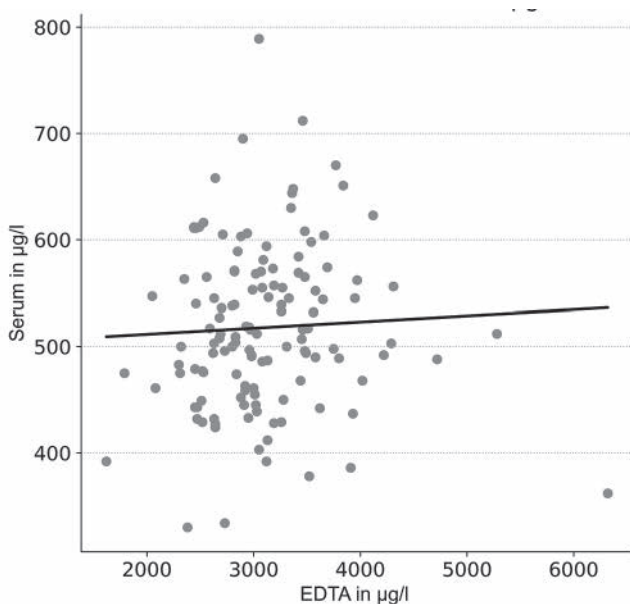


Abb. 4 Korrelation der Zinkkonzentration ($\mu\text{g/l}$) von Serum- und EDTA-Blutproben, Streudiagramm. | Correlation of the zinc concentration ($\mu\text{g/l}$) of serum and EDTA blood samples, scatterplot.

Die Erstellung von Referenzwerten erfolgt nach einem standardisierten Verfahren, welches durch die American Society for Veterinary Clinical Pathology erstellt worden ist.^[17] Die Referenzintervalle umfassen demnach die zentralen 95%, welche durch eine untere und eine obere Referenzgrenze definiert wird.^[18] In dieser Studie wird eine nichtparametrische Methode angewendet, um das 2,5%- und das 97,5%-Quantil als Referenzgrenzen festzulegen und damit unsere Referenzwerte zu eruieren. Tabelle 2 zeigt hierbei die ermittelten Quantile, die gleichzeitig als Referenzwerte definiert werden. Demnach liegen die zentralen 95% der Referenzpopulation von klinisch allgemeingesunden Pferden mit einer Wahrscheinlichkeit von über 90% innerhalb des Referenzbereiches.

Ergebnisse

Durch die Ermittlung des Variationskoeffizienten (Tab. 1) wird deutlich, dass die Kotproben eine deutlich breitere Streuung als die Blutproben aufweisen. Weiterhin ist auffällig, dass die gemessenen Zinkkonzentrationen in EDTA-Blutproben im Vergleich zu denen in Serum- und Plasmapro-

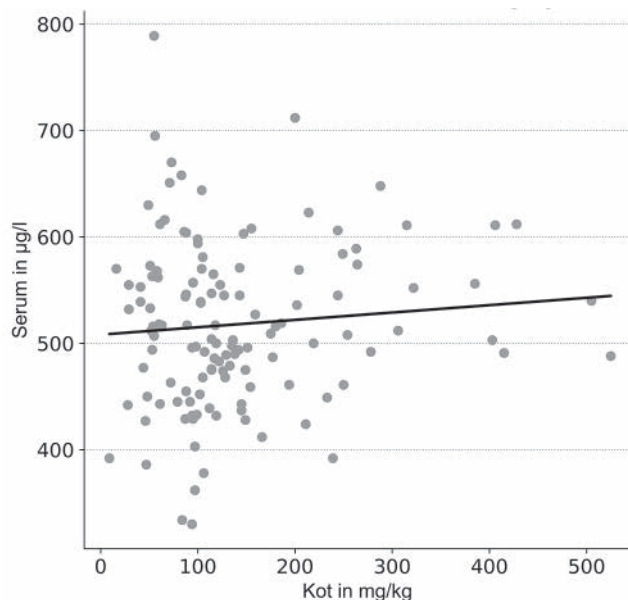


Abb. 5 Korrelation der Zinkkonzentration von Serum- ($\mu\text{g/l}$) und Kotproben (mg/kg), Streudiagramm. | Correlation of the zinc concentration of serum ($\mu\text{g/l}$) and faecal samples (mg/kg), scatterplot.

Tab. 2 Werte für die Referenzwertbestimmung von Zinkkonzentrationen in Kotproben von klinisch gesunden Pferden ($n = 130$) | Content for the reference value determination of zinc concentrations in faecal samples of clinically healthy horses ($n = 130$) © Cedric-Bo Lüpke

Parameter Zn	Kot (mg/kg)
p-Wert	<<0,05
2,5% Quantil	29
Konfidenzintervall 2,5% Quantil	[10,50–326,65]
97,5% Quantil	413
Konfidenzintervall 97,5% Quantil	[46,05–522,20]

ben deutlich höher sind. Die visuelle Beurteilung (Abb. 1) sowie der Shapiro-Wilk-Test bestätigen, dass die Verteilung der Zinkkonzentration in Kotproben nicht normalverteilt ist. In Abbildung 2 konnte bei der vergleichenden Darstellung der Blutprobenmedien eine Assoziation zwischen Serum- und Plasmaproben, aber nicht zwischen Serum- und EDTA-Blut- oder Plasma- und EDTA-Blutproben festgestellt werden. Um dies zu bestätigen, wurde in Abbildung 3 die Korrelation zwischen Serum- und Plasmaproben dargestellt, wobei der Korrelationskoeffizient bei 0,75 lag. Demnach liegt eine Korrelation zwischen Serum- und Plasmaproben vor. Der Korrelationskoeffizient zwischen Serum- und EDTA-Blutproben lag bei 0,05. Dieser und die visuelle Darstellung (Abb. 4) bestätigen, dass keine Korrelation vorliegt. Der Korrelationskoeffizient zwischen der Zinkkonzentration in Serum- und Kotproben liegt bei 0,09. Demnach liegt keine Korrelation zwischen Serum- und Kotproben vor, was ebenfalls durch die graphische Darstellung (Abb. 5) nachvollzogen werden kann. Dies wird weiterhin durch die lineare Regressionsanalyse bestätigt. Aus dem Datensatz (Tab. 2) konnten die 2,5% Quantile und die 97,5% Quantile ermittelt werden. Der Referenzbereich bzw. die zentralen 95% der Zinkkonzentration in den Kotproben liegen zwischen 29 und 413 mg/kg. Diese Quantile stellen auch die ermittelten Referenzwerte für die Zinkkonzentration in den Kotproben dieser Studie dar.

Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es zu untersuchen, inwiefern sich die Kupferkonzentration in Blut- und Kotproben unterscheidet und ob die Kotprobenanalyse der serologischen Auswertung für das Spurenelement Zink vorgezogen werden kann. Des Weiteren sollten unter der Berücksichtigung von präanalytischen Bedingungen, welche bereits von *Staufenbiel et al.* untersucht worden sind,^[15,16,19] erste Referenzwerte für die Zinkkonzentration in Kotproben vorgestellt werden. Die Bestimmung der Zinkkonzentration aus fäkalem Material stellt ein minimal invasives Verfahren dar und soll als ergänzende labordiagnostische Analyse zukünftig genutzt werden können. Es wurden bereits die Spurenelementkonzentrationen beim Rind in verschiedenen Probemedien unter besonderer Berücksichtigung von Kotproben analysiert und verglichen.^[6] Hierbei konnte festgestellt werden, dass die Spurenelementkonzentration von Zink in Kotproben nicht nur bei Rindern, sondern auch bei anderen Stalltieren, bei der keine TMR Fütterung vorgenommen wird, eine valide Aussagekraft bezüglich der nutritiven Versorgungssituation liefert.^[20] Nur lediglich 0,5% des gesamten Körperzinks sind im Blut vorhanden.^[21] Weitere Untersuchungen ergaben, dass Zink überwiegend intrazellulär vorliegt und eng an Plasmaproteine gebunden ist.^[4] Daher sind Messungen der Zinkkonzentration im Plasma wenig aussagekräftig.^[22] Auch *Spitzlei* konnte keine Korrelation zwischen der Zinkaufnahme und der Zinkkonzentration im Blut nachweisen.^[23] Dies konnte ebenfalls von *Stark et al.* bestätigt werden, der unter anderem beschrieb, dass der Zinkplasmagehalt eine unzureichende Darstellung des aktuellen Zinkstatus bei Pferden darstellt.^[24] Hinzu kommt, dass wie bereits beschrieben wurde, die Zinkkonzentration in Serumproben äußerst variabel ist und durch

diverse Faktoren wie Alter, Saisonalität, akute Infektionen und Schockgeschehen beeinflusst werden kann.^[10] Weiterhin haben Serumproben ebenso wie Plasmaproben eine geringe Aussagekraft über den Zinkstatus im Organismus.^[12] Ein Zinkmangel kann demnach besser über austauschbares freies Zink detektiert werden als über den allgemeinen Zinkstatus.^[25] Zusammenfassend ist zu sagen, dass in diversen Studien die unzureichende Sensitivität und Spezifität der Messung der Zinkkonzentration in Blutproben dargestellt wurde.^[26] Weiterhin konnten aktuelle Studien belegen, dass die serologische Auswertung von Mengen- und Spurenelementen nicht aussagekräftig ist.^[27] Hieraus ergibt sich die Frage, ob ein anderes diagnostisches Verfahren geeigneter für die Bestimmung der Mengen- und Spurenelementkonzentration im Organismus ist.

Zink wird hauptsächlich über Pankreassekret und den Kot ausgeschieden.^[8] Es konnte festgestellt werden, dass der Zinkstatus im Körper über die Zinkverluste im Darm ermittelt werden kann.^[28] Weiterhin konnte eine Abhängigkeit der fäkalen Zinkausscheidung und der Zinkabsorption nach Erreichen des Equilibriums nachgewiesen werden.^[29] Es wurde bereits 1969 von *Miller et al.* eine Assoziation zwischen dem fäkalen Zinkgehalt und dem Zinkgehalt im Futter festgestellt.^[30] Dies wiederum lässt darauf schließen, dass ein niedriger Zinkgehalt im Futter auch zu einer geringeren Zinkexkretion im Kot führt.^[31] Die Zinkhomöostase wird maßgeblich durch die exogene Zinkabsorption sowie die Speicherung von endogenem Zink moduliert,^[32] sodass die Untersuchung der Zinkkonzentration in Kotproben nicht so anfällig bei exogenen Faktoren, wie zum Beispiel Stress^[7] oder akuten oder chronischen Krankheitsgeschehen^[33] ist wie die Zinkkonzentration in Blutproben. Dies lässt darauf schließen, dass es zu Ungenauigkeiten bei der serologischen Bestimmung der Zinkkonzentration kommen kann. Weiterhin konnte von *Hoyt et al.* 1995 bei einer Erhöhung des Zinkgehaltes im Futter auch eine Erhöhung der Zinkkonzentration im Kot festgestellt werden.^[34] Dies lässt ebenfalls auf einen Zusammenhang schließen. Die Analyse der Mengen- und Spurenelementkonzentration in Pferdekotproben eignet sich nachweislich, um eine Aussage über die Mineralstoffversorgung im Organismus zu treffen.^[19] Vor allem bei marginalen Mangelsituationen ist die Kotprobenanalyse sensitiver.^[35] Dies zeigt eine Studie, bei der eine deutliche Reduzierung der Zinkversorgung zu einer ebenfalls deutlichen Reduzierung der Zinkausscheidung über den Kot geführt hat. Die Zinkkonzentration in Plasmaproben blieb dahingegen unverändert.^[35]

Dennoch sind die Ergebnisse dieser Studie kritisch zu hinterfragen, da keine Standardisierung bezüglich Haltung, Fütterung und Nutzung vorlag. Die Zinkabsorption wird durch diverse tier- und umweltbedingte Faktoren beeinflusst.^[6] *Hambidge et al.* publizierte hierzu bereits 1986, dass Fütterungseinflüsse eine größere Bedeutung als physiologische Einflüsse haben können.^[32] Der Zinkgehalt wird weiterhin nicht nur durch diätetische Faktoren beeinflusst, sondern auch durch Stressfaktoren und Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts.^[32,36] Vor allem die nicht standardisierte Futtermittelanalyse stellt hier ein Defizit dar, da die Zinkausscheidung über den Kot maßgeblich von dem Zinkfuttergehalt abhängig ist.^[37] Weiterhin ist der Zinkgehalt im Heu nicht bedarfsdeckend und

muss dementsprechend supplementiert werden.^[38] Des Weiteren ist zu hinterfragen, ob die Zinkkonzentration bei Pferden ebenfalls durch geographische Unterschiede beeinflusst wird. So kann der Zinkgehalt im Boden deutlich variieren.^[39] Dieser Ansatz wurde in der vorliegenden Studie nicht weiter verfolgt und ist mit den erhobenen Daten nicht möglich. Die in dieser Studie ermittelten Referenzwerte für die Zinkkonzentration in Pferdekotproben liegen zwischen 29 und 413 mg/kg. Diese erhebliche Spannweite der Werte setzt sich durch die Referenzstichprobe zusammen.^[40] Um die Validität und die Aussagekraft dieser Referenzwerte zu überprüfen sind weitere evidenzbasierte Studien notwendig. Die in dieser Studie ermittelten Referenzwerte stellen erste Richtwerte für folgende Arbeiten dar.

Fazit für die Praxis

In der labordiagnostischen Analytik rücken koprologische Untersuchungen immer mehr in den Vordergrund, da sich hieraus mehrere Vorteile ergeben. Zum einen die Praktikabilität der Probengewinnung und zum anderen die Sensitivität bezüglich der Bestimmung der Mineralstoffversorgung beim Pferd. Die Ermittlung der Referenzwerte der Zinkkonzentration in Kotproben stellt eine zusätzliche diagnostische Methodik dar und soll die Rationsanalyse deutlich vereinfachen.

Interessenkonflikt

Es besteht für keinen der Autoren ein Interessenkonflikt.

Tierschutz

Die Autoren versichern, während des Entstehens der vorliegenden Arbeit die allgemeingültigen Regeln guter wissenschaftlicher Praxis befolgt zu haben.

Danksagung

Die Autoren danken für die Unterstützung durch den Publikationsfonds der Freien Universität Berlin.

Literatur

- Bockisch F (2019) Versorgung mit Kupfer, Zink und Selen, was ist zu beachten?, LBH: 10, Leibziger Tierärztekongress – Tagungsband 2, 99–102; DOI urn:nbn:de:bsz:15-qucosa2-349997
- Kreyenberg K (2003) Zinkserumresponse beim Pferd nach oraler Verabreichung von unterschiedlichen Zinkverbindungen, München, Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung, Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
- Vervuert I (2015) Wie gut reflektieren die Kupfer-, Zink- und Selengehalte im Blut die entsprechende Versorgung beim Pferd?, LBH: 8. Leipziger Tierärztekongress – Tagungsband 2, 115–116, ISBN 978–3-86541–809-8
- Löffler G, Petrides PE (1997) In: Heinrich P C, Müller M, Graeve L (Hrsg.) Biochemie und Pathobiochemie, 5. Auflage, Springer Verlag, Freiburg, 743–745, ISBN: 9783642179716
- Harrington DD, Walsh J, White V (1973) Clinical and pathological findings in horses fed zinc deficient diets, Proc. 3rd Equine Nutr. Physiol 51; DOI 10.1093/jn/132.6.1776S
- Herold A (2017) Untersuchung zu den Konzentrationen an Mengen- und Spurenelementen beim Rind in verschiedenen Probenmedien unter besonderer Berücksichtigung von Kotproben. Diss Med Vet FU Berlin
- Chesters JK (1983) Zinc Metabolism in Animals: Pathology, Immunology and Genetics, J. Inherit. Metab. Dis. 6, Suppl. 1, 34–38; DOI 10.1007/BF01811321
- Suttle NF (2010) Zinc in Suttle NF (Hrsg.): Mineral nutrition of livestock, 4. Auflage, CAB International, Wallingford, UK, 426–458, ISBN-13: 978 1 84593 472 9
- Gelfert C, Staufenbiel R (1998) Störungen im Haushalt der Spurenelemente beim Rind aus Sicht der Bestandsbetreuung, Tierärztl Prax 26, 55–66; DOI 10.1055/a-1067-3585
- Wegner T, Ray D, Lox C, Stott G (1973) Effect of stress on serum zinc and plasma corticoid in dairy cattle, J Dairy Sci 56, 748–752; DOI 10.3168/jds.s0022-0302(73)85245-2
- Gromadzka-Ostrowska J, Zalewska B, Jakunów K, Gozłinski H (1985) Three-year study on trace mineral concentration in the blood plasma of Shetland pony mares, Comp Biochem Physiol 82A, 651–660; DOI 10.1016/0300-9629(85)90447-5
- Fürll M (2013) Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer in Moritz A (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 7. Auflage, Schattauer, Stuttgart: 726–774; DOI 10.1055/b-005-148987
- Glitz F, Deegen E (2010) Allgemeine Untersuchung. In: Wissdorf H, Huskamp B, Gerhards H, Deegen E, Hrsg. Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes, 3. Aufl. Schaper Hannover, 856–859, ISBN 978–3-7944–0198-7
- Petersen T (2002) Das Feldexperiment der Umfrageforschung, Frankfurt am Main/New York, Campus Verlag: S. 64; DOI 10.1007/s11577-003-0101-x
- Staufenbiel L, Müller A-E, Gehlen H (2021a) Investigation of the Variation of Concentration of Quantity and Trace Elements in Equine Faecal Samples Considering Storage, EC Veterinary Science 6.10 (2021): 32–43
- Staufenbiel L, Müller A-E, Gehlen H (2021b) Methodische Untersuchung zu Mengen- und Spurenelementkonzentrationen in Pferdekotproben unter besonderer Berücksichtigung des Probenentnahmeortes, Tierärztliche Praxis G 49, 178–188; DOI 10.1055/a-1482-7379
- Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM, Barnhart KF, Blanco-Chavez J (2012) ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. Vet Clin Pathol 41, 441–53; DOI 10.1111/vcp.12006
- Feldhütter E (2023) Erstellung von Referenzwerten für verschiedene rechtsventrikuläre Parameter, einschließlich 3D-Volumen und 2D-Strain mittels Speckle-Tracking-Echokardiographie, und Evaluierung dieser Parameter bei Hunden mit pulmonaler Hypertonie. Diss Med Vet München
- Staufenbiel L, Müller A-E, Gehlen H (2022) Methodische Untersuchungen zur Variation der Mengen- und Spurenelementkonzentrationen in Pferdekotproben im Tagesverlauf und über einen 15-Tages-Zeitraum. Berl Münch Tierärztl Wschr 135; DOI 10.2376/1439-0299-2022-5
- Herold A, Müller A-E, Staufenbiel R, Pieper L (2019) Konzentration von Spurenelementen beim Rind in verschiedenen Probenmedien unter besonderer Berücksichtigung von Kotproben, Tierärztl Prax Ausg 48, 5–14; DOI 10.1055/a-1067-3585
- Thompson RPH (1991) Assessment of zinc status. Proc. Nutr. Society 50, 19–28; DOI 10.1079/pns19910005
- Lin T-H, Cheng S-Y (1996) Determination of zinc fractions in human blood and seminal plasma by ultra-filtration and atomic absorption spectrophotometry. Bio Trace Elem Res 51, 267–276; DOI 10.1007/BF02784081

- 23 Spitzlei S (1996) Untersuchung der Zusammensetzung des Hufhorns beim Pferd, deren Bedeutung für die Stabilität und Beziehung zur Nährstoffversorgung. Diss Med Vet Hannover
- 24 Stark G, Schneider B, Gemeiner M (2001) Zinc and copper plasma levels in Icelandic horses with *Culicoides* hypersensitivity, *Equine Vet J* 33, 506–509; DOI 10.2746/042516401776254916
- 25 Faure H, Favier A, Tripier M, Arnaud J (1990) Determination of the major zinc fractions in human serum by ultrafiltration. *Biol Trace Elem Res* 24, 25–37; DOI 10.1007/BF02789138
- 26 Siebert F, Most EJ, Pallauf J (2010) Effects of three organic zinc sources in comparison to zinc sulphate on production and physiological parameters in weaned piglets. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology* 19, 32
- 27 Vervuert I (2021) Wie gut reflektieren Spurenelemente im Serum die entsprechende Versorgung beim Pferd? *Pferdespiegel* 24, 113–118; DOI 10.1055/a-1406-6753
- 28 Weigand E, Kirchgessner M (1976) Radioisotope dilution technique for determination of zinc absorption in vivo. *Nutr Metab* 20, 307–313; DOI 10.1159/000175715
- 29 Krebs NF, Reidinger C, Miller LV, Gennessy PV, Hambidge KM (1993) Zinc absorption and fecal excretion of endogenous zinc in the breastfed infant, In: *Proc. of Trace Elements Metabolism in Man and Animals – TEMA 8*, Anke M., Meissner D. & Mills C.F., (eds), Verlag Media Touristik, Dresden, Germany, 1110–1113; DOI 10.1097/MPG.0000000000002361
- 30 Miller WJ (1969) Absorption, tissue distribution, endogenous excretion and homeostatic control of zinc in ruminants. *Am J Clin Nutr* 22, 1323; DOI 10.1093/ajcn/22.10.1323
- 31 Neathery MW, Miller WP, Blackmon DM, Gentry RP, Jones JB (1973) Absorption and tissue zinc content in lactating dairy cows as affected by low dietary zinc. *J Anim Sci* 37, 848–852; DOI 10.2527/jas1973.373848x
- 32 Hambidge KM, Casey CE, Krebs NF (1986) Zinc in Mertz, W. (Hrsg.) *Trace elements in human and animal nutrition*. Vol. 2. Academic Press London, 1–109
- 33 Roth H-P, Kirchgessner M (1980) Zn-Bindungskapazität des Serums: Ein Parameter zur Diagnose von marginalem Zn-Mangel. *Res Exp Med (Berl)* 177, 213–219; DOI 10.1007/BF02021652
- 34 Hoyt JK, Potter GD, Greene LW, Anderson JG (1995) Copper balance in miniature horses fed varying amounts of zinc. *J Equine Vet Sci* 15, 357–359; DOI 10.1016/S0737-0806(07)80547-8
- 35 King JC, Shames DM, Woodhouse LR (2000) Zinc homeostasis in Humans. *J Nutr* 130, 1360S–1366S; DOI 10.1093/jn/130.5.1360S
- 36 Prasad AS, Oberleas D (1976) *Trace elements in Human Health and Disease*. Vol. 1. Zinc and copper. Academic Press, London, xxiv + 470 pp., PMID 6374730
- 37 Schryver HF, Hintz HF, Lowe JE (1980) Absorption, Excretion and tissue distribution of stable zinc and ⁶⁵zinc in ponies. *J Anim Sci* 51, 896–902; DOI 10.3181/00379727-149-38731
- 38 Kienzle E, Möllmann F (2009) Spurenelementanalyse in Heu für Pferde – einmal untersuchen, mehrmals schätzen. *Tierarztl Prax G* 37, 242–246 DOI 10.1055/s-0038-1625436
- 39 Alloway BJ (1995) *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*, Second Edition, Blackie Academic & Professional, Glasgow; DOI 10.1007/978-94-007-4470-7
- 40 Lucke S (2013) *Methoden zur Bestimmung von medizinischen Referenzbereichen für labordiagnostische Parameter*. Diss Agr. Greifswald