

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Material**

##### 3.1.1 Die Tiere

Die Tiere der beiden untersuchten Betriebe wurden sowohl in Sammeltransporten aus verschiedenen Herkunftten angeliefert, als auch in geschlossenen Gruppen aus großen Mastbetrieben.

Für die Untersuchungen wurden vermehrt Tiere aus Betrieben zur Schlachtung angeliefert, bei denen Pneumonien als Bestandsproblem bekannt waren oder es zumindest zu einem gehäuftem Auftreten in der Vergangenheit gekommen war.

Die Tiere hatten ein post mortem Schlachtgewicht von 93-94 kg und waren damit konstitutionell weitestgehend homogen.

##### 3.1.2 Die Betriebe

###### 3.1.2.1 Betrieb 1

Hierbei handelte es sich um einen westdeutschen Großschlachthof mit einer Kapazität von ca. 1000 Tieren pro Stunde. Pro Tag werden hier bis zu 20.000 Tiere geschlachtet.

Nach dem Abladen vom Transporter kommen die Schlachtschweine in Wartebuchten. Der Betrieb strebt eine Verweildauer der Tiere von 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden in der Wartebucht an, wobei den betrieblichen Abläufen entsprechend auch Wartezeiten bis zu 5 Stunden vorkommen.

Die Tiere gelangen aus dem Wartestallbereich in den Treibgang. Im Zutrieb zur Betäubungsanlage werden jeweils 3-8 Tiere von der Gruppe abgetrennt. Diese gelangen anschließend gemeinsam in die Betäubungsanlage.

Zur Zeit der Untersuchung war ein Gerät der Firma Butina ApS, Holbek, Dänemark aus dem Jahre 2003 „2+1 Backloader XL 6 System“ im Einsatz. Es handelt sich dabei um eine Doppeltandem-Anlage mit zwei parallel arbeitenden Systemen, bei dem die Tiere nach dem Paternoster-Prinzip in eine CO<sub>2</sub>-Atmosphäre gesenkt werden. Dort verblieben die Tiere für 120 Sekunden in einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von 90 %.

Jedes der beiden Systeme besitzt eine Kapazität von 720 Schweinen pro Stunde.

Nach der Betäubung verließen die Tiere die Anlage und gelangten auf Fließbänder, auf denen sie an den Hinterbeinen mit Ketten angeschlauft und in eine Transportschiene eingehängt wurden. Von hier aus gelangten die Schweine in hängender Position an den Stechplatz.

Nach dem Stechen und anschließenden Entbluten gelangten die Tiere über Transportschienen an der Decke zum Brühentborster.

Tabelle 3.1 zeigt die Durchschnittszeiten für den Eintritt der Tiere in den Prozess des Ausschlachtvorgangs.

Der „Beginn Untersuchung der Lungen“ stellt den Zeitpunkt dar, an dem die Lungen zur Untersuchung kamen.

Es handelte sich um eine Position unmittelbar nach Entnahme des Geschlinges aus dem Tierkörper, um so die unmittelbare Zuordnung zum jeweiligen Tierkörper garantieren zu können.

Der im Vergleich zu Betrieb 2 längere Verbleib in der Brühanlage in Betrieb 1 ist auf eine Kombination von Brühen und Entborsten zurückzuführen. Die Tiere sind hier ca. 10 Minuten in der Anlage.

Tab.3.1: Bearbeitungszeiten (Betrieb 1)

Station	Zeit nach Verlassen der Betäubungsanlage (min.)
Ende Entblutestrecke/ Eintritt in die Brühanlage	5:23
Verlassen der Brühanlage	15:30
Beginn der Untersuchung der Lungen	21:59

### 3.1.2.2. Betrieb 2

Betrieb 2 ist ein norddeutscher Schlachthof mit einer Größenordnung von ca. 300 Tieren pro Stunde. Als Aufenthaltszeit im Wartestallbereich werden zwei Stunden angestrebt. Die Tiere gelangen von der Wartebucht zur Sammelbucht, an die sich der Treibgang anschließt. Der Treibgang endet mit einer speziellen Zutriebstür, die die Schweine in Gruppen zu je zwei Tieren in die Betäubungsanlage führt.

Es handelte sich um eine Anlage vom „Typ Combi“ der Firma Butina ApS, Holbek, Dänemark.

Die Tiere befanden sich 90 Sekunden in der Anlage bei einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von 90%. Nach dem Auswurf aus der Betäubungsanlage wurden die Tiere an den Hinterläufen angeschlauft und in ein Transportband eingehängt, das sie zum Stechplatz beförderte. Tabelle 3.2 zeigt das Zeitfenster des Ausschlachtvorganges nach dem Auswurf aus der Betäubung.

Tab.3.2: Bearbeitungszeiten (Betrieb 2)

Station	Zeit nach Verlassen der Betäubungsanlage (min.)
Ende Entblutestrecke/ Eintritt in Brühanlage	2:33
Ende Brühanlage	8:06
Beginn Untersuchung der Lungen	18:46

### 3.1.2.3 Abläufe während der Untersuchung in den Betrieben

An den Untersuchungstagen gelangten in Betrieb 1 unterschiedlich große Gruppen in die Betäubungsanlage, die in der Anzahl zwischen drei und acht Tieren schwankten. In Betrieb 2 befinden sich kontinuierlich zwei Tiere in jeweils einer Betäubungsgondel.

Der Zeitrahmen zwischen Betäubung und Entblutestich ist in Tabelle 3.3 aufgeführt. Die Stichproben wurden in beiden Betrieben an zwei Untersuchungstagen vorgenommen.

In der Spalte „Erstes Tier“ sind die jeweiligen Zeitpunkte aufgeführt, zu denen das erste Tier eines Betäubungsdurchgangs nach dem Auswurf aus der Betäubungsanlage entblutet wurde.

Die Zeiten der Spalte „Letztes Tier“ geben den Zeitpunkt an, zu dem das letzte Tier der betäubten Gruppe entblutet wurde.

Die Anzahl der Tiere, die sich jeweils in der Betäubungsgondel befand, ist in der Spalte „Anzahl Tiere“ dargestellt.

Im unteren Teil der Tabelle ist, für beide Betriebe getrennt, der Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und der Median ( $\tilde{x}$ ) aufgeführt, der den Entblutzeitpunkt für das erste und das letzte Tier dokumentiert. So liegt der Mittelwert für den Zeitpunkt des Entblutestichs für das erste Tier in Betrieb 1 bei 1 min. 9 sek. , der Mittelwert für den Zeitpunkt des Entblutestichs in Betrieb 2 bei 28 sek.

Tab.3.3: Zeitintervalle zwischen Betäubung und Stechen in Betrieb 1 und Betrieb 2

Betrieb 1			Betrieb 2		
Erstes Tier*	Letztes Tier**	Anzahl Tiere***	Erstes Tier*	Letztes Tier**	Anzahl Tiere***
1:43	2:59	5	0:26	0:31	2
1:20	2:39	5	0:31	0:38	2
1:29	2:36	7	0:31	0:39	2
2:02	2:16	4	0:26	0:30	2
1:26	2:14	8	0:26	0:31	2
1:39	2:09	6	0:29	0:36	2
1:25	1:51	6	0:26	0:38	2
0:57	1:46	6	0:23	0:31	2
1:18	1:42	5	0:19	0:30	2
1:10	1:40	6	0:41	0:48	2
0:56	1:36	6	0:23	0:29	2
1:19	1:35	7	0:21	0:27	2
1:05	1:32	6	0:21	0:31	2
0:54	1:30	7	0:34	0:39	2
1:02	1:28	6	0:36	0:41	2
1:05	1:27	5	0:26	0:33	2
1:03	1:26	6	0:32	0:38	2
1:02	1:26	7	0:31	0:39	2
0:55	1:25	7	-	-	-
0:55	1:24	6	-	-	-
0:59	1:22	6	-	-	-
0:56	1:19	6	-	-	-
1:00	1:18	4	-	-	-
0:50	1:17	8	-	-	-
1:03	1:16	5	-	-	-

Fortsetzung Tab.3.3

Betrieb 1			Betrieb 2		
Erstes Tier*	Letztes Tier**	Anzahl Tiere ***	Erstes Tier*	Letztes Tier**	Anzahl Tiere ***
0:52	1:14	5	-	-	-
0:57	1:09	3	-	-	-
$\bar{x}$ :1:09	$\bar{x}$ : 1:41	-	$\bar{x}$ : 0:28	$\bar{x}$ : 0:35	-
$\tilde{x}$ :1:03	$\tilde{x}$ : 1:31	-	$\tilde{x}$ : 0:26	$\tilde{x}$ : 0:33	-

1. \*: Zeitpunkt der Entblutung des ersten Tieres, welches die Betäubungsanlage verlässt.
2. \*\*: Zeitpunkt der Entblutung des letzten Tieres, welches die Betäubungsanlage verlässt.
3. \*\*\*: Anzahl der Tiere, die gleichzeitig in der Betäubungsanlage waren
4.  $\bar{x}$ : Mittelwert derjenigen Zeit, in der das erste, bzw. das letzte Tier entblutet wurde
5.  $\tilde{x}$ : Medianwert der Zeit, in der das erste, bzw. das letzte Tier entblutet wurde

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte in Betrieb 1 an vier Tagen, in Betrieb 2 an zwei Tagen. Die für die Untersuchung erforderlichen Parameter wurden durch Institutsmitglieder an verschiedenen Stationen der Produktionslinie unabhängig voneinander erfasst. Es konnte dadurch beispielsweise vorkommen, dass bei einem Tier die Reflexe aufgrund betriebstechnischer Abläufe nicht überprüft werden konnten, jedoch aufgrund der spezifischen Markierung trotzdem die Lunge begutachtet wurde. Im Ergebnis resultierte somit ein unvollständig untersuchtes Tier.

Zur Reflexerfassung wurden zwei Personen eingesetzt (jeweils zur Erfassung und zur Dokumentation). Die Blutentnahme (sowohl für Blutgase als auch für Serum) wurde von drei Personen gewährleistet, die für die Entnahme sowie für das Aufbereiten des Serums bzw. die Bestimmung der Blutgase sorgten.

Die Untersuchung der Lungen wurde durch einen Untersucher, einen Protokollanten sowie durch eine Hilfsperson sichergestellt, die den Untersucher auf das jeweilige markierte Tier aufmerksam machte.

In Tabelle 3.4 sind die erfassten Parameter aufgeführt.

Tab. 3.4: Untersuchungsparameter und Station der Erfassung

Parameter	Lokalisation
Reflexerfassung (Corneal- , Nasenscheidewandreflex), Eigenbewegungen, Schnappatmung	Nach dem Einzug der Ohrmarke, vor dem Stechen der Tiere
Serumprobe für Elektrolytbestimmung (Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> )	Unmittelbar nach dem Stechen auf der Entblutestrecke
Blutgasprobe für pH, PCO <sub>2</sub> , PO <sub>2</sub>	Unmittelbar nach dem Stechen auf der Entblutestrecke
Lungenuntersuchung	Vor der amtlichen FIU unmittelbar nach der Evisceration

Die „Lokalisation“ beschreibt den Ort bzw. Zeitpunkt, der in beiden Betrieben zur Parametererfassung genutzt wurde.

Die Proben zur Blutgasanalyse wurden nach der Entnahme unverzüglich zum Blutgasanalysegerät gebracht, das in beiden Betrieben nicht direkt in der Schlachthalle, sondern in einem dafür geeigneten Raum befand, der in ca. 2-5 min. erreicht werden konnte.

### 3.2.2 Sicherstellung der Identität der Tiere im Prozess

#### 3.2.2.1 Markierungs- und Beprobungsprinzip

Voraussetzung für die eindeutige Zuordnung der Proben und der Befunde war die Kennzeichnung der Tiere. Die primäre Markierung der Tiere durch eine hierfür abgestellte Person erfolgte mit weißen Plastikohrmarken (Mini-Neoflex), welche beidseitig in Laserschrift bedruckt waren (Fa. Hauptner und Herberholz, Solingen). Der Einzug der Ohrmarken erfolgte mit einer handelsüblichen Ohrmarkenzange derselben Firma. Die Ohrmarken wurden möglichst ohrgrundnah plziert, um während des nachfolgenden Brühentborstens Haltfestigkeit zu gewährleisten. Aufgrund der hohen Bandgeschwindigkeit wurde jedes dritte bis fünfte betäubte Tier, das die Betäubungsanlage verließ, markiert. Diese Tiere waren dann durch eben diese Markierung in der Analyse und wurden im weiteren Verlauf entsprechend der Planung beprobt.

Die Reflexe und die Lungenbefunde wurden bei jedem markierten Tier erfasst.

Die Blutentnahme für die Serumprobe und die Blutgasanalyse erfolgte bei jedem fünften markierten Tier, da Zeit zur Gewinnung, Kennzeichnung und Aufbereitung der Probe die notwendige Zeit vorzusehen war.

### 3.2.2.2 Individuelle Kennzeichnung

#### 3.2.2.2.1 Tiere

Ein einzelner und in sich abgeschlossener Untersuchungsdurchgang umfasste 50 Tiere. Die Ohrmarken waren dementsprechend nummeriert von „1“ bis „50“. Die einzelnen Nummern entsprachen der sogenannten „Gruppentiernummer“ („GrTierNr“). Dadurch war jedes Tier innerhalb eines Untersuchungsdurchganges, welcher somit 50 Tiere umfasste, von Tieren eines anderen Untersuchungsdurchganges zu unterscheiden. Zwischen jeder Gruppe wurde in der Markierung eine kurze Pause eingelegt, so dass Verwechslungen mit anderen Untersuchungsdurchgängen, bei denen in gleicher Weise Markierungen von 1 bis 50 durchgeführt wurden, ausgeschlossen waren. Durch die zusätzliche Vergabe des „Gruppensymbols“ (GrSymbol) in der Dokumentation waren auch dort Verwechslungen ausgeschlossen, da das Gruppensymbol für jede Gruppe von 50 Tieren eine individuelle Kennzeichnung darstellte. Dies konnte eine römische Ziffer oder ein Buchstabe (verwendet für Betrieb 1) oder eine arabische Ziffer (verwendet in Betrieb 2) sein. Somit erlaubte diese Kennzeichnung auch die notwendige Unterscheidung zwischen Tieren aus Betrieb 1 und Betrieb 2.

Zum Verständnis der Markierung ein Beispiel: 50 Tiere werden untersucht und entsprechend bezeichnet: Tier 1, Tier 2, Tier 3 usw. Diese Nummer entspricht der Gruppentiernummer. Als Gruppensymbol erhalten die 50 Tiere wiederum eine weitere Nummer (beispielhaft eine 1). Die nachfolgend untersuchten 50 Tiere (also erneut Tier 1, Tier 2, usw.) bekommen das Gruppensymbol 2.

#### 3.2.2.2.2 Blutproben

Die Identitätssicherung der Proben zur Blutuntersuchung wurde durch die Beschriftung der Blutröhrchen mit dem entsprechenden Gruppensymbol (GrSymbol) und der jeweiligen Gruppentiernummer (GrTierNr) durchgeführt. (Bsp.: Tier mit der „GrTierNr“ 2 und dem „GrSymbol“ 1 wurde dementsprechend mit 2/1 auf dem Röhrchen beschriftet). Ein

Blutgasröhrchen (Kabevette<sup>R</sup>, Fa. Kabe, Nümbrecht) diente der Probennahme für die Blutgasanalyse, zur Serumprobe für die Bestimmung der Elektrolyte wurden „Probenröhrchen neutral“ (Fa. Kabe), eingesetzt.

### 3.2.2.2.3 Beobachtungen

Die erfassten Reflexe und die Schnappatmung wurden auf Protokollbögen niedergelegt. Jeder Bogen hatte eine der Gruppentiernummer (GrTierNr) entsprechende Nummerierung für 50 Tiere. Des Weiteren wurde auf den Bögen das jeweilige Gruppensymbol (GrSymbol) eingetragen. In Tabelle 3.5 ist ein Auszug bis zur Nummer 10 des Befundbogens zur Reflexerfassung dargestellt. Das Vorhandensein von Reflexen wurde durch das Markieren in dem für das entsprechende Tier vorhandenen Feld vorgenommen.

Eine Definition, wann eine Reaktion als Vorhanden deklariert und dementsprechend im Protokollbogen vermerkt wurde, gibt Kap. 3.2.3.1.

Tab.3.5: Muster der Reflexerfassung

GrTierNr	Cornealreflex	NSR	VGL/HGL	Atmung
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
...				
GrSymbol:				

NSR: Nasenscheidewandreflex

VGL/HGL: Bewegungen der Vorder- oder Hintergliedmasse

Atmung: dokumentiert Schnappatmung

Auch lagen zur Erfassung der Ergebnisse aus der Lungenuntersuchung Protokollbögen vor. Es wurde, unabhängig von den anatomischen Verhältnissen, eine Unterteilung der Lunge in vier Bereiche vorgenommen, (kraniale und kaudale Bereiche jeweils für rechte und linke Lunge). Je nach Lokalisation einer Veränderung erfolgte die Dokumentation: Pneumonische Bezirke im Lungengewebe wurden durch Ankreuzen im jeweiligen Bereich des Bogens vermerkt.

Die qualitative Differenzierung erfolgte durch ein Kreuz für „gering bis mittelgradig“, durch zwei Kreuze für „hochgradige Veränderungen“ an dem entsprechenden Lungenbezirk. Abbildung 3.1 zeigt einen Auszug bis zur Nummer 10 des Befundbogens. Dieser entspricht nicht der Originalgröße der verwendeten Protokollbögen: diese ließen die Aufnahme von 50 Tieren auf einer DinA4-Seite zu.

In dem Bereich unter der eingekästelten Gruppentiernummer war ausreichend Platz, um die dem Tierkörper aufgestempelte Tagesschlachtnummer des entsprechenden Tieres zu vermerken.

+	+	+	+	+
1	2	3	4	5
+	+	+	+	+
6	7	8	9	10
GrSymbol: ...				

Abb.3.1: Muster zur Erhebung von Lungenbefunden

### 3.2.3. Die erhobenen Parameter

#### 3.2.3.1 Reflexe

Im folgenden sind die Reaktionen beschrieben, deren Auslösung zu einem Eintrag in der entsprechenden Rubrik der Ergebnisbögen führte.

Cornealreflex : Durch das sanfte Berühren der Cornea mit der Fingerspitze wurde im positiven Fall der Lidschluss oder eine Lidschlagbewegung ausgeführt. Spontanes Blinzeln trat gelegentlich in Betrieb 1 auf und wurde ebenfalls als positiv gewertet.

Nasenscheidewandreflex: dieser wurde mittels einer Allis-Klemme (Firma Hauptner) überprüft. Die Klemme wurde im Bereich des Septum nasi angesetzt. Im positiven Fall kam es beim Zudrücken der Klemme zu einer ausgeprägten Zitterbewegung des Nasenspiegels.

Schnappatmung: Dieser Atmungstyp zeichnet sich durch plötzliches Aufreißen des Maules, gefolgt von einer tiefen Inspiration aus. Diese wurde nach adspektorischer Zurkenntnisnahme dokumentiert.

Bewegungen: Weiterhin wurde auf das Auftreten von Bewegungen der Vorder- und Hintergliedmaßen geachtet. Die Tiere zeigten unkoordinierte Bewegungen, Zuckungen oder Krämpfe der Vorder- oder der Hinterextremitäten.

Bei der Überprüfung der Reflexe und der Prüfung auf Bewegung oder Schnappatmung wurde keine qualitative Abstufung vorgenommen.

#### 3.2.3.2 Lungenbefunde

Als Veränderungen wurden makroskopisch sichtbare Farb- oder Konsistenzveränderungen erfasst.

Es ergaben sich vier verschiedene Zuordnungsmöglichkeiten der Lungen.

- „Lungenbefund 1“: Tiere, deren Lunge als gesund eingestuft wurde
- „Lungenbefund 2“: Tiere, deren Lunge adspektorisch pneumonische Veränderungen am Lungenparenchym aufwies. Veränderungen bis zu einer Größe von ca. 4x4 cm wurden nicht festgehalten, in der Größe über diese Maße hinausgehende pneumonische Bezirke wurden in „gering bis mittelgradige“ sowie in „hochgradige“ Veränderungen eingeteilt.

- „Lungenbefund 3“: beinhaltet Tierkörper und Lungen, bei denen die Zuordnung durch den Verlust der Ohrmarke nicht möglich war.

- „Lungenbefund 4“: Es kamen Tierkörper zur Untersuchung bei denen die Lungen während der Ausschlichtungsphase nicht entfernt werden konnten (hochgradige Pleuritis). Das Fehlen der Lunge konnte auch durch Fehler in der Ausschlichtung bedingt sein, wobei die Lunge dann verloren ging.

In diesen Fällen kamen die Lungen nicht zur Untersuchung.

### 3.2.3.3 Blut

#### 3.2.3.3.1 Untersuchungsparameter

Die ermittelten Parameter sind für die Elektrolytbestimmung  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  und  $\text{Cl}^-$ , sowie für die Blutgase  $\text{PCO}_2$ ,  $\text{PO}_2$ , pH-Wert und Cortisol.

#### 3.2.3.3.2 Probenaufbereitung von Blut und Blutgasprobe

Bei dem zur Serumgewinnung und zur Blutgasanalyse verwendeten Blut handelte es sich um Stichblut, das nach der Durchtrennung der großen arteriellen und venösen Halsgefäße im Verlauf des Schlachtvorgangs durch Auffangen des ausströmenden Blutes am hängenden Tier gewonnen wurde.

##### Gewinnung des Serums:

Die Blutproben wurden unmittelbar nach der Gewinnung mit 1500 U/min. (Heraeus Haemafuge) zentrifugiert, das gewonnene Serum mittels Eppendorf-Pipetten abgenommen und in Eppendorf-Röhrchen abgefüllt. In Betrieb 2 wurden anstelle der Eppendorf-Röhrchen „Probenröhren neutral“ (Fa. Kabe) eingesetzt. Die jeweiligen Behältnisse wurden dann mit dem (GrSymbol) und der (GrTierNr) beschriftet.

##### Gewinnung der Blutgase:

Das Blutgasröhrchen entspricht vom mechanischen Prinzip einer Spritze. Durch zurückziehen des Spritzenstempels wird der Füllraum des Blutgasröhrchens frei. Das aufzufangende Blut wurde in dem Blutgasröhrchen in gleicher Weise wie die Blutproben zur Serumgewinnung befüllt. Dies geschah durch das Auffangen von Stichblut des unmittelbar vorher gestochenen Tieres.

Die nach dem Füllen in den Blutgasröhrchen eventuell vorhandene Luft wurde durch Zudrücken des Spritzenstempels unverzüglich entfernt.

#### 3.2.3.3.3 Blutgasanalyse

Die Aufbewahrungszeit zwischen Probengewinnung und Analyse der Blutgasprobe war auf maximal eine halbe Stunde limitiert. Dadurch war eine Herabsetzung des Stoffwechsels in der Probe begrenzt. Bis zur Untersuchung in einem separatem Raum wurden die Proben in Kühlboxen zwischen Kühlaggregaten gelagert.

Bevor die Proben dem Analysegerät zugeführt wurden, wurden die ersten Tropfen Blut auf einem Papiertuch verworfen, um möglicherweise vorhandene Blutgerinnsel zu entfernen.

Die Untersuchung der Blutgase erfolgte durch das mitgebrachte Blutgasanalysegerät vor Ort.

Das für das Gerät erforderliche Probenvolumen für die Blutgasanalyse liegt bei 85 µl, das verwendete Blutgasröhrchen (Kabevette<sup>R</sup>) hat ein Füllungsvolumen von 2,3 ml. Als Antikoagulans war Lithium-Heparin zugesetzt.

##### 3.2.3.3.3.1 Blutgasanalyse- Gerät

Die Blutgasanalyse wurde mit einem ABL5 Blutgasanalyse- Gerät (Radiometer Kopenhagen, Dänemark) durchgeführt. Bei dem Gerät handelt es sich um einen automatisierten, computergesteuerten Mikro-Blutgas- und Säure-Basen-Analysator, der zur Messung von pH, PCO<sub>2</sub> und PO<sub>2</sub> in Blutproben eingesetzt wird.

Kapazität des Gerätes:

Mit dem ABL5 sind 30 Messungen pro Stunde durchführbar, das Gerät muß vor jedem Meßdurchgang kalibriert werden.

Die Messelektrodenkalibration führt das Gerät nach Initiierung selbsttätig durch. Als hierfür nötige Kalibrationslösung dienen die Pufferlösungen Hydrogencarbonat und Phosphat-Puffer, die mittels Luft und CO<sub>2</sub> aus dem eingebauten Gasmischer geeicht werden. Die Eichlösung wird anschließend auf 37° Celsius gehalten und in fest eingestellten Intervallen zur Kalibration eingesetzt. Die Abstände betragen in unserer Untersuchung vier Stunden. Durch diese regelmäßige Kalibration ist während des Betriebes für jede Probe die korrekte Ermittlung der jeweiligen Probenmessung gewährleistet.

Temperatureinstellung: Mit dem ABL 5 war es möglich, die Werte temperaturkorrigiert zu ermitteln, also eine dem Schweineblut angepasste und damit für diesen Fall genauere

Auswertung zu erhalten. In unserer Untersuchung wurde die Temperatur auf 38,2°C festgelegt, die temperaturkorrigierten Werte waren auf dem Datenausdruck mit einem (T) nach dem gemessenen Parameter gekennzeichnet, so dass sich hieraus die Bezeichnungen pCO<sub>2</sub>(T), pH(T) und PO<sub>2</sub>(T) ergaben.

#### 3.2.3.3.2 Datensicherung

Der Datenausdruck der Blutgasanalyse umfasste neben den ermittelten Werten (pH, PCO<sub>2</sub> und PO<sub>2</sub>, sowie deren temperaturkorrigierte Werte) auch Daten im Hinblick auf eine gesicherte Dokumentation des jeweiligen Tieres. Dies sind Datum, Uhrzeit, festgelegte (Tier)-Patiententemperatur und fortlaufende Nummer der entsprechenden Analyse. Diese wurden im Rahmen der Blutgasanalyse unmittelbar der (GrTierNr) und dem (GrSymbol) zugeordnet.

#### 3.2.3.3.4 Elektrolytbestimmung

Die nötige Aufbereitung des Serums für die Elektrolytbestimmung ist in 3.2.3.3.2 beschrieben.

##### 3.2.3.3.4.1 Untersuchungslabor

Der Elektrolytgehalt wurde durch das Institut für veterinärmedizinische Diagnostik (Berlin) bestimmt. Die Qualitätssicherung (QS) lag in der Verantwortung des Labors.

Zur Untersuchung wurde ein „Modular-System“ (Fa. Roche/Hitachi Mannheim) eingesetzt. Als Leistungsmerkmale des Systems in Hinblick auf QS sind automatisierte Wartungsfunktion, automatische Durchführung bei Fälligkeit von Kalibrationen, automatische Probenleerwertmessung und Probenverdünnung angegeben. Die Identifikation der Proben erfolgt mittels Barcodeleser.

##### 3.2.3.3.4.2 Untersuchungsmethodik

Es kam ein „Modular-System“ zum Einsatz (Fa. Roche/Hitachi Mannheim). Das „Modular-System“ beinhaltet eine Steuereinheit, sogenannte analytische Module (P-, D- und ISE-Modul) und eine Core-Unit mit Belader, Racktransportsystem, Rerun-Puffer, Entlader und

zentralem Steuerungsrechner. Mit dem ISE-Modul (Ionen- Selektive- Elektroden) wird die elektronische Bestimmung von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  und  $\text{Cl}^-$ -Konzentration in der Probe durchgeführt.

Zur Eichung der Messapparatur ist als Flüssigkeit eine „Internal Standard“-Lösung verwendet. Kapazität des Gerätes: Jedes ISE-Modul kann bis zu 900 Proben pro Stunde bearbeiten.

Untersuchung des Serums:

Das Serum wird durch die so genannte „Sippumppe“ geleitet und an die drei Meßelektroden für  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  und  $\text{Cl}^-$  herangebracht. An den Elektroden wird nun die elektromotorische Kraft (EMK) bzw. das Potential an der Elektrodenmembran bestimmt. Die Selektivität für die drei Elektrolyte hängt von dem Aufbau der Membranen ab, die hintereinander geschaltet sind. So besteht die Membran für die Natrium- Messung aus Polyvinylchlorid, die Kalium-Membran beinhaltet Valinomycin, ein Antibiotikum, das durch seine Molekülstruktur selektiv auf Kalium wirkt und dieses somit bindet. Für die Chlorid-Bestimmung ist eine Ionenaustauschmembran vorhanden.

Vorgang der Kalibrierung:

Bevor die zu untersuchende Probe durch den Messkanal gesaugt wird, wird ein so genannter „internal standard“ eingesetzt, um die Elektroden zu kalibrieren und damit zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

Zum zeitlichen Ablauf der Probenbearbeitung sind die einzelnen Schritte in tabellarischer Form dargestellt:

Schritt	Aktion	Zweck
1	Internal Standard (IS) dispensieren	550µl Internal Standard (IS) werden zum Waschen in der Mischkammer (Probe und Reagenz) dispensiert
2	Absaugen	Vakuumpumpe saugt die zum Waschen gebrauchte IS-Lösung ab
3	Internal Standard dispensieren	500 µl IS-Lösung werden zur Kalibration gegeben
4	KCl ansaugen	Sippumppe leitet 65 µl durch die Referenzelektrode
5	Internal Standard ansaugen	300 µl IS-Lösung werden zwecks Kalibration von der Sippumppe durch die Elektroden geleitet
6	Gefäß leeren	Vakuumpumpe saugt restliche IS-Lösung in den Abfluß ab
7	Probenpipettierung	15 µl Probe werden zur Verdünnung auf den Boden der Mischkammer gegeben

8	Diluent zugeben	450 µl ISE-Diluent werden dispensiert und mit der Probe durch Ultraschall gemischt
9	KCl ansaugen	Sippumppe leitet 65 µl KCl durch die Referenzelektrode
10	Verdünnte Probe ansaugen	350 µl der verdünnten Probe werden von der Sippumppe durch die Elektroden geleitet
11	Absaugen	Die Vakuumpumpe saugt den Rest der verdünnten Probe in den Abfluß ab

#### 3.2.3.3.4.3 Datensicherung

Das im Betrieb aufbereitete Serum wurde in bereitstehende Serumröhrchen pipettiert und mit dem Symbol (GrTierNr) und (GrSymbol) gekennzeichnet, so dass auch bei der zu einem späteren Zeitpunkt vorgenommenen Bestimmung der Elektrolyte stets die Zuordnung der Probe zu den Rohdaten gewährleistet war. Bis zum Zeitpunkt der Untersuchung durch das Labor wurde das Material eingefroren.

#### 3.2.4 Verknüpfung der erhobenen Daten

Aus der Reflexantwort, den Werten der Blutuntersuchung und den vorliegenden Lungenbefunden wurden verschiedene funktionelle Beziehungen zwischen den Werten vorgenommen.

#### 3.2.5 Auswertung der Daten

Die ermittelten Daten wurden mittels Excel tabellarisch zusammengestellt, so dass zu jedem untersuchten Tier alle entsprechenden Ergebnisse vorliegen.

Zusätzlich stehen für jedes untersuchte Tier die ggf. vorhandenen Ergebnisse aus der schlachtbetriebsseitigen Untersuchung (Veterinärbefunde), sowie die Herkunft der Tiere zur Verfügung. Diese Daten konnten anhand der auf den Tierkörper aufgestempelten Tagesschlachtnummer mit den Projekt-Daten in Verbindung gebracht werden, da diese im Rahmen der Lungenuntersuchung zusätzlich erfasst und auf dem Befundbogen bei dem entsprechenden Tier eingetragen wurden.

Als statistische Tests wurde zum einen der  $\chi^2$ -Test angewandt, der die Unabhängigkeit eines quantitativen oder qualitativen Merkmals überprüft.

Die Wahrscheinlichkeit des Fehlers 1.Art wurde mit dem in der Praxis üblichen Wert  $\alpha = 0,05$  festgelegt. Der Fehler 1.Art gibt die Gefahr der falschen Entscheidung wieder,

die bei einem statistischen Test irrtümlich zur Ablehnung einer objektiv richtigen Annahme führt.

Als weiterer statistischer Test wurde der Mann-Whitney-U-Test, verwendet. Er wurde dann eingesetzt, wenn keine parametrische Verteilung vorausgesetzt werden konnte.

Für die graphische Darstellung wurden Box-Plots verwendet.