

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Cholinesterase-Aktivität im Plasma von Zier- und Wildvögeln sowie in Gehirnhomogenaten von Wildvögeln untersucht, um die Voraussetzungen für eine kurzfristige intravitale und postmortale Diagnostik von Intoxikationen mit Cholinesterase-Hemmern (Organophosphate und Carbamate) zu schaffen. Die Bestimmung erfolgte einerseits mit dem trockenchemischen Analysensystem Vitros DT 60 II sowie mit der Referenzmethode nach ELLMAN et al. (1961).

Um die Einsetzbarkeit der trockenchemischen Methode für die Plasma-Cholinesterase-Messung beim Vogel zu überprüfen, wurden die Kriterien Präzision und Richtigkeit bestimmt. Es ergab sich eine äußerst zufriedenstellende Präzision in der Serie und von Tag zu Tag mit Plasma sieben verschiedener Vogelarten. Der Vergleich der trockenchemischen Cholinesterase-Bestimmung mit der Referenzmethode ließ eine starke Abhängigkeit der Korrelation und Übereinstimmung der Meßergebnisse von dem bei der Bezugsmethode verwendeten Substrat erkennen. Unter dem Substrat Butyrylthiocholiniodid, welches auch bei der trockenchemischen Methode zum Einsatz kommt, wurde bei fünfzehn der neunzehn untersuchten Vogelarten bzw. -unterarten eine gute bis sehr gute Korrelation der Methoden festgestellt, bei zwölf dieser Spezies zugleich eine gute Übereinstimmung der Meßergebnisse. Hingegen ergab sich unter Einsatz des Substrates Acetylthiocholiniodid nur bei sieben Spezies eine entsprechend gute Korrelation und bei sechs Arten eine gute Übereinstimmung der Meßwerte (Tab.8a/b, S.62f.; Tab.14, S.93).

Orientierungswerte der Plasma-Cholinesterase-Aktivität wurden für 17 Papageienarten bzw. -unterarten und 26 europäische Wildvogelarten ermittelt (Tab.10a, S.67ff.; Tab.10b, S.75ff.) In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen zeigte sich eine hohe zwischenartliche Variabilität der Enzymaktivität, auch zwischen nahe verwandten Spezies bzw. Subspezies. Bei einigen Vogelarten wurde mit der trockenchemischen Methode sowie mit der Butyrylthiocholiniodid-Referenzmethode eine auffallend niedrige Cholinesterase-Aktivität ermittelt. Die Schwankungsbreite der Cholinesterase-Aktivität erwies sich innerhalb einzelner Arten als sehr hoch.

Aus den Ergebnissen zur Richtigkeit der Cholinesterase-Bestimmung mit dem trockenchemischen Analysensystem Vitros DT 60 II und den ermittelten Orientierungswerten ergibt sich, daß die trockenchemische Bestimmungsmethode für Vogelspezies ungeeignet ist, bei

denen physiologischerweise nur eine geringe Butyrylcholinesterase-Aktivität im Plasma vorliegt, da hier keine Beurteilung von Veränderungen durch eine Intoxikation möglich ist. Bei diesen Vogelarten, zu denen Edelpapageien und Falken zählen, wäre eine Cholinesterase-Bestimmung unter Verwendung des Substrates Acetylthiocholiniodid sinnvoller. Bei der Mehrzahl der untersuchten Zier- und Wildvogelarten erwies sich die Cholinesterase-Bestimmung mit dem Vitros DT-60 II-System dagegen in Anbetracht einer guten bis sehr guten Korrelation und Übereinstimmung mit der Referenzmethode sowie der Höhe und Variabilität der Orientierungswerte als brauchbar und ist der Referenzmethode aufgrund ihrer praxisgerechten einfachen und schnellen Durchführbarkeit vorzuziehen. Es ergaben sich zudem Hinweise, daß die Überprüfung der Plasma-Cholinesterase-Aktivität bei Vögeln nicht nur für die Diagnose von akuten Intoxikationen mit Cholinesterase-Hemmern von Bedeutung ist, sondern in Übereinstimmung mit den Verhältnissen beim Menschen und bei Säugetieren auch zur Beurteilung der Leberfunktion herangezogen werden kann.

Als Vergleichswerte für die postmortale Diagnose von Intoxikationen mit Cholinesterase-Hemmern wurden Orientierungswerte der Gehirn-Cholinesterase-Aktivität von 18 europäischen Wildvogelarten aus 7 Ordnungen erstellt (Tab.12, S.85f.). Während zwischen Vogelarten verschiedener Ordnungen i.d.R. statistisch signifikante Unterschiede vorlagen, waren zwischen verwandten Spezies nur geringe und nicht signifikante Differenzen in der durchschnittlichen Enzymaktivität zu ermitteln (Tab.13, S.87). Bei den juvenilen Vögeln einiger Arten wurde eine signifikant niedrigere Gehirn-Cholinesterase-Aktivität festgestellt als bei den adulten Artgenossen, so daß nur Kontrollwerte derselben Art und Altersgruppe (juvenil/adult) zum Vergleich verwendet werden sollten. Die Schwankungsbreite der Gehirn-Cholinesterase-Aktivität innerhalb einer Spezies erwies sich als deutlich geringer als die Variabilität der Enzymaktivität im Plasma.

Die Lagerung von Gehirnproben bei -18°C und bei $+4^{\circ}\text{C}$ über 7 Tage hatte im Vergleich mit den Kontrollwerten keinen signifikanten Einfluß auf die Höhe der Gehirn-Cholinesterase-Aktivität (Tab.11, S.81). Dagegen war nach 7-tägiger Lagerung bei $+18-22^{\circ}\text{C}$ eine signifikante Abnahme der Enzymaktivität um durchschnittlich 28,5% festzustellen, bei zwei einzelnen Proben sogar von über 50%. Eine sinnvolle Beurteilung von bei Raumtemperaturen gelagerten Proben erscheint daher nach mehreren Tagen fraglich.

7. Summary

Beknda Kresau

Investigations on cholinesterase activity in plasma and brain of pet and wild birds

In order to set up the preconditions for a rapid diagnostic approach to detect organophosphate- and carbamate-poisonings in live and dead birds, the level of cholinesterase activity was studied in plasma from pet and wild birds as well as in brain samples from european wild birds. The enzyme activity was determined using the dry chemistry analyzer Vitros DT 60 II in comparison to the wet chemistry reference method of ELLMAN et al. (1961)

The clinical usefulness of the dry chemistry analyzer for determination of avian plasma cholinesterase was evaluated by investigating precision and accuracy. Same day precision and day to day precision tests with plasma samples of seven different avian species revealed very satisfying results. Comparison of the dry chemistry cholinesterase measurement with the reference method showed a strong dependence of statistic correlation and correspondence of the results on the substrate, used for the reference method. Taking the substrate butyrylthiocholine-iodide, which is also used by the dry chemistry method, a high to very high correlation was noted in fifteen of nineteen studied (sub)species. With the substrate acetylthiocholine-iodide only seven species showed a good correlation and six species a good correspondence of the results (Table 8a/b, pp 62, Table 14, p.93)

Values of normal plasma-cholinesterase activity of 17 psittacine species respectively subspecies as well as 28 european wild bird species were established (Table 10a, pp 67, Table 10b, pp.75). In accordance with other studies, a high variability of enzyme activity was noticed even between closely related species. Some avian species showed an extremely low cholinesterase activity using the dry chemistry method or the butyrylcholine-iodide-reference method. The variation of plasma-cholinesterase activity turned out to be very high in some avian species

In consideration of the results of accuracy of the dry-chemistry-analyzer Vitros DT 60 II and the established values of normal plasma-cholinesterase activity it can be concluded that the dry-chemistry-method is unsuitable for avian species which physiologically have only a low butyrylcholinesterase activity in plasma because an interpretation of influences by cholinesterase inhibitors would be impossible. In these species, e.g. eclectus parrots and falcons, the use of acetylthiocholine-iodide for plasma-cholinesterase measurement would be more efficient. It is because of a high to very high correlation and correspondence with the reference method and a high normal level of plasma-cholinesterase activity that the dry chemistry analyzer Vitros DT 60 II proved to be a useful method for plasma-cholinesterase-measurement for the majority of studied pet and wild birds. Due to its easy handling and quick test results it is considered to be the preferable method. Evidence was found, that evaluation of plasma-cholinesterase activity is not only important for the diagnosis of anti-cholinesterase poisonings but also – in accordance with conditions in man and mammals – to assess liver function.

For comparison in potential cases of lethal poisoning with cholinesterase inhibitors the normal brain-cholinesterase activity in 18 European wild bird species of 7 orders were evaluated (Table 12, pp 85). While there was a statistically significant difference between species of different orders, only a small and not significant difference was noted between related species (Table 13, p 87). Juvenile birds of some species were found to have significant lower brain-cholinesterase activity than adult birds, so that only control values of the same species and age-group (juvenile/adult) should be used for comparison. The variability of brain-cholinesterase activity within one species was shown to be much lower than the variability in plasma.

The storage of brain-tissue at -18°C and at $+4^{\circ}\text{C}$ over a 7-day-period did not show a significant influence on the level of cholinesterase activity (Table 11, p 81). A significant decrease of an average of 28.5% of cholinesterase activity was noticed instead after a 7-day-storage at $+18.22^{\circ}\text{C}$. A reliable interpretation of cholinesterase activity of brain samples stored at room temperature for more than 2-3 days seems therefore questionable.