

Áhrif vikulegrar blóðsöfnunar á blóðhag hjá hryssum

Skýrsla til matvælaráðuneytis



Tilraunastöð Háskóla Íslands
í meinafræði að Keldum



Landbúnaðarháskóli Íslands
Agricultural University of Iceland

Lokaskýrsla til matvælaráðuneytis febrúar 2024. Verkefnisstjóri: Charlotta Oddsdóttir. Höfundar skýrslu: Charlotta Oddsdóttir (Keldur), Erla Sturludóttir (Landbúnaðarháskóli Íslands), Hanna Krístrún Jónsdóttir (Keldur)

Útgefandi: Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, Keldnavegi 3, 112 Reykjavík.

Efnisyfirlit

Ágrip.....	3
Formáli	4
Orðskýringar	4
1. Inngangur.....	5
1.1. Fyrri rannsóknir	5
1.2. Blóðtap og viðbrögð við því.....	5
1.2.1. Blóðleysi vegna blóðtaps	6
1.3. Blóðhagsþættir	6
1.4. Túlkun á rauðfrumnapáttum.....	8
1.4.1. Blóðfrumnahlutfall	8
1.4.2. Blóðrauði.....	9
1.4.3. Fjöldi rauðfrumna	9
1.4.4. Meðalrúmtak rauðfrumna	9
1.4.5. Meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna	10
1.4.6. Stærðardreifing rauðfrumna.....	10
1.5. Viðmiðunargildi blóðhagsmælinga.....	10
2. Rannsóknarspurningar.....	12
3. Rannsóknaraðferðir	12
3.1. Hryssur sem sýni voru tekin úr	12
3.2. Gagnaöflun og aðferðir	14
3.3. Mældir blóðhagsþættir	14
3.3.1. Mælingar á blóðsýnum	15
3.3.2. Úrtak vegna útreikninga grunnilda og viðmiðunarbila	15
3.3.3. Úrtak vegna þróunar blóðhags yfir blóðsöfnunartímabilið	16
3.4. Tölfræðigreiningar.....	16
4. Niðurstöður.....	17
4.1. Sýnatökur og mælingar	17
4.1.1. Atferli hryssna	17
4.1.2. Heilsufar	17
4.2. Grunnildi og viðmiðunarbíl.....	17
4.2.1. Grunnildi og áhrifaþættir	20
4.3. Þróun blóðhags yfir blóðsöfnunartímabilið	22
4.3.1. Þróun í meðalgildum blóðhags	23
4.3.2. Mæligildi hjá einstaklingum.....	28
4.3.3. Hvítfrumur.....	29

4.3.4. Blóðstrok og blóðflögur	29
5. Umræður.....	33
5.1. Viðmiðunarbíl og áhrifabættir.....	33
5.2. Þróun í blóðhag	35
5.2.1. Þróun í meðalgildum	35
5.2.2. Mæligildi hjá einstaklingum.....	36
5.2.3. Staða blóðhags á endurheimtartilímanum og áhrif þar á	36
5.2.4. Takmarkanir og framtíðarrannsóknir.....	37
6. Ályktanir.....	38
7. Heimildir.....	39
Viðauki I	44

Ágrip

- Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum var síðsumars 2022 falið að rannsaka hver áhrif fimm lítra blóðsöfnunar vikulega í allt að átta skipti væru á blóðhag fylfullra hryssna.
- Skort hefur ritrýndar heimildir um eðlileg viðmiðunargildi blóðhags fyrir fylfullar íslenskar hryssur og áhrif blóðsöfnunar á blóðhag þeirra. Í rannsókninni sem sagt er frá í þessari skýrslu snýst rannsóknarspurningin um langtímaáhrif, þ.e. hversu vel hryssurnar geta bætt upp vikulega blóðtöku, meðal annars með mótvægisviðbrögðum líkamans.
- Tekin voru vikuleg blóðsýni úr hverri hryssu sem safnað var blóði úr í tveimur blóðtökustöðum af Suður- og Norðurlandi og mæld gildi sem gefa mynd af járnþátt, blóðmyndun og blóðfrumusamsetningu. Samanburðarhópur fylfullra hryssna sem ekki eru í blóðsöfnun var hafður til hliðsjónar.
- Reiknuð viðmiðunargildi sýndu að fylfullar hryssur í þeim fjórum hópum sem tekin voru sýni úr, höfðu rífleg rauðfrumnagildi og báru því ekki merki blóðleysis við upphaf blóðsöfnunartímabilsins.
- Blóðfrumnahlutfall og blóðrauði lækkuðu með hækkandi aldri, sem og talning rauðfrumna, þó gildi hjá eldri hryssum væru ekki lág. Aldursmunurinn minnkaði með fjölgandi skiptum blóðsöfnunar.
- Folaldshryssur mældust að meðaltali með marktækt færri rauðfrumur en geldhryssur, en þó voru gildin ekki lág. Þær sýndu almennt merki um virka rauðfrumnamyndun og stórar rauðfrumur, enda líklega meiri umsetning rauðfrumna hjá hryssum sem hafa nýlega kastað.
- Í báðum stóðum voru lægstu meðalgildi blóðsöfnunartímabilsins yfir viðmiðum um blóðleysi. Blóðfrumnahlutfall og blóðrauði lækkuðu mest snemma á tímabilinu í stóðinu á Norðurlandi og hækkðu svo jafnt og þétt. Í stóðinu á Suðurlandi var lækkun sjáanleg fram eftir tímabilinu og tók svo að hækka í lokin. Í báðum stóðum náðu stærð og blóðrauðainnihald rauðfrumna hámarki í fimmtu viku.
- Í stóðinu á Norðurlandi mældust engar hryssur með blóðfrumnahlutfall sem samræmdist miðlungs eða greinilegu blóðleysi en þær voru 13 í stóðinu á Suðurlandi. Í allt greindust 8,6% með miðlungsblóðleysi og 1,2% með greinilegt blóðleysi í einu eða fleiri sýnum. Ein af þessum hryssum sýndi merki þess að halda ekki í við blóðtapið.
- Það var því munur á milli stóða hversu hratt og vel mótvægisviðbrögð þeirra brugðust við blóðtapi. Ekki er vitað í hverju munurinn liggur, en rannsaka þarf snefilefni og aðra þætti í rauðfrumumyndun í fleiri blóðsöfnunarstóðum til að skýra hann.
- Hryssur voru að meðaltali með lægra blóðfrumnahlutfall og blóðrauðagildi tveimur vikum eftir síðustu blóðsöfnun, eftir því sem safnað var oftast úr þeim.
- Rannsóknin sýnir að það er full ástæða til þess að kanna áhrifaþætti á blóðhag, meðal annars áhrif næringar. Mögulega er þörf á rannsaka sérstaklega styrk og hlutfall snefilefna og annarra þátta sem mikilvægir eru fyrir rauðfrumnamyndun, til þess að búa sem best að hryssum í blóðsöfnun.

Formáli

Síðsumars 2022 fól matvælaráðuneyti Tilraunastöð HÍ í meinafræði að Keldum að rannsaka hver áhrif blóðsöfnunar væru á blóðhag fylfullra hryssna. Vinna við rannsóknina hefur staðið á frá júlí 2022 til febrúar 2024. Skipulagning rannsóknarinnar fór fram á meinafræðideild Keldna. Charlotta Oddsdóttir, dýralæknir á Keldum og Hanna Krístrún Jónsdóttir, líffræðingur á Keldum söfnuðu blóðsýnum, mældu þau og skráðu allar upplýsingar. Erla Sturludóttir, dósent við Landbúnaðarháskóla Íslands sá um hreinsun gagna og tölfræðigreiningu. Xavier Manteca Vilanova, dýralæknir við dýralæknadeild Universitat Autònoma í Barcelona var til ráðgjafar um matsatriði og upplýsingaöflun varðandi atferli og velferð hryssnanna.

Orðskýringar

Blóðsýni: 2-9 ml sýni tekið til rannsókna á blóðhag og blóðefnum

Blóðsöfnun: Blóðtaka allt að 5 lítrum til vinnslu á hormóninu eCG

Folaldshryssa: Hryssa sem hefur kastað á viðkomandi ári, er með folald undir sér.

Fylfull hryssa: Hryssa á meðgöngu.

Geldhryssa: Hryssa sem ekki er með folald undir sér, en er þó talin frjó.

Heitblóðshross: Ræktunarkyn hrossa frá Norður Afríku og Mið-Austurlöndum, svo sem arabískir hestar og Thoroughbred hross, almennt þunnhærð og léttbyggð með mikið skap og úthald til hlaupa.

Kaldblóðshross: Ræktunarkyn hrossa sem ekki hafa heitblóðsuppruna, svo sem íslenski hesturinn, almennt með meiri feld, sterkbyggðari og almennt með meira jafnaðargeð.

Varmblóðshross: Ræktunarkyn hrossa sem upprunnin eru með kynblöndun heitblóðs- og kaldblóðs-hrossa.

1. Inngangur

Við mat á velferð hryssna sem fyrirtækið Ísteka ehf. safnar blóði úr til vinnslu á lyfjavirkum efnum hefur skort ritrýndar óháðar rannsóknir á áhrifum þessarar söfnunar á hryssurnar. Þar af leiðandi hafa verið ófullnægjandi forsendur fyrir upplýstum ákvörðunum um eftirlit með því hvort magn og tíðni blóðtöku sé við hæfi og hvernig tryggja megi heilbrigði og velferð hryssnanna.

Innra eftirlit Ísteka hefur lengi falið í sér eigin mælingar á blóðrauða í úrtaki hryssna á hverju sýnatökutímabili. Þau meðalgildi blóðrauða (*haemoglobin*, Hgb) sem gefin hafa verið upp í yfirlitum Matvælastofnunar og Ísteka hafa verið innan viðmiðunarmarka, en eins og bent hefur verið á eru einstaklingar innan um sem fara niður fyrir þessi viðmiðunarmörk. Í hrossum er þó óvanalegt að nota blóðrauða til þess að greina blóðleysi (*anaemia*), því blóðfrumnahlutfall (*haematocrit*, Hct /*packed cell volume*, PCV) er almennt notað í þeim tilgangi (Tvedten 2010). Ástæðan er meðal annars sú að járnskortsblóðleysi er mjög óalgengt hjá hrossum og því blóðrauði ekki næmasti mælipáttur til að greina blóðleysi hjá þeim (Easley 1985, Marcilese o.fl. 1964). Þegar blóðtap er metið er nauðsynlegt að leggja mat á hvort mótvægisáðgerðir líkamans haldi í við tapið með því að bæta upp þá blóðþætti sem tapast hafa. Í því mati þarf að taka tillit til fleiri þátta sem gefa mynd af viðbrögðum hrossins við tapinu.

1.1. Fyrri rannsóknir

Ekki hafa verið birtar rannsóknir á áhrifum reglulegrar blóðsöfnunar úr fylfullum hryssum á blóðhag. Árið 1982 var sagt frá óritrýndum niðurstöðum blóðrauðamælinga í úrtaki hryssna í blóðsöfnun, en þar kom fram að meðalgildi blóðrauða héldust innan viðmiðunargilda (Eggert Gunnarsson og Þorsteinn Ólafsson 1982). Malikides o.fl. (2000) gerðu rannsókn á 40 hestum með því að taka um átta lítra blóðs (sem svarar 16 ml/kg líkamsþyngdar, um 20% líkamsþyngdar) á þriggja vikna fresti og mæla blóðhag vikulega. Í ljós kom að blóðfrumnahlutfall, rauðfrumnafjöldi og blóðrauði mældust lægst vikuna eftir stóra blóðtöku (um 5-7% lækun; Malikides o.fl., 2000). Þessi gildi fóru þó aldrei undir viðmiðunargildi (Lassen og Swardson 1995) og náðu blóðrauði og frumurúmmál fyrri gildum á þriðju viku eftir stóra blóðtöku. Athuga ber að bilið fyrir ýmis viðmiðunargildi blóðhags hjá hrossum er breitt og rúmast því talsverður breytileiki þar innan. Í rannsókn þar sem teknir voru á bilinu 9-11 lítrar blóðs úr hverju hrossi (sem svarar 20 ml/kg líkamsþyngdar, um 25% líkamsþyngdar) lækkuðu blóðfrumnahlutfall, rauðfrumnafjöldi og blóðrauði eftir að þrjú lítrar höfðu verið fjarlægðir, en hækkuðu svo yfir upphafsgildi á þeim 20-30 mínútum sem það tók að taka næstu 6-8 lítra, líklegast vegna innspýtingar frá milta og lifur, auk tilflutnings í blóðrásinni (Malikides o.fl. 2001).

1.2. Blóðtap og viðbrögð við því

Blóðtap leiðir af sér nokkuð jafnt tap allra þátta blóðsins, þar á meðal frumur, prótín og önnur efni. Í mati á lífeðlisfræðilegum áhrifum blóðtaps þarf meðal annars að meta áhrif á starfsemi rauðfrumna (*erythrocytes*) og annarra frumna. Rauðfrumur og blóðrauði gegna því hlutverki að taka upp súrefni í háræðum lungnanna og flytja það til annarra vefja, en járn, kopar og fleiri snefilefni eru nauðsynleg til myndunar blóðrauða (Tvedten 2010). Þó svo járnskortsblóðleysi sé mjög sjaldgæft hjá hrossum, getur mikið blóðtap tæmt járnbirgðir líkamans í lifur og milta, en líkaminn bregst þá við með auknu frásogi á járn í fóðrinu (Smith o.fl. 1984).

Rauðfrumur sem tapast, eru bættar upp með því að auka myndun nýrra rauðfrumna, og sér slíkrar aukningar stað í ýmsum mælipáttum í blóðinu (sjá kafla 1.4). Hjá ýmsum dýrategundum fjölgar netfrumum (*reticulocytes*) í blóðrásinni, en þær eru lítið þroskaðar rauðfrumur sem innihalda kjarnarestar og eru stærri en þær fullþroskuðu. Þær gefa til kynna frumumyndun í beinmerg, og þegar þeim fjölgar má álykta að aukning sé í nýmyndun rauðfrumna (Schaefer og Stokol 2016). Þetta er ekki tilfellið hjá hrossum, þar sem netfrumur eru afar sjaldgæfar í blóðrás þeirra og sjást jafnvel ekki fyrir

en við greinilegt blóðleysi (Balan o.fl. 2019). Til þess að rannsaka til hlítar frumumyndandi starfsemi í beinmerg er nauðsynlegt að taka beinmergssýni, og því er almennt mælt með því í klínískum tilfellum að meta þróun í Hct yfir tímabil (Sellon 2004). Í tilraun þar sem framkallað var blóðtap hjá hrossum sýndi að Hct hækkaði um 0,672% á dag, sem er heldur hægara en hjá öðrum dýrategundum (Smith og Agar 1976).

Oft sést almenn lækkun í prótínum eftir blóðtap (Sellon 2004). Þau eru bætt upp með aukinni myndun prótína í lifrinni og því gefur heildarmagn prótína, sem aðallega samanstanda af albúmíni, til kynna hvernig hrossinu gengur að bæta upp það tap. Einnig getur gagnast að mæla prótín þegar taka á afstöðu til blóðfrumnahlutfalls, því hækkun á heildarstyrk prótína getur bent til ofþornunar sem einnig getur hækkað blóðfrumnahlutfall og dulið þannig raunverulegt tap á blóðfrumum (Fielding og Magdesian 2011).

Viðbrögð líkamans við blóðtapi eru annars vegar bráð og hins vegar langvarandi. Bráðviðbrögðin felast annars vegar í aðlögun lífeðlisfræðilegra þátta, svo sem stýringu á blóðþrýstingi, hjartslætti og öndun og hins vegar í innspýtingu blóðfrumna, sem eru fullþroskaðar eða nærri fullþroskaðar, úr blóðmyndandi vefjum (Malikides o.fl. 2001). Langvarandi viðbrögð fela í sér aukna myndun og þroskun blóðfrumna, blóðrauða og prótína og fara eftir því hversu mikið blóðtap hefur orðið og hversu lengi það stendur á.

1.2.1. Blóðleysi vegna blóðtaps

Þegar blóðleysi er greinilegt, sjást klínísk einkenni þess að súrefnisflutningi sé ábótavant, svo sem fölar slímhúðir, þröttleysi, slappleiki, minna úthald, hraður hjartsláttur og hröð öndun (Padalino o.fl. 2016, Lording 2008). Algengt er að blóðleysi greinist í hrossum sem sýna úthaldsleysi í reið (Padalino o.fl. 2016). Blóðleysi vegna blóðtaps er að jafnaði endurmyndandi (*regenerative*), þ.e. hrossið hefur getuna til að mynda nýja blóðþætti í stað þeirra sem tapast en eftir því sem blóðtap stendur lengur á, minnkar getan til endurmyndunar vegna þess að birgðir m.a. járns og prótína þrýtur (Tvedten 2010).

Fljótlega eftir að hross hefur misst umtalsvert magn af blóði (um 30% heildarblóðmagns) með bráðum hætti, spýtir miltað út í blóðrásina sínum birgðum og því geta mælst fleiri rauðfrumur (RBC hækkar) en fyrir blóðtapið (Lording 2008). Miltað getur þannig aukið frumurúmmál í blóði um allt að 68% strax 30 mínútum eftir blóðtap (Schalm o.fl. 1975, Malikides o.fl. 2001). Vegna þessa getur liðið allt að sólarhringur frá því blóðtapið verður, þar til fækkun rauðfrumna mælist. Til þess að túlka slíkt ástand og komast að klínískri greiningu er mikilvægt að mæla styrk prótína, því eftir blóðtap helst hann lágur þó miltað taki við sér (Lording 2008). Ef blóðtapið er vegna langvarandi smærri blæðingar, nær líkaminn mun betur að halda í við breytingar og klínísk einkenni verða ekki eins áberandi, en fölari og minni rauðfrumur (dverggrauðfrumur) geta orðið áberandi með tímanum vegna járnskorts, sem þó er ekki algengur hjá hrossum (Tvedten 2010). Langtíma vísbendingar um endurmyndandi blóðleysi eftir blóðtap eru meðal annars stækkun rauðfrumna (sjá kafla 1.4.4.) og aukin rauðfrumnamyndun í beinmerg sem sést frá um þremur dögum eftir blóðtap og nær hámarki sjö dögum eftir blóðtap (Sellon 2004).

1.3. Blóðhagsþættir

Blóðhagsrannsókn (*haematological analysis*) felur í sér ýmsa þætti sem mældir eru til þess að meta stöðu rauðfrumna, hvítfrumna (*leukocytes*) og blóðflagna. Mæld gildi fyrir rauðfrumur gefa til kynna fjölda þeirra, hlutfall af heilblóði og styrk blóðrauða í sýninu (tafla 1). Afleidd gildi gefa hugmynd um meðalstærð rauðfrumnanna, stærðardreifingu þeirra, meðalblóðrauðapéttni í rauðfrumum og meðalgildi blóðrauða í stakri rauðfrumu (tafla 1).

Tafla 1. Mælipættir sem eiga við um rauðfrumur.

Mælipáttur (eining)	Þýðing mælipáttar
	<i>Mæld gildi</i>
RBC ($\times 10^{12}/L$)	Fjöldi rauðfrumna í lítra blóðs
Hgb (g/L)	Styrkur blóðrauða (haemoglobin)
Hct (%)	Blóðfrumnahlutfall (haematocrit)
	<i>Afleidd gildi</i>
MCV (fL)	Meðalstærð/-rúmtak rauðfrumna
MCHC (g/L)	Meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna
MCH (pg)	Meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum
RDW (%)	Stærðardreifing rauðfrumna

Hjá hrossum er blóðleysi einkum metið út frá blóðfrumnahlutfalli (Hct), en ekki blóðrauða (Hgb) eins og tíðkast t.d. hjá mönnum. Þegar rauðfrumum fækkar, til dæmis vegna blóðtaps, eru viðbrögðin þau að senda út í blóðrásina stærri rauðfrumur, sem innihalda meiri blóðrauða. Ef allar aðstæður eru hagstæðar fyrir myndun blóðrauða og rauðfrumna, getur hrossið því viðhaldið blóðfrumnahlutfalli og blóðrauða þó svo rauðfrumum fækki. Meðalrúmtak rauðfrumnanna eykst og þar með hækkar MCV gildið. Annað gildi er stærðardreifing rauðfrumna (RDW), sem gefur upp hlutfallslegan stærðarmun í hópi rauðfrumna. Þetta gildi hækkar ef bæði eru til staðar mjög stórar og mjög litlar rauðfrumur, en getur verið óbreytt ef rauðfrumur eru almennt að stækka. Yfirleitt fylgjast MCV og MCH gildin að ef myndun blóðrauða er eðlileg, en MCH er sjaldan notað þar sem það er dregið af tveimur ónákvæmustu mæligildunum, RBC og Hgb (Knottenbelt 2015). Nákvæmara gildi fyrir þróun blóðrauða er MCHC, sem tekur tillit til stærðar rauðfrumnanna við mat á styrk blóðrauða. Þessi afleiddu gildi gefa góða mynd af rauðfrumnamyndun og þar með þróuninni í viðbrögðum við blóðtapi.

Tafla 2. Mælipættir sem eiga við um hvítfrumur.

Mælipáttur (eining)	Þýðing mælipáttar
WBC ($\times 10^9/L$)	Fjöldi hvítfrumna í lítra blóðs
NEU ($\times 10^9/L$)	Fjöldi dauffrumna (<i>neutrophils</i>) í lítra blóðs
LYM ($\times 10^9/L$)	Fjöldi eitilfrumna (<i>lymphocytes</i>) í lítra blóðs
MONO ($\times 10^9/L$)	Fjöldi smáættna (<i>monocyte</i>) í lítra blóðs
EOS ($\times 10^9/L$)	Fjöldi sýrufrumna (<i>eosinophils</i>) í lítra blóðs
BASO ($\times 10^9/L$)	Fjöldi basafrumna (<i>basophils</i>) í lítra blóðs

Mat á hvítfrumum byggir á talningu heildarfjölda þeirra og fjölda þeirra eftir undirflokkum (tafla 2). Undirflokkarnir eru stundum gefnir upp sem hlutfall af heildarfjölda hvítfrumna, en það er ónákvæmara og ætti ekki að nota í klínískum tilgangi (Knottenbelt 2015). Fjöldi og undirflokkar hvítfrumna gefa vísbendingu um virkjun ónæmiskerfisins og eðli hennar (bakteríusýking, veirusýking, sníkjudýr, ofnæmi). Við blóðtap tapast hvítfrumur úr blóðrásinni en blóðmyndandi líffæri vinna gegn því tapi með því að senda út birgðir auk þess að hvetja framleiðslu fleiri frumna. Banddauffrumur (*band neutrophils*) eru ekki eins skýrt merki um bólguviðbrögð eins og hjá öðrum dýrategundum en geta sést þegar endurmyndun hvítfrumna er í gangi (Grondin og Dewitt 2010). Þegar hross verða hrædd, æst eða erfiða, geta dauffrumur sem vanalega eru bundnar við æðapelið, losnað út í blóðrásina og hækkað WBC gildið talsvert (Welles 2010). Þetta þarf að hafa í huga þegar hátt NEU gildi mælist.

Tafla 3. Mælipættir sem eiga við um blóðflögur.

Mælipáttur (eining)	Þýðing mælipáttar	Athugasemdir
<i>Mæld gildi</i>		
PLT ($\times 10^9/L$)	Fjöldi blóðflagna í lítra blóðs	
PCT (%)	Blóðflagnahlutfall (plateletcrit)	
<i>Afleidd gildi</i>		
MPV (fL)	Meðalstærð/-rúmtak blóðflagna	Hækkar við blóðflöguvirkjun og notkun EDTA
PDW (%)	Stærðardreifing blóðflagna	Hækkar við blóðflöguvirkjun og notkun EDTA

Fjöldi blóðflagna er notaður til að meta almennt ástand og er þeirra þekktasta hlutverk að viðhalda eðlilegri blóðstorknun, en önnur mikilvæg hlutverk eru bólgusvörun, varnir gegn örverum, ásamt ný- og endurmyndun æða (Ehrmann o.fl. 2021, Budak o.fl. 2016). Eðlis síns vegna geta blóðflögur verið viðkvæmar sem getur gert það erfitt að fá raunveruleg gildi yfir þær. Kæling á EDTA blóði getur leitt til þess að þær kekkjast (Lippi og Plebani 2012) sem leiðir til falskt lækkaðra gilda. Raunveruleg lækkun getur átt sér stað vegna aukinnar notkunar eða eyðileggingar á blóðflögum svo sem við mikið blóðtap og minnkaða framleiðslu í beinmerg (Satué o.fl. 2017). Blóðflagnahlutfall er gefið upp í prósentum og samhliða lækkun í fjölda blóðflagna og hlutfall blóðflagna er vísbending um mikla notkun blóðflagna (Budak o.fl. 2016). Blóðflögur geta stækkað þegar þær virkjast, en einnig getur MPV gildi hækkað ef langur tími líður milli blóðtöku og mælingar EDTA blóðs (Vagdatli o.fl. 2010).

1.4. Túlkun á rauðfrumnaþáttum

Þegar metið er blóðleysi hjá hrossum er mikilvægt að taka tillit til allra mælipátta í töflu 1, auk þess sem almennt ástand er metið með klínískri skoðun. Mikilvægt er að ganga fyrst og fremst út frá klínískum einkennum við greiningu á blóðleysi. Hross sem missa blóð yfir nokkra daga sýna yfirleitt klínísk einkenni þegar Hct mælist um 15-20%, en klínísk einkenni sjást ekki fyrr en í Hct um 12% hjá hrossum sem missa blóð hægar og yfir lengri tíma (Sellon 2004). Í þessari rannsókn var ekki gerð klínísk skoðun á hryssunum, og því ekki mögulegt að draga ályktanir um þýðingu mældra gilda fyrir hverja hryssu fyrir sig. Hins vegar er mögulegt að skoða þessa þætti í samhengi til þess að átta sig á því hvort um blóðleysi er að ræða, og hvort það á sér stað endurmyndun blóðþátta. Þegar mæligildin RBC, Hct, Hgb og MCHC fara niður fyrir viðmiðunargildi og MCV og RDW fara yfir viðmiðunargildi er um endurmyndandi blóðleysi að ræða (Barrelet og Ricketts 2002, Lording 2008). Eins og komið verður inn á, eru viðmiðunargildi misvel skilgreind og eiga misvel við þar sem einsleitni þeirra hrossahópa, sem þau byggja á, er mismikil (Knottenbelt 2015).

1.4.1. Blóðfrumnahlutfall

Blóðfrumnahlutfall (Hct) mælir hlutfall blóðfrumna (aðallega rauðfrumna) í heilblóði og er gefið upp í prósentum. Blóð samanstendur af fjórum meginhlutum, blóðvökva (plasma), rauðfrumum, hvítfrumum og blóðflögum. Hct gildi er notað til að flokka blóðleysi hjá hrossum af heitblóðsuppruna (sem komin eru út af arabískum hestum): Vægt blóðleysi = 30–33%, miðlungs blóðleysi = 20–29%, greinilegt blóðleysi = 13-19%, mjög greinilegt blóðleysi = < 13% (Tvedten 2010). Hjá kaldblóðshestum eins og íslenska hestinum eru nokkrir blóðþættir (Hct, Hgb, RBC) um 18-22% lægri en hjá heit- og varmbloðshrossum (Balan o.fl. 2019). Stokol (2020) miðar vægt blóðleysi við 25% og í rannsókn Sveins Ólasonar (2010) kom fram að hjá heilbrigðum íslenskum reiðhestum var eðlilegt viðmiðunarbíl Hct 25-40% og því er nokkuð á reiki hvaða tölur skuli miða við. Ef um ofþornun er að ræða, getur vökvaskortur í blóðrásinni valdið því að það mælist fölsk hækkun í Hct gildi og þannig getur blóðleysisástand dulist þar til vökvabúskapur hefur verið leiðréttur (Tvedten 2010). Einnig þarf að hafa í huga þann eiginleika hrossa að geyma aukabirgðir rauðfrumna í miltanu sem geta spýst út í

blóðrásina þegar líkamlegt álag eða streita krefst aukinnar getu til súrefnisburðar (Easley 1985, Barrelet og Ricketts 2002, Lording 2008). Þetta getur tímabundið hækkað Hct gildi um allt að 25% (Balan o.fl. 2019) en sú hækkun gengur til baka á næstu klukkustundum (Malikides o.fl. 2001). Til þess að geta betur metið hvort breytingar í Hct séu vegna ofþornunar eða innspýtingar frá milta er hægt að mæla heildarprótín (TP) í sermi (Fielding og Magdesian 2011). Gæta verður að því að ef blóðrof hefur átt sér stað við sýnatöku er sýnið ekki marktækt (Bhargava o.fl. 2020).

Auk þess sem mikilvægt er að flokka blóðleysi eftir alvarleika, þarf einnig að greina hvort blóðleysið er endurmyndandi, sem skiptir höfuðmáli við mat á alvarleika og þróun ástandsins, en í þessu skyni eru metnir þættir á borð við stærð og stærðarmun rauðfrumna (Stokol 2020). Blóðleysi eftir blóðtap er vanalega endurmyndandi ef ekki er annar sjúkdómur til staðar sem hamlar blóðmyndun (Tvedten 2010).

1.4.2. Blóðrauði

Blóðrauði (Hgb) er prótín sem finnst í rauðum blóðfrumum, inniheldur járn, og hefur getu til að binda súrefni og koltvísýring. Blóðrauðagildi er notað til þess að greina blóðleysi hjá mönnum þar sem járnskortsblóðleysi er algengasta gerð blóðleysis (Elstrott o.fl. 2020). Blóðrauði er almennt ekki notaður til þess að greina blóðleysi hjá hrossum og er næringartengt járnskortsblóðleysi mjög sjaldgæft hjá þeim (Sellon 2004, Smith o.fl. 1984). Almennt er ekki mælt hjá hrossum járn eða forðaprótínið ferrítín, en stærð rauðfrumna og styrkur blóðrauða í þeim gefur vísbendingu um járnbirgðir og nýtingu þeirra (Sellon 2004).

1.4.3. Fjöldi rauðfrumna

Talning rauðfrumna (RBC) er gefin upp sem fjöldi í hverjum lítra blóðs. Fækkun rauðfrumna getur verið merki um ýmiss konar vandamál, þar á meðal blóðtap, sníkjudýrasýkingar, blóðrof (*haemolysis*) og minnkaða framleiðslu á rauðfrumum (Tvedten 2010). Hross bregðast meðal annars við fækkun rauðfrumum með því að framleiða stærri rauðfrumur og viðhalda þannig blóðfrumnahlutfallinu (Tvedten 2010). Framleiðsla á rauðfrumum á sér stað í beinmergnum og hjá hrossum er þeim ekki sleppt út í blóðið fyrr en þær hafa náð síðasta þroskastigi. Þess vegna eru netfrumur, sem eru minna þroskaðar rauðfrumur, sjaldan sjáanlegar í blóðrás hrossa (Lording 2008, Balan o.fl. 2019). Þær eru gjarnan notaðar til þess að greina endurmyndandi blóðleysi í ýmsum öðrum dýrategundum en nýtast ekki í því skyni hjá hrossum (Tvedten 2010).

1.4.4. Meðalrúmtak rauðfrumna

Meðalrúmtak rauðfrumna (MCV) segir til um meðalstærð rauðfrumna (Padalino o.fl. 2016), en rauðfrumur hrossa eru smáar, u.þ.b. 5,7 μm í þvermál (Lording 2008). Út frá MCV gildi eru rauðfrumur flokkuð í eðlilega stærð (*normocytes*), dverg rauðfrumur (*microcytes*) og risarauðfrumur (*macrocytes*, Barger 2010). Stórar rauðfrumur geta verið merki um endurmyndandi blóðleysi því minna þroskaðar rauðfrumur eru stærri en fullþroskaðar (Harvey 2012, Lording 2008). Í eldri hrossum og kaldblóðshrossum er eðlilegt að viðmiðunargildi séu lítilla hærra heldur en sést hjá yngri hrossum og heitblóðshrossum (Harvey 2012, Balan o.fl. 2019). Endurmyndun rauðfrumna er talin vera í hámarki ef MCV gildi fer 10–15 fL yfir viðmiðunargildi (Lording 2008). Í alvarlegu blóðleysi mælast MCV gildi 12% yfir efri mörkum viðmiðunargilda en í rannsókn á klínískum sýnum hækkaði MCV ekki við miðlungs og vægt blóðleysi (Balan o.fl. 2019). Sú rannsókn byggði á stökum sýnum sem dýralæknar sendu til greiningar á hrossum með viðvarandi blóðleysi af völdum sjúkdóma og var efniviðurinn hvorki umfangsmikill né einsleitur. Einnig skal hafa í huga að MCV getur hækkað með lengri geymslutíma blóðsýna, venjulega er þessi hækkun þó ekki nógu mikil til þess að mælt MCV fari umfram viðmiðunargildi og rannsóknirnar um margt ekki sambærilegar (Clark o.fl. 2002, Sharif o.fl. 2012, Perez-Ejica o.fl. 2020).

Ef meðalrúmtak rauðfrumna lækkar getur verið um að ræða langvarandi járnskort, sem í fullvöxnum dýrum kemur venjulega fram vegna viðvarandi blóðtaps (Tvedten 2010). Næringartengdur skortur á járn er vanalega ekki vandamál hjá fullvöxnum dýrum, í ungviði er þetta vandamál hins vegar ekki óalgengt þar sem mjólk er mjög lág í járn (Weiss 2010). Kopar er mikilvægur í frásogi járn og ef skortur er á kopar í fæðunni getur járnskortur komið fram þrátt fyrir aðgang að járn. Einnig skal hafa í huga að hætta er á að blóðflögur séu taldar með rauðfrumum í alvarlega blóðlausum dýrum og í dýrum með áberandi blóðflagnafjölgun og þannig sé ranglega gerð greining um dvergfrumnadreyra (*microcytosis*, Harvey 2012).

1.4.5. Meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna

Við mat á meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna (MCHC) er blóðrauðamagn í rauðfrumu reiknað út frá stærð þeirra. Rauðfrumur geta þá talist vanlitaðar (*hypochromic*), hóflitaðar (*normochromic*) og oflitaðar (*hyperchromic*), eftir því hversu mikill blóðrauði litast í þeim (Padalino o.fl. 2016). Geta rauðfrumna til þess að flytja súrefni stendur í beinu sambandi við péttni blóðrauða í þeim og vanlitaðar rauðfrumur geta bent til járnleysis (Tvedten 2010). MCHC gildi geta lækkað í dýrum með endurmyndandi blóðleysi, og í dýrum með krónískt járnskortsblóðleysi, þar sem frumur innhalda minna af blóðrauða en þetta er ekki algengt hjá hrossum (Harvey 2012, Tvedten 2010). Munur er þó á þessu tvennu, því í endurmyndandi blóðleysi eru rauðfrumur að jafnaði stærri, en við járnskortsblóðleysi stækka rauðfrumurnar ekki og því mikilvægt að skoða samhliða MCV og MCHC (Weiss 2010). Ýmsir þættir geta valdið falskri hækkun, þar á meðal blóðrof fyrir eða eftir sýnatökuna, blóðfituaukning, Heinz innlyksur innan rauðfrumna, botnfallin prótín eftir kælingu blóðsins (Harvey 2012), eða streituvíðbrögð (Mal o.fl. 1991).

Meðalgildi blóðrauða (MCH) er ónákvæmari mæling en MCHC þar sem ekki er tekið tillit til rúmtaks/stærðar rauðfrumnanna. Það er því varasamt að túlka MCH án þess að hafa til samanburðar MCV.

1.4.6. Stærðardreifing rauðfrumna

Stærðardreifing rauðfrumna (RDW) mælir mismun í stærð rauðfrumna (*anisocytosis*) og er gefin upp í prósentum. Viðmiðunargildi eru venjulega hærrí í hrossum og nautgripum en í t.d. hundum og köttum (Harvey 2012), og hefur viðmiðunarbilið í hrossum verið gefið upp tiltölulega breitt, á milli 14–25% (Lording 2008). Þessi mælipáttur er nokkuð nýtilkominn í dýralækningum og er ekki alltaf metinn í þeim blóðmælingum sem dýralæknum bjóðast (Miglio o.fl. 2023, Balan 2019). Viðmiðunargildin sem gefin eru upp í ProCyte Dx blóðmælingatækinu fyrir íslensk hross eru 24,6–33,3% og er það nær því sem hefur mælst í hrossum á rannsóknastofu Keldna. Stærðardreifing rauðfrumna eykst gjarnan í blóðleysi, ef fjölgun verður bæði í dverggrauðfrumum og risarauðfrumum (Lording 2008), en ekki er þekkt til sjúkdómsástands þar sem gildi fer niður fyrir viðmiðunargildi.

Í endurmyndandi blóðleysi birtast risarauðfrumur á milli eðlilegra frumna vegna þess að óþroskaðar rauðfrumur eru stærri en fullþroskaðar frumur. Hins vegar er meira um dverggrauðfrumur innan um eðlilegar rauðfrumur þegar um er að ræða járnskortsblóðleysi. Ef járnskortur er krónískur verða frumurnar á endanum allar jafnsmáar, sem leiðir þá til þess að RDW getur verið innan viðmiðunargildis og því mikilvægt að taka tillit til MCV og MCHC (Harvey 2012).

1.5. Viðmiðunargildi blóðhagsmælinga

Þegar túlka á niðurstöður blóðhagsmælinga fyrir hross er mikilvægt að nota viðeigandi viðmiðunarbíl (*reference intervals*, RI). Viðmiðunarbilið er því það bil sem 95% af heilbrigðum einstaklingum falla innan (Friedrichs o.fl. 2012). Viðmiðunargildi eru reiknuð með 90% öryggisbili út frá mældum gildum í

ákveðnu úrtaki. Gildi sem mælast fyrir utan viðmiðunarbíl viðkomandi þýðis benda ekki endilega til sjúkdómsástands og öll túlkun byggir þannig á öðrum gildum og vísbendingum um ástand hrossins (Knottenbelt 2015).

Tafla 4. Dæmi um viðmiðunargildi ýmissa hrossakynja.

Þýði	N	Svæði	Kalt/heitt blóð	RBC (x10 ¹² /L)	Hct (%)	Hgb (g/L)	MCV (fl)	MCHC (g/L)
Íslensk reiðhross ^a	78	Ísland	Kalt		25-40	90-148		
Íslensk reiðhross ^b	141	Austurríki	Kalt	5,8-8,6	29-39	102-142	42-51	347-367
Íslenskar hryssur ^c	NA	Evrópa	Kalt	6,4-10,4	30-47	107-165	41-52	328-386
Ítalskt dráttarkyn ^d	299	Ítalía	Kalt	5,9-9,5	26-47	96-162	32-50	334-406
Ýmis kaldblóðskyn ^e	NA	NA	Kalt	5,5-9,5	24-44	80-140		
Frísneskir hestar ^f	123	Bandaríkin	„Varmt“	5,0-8,7	27-42	90-143	45-58	320-360
Thoroughbred ^g	NA	Bretland	Heitt	8,5-12,5	35-46	110-180	41-49	

^aSveinn Ólason 2010, ^bLeidinger o.fl. 2015, ^cIDEXX ProCyte 2021, ^dMiglio o.fl. 2019, ^eGrondin og Dewitt 2010 ^fSample o.fl. 2015, ^gKnottenbelt 2015. RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna. MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna.

Við greiningu á niðurstöðum þessarar rannsóknar var því ákveðið að nýta efniviðinn til þess að reikna út viðmiðunargildi fyrir íslenskar hryssur á beit, sem eru fylfullar á fyrsta þriðjungi meðgöngu. Fáar ritrýndar heimildir eru fyrir viðmiðunargildum blóðhagsþátta hjá íslenskum hrossum, og engin þeirra tekur til hrossa á Íslandi (tafla 4). Viðmiðunargildi sem birt voru fyrir íslensk reiðhross í Austurríki bentu til þess að ýmsir blóðhagsþættir og blóðefni væru ólík því sem almenn viðmiðunargildi fyrir hross benda til (Leidinger o.fl. 2015). Í forrannsókn sem ekki hefur verið birt í vísindagrein, komst Sveinn Ólason dýralæknir að því að 78 heilbrigð reiðhross á Íslandi mældust lægri í blóðrauða og blóðfrumnahlutfalli en erlend viðmiðunargildi segja til um (Sveinn Ólason 2010). Einnig kom fram leitni til þess að munur væri í blóðrauða eftir því hvaðan hrossin voru á landinu, en þetta litla úrtak, þar sem mælingar fóru ekki fram á sama stað, er einungis vísbending.

Vitað er að ýmsir þættir hafa áhrif á lífeðlisfræði og blóðhag hrossa, svo sem ræktunarkyn, aldur, kyn, fóðrun og eðli hrossahaldsins (Satué o.fl. 2009, Bazzano o.fl. 2014, Faramarzi o.fl. 2018, Miglio o.fl. 2019, Leidinger o.fl. 2015, Sample o.fl. 2015, Knottenbelt 2015). Hin ýmsu rauðfrumnagildi í hrossum fara ekki síst eftir þörfinni fyrir súrefnisflutning og loftháða starfsemi vöðva, sem almennt er meiri fyrir heitblóðshross og blendinga þar af (varmblóðshross) heldur en kaldblóðshross (Persson o.fl. 1973).

2. Rannsóknarspurningar

Í rannsókninni var athugað hvaða þættir höfðu áhrif á blóðhag og hvernig hann þróaðist eftir því sem leið á blóðsöfnunartímabilið. Ákveðnar rannsóknarspurningar voru lagðar fram og tölfræðilegum greiningum beitt til þess að svara þeim.

1. Hver eru eðlileg viðmiðunarbíl blóðhags hjá fylfullum hryssum á fyrsta þriðjungi meðgöngu?
2. Er munur á eðlilegum blóðhag fylfullra folaldshryssna og fylfullra geldhryssna?
3. Hefur aldur hryssu áhrif á eðlilegan blóðhag og blóðmyndun tengda vikulegri blóðsöfnun?
4. Hver er þróun blóðhags hjá hryssum í vikulegri blóðsöfnun og hver er staðan að blóðsöfnunartímabilinu loknu?
5. eru dæmi um að hryssur mælist með blóðfrumnahlutfall sem bendir til blóðleysis?
6. eru vísbendingar um að regluleg blóðsöfnun úr hryssum valdi blóðleysi sem þær geta ekki bætt sér upp eftir því sem líður á blóðsöfnunartímabilið?
7. Er munur milli stóða í blóðmyndun tengdri vikulegri blóðsöfnun?
8. Hefur það áhrif á þróun í blóðhag hvenær á blóðsöfnunartímabilinu er fyrst safnað úr viðkomandi hryssu?
9. Er munur í blóðhagsgildum eftir því hve oft blóði hefur verið safnað úr hryssu yfir tímabilið?

3. Rannsóknaraðferðir

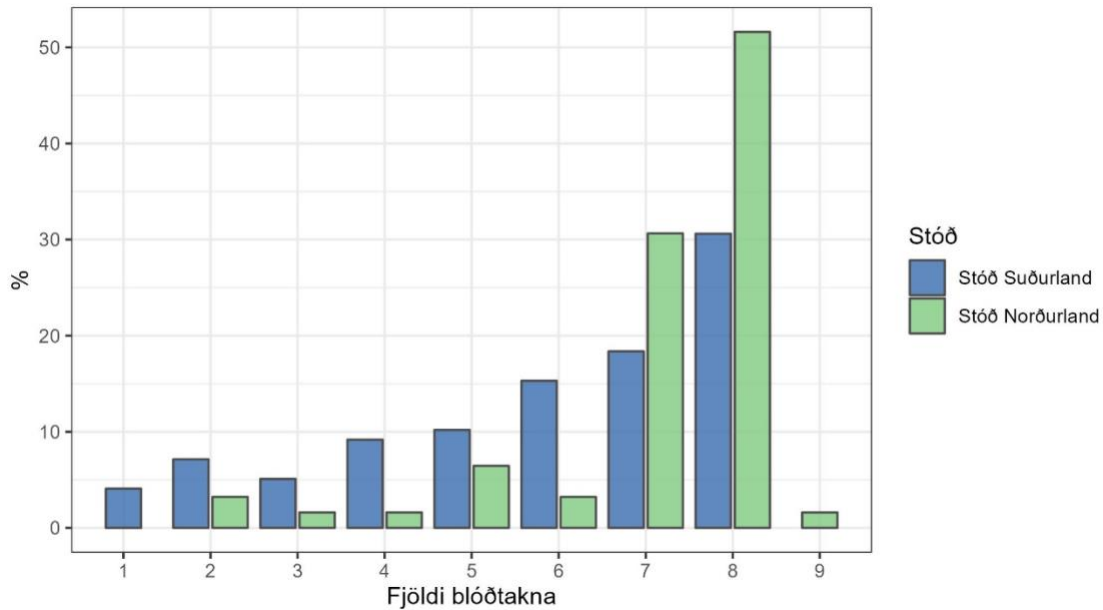
Tvö blóðtökustóð voru til rannsóknar á 12 vikna tímabili frá júlí til október 2022. Annað stóðið var á Norðurlandi og taldi 72 hryssur, hitt stóðið var á Suðurlandi og taldi 127 hryssur. Hestar höfðu verið settir í stóðin á svipuðum tíma í byrjun júní og teknir úr seinnipartinn í júlí. Hryssur í báðum stóðum höfðu fengið ormalyf í október 2021, Suðurlandsstóðið fékk Fenbendazole í munn (Zerofen 10% vet., Chanelle Pharmaceuticals Manufacturing Ltd.) og stóðið á Norðurlandi fékk Ivermectin undir húð (Ivomec vet. 10 mg/ml, Boehringer Ingelheim Animal Health). Hryssurnar voru holdstigaðar reglulega á skalanum 1,0-5,0 þar sem 3,0-3,5 eru mátuleg reiðhestahold (Guðrún J. Stefánsdóttir og Sigríður Björnsdóttir 2001).

Rannsóknin fór fram með leyfi Matvælastofnunar, leyfisnúmer 2206402, eftir umsögn fagraðs um velferð dýra, samkvæmt lögum um velferð dýra nr. 55/2013 og reglugerð um vernd dýra sem notuð eru í vísindaskyni nr. 460/2017.

3.1. Hryssur sem sýni voru tekin úr

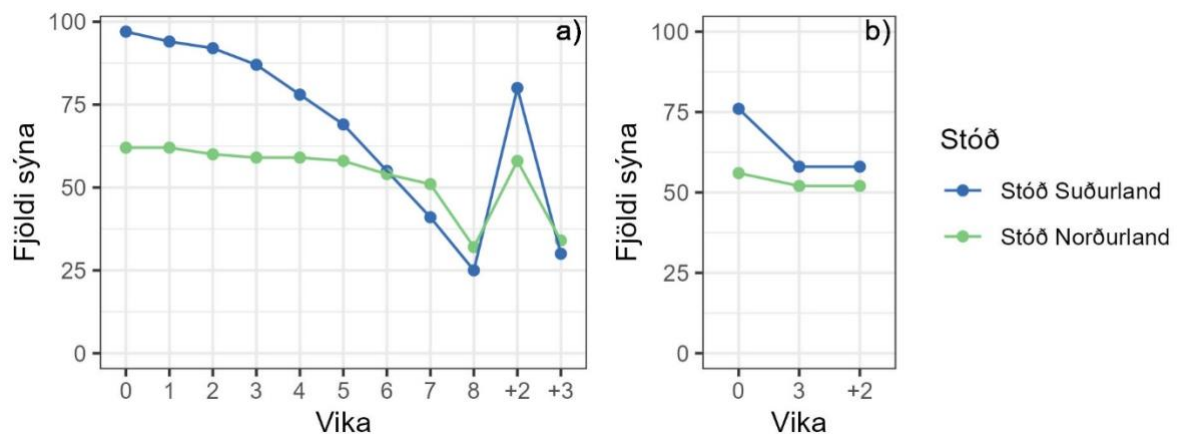
Í stóðinu á Norðurlandi safnaði Ísteka blóði úr 66 hryssum af 72 (91,7%) í að meðaltali 7 skipti (2-9 skipti, ein hryssa var af misgáningi með í níu skipti, sjá mynd 1). Að meðaltali voru blóðsýni til mælinga tekin níu sinnum (2-11 sinnum) úr hverri hryssu, frá fyrstu blóðsöfnun til þriðju viku eftir síðustu blóðsöfnun (mynd 2). Meðalaldur hryssnanna voru 11,7 vetur (5-21 vetur, sjá mynd 3) og voru 52 hryssur af 66 folaldshryssur. Holdastig var að meðaltali 4,1 (3,9-4,7).

Í stóðinu á Suðurlandi safnaði Ísteka úr 103 hryssum af 127 (81%) í að meðaltali 6 skipti (1-8 skipti, sjá mynd 1). Að meðaltali voru blóðsýni til mælinga tekin sjö sinnum (1-11 sinnum) úr hverri hryssu frá fyrstu blóðsöfnun til þriðju viku eftir síðustu blóðsöfnun (mynd 2). Meðalaldur hryssnanna voru 10,8 vetur (4-22 vetur, sjá mynd 3) og voru 83 af 103 hryssum folaldshryssur. Holdastig var að meðaltali 4,2 (3,5-4,7).

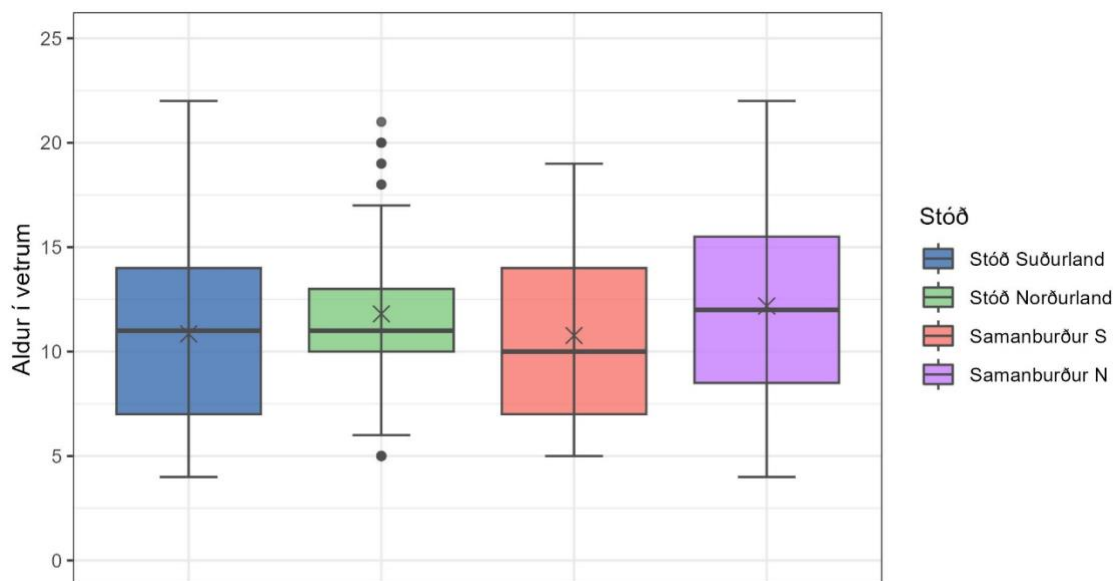


Mynd 1. Hlutfall hryssna sem safnað var blóði úr í 1-8 skipti, í hvoru stóði fyrir sig á tímabilinu júlí-október 2022. Úr langstærstum hluta stóðsins á Norðurlandi (82%) var safnað sjö og átta sinnum, en fyrir mistök var tekið níunda skiptið úr einni hryssu. Á Suðurlandi var mun dreifðara hversu oft var safnað úr hryssunum og safnað sjö eða átta sinnum úr 48% þeirra.

Sem samanburðarhópur voru hafðar 24 hryssur sem ekki hafði verið safnað blóði úr. Á Norðurlandi voru tekin sýni úr 11 hryssum á aldrinum 4-22 vetra (12,2 vetra meðalaldur, sjá mynd 2) sem gengu saman og voru þær allar fylfullar en ein var geldhryssa (ekki með folald undir sér) þar sem hún gekk með sitt fyrsta fyl. Á Suðurlandi voru tekin sýni úr 13 folaldshryssum á aldrinum 5-19 vetra (10,8 vetra meðalaldur, sjá mynd 2) sem gengu saman og voru allar fylfullar.



Mynd 2. Fjöldi blóðsýna sem tekin voru í viku hverri a) fyrir blóðhagsþætti og b) prótín í sermi. Í viku 0 var tekið 0-sýni, áður en blóðsöfnun hófst, en síðan tekin vikuleg sýni áður en næsta blóðsöfnun var gerð og í allt að þrjú skipti eftir að blóðsöfnun lauk. Vikur +2 og +3 sýna fjölda sýna 2-3 vikum eftir að síðasta blóðsöfnun var gerð. Ekki voru tekin blóðsýni úr öllum hryssum öll skiptin eftir að þær hættu að koma inn til blóðsöfnunar.



Mynd 3. Aldursdreifing í hryssuhópum sem tekin voru blóðsýni úr júlí-okt 2022 til blóðhagsmælinga. Hóparnir voru fjórir: Hryssur í einu stóði á Norðurlandi (n=62) og einu á Suðurlandi (n=98) sem safnað var blóði úr til lyfjaframleiðslu og tveir hópar ræktunarhryssna á Norðurlandi (n=11) og Suðurlandi (n=13). Hryssurnar voru allar fylfullar og flestar (83,6%) mjólkandi.

3.2. Gagnaöflun og aðferðir

Lagt var mat á atferlismynstur hryssnanna þegar þær komu inn í básinn, meðan blóðsöfnun stóð yfir og eftir að þær fóru út úr básnum, og var skráð ef hryssur sýndu einkenni streitu eða hræðslu, sem gætu haft áhrif á blóðhagsmælingar. Fylgst var með fyrirfram skilgreindum merkjum og þau skráð: frís eða hnegg, krafts með framfæti, mótþrói við að koma í básinn, hryssa ólmaðist, stökk út úr eða lagðist í básnum (Harewood og McGowan 2005). Einnig var fylgst með lífeðlisfræðilegum viðbrögðum sem þekkt eru hjá blóðsöfnunarhrossum sem tekið er mikið magn blóðs úr, svo sem sviti á makka og hálsi, losun þvags og taðs (Malikides o.fl. 2001). Rannsóknin bauð ekki upp á að gerðar væru mælingar á öndunartíðni og hjartsláttartíðni til að meta streituástand eða umfangsmeiri atferlirannsóknir.

Blóðsýni voru tekin úr þeim hryssum sem stóð til að safna blóði úr hverju sinni. Þannig var fyrsta blóðsýnið sem tekið var úr hryssu á blóðsöfnunartímabilinu svokallað 0-sýni, sem sýndi blóðhag hryssunnar áður en nokkurt blóðtap átti sér stað. Sýnin sem tekin voru vikulega eftir það leiddu svo í ljós hvaða áhrif blóðtakan vikunni áður hafði haft á blóðbúskap viðkomandi hryssu á undangengnum sjö dögum. Blóðsýnataka úr heilu stóði tók aldrei meira en 4 klst þegar flest sýni voru tekin. Sýnin voru tekin af dýralæknum og sérþjálfuðum líffræðingum á vegum Keldna.

Blóðsýni voru tekin fyrir hverja blóðsöfnun, eftir að blóðtökusvæðið hafði verið rakað, sótthreinsað og staðdeyft. Blóðsýni voru tekin í 2 ml EDTA glös til blóðhagsmælinga og 4 ml sermisglös til greininga á sermi. Blóðglösum var velt við nokkrum sinnum til að tryggja blöndun, þau voru merkt einstaklingsnúmeri hryssunnar og látin standa upprétt þar sem þeim var hlíft við sól í frauðplastkassa með kælikubbi.

3.3. Mældir blóðhagsþættir

Mikilvægt var að tryggja að allar mælingar væru gerðar með sama hætti yfir allt tímabilið og voru blóðsýnin látin standa í kæli yfir nótt en mæld daginn eftir að þau voru tekin. Blóðhagsþættir, sem gefa

mynd af rauðfrumum, hvítfrumum og blóðflögum í blóði, voru mældir í heilblóði í IDEXX ProCyte Dx tæki (IDEXX Laboratories, Inc.). Aldrei liðu meira en 30 klst. frá sýnatöku og þar til mæling fór fram. Tækið er í daglegri notkun, er hreinsað og gæðaprófað reglulega skv. kröfum framleiðanda. Auk ofangreindra blóðhagsþátta var mælt heildarmagn prótíns í sermi (TP). Þetta var gert í IDEXX Catalyst One blóðþáttatæki (IDEXX Laboratories, Inc.). Sermissýnin voru geymd við ~4°C yfir nótt, spunnin við 1.932 x g í 10 mínútur, sermi safnað, glös merkt með númeri hryssu og dagsetningu, og sermið geymt við -20°C þar til mælingar voru framkvæmdar. Próteinmælingar voru gerðar á úrtaki sýna. Þannig voru valin 0-sýni, sýni úr 3. eða 4. blóðsöfnunarkví hveirar hryssu, og að lokum eftir tvær eða þrjár endurheimtarvíkur. Blóðrofin sýni voru útilokuð því þekkt er að blóðrof getur leitt til falskrar hækkunar á TP (Bhargava o.fl. 2020). Fyrir mælingu voru sýni látin ná herbergishita.

Blóðstrok voru gerð á sýnum ef ástæða þótti til að skoða frumur og frumusamsetningu, sjá kafla 4.3.4.

3.3.1. Mælingar á blóðsýnum

Í heild sinni voru mæld 1.440 heilblóðsýni (tafla 5) og þar að auki 352 sermissýni þar sem prótín var mælt í úrtaki hryssna sem uppfylltu kröfur varðandi gæði sýnis og fjölda blóðtakna.

Tafla 5. Fjöldi sýna sem tekin voru hvern sýnatökudag og gerð blóðhagsmæling á daginn eftir, og skipting þeirra á landshluta

Fjöldi mældra sýna í hverri viku					
Dags sýnatöku	Dags. mælingar	Suðurland	Norðurland	Samtals	Par af 0-sýni
26.7.2022	27.7.2022	30	25	55	55
2.8.2022	3.8.2022	43	42	85	30
9.8.2022	10.8.2022	62	46	108	23
16.8.2022	17.8.2022	74	58	132	24
23.8.2022	24.8.2022	85	62	147	15
30.8.2022	31.8.2022	91	61	152	6
6.9.2022	7.9.2022	85	62+11	158	
13.9.2022	14.9.2022	80	62	142	
20.9.2022	21.9.2022	74	61	135	
27.9.2022	28.9.2022	71	50	121	
4.10.2022	5.10.2022	59	49	108	
11.10.2011	12.10.2011	0	30	30	
18.10.2022	19.10.2022	36+13	18	67	
				1.440	

3.3.2. Úrtak vegna útreikninga grunnilda og viðmiðunarbila

Til þess að reikna út viðmiðunargildi fyrir fylfullar íslenskar hryssur á beit voru mæld sýni úr 183 hryssum. Þar af voru 62 blóðsöfnunarkvíur á Norðurlandi og 97 á Suðurlandi og samanburðarhópur hryssna sem ekki voru í blóðsöfnun, 11 á Norðurlandi og 13 á Suðurlandi (tafla 6). Blóðhagsþættir voru mældir í 183 EDTA heilblóðsýnum og heildarprótín var mælt í sermi frá 157 hryssum (tafla 6). Niðurstöðurnar voru greindar og viðmiðunargildi voru reiknuð samkvæmt leiðbeiningum frá American Society for Veterinary Clinical Pathology (Friedrichs o.fl. 2012).

3.3.3. Úrtak vegna þróunar blóðhags yfir blóðsöfnunartímabilið

Til þess að leggja mat á þróun á blóðhag voru notaðar niðurstöður mælinga á heilblóðssýnum og sermissýnum úr 169 blóðsöfnunarhryssum, 66 hryssum á Norðurlandi (þar af 54 mjólkandi) og 103 hryssum á Suðurlandi (þar af 83 mjólkandi). Tölfræðigreiningar voru gerðar á mælingum 1.337 heilblóðssýna úr 160 af þessum hryssum og 352 sermissýna úr 132 hryssum (tafla 8), en níu hryssur uppfylltu ekki skilyrði tölfræðigreiningar af eftirtöldum ástæðum: aldur var ekki þekktur eða hryssa var ekki tekin samfelld til blóðsöfnunar í hverri viku. Niðurstöður blóðhagsmælinga fyrir þessar níu hryssur má sjá í viðauka I.

3.4. Tölfræðigreiningar

Til að kanna hvort meðalgildi blóðhagsþátta hjá hryssunum áður en blóðsöfnun hófst væru frábrugðin meðalgildum samanburðarhóps hryssna sem hefðu ekki verið í blóðsöfnun var gerð samvikagreining. Stóð og aldur voru sett inn sem áhrifabreytur og prófað hvort munur væri á meðalgildum eftir stóðum. Þá var einnig kannað á sama hátt hvort munur væri á meðalgildum á milli folaldshryssna og geldhryssna.

Til þess að kanna hvort breytingar yrðu á blóðhagsþáttum milli vikna í blóðsöfnunartímabilinu var notað blandað líkan (Zuur o.fl. 2009). Breyturnar vika, aldur og stóð voru sett í líkanið sem mögulegir áhrifabættir og hryssa var sett inn sem slembiþáttur til að taka tillit til fylgni á milli mælinga frá sömu hryssunni. Líkan með öllum þáttum var eftirfarandi:

$$y_{ijt} = \alpha_t + \gamma_j + (\alpha\gamma)_{ij} + \beta a_{ij} + s_{ij} + \epsilon_{ijt} \quad (1)$$

Þar sem y_{ijt} er blóðhagsmæling fyrir hryssu i í stóði j í viku t og a_{ij} er aldur hryssnanna. Stikinn α er áhrif af viku og γ er áhrif af stóði. Til að leyfa áhrifum vikna að vera breytileg milli stóða eru sett inn $\alpha\gamma$ sem eru víxlhrif á milli vikna og stóða, stikinn β lýsir sambandinu á milli aldurs og blóðhagsmælinganna, og s_{ij} eru slembihrif hryssu. Stíkar líkansins voru metnir með því að háþröðun sennileikafalls með lmer fallinu í lme4 pakkanum í tölfræðiforritinu R (R Core Team 2023). Áhrifabættirnir voru prófaðir með sennileikaprófi og þeir sem voru ekki marktækir voru fjarlægðir úr líkaninu.

Til að kanna hvort stöðu blóðhagsþátta tveimur vikum eftir síðustu blóðtöku væri hægt að skýra með fjölda skipta sem blóði var safnað úr hryssu, var gerð línuleg aðhvarfsgreining.

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 v_i + \beta_2 a_i + \epsilon_i \quad (2)$$

Þar sem y_i er blóðhagsmæling hryssu i tveimur vikum eftir síðustu blóðtöku, v_i er fjöldi skipta sem safnað var blóði og a_i er aldur hryssunnar. Þetta var eingöngu prófað fyrir stóðið á Suðurlandi þar sem hryssurnar á Norðurlandi fóru nánast eingöngu sjö eða átta sinnum í blóðtöku og því ekki nægur breytileiki í þeirra hópi til þess að prófa áhrif fjölda skipta.

Til að prófa hvort dagsetning fyrstu blóðsöfnunar hjá hryssu hefði áhrif á blóðhagsþætti var gerð línuleg aðhvarfsgreining.

$$y_{ij} = \gamma_j + \beta_{1j} d_{ij} + \beta_2 a_{ij} + \epsilon_{ij} \quad (3)$$

Þar sem breyturnar eru þær sömu og í jöfnu 2 hér að ofan nema d_{ij} er dagsetningin sem blóðtaka hófst hjá hryssu i í stóði j . Til að gera ráð fyrir að sambandið á milli byrjunardagsetningar og blóðhagsþátta væri ólíkt á milli stóða var stíkanum β_1 leyft að vera breytilegum á milli stóða.

4. Niðurstöður

4.1. Sýnatökur og mælingar

4.1.1. Atferli hryssna

Á blóðtökutímabilinu voru 17 skráningar um greinileg atferlisfrávik hjá hryssum, sem fólu í sér að hryssa ólmaðist, lagðist í tökubás eða stökk fram úr básnum. Þrettán þessara frávika voru skráð á Suðurlandi og fjögur á Norðurlandi. Í flestum tilfellum var um að ræða eitt atferlisfrávik á hverja hryssu, en á Norðurlandi var ein hryssa tvisvar skráð með slíkt frávik. Í fjórum af 17 tilfellum þar sem hryssa sýndi slíkt merki streitu, mældist blóðfrumnahlutfall yfir meðaltalinu, 40,9-48,8% en flestar af hryssunum höfðu blóðfrumnahlutfall í samræmi við það sem mældist í hryssum í vikomandi blóðsöfnunarviku (26,5-36,9%). Engar hryssur sáust svitna, losa þvag eða tað í básnum meðan á blóðsöfnun stóð.

4.1.2. Heilsufar

Holdastig hryssna var almennt ríflegt. Meðalholdastig hryssna á Norðurlandi var 4,1 og á Suðurlandi var það 4,2. Ein hryssa á Suðurlandi mældist með blóðfrumnahlutfall 16,5% og blóðrauða 61 g/L viku eftir þriðju blóðsöfnun (sjá viðauka I). Ákveðið var að safna ekki blóði úr henni vikuna á eftir, en sýni voru áfram tekin vikulega til að fylgjast með þróuninni. Hryssan var einnig með væga hækkun í eitilfrumum og smáætum sem gæti bent til vægra bólguviðbragða eða almennrar sýkingar. Ekki er þó hægt að draga ályktun um orsakasamhengi. Blóðstrok var gert og litað með May Grünwald-Giemsa (MGG) snöggglitun (Bio Optica, Milan, Italy) og sáust vanlitaðar dvergrauðfrumur innan um eðlilegar rauðfrumur, sem samrýmist greinilegu blóðleysi og bendir til járnskorts. Vikuleg blóðsýni sýndu jafna bætingu blóðgilda og blóðleysi var ekki til staðar þremur vikum eftir að blóðsöfnun lauk. Ein hryssa á Norðurlandi var hölt vegna brots í hóf, og fékk hófsnyrtingu og meðhöndlun dýralæknis, en hún sýndi ekki merki um almennan sjúkdóm.

4.2. Grunnildi og viðmiðunarbíl

Lýsandi tölfræði varðandi blóðhag og heildarprótín í sermi má sjá í töflu 6. Fimm stök gildi blóðrauða (Hct), heildarfjöldi hvítfrumna (WBC), fjöldi eitilfrumna, smáætna og basafrumna töldust vera útlagar og því ekki tekin með í útreikning viðmiðunargilda.

Í töflu 7 koma fram viðmiðunargildi hjá heilbrigðum fylfullum hryssum, reiknuð út frá mældum gildum frá hópunum fjórum á Norðurlandi og Suðurlandi. Á mynd 4 er samanburður á viðmiðunargildum fyrir íslenskar fylfullar hryssur (Charlotta Oddsdóttir o.fl. 2023), viðmiðunargildum fyrir íslensk reiðhross í Austurríki (Leidinger o.fl. 2015) og fylfullar hryssur af heitblóðsættum í Kanada (Famarzi o.fl. 2018). Þar sést að rauðfrumnagildin RBC, Hct og Hgb eru almennt hærri hjá íslensku hryssunum en hjá hinum tveimur hópunum. Íslensku hryssurnar eru því almennt með fullnægjandi gildi fyrir rauðfrumur og blóðrauða á þessu stigi meðgöngunnar, og bera ekki einkenni blóðleysis almennt. Langlægsta Hct gildi sem mældist í 0-sýni var 26,2%. Heildarfjöldi hvítfrumna var hærri hjá íslensku hryssunum og munaði þar líklega mestu um eitilfrumur, en áberandi var einnig að sýrufrumur voru fleiri hjá íslensku hryssunum.

Þessi viðmiðunargildi eru í nokkru samræmi við viðmiðunargildin í töflu 4 en þó er ákveðinn munur á. Talning rauðfrumna (RBC) og blóðfrumnahlutfall voru heldur hærri en gefin upp fyrir önnur kaldblóðskyn en í góðu samræmi við viðmiðunarbíl fyrir íslenskar hryssur í ProCyte Dx tækinu. Blóðrauði var ívið hærri en viðmiðunarbilið í tækinu og talsvert hærri en það sem gefið hefur verið upp fyrir íslensk reiðhross í Austurríki (Leidinger o.fl. 2015) og á Íslandi (Sveinn Ólason 2010), sem og önnur kaldblóðskyn (Grondin og Dewitt 2010).

Tafla 6. Lýsandi tölfræði yfir blóðhagsgildi, heildarprótín í sermi og aldur hjá fylfullum íslenskum hryssum á beit áður en blóðsöfnun hófst hjá blóðtökustóðum og hjá viðmiðunarhópum.

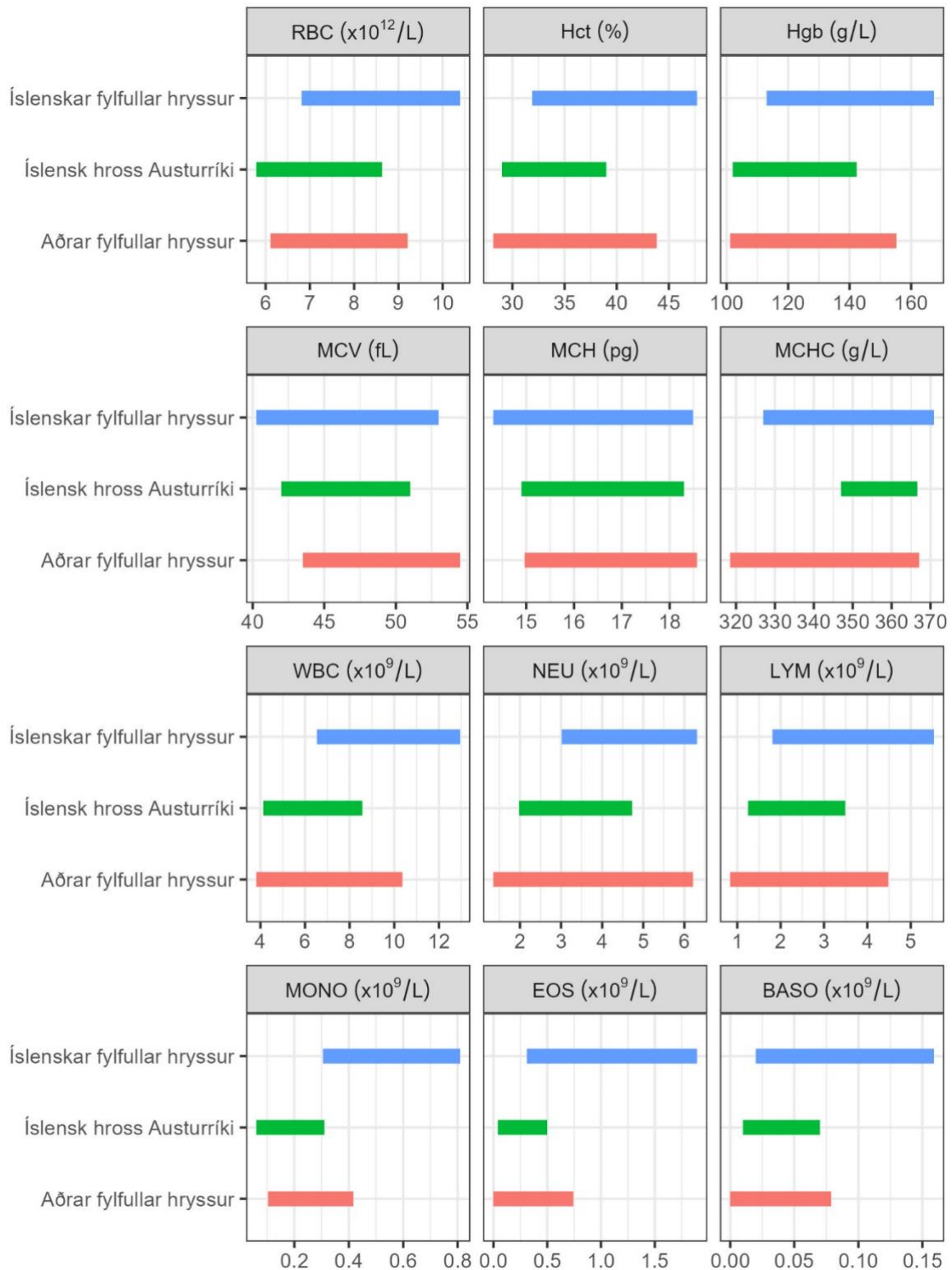
mælibreyta	Eining	Fjöldi hryssna	Minnsta gildi	Meðaltal	Staðalfrávik	Miðgildi	Stærsta gildi	Útlagi
RBC	x10 ¹² /L	183	5,83	8,40	0,982	8,31	11,44	
Hct	%	182	26,2	38,9	4,4	38,8	52,5	56,4
Hgb	g/L	183	99	137	13,7	137	185	
MCV	fL	183	37,5	46,6	3,354	46,5	55,2	
MCH	pg	183	13,5	16,4	1,078	16,5	19,2	
MCHC	g/L	183	320	353	11,15	354	378	
RDW	%	183	26,1	30,8	2,22	30,7	37,4	
WBC	x10 ⁹ /L	182	5,21	9,42	1,656	9,26	13,72	16,22
NEU	x10 ⁹ /L	183	1,80	4,47	0,861	4,41	7,27	
LYM	x10 ⁹ /L	182	1,48	3,51	1,005	3,35	7,05	7,79
MONO	x10 ⁹ /L	182	0,27	0,56	0,125	0,56	0,85	1,11
EOS	x10 ⁹ /L	183	0,18	0,82	0,440	0,74	3,13	
BASO	x10 ⁹ /L	182	0,01	0,07	0,039	0,06	0,23	0,71
TP	g/L	157	58	71,8	5,5	72	85	
aldur	vetur	183	4.0	11,3	4,4	11,0	22,0	

RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna, WBC: fjöldi hvítfrumna, NEU: fjöldi dauffrumna, LYM: fjöldi eitilfrumna, MONO: fjöldi smáætna, EOS: fjöldi sýrufrumna, BASO: fjöldi basafrumna, TP: heildarprótín í sermi.

Tafla 7. Viðmiðunarbíl yfir blóðhagsgildi, heildarprótín í sermi og aldur hjá fylfullum íslenskum hryssum á beit

Mæligildi	Eining	Viðmiðunarbíl	90% öryggisbil fyrir neðri mörk	90% öryggisbil fyrir efri mörk
RBC	x10 ¹² /L	6,81 – 10,39	6,49 – 6,96	10,03 – 10,96
Hct	%	31,9 – 47,7	30,8 – 32,6	47 – 48,7
Hgb	g/L	113 – 167	111 – 117	161 – 169
MCV	fL	40,3 – 53	39,8 – 41	52,2 – 54,6
MCH	pg	14,3 – 18,5	14 – 14,7	18 – 18,8
MCHC	g/L	327 – 371	326 – 333	368 – 374
RDW	%	27,1 – 35,4	26,5 – 27,3	34,7 – 37,3
WBC	x10 ⁹ /L	6,53 – 12,95	6,20-7,00	12,32 – 13,55
NEU	x10 ⁹ /L	3,02 – 6,31	2,73 – 3,15	6,07 – 6,58
LYM	x10 ⁹ /L	1,81 – 5,54	1,69 – 2,16	5,22 – 6,9
MONO	x10 ⁹ /L	0,3 – 0,81	0,29 – 0,36	0,76 – 0,83
EOS	x10 ⁹ /L	0,31 – 1,89	0,26 – 0,34	1,62 – 2,04
BASO	x10 ⁹ /L	0,02 – 0,16	0,01 – 0,02	0,13 – 0,22
TP	g/L	62,0 – 81,1	59,0-63,0	80,1-83,0

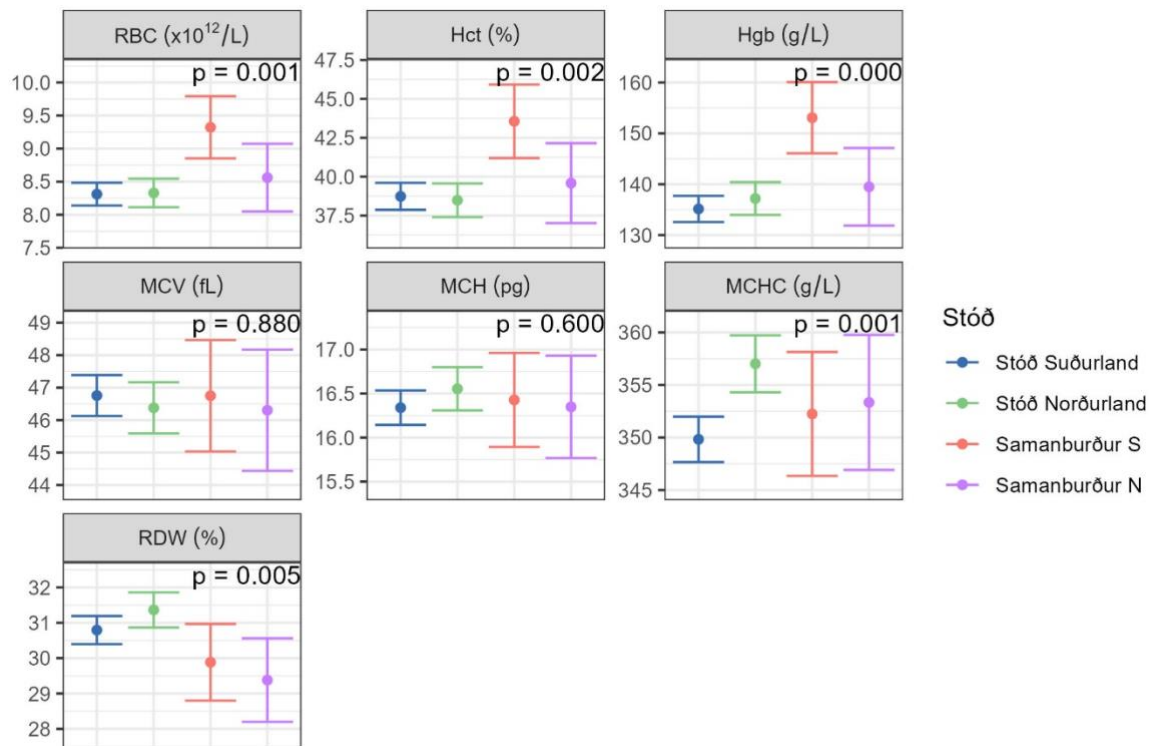
RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna, WBC: fjöldi hvítfrumna, NEU: fjöldi dauffrumna, LYM: fjöldi eitilfrumna, MONO: fjöldi smáætna, EOS: fjöldi sýrufrumna, BASO: fjöldi basafrumna, TP: heildarprótín í sermi.



Mynd 4 Myndræn framsetning viðmiðunargilda fyrir blóðhag hjá íslenskum hryssum, samanborið við viðmiðunargildi íslenskra reiðhrossa í Austurríki og fylfullar hryssur af öðrum ræktunarkynjum. RBC: taling rauðfrumna, Hct: blóðfrumna-hlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna, WBC: fjöldi hvítfrumna, NEU: fjöldi dauðfrumna, LYM: fjöldi eitilfrumna, MONO: fjöldi smáætna, EOS: fjöldi sýrufrumna, BASO: fjöldi basufrumna, TP: heildarprótín í sermi.

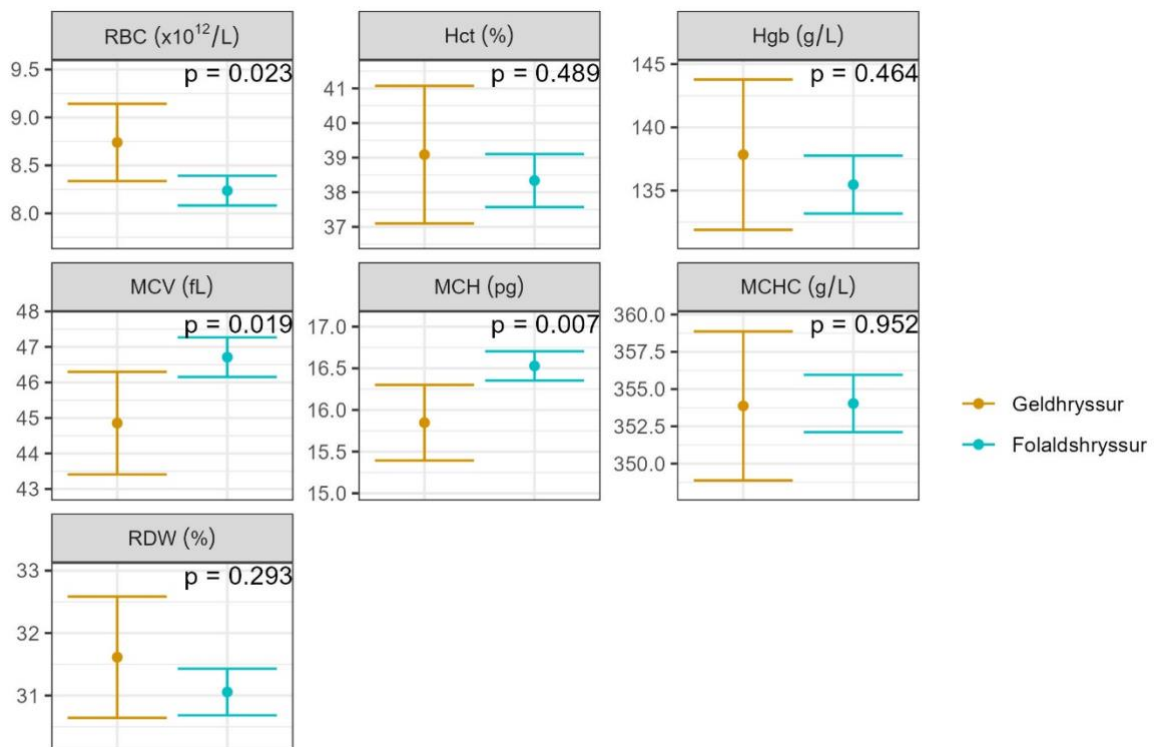
4.2.1. Grunnigildi og áhrifaþættir

Þegar niðurstöður mælinga á 0-sýnum voru greindar kom í ljós að það var munur á milli hópa. Samanburðarhópurinn á Suðurlandi mældist að meðaltali með hærri gildi fyrir RBC, Hct og Hgb en hinir hóparnir (mynd 5). Þá var marktækur munur á milli blóðtökustóðanna tveggja þegar kom að MCHC og blóðtökustóðin voru með meiri stærðardreifingu rauðfrumna (hærra meðaltal RDW) en samanburðarhóparnir.



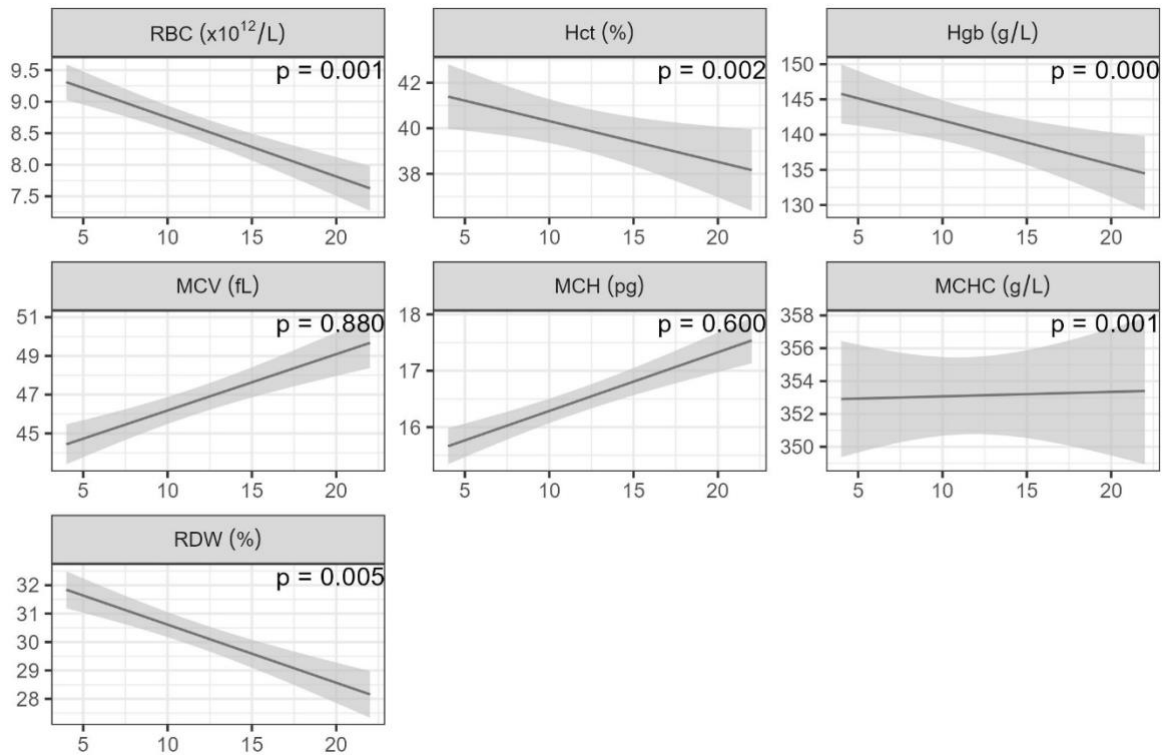
Mynd 5. Meðaltal blóðhagsgilda frá blóðtökustóðunum og samanburðarstóðum frá Norður og Suðurlandi áður en blóðsöfnun hófst. Gildin eru leiðrétt fyrir aldri og þverstrikin sýna 95% öryggisbil. P-gildin sýna hvort það var marktækur munur á milli stóðanna. Athuga ber að fjöldi mælinga frá samanburðarstóðunum var færri og því eru öryggisbilin víðari. RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna.

Einnig var kannað hvort munur væri á blóðhagsgildum fylfullra hryssna eftir því hvort þær væru folaldshryssur eða geldhryssur (ekki með folald undir sér). Þetta var kannað með 0-sýnunum, s.s. áður en blóðsöfnun hófst. Niðurstöðurnar sýndu að að fylfullar geldhryssur mældust að meðaltali með hærri RBC gildi, en lægri MCV og MCH gildi en folaldshryssur (mynd 6). Leitni var til þess að Hct og Hgb væru lægri hjá folaldshryssum, en munurinn var ekki marktækur. Geldar hryssur voru færri en folaldshryssur og því voru öryggisbil víðari fyrir þann hóp.



Mynd 6. Meðaltal blóðhagsgilda frá blóðtökustöðunum tveimur á Norður og Suðurlandi eftir folaldshryssum og geldhryssum. Meðaltölin sýna stöðuna áður en blóðsöfnun hófst og eru leiðrétt fyrir aldri og stóði. Þverstrikin sýna 95% öryggisbil en athuga ber að færri hryssur voru geldar og því eru öryggisbilin víðari. P-gildin sýna hvort var marktækur munur milli folaldshryssna eða geldhryssna. RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna.

Aldur hafði marktæk áhrif á blóðhagsgildin nema á MCHC. Eftir því sem hryssurnar urðu eldri, þeim mun lægri voru gildin fyrir RBC, Hct, Hgb og RDW en hærri fyrir MCV og MCH (mynd 7).



Mynd 7. Samband á milli aldurs hryssu og mældra blóðhagsgilda áður en blóðsöfnun hófst. P-gildin sýna hvort það var marktækt samband á milli blóðhagsgildanna og aldurs í vetrum (x-ás) Gráa svæðið umhverfis aðhvarfslínuna sýnir 95% öryggisbil. RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna.

4.3. Þróun blóðhags yfir blóðsöfnunartímabilið

Til þess að greina þróun blóðhags í hryssum yfir blóðsöfnunartímabilið voru notaðar niðurstöður mælinga á 1.337 heilblóðssýnum og 352 sermissýnum (tafla 8).

Eins og kemur fram í inngangi eru viðmiðunargildi um blóðleysi í kaldblóðshrossum illa skilgreind. Það sem þó liggur fyrir er, að eðlileg viðmiðunarbíl (*normal reference intervals*, RI) eru til fyrir kaldblóðshross og má áætla varlega að þegar komið er rétt undir neðri mörk RI fyrir rauðfrumnagildi fari að bera á vægu blóðleysi. Ekki eru skilgreind viðmiðunargildi hjá hrossum um blóðleysi út frá RBC og Hgb, og var því í þessari rannsókn miðað við lægsta eðlilegt viðmiðunargildi kaldblóðshrossa, sem sagt RBC $< 5,5 \times 10^{12}/L$ og Hgb < 80 g/L (Lording 2008, Grondin og Dewitt 2010). Fyrir blóðfrumnahlutfall (Hct) voru skilgreind eftirfarandi lágmarksviðmið fyrir íslenskar fylfullar hryssur: 24- $<$ 26% vægt blóðleysi, 20- $<$ 24% miðlungsblóðleysi, $<$ 20% greinilegt blóðleysi, út frá eðlilegum viðmiðunargildum (Charlotta Oddsdóttir o.fl. 2023) og því að blóðfrumnahlutfall er að meðaltali 18% lægra hjá kaldblóðshrossum en heitblóðshrossum (Balan o.fl. 2019).

Tafla 8. Lýsandi tölfræði yfir blóðhagsgildi, heildarprótín í sermi og aldur hjá 160 hryssum í vikulegri blóðsöfnun.

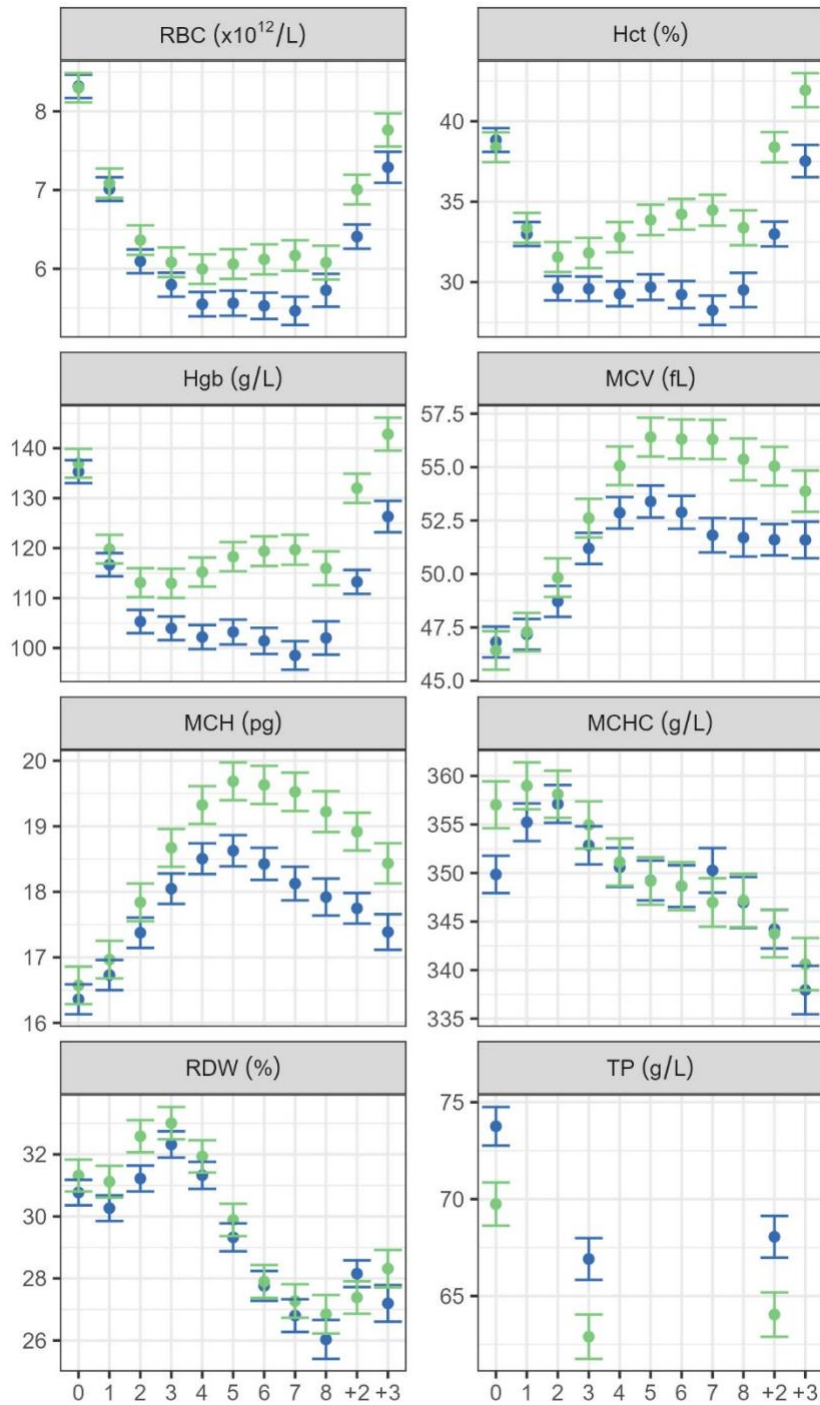
Mæligildi	Eining	Fjöldi sýna	Minnsta gildi	Meðaltal	Staðalfrávik	Stærsta gildi
RBC	$\times 10^{12}/L$	1337	3,89	6,43	1,16	11,44
HCT	%	1337	20	33	5,1	53
HGB	g/L	1337	74	115	16	179
MCV	fL	1337	36,8	51,5	5	66,5
MCH	pg	1337	13,5	18,1	1,6	22,6
MCHC	g/L	1337	308	351	11	384
RDW	%	1337	22,9	30	2,9	39,8
WBC	$\times 10^9/L$	1336	5,08	9,03	1,65	16,66
NEU	$\times 10^9/L$	1336	1,8	4,56	0,9	10,53
LYM	$\times 10^9/L$	1336	1,01	3,16	0,95	7,79
MONO	$\times 10^9/L$	1336	0,2	0,55	0,14	1,29
EOS	$\times 10^9/L$	1336	0,07	0,68	0,4	3,13
BASO	$\times 10^9/L$	1336	0	0,07	0,05	0,71
TP	g/L	352	55	68	6,1	85
Aldur	Vetur	160 hryssur	4	11	4,4	22

RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna, WBC: fjöldi hvítfrumna, NEU: fjöldi dauðfrumna, LYM: fjöldi eítílfrumna, MONO: fjöldi smáætna, EOS: fjöldi sýrufrumna, BASO: fjöldi basafrumna, TP: heildarprótín í sermi.

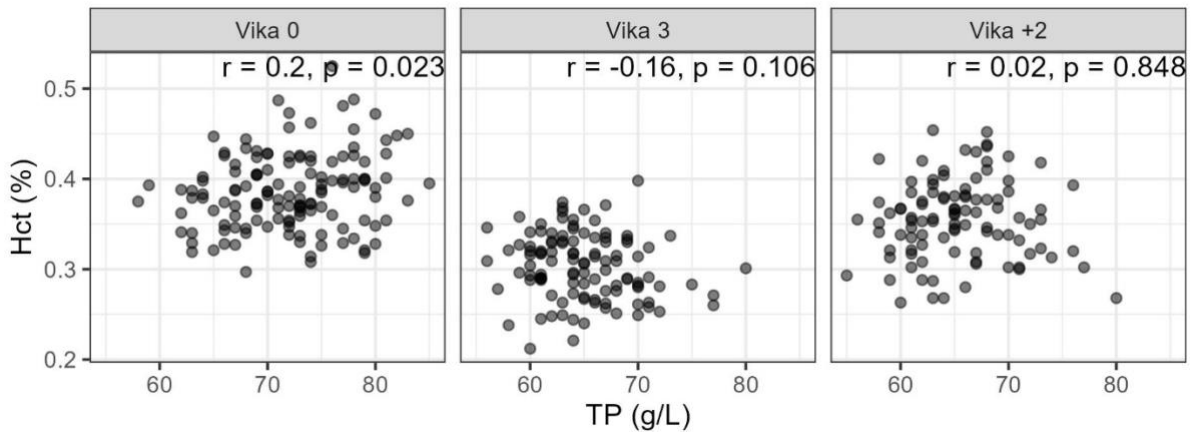
4.3.1. Þróun í meðalgildum blóðhags

Þegar meðalgildi blóðhagsmælinga voru skoðuð í báðum stóðum eftir því sem leið á blóðsöfnunartímabilið kom ýmislegt áhugavert í ljós. Í upphafi blóðsöfnunartímabilsins (0-sýni) voru mæld gildi svipuð í hryssum í báðum stóðum, fyrir utan MCHC sem var lægra í stóðinu á Suðurlandi og TP sem var hærra þar (mynd 8). Einni viku eftir fyrstu blóðtöku (vika 1) sást strax lækking í rauðfrumnagildunum (RBC, Hct, Hgb) og lækkingin í RBC hélt áfram í vikum 2-4. Áhugavert var að strax í viku 2 fór að skilja að milli stóðanna tveggja, og hryssurnar á Norðurlandi virtust halda betur í við tap á rauðfrumum með því að framleiða stærri og blóðrauðaríkari rauðfrumur. Á endurheimtartilímanum, tveimur til þremur vikum eftir síðustu blóðtöku, vikur +2 og +3, höfðu RBC, Hct og Hgb gildi beggja hópa hækkað talsvert í viku +2 og hækkuðu áfram í viku +3. Meðalgildið fyrir viku +2 byggir á mælingum frá hryssum tveimur vikum eftir síðustu blóðtöku og skiptir þá ekki máli hvort safnað hafði verið tvisvar eða átta sinnum úr hryssunni. Á mynd 1 má sjá að safnað var sjö sinnum eða oftár úr flestum hryssum.

Mótvægisviðbrögð í báðum hópum fólust á tímabilinu í því að rauðfrumur stækkuðu (hækkað MCV) og innihéldu meiri blóðrauða (hækkað MCH). Hámark þessara gilda náðist í viku 5, en þau héldust þó há út blóðsöfnunartímabilið og endurheimtarvikurnar. Varðandi meðalstyrk blóðrauða í rauðfrumum (MCHC) var nokkuð góð fylgni milli stóða, en það gildi lækkaði heilt yfir frá viku 3, og var meðalgildið ávallt innan þeirra viðmiðunargilda sem reiknuð voru, auk viðmiðunargilda sem koma fram í töflu 4.



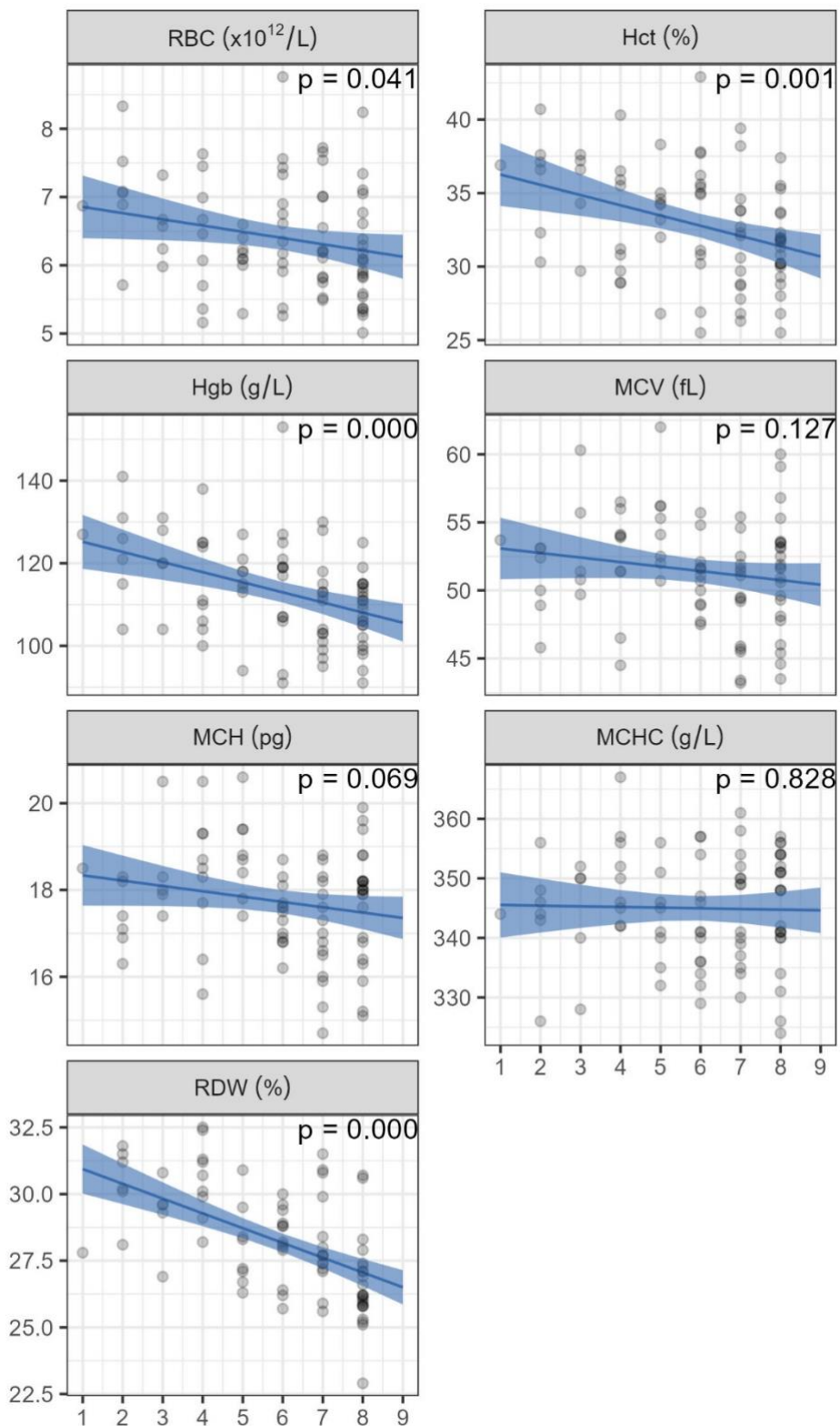
Mynd 8. Þróun í blóðhagsgildum hjá hryssum sem safnað var blóði úr vikulega í allt að 8 skipti. Í viku 0 var tekið 0-sýni, áður en blóðsöfnun hófst, en síðan tekin vikuleg sýni áður en næsta blóðsöfnun var gerð. Þannig sýnir vika 1 stöðuna einni viku eftir fyrstu blóðsöfnun. Vikur +2 og +3 sýna stöðuna 2 og 3 vikum eftir að síðasta blóðsöfnun var gerð. Grænn litur stendur fyrir stóðið á Norðurlandi og blár fyrir stóðið á Suðurlandi. RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðapéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna, TP: heildarprótein í sermi.



Mynd 9. Fylgni milli blóðfrumnahlutfalls (Hct) og heildarprótíns í sermi (TP) í sýnum sem mæld voru á þremur mælipunktum: Vika 0) rétt fyrir fyrstu blóðsöfnun, vika 3) rétt fyrir þriðju blóðsöfnun (þriðju eða fjórðu í tilfalli TP), og vika +2) tveimur vikum eftir síðustu blóðsöfnun (tvær eða þrjár vikur endurheimtar í tilfalli TP).

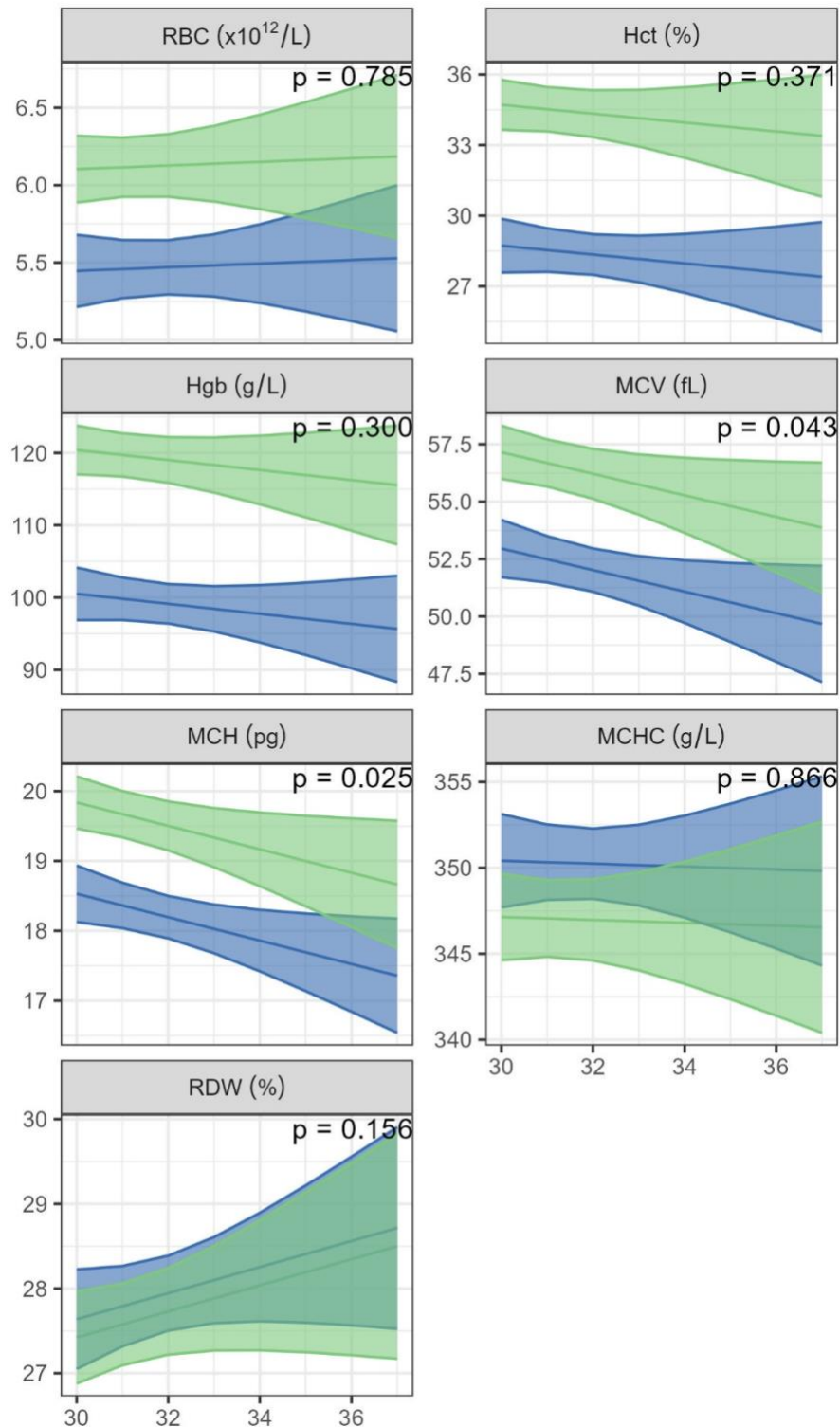
Heildarprótín í sermi var að meðaltali hærra í blóðsöfnunarstöðinu á Suðurlandi (74 g/L) en því á Norðurlandi (70 g/L) og lækkaði meðalgildi TP um 6,7 g/L eftir þrjú eða fjögur blóðsöfnunarskipti. Veik jákvæð fylgni fannst milli blóðfrumnahlutfalls og heildarprótíns í sermi í viku 0, áður en blóði var safnað úr hryssunum (mynd 9). Engin fylgni var milli þessara gilda í blóðsöfnunarsöfnun 3 eða eftir tvær endurheimtarvikur.

Þegar meðalgildi blóðhagsmælinga eftir tvær endurheimtarvikur voru skoðuð út frá fjölda undangenginna blóðsöfnunarskipta, kom í ljós munur þar á (mynd 10). Þessi greining var eingöngu möguleg í Suðurlandsstöðinu, enda var safnað sjö eða átta sinnum úr langflestum hryssum á Norðurlandi. Hryssur sem safnað var fjórum sinnum úr höfðu meðalgildi Hct=34% og Hgb=118 g/L en þær sem safnað var átta sinnum úr höfðu lægri meðalgildi, Hct=31% og Hgb=108 g/L.



Mynd 10. Blóðhagsmæligildi (gráir punktar) hjá hryssum á Suðurlandi (y-ás), mæld tveimur vikum eftir síðustu blóðsöfnun, eftir fjölda undangenginna blóðsöfnunarskipta (x-ás). Að auki er aðhvarfslína með 95% öryggisbili. P-gildin gefa til kynna tölfræðilega marktækni sambandsins milli mæligilda tveimur vikum eftir síðustu blóðsöfnun, og fjölda undangenginna blóðsöfnunarskipta. RBC: talning rauðfrumna, Hct: blóðfrumnahlutfall, Hgb: blóðrauði, MCV: meðalrúmtak rauðfrumna, MCH: meðalgildi blóðrauða í rauðfrumum, MCHC: meðalblóðrauðarþéttni rauðfrumna, RDW: stærðardreifing rauðfrumna.

Ekki hafði teljandi áhrif á þróun í blóðhagsgildum hvenær fyrsta blóðsöfnun var gerð úr hverri hryssu. Almennt sáust lægri gildi í MCV og MCH hjá hryssum sem komu seinna inn í blóðsöfnunina en ekki sáust áhrif á önnur gildi (mynd 11).



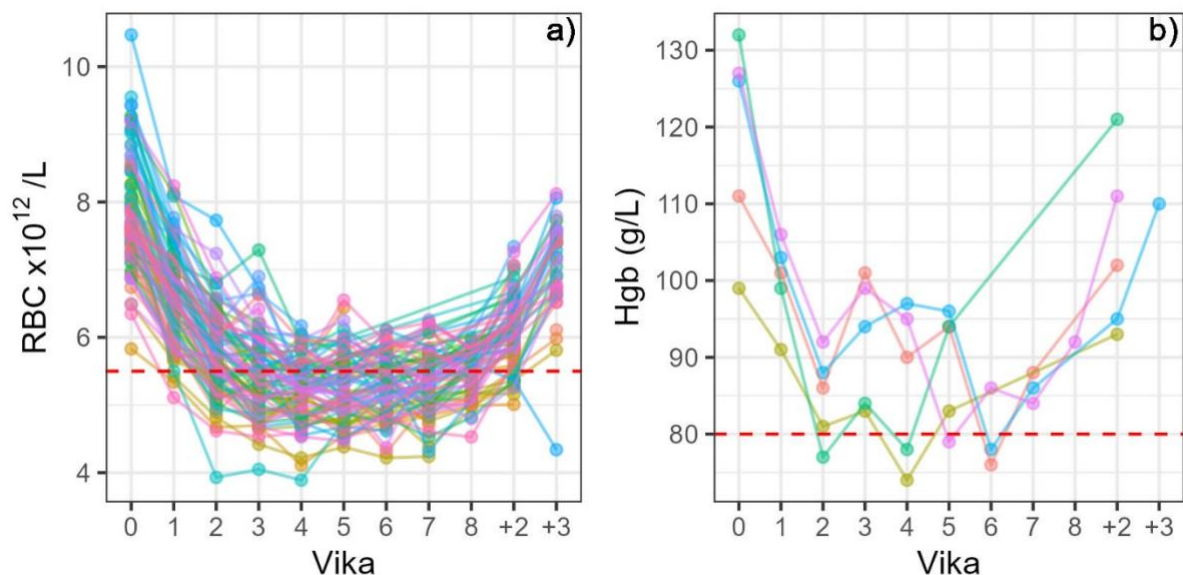
Mynd 11. Aðhvarfslína með 95% öryggisbili sem sýnir samband mældra blóðhagsgilda við síðustu blóðsöfnun (y-ás) og dagsetningar fyrstu blóðsöfnunar, sem sýnd er sem vika af árinu (x-ás). Þessi greining tók aðeins til hryssna sem safnað var blóði úr sex til átta sinnum.

4.3.2. Mæligildi hjá einstaklingum

Þegar einstaka mæligildi voru skoðuð hjá þeim 160 hryssum sem teknar voru inn í tölfræðigreininguna kom mikilvægur munur í ljós á milli blóðtökustóðanna tveggja þar sem hryssur frá Norðurlandi voru ekki með mæligildi sem bentu til blóðleysis.

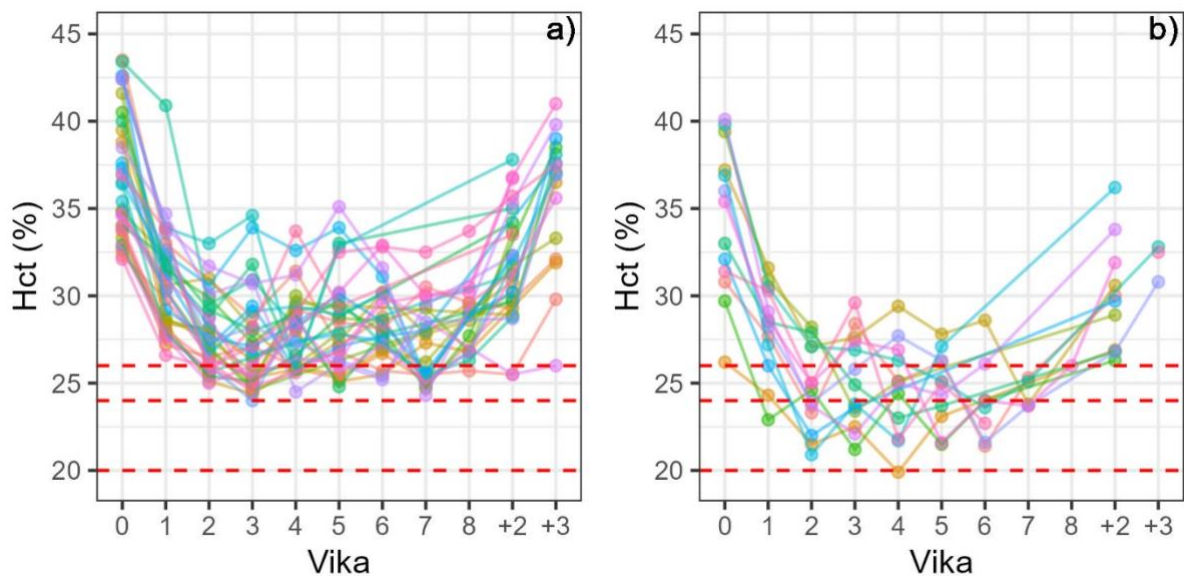
Í báðum stóðum fór talning rauðfrumna (RBC) undir lágsta eðlilega viðmiðunargildi $5,5 \times 10^{12}/L$ (mynd 12a). Í viku 2, einni viku eftir aðra blóðsöfnun, voru 28 hryssur (18% af öllum hryssum það skiptið) undir viðmiðunargildi og í vikunni eftir sjöundu blóðsöfnun voru þær 38 (41% af öllum hryssum það skiptið). Eftir tvær endurheimtarvikur voru 11 hryssur (8% af öllum hryssum það skiptið) undir eðlilegu viðmiðunargildi en eftir þrjár endurheimtarvikur var ein hryssa undir viðmiðinu. Ekki voru tekin blóðsýni úr öllum hryssum í öll skiptin eftir að þær hættu að koma inn til blóðsöfnunar.

Fimm hryssur í stóðinu á Suðurlandi mældust á einhverjum tímapunkti undir 80 g/L fyrir blóðrauða, þar af mældist ein hryssa tvisvar undir viðmiðinu (mynd 12b). Allar hryssurnar mældust yfir viðmiði frá fyrstu endurheimtarviku.



Mynd 12. Þróun í mæligildum einstakra hryssna sem fóru niður fyrir a) lágmarksviðmið fyrir talningu rauðfrumna ($RBC < 5,5 \times 10^{12} /L$) og b) lágmarksviðmið fyrir blóðrauða hjá kaldblóðshrossum ($Hgb < 80 \text{ g/L}$). Vika 0 tákna fyrsta sýni, tekið rétt fyrir fyrstu blóðsöfnun og vikur 1-8 tákna sýni tekin rétt fyrir blóðsöfnun með viku millibili. Vikur +2 og +3 tákna 2 og 3 vikur eftir síðustu blóðsöfnun.

Alls voru 33 hryssur (28 frá stóðinu á Suðurlandi og 5 frá Norðurlandi) sem voru með gildi á bilinu 24-26% Hct (mynd 13a). Hlutfall þeirra sem mældust með blóðfrumnahlutfall á bilinu 24-26% var hæst einni viku eftir sjöundu blóðsöfnunina þegar 11 hryssur voru á þessu bili sem gera 12% hryssna sem safnað var úr það skiptið. Annars voru á bilinu 4-8% hryssna á þessu bili í viku hverri. Tvær hryssur voru enn á þessu bili tveimur vikum eftir síðustu blóðtöku. Engar hryssur á Norðurlandi mældust undir 24% í blóðfrumnahlutfalli en nokkuð var um það hjá hryssum á Suðurlandi (mynd 13b). Í því stóði mældist Hct á bilinu 20-24% (miðlungsblóðleysi) hjá 13 hryssum og þar af hjá einni rétt undir 20% (greinilegt blóðleysi). Í vikum 2-4 (þegar búið var að safna blóði tvisvar til fjórum sinnum) voru flest tilfelli af sýnum sem mældust undir 24% og allar hryssur mældust yfir 24% í Hct eftir tvær vikur í endurheimt (vika +2, mynd 13b).



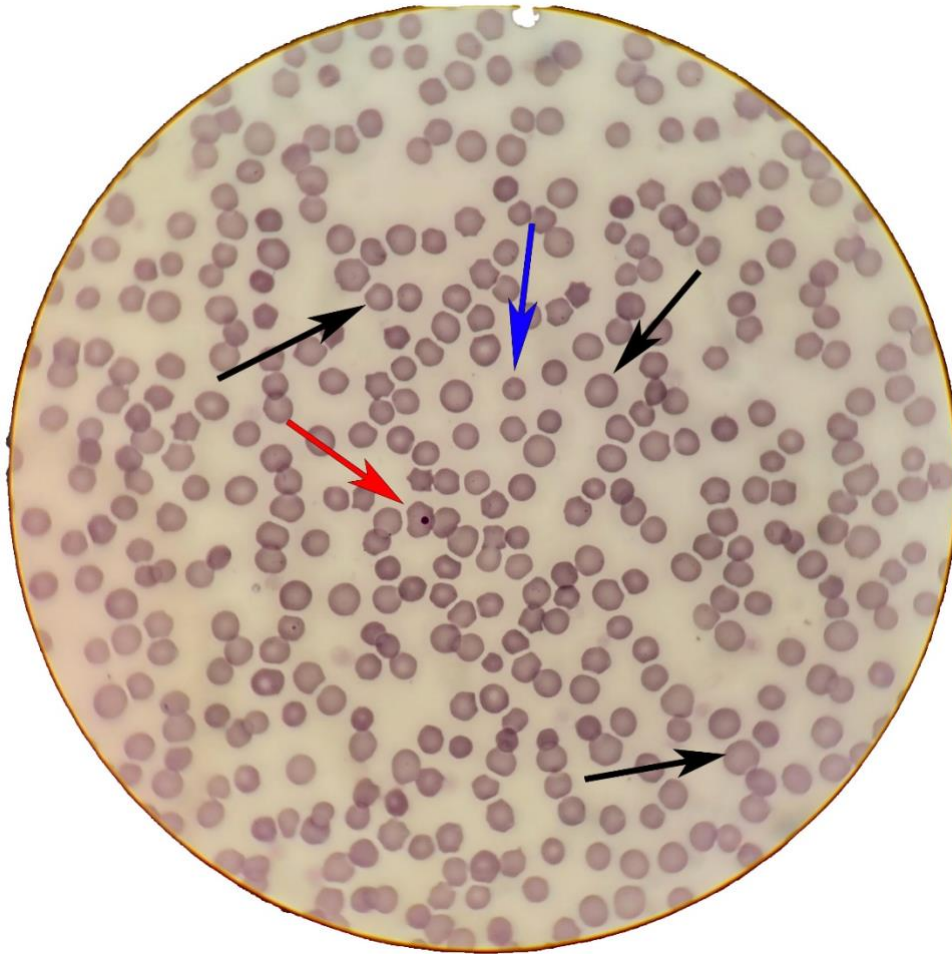
Mynd 13. Þróun í mæligildum einstakra hryssna sem fóru niður fyrir a) klínískt viðmið blóðfrumnahlutfalls fyrir vægt blóðleysi (Hct 24-26%) og b) klínískt viðmið blóðfrumnahlutfalls fyrir miðlungsblóðleysi (Hct 20-24%) og greinilegt blóðleysi (Hct <20%). Vika 0 táknar fyrsta sýni, tekið rétt fyrir fyrstu blóðsöfnun og vikur 1-8 tákna sýni tekin rétt fyrir blóðsöfnun með viku millibili. Vikur +2 og +3 tákna 2 og 3 vikur eftir síðustu blóðsöfnun.

4.3.3. Hvítfrumur

Hvítfrumugildi héldust almennt innan viðmiðunarbila en nítján hryssur mældust undir eða yfir viðmiðunargildum í heildarfjölda hvítfrumna, þar af sex hryssur oftast en einu sinni. Í fjögur skipti gaf tækið til kynna að banddauffrumur væru til staðar og voru blóðstrok gerð fyrir þau sýni (sjá kafla 4.3.4).

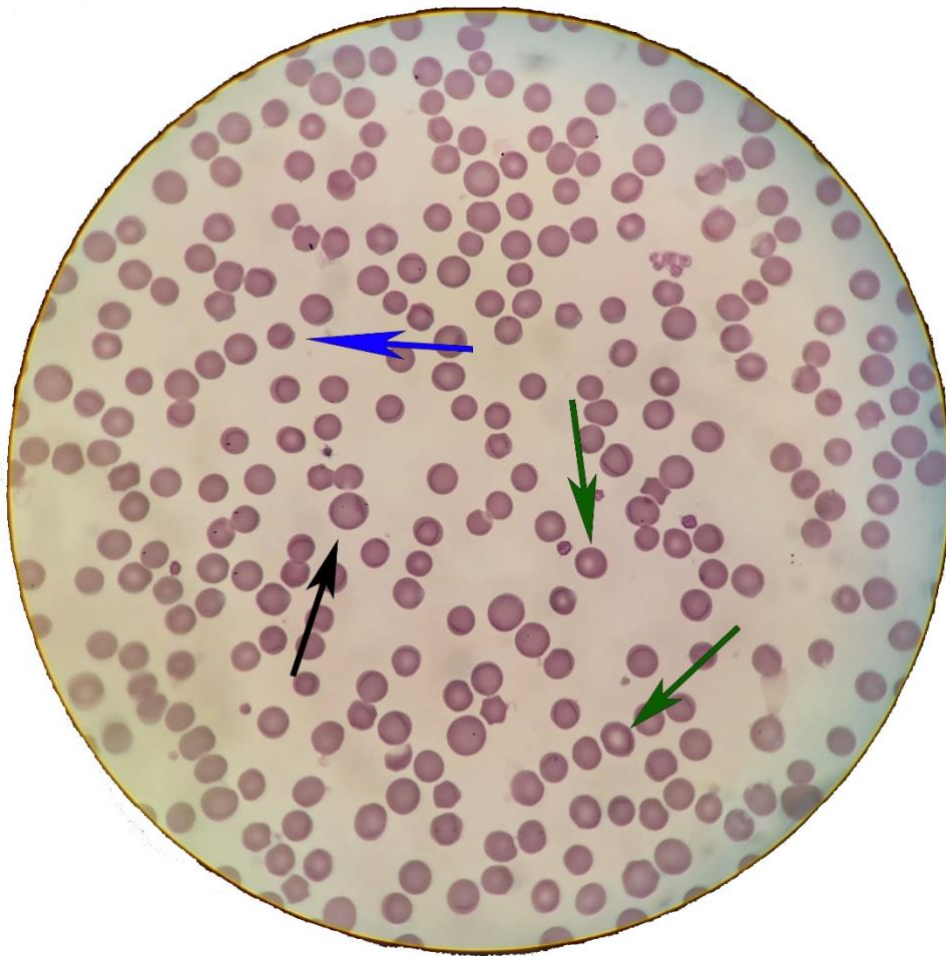
4.3.4. Blóðstrok og blóðflögur

Samtals voru gerð 37 blóðstrok í þeim tilfellum þar sem blóðgreiningartækið greindi blóðflagnafæð (*thrombocytopenia*, sjö tilfelli), grunur var um banddauffrumur (*band neutrophils*, átta tilfelli) eða óvenjumargar basafrumur (*basophils*, fjögur tilfelli) greindust. Í einu tilfelli var gert blóðstrok til kvörðunar þegar blóðgreiningartækið var stillt. Ekki voru gerð blóðstrok úr öllum sýnum sem uppfylltu áður nefnd skilyrði sökum tímaleysis því blóðhagsmælingar þurftu að ganga fyrir. Einnig þótti ekki ástæða til þess að skoða nánar niðurstöður úr tækinu eftir að þessi fyrstu tilfelli voru skoðuð og skýringar fengust á niðurstöðunni. Á einum tímupunkti voru einnig gerð blóðstrok úr nokkrum sýnum sem sýndu mikla stærðardreifingu rauðfrumna (hátt RDW, 17 tilfelli), þetta var þó ekki skoðað nánar þar sem mörg sýni sýndu hækkun í RDW og blóðstrok voru í samræmi við þessa hækkun. Í öllum blóðstrokum voru rauðfrumur skoðaðar, þ.e. lagt var mat á stærð fruma og miðlægan fólva (*central pallor*), sem gefur hugmynd um magn blóðrauða í frumum. Skimað var eftir Howell Jolly bodies, sem er nokkuð algengt að finna í litlu magni í blóði heilbrigðra hrossa, en fjölgun þeirra getur verið merki um endurmyndandi blóðleysi (Harvey 2012).



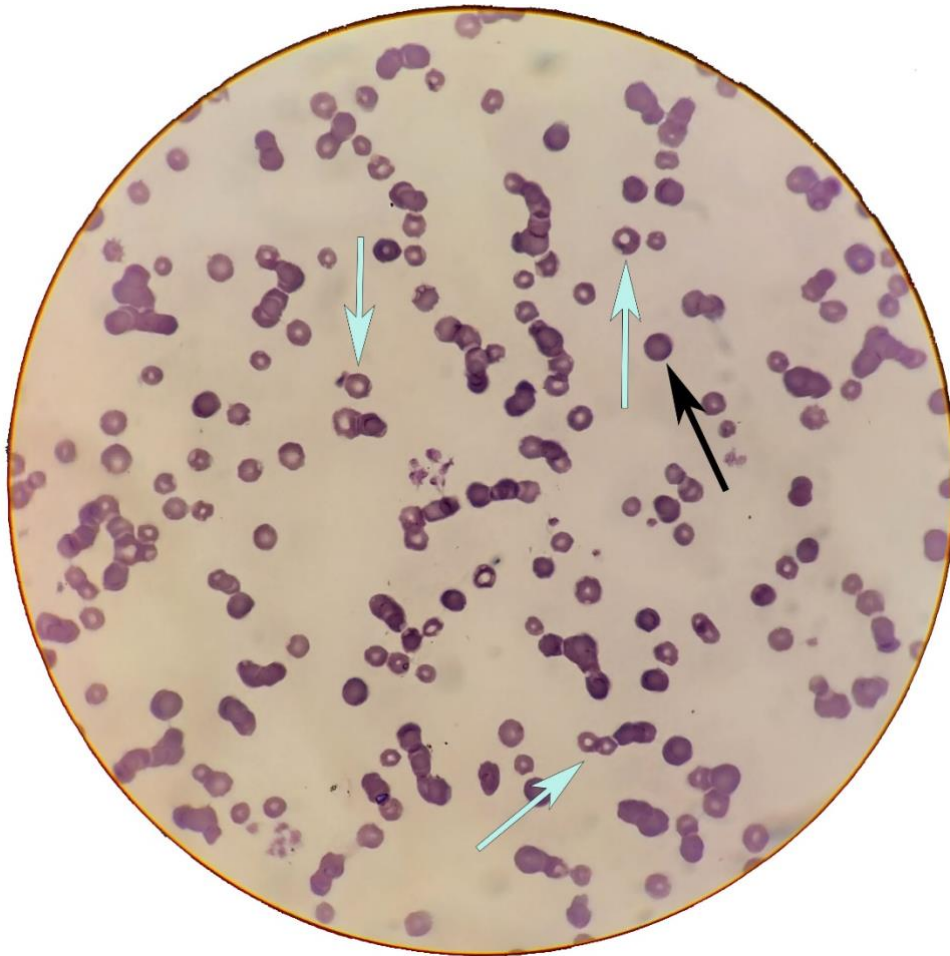
Mynd 14. Smásjármynd af eðlilegu blóðstroki. Risarauðfrumur (*macrocytes*, svartar örvar), Howell Jolly body (rauð ör) og eðlileg rauðfruma (*normocyte*, blá ör). Litað með May-Grünwald Giemsa Quick Stain (*Bio-Optica*), stækkun x400.

Yfirlitt sýndu blóðstrok sambland af eðlilegum og risarauðfrumum, þó voru smærri rauðfrumur til staðar í litlu magni í einhverjum sýnum. Í heilbrigðum hrossum er miðlægur fólvi rauðfrumna lítt áberandi (Reagan o.fl. 2019) og í þeim sýnum sem sýndu miðlægan fólva var almennt um lítinn fólva í fáum frumum að ræða (myndir 14 og 15). Howell Jolly bodies (mynd 14) voru til staðar í flestum sýnum í mismiklu magni, en slík korn eru algeng í hrossum og almennt ekki gefin upp viðmiðunargildi (Harvey 2012).



Mynd 15. Blóðstrok úr hryssu viku eftir 2. blóðsöfnun, með Hct: 27,4% og Hgb: 96. Vottur af miðlægum fölva í rauðfrumum af eðlilegri stærð (*normocytum*, grænar örvar), stórfrumur (svört ör) ásamt eðlilegum rauðfrumum (blá ör). Litað með May-Grünwald Giemsa Quick Stain (*Bio-Optica*), stækkun x400.

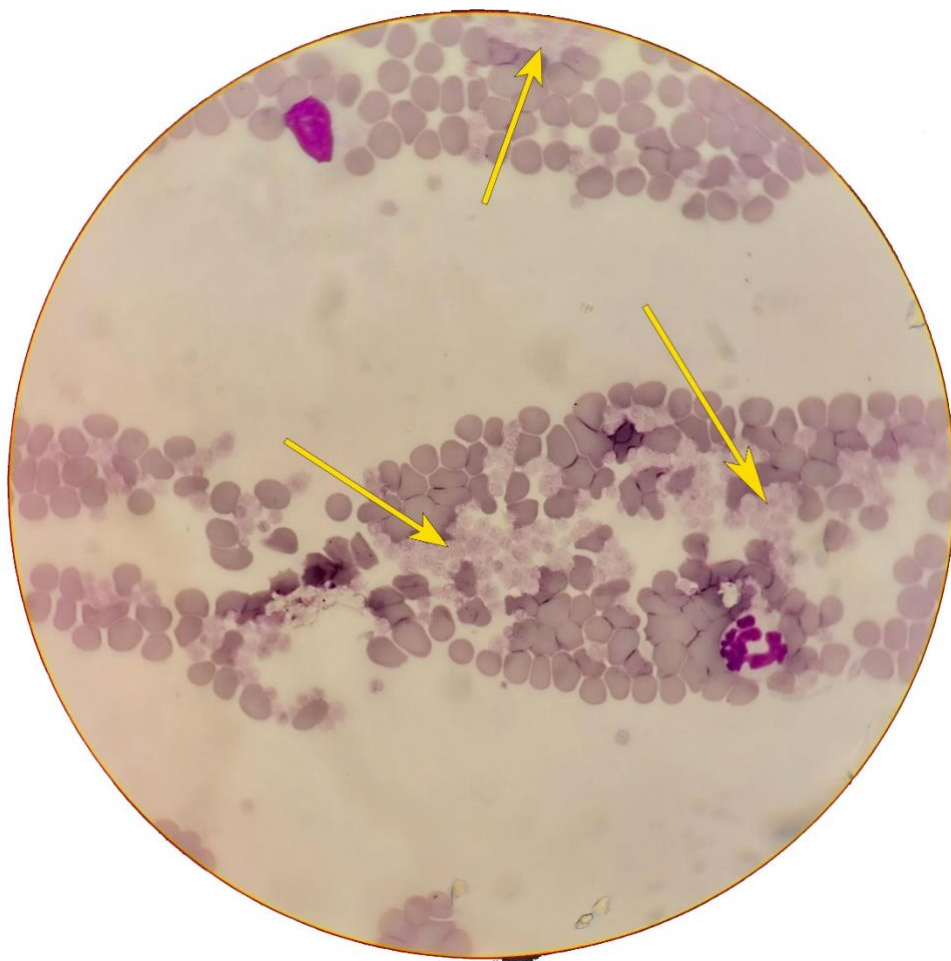
Blóðstrok úr hryssu á Suðurlandi sem gert var þegar hún mældist 19,7% í Hct og Hgb 71 g/L sýndi nokkuð magn vanlitaðra dvergrouðfrumna (*hypochromic microcytes*) á milli eðlilegra rauðfrumna (mynd 16). Lægsta mælingin var vikuna áður, Hct mældist þá 16,5% og Hgb 61 g/L (sjá viðauka I).



Mynd 16. Blóðstrok úr hryssu með járnskortsblóðleysi. Hryssan mældist með Hct 19,7% og Hgb 71 g/L þegar þessi smásjármynd er tekin. Í sýninu sjást vanlitaðar dvergrouðfrumur (*hypochromic microcytes*, ljósbláar örvar) ásamt eðlilegum rauðfrumum (svört ör). Litað með May-Grünwald Giemsa Quick Stain (*Bio-Optica*), stækkun x400.

Blóðstrok og mæliniðurstöður á blóðflögum leiddu í ljós að ekki var hægt að reiða sig á mæld gildi varðandi blóðflögur. Þau sjö blóðstrok sem gerð voru vegna gruns um blóðflagnafæð staðfestu að um falska lækun (e. *pseudothrombocytopenia*) var að ræða (mynd 17), sem er þekkt vandamál vegna kælingar og EDTA-storkuhindra (Ahn o.fl. 2022). Í öllum nema einu þessara tilfella mældi tækið ekki blóðflagnahlutfall, stærðardreifingu blóðflagna og meðalstærð blóðflagna (PCT, PDW og MPV), sem sýndi enn fremur fram á að ekki var hægt að notast við mæld gildi fyrir blóðflögur.

Átta blóðstrok voru gerð þegar tækið gaf upp grun um banddauffrumur og í öllum tilfellum nema einu var sú greining staðfest og í þremur af fjórum blóðstrokum var staðfest að um óeðlilegt magn basafrumna væri að ræða. Eins og kemur fram í inngangi sjást banddauffrumur hjá hrossum þegar endurmyndun hvítfrumna er í gangi en eru ekki skýrt merki um bólguviðbrögð eins og hjá öðrum dýrategundum (Grondin og Dewitt 2010).



Mynd 17. Blóðstrok af blóðsýni hryssu sem mældist $86 \times 10^9/L$ í blóðflögum (viðmiðunargildi í blóðmælingatækisins eru $100\text{--}250 \times 10^9/L$), þar sem sjást blóðflöguklumpar (gular örvar) í útjaðri blóðstroks. Sama hryssa mældist ítrekað með falska lækkun sem var staðfest í tveimur blóðstrokum. Litað með May-Grünwald Giemsa Quick Stain (*Bio-Optica*), stækkun $\times 400$.

5. Umræður

Í upphafi blóðsöfnunartímabils var blóðhagur hryssna í blóðsöfnunarstöðum góður og þær liðu ekki af blóðleysi. Með hækkandi aldri fækkaði rauðfrumum og blóðrauði minnkaði, en rauðfrumurnar urðu að jafnaði stærri og styrkur blóðrauða í þeim jókst. Þessi aldursmunur er í samræmi við fyrri rannsóknir sem sýna samsvarandi breytingar í talningu rauðfrumna og hækkun í MCV og MCH (Satué o.fl. 2020, Silvestre-Ferreira o.fl. 2018, Satué o.fl. 2009, Cebulj-Kadunc o.fl. 2002). Þegar aldursáhrifin voru greind nánar kom í ljós að þessi munur minnkaði eftir því sem leið á blóðsöfnunartímabilið. Eldri hryssur virtust því ekki síður bregðast við blóðtapi en þær yngri með endurmyndun blóðþátta.

5.1. Viðmiðunarbíl og áhrifaþættir

Viðmiðunarbílin sem reiknuð voru í okkar rannsókn fyrir fylfullar hryssur á beit (Charlotta Oddsdóttir o.fl. 2023) voru mjög sambærileg við þau viðmiðunarbíl sem gefin eru upp fyrir íslenskar hryssur í ProCyte Dx blóðhagsgreiningartækinu. Ekki er gefið upp á hversu stórum efniviði þau bíl byggja, en á rannsóknastofum IDEXX, sem framleiða tækið, eru mæld ótal blóðsýni úr ýmsum ræktunarkynjum hrossa. Viðmiðunarbíl okkar fyrir helstu rauðfrumnamæliþætti eru hærri en kom í ljós fyrir íslenska reiðhesta í Austurríki (Leidinger o.fl. 2015), en sú rannsókn var gerð á hestum sem eru í brúkun og þurfa því að afkasta loftháðri vöðvavinnu, ólíkt folaldshryssum. Viðmiðunarbíl fyrir hryssurnar í þessari

rannsókn bentu til þess að bæði fjöldi rauðfrumna og blóðrauðainnihald þeirra væru í efri mörkum þess sem hefur verið lýst hjá fylfullum hryssum af öðrum ræktunarkynjum (Famarzi o.fl. 2018, Chikhaoui o.fl. 2023). Enn fremur að blóðhagsgildi hjá fylfullum hryssum á fyrsta þriðjungi meðgöngu sýna að þær þjást almennt ekki af blóðleysi. Þannig kom ekki fram að meðgangan sjálf valdi því að íslenskar hryssur á beit eigi erfitt með að halda uppi eðlilegum blóðhag. Í efniviði þessarar rannsóknar var einblínt á fylfullar hryssur og því ekki mögulegt að greina hvort einhver áhrif eru af meðgöngu á blóðhagsþætti. Haustið 2023 tóku sérfræðingar Keldna blóðsýni úr hópi heilbrigðra hryssna sem ekki voru fylfullar og eru ekki í blóðsöfnunarstöðum (20 á Norðurlandi, átta á Suðurlandi). Þó þessar hryssur hafi ekki verið hluti af tölfræðigreiningum í rannsókninni má í fljótu bragði sjá að blóðhagur hjá þessum geldu hryssum virðist lítið frábrugðinn niðurstöðum þessarar rannsóknar. Í samanburði við hóp af varm- og heitblóðshrossum af báðum kynjum eru fylfullu hryssurnar með sambærileg viðmiðunargildi fyrir RBC, Hct og Hgb (Buendia o.fl. 2021).

Þegar litið er til MCV og MCHC gilda hjá hryssum í þessari rannsókn, eru þau mjög áþekk viðmiðunarbílinu í ProCyte Dx tækinu. Hærrí MCV gildi hjá fylfullum hryssum af öðrum ræktunarkynjum benda til þess að hjá þeim sé meiri virkni í rauðfrumnamyndun, mögulega sem viðbragð við auknum þörfum (Chikhaoui o.fl. 2023). Satué o.fl. (2010) mældu einnig hærra MCV gildi að meðaltali en þar var blóðfrumnahlutfall heldur hærra og minni einstaklingsmunur í hópnum (lægra staðalfrávik). Orozco o.fl. (2007) báru saman tvö ræktunarkyn í Brasilíu og fundu mun lægri gildi RBC, Hct og Hgb hjá fylfullum kaldblóðshryssum (Breton) en léttari hryssum af heitblóðsættum (Brasileiro de Hipismo). Hjá báðum ræktunarkynjum var meðaltal MCV mun nær okkar niðurstöðum heldur en í fyrrnefndu rannsóknunum. Meðalgildi blóðrauða og blóðfrumnahlutfalls var hærra í okkar niðurstöðum, en Hct var 28% hjá Breton hryssunum og 37% hjá Brasileiro de Hipismo hryssunum. Viðmiðunargildi fyrir hvítfrumur voru hærrí hjá fylfullum íslenskum hryssum en hjá ræktunaryryssum af heitblóðskyni. Háar tölur fyrir sýrufrumur eru þekktar hjá íslenskum hrossum og hefur hækkun verið lýst í hrossum á beit síðsumars og á haustin (Mayer 1994). Famarzi o.fl. (2018) sáu fjölgun sýrufrumna hjá fylfullum hryssum samanborið við hryssur sem ekki voru fylfullar og tengdu fjölgunina við meðgönguna. Það þarf að hafa í huga þegar viðmiðunargildi eru metin, að blóðsýni sem mælist utan þeirra gilda er ekki endilega vísbending um sjúkdóm eða meinafræðilegt ástand. Þannig getur heilbriggt dýr mælist utan viðmiðunargilda og sjúkt dýr mælist innan þeirra (Knottenbelt 2019).

Folaldshryssur sýndu leitni til að mælast með lægri meðalgildi fyrir blóðfrumnahlutfall og blóðrauða, auk þess sem hjá þeim mældust marktækt færri rauðfrumur en hjá geldhryssum. Þær voru jafnframt almennt með stærri rauðfrumur og meiri blóðrauðapéttni, sem ber vitni um að hjá þeim var aukin myndun rauðfrumna. Að sama skapi sýndi minni stærðardreifing rauðfrumna, að rauðfrumur voru almennt stórar hjá þessum hópi. Það hefur áhrif að hóparnir voru misstórir, með talsvert fleiri folaldshryssur en geldhryssur. Það kemur ekki á óvart að hryssur sem ganga með folald undir sér sýni merki um aukna rauðfrumumyndun, enda fer fram mikil vefjaumsetning eftir köstun og þegar mjólkurskeið hefst. Í rannsókn á hryssum seint á meðgöngu og kringum köstun mældust marktækt lægri Hgb og Hct gildi einni viku eftir köstun en í geldum samanburðarhópi, og einnig voru þau gildi ómarktækt lægri en á síðustu vikum meðgöngu. Þetta var talið til marks um blóðþynningu vegna mjög aukinnar vatnsupptöku hryssna við upphaf mjólkurskeiðs (Mariella o.fl. 2014). Ekki voru í þeirri rannsókn gerðar mælingar á hryssum sem mánuði eða meira eftir köstun. Hjá öðrum hópi hryssna sást jöfn lækkun í RBC, Hct og Hgb gildum á síðustu 12 vikum meðgöngu og fram á þriðju viku eftir köstun (Bazzano o.fl. 2014). Í hryssum af dráttarkyni voru hins vegar engar marktækar breytingar í RBC, Hct, Hgb og MCV fyrir köstun samanborið við fjórum vikum eftir köstun (Aoki og Ishii, 2012). Sömu ályktun drógu Harvey o.fl. (1994) sem sáu ekki mun á rauðfrumnagildum fyrir og eftir köstun hjá hópi hryssna, en í þessum tilfellum voru ekki hafðar geldhryssur til samanburðar.

5.2. Próun í blóðhag

Í stóðinu á Norðurlandi var lægsta meðalgildi blóðrauða yfir tímabilið 113 g/L og lægsta meðalgildi blóðfrumnahlutfalls var 32%, í viku tvö og þrjú. Í stóðinu á Suðurlandi var lægsta meðalgildi blóðrauða yfir tímabilið 99 g/L og lægsta meðalgildi blóðfrumnahlutfalls var 28% í viku sjö. Eftir tvær til þrjár vikur frá síðustu blóðsöfnun voru þessi gildi komin langleiðina upp í það sem mældist í upphafi tímabils. Greinilegur munur var á milli stóða þar sem engar hryssur greindust með miðlungs eða greinilegt blóðleysi í stóðinu á Norðurlandi en nokkuð var um það í stóðinu á Suðurlandi.

Almennt mældust hvítfrumugildi ekki fyrir utan viðmiðunarbíl og ekki ástæða til að gera tölfræðilega greiningu á þeim. Hjá þeim níttján hryssum sem mældust í eitt eða fleiri skipti fyrir utan viðmiðunarbíl leiddu blóðstrok í ljós að sjaldnast var um alvarlegar eða varanlegar breytingar að ræða. Ein hryssa sem virtist þó vera með óskilgreinda virkjun ónæmissvars og var blóði ekki safnað úr henni meðan á því ástandi stóð (sjá viðauka I). Í flestum tilfellum virtist þó um einstaklingsbundinn eðlismun að ræða, þar sem hryssur undir viðmiðunargildi í hvítfrumum voru almennt með lágt meðaltal viku fyrir viku og hryssur yfir almennt með hátt meðaltal. Aðeins ein hryssa fór eitt skipti nokkuð undir eigið meðaltal, en með blóðstroki á því sýni var staðfest að banddauffrumur væru til staðar og því virk blóðmyndun.

5.2.1. Próun í meðalgildum

Meðalgildi blóðfrumnahlutfalls í báðum stóðum lækkuðu eftir fyrstu tvö skipti blóðsöfnunar en héldust þó allan tímann yfir viðmiði um blóðleysi. Lægsta meðalgildið var í stóðinu á Suðurlandi. Almennt brugðust hryssur við blóðtapi með því að stækka rauðfrumur og auka innihald blóðrauða í þeim. Hryssur á Norðurlandi voru þó skilvirkari í viðbrögðum sínum og tókst þannig að hækka meðalgildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauða jafnt og þétt eftir þrjú blóðsöfnunarskipti þó sæist smávægileg lækun aftur eftir átta skipti. Hjá hryssum á Suðurlandi sáust meðalgildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauða lækka áfram eftir fyrstu fjögur skipti blóðsöfnunar og voru á svipuðu róli þar til tveimur vikum eftir síðustu blóðsöfnun. Þessar niðurstöður byggja eingöngu á úrtaki hryssna og ekki er hægt að alhæfa út frá þessum tveimur stóðum í hverju munurinn liggur. Það að stóðin séu sitt á hvorum landshlutanum staðfestir ekki að landshlutamunur sé til staðar. Það er þó rík ástæða til að skoða nánar hvernig staðan er í öðrum stóðum og í hverju munurinn getur legið. Ýmislegt kemur til greina varðandi áhrifaþætti, eins og erfðir, bústjórn og næringarinnihald fóðurs.

Í báðum stóðum eru hryssur sem eru afkomendur blóðsöfnunarhryssna sem safnað hefur verið blóði úr um árabíl, og dæmi um einstaka hryssur sem eru beinlínis skyldar milli stóða. Bústjórn kringum þessar hryssur og aðferðir við blóðsöfnunina eru nokkuð svipaðar. Ólíklegt er að mjög skammvinnir þættir eins og streita eða meðhöndlun á hryssum hefðu svona almenn áhrif í öllum hópnum og gegnum allt tímabilið á mælda þætti sem og afleidda þætti (MCV og MCH), þar sem slík áhrif á t.d. blóðfrumnahlutfall ríkja einungis í nokkrar klukkustundir (Malikides o.fl. 2001).

Sterklega kemur til greina að skýringin liggi í mun á styrk og/eða hlutfalli snefilefna svo sem járnns, kopars, zinks og selens sem nauðsynleg eru í myndun rauðfrumna og blóðrauða (Weiss 2010, Oster o.fl. 1988). Stóðið á Suðurlandi gengur innan þess svæðis þar sem öskufall varð í Eyjafjallajökulsgosinu árið 2010, og hafa mælst há járgildi og lág gildi kopars í heyi á svæðinu, auk þess sem selenskortur er þekktur (Katrín Andrésdóttir og Þorsteinn Ólafsson 2011). Í þessari rannsókn voru ekki gerðar mælingar á beitargróðri, heyi eða jarðvegi þar sem stóðin gengu, en þetta er vissulega þess virði að kanna. Einnig væri upplýsandi að mæla snefilefni í sermissýnum sem safnað var í þessari rannsókn. Það væri í það minnsta gagnlegt og hagnýtt að kanna hvort hægt væri að vinna markvisst með snefilefnagjöf að því að hryssurnar geti brugðist með fullnægjandi hætti við blóðtapi (Jančíková o.fl. 2019, Grace o.fl. 1999). Blóðhagsmælingar í stóðinu á Norðurlandi sýndu í það minnsta að það er ekki sjálfgefið að hryssur fari almennt niður fyrir mörk blóðleysis við endurtekna blóðsöfnun.

5.2.2. Mæligildi hjá einstaklingum

Til þess að vanmeta ekki blóðfrumnahlutfall í þessari rannsókn var ákvarðað viðmiðunarbíl Hct 24- <26%, vægt blóðleysi, þar sem hafa bar gát á þróun blóðfrumnahlutfalls hjá einstaka hryssum. Í stóðinu á Norðurlandi voru fimm hryssur á þessu bili blóðfrumnahlutfalls, allar eftir tvær og þrjár blóðsafnanir. Í stóðinu á Suðurlandi voru 28 hryssur á þessu bili og var mjög breytilegt á hvaða tímamarki það var, algengast var að sjá lægstu gildi eftir þrjár og sjö blóðsafnanir. Þrettán hryssur voru á þessu bili oftast en einu sinni, í sumum tilfellum héldust þær samfelld á þessu bili á meðan mæligildi hjá sumum sveifluðust upp fyrir og niður á þetta bil aftur. Af 160 hryssum sem voru með í tölfræðigreiningunni greindust 7,5% með miðlungs blóðleysi og 0,6% með greinilegt blóðleysi í eitt skipti. Auk þess greindist ein hryssa á Suðurlandi, sem ekki var í úrtaki tölfræðigreiningar, með greinilegt blóðleysi (viðauki I) og því voru 1,2% af 161 hryssu með greinilegt blóðleysi.

Hross eru sjaldnast greind með blóðleysi út frá blóðhagsmælingu einni saman, því það þurfa að liggja fyrir klínísk einkenni sem samræmast blóðleysi. Langalgengast er að blóðsýni sé tekið úr hrossi vegna úthaldsleysis í keppni, tamningu eða annarri brúkun (Padalino o.fl. 2016) og þannig komi í ljós blóðfrumnahlutfall undir viðmiðunargildi. Undanfarin ár hefur heilmikið bæst í þekkingu um áhrifaþætti sem geta valdið breytilegum viðmiðunarbílum eðlilegra blóðhagsgilda hjá hrossum (Buendia o.fl. 2021, Massányi o.fl. 2022, Miglio o.fl. 2019, Satué o.fl. 2020), en einnig hefur verið lögð áhersla á einstaklingsmun (Wright o.fl. 2019, Witkowska o.fl. 2021). Við vinnu þessarar rannsóknar var tekið tillit til þess að útgefnir matskalar til greiningar á blóðleysi gilda fyrir hross með arabískt blóð í æðum, sem sýnt hefur verið fram á að geta haft að meðaltali 18% hærra gildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauða (Balan o.fl. 2019). Enn fremur að blóðfrumnahlutfallið 24% hefur verið gefið upp sem eðlileg neðri viðmiðunarmörk blóðfrumnahlutfalls hjá kaldblóðshrossum (Lording 2008).

5.2.3. Staða blóðhags á endurheimtartímanum og áhrif þar á

Í báðum stóðum voru meðalgildi rauðfrumnámælipátta öll komin upp fyrir lægstu viðmiðunargildi tveimur og þremur vikum eftir að síðasta blóðsöfnun var gerð en MCV og MCH gildi voru enn hækkuð. Þetta er í samræmi við fyrri rannsóknir á endurmyndun blóðþátta hjá hrossum sem telst hægðvirkari en hjá öðrum dýrategundum og getur tekið MCV allt að tólf vikur að ná grunngildum (Radin o.fl. 1986). Hækkað MCV er næmur mælipáttur á endurmyndandi blóðleysi en breytingar í blóðfrumnahlutfalli (Radin o.fl. 1986). Stærðargráða hækkunar í MCV getur gefið vísbendingu um hversu mikil örvun er á rauðfrumnamyndun, og sást munur milli stóðanna, þar sem á Norðurlandi voru 33 hryssur sem sýndu hækkun um 10-15 fL, en 10 hryssur á Suðurlandi, sem er til marks um afkastameira viðbragð þeirra fyrrnefndu (Jain 1986).

Hryssur sem gáfu átta sinnum voru að meðaltali með lægri gildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauðagildis eftir tvær endurheimtarvikur heldur en þær sem safnað var fjórum sinnum úr. Það mætti því draga þá ályktun að því oftast sem blóði er safnað úr hryssu, þeim mun lengri mun endurheimtartíminn verða. Rauðfrumnagildi voru þó komin upp fyrir lægri viðmiðunarmörk þremur vikum eftir síðustu blóðsöfnun en þá var ein hryssa enn undir í talningu rauðfrumna og ein rétt á mörkum vægs blóðleysis. Rauðfrumnagildi hryssna sem byrjað var seinna á tímabilinu að safna úr voru almennt ekki frábrugðin gildum hjá þeim sem byrjað var fyrr að safna úr en þær höfðu lægri gildi MCV og MCH. Þessi munur er óútskýrður, en mögulega er það vegna þess að þessi tvö gildi eru til marks um langtímaáhrif blóðmyndunar og þær sem byrjuðu síðar höfðu því styttri tíma til að fullra áhrifa blóðtapsins gætti í þessum gildum.

5.2.4. Takmarkanir og framtíðarrannsóknir

Niðurstöður blóðflagnagreiningar voru greinilega óáreiðanlegar enda ekki bráðnauðsynlegar. Blóðstrok staðfestu að þegar mældust lág gildi blóðflagna væri í raun um falska lækun að ræða sem valdið var af kælingu og íblöndun EDTA í blóðsýnið (Lippi og Plebani 2012). Blóðflögur nýtast þegar rannsaka á viðbrögð við blóðtapi (Altomare og Kessler 2019) en önnur gildi, svo sem MCV og MCHC gáfu góðar vísbendingar um að endurmyndun blóðþátta væri almennt góð, og ekki ástæða til að kanna stöðuna á blóðflögum. Blóðflögur dýra hafa almennt stuttan líftíma (5-9 daga) og því er endurnýjun þeirra almennt hröð (Russell 2010).

Ekki var mælt járn í blóði hryssnanna, ferrítín eða önnur gildi sem tengjast beint járnupptöku og járnbirgðum líkamans. Ekki er almennt boðið upp á slíkar mælingar í hrossum (Andrews 2010) og er ekki uppsett aðferð til þess á rannsóknastofu Keldna. Hins vegar var í rannsókninni safnað sermissýnum sem mögulegt er að mæla í framhaldinu. Annað sem er áhugavert að kanna, er hvort blóðmyndunarkerfið í stóðunum tveimur er misvel virkjað, svo sem með því að mæla erythropoietin (EPO) eða hepcidin, en samverkun þeirra skiptir miklu máli í svörum við blóðtapi (Olver o.fl. 2010, Sellon 2004). Einnig er mikilvægt að mæla önnur snefilefni sem koma að blóðmyndandi starfsemi, svo sem kopar, zink og selen (Weiss 2010). Þá þarf að kanna hvort innihald og innbyrðis hlutföll þessara steinefna eru ólík í beitargróðri sem stóðin tvö éta.

Rannsókn þessi miðaði að því að kanna áhrif á blóðhag þessara hryssna, og mannskapur, tími og aðrar aðstæður leyfðu einungis takmarkaða gagnaöflun auk blóðsýnatöku. Það þótti þó nauðsynlegt að gera atferlisskráningar á ákveðnum atferlismynstrum, þar sem vitað er að uppnám og æsingur getur hækkað blóðfrumnahlutfall eins og kom fram í kafla 1.4.1. Mælipáttur sem má nota til að kanna áhrif innspýtingar milta á blóðfrumnahlutfall er heildarprótín í sermi (Fielding og Magdesian 2011). Styrkur heildarprótíns mældist hærrí í stóðinu á Suðurlandi áður en blóðsöfnun hófst, og var að meðaltali lægri í báðum stóðum á miðju tímabilinu og tvær vikur eftir síðustu blóðsöfnun. Fimm hryssur mældust undir eðlilegu viðmiðunargildi fyrir íslensk hross (58 g/dL, Köller o.fl. 2014) á miðju tímabili og að því loknu. Skortur á fylgni milli heildarprótíns og blóðfrumnahlutfalls bendir til þess að ekki hafi verið um að ræða ofþornun eða að viðbrögð miltans hafi almennt dulið blóðleysisástand hjá hryssunum. Innan fárra klukkustunda eftir blóðtap getur miltað falið lækun í blóðfrumnahlutfalli, en á dögnum sem fylgja sleppir þeim áhrifum og raunverulegt blóðfrumnahlutfall kemur í ljós (Tvedten 2010). Það er því ólíklegt að um slík áhrif hafi verið að ræða. Þó kemur til greina að streita hafi haft áhrif til hækkunar í stakt skipti hjá fjórum hryssum sem mældust talsvert yfir meðaltali blóðfrumnahlutfalls í viðkomandi blóðsöfnun (40,9-48,8%), en önnur skipti streituatferlis tengdust ekki slíkri hækkun. Eins og áður hefur komið fram getur streita ýtt undir innspýtingu frá milta af völdum adrenalíns, en sýnt hefur verið að um skammvinn áhrif sé að ræða, því þó hækkun sjáist í RBC, Hct og Hgb gildum 15 mínútum eftir að hross hefja úthaldsæfingu, geta öll gildi verið komin niður fyrir hvíldargildi strax að þjálfun lokinni (Fan o.fl. 2002). Almennt voru hryssurnar rólegar þegar átt var við þær, og héldu sig ekki fjarri réttinni eftir að þær komu út úr tókubásnum. Mögulega hefði verið hægt að skrá hjartsláttar- og öndunartíðni, ef mannskapur hefði verið nægur, en það var talið mikilvægt að raska ekki því ferli sem hryssurnar þekkja nú þegar með því að bæta við nýjum aðferðum. Þess má geta að það hefur verið sýnt fram á að þó hross sýni atferlismynstur sem bendir til streitu, er ekki víst að hjartsláttartíðni aukist (Harewood og McGowan 2005). Það væri þó áhugavert að gera klínísku skoðun á hryssum og heimfæra á blóðfrumnahlutfall og aðra mælda blóðhagsþætti.

6. Ályktanir

Niðurstöður þessarar rannsóknar nýttust til þess að ákvarða viðmiðunarbíl fyrir íslenskar hryssur á fyrsta þriðjungi meðgöngu og voru rauðfrumnagildi í hærra lagi borið saman við viðmiðunarbíl fyrir önnur ræktunarkyn. Fylfullar íslenskar hryssur áttu því ekki erfitt með að halda uppi eðlilegum blóðhag. Í efniviði þessarar rannsóknar voru ekki tekin sýni úr hryssum sem ekki voru fylfullar og því ekki mögulegt að greina hvort einhver áhrif eru af meðgöngu á blóðhagsþætti.

Blóðfrumnahlutfall og blóðrauði lækkuðu með hækkandi aldri, sem og talning rauðfrumna. Gildi hjá eldri hryssum geta þó ekki talist lág. Hjá eldri hryssunum sáust einnig að meðaltali stærri rauðfrumur með meira innihald blóðrauða. Þessi aldursmunur minnkaði eftir því sem leið á blóðsöfnunartímabilið og sýndi að blóðfrumnamyndun sem viðbrögð við blóðtapi var mjög svipuð hjá yngri og eldri hryssum.

Folaldshryssur mældust að meðaltali með marktækt færri rauðfrumur en geldhryssur, en þó voru gildin ekki lág. Þær sýndu almennt merki um virka rauðfrumnamyndun og stórar rauðfrumur. Folaldshryssur voru þó talsvert fleiri en geldhryssur sem hefur áhrif á samanburðinn. Almennt má telja að hryssur sem nýlega hafa kastað sýni aukna virkni og umsetningu í rauðfrumum án þess að það sé merki um óeðlileg áhrif.

Lægstu meðalgildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauða á blóðsöfnunartímabilinu voru yfir lágmarksviðmiðum um blóðleysi í báðum stóðum. Í stóðinu á Norðurlandi voru þau lægst eftir tvö og þrjú skipti blóðsöfnunar og hækkuðu svo jafnt og þétt. Á Suðurlandi var lægsta meðalgildi blóðfrumnahlutfalls ekki fyrr eftir sjö skipti, og tók svo að hækka. Sem viðbragð við þessari lækun urðu rauðfrumur stærri og innihéldu meiri blóðrauða í báðum stóðum, sem náði hámarki eftir fimm skipti og var hækkan þeirra gilda enn til staðar þremur vikum eftir síðustu blóðsöfnun.

Tólf hryssur af 160 (7,5%) mældust með blóðfrumnahlutfall einu sinni eða oftar sem benti til miðlungs blóðleysis (Hct <24%) en ein hryssa (0,6%) mældist með Hct undir 20%, greinilegt blóðleysi, í eitt skipti. Auk þessa voru þrjár hryssur sem ekki uppfylltu skilyrði tölfræðigreiningar sem mældust með blóðleysi, tvær undir 24% og ein undir 20%. Ef þessar hryssur eru teknar með voru 8,6% með miðlungsblóðleysi og 1,2% með greinilegt blóðleysi.

Af þeim hryssum sem mældust með gildi sem samræmdust blóðleysi var einungis ein sem sýndi merki þess að halda ekki í við blóðtap, en það sýndi sig með vanlituðum dvergrauðfrumum í blóðstroki, sem annars sáust ekki í slíkum sýnum.

Í stóðinu á Norðurlandi voru engar hryssur sem mældust með miðlungs til greinilegt blóðleysi (Hct <24%) en 13 hryssur á Suðurlandi féllu undir þá skilgreiningu. Hryssur í báðum stóðum stækkuðu rauðfrumur og juku blóðrauða í hverri frumu. Hryssum á Norðurlandi tókst þó betur upp og hækkuðu meðalgildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauða jafnt og þétt eftir þrjú blóðsöfnunarskipti. Hjá hryssum á Suðurlandi lækkuðu meðalgildi blóðfrumnahlutfalls og blóðrauða áfram og voru á svipuðu róli þar til tveimur vikum eftir síðustu blóðsöfnun. Ekki er hægt að alhæfa út frá þessum tveimur stóðum í hverju munurinn liggur og ekki er endilega um landshlutamun að ræða. Það er þó nauðsynlegt að rannsaka þætti eins og snefilefni í fóðri og blóðsýnum fleiri blóðsöfnunarstöða til þess að greina þetta betur.

Hryssur sem gáfu átta sinnum voru að meðaltali með lægra blóðfrumnahlutfall og blóðrauðagildi eftir tvær endurheimtarvikur heldur en þær sem safnað var fjórum sinnum úr. Það mætti því draga þá ályktun að því oftar sem blóði er safnað úr hryssu, þeim mun lengri mun endurheimtartíminn verða. Einu mælipættir sem voru frábrugðnir hjá hryssum sem byrjað var að safna úr seinna á tímabilinu voru lægri gildi MCV og MCH, sem skýrist mögulega af því að þetta eru gildi sem breytast hægar og síðar en önnur mæld gildi fyrir rauðfrumur.

7. Heimildir

1. Ahn HL, Jo YI, Choi YS, Lee JY, Lee HW, Kim SR, Sim J, Lee W, Jin CJ. (2002). EDTA-dependent pseudothrombocytopenia confirmed by supplementation of kanamycin; a case report. *Korean J Intern Med*, 17, 65-8. <https://doi.org/10.3904/kjim.2002.17.1.65>
2. Altomare I, Kessler CM. (2019). Thrombocytosis: Essential thrombocythemia and reactive causes. Í: Kitchens CS, Kessler CM, Konkle BA, Streiff MB, Garcia DA. (ritstjórar). Consultative hemostasis and thrombosis, 4. útg. Elsevier, Philadelphia, USA, pp. 346-373. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46202-0.00019-4>
3. Andrews GA. (2010). Measurement of serum iron concentration, TIBC and serum ferritin concentration. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). Schalm's veterinary hematology, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 1162-1164.
4. Aoki T, Ishii M. (2012). Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (heavy draft horse). *J Eq Vet Sci*, 32, 170 – 176. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.015>
5. Balan M, McCullough M, O'Brien PJ. (2019). Equine blood reticulocytes: reference intervals, physiological and pathological changes. *Comp Clin Pathol*, 28, 53–62. <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2820-4>
6. Padalino P, Rubino G, Lacinio R, Petazzi F. (2016). A New Classification to Diagnose Type of Anemia in Standardbred Horses: A Retrospective Study. *J Eq Vet Sci*, 44, 21-25., <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.03.004>
7. Barger AM. (2010). Erythrocyte morphology. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). Schalm's veterinary hematology, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 144-151.
8. Barrelet A, Ricketts S. (2002). Haematology and blood biochemistry in the horse: A guide to interpretation. *In Practice*, 24, 318-327. <https://doi.org/10.1136/inpract.24.6.318>
9. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw*, 67, 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
10. Bazzano M, Giannetto C, Fazio F, Rizzo M, Giudice E, Piccione G. (2014). Physiological adjustments of haematological profile during the last trimester of pregnancy and the early post partum period in mares. *Anim Reprod Sci*, 149, 199-203. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.07.005>
11. Bhargava S, Singla P, Manocha A, Kankra M, Sharma A, Ahirwar A, Ralhan R, Thapliyal U, Mehra P. (2020). The hemolyzed sample: To analyse or not to analyse. *Indian J Clin Biochem*, 35, 232-238. <https://doi.org/10.1007/s12291-019-00821-4>
12. Budak YU, Polat M, Huysal K. (2016). The use of platelet indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: a systematic review. *Biochem Med (Zagreb)*, 26, 178-193. <https://doi.org/10.11613/BM.2016.020>
13. Buendia A, Teng KTY, Camino E, Dominguez L, Cruz-Lopez F. (2021). Influence of multiple factors on hematologic reference intervals in horses residing in livery yards in Spain. *Vet Clin Pathol*, 50, 273-277. <https://doi.org/10.1111/vcp.12965>
14. Cebulj-Kadunc N, Bozic M, Kosec M, Cestnik V. (2002). The influence of age and gender on haematological parameters in Lipizzan horses. *J Vet Med A*, 49, 217-221. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2002.00439.x>
15. Charlotta Oddsdóttir, Hanna Krístrún Jónsdóttir, Erla Sturludóttir. (2023). Haematological reference intervals for pregnant Icelandic mares on pasture. *Acta Vet Scand*, 65, 57-63. <https://doi.org/10.1186/s13028-023-00721-x>

16. Chikhaoui M, Smail F, Aiche S, Benamor N. (2023). Comparing hematological and biochemical profiles of pregnant and non-pregnant barb mares raised in Tiaret, Algeria. *Iran J Vet Med*, 17, 309–320. <https://doi.org/10.32598/ijvm.17.4.1005365>
17. Clark P, Mogg TD, Tvedten HW, Korcal D. (2002). Artfactual changes in equine blood following storage, detected using the Advia 120 hematology analyzer. *Vet Clin Path*, 31, 90-94. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2002.tb00286.x>
18. Easley JR. (1985). Erythrogram and red cell distribution width of Equidae with experimentally induced anemia. *Am J Vet Res*, 46, 2378-2384.
19. Eggert Gunnarsson og Þorsteinn Ólafsson. (1982). Blóðsöfnun úr fylfullum hryssum til lyfjaframleiðslu. *Freyr*, 78, 472-276.
20. Ehrmann C, Engel J, Moritz A, Roscher K. (2021). Assessment of platelet biology in equine patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Diagn Invest*, 33, 300-307. <https://doi.org/10.1177/1040638720983791>
21. Elstrott B, Khan L, Olson S, Raghunathan V, DeLoughery T, Shatzel JJ. (2020). The role of iron repletion in adult iron deficiency anemia and other diseases. *Eur J Haematol*, 104, 153–161. <https://doi.org/10.1111/ejh.13345>
22. Fan Y-K, Hsu J-C, Peh HC, Tsang CL, Cheng SP, Chiu SC, Ju J-C. (2002). The effects of endurance training on the hemogram of the horse. *Asian-Australas J Anim Sci*, 15, 1348-1353. <https://doi.org/10.5713/ajas.2002.1348>
23. Faramarzi B, Rich LJ, Wu J. (2018). Hematological and serum biochemical profile values in pregnant and non-pregnant mares. *Can J Vet Res*, 82, 287-293.
24. Fielding CL, Magdesian KG. (2011). Review of packed cell volume and total protein for use in equine practice. *AAEP Proc*, 57, 318-321.
25. 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, 441-453. <https://doi.org/10.1111/vcp.12006>
26. Grace ND, Pearce SG, Firth EC, Fennessy PF. (1999). Content and distribution of macro-and micro-elements in the body of pasture-fed young horses. *Austr Vet J*, 77, 172-176.
27. Grondin TM, Dewitt SF. (2010). Normal hematology of the horse and donkey. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). Schalm's veterinary hematology, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 821-829.
28. Guðrún J. Stefánsdóttir og Sigríður Björnsdóttir (2001). Mat á holdafari hrossa. Eiðfaxi-ræktun, bls 60-65.
29. Harewood EJ, McGowan CM. (2005). Behavioral and physiological responses to stabling in naive horses. *J Eq Vet Sci*, 25, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2005.03.008>
30. Harvey JW. (2012). Veterinary Hematology: A diagnostic guide and color atlas. W. B. Saunders, MO, USA.
31. Harvey JW, Asquith RL, Patel MG, Kivipelto J, Chen CL, Ott EA. (1994). Haematological findings in pregnant, postparturient and nursing mares. *Comp Haematol Int*, 4, 25–29. <https://doi.org/10.1007/BF00368262>
32. Jain NC. (1986). The horse. Normal haematology with comments on response to disease. Í: Jain NC (ritstjóri). Schalm's veterinary hematology. Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 140-177.
33. Katrín Andrésdóttir og Þorsteinn Ólafsson (2011). Eldgos í Eyjafjallajökli: Áhrif á búfénað og búfjárafurðir. Matvælastofnun (sótt 21. desember 2023). https://www.mast.is/static/files/Uploads/document/Skyrslur/Eyjafjallajokullahrifheilsufarbu_fjar100311.pdf

35. Jančíková P, Horký P, Zeman L, Mareš P. (2011). The effect of peroral copper supplementation on selected haematological indicators of horses. *Acta Univ Agric Silvic Mendel Brun*, 59, 119-124.
36. Kauffmann T, Evans DS. Macrocytosis. Í: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, sótt 26. september 2022.
37. Knottenbelt DC. (2015). Part 1—Vital signs, normal values. Í: Knottenbelt DC, Malalana F. (ritstjórar). *Saunders equine formulary*, 2. útg. Elsevier Saunders, London, UK, 1-37.
38. Köller G, Gieseler T, Schusser GF. (2014). Hematology and serum biochemistry reference ranges of horses of different breeds and age measured with newest clinico-pathological methods. *Pferdeheilkunde*, 30, 381-393. <https://doi.org/10.21836/PEM20140402>
39. Lassen ED, Swardson CJ. (1995). Hematology and Hemostasis in the Horse: Normal Functions and Common Abnormalities. *Vet Clin N Am Eq Pract* 11, 351–389. [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30306-1](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30306-1)
40. Leidinger E, Leidinger J, Figl J, Rumpler B, Schwendenwein I. (2015). Application of the ASVCP guidelines for the establishment of haematologic and biochemical reference intervals in Icelandic horses in Austria. *Acta Vet Scand.* 57, 30-39. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0120-4>
41. Lippi G, Plebani M. (2012). EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact. *Clin Chem Lab Med* 50, 1281-1285. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0081>
42. Lording PM. (2008). Erythrocytes. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 24, 225-237. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.04.002>
43. Mal ME, Friend TH, Lay DC, Vogelsang SG, Jenkins OC. (1991). Behavioral responses of mares to short-term confinement and social isolation, *Appl Anim Behav Sci*, 31, 13-24. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(91\)90149-R](https://doi.org/10.1016/0168-1591(91)90149-R)
44. Malikides N, Hodgson JL, Rose RJ, Hodgson DR. (2001). Cardiovascular, haematological and biochemical responses after large volume blood collection in horses. *Vet J*, 162, 44-55. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2001.0583>
45. Malikides N, Mollison PJ, Reid SWJ, Murray M. (2000). Haematological responses of repeated large volume blood collection in the horse. *Res Vet Sci*, 68, 275-278. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2000.0376>
46. Marcilese NA, Valsecchi RM, Figueiras HD, Camberos HR, Varela JE. (1964). Normal blood volumes in the horse. *Am J Physiol (Legacy Content)*, 1, 223-227.
47. Mariella J, Pirrone A, Gentilini F, Castagnetti C. (2014). Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenol*, 81, 526-534.
48. Massányi M, Halo M, Massányi P, Mlyneková E, Greń A, Formicki G. (2022). Changes in haematological and biochemical parameters in blood serum of horses during exposition to workload stress. *Heliyon*, 8, 12241. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12241>
49. Mayer J. (1994). Hämatologische Referenzwerte Bei Pferden. München: Dissertation, Ludwig-Maximilian University.
50. Miglio A, Valente C, Guglielmini C. (2023). Red blood cell distribution width as a novel parameter in canine disorders: Literature review and future prospective. *Animals*, 13, 985-997 . <https://doi.org/10.3390/ani13060985>
51. Miglio A, Morelli C, Maresca C, Felici A, Di Giambattista A, Antognoni MT. (2019). Hematologic reference intervals for the Italian Heavy Draft horse. *Comp Clin Pathol*, 28, 833-840. <https://doi.org/10.1007/s00580-019-02896-0>.

52. Olver CS, Andrews GA, Smith JE, Kaneko JJ. (2010). Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). Schalm's veterinary hematology, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 123-130.
53. Orozco CA, Martins CB, D'Angelis FH, Oliveira JV, Lacerda-Neto JC. (2007). Hematological values and total protein of Brasileiro De Hipismo and Breton mares during pregnancy. *Cienc Rural*, 37, 1695–1700. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000600029>.
54. Oster O, Schmiedel G, Prellwitz W. (1988). Correlations of blood selenium with hematological parameters in West German adults. *Biol Trace Elem Res* 15, 47-81.
55. Perez-Ecija A, Buzon-Cuevas A, Aguilera-Aguilera R, Gonzalez-De Cara CA, Mendoza FJ. (2020). Blood storage conditions affect hematological analysis in samples from healthy donkeys and donkeys with experimentally-induced endotoxemia. *Front Vet Sci*, 7, 640. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00640>
56. Persson SGB, Ekman L, Lydin G, Tufvesson G. (1973). Circulatory effects of splenectomy in the horse. II. Effect on plasma volume and total and circulating red-cell volume. *Zentralbl Veterinaermed Reihe A*, 20, 456-468.
57. R Core Team. (2023). R version 4.3.1: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
58. Radin MJ, Eubank MC, Weiser MG. (1986). Electronic measurement of erythrocyte volume and volume heterogeneity in horses during erythrocyte regeneration associated with experimental anaemias. *Vet Pathol*, 23, 656-660.
59. Reagan WJ, Rovira AR, Denicola DB. (2019). Veterinary Hematology – Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species (3rd ed.). John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA.
60. Russell KE. (2010) Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). Schalm's veterinary hematology, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 576-585.
61. Sample SH, Fox KM, Wunn D Roth E, Friedrichs KR. (2015) Hematologic and biochemical reference intervals for adult Friesian horses from North America. *Vet Clin Pathol*, 44, 194-199. <https://doi.org/10.1111/vcp.12248>
62. Satué K, Hernández Á, Lorente C, Fazio E, Medica P. (2020). Age- and sex-related modifications of hematology in Spanish purebred horse. *J Eq Vet Sci*, 93, 103219. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103219>
63. Satué K, Gardón J, Muñoz A. (2017). Interpretation of Platelets in The Horse. *J Hematol Res*, 4, 19-25. <https://doi.org/10.12974/2312-5411.2017.04.3>
64. Satué K, Muñoz A, Blanco O. (2010). Pregnancy influences the hematological profile of carthusian broodmares. *Pol J Vet Sci*, 13, 393–4.
65. Satué K, Blanco O, Munoz A. (2009). Age-related differences in the hematological profile of Andalusian broodmares of Carthusian strain. *Vet Med (Praha)*, 54, 175-182. <https://doi.org/10.17221/32/2009-VETMED>.
66. Schaefer DMW, Stokol T. (2016). Retrospective study of reticulocyte indices as indicators of iron-restricted erythropoiesis in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J Vet Diagn Invest*, 28, 304-8. <https://doi.org/10.1177/1040638715618231>
67. Schalm OW, Jain NC Carroll EJ. (1975). Veterinary Hematology, 3rd ed., p. 166, Lea & Febiger, PA, USA.
68. Sellon DC. (2004). Disorders of the hematopoietic system. Í: Reed SM, Bayly WM og Sellon DC (ritstjórar). Equine internal medicine, 2nd ed., pp. 721-768. Elsevier, Missouri, USA.
69. Sharif MT, Mahabadi MA, Moshfeghi S, Sharifi H, Hoseini SM, Alavi SM. (2012). Artfactual changes in hematological variables in equine blood samples stored at different temperatures and various anticoagulants. *Comp Clin Pathol*, 21, 449-452.

70. Silvestre-Ferreira AC, Cotovio M, Maia M, Queiroga F, Pires MJ, Colaço A. (2018). Reference intervals for haematological parameters in the Lusitano horse breed. *Acta Vet Hung*, 66, 530-541. <https://doi.org/10.1556/004.2018.047>
71. Smith JE, Moore K, Cipriano JE, Morris PG. (1984). Serum ferritin as a measure of stored iron in horses. *J Nutr*, 114, 677-681. <https://doi.org/10.1093/jn/114.4.677>
72. Smith JE, Agar NS. (1976). Studies on erythrocyte metabolism following acute blood loss in the horse. *Eq Vet J*, 8, 34-37.
73. Stokol T. (2020). Hematology red flags – The value of blood smear examination in horses. *Vet Clin North Am Eq Pract*, 36, 15-33. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.11.001>
74. Sveinn Ólason (2010). Blodværdier hos islandske rideheste - Hæmatologiske og biokemiske normalværdier hos islandske rideheste. Lokaritgerð í námsbraut danska dýralæknafélagsins sem fagdýralæknir hesta. Danmörk.
75. Tigner A, Ibrahim SA, Murray I. (2020). Histology, white blood cell. Í: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; sótt 19. nóvember 2022.
76. Tvedten H. (2010). Laboratory and clinical diagnosis of anemia. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). *Schalm's veterinary hematology*, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 152-161.
77. Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, Katsibourlia E, Tsikopoulou F, Labrianou I. (2010). Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. *Hippokratia*, 14, 28-32.
78. Walker HK, Hall WD, Hurst JW (ritstjórar). (1990). *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3. útg. Butterworths, Illinois, USA.
79. Weiss DJ. (2010). Iron and copper deficiencies and disorders of iron metabolism. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). *Schalm's veterinary hematology*, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 167-171.
80. Welles EG. (2010). Interpretation of equine leukocyte responses. Í: Weiss DJ, Wardrop KJ. (ritstjórar). *Schalm's veterinary hematology*, 6. útg. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, 314-320.
81. Wright ME, Croser EL, Raidal S, Baral RM, Robinson W, Lievaart J, Freeman KP. (2019) Biological variation of routine haematology and biochemistry measurands in the horse. *Eq Vet J*, 51, 384-390.
82. Witkowska-Piłaszewicz O, Cywińska A, Michlik-Pończyńska K, Czopowicz M, Strzelec K, Biazik A, Parzeniecka-Jaworska M, Crisman M, Witkowski L. (2021). Variations in haematological and biochemical parameters in healthy ponies. *BMC Vet Res*, 17, 38-47.
83. Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer-Verlag, New York, 574. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6>

Viðauki I

Mæligildi einstaklinga utan tölfræðigreiningar

Níu hryssur af þeim 169 sem sýnum var safnað úr, uppfylltu ekki skilyrði um tölfræðigreiningu (aldur óþekktur eða ekki samfelld vikuleg blóðsöfnun), en lægstu mæld gildi þeirra voru eftirfarandi:

1. Ein hryssa í stóðinu á Suðurlandi og tvær á Norðurlandi voru ekki með í blóðsöfnun eina vikuna þar sem þeim var sleppt út af misgáningi:
 - S: Gaf 4x og lægstu gildi voru RBC: $6,5 \times 10^{12}/L$, Hct: 33% og Hgb: 117 g/L, viku eftir 2. blóðsöfnun
 - N: Gaf 4x og lægstu gildi voru RBC: $6,6 \times 10^{12}/L$, Hct: 36% og Hgb: 121 g/L, viku eftir 4. og 5. blóðsöfnun
 - N: Gaf 7x og lægstu gildi voru RBC: $5,7 \times 10^{12}/L$, Hct: 31% og Hgb: 109 g/L, viku eftir 2. og 7. blóðsöfnun
2. Ein hryssa í stóðinu á Suðurlandi sem safnað var fimm sinnum úr mældist með RBC $3,7 \times 10^{12}/L$, blóðkornahlutfall 16,5% og blóðrauða 61 g/L viku eftir 3. blóðsöfnun og var því ekki safnað úr henni blóði vikuna eftir það en sýni voru áfram tekin vikulega til að fylgjast með þróuninni. Vísbendingar voru um að hryssan væri með almenn bólguviðbrögð og í blóðstroki greindust merki um greinilegt járnskortsblóðleysi (sjá kafla 4.3.3.). Vikuleg blóðsýni sýndu jafna bætingu blóðgilda og blóðleysi var ekki til staðar þremur vikum eftir að blóðsöfnun lauk.
3. Upplýsingar um aldur vantaði fyrir þrjár hryssur á Suðurlandi og tvær á Norðurlandi
 - S: Gaf 3x og lægstu gildi voru RBC: $5 \times 10^{12}/L$, Hct: 28% og Hgb: 96 g/L, viku eftir 3. blóðsöfnun
 - S: Gaf 7x og lægstu gildi voru RBC: $4,4 \times 10^{12}/L$, Hct: 22% og Hgb: 78 g/L, viku eftir 7. blóðsöfnun
 - S: Gaf 8x og lægstu gildi voru RBC: $4,4 \times 10^{12}/L$, Hct: 23% og Hct 82 g/L, viku eftir 7. blóðsöfnun
 - N: Gaf 8x og lægstu gildi voru RBC: $6,1 \times 10^{12}/L$, Hct: 33% og Hgb: 115 g/L, viku eftir 8. blóðsöfnun
 - N: Gaf 4x og lægstu gildi voru RBC: $5,1 \times 10^{12}/L$, Hct: 28% og Hgb: 100 g/L, viku eftir 3. blóðsöfnun