

Aus dem Institut für Fleischhygiene und –technologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
und
dem Bundesinstitut für Risikobewertung Berlin

**Prävalenz von *Trichinella spiralis* in outdoor
gehaltenen Schweinen**

Inaugural- Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
DOKTORS DER VETERINÄRMEDIZIN
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Senada Drakovac
Tierärztin aus Oberhausen

Berlin 2010
Journal-Nr. : 3406

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Reinhard Fries
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Franz Hörchner
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Karl-Hans Zessin

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

pigs, *Trichinella spiralis*, seroprevalence, free range husbandry, ELISA,
meat hygiene, *Trichinella*, Germany

Tag der Promotion: 18.11.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-018-8

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2011

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Familie und meinem Freund

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Verzeichnis der Abkürzungen	V
1 Einleitung	1
2 Literatur	3
2.1 Geschichte der Trichinellose	3
2.2 Taxonomie der Trichinen	5
2.3 Morphologie und Entwicklungszyklus	7
2.4 Vorkommen von <i>Trichinella</i>	9
2.4.1 Wirtsspezies	9
2.4.2 <i>Trichinella</i>-Spezies und –Genotypen	11
2.4.2.1 <i>Trichinella spiralis</i> (Genotyp T1)	11
2.4.2.2 <i>Trichinella nativa</i> (Genotyp T2)	13
2.4.2.3 <i>Trichinella britovi</i> (Genotyp T3)	15
2.4.2.4 <i>Trichinella pseudospiralis</i> (Genotyp T4)	16
2.4.2.5 <i>Trichinella murrelli</i> (Genotyp T5)	17
2.4.2.6 <i>Trichinella T6</i>	18
2.4.2.7 <i>Trichinella nelsoni</i> (Genotyp T7)	19
2.4.2.8 <i>Trichinella T8</i>	20
2.4.2.9 <i>Trichinella T9</i>	20
2.4.2.10 <i>Trichinella papue</i> (Genotyp T10)	20
2.4.2.11 <i>Trichinella zimbabwensis</i> (Genotyp T11)	21
2.5 Epidemiologie der Trichinellose	22
2.5.1 Domestischer Zyklus	22
2.5.2. Silvatischer Zyklus	24
2.5.3 Übertragungswege und Faktoren	25
2.5.3.1 Biologische Eigenschaften der Genotypen	26
2.5.3.2 Einfluss des Menschen	26

2.5.3.3	Die Rolle synanthroper Tiere	28
2.5.3.4	Trichinellose beim Pferd.....	29
2.6	Verbreitung von <i>Trichinella</i> in Europa.....	31
2.7	Risiken für den Menschen	34
2.8	Trichinellose des Menschen.....	38
2.8.1	Klinische Aspekte der Trichinellose	38
2.8.1.1	Praepatenz.....	38
2.8.1.2	Klinischer Verlauf.....	38
2.8.2	Komplikationen	40
2.8.3	Diagnose	40
2.8.4	Therapie	41
2.9	Wirtschaftliche Gesichtspunkte der Trichinellose	42
2.10	Haltung von Schweinen in Deutschland und der Europäischen Union	44
2.11	Rechtliche Vorgaben zur Trichinenuntersuchung.....	48
2.11.1	Verordnung (EG) Nr. 854/2004.....	48
2.11.2	Verordnung (EG) Nr. 2075/2005.....	48
2.12	Untersuchungsmethoden	53
2.12.1	Direkte Methoden.....	54
2.12.1.1	Trichinoskopie	55
2.12.1.2	Digestionsmethode.....	57
2.12.1.3	PCR (Polymerase Chain Reaction).....	58
2.12.2	Indirekte Methoden.....	59
2.12.3	Vergleich der verschiedenen Untersuchungsverfahren.....	61
3	Material und Methoden	63
3.1	Herkunft der Tiere	63
3.2	Probenmaterial	65
3.2.1	Blutproben	67
3.2.2	Muskelproben	67
3.2.3	Fleischsaftproben	67
3.3	Untersuchung der Proben	69
3.3.1	Digestionsverfahren	69
3.3.2	ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	70
3.3.2.1	Vorbereitung der notwendigen Reagentien und Geräte.....	70

3.3.2.2	Durchführung und Auswertung	73
3.3.2.3	Interne Kontrollen.....	76
3.3.2.4	Abklärung der Seroreagenten.....	77
3.3.2.5	Endgültige Bewertung der Proben	78
3.3.2.6	Statistische Auswertung der Ergebnisse	78
4	Ergebnisse	80
4.1	Digestionsverfahren (Muskelproben).....	80
4.2	ELISA (Serum- und Fleischsaftproben)	81
4.2.1	Statistische Auswertung der ELISA-Ergebnisse.....	82
4.2.2	Vergleich der Serum- und Fleischsaftergebnisse, Häufigkeitsverteilung .	84
4.2.3	Prüfung auf Vergleichbarkeit der ELISA-Index-Werte	86
4.2.4	Statistische Auswertung der Ergebnisse der Bundesländer.....	87
4.2.5	Statistische Auswertung der Ergebnisse der Betriebe	88
4.3	Vergleich der Ergebnisse von Digestionsverfahren und ELISA.....	90
4.4	Abklärung der Ergebnisse.....	92
4.4.1	Ergebnisse der internen Kontrollen	92
4.4.2	Ergebnisse der Abklärungsuntersuchungen.....	92
4.4.3	Endgültige Bewertung der Proben	95
5	Diskussion	96
5.1	Hintergrund der Arbeit	96
5.2	Auswahl der Tiere	98
5.3	Auswahl der Methode	99
5.4	Betrachtung der Ergebnisse	101
5.5	Epidemiologische Erörterungen	106
5.6	Schlussfolgerungen.....	107
6	Zusammenfassung.....	109
7	Summary.....	111
	Literaturverzeichnis.....	112

Anhang 127

Verzeichnis der Abkürzungen

ABTS	2,2'-Azinobis-(3-Ethylbenzthiazolin-6-Sulfonsäure) Tabletten
Aqua bidest	Aqua bidestillata
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BLK	Platten-Blank
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CFT	Complement fixation test
df	Freiheitsgrad
d.h.	das heißt
EG	Europäische Gemeinschaft
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
E/S	exkretorisch/sekretorisch
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FS	Fleischsaft
g	Gramm
h	Stunde
ha	Hektar
HAT	Hämagglutinations Test
IFT	Immunofluoreszenz Test
IgG	Immunoglobulin G
K	Kontrollseren
Kap.	Kapitel
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
L1	Larve 1
LpG	Larven pro Gramm
M.	Musculus
Meckl.-Vorp.	Mecklenburg-Vorpommern
Min.	Minuten
Mio.	Millionen
NaCl	Natriumchlorid

Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	Di-natriumhydrogen- phosphat-dodecahydrat
NaOH	Natriumhydroxid
NK	Negativ-Kontrolle
Nr.	Nummer
NRW	Nordrhein-Westfalen
PBS-T	Phosphate buffered saline / Tween 20
PCR	Polymerase Chain Reaction
p. i.	post infectionem
PK	Positiv-Kontrolle
r	Korrelationskoeffizient
s.	siehe
S	Feldserum
S.	Seite
Schlesw.-H.	Schleswig-Holstein
spp.	Spezies
<i>T.</i>	<i>Trichinella</i>
Tab.	Tabelle
TG-ROC	Two-graph receiver operating characteristic
Tween 20	Polyoxyethylensorbitanmonolaurat, C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆
usw.	und so weiter
Verd.	Verdünnung
VO	Verordnung
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Die Trichinellose ist in weiten Teilen Europas endemisch. In Deutschland sind Trichinenfunde bei Hausschweinen selten, als Reservoir dienen jedoch noch immer verschiedene Wildtiere, wie z. B. Wildschweine, Füchse und in ansteigendem Maße Marderhunde. Vereinzelt Humanfälle können zumeist auf importierte Erkrankungen aus Gebieten, in denen die Trichinellose noch verstärkt vorkommt, zurückgeführt werden. In Europa werden jährlich Trichinellose-Ausbrüche mit Hunderten von Fällen beim Menschen gemeldet. Die Hauptinfektionsquellen sind Schweine-, Pferde- oder Wildschweinefleisch. Infiziertes Schweinefleisch stammte in allen gemeldeten Fällen aus kleinbäuerlichen Betrieben und Freilandhaltungen, nie aus Intensivhaltungen. Bei einer Untersuchung über das Vorkommen von *Trichinella spiralis* und *Toxoplasma gondii* in verschiedenen Haltungen, konnte in Freilandhaltungen und Biobetrieben mit Auslaufhaltung ein vermehrtes Vorkommen von *Toxoplasma gondii* beobachtet werden. Die Wahrscheinlichkeit, *Toxoplasma gondii* nachzuweisen, scheint in Freilandhaltungen wesentlich höher zu sein als in Intensivhaltungen. *Trichinella spiralis* zeigte in Biohaltungen nur einen leichten Anstieg.

Wichtig in diesem Zusammenhang ist auch die europäische Rechtsetzung. Auf Grund der **Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel** ist für Tiere, die nach dieser Vorschrift gehalten werden, ein Auslauf vorgeschrieben. Seit Anfang 2006 sind außerdem neue Vorgaben zur Fleischuntersuchung und zur Untersuchung auf Trichinellose in Kraft. Nach der **Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen** besteht die Möglichkeit, Betriebe als „Trichinen-frei“ oder Gebiete als „Regionen mit vernachlässigbarem Trichinenrisiko“ anerkennen zu lassen. Unter diesen Umständen ist eine Trichinenuntersuchung im Schlachthof für alle Schweine dieser Herkunft nicht mehr vorgesehen.

Im Zusammenhang mit der zunehmenden Anzahl an Biobetrieben und Freilandhaltungen in der Europäischen Union und den gesetzlichen Vorgaben stellt sich die Frage, ob Schweine aus solchen Haltungen vermehrt mit Trichinen infiziert sein können und damit auch eine Gefahr für den Menschen darstellen.

Der Frage wurde in dieser Arbeit nachgegangen. Dazu wurden Hausschweine aus verschiedenen Biobetrieben mit Freiland- oder Auslaufhaltung aus Norddeutschland auf Trichinellose untersucht. Unterschiedliche Proben wurden mittels zweier Methoden auf Trichinellose untersucht:

- Fleischproben von je 1 g und je 10 g mittels Digestion
- Fleischsaft und Blutserum mittels ELISA

Die Ergebnisse beider Nachweismethoden wurden einander gegenübergestellt und verglichen und die Eignung verschiedener Methoden zum Nachweis der Trichinellose diskutiert.

2 Literatur

2.1 Geschichte der Trichinellose

1821 entdeckte Friedrich Tiedemann zum ersten Mal kleine, kalkige Gebilde in menschlichen Leichen, die von ihm allerdings nicht zugeordnet werden konnten (BLANCOU 2001). Einige Jahre später entdeckte Peacock kleine knöcherne Punkte in der Kehlkopfmuskulatur einer menschlichen Leiche (BLANCOU 2001). 1835 stellten die Londoner Zoologen James Paget und Richard Owen bei der mikroskopischen Untersuchung einer Leiche zusammengerollte Parasiten fest, die sie *Trichina spiralis* nannten. Erst später wurde diese Bezeichnung in *Trichinella spiralis* umgeändert (CAMBELL 1979).

1850 konnte Herbst zum ersten Mal die Infektiosität der Trichinen erfolgreich nachweisen. Er infizierte Hundewelpen, indem er sie mit dem Fleisch eines infizierten Dachses fütterte (BLANCOU 2001). 1857 übertrug Leuckart zum ersten Mal Trichinen auf Labormäuse, 1859 infizierte Virchow einen Hund (BLANCOU 2001).

1860 konnte Zenker erstmals lebende, bewegliche Trichinen in der Muskelprobe einer an Trichinellose verstorbenen Frau beobachten. Als Ansteckungsquelle konnte er infiziertes Schweinefleisch nachweisen. Er sandte die Proben an Leuckart und Virchow, die damit erfolgreich einen Hasen, einen Hund und ein Schwein infizierten (BLANCOU 2001).

In den Jahren 1860 - 1880 gab es in Deutschland mehrere tausend Humanfälle von Trichinellose mit mehr als 500 Toten (CAMPBELL 1983a).

1863/64 wurde erstmalig in einigen Teilen Deutschlands eine Trichinenschau eingeführt. 1883 wurde sie im Berliner Großschlachthof eingeführt. Dort wurden noch im selben Jahr bei 0,088 % der geschlachteten Schweine Trichinen nachgewiesen (STRUCK 1959). 1891 wurde die Trichinenschau dann auch bei Wildschweinen eingeführt, da Untersuchungen gezeigt hatten, dass auch diese für die Trichinellose empfänglich sind (STRUCK 1959).

1900 wurde dann mit der Einführung des Reichsfleischbeschaugesetzes die Trichinenuntersuchung in ganz Deutschland einheitlich geregelt (NÖCKLER 2000). Nach der Einführung der Trichinenuntersuchung nahm die Prävalenz in Deutschland kontinuierlich ab

(STRUCK 1959). Während 1943 in Deutschland noch bei 0,0036 % der untersuchten Hausschweine Trichinen nachgewiesen wurden, waren 1956 nur noch etwa 0,000278 % der Inlandsschweine Trichinen positiv (STRUCK 1959).

2.2 Taxonomie der Trichinen

Trichinen sind langgestreckte, fadenförmige Helminthen des Dünndarms, die ihren gesamten Larvalentwicklungszyklus in einer histotropen Phase abwickeln. Sie werden taxonomisch folgendermaßen eingeteilt:

- Reich: Animalia
- Stamm: Nematelmintha (Schlauchwürmer)
- Klasse: Nematodea (Nematoden, Rundwürmer)
- Ordnung: Enoplida
- Familie: Trichinellidae
- Gattung: *Trichinella*

Nach der Entdeckung der Trichinen im Jahre 1835 wurden zunächst alle Fälle von Trichinellose auf eine Infektion mit *Trichinella spiralis* zurückgeführt (MURELL et al. 2000), da eine morphologische Unterscheidung der einzelnen Spezies zu dieser Zeit noch nicht möglich war. Die Einführung der Digestion (im Gegensatz zur Trichinoskopie) bei der Untersuchung stellte einen Fortschritt dar, da nun auch nicht Kapsel-bildende Spezies nachgewiesen werden konnten. Nach der Entwicklung biochemischer und molekularbiologischer Untersuchungsmethoden können heute die verschiedenen Spezies und Genotypen dieser Gattung genauer bestimmt und nachgewiesen werden (POZIO 2005).

Bisher wurden 11 Genotypen der Gattung *Trichinella* identifiziert. Acht davon konnten als eigene Spezies benannt werden, während drei weitere taxonomisch noch nicht eingeordnet werden konnten und als Genotypen T6, T8 und T9 bezeichnet werden.

Laut POZIO (2005) können die verschiedenen Trichinenspezies in 2 Gruppen eingeteilt werden:

- 1) Spezies, deren Larven in der Muskulatur des Wirtes von einer Kapsel umgeben sind

Trichinella spiralis

Trichinella nativa (einschließlich des Genotypus *Trichinella T6*)

Trichinella britovi (einschließlich der Genotypen *Trichinella T8* und *T9*)

Trichinella murrelli

Trichinella nelsoni

2) Spezies, deren Larven in der Muskulatur des Wirtes nicht von einer Kapsel umgeben sind

Trichinella pseudospiralis

Trichinella papuae

Trichinella zimbabwensis

2.3 Morphologie und Entwicklungszyklus

Adulte Trichinen weisen einen runden Querschnitt auf. Die Männchen sind ca. 1,0 - 1,8 mm lang und 0,03 mm breit und weisen am Hinterende ein Spiculum und ein Paar blättchenförmiger Kopulationshilfsorgane auf. Die Weibchen sind mit ca. 1,3 - 3,7 mm Länge und 0,05 mm Breite deutlich größer als die Männchen. Das Hinterende ist abgerundet und die Vulvaöffnung befindet sich im vorderen Körperviertel. Der Ösophagus ist von trichuroidem Typ, d.h. mit einem vorderen kurzen, muskulösem Teil und einem langen hinteren Teil umgeben mit speziellen Drüsenzellen (Stichozyten).

Trichinen durchlaufen ihre gesamte Entwicklung in einem Wirt, der zugleich als Zwischen- und Endwirt fungiert. Der Entwicklungszyklus kann in 3 Phasen eingeteilt werden:

- Darmphase
- Parasitaemiephase
- Muskelphase

Darmphase

Die Entwicklung im Wirt beginnt nach der peroralen Aufnahme der Muskulatur eines Tieres, das mit infektiösen Trichinenlarven (L1) infiziert ist. Die Larven werden durch Verdauungsenzyme im Magen freigesetzt und gelangen in den Dünndarm. Dort dringen sie in die Epithelzellen an der Basis der Zotten des Duodenums (seltener auch andere Abschnitte des Dünndarms) ein. In wenigen Stunden erfolgen 4 Häutungen und weitere Differenzierungen (Larve 2 – 3 – 4), bis etwa 24 - 36 Stunden nach der Infektion die Larve 5 geschlechtsreif ist. Während die Männchen kurz nach der Kopulation absterben, beginnen die Weibchen am 5. oder 6. Tag p. i., die neugeborenen Larven freizusetzen. Die Weibchen überleben im Darm mindestens 4 - 6 Wochen lang, bevor sie ausgeschieden werden. Sie können während dieser Zeit etwa 200 - 1600 Larven hervorbringen. Diese dringen mit Hilfe eines in der vorderen Ösophagusregion gelegenen Stiletts in die Lamina propria der Dünndarmzotten und in die Lymphbahnen ein.

Wanderphase

Über den Ductus thoracicus oder über den Pfortaderkreislauf gelangen die Wanderlarven ins Blut, zirkulieren bis zu 3 Wochen in allen Organen, bis sie in die Zellen der Skelettmuskulatur eindringen.

Muskelphase

Die Trichinen wandern bevorzugt in Muskelpartien mit hoher Aktivität, wie z.B. Diaphragma, Zungen- und Nackenmuskulatur ein, wo sie vor allem in den oberflächlichen Bereichen und in den Teilen am Sehnenansatz liegen. Die Larven liegen zu Beginn gestreckt in der befallenen Muskelzelle und rollen sich ab der 3. Woche p. i. spiralig ein. Bis dahin sind alle Wachstums- und Differenzierungsprozesse abgeschlossen und die Larven (L1) haben ihre volle Infektionsfähigkeit für einen neuen Wirt erreicht.

Die Muskelzelle wird währenddessen zu einer Ammenzelle umgewandelt. Nach dem Eindringen beginnt sie im Falle einer Kapselbildung den Parasiten durch Abscheidung fibrillären Materials aus dem endoplasmatischen Retikulum abzukapseln. In den nachfolgenden 4 - 6 Wochen p. i. wird die Kapselwand immer weiter verstärkt, bis sich schließlich eine vollständige, längsovale und etwa zitronenförmige Kapsel ausgebildet hat. Die Größe der ausgebildeten Kapsel schwankt, abhängig vom entsprechenden Wirt zwischen 0,18 - 0,95 mm Länge. Bei Katzen und Schweinen können sich 5 - 6 Wochen p. i. an den Polen der Kapseln Fettzellen ansammeln. Ab dem 5. Monat p. i. beginnen die Kapseln dann ausgehend von den Polen zu verkalken.

Alle Spezies von *Trichinella* zeigen den gleichen Entwicklungszyklus mit Ausnahme von *T. pseudospiralis*, *T. papuae* und *T. zimbabwensis*, bei denen es im Unterschied zu den anderen Spezies in der Muskulatur des Wirtes nicht zu der Ausbildung der typischen Kollagenkapsel kommt.

2.4 Vorkommen von *Trichinella*

Da die von Trichinen befallenen Muskelzellen zu „Ammenzellen“, umgeben von einem Anastomosengeflecht zur Versorgung, umgewandelt werden (DESPOMMIER 1998) und die meisten *Trichinella* Genotypen zusätzlich von einer Kapsel umgeben werden, sind diese gut an das Überleben in der Muskulatur eines Wirtes angepasst. Durch den anaeroben Metabolismus der eingekapselten Larven sind sie in der Lage, selbst in sich zersetzendem Aas längere Zeit zu überleben. Zusätzlich weisen einige der Genotypen eine Gefrierresistenz oder eine Toleranz für hohe Temperaturen auf (KAPEL 2000a).

Aufgrund dieser hohen Anpassung sind Trichinen von den Polargebieten bis hin zu tropischen Regionen zu finden. Während *T. spiralis* und *T. pseudospiralis* weltweit verbreitet sind, sind die anderen Genotypen auf bestimmte zoogeographische Regionen begrenzt, wo sie an individuelle ökologische Nischen angepasst sind (KAPEL 2000a). In Europa sind vor allem *T. spiralis*, *T. britovi* und *T. pseudospiralis* von praktischer Relevanz.

2.4.1 Wirtsspezies

Trichinen weisen ein großes Wirtsspektrum auf (Tabelle 2.1). Das Hauptreservoir von *Trichinella* sind Fleisch- und Allesfresser. Während sich alle Genotypen von *Trichinella* sehr gut in Fleischfressern vermehren, zeigen sie sehr verschiedene Infektivität und Persistenz in Herbivoren und Omnivoren. Die meisten der in der freien Wildbahn nachzuweisenden Genotypen zeigen z.B. in Schweinen nur eine geringe Infektivität und Persistenz (KAPEL 2000a).

Dort, wo die Prävalenz von *Trichinella* hoch ist, kann ein Tier auch mehrmals während seiner gesamten Lebensspanne infiziert werden. Auch die gleichzeitige Infektion mit 2 verschiedenen *Trichinella*-Genotypen konnte nachgewiesen werden, wie z. B. bei *T. spiralis* und *T. britovi* in Spanien und Finnland, *T. spiralis* und *T. nativa* in Finnland und Schweden und bei *T. nativa* und *T. britovi* in Estland und Finnland (POZIO 2000a).

Tabelle 2.1: Übersicht über die Wirte von *Trichinella* spp. (nach KAPEL 2000a)

Systematische Einordnung der Säugetiere	Art
Marsupialia (Beuteltiere)	Opossum
Insectivora (Insektenfresser)	Spitzmaus, Maulwurf, Igel
Chiroptera (Fledertiere)	Fledermaus
Edentata (Zahnarmer)	Gürteltier
Primates (Primaten)	Affe, Mensch
Lagomorpha (Hasenartige)	Hase, Kaninchen
Rodentia (Nagetiere)	Biber, Meerschwein, Ratte, Wühlmaus, Hamster, Lemming, Bisamratte, Maus, Eichhörnchen, Erdhörnchen, Murmeltier, Haselmaus
Cetacea (Wale)	Walfisch
Carnivora (Landraubtiere)	Fuchs, Schakal, Hund, Wolf, Marderhund, Waschbär, Kojote, Katze, Luchs, Puma, Buschkatze, Rotluchs, Löwe, Jaguar, Leopard, Tiger, Hyäne, Vielfraß, Fischotter, Marder, Zobel, Dachs, Stinktief, Wiesel, Hermelin, Nerz, Iltis, Frettchen, Bär, Mungo, Ginsterkatze, Zibetkatze
Carnivora (Wasserraubtiere)	Seehund, Walross, Eisbär
Perissodactyla (Unpaarhufer)	Pferd
Artiodactyla (Paarhufer)	Hauschwein, Wildschwein, Rind, Ziege, Schaf, Rentier, Nilpferd
Tylopoda (Schwielensohler)	Kamel

Während die kapselbildenden Spezies ihren Lebens- und Entwicklungszyklus nur in Säugetieren mit einer Körpertemperatur von 37 - 40 °C vervollständigen können, weisen die nicht-kapselbildenden Spezies ein weiteres Wirtsspektrum auf, das auch Vögel und Reptilien mit einschließt (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2: Vorkommen der kapsel- und nicht kapselbildenden Trichinen im Zusammenhang mit der Körpertemperatur der Wirbeltierklassen (nach POZIO 2005)

Wirbeltierklassen	kapselbildende Spezies	nicht kapselbildende Spezies	
		<i>T. pseudospiralis</i>	<i>T. papuae</i> , <i>T. zimbabwensis</i>
Vögel (40,5 - 42,5 °C)	nicht empfänglich	empfänglich	nicht empfänglich
Säugetiere (37,5 - 40 °C)	empfänglich	empfänglich	empfänglich
Reptilien* (25 - 32 °C)	nicht empfänglich	nicht empfänglich	empfänglich

* äquatorial lebende Reptilien

2.4.2 *Trichinella*- Spezies und -Genotypen

2.4.2.1 *Trichinella spiralis* (Genotyp T1)

Trichinella spiralis war die erste Spezies der Gattung *Trichinella*, die entdeckt wurde (OWEN 1835) und sie ist die einzige der Genotypen, die hauptsächlich im domestischen Zyklus vertreten ist, während die anderen vor allem im silvatischen Zyklus nachzuweisen sind und nur ausnahmsweise Wirtsarten des domestischen Zyklus infizieren.

Die Muskellarven von *T. spiralis* zeigen eine hohe Empfindlichkeit gegenüber großen Temperaturschwankungen und können durch Erhitzen oder Einfrieren leicht abgetötet werden. Es kann daher vermutet werden, dass *Trichinella spiralis* vor allem auf Grund seiner geringen Anpassung an extreme Umwelttemperaturen vorzugsweise im domestischen Zyklus zu finden ist und weniger oft als die anderen „silvatischen“ Genotypen bei Wildtieren (KAPEL 2000b). So kann man *T. spiralis* nur in gemäßigten Zonen auch bei silvatischen oder synanthropen Tieren nachweisen. In sehr kalten oder warmen Gebieten ist *T. spiralis* bei Karnivoren, die weit entfernt von menschlichen Behausungen leben, nicht oder kaum

anzutreffen (APPLEYARD et al. 1998). Nach POZIO (1998) konnte ein Zusammenhang zwischen dem domestischen Zyklus und dem silvatischen Zyklus hergestellt werden. Demnach ist die Prävalenz von *Trichinella spiralis* bei Wildschweinen in den Gebieten erhöht, in denen die Spezies schon im domestischen Zyklus vorhanden ist. In Ländern, in denen das *Trichinella*-Vorkommen in der Schweinepopulation sehr hoch ist, wie in den Ländern der ehemaligen Sowjetunion, des ehemaligen Jugoslawiens, in Rumänien oder Mexiko, kann *T. spiralis* auch auf Wildtiere und Pferde übertragen werden, durch welche es wieder zu Humanfällen kommt (POZIO 1998; DUPOUY-CAMET 1999).

T. spiralis wurde wahrscheinlich vor allem durch Hausschweine und synanthrope Ratten in der Welt verbreitet. Durch den Handel mit Hausschweinen und die Einwanderung der Wanderratte aus Asien wurde die Trichinellose nach Europa gebracht und von dort, durch europäische Auswanderer in Nord-, Süd-, Zentralamerika und Neuseeland verbreitet (POZIO 2000a).

Die gegenwärtige geographische Verteilung von *Trichinella spiralis* kann laut POZIO (2000a) in 3 verschiedene Kategorien eingeteilt werden:

- 1) Länder, in denen *T. spiralis* bei domestischen, synanthropen und silvatischen Tieren zu finden ist:

Europa: Bulgarien, Weißrussland, Kroatien, Finnland, Georgien, Litauen, Polen, Rumänien, Russland, Serbien, Spanien und Ukraine

Afrika: Ägypten

Asien: China, Russland und Südostasien

Amerika: Argentinien, Chile und Mexiko

Australien: Neuseeland

- 2) Länder, in denen *T. spiralis* früher bei domestischen und synanthropen Tieren endemisch war und heute nur noch bei Tieren des silvatischen Zyklus zu finden ist:

Europa: Österreich, Tschechien, Frankreich, Deutschland, Ungarn, Slowakei, Schweden und die Niederlande

Amerika: Kanada und die USA

3) Länder, in denen *T. spiralis* nicht auftritt:

Europa: Italien und Schweiz

Afrika: alle Länder in Nordafrika außer Ägypten und fast alle Länder südlich der Sahara

Da *Trichinella spiralis* hoch pathogen für den Menschen ist, sind viele Humanfälle auf diese Spezies zurückzuführen. *Trichinella spiralis* weist außerdem im Vergleich zu den anderen Genotypen die höchste Infektiosität für Schweine, Wildschweine (KAPEL and GAMBLE 2000; KAPEL 2000a) und Schädlinge wie Ratten und Mäuse auf. Bei der Untersuchung von trichinösen Schweinen konnten 73 % der Infektionen auf *T. spiralis* zurückgeführt werden (POZIO 2005). Zusätzlich scheint *Trichinella spiralis* im Vergleich aller Genotypen die höchste Infektiosität für Herbivoren, wie Pferd, Rind, Schaf und Ziege aufzuweisen. Vor allem das Pferd stellt in bestimmten Ländern (Frankreich, Italien) eine häufige Infektionsquelle für den Menschen dar (BOIREAU et al. 2000).

2.4.2.2 *Trichinella nativa* (Genotyp T2)

Trichinella nativa wurde zusammen mit *Trichinella nelsoni* im Jahre 1972 als eigene Spezies anerkannt (BRITOV and BOEV 1972). Ein wichtiges Charakteristikum von *Trichinella nativa* ist die hohe Gefrierresistenz der Larven im Muskelgewebe von Karnivoren. So konnten in dem gefrorenen Muskelfleisch von natürlich infizierten Füchsen noch nach 4 Jahren infektiöse Larven bei einer Temperatur von - 18 °C nachgewiesen werden (KAPEL 2000a). In der Muskulatur von Eisbären überlebte *T. nativa* 3 Jahre und in experimentell infizierten Waschbären 5 Jahre (POZIO 2000a). In dem Muskelgewebe von Schweinen, Wildschweinen und Mäusen ist die Gefrierresistenz eingeschränkt oder nicht vorhanden. Da die Gefrierresistenz auch in natürlich infizierten Fleischfressern stark variiert, ist anzunehmen, dass die Isolate, die stark gefrierresistent sind, vorzugsweise in weiter nördlich gelegenen Breiten zu finden sind (KAPEL et al. 1999).

Trichinella nativa ist daher vorwiegend bei Fleischfressern der arktischen und subarktischen Regionen zu finden. Die südliche Grenze der Ausbreitung scheint etwa bei einer Isotherme von - 5 °C im Januar zu liegen (MURRELL et al. 2000).

T. nativa konnte in verschiedenen Ländern nachgewiesen werden:

Europa:	Estland, Finnland, Norwegen, Russland und Schweden
Asien:	China, Kasachstan, Kirgisien, Russland, Tadschikistan und Usbekistan
Nord Amerika:	Alaska, Grönland und Kanada

In der Arktis stellt der Eisbär das Hauptreservoir von *T. nativa* dar, so kann diese Spezies in der Muskulatur von Eisbären bis zu 20 Jahren überleben (KUMAR et al. 1990). Aber auch andere Fleischfresser wie Braunbären, Grizzlybären, Wölfe, Füchse und Waschbären sind oft infiziert. Bei Untersuchungen in den arktischen und subarktischen Gebieten Nordamerikas und Eurasiens konnte eine Prävalenz von 0 bis 60 % bei Wildtieren, vor allem bei Wölfen, Füchsen, Polarbären und Braunbären nachgewiesen werden (POZIO 2000a). In Alaska konnte beim Luchs eine Prävalenz von 21 % nachgewiesen werden, mit altersabhängigen Unterschieden von 4 % bei Jungtieren und 59 % bei Tieren von 5 Jahren und älter (ZARNKE et al. 1995). In derselben Region wurden Prävalenzen von 47 % bei Grizzlybären und 27,5 % bei Schwarzbären festgestellt, mit einer Zunahme der Prävalenz von Süden (0 - 20 % beim Schwarzbär) nach Norden (85 - 91 % beim Grizzlybär) (CHOMEL et al. 1998). In Finnland beträgt die Prävalenz beim Luchs bis zu 40,5 %. Auch hier steigt die Prävalenz von Süden nach Norden an. Allerdings wird dort der Marderhund als Hauptreservoir vermutet (OKSANEN et al. 1998). In Grönland konnten sowohl beim Polarbär als auch beim Polarfuchs altersabhängige Prävalenzen festgestellt werden.

Da *Trichinella nativa* in experimentell infizierten Schweinen, Wildschweinen (KAPEL and GAMBLE 2000) und Grasfressern (THEODOROPOULOS et al. 2000) nicht überlebt, scheint die Ansteckung möglicherweise über Fleisch- und Allesfresser stattzufinden. Die Infektivität ist in Ratten nur gering ausgeprägt (MURRELL et al. 2000). Werden Menschen infiziert, erweist sich *Trichinella nativa* als hoch pathogen. Gelegentlich konnte *Trichinella nativa* aber

auch in natürlich infizierten Schweinen und Wildschweinen nachgewiesen werden (POZIO and KAPEL 1999).

2.4.2.3 *Trichinella britovi* (Genotyp T3)

Da *T. britovi* ähnliche morphologische und biologische Merkmale wie *T. spiralis* besitzt, wurde sie erst spät als eigene Spezies erkannt (POZIO et al. 1992a). Im Unterschied zu *T. spiralis* weist *T. britovi* eine größere Gefrierresistenz auf. Larven von *T. britovi* überlebten das Einfrieren in der Muskulatur von Fleischfressern bis zu 6 Monaten bei einer Temperatur von - 20 °C (POZIO et al. 1989). In der Muskulatur von Mäusen (POZIO et al. 1992b), Hausschweinen und Wildschweinen (KAPEL 2000a) beträgt die Überlebensrate nur einige Wochen. In sich zersetzendem Fleisch hält sich *Trichinella britovi* nicht so lange wie *T. nelsoni*. *Trichinella britovi* ist in den gemäßigten Breiten Europas und Asiens verbreitet. Die Isotherme von - 6 °C im Januar scheint die nördlichste Grenze der Verbreitung darzustellen (MURRELL et al. 2000).

T. britovi konnte in folgenden Ländern nachgewiesen werden (POZIO 2000a):

- | | |
|---------|--|
| Europa: | Bulgarien, Weißrussland, Kroatien, Estland, Finnland, Frankreich, Deutschland, Italien, Litauen, Mazedonien, Polen, Slowakei, Spanien, Schweden, Schweiz und Niederlande |
| Asien: | Aserbaidshan, Kasachstan, Russland, Tadschikistan, Turkmenistan und Usbekistan |

Das Hauptreservoir für *Trichinella britovi* sind Fuchs und Marderhund, aber auch andere Fleischfresser wie Wölfe, Bären und Marderartige können als Wirtsreservoir dienen. *Trichinella britovi* ist vor allem bei Tieren des silvatischen Zyklus verbreitet und weist nur eine mäßige Infektiosität für das Hausschwein auf (KAPEL 2000b). *Trichinella britovi* wurde in Pferden nachgewiesen, die von Ost-Europa nach Italien und Frankreich importiert wurden (DUPOUY-CAMET 1999). Im Gegensatz dazu scheint die Infektiosität für andere Pflanzenfresser, z.B. Schafe, gering zu sein (THEODOROPOULOS et al. 2000).

Die Infektiösität in Schweinen und Schadnagern ist gering. Dennoch stellen Wildschweine häufig eine Quelle für menschliche Infektionen dar, obwohl die Prävalenz in natürlichen Wildschweinpopulationen gering ist. In manchen Gebieten Europas beträgt die Prävalenz von *Trichinella britovi* bei Füchsen 20 - 25 %, während sie bei Wildschweinen unter 0,001 % liegt (POZIO 1998). So wurden in einer Untersuchung in der Schweiz zwischen 1988 und 1991 bei 11.226 untersuchten Hausschweinen und 356 getesteten Wildschweinen keine Larven von *T. britovi* gefunden, während 4 von 452 (0,88 %) untersuchten Rotfüchsen positiv waren (GOTTSTEIN et al. 1997). In Deutschland konnte *T. britovi* in Fuchspopulationen in geringer Prävalenz nachgewiesen werden (POZIO et al 2000a). In den Niederlanden wurde bei Füchsen eine Prävalenz von 3,9 % festgestellt.

2.4.2.4 *Trichinella pseudospiralis* (Genotyp T4)

T. pseudospiralis war die erste nicht-kapselbildende Trichinenspezies, die als neue Spezies definiert wurde (GARKAVI 1972). Sie wurde erstmals 1972 in einem Marderhund aus Russland (Kaukasus) nachgewiesen. Die wesentlichen Merkmale von *T. pseudospiralis* sind das Fehlen einer Kapsel und die Fähigkeit, sowohl Säugetiere als auch Vögel zu infizieren. Hitzetoleranz, Gefrierresistenz und die Fähigkeit, in sich zersetzendem Fleisch zu überleben, scheinen geringer ausgebildet zu sein als bei den kapselbildenden Spezies (KAPEL 2000a). *T. pseudospiralis* zeichnet sich gegenüber den anderen Spezies durch relativ kurze Larven und Adulte aus (MURRELL et al. 2000). Da die Larven von *T. pseudospiralis* in der Ammenzelle keine Kapselbildung induzieren, ist der Nachweis mit einem Trichinoskop nur schwer möglich, was möglicherweise die niedrige Anzahl nachgewiesener Infektionen weltweit erklärt (POZIO 2000a).

T. pseudospiralis ist in folgenden Ländern weit verbreitet (POZIO 2000a):

Europa:	Finnland, Frankreich, Italien, und Russland
Asien:	Indien, Kamtschatka, Kasachstan und Thailand
Nord Amerika:	USA (Alabama)
Australien:	Tasmanien

T. pseudospiralis weist ein breites Wirtsspektrum auf und konnte bei Fleischfressern (Marderhund, Steppenfuchs, Wanderratte), fleischfressenden Vögeln (Eule, Krähe, Adler), Beuteltieren (Tigerkatze, Opossum, Beutelteufel), Schadnagern, Schweinen und Menschen nachgewiesen werden (POZIO et al. 1992c). Die Infektösität in Ratten ist mäßig. Es konnte nachgewiesen werden, dass alle Isolate von *T. pseudospiralis* (aus Amerika, Australien und Europa) fähig sind, sowohl Haus- wie auch Wildschweine zu infizieren, wobei allerdings die Persistenz der Larven zwischen den einzelnen Isolaten variierte (KAPEL 2000b; KAPEL und GAMBLE 2000). Schafe konnten experimentell infiziert werden, die Infektivität ist allerdings gering (THEODOROPOULOS et al. 2000). In Australien, Asien und Europa konnten diverse humane Fälle nachgewiesen werden. Die Infektionsquelle war in diesen Fällen Wildschweinefleisch (DUPOUY-CAMET 1999).

2.4.2.5 *Trichinella murrelli* (Genotyp T5)

T. murrelli wurde im Jahre 2000 von POZIO und LA ROSA (2000) als eigene Spezies beschrieben. *T. murrelli* weist in der Muskulatur von Fleischfressern (Katze und Fuchs) eine mäßige Gefrierresistenz auf, die in der Muskulatur von Mäusen und Schweinen deutlich geringer ausgebildet ist (KAPEL 2000a).

T. murrelli ist in den Neoarktischen Regionen der USA in verschiedenen Bundesstaaten nachgewiesen worden. Als Wirte fungieren hauptsächlich Fleischfresser, wie Rotfuchs, Coyote, Waschbär, Rotluchs und Schwarzbär (POZIO and LA ROSA 2000). Bisher wurden insgesamt 32 Isolate von *T. murrelli* nachgewiesen (Tabelle 2.3).

Tabelle 2.3: Vorkommen von *T. murrelli* in den USA (nach POZIO and LA ROSA 2000)

Bundesstaat	Wirt
Pennsylvania	Schwarzbär
Illinois	Wachbär, Kojote und Rotfuchs
Indiana	Nerz, Rotfuchs, Kojote und Waschbär
Georgia	Rotluchs
Connecticut	Pferd

Die nördlichste Grenze der Ausbreitung liegt wahrscheinlich bei einer Isotherme von - 6 °C im Januar, während die südliche Grenze (Mexiko, Zentral und Südamerika) noch genauer bestimmt werden muss (MURRELL et al. 2000). Humane Fälle wurden aus Frankreich gemeldet, bei denen sich die Menschen durch den Verzehr von rohem Pferdefleisch infiziert hatten, das aus den USA (Connecticut) stammte (ANCELLE et al. 1988; DUPOUY-CAMET et al. 1994a). Bei der experimentellen Infektion von Hausschweinen war die Infektiosität von *Trichinella murrelli* geringer als die von *T. britovi*, *T. nelsoni* und *T. pseudospiralis*, aber höher als die von *T. nativa* (KAPEL and GAMBLE 2000, KAPEL 2000b). Natürliche Infektionen beim Schwein konnten nicht nachgewiesen werden, sind aber auch nicht auszuschließen.

2.4.2.6 *Trichinella T6*

Genau wie *T. nativa* weist auch dieser Genotyp eine hohe Gefrierresistenz über mehrere Jahre auf. So waren Larven, die man in Grizzlyfleisch tiefgefroren hatte, auch nach 34 Monaten noch für Mäuse infektiös (POZIO 2000a). In der Muskulatur von Schweinen und Mäusen konnte diese Gefrierresistenz nicht aufgezeigt werden.

Trichinella T6 wurde in den subarktische Regionen Nord Amerikas bei verschiedenen Fleischfressern (Puma, Grizzlybär, Wolf, Graufuchs, Fischmarder und Schwarzbär) nachgewiesen. Bei Untersuchungen von 1966 bis 1972 in Idaho, Montana und Wyoming, wo *Trichinella T6* in der Wildtierpopulation weit verbreitet ist, konnten folgende Prävalenzen bei den verschiedenen Tierarten festgestellt werden (WORLEY et al. 1974):

- Grizzlybär 57,7 %
- Puma 54,4 %
- Vielfraß 50,0 %
- Fischmarder 40,0 %
- Kojote 25,0 %
- Rotluchs 17,9 %
- Schwarzbär 11,9 %

Außerdem konnte *Trichinella T6* bei einem Schwarzbär aus Ontario nachgewiesen werden, der 1998 die Infektionsquelle für einen Menschen war.

Im Vergleich zu *Trichinella nativa* ist die Infektivität und Persistenz in Haus- und Wildschweinen gering. Schafe konnten experimentell nicht infiziert werden. Gelegentlich konnten humane Infektionen durch den Verzehr von Wildbret beobachtet werden (KAPEL 2000a).

2.4.2.7 *Trichinella nelsoni* (Genotyp T7)

Trichinella nelsoni zeigt eine hohe Haltbarkeit in sich zersetzendem Fleisch und ist als Anpassung an die Tropen deutlich hitzeresistenter (Isotherme von 30 °C) als die anderen Genotypen. Die Muskellarven von *T. nelsoni* überleben bis zu 60 Min. bei 56 °C, während die Larven der anderen Spezies bei dieser Temperatur schon innerhalb von 10 Min. abgetötet werden (MURRELL et al. 2000). Die Gefrierresistenz ist dagegen nur gering ausgebildet. *T. nelsoni* weist Ähnlichkeiten mit *T. spiralis*, *T. britovi* und *T. murrelli* auf.

T. nelsoni ist in den tropischen Regionen Afrikas zu finden. Vor allem geschützte Gebiete in Afrika (südlich der Sahara) scheinen wichtige Ökosysteme darzustellen, in denen Trichinen im silvatischen Zyklus übertragen werden. Dagegen konnten in anderen Gebieten, in denen das Ökosystem nicht speziell geschützt wird, bisher keinerlei Trichinenlarven nachgewiesen werden (POZIO et al. 1997a).

Vor allem Aasfresser wie die Tüpfelhyäne, aber auch Fleischfresser, wie Löwe, Löffelhund, Gepard und Leopard können als Reservoir dienen. Bei experimentellen Übertragungen wies *T. nelsoni* sowohl bei Haus- als auch bei Wildschweinen eine mäßige Infektivität, aber eine gute Persistenz auf (KAPEL 2000b; KAPEL and GAMBLE 2000). Wildschweine sind eine häufige Infektionsquelle für den Menschen, allerdings ist die Pathogenität von *T. nelsoni* im Menschen gering (KAPEL 2000a). In natürlich infizierten Pflanzenfressern konnte der Genotyp nicht nachgewiesen werden. In Ratten ist die Infektivität von *T. nelsoni* geringer als die von *T. spiralis*, in Mäusen und Meerschweinen ist sie dagegen ähnlich (POZIO et al. 1992c).

2.4.2.8 *Trichinella T8*

Der Genotyp *T8* weist große Ähnlichkeiten mit *Trichinella britovi* auf. Der Parasit wurde bisher nur 3-mal bei Fleischfressern in Süd Afrika (Krüger-Nationalpark) und Namibia (Etosha Park) nachgewiesen.

Seine Verbreitung in Afrika gilt als rätselhaft, da er eng mit *T. britovi* und *T. murrelli* verwandt ist, die nur in der nördlichen Hemisphäre verbreitet sind (LA ROSA and POZIO 2000).

2.4.2.9 *Trichinella T9*

Der Genotyp *T9* ist *Trichinella britovi* ähnlich. Er tritt in Japan im silvatischen Zyklus auf und wurde dort bisher bei einem Marderhund und einem Schwarzbär nachgewiesen.

2.4.2.10 *Trichinella papuae* (Genotyp T10)

1988 wurde erstmals *T. papuae* in der Muskulatur von 5 Hausschweinen aus einem Dorf (Balamuk) in Papua-Neuguinea festgestellt. Bei der darauf folgenden Untersuchung von Hunderten von Hausschweinen, 67 Wildschweinen und 83 Wildtieren (7 Reptilien, 3 Vögel und 73 Säugetiere) von 1988 - 1989 konnte *T. papuae* bei 6 weiteren Wildschweinen (8,8 %) festgestellt werden (POZIO et al. 1999). Alle infizierten Tiere stammten aus derselben abgelegenen Region.

Wie *Trichinella pseudospiralis*, bildet auch *T. papuae* keine Kapsel aus. Im Unterschied zu *T. pseudospiralis* kann der Genotyp T10 allerdings keine Vögel infizieren, was auf eine andere evolutionäre Entwicklung schließen lässt. Die Larven von *Trichinella papuae* werden bis zu einem Drittel länger als die Larven von *T. spiralis* und *T. pseudospiralis*. Infektiöse Larven von *T. papuae* können nicht mit anderen Spezies oder Genotypen von *Trichinella* gekreuzt werden (MURRELL et al. 2000). *T. papuae* weist keine Gefriertoleranz auf.

In der freien Natur konnten bisher nur Infektionen bei Haus- und Wildschweinen nachgewiesen werden. Im Labor wurde auch eine Infektivität in Mäusen nachgewiesen (POZIO et al. 1999). Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Genotyp T 10 eventuell aus der Nachbarregion Irian Jaya (Indonesien) stammt. Die weitere Verbreitung ist bisher unbekannt.

2.4.2.11 *Trichinella zimbabwensis* (Genotyp T11)

1995 wurde eine Trichinenart erstmals auch bei Reptilien nachgewiesen. Dabei handelte es sich um *T. zimbabwensis* bei Krokodilen auf einer Farm in Zimbabwe. Von 648 untersuchten Krokodilen waren 256 (39,5 %) infiziert und bei 18 (62,1 %) der damals existierenden 29 Farmen wurden infizierte Krokodile festgestellt. Bei neueren Untersuchungen im Jahre 2002 wurden in 11 (40,7 %) von 27 Farmen infizierte Krokodile festgestellt (POZIO et al. 2002).

T. zimbabwensis bildet keine Kapsel in der Wirtsmuskulatur und weist die größte Ähnlichkeit mit *T. papuae* auf. Die infektiösen Larven beider Spezies können in beide Richtungen (Weibchen und Männchen) miteinander gekreuzt werden, produzieren aber nur vermindert fertile Larven. *T. zimbabwensis* ist nicht gefrierresistent (POZIO et al. 2002).

T. zimbabwensis kann als einzige Trichinenspezies die Reptilien auf natürlichem Wege infizieren. Andere Spezies konnten im Labor auf Reptilien nur dann erfolgreich übertragen werden, wenn diese künstlich in erhöhter Umgebungstemperatur gehalten wurden. *T. zimbabwensis* kann auch Säugetiere, wie Mäuse, Ratten, Paviane und Schweine infizieren und zeigt in Ratten und Schweinen eine hohe Infektiosität. Im Gegensatz zu *T. pseudospiralis* ist *T. zimbabwensis* jedoch nicht auf Vögel übertragbar.

T. zimbabwensis ist die erste nichtkapselbildende Spezies, die in Afrika entdeckt wurde. Die Existenz einer Trichinenspezies, die sowohl Säugetiere als auch Reptilien infizieren kann, könnte darauf schließen lassen, dass der Ursprung der Gattung *Trichinella* zeitlich weiter zurückliegt als bisher vermutet (POZIO et al. 2002).

2.5 Epidemiologie der Trichinellose

Die Trichinellose wurde zuerst bei Menschen und Haustieren nachgewiesen. In den folgenden Jahren konzentrierte sich die Forschung daher auf die Trichinellose bei Hausschweinen und Ratten, um die Übertragung auf den Menschen zu verhindern. Erst später wurde das Vorkommen der Trichinellose bei Wildtieren und die Existenz eines silvatischen Zyklus, der unabhängig vom domestischen Zyklus ist, bearbeitet. 1983 beschrieb CAMPBELL (1983b) erstmals die beiden Übertragungszyklen der Trichinellose und wies ebenfalls auf Übertragungswege zwischen den beiden Zyklen hin.

2.5.1 Domestischer Zyklus

Der vorherrschende Erreger des domestischen Übertragungszyklus ist *T. spiralis*. Alle anderen Genotypen der Trichinen werden vorwiegend durch Wildtiere, d.h. über den silvatischen Zyklus übertragen. Obwohl *T. spiralis* auch auf Tiere des silvatischen Zyklus und silvatische Genotypen auch auf den domestischen Zyklus übertragen werden können, stellt der domestische Zyklus im Normalfall eine Sackgasse für die silvatischen Genotypen dar.

Zum Eindringen silvatischer Genotypen in das domestische Habitat kommt es vor allem dann, wenn Hausschweine z.B. mit Überresten von silvatischen Tieren gefüttert werden oder frei in Wildarealen umherstreifen können (POZIO 1998).

Das Hausschwein kann sich laut POZIO (2000a) auf verschiedenen Wegen mit Trichinen infizieren:

- 1) Aufnahme von infizierten Fleischstücken, die von anderen Hausschweinen stammen
- 2) Aufnahme von infizierten synanthropen oder silvatischen Tieren (z. B. Ratten)
- 3) Schwanzbeißen bei infizierten Schweinen
- 4) Aufnahme von Kot, der von Tieren stammt, die wenige Tage zuvor trichinöses Fleisch zu sich genommen haben

T. spiralis unterscheidet sich von anderen Genotypen vor allem durch ihre hohe Infektivität für Schweine und Schadnager. Daher ist *T. spiralis* auch der einzige Genotyp, der sich innerhalb des domestischen Zyklus über unterschiedliche Übertragungswege weiterverbreiten kann (z. B. Schwein – Schwein, Schwein – Ratte – Schwein, Schwein – Schlachtabfälle – Schwein, Ratte – Ratte) oder der vom domestischen Kreislauf auf den silvatischen übertragen werden kann (z. B. Schlachtabfälle – synanthrope Tiere – silvatische Tiere, Ratte – silvatische Tiere, Hausschweine aus ökologischen Kleinbetrieben – silvatische Tiere) (POZIO 2000a).

Der domestische Zyklus ist vor allem dort verbreitet, wo Hausschweine in kleinen bäuerlichen Betrieben ohne mikrobiologische Barrieren und ohne veterinärmedizinische Kontrolle gehalten werden (POZIO 2000a). In Osteuropa wurden Ökonomie der verschiedenen Länder und Qualität der fleischhygienischen Kontrollen stark durch die politischen Veränderungen der letzten 15 Jahre beeinflusst. So stieg die Prävalenz der domestischen Trichinellose in einigen Ländern wie Weißrussland, Kroatien, Georgien, Litauen, Rumänien, Russland, Serbien und der Ukraine rapide an. Während in Russland z. B. die Schweinepopulation von 26 Mio. im Jahr 1980 auf 7 Mio. im Jahr 1994 abnahm, stieg die Prävalenz der Trichinellose von 2,5 pro 1 Mio. im Jahre 1982 auf 8,9 pro 1 Mio. geschlachteter Schweine im Jahre 1994 an. Die Gründe sind im Zerfall großer kollektiver Schweineproduktionsbetriebe in kleine Schweinehaltungen ohne veterinärmedizinische Kontrolle, in ungenügender Schadnagerkontrolle und einer zunehmenden Bejagung von Wildschweinen zu finden (POZIO 2000a).

In China kann in einigen Gebieten eine sehr hohe Prävalenz von 0,64 bis zu 50,4 % infizierter Schweine auf ärmliche Verhältnisse und fehlende fleischhygienische Kontrolle zurückgeführt werden. So besitzt ein Großteil der Bevölkerung keinerlei Wissen über die Vorbeugung der Trichinellose oder sogar über deren Existenz selbst. Auch in Argentinien, Chile und Mexiko ist die Prävalenz von *Trichinella* im domestischen Zyklus hoch. In der nördlichen Hemisphäre kommt es zwischen Dezember und Januar gehäuft zu humanen Trichinellosefällen, da zu diesem Zeitpunkt der Verbrauch an Schweinefleisch stark anwächst.

Gelegentlich können jedoch auch silvatische Genotypen im domestischen Zyklus nachgewiesen werden:

- *T. britovi* bei Hausschweinen in Weißrussland, Kroatien, Estland, Frankreich, Italien, Mazedonien und Spanien
- *T. pseudospiralis* in verschiedenen Regionen Russlands
- *T. papuae* in Neu Guinea

In den meisten Fällen war die Ansteckungsquelle der Kadaver eines Wildtieres. In anderen Fällen wurden Schweine in Gebieten, in denen die Trichinellose im silvatischen Zyklus bei Karnivoren endemisch war, im Freiland gehalten (POZIO 2000a).

2.5.2 Silvatischer Zyklus

Fleischfressende Wildtiere stellen das eigentliche Reservoir für *Trichinella* dar (POZIO 2000a). Während *Trichinella spiralis* vor allem im domestischen Zyklus zu finden ist, haben die anderen Genotypen im silvatischen Habitat ihre individuellen ökologischen Nischen gefunden. Der silvatische Zyklus kann nach POZIO (2000a) als ein „geschlossenes System“ betrachtet werden, wobei die silvatischen Genotypen von einem Fleischfresser zum nächsten weitergegeben werden, oft auch durch Kannibalismus. Zur Übertragung auf den domestischen Zyklus kommt es erst durch den direkten Einfluss des Menschen.

In der EU stellt der Rotfuchs das Hauptreservoir der silvatischen Trichinellose dar und in Finnland der Marderhund. Auch andere Marderartige und Fleischfresser können infiziert sein, sie spielen aber auf Grund ihrer kleinen Population eine geringere Rolle bei der Verbreitung der silvatischen Trichinellose.

Im silvatischen Zyklus Finnlands und Schwedens ist *T. nativa* als Hauptvertreter der Trichinellose verbreitet, im restlichen Europa dagegen *T. britovi*.

Das Vorkommen der silvatischen Trichinellose in Europa steht in Zusammenhang mit der Bevölkerungsdichte. In Gebieten mit einer relativ geringen Bevölkerungsdichte, wie z.B. in Teilen Frankreichs (56 Einwohner / km²) und Italiens (73 Einwohner / km²) tritt der silvatische Zyklus oft in Erscheinung. In Regionen mit einer durchschnittlichen Bevölkerungsdichte mit über 106 Einwohnern / km², wie in manchen Ballungsgebieten Italiens (238 Einwohner / km²) ist der silvatische Zyklus dagegen nicht nachweisbar (POZIO et al. 1996).

In Frankreich variiert die Prävalenz von *Trichinella spp.* in der Fuchspopulation von 0,1 %, in einer Höhe von unter 500 m über dem Meeresspiegel bis 2,5 % in höher gelegenen Gebieten. In der Wildschweinpopulation variiert die Prävalenz von 0,0002 % (unter 500 m) bis 0,0003 % (in hochgelegenen Gebieten). In Italien stellt sich ein ähnliches Bild dar. Die Prävalenz in der Fuchspopulation variiert dort von 0,2 % (unter 500 m) bis 7,8 % (in hochgelegenen Gebieten) und in der Wildschweinpopulation von 0,0 % bis 0,006 % (POZIO et al. 1996). Die Erklärung hierfür liegt in den Fressgewohnheiten der Hauptwirte. Kannibalismus und das Fressen von Aas ereignen sich eher in abgelegenen Wildgebieten. In der Nähe von menschlichen Behausungen finden Fleischfresser interessantere Futterquellen wie Fleischabfälle oder domestische Tiere (POZIO 1998).

2.5.3 Übertragungswege und Faktoren

Das Vorkommen von Trichinen im silvatischen und domestischen Zyklus und die Übertragungswege zwischen den beiden Zyklen werden durch den biologischen Charakter der einzelnen Genotypen, durch menschliches Verhalten, durch das Vorkommen von synanthropen Tieren und durch die Charakteristiken des Ökosystems bestimmt (POZIO 2000a).

2.5.3.1 Biologische Eigenschaften der Genotypen

Die biologischen Eigenschaften der Genotypen werden unter anderem durch die Reproduktionskapazität, den Überlebenszeitraum der Larven im Wirt und die Überlebensfähigkeit der Larven in gefrorenem Fleisch oder bei hohen Temperaturen bestimmt.

Die Reproduktionskapazität bezeichnet die Anzahl an infektiösen Larven, die in einem Wirt gebildet werden kann. Die Anzahl der frisch produzierten Larven pro weiblicher Trichine ist in erster Linie abhängig vom *Trichinella* Genotyp und der betroffenen Wirtsspezies und erst in zweiter Linie von der Wirtsimmunität, die die Überlebensdauer der weiblichen Trichinen bestimmen kann (POZIO 2000a).

Da die Reproduktionskapazität der silvatischen Genotypen in Schweinen und Schadnagern nur gering ist, kommen diese nur selten im domestischen Zyklus vor. Der domestische Zyklus stellt daher für sie weitestgehend eine Sackgasse dar.

Der Überlebenszeitraum der Larven, d.h. die Zeit, die die Larven in der Muskulatur des Wirtes überleben können, wird durch den Lebensraum und die Lebenserwartung des Wirtes mit beeinflusst und bestimmt so die Rolle des infizierten Wirtes als Reservoir. Wenn das Wirtstier stirbt, kann der Parasit noch eine Zeit lang in einer Art „free-living stage“ in dem verrottenden Kadaver überleben. Die Fähigkeit einiger Genotypen, in gefrorenem Fleisch oder bei hohen Umgebungstemperaturen zu überleben, leistet einen wichtigen Beitrag zur Verbreitung der Trichinellose (POZIO 2000a).

2.5.3.2 Einfluss des Menschen

Auch der Mensch kann das Vorkommen und die Übertragungswege der Trichinellose auf verschiedene Weise beeinflussen (POZIO 2000a):

- Wildtierkadaver und -reste werden nicht ordnungsgemäß entsorgt
- Fleisch von silvatischen Tieren wird zur Ernährung von Haustieren genutzt

- Wildtierfleisch wird als Köder für silvatische Tiere verwendet
- Nicht kontrolliertes Fleisch wird für den menschlichen Verzehr genutzt

In Ländern, in denen die Prävalenz der humanen Trichinellose sehr gering ist, kann es dadurch zu Fällen kommen, dass Fleisch oder Rohwurstwaren aus Ländern, in denen die Trichinellose noch weit verbreitet ist, importiert werden. So treten immer wieder menschliche Fälle von Trichinellose in den Ländern Mittel- und Südamerikas auf, die einen großen Anteil an spanisch-stämmigen Einwohnern haben (z.B. Argentinien, Bolivien, Chile und Mexiko), da die Trichinellose in Spanien noch weit verbreitet ist. Dagegen tritt in Brasilien, wo der Anteil an portugiesisch-stämmigen Einwohnern hoch ist, die Trichinellose nicht auf, was darauf zurückgeführt werden kann, dass die Trichinellose in Portugal nicht vorkommt (POZIO 2000a).

In Grönland wird die Prävalenz von *Trichinella nativa* in Polarfüchsen und Polarbären z.B. von den Jagdgewohnheiten der Inuit mit beeinflusst. Eine wichtige Rolle spielen dabei die Schlittenhunde, die eine Prävalenz zwischen 0 - 91 % aufweisen können. Sie werden mit dem erjagtem Fleisch der Eisbären gefüttert und nach ihrem Tod in Gletscherspalten entsorgt, wo sich wiederum die Tiere des silvatischen Zyklus infizieren können.

In Nord-Kasachstan beträgt die Prävalenz von *T. nativa* in der Population der Steppenfüchse bis zu 50 %. Grund dafür sind ebenfalls die dort herrschenden Jagdgewohnheiten, so werden Teile der Fuchskadaver als Köder genutzt und die Kadaver nicht ordnungsgemäß entsorgt. So können sich wieder andere Wildtiere durch den Verzehr der Kadaver mit Trichinellose infizieren.

Wir haben heute das Wissen und die Möglichkeit, die Trichinellose in den domestischen Lebensräumen zu kontrollieren und zu verhindern, aber politische und wirtschaftliche Veränderungen und eine ineffektive Hygieneüberwachung können schnell ein Wiederauftreten und die Verbreitung der Trichinellose zur Folge haben (POZIO 2000a).

2.5.3.3 Die Rolle synanthroper Tiere

Die Rolle der Wanderratte bei der Verbreitung und Übertragung der Trichinellose ist stark umstritten (POZIO 2000a). Nach LEIBY et al. (1990) spielen Ratten die wichtigste Rolle bei der Übertragung der Trichinellose, während sie nach MADSEN (1974) so genannte „Opfer“ darstellen, die nur dort infiziert werden, wo Hausschweine mit Trichinellen infiziert sind.

Fakt ist, dass infizierte Ratten nur dort nachgewiesen werden konnten, wo das Hausschwein schon betroffen war, oder die Ratten Zugang zu infizierten Tierkadavern hatten (POZIO 2000a). Es gibt keinerlei Berichte darüber, dass infizierte Ratten irgendwo aufgefunden wurden, wo Trichinen nicht schon bei Wildtieren oder Hausschweinen gefunden wurden. Die Ratten können dann die Infektion von einem Schweinebetrieb auf den nächsten übertragen.

In den USA konnte nachgewiesen werden, dass Ratten, Stinktiere, Opossums und Waschbären, die in der Nähe von Farmen mit infizierten Hausschweinen gefunden wurden, die gleiche Trichinenspezies aufwiesen (MURRELL et al. 1987). Mit ihren synanthropen Eigenschaften könnten sie das Bindeglied zwischen dem silvatischen und dem domestischen Zyklus darstellen (POZIO 2000a).

Füchse und einige Marderartige können ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Übertragung der Trichinellose spielen. In manchen Regionen der Welt sind Füchse in unmittelbarer Nähe der menschlichen Umgebung zu finden. Auch andere Fleischfresser, wie Hund und Katze, könnten eine Rolle als synanthrope Überträger spielen. Katzen ernähren sich von Schadnägern und werden häufig mit Schlachtabfällen gefüttert. In einigen Fällen konnten Trichinen bei Hauskatzen isoliert werden, wo zuvor Menschen infiziert worden waren (POZIO 2000a). Durch das Herumstreifen der Katzen kann es wiederum zu einer Übertragung vom domestischen auf das silvatischen Habitat kommen. Auch wurden in traditionellen Schweinehaltungen gelegentlich Teile von Katzen- und Hundekadavern an Hausschweine verfüttert, was zu einer Übertragung der Trichinellose beigetragen haben könnte (POZIO 2000a).

2.5.3.4 Trichinellose beim Pferd

1975 wurden erstmals Humanfälle von Trichinellose auf den Verzehr von Pferdefleisch zurückgeführt. Seither war Pferdefleisch mit mehr als 3.200 Humanfällen in 13 Ausbrüchen die Ursache für 52,8 % der Humantrichinellosen in der Europäischen Union (ANCELLE 1998, BOIREAU et al. 2000).

Alle Fälle traten in Frankreich und Italien auf. Die infizierten Pferde waren aus dem Ausland importiert worden, die Mehrzahl aus osteuropäischen Ländern. Laut POZIO (2000b), gelangten in der EU in den letzten 25 Jahren etwa 6 Mio. Pferde zum Verzehr. Allein Frankreich und Italien machten 71 % davon aus. Beide Länder sind die einzigen in der EU, in denen Pferdefleisch roh konsumiert wird (POZIO 2000b).

Da beim Pferd anfangs nur geringe Probenmengen untersucht wurden, konnten viele infizierte Pferde nicht erkannt werden (POZIO 2000b). Bei der späteren Untersuchung von größeren Probenmengen konnten in Italien und Frankreich Trichinenlarven in 8 importierten Pferden aus dem ehemaligen Jugoslawien, Polen und Rumänien und in 4 Pferden aus Mexiko nachgewiesen werden (POZIO 2000b).

Weltweit scheint die Prävalenz von *Trichinella* in Pferden gering zu sein. Seit 1975 konnten nur 25 natürlich infizierte Pferde nachgewiesen werden (21 in Italien / Frankreich und 4 in Mexiko). In 56 % der Fälle waren die Pferde mit *T. spiralis* infiziert, in 12 % der Fälle mit *T. britovi* oder *T. murrelli*. Bei den restlichen Tieren konnte die Trichinenspezies nicht identifiziert werden (POZIO 2000b).

Verschiedene Arten der Infektion werden beim Pferd diskutiert (POZIO et al. 1997b):

- Aufnahme von Insekten, die als paratenischer Wirt (Transportwirt) dienen
- Gras auf Weiden, die mit den Ausscheidungen von Tieren kontaminiert sind die 1 - 2 Tage vorher mit Trichinen infiziert worden sind
- Gras auf Weiden, die mit infiziertem Fleischstückchen oder Aas kontaminiert sind
- Aufnahme von infiziertem Fleisch

Zum Nachweis der Trichinellose beim Pferd sollten keine serologischen Nachweismethoden verwendet werden, da Antikörper schon etwa nach 20 Wochen p.i. rapide absinken und spätestens 25 Wochen p.i. nicht mehr nachzuweisen sind (BOIREAU et al. 2000).

2.6 Verbreitung von *Trichinella* in Europa

In Europa sind 4 *Trichinella*-Spezies vertreten (DUPOUY-CAMET 1999):

- 1) *Trichinella spiralis* (als Vertreter der domestischen Trichinellose)
- 2) *Trichinella britovi* (als Vertreter der silvatischen Trichinellose in den gemäßigten Gebieten Europas)
- 3) *Trichinella nativa* (als Vertreter der silvatischen Trichinellose in den arktischen Gebieten Europas)
- 4) *Trichinella pseudospiralis* (als nichtkapselbildende Spezies Europas)

In den meisten Ländern der Europäischen Union ist ausschließlich der silvatische Zyklus der Trichinellose vertreten (Tabelle 2.4). Hier spielt besonders der Rotfuchs als Reservoir eine wichtige Rolle (DUPOUY-CAMET 1999). Während in Dänemark die *Trichinella*-Prävalenz mit < 0,1 % relativ gering ist (ENEMARK et al. 2000), liegt sie in Frankreich mit 1,7 % (LA ROSA et al. 1991) und in Polen mit 7,5 % (MALCZEWSKA et al. 1997) deutlich höher. Als Ursache dafür werden unterschiedliche Ökosysteme vermutet (POZIO et al. 2000). Neben dem silvatischen Zyklus tritt in manchen Gebieten Spaniens und Finnlands auch der domestische Zyklus beim Hausschwein auf. In vielen osteuropäischen Ländern kommt es seit einigen Jahren zu einem Anstieg der *Trichinella*-Prävalenz sowohl im silvatischen als auch im domestischen Zyklus.

Tabelle 2.4: Vorkommen von Arten der Gattung *Trichinella* und deren Übertragungszyklus in verschiedenen Ländern in Europa (POZIO 2001)

Länder	Domestischer Zyklus	Silvatischer Zyklus
Albanien	–	<i>T. britovi</i>
Belgien	–	–
Bosnien und Herzegovina	–	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Bulgarien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Dänemark	–	–
Deutschland	–	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
England	–	–

Tabelle 2.4 (Fortsetzung)

Finnland	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i> / <i>T. nativa</i> / <i>T. pseudospiralis</i>
Frankreich	–	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Georgien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Griechenland	–	<i>T. britovi</i>
Irland	–	–
Italien	–	<i>T. britovi</i> / <i>T. pseudospiralis</i>
Kroatien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Lettland	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Litauen	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Luxemburg	–	–
Mazedonien	–	<i>T. britovi</i>
Moldavien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Niederlande	–	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Norwegen	–	<i>T. nativa</i> / <i>T. britovi</i>
Österreich	–	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Polen	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Portugal	–	<i>T. britovi</i>
Rumänien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Russland	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i> /
Schweden	–	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i> / <i>T. nativa</i>
Schweiz	–	<i>T. britovi</i>
Serbien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Slowakei	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Slowenien	–	<i>T. britovi</i>
Spanien	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Tschechien	–	<i>T. britovi</i>
Türkei	–	<i>T. britovi</i>
Ukraine	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Ungarn	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>
Weißrussland	<i>T. spiralis</i>	<i>T. spiralis</i> / <i>T. britovi</i>

In Deutschland wurden zwischen 1999 und 2003 jährlich 42 bis 43 Mio. Hausschweine geschlachtet, wobei nur 1 Tier Trichinen-positiv war. Dieses stammte aus einem kleinbäuerlichen Betrieb aus NRW, das sich in Freilandhaltung infiziert hatte. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die deutschen Schweinebestände praktisch Trichinen-frei sind (NÖCKLER 2005). Die jährlich untersuchten 15.000 bis 20.000 Schlachtpferde waren bisher frei von Trichinen (NÖCKLER 2000; 2005).

In den Jahren 1991 bis 2003 wurden jeweils etwa zwischen 250.000 und 500.000 Stück Schwarzwild untersucht, von denen je 4 bis 26 Tiere Trichinen-positiv waren. Das entspricht einer Prävalenz von 0,001 bis 0,01 %. Beim Rotfuchs betrug die Prävalenz in manchen Gebieten bis zu 0,2 % (NÖCKLER 2005).

2.7 Risiken für den Menschen

In Europa ereignen sich jährlich Trichinellose-Ausbrüche mit Hunderten von Humanfällen. Die Mehrheit der Humantrichinellosen (2.600 Fälle) in den letzten 20 Jahren konnte auf den Verzehr von infiziertem Pferdefleisch in Frankreich und Italien zurückgeführt werden. Die infizierten Pferde waren aus Nicht-EU-Staaten importiert worden (NÖCKLER 2000). In demselben Zeitraum wurden 1.200 Humanfälle in Frankreich, Italien, Spanien und Deutschland durch den Verzehr von infiziertem Wildschweinefleisch hervorgerufen. Das Fleisch von erlegtem Wild gewinnt als Infektionsquelle für die Trichinellose in verschiedenen Ländern (wie z.B. Bulgarien, Litauen, Russland und einigen EU-Ländern) zunehmend an Bedeutung.

Humanfälle, die auf infizierte Hausschweine zurückzuführen sind, treten nur selten auf und sind meist importiert. Nur in Spanien konnten Humantrichinellosen mit dem Verzehr von Hausschweinefleisch aus bäuerlichen Kleinbetrieben in Zusammenhang gebracht werden (POZIO 1998).

In der Europäischen Union konnte laut DUPOUY-CAMET (1999) bis 1999 eine Zunahme der Trichinelloseausbrüche festgestellt werden. Ein Teil der infizierten Tiere wurde in der EU gehalten und erjagt, der Grossteil der Tiere stammte jedoch aus Ländern außerhalb der EU. Die Zunahme der Trichinellose kann auf verschiedene Gründe zurückgeführt werden. Zum einen hat der Wissenstand über die Trichinellose immer mehr zugenommen, so dass die Fälle zuverlässiger erkannt werden können, zum anderen hat die Wildschweinpopulation zugenommen. Auch werden infizierte Pferde aus Ländern, in denen die Trichinellose endemisch ist, importiert, während die veterinärmedizinischen Kontrollen dort zum Teil noch unzureichend sind.

Jährlich treten mehrere hundert bis tausend Fälle von Humantrichinellose in den Ländern des ehemaligen Jugoslawien, in Rumänien, Litauen, Russland und Bulgarien auf (NÖCKLER 2000). Laut POZIO (2001) konnte vor allem in den 1990iger Jahren in verschiedenen Städten in Weißrussland, Kroatien, Lettland, Litauen, Rumänien, Russland, Serbien und der Ukraine ein deutlicher Anstieg der Prävalenz der Trichinellose auf bis zu 50 % beobachtet werden. Gründe dafür sind politische Veränderungen, Kriege und die allgemeine Verschlechterung des dortigen sozial-ökonomischen Zustandes (WRUCK 1998).

Tabelle 2.5: Ausbrüche von Humantrichinellosen in Europa (MURRELL und POZIO 2000)

Land	Jahr	Anzahl der Fälle	Infektionsquelle	Trichinenspezies
Bulgarien	1993 - 1995	2335	Hausschwein, Wildschwein	<i>T. spiralis</i>
Deutschland	1990 - 1998	82	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
England	1999	8	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
Frankreich	1992 - 1999	27	Wildschwein	<i>T. britovi</i> , <i>T. pseudospiralis</i>
	1991 - 1998	1097	Pferd	<i>T. spiralis</i>
Italien	1990 - 2000	621	Pferd	<i>T. spiralis</i>
		13	Hausschwein	<i>T. britovi</i>
Kroatien	1994 - 1996	425	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
	1997 - 1998	1024	Hausschwein	?
Lettland	1995 - 1997	156	Hausschwein, Wildschwein	?
	1999	40	?	?
Litauen	1993 - 1999	1290	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
Polen	1993 - 1997	352	Hausschwein, Wildschwein	<i>T. spiralis</i>
Rumänien	1990 - 1999	16712	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
Russland	1993 - 1994	1720	Hausschwein, Wild	?
	1995 - 1997	1432	Hausschwein	?
Serbien	1995 - 1998	1806	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
	1999	559	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
Slowakei	1998 - 1999	336	Hund	<i>T. britovi</i>
		30	Wild	?
Spanien	1993 - 1995	98	Hausschwein	<i>T. spiralis</i>
	1995 - 1998	192	Wildschwein	<i>T. spiralis</i>
Weißrussland	1987 - 1994	268	Hausschwein, Wild	?

In der Bundesrepublik Deutschland kommt die Trichinellose bei Menschen nur selten vor. So werden jährlich nur etwa 0 bis 10 Fälle gemeldet, die zumeist auf Auslandsaufenthalte in Osteuropa zurückgeführt werden konnten (NÖCKLER 2000).

Größere Ausbrüche gab es:

- 1967 in Rheinland-Pfalz
- 1977 in Bayern
- 1982 in Rheinland-Pfalz
- 1998 in Nordrhein-Westfalen

In allen Fällen war das infizierte Haus- oder Wildschweinfleisch vorher nicht ordnungsgemäß untersucht oder behandelt worden. Bei dem Ausbruch im Jahre 1982 in Bitburg in der Eifel mit insgesamt 408 betroffenen Personen handelte es sich um den bisher größten Fall.

Bei dem Ausbruch 1998 in Nordrhein-Westfalen wurden mehr als 50 Fälle in 11 Städten gemeldet. Als Ansteckungsquelle wurde unter anderem eine Mettwurst vermutet, die von der Mehrzahl der infizierten Personen aufgenommen worden war. Die Mettwurst war aus tiefgefrorenen Schweinebäuchen aus Belgien und Deutschland und aus frischen Sauennacken aus Spanien hergestellt worden. Als Infektionsquelle wurde der Sauennacken vermutet, da Trichinen durch Tiefgefrieren abgetötet werden. Eine Untersuchung der Mettwurst konnte nicht vorgenommen werden. Zusätzlich hatten sich einigen Personen über gemischtes Hackfleisch aus Rind- und Schweinefleisch infiziert. Bei einer Untersuchung des Hackfleisches konnte *Trichinella spiralis* nachgewiesen werden (NÖCKLER 2000).

Durch die unterschiedliche Verteilung der verschiedenen Genotypen im silvatischen und domestischen Zyklus kann die Gefahr der Ansteckung für den Menschen zwischen den verschiedenen Ländern stark variieren. Die Hauptansteckungsquelle für den Menschen liegt im Verzehr von rohem oder nicht ausreichend erhitztem Muskelfleisch von Schwein, Wild oder Pferd, das nicht ausreichend untersucht wurde. Die meisten Infektionen beim Menschen weltweit stehen mit dem Verzehr von mit *Trichinella spiralis* infizierten Haus- oder Wildschweinen in Verbindung. Epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass die infizierten Hausschweine meist aus kleinen, konventionellen Schweinehaltungen stammten

oder aus Haltungen, in denen ein Kontakt zu Wildtieren möglich war. In den damaligen 15 Ländern der Europäischen Union konnten seit dem ersten Weltkrieg keine Humanfälle mehr auf Hausschweine aus industrialisierten Haltungen zurückgeführt werden (POZIO 1998).

Das Vorkommen des domestischen Zyklus in einer Region ist mit dem gleichzeitigen Auftreten von *Trichinella* bei Wildschweinen (silvatischer Zyklus) vergesellschaftet. Wo der domestische Zyklus von *Trichinella* weit verbreitet ist, ist die Prävalenz in der Wildschweinpopulation höher als in Gebieten, in denen der domestische Zyklus nicht mehr auftritt. Der Grund hierfür liegt möglicherweise in der Kombination von kleinen, konventionellen Haltungen mit schlechtem Hygienemanagement, bei denen mit *Trichinella* infiziertes Fleisch hofnah in Behältnissen aufbewahrt wird, zu dem sich auch Wildschweine leicht Zugang verschaffen können. Zu so einer Verbreitung der Trichinellose kommt es meist in Ländern, in denen die veterinärhygienische Kontrolle gar nicht oder nur ansatzweise vorhanden ist (POZIO 2000a).

Die Anzahl der Infektionen beim Menschen, die auf die Ansteckung durch Karnivoren oder Omnivoren zurückgeht, ist eher gering. Sie ist vor allem dort anzutreffen, wo Wild aus sportlichem Interesse gejagt wird (MOORHEAD et al. 1999), oder in Entwicklungsländern, in denen Wildfleisch eine wichtige Fleischquelle darstellt. Da auch gefrierresistente Genotypen wie *T. nativa*, *T6* und zu einem geringen Anteil auch *T. britovi* in Wildtieren zu finden sind, bietet das vorherige Einfrieren von Wildfleisch keinen vollständigen Schutz vor einer Infektion. Eine Gefahr stellt vor allem das Fleisch von Karnivoren dar, da dort die Gefrierresistenz hoch ist, während sie in dem Fleisch von Haus- und Wildschweinen auf wenige Tage reduziert ist (POZIO und KAPEL 1999). Wird gefrorenes Karnivorenfleisch aus arktischen Gebieten in gemäßigte Regionen gebracht, besteht das Risiko, dass gefrierresistente Genotypen vom silvatischen auf den domestischen Zyklus übertragen werden, wenn das infizierte Fleisch von Hausschweinen oder synanthropen Tieren aufgenommen wird (POZIO 2000a).

Ein weiteres Risiko für den Menschen stellen Fleischwaren dar, die durch Räuchern, Pökeln oder Trocknen haltbar gemacht werden, da diese Verfahren nicht immer ausreichen, um vorhandene Trichinenlarven abzutöten, vor allem dann, wenn die benötigte Zeit nicht eingehalten wird oder die Salzkonzentration zu gering ist (POZIO 2000a).

2.8 Trichinellose des Menschen

Die Trichinellose ist eine Zoonose mit weltweiter Verbreitung. Die Schwere der Erkrankung und die Ausprägung der Symptome sind beim Menschen abhängig von der Anzahl der aufgenommenen infektiösen Larven, der beteiligten Trichinenspezies und von der Immunantwort.

2.8.1 Klinische Aspekte der Trichinellose

2.8.1.1 Praepatenz

Die Praepatenz kann variieren. Je kürzer die Praepatenz ist, desto schwerer ist die Verlaufsform der Trichinellose. Bei einer schweren Erkrankung beträgt sie etwa 7 Tage, bei einer mittelschweren Erkrankung etwa 16 Tage und bei einer leichten Erkrankung kann sie bis zu 21 Tage betragen (KOCIECKA, 2000). Den typischen Symptomen der Trichinellose gehen 4 - 5 Tage mit leichtem Durchfall voraus, laut KOCIECKA (2000) ein Selbstheilungsversuch des Körpers.

2.8.1.2 Klinischer Verlauf

Nach KASSUR und JANUSZKIEWICZ (1968) kann die Trichinellose in verschiedenen Formen von schwer, mittelschwer, benigne, über die abortive Form bis asymptomatisch verlaufen. Während eine sehr schwere Erkrankung durch das deutliche Ausbilden aller Symptome, einschließlich metabolischer, kardiovaskulärer und neurologischer Störungen charakterisiert sein kann, können bei einem weniger starken Krankheitsverlauf die Symptome in unterschiedlich starker Ausprägung auftreten. Einzig eine Eosinophilie scheint immer ausgeprägt zu sein und stellt bei einem asymptomatischen Verlauf oft das einzige Anzeichen für eine Trichinellose dar.

Bei vielen Patienten manifestiert sich das erste Stadium der Trichinellose akut und deutlich. Zu Anfang der Erkrankung stellt sich bei den betroffenen Personen oft ein allgemeines Unbehagen ein, das mit Kopfschmerzen, ansteigendem Fieber und starkem Schwitzen verbunden ist. Fieber, Ödeme der Augenlider sowie des Gesichtes und Muskelschmerzen sind die typischen Symptome des akuten Stadiums. Gelegentlich können auch Durchfälle und Blutungen (der Konjunktiven und des Fingernagelbettes) auftreten. Selten kommt es zu neurologischen Ausfällen (KOCIECKA 2000).

Ödeme der Augenlider und des Gesichtes sind typische Symptome der Trichinellose. Ihre Intensität ist abhängig von der Intensität der allergischen Reaktion des Wirtes. Sie treten meist symmetrisch auf und können sich innerhalb von 5 - 6 Tagen nach Beginn der Therapie zurückbilden. Bei verschiedenen Untersuchungen konnten in 17 - 100 % der Fälle Ödeme festgestellt werden.

Muskelschmerzen können in diversen Muskelgruppen auftreten. Die Intensität ist abhängig von der Schwere der Erkrankung.

Durchfall ist eines der typischen Symptome des Gastrointestinaltraktes, der mit Schleim vermischt sein kann, jedoch meist kein Blut enthält. Langanhaltender Durchfall führt zu einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens der Patienten, gefolgt von einem Ungleichgewicht der Elektrolyte im Blut und dem Verlust von Proteinen und Albumin.

Kardiovaskuläre Störungen können bei Patienten mit mittelschwerer bis schwerer Trichinellose auftreten. Sie entwickeln sich erst in der 3. - 4. Woche der Infektion. Zu den Symptomen gehören Herzschmerzen und Tachykardie (PAWLOWSKI 1983).

Neurologische Störungen können sich in verschieden schweren Symptomen widerspiegeln, die bis zu einer Meningitis reichen können. In fast allen Fällen werden Kopfschmerzen vermerkt.

Das späte Stadium der Trichinellose beginnt etwa 5 - 7 Wochen nach Beginn der Erkrankung, wenn die Besiedlung des Dünndarms vorüber ist, die Larven im Muskelgewebe eingekapselt sind und sich die metabolischen Prozesse in der Muskulatur wieder stabilisiert haben. Das späte Stadium ist dadurch gekennzeichnet, dass sich die Symptome der Erkrankung nach und nach zurückbilden und sich die Laborwerte wieder normalisieren.

2.8.2 Komplikationen

Zu Komplikationen kommt es entweder in der frühen oder der späten Phase der Erkrankung. Betroffen sind Patienten, die an einer mittel- bis schweren Trichinellose leiden und die entweder nicht ordnungsgemäß oder zu spät behandelt wurden.

Komplikationen der Atemsysteme treten in der späten Phase der Trichinellose zwischen der 3. und 7. Woche auf und äußern sich in schwerer Pneumonie und Pleuritis. Komplikationen des Herz- und Kreislaufsystems sind von Myocarditis und Thrombophlebitis geprägt. Zu einem plötzlichen Tod kann es durch Embolien der Lungenarterien oder durch eine Tachykardie kommen. Neurologische Komplikationen äußern sich meist in Paresen und Paralysen. Bei schwangeren Patienten kann es zu Aborten und Frühgeburten kommen.

2.8.3 Diagnose

Die Diagnose kann aufgrund verschiedener Faktoren getroffen werden:

- 1) Anamnese (Quelle der Infektion, Zeitpunkt, aufgenommene Menge an Larven, Anzahl der betroffenen Patienten)
- 2) Klinische Interpretation (Erkennen der Symptome der Trichinellose, der Schwere und der Verlaufsform der Erkrankung)
- 3) Labordiagnostik (Untersuchung auf Leukozytose und Eosinophilie, Immunologischer Nachweis von Antikörpern oder Antigenen, Untersuchung von Muskelbiopsien)

Typische Laborparameter bei der Labordiagnostik der Trichinellose sind die auftretende Leukozytose und Eosinophilie.

Eine Leukozytose beginnt früh und steigt zwischen der 2. und 5. Woche der Erkrankung massiv an, wobei sie Werte von 15.000 - 30.000 Leukozyten / mm³ erreichen kann. Im Verlauf der Erkrankung bildet sie sich zusammen mit den Symptomen der Trichinellose allmählich zurück, während die Eosinophilie erhalten bleibt.

Die Eosinophilie ist ein Hauptmerkmal der Trichinellose und kann auch bei sehr leichten oder sogar asymptomatischen Verlaufsformen nachgewiesen werden. Sie beginnt schon früh vor dem Einsetzen der eigentlichen Symptome und steigt dann zwischen der 2. und 5. Woche an. Sie kann unterschiedlich stark auf Werte von 1000 - 19.000 Zellen / mm³ ansteigen, wobei die eosinophilen Granulozyten 30, 60 oder 80 % der Leukozyten ausmachen können. Die Eosinophilie bildet sich nur langsam zurück und kann auf geringem Niveau von mehreren Wochen bis zu 3 Monaten bestehen bleiben.

2.8.4 Therapie

Die wichtigste Grundlage für eine effektive Behandlung ist die schnelle Erkennung der Trichinellose. Können schon frühzeitig Anthelminthica verabreicht werden, speziell in den ersten 3 Tagen nach der Infektion, um die Larven aus dem Darm-Trakt zu eliminieren, kann eine anschließende Besiedelung der Muskulatur und ein Fortschreiten der Erkrankung verhindert werden.

2.9 Wirtschaftliche Gesichtspunkte der Trichinellose

Die Trichinellose schlägt sich auch finanziell nieder: zum einen in den Kontrollen, die zum Nachweis der Trichinenüberträger notwendig sind und zum anderen in den Folgen einer Infektion bei Mensch und Tier (POZIO 2000a). Obwohl die Trichinellose weltweit verbreitet ist, ist die Überwachung der potentiellen Wirtstiere, wie Hausschweine, Wildtiere oder auch Pferde bisher nur in einer begrenzten Anzahl von Ländern vorgeschrieben. Selbst in den Ländern, in denen die Untersuchung von Tierkörpern obligatorisch ist, werden die Tiere mitunter nicht vollständig oder ungenügend untersucht (POZIO 2000a).

In den damaligen 15 Europäischen Mitgliedsländern wurden jährlich etwa 190 Millionen Schweine geschlachtet und routinemäßig auf Trichinen untersucht (POZIO 1998). Die Kosten für den Nachweis dieser Erkrankung betragen etwa 3 US Dollar pro Schwein. Das bedeutet, dass in der EU jährlich etwa 570.000.000 US Dollar aufgewendet werden, um die Schweinepopulation zu überwachen (POZIO 1998). Allein die Routineuntersuchung von Pferden auf Trichinellose in Frankreich kostet jährlich etwa schon 5.000.000 US Dollar, wenn für die Untersuchung eines Pferdes ca. 10 US Dollar veranschlagt werden. Bei der Untersuchung von Wildtieren (insbesondere Wildschweinen) kommen zusätzlich noch etwa 3 US Dollar pro untersuchtem Tier hinzu (POZIO 2000a). Über die Anzahl der jährlich untersuchten Wildtiere stehen allerdings keine genaueren Angaben zur Verfügung.

Zusätzlich muss der potentielle Wert der Tierkörper berücksichtigt werden, die jährlich auf Grund einer Infektion mit Trichinellose vernichtet werden. Während der Verlust durch die Tierkörper in den Ländern der EU sehr gering ist, stellt er in Ländern, in denen die Trichinellose endemisch ist, wie z.B. Argentinien, Kroatien, Georgien, Rumänien usw. eine wichtige wirtschaftliche Größe dar (POZIO 2000a). Die Kosten pro infizierten Menschen werden in den USA auf etwa 6.000 US Dollar (ROBERTS et al. 1994), in Frankreich auf etwa 3.000 US Dollar (ANCELLE et al. 1990) geschätzt.

Die hohen Kosten der Routineüberwachung auf Trichinellose könnten durch eine Vereinfachung der Trichinenuntersuchung verringert werden. In den letzten 40 Jahren waren Human-Trichinellosen in den Mitgliedstaaten der EU nie auf Schweine aus industriellen Haltungen, sondern stets auf Schweine aus ökologischen Kleinhaltungen zurückzuführen. Zur Zeit stammen etwa 75 % der in der EU geschlachteten Schweine aus industriellen Haltungen

mit mehr als 400 Tieren pro Betrieb. Damit kommen etwa 140 Mio., der 190 Mio. Schweine, die jährlich in der EU geschlachtet werden aus industriellen Haltungen (POZIO 1998). Mit der Änderung der Trichinelloseüberwachung können so jährlich etwa 420 Mio. US Dollar eingespart werden.

Schon nach der alten Gesetzgebung (Richtlinie 64/433/EWG, Artikel 6, Absatz 2), die 2005 abgelöst wurde, konnte die Trichinenuntersuchung am Schlachthof unterbleiben, sofern die Trichinenfreiheit durch epidemiologische Untersuchungen nachgewiesen wurde und die lebenden und geschlachteten Tiere einem wirksamen Nachweis- und Überwachungsverfahren unterlagen. Die praktische Umsetzung des Gesetzes war jedoch auf Grund fehlender Kriterien damals noch nicht möglich (NÖCKLER 2000).

2.10 Haltung von Schweinen in Deutschland und der Europäischen Union

2003 gab es in den 25 EU-Ländern 9,9 Mio. landwirtschaftliche Betriebe, die zusammen eine landwirtschaftlich genutzte Fläche von 156 Mio. ha bewirtschafteten. Die größten Anteile hatte Frankreich mit 18 %, Spanien mit 16 % und Deutschland mit 11 %. 39 % aller Agrarbetriebe waren Kleinbetriebe mit weniger als 2 ha landwirtschaftlich genutzter Fläche. Sie bewirtschafteten in der EU aber nur 2 % der Flächen. Italien wies mit 28 % und Polen mit 24 % den größten Anteil dieser 3,9 Mio. Kleinbetriebe auf. Großbetriebe, die mehr als 100 ha bewirtschafteten, machten in der EU nur einen Anteil von weniger als 3 % aus, verfügten aber über 45 % der Landwirtschaftsfläche. 30 % dieser Betriebe befanden sich in Frankreich, 18 % in Spanien, 14 % in England und 10 % in Deutschland.

Unterschiede zwischen den einzelnen Ländern zeigten sich auch in der durchschnittlichen Flächengröße der Betriebe. Die Spannweite reichte von etwa 1 ha auf Malta bis zu 79 ha in der Tschechischen Republik. Der EU-weite Durchschnitt betrug 16 ha. Während in Deutschland die genutzte Fläche pro Betrieb von 2000 bis 2003 von 36 auf 41 ha (um 13 %) anstieg, lagen zum Teil bedeutende Agrarproduzenten, wie Griechenland (5 ha), Polen (7 ha) oder Italien (7 ha) weit unter dem Durchschnitt.

In fast allen EU-Ländern hat die Zahl der landwirtschaftlichen Betriebe in den vergangenen Jahren abgenommen. Dabei blieb die landwirtschaftlich genutzte Fläche insgesamt nahezu konstant, d. h. es ist ein kontinuierlicher, heute noch andauernder Strukturwandel hin zu größeren Betriebsstrukturen festzustellen. (STATISTISCHES BUNDESAMT 2006).

Mit dem anwachsenden Umwelt- und Ernährungsbewusstsein der Verbraucher gewinnt der Markt für ökologisch erzeugte Lebensmittel in der EU zunehmend an Bedeutung (STATISTISCHES BUNDESAMT 2006). Die ökologische Landwirtschaft hat sich in den Ländern der EU bisher sehr unterschiedlich entwickelt, wobei jedoch ihre Bedeutung in den meisten EU-Ländern von 2000 - 2003 zunahm. 2003 hatte Schweden den größten Anteil an landwirtschaftlichen Betrieben in der EU:

- Schweden 22,2 % (15.040 landwirtschaftliche Betriebe)
- Österreich 10,3 % (17.880 landwirtschaftliche Betriebe)
- Finnland 5,7 % (4.280 landwirtschaftliche Betriebe)

- Dänemark 5,3 % (2.600 landwirtschaftliche Betriebe)
- Deutschland 2,8 % (11.420 landwirtschaftliche Betriebe)

Was die Schweinehaltung anbelangt, wurden im November 2006 in Deutschland 26,8 Mio. Schweine in 83.000 Betrieben registriert. Insgesamt wurden 2006 etwa 46,6 Mio. Schweine in Deutschland geschlachtet. Von 1999 bis 2003 stieg in Deutschland sowohl die Anzahl der ökologisch wirtschaftenden Schweinebetriebe als auch der Schweinebestand der ökologischen Betriebe an (Tabelle 2.6).

Tabelle 2.6: Schweinebestand in Betrieben mit ökologischem Landbau (Statistisches Jahrbuch 2006)

Jahr	Anzahl der Betriebe	Anzahl der Schweine
1999	2.386	117.061
2001	2.377	140.782
2003	2.431	144.882

Ökologische Haltung

Um eine einheitliche Herstellung von ökologisch erzeugten Lebensmitteln in der EU zu gewährleisten, wurde bereits 1991 die **Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel** verabschiedet.

Hier sind gemeinschaftliche Rahmenvorschriften für die Erzeugung, Etikettierung und die Kontrolle im ökologischen Landbau festgelegt, wobei vorerst nur die Herstellung von pflanzlichen Lebensmitteln geregelt wurde. Erst 1999 wurde mit der **Verordnung (EG) Nr. 1804/99 des Rates vom 19. Juli 1999 zur Einbeziehung der tierischen Erzeugung in den Geltungsbereich der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel** die Tierhaltung mit einbezogen. Damit ist nun seit August 2000 auch die ökologische Tierhaltung in der Europäischen Union einheitlich geregelt.

Seit dem 01.01.2009 sind nun zwei neue Verordnungen in Kraft. Die **Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates vom 28. Juni 2007 über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91** enthält, um einige Ziele und Grundsätze erweitert, die Vorgaben der alten Verordnung. Hier sind auch die Grundregeln zur Tierhaltung festgelegt. Laut Artikel 14 Absatz 1 Buchstabe b Ziffer iii „müssen die Tiere ständigen Zugang zu Freigelände, vorzugsweise zu Weideland haben, wann immer die Witterungsbedingungen und der Zustand des Bodens dies erlauben“, sofern keine Einschränkungen und Pflichten zum Schutz der Gesundheit von Mensch und Tier bestehen.

Die **Verordnung (EG) Nr. 889/2008 der Kommission vom 5. September 2008 mit Durchführungsvorschriften zur Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen hinsichtlich der ökologischen/biologischen Produktion, Kennzeichnung und Kontrolle** entspricht in etwa den bisherigen Anhängen der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91. Kapitel 2 Abschnitt 2 regelt die Grundsätze der Haltungspraktiken.

Während die Angaben zur Stallhaltung recht präzise sind, bleiben die Vorgaben zu den Ausläufen allgemein. Freigelände kann teilweise überdacht sein (Artikel 14, Abschnitt 2). In Gebieten, in denen die Klimaverhältnisse die Haltung der Tiere im Freien zulassen, sind Stallungen nicht vorgeschrieben (Artikel 10, Abschnitt 2). Schweinen müssen „Bewegungsflächen zum Misten und zum Wühlen zur Verfügung stehen“ (Artikel 11, Abschnitt 6).

In einem Übergangszeitraum bis 2010 ist die Endmast von Schweinen in Stallhaltung zugelassen, wenn zweimal jährlich eine Kontrolle stattfindet (Artikel 95, Abschnitt 3).

Im Anhang III sind Angaben über die Anzahl der Tiere und die Größe der Außenflächen festgelegt (Tabelle 2.7).

Tabelle 2.7: Mindeststall- und -außenflächen für die Unterbringung von Schweinen nach der VO 834/2007

Tiere	Stallfläche		Außenfläche*
	Lebendgewicht (Kg)	Mindestfläche (m ² / Tier)	Mindestfläche (m ² / Tier)
Ferkel	bis 30 (über 40 Tage alt)	0,6	0,4
Mastschweine	bis 50	0,8	0,6
	bis 85	1,1	0,8
	bis 110	1,3	1,0
Zuchtschweine	(weiblich)	2,5	1,9
	(männlich)	6,0	8,0
Sauen	säugend mit Ferkeln (bis 40 Tage alt)	7,5	2,5

* Freilandflächen, ausgenommen Weideflächen

2.11 Rechtliche Vorgaben zur Trichinenuntersuchung

Seit dem 01.01.2006 ist in allen Mitgliedstaaten der Europäischen Union das „EU-Hygienepaket“ in Kraft, das aus mehreren direkt geltenden Verordnungen besteht. Damit ist das alte Hygienerecht abgelöst. Im Zuge dieser Veränderungen kommt es zu einem Funktionswandel der Lebensmittelüberwachung, von einer „nachlaufenden“ zu einer präventiven Kontrolle. Im Folgenden werden die neuen gesetzlichen Vorgaben aus dem EU-Recht zur Untersuchung auf Trichinen dargestellt:

2.11.1 Verordnung (EG) Nr. 854/2004

Laut **Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs** (Anhang I, Abschnitt IV, Kapitel IX, Buchstabe C) müssen alle Schlachtkörper von Schweinen (Hausschweine, Farmwildschweine und frei lebende Wildschweine), Einhufern und anderen Tierarten, die Träger von Trichinen sein können, gemäß den geltenden gemeinschaftlichen Rechtsvorschriften auf Trichinen untersucht werden und das Fleisch von mit Trichinen infizierten Tieren für genussuntauglich erklärt werden.

Nach Artikel 18 dieser Verordnung können jedoch unbeschadet der allgemeinen Gültigkeit Durchführungsbestimmungen und Änderungen der Anhänge erlassen werden. Nach Artikel 9 und 10 betrifft dies auch die Kältebehandlung von Fleisch und die Voraussetzungen, unter denen Betriebe und Gebiete amtlich als frei von Trichinen erklärt werden können.

2.11.2 Verordnung (EG) Nr. 2075/2005

Die **Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen** gilt

ebenfalls seit dem 1. Januar 2006, die bis dahin geltende Richtlinie 77/96/EWG ist aufgehoben.

Die **Untersuchungspflicht** auf Trichinen ist in Artikel 2 geregelt. Gemäß Absatz 1 müssen den Schlachtkörpern von Hausschweinen im Rahmen der Fleischuntersuchung Proben entnommen und mit einer Digestionsmethode untersucht werden. Das gleiche gilt für die Schlachtkörper von Pferden, Wildschweinen, Zuchtwild und frei lebendem Wild, die Träger von Trichinen sein können.

Sollte bei den Untersuchungen ein positiver Trichinenbefund auftreten, tritt ein von dem Mitgliedstaat erarbeiteter **Notfallplan** (Artikel 7) in Kraft. Der Notfallplan enthält nähere Angaben über:

- die Rückverfolgbarkeit infizierter Schlachtkörper
- Maßnahmen zum Umgang mit infizierten Schlachtkörpern
- die Ermittlung der Infektionsursache und Verbreitung bei frei lebenden Tieren
- Maßnahmen im Einzelhandel und beim Verbraucher
- Bestimmung der Trichinenart

Der Einsatz einer serologischen Methode ist ebenfalls möglich, sobald ein geeignetes Testverfahren vom Gemeinschaftsreferenzlabor validiert wurde.

Zusätzlich sind jedoch bestimmte **Ausnahmen von der Untersuchungspflicht** möglich (Artikel 3) für:

- 1) Schweinefleisch, das einer Gefrierbehandlung gemäß Anhang II unterzogen wurde
- 2) Hausschweine, die aus einem Betrieb stammen, der von der zuständigen Behörde amtlich als trichinenfrei anerkannt wurde (Absatz 2, Buchstabe a)
- 3) Hausschweine, die aus einer Region stammen, in der das Risiko von Trichinen amtlich als vernachlässigbar gering anerkannt wurde (Absatz 2, Buchstabe b)

Eine **Gefrierbehandlung** (Anhang II) ist nur für Hausschweine zugelassen, da bei Wild und Pferd vorkommende Trichinenarten durch die Gefrierbehandlung nicht abgetötet werden.

Folgende Voraussetzungen sind durch **Betriebe, die amtlich als trichinenfrei anerkannt werden**, zu erfüllen (Artikel 8, Anhang IV, Kapitel I und Kapitel II):

- Ein dokumentiertes Schädlingsbekämpfungsprogramm gegen Nagetiere muss durchgeführt werden.
- Futtermittel sind gemäß der Verordnung (EG) Nr. 183/2005 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. Januar 2005 herzustellen und so zu lagern, dass Nagern kein Zutritt möglich ist, oder einer Wärmebehandlung zu unterziehen.
- Verendete Tiere sind innerhalb von 24 Stunden zu entsorgen, verendete Ferkel dürfen bis zur Entsorgung in verschlossenen Räumen gesammelt und gelagert werden.
- Befindet sich in der Nähe des Betriebes eine Mülldeponie, muss dies gemeldet werden.
- Zugekaufte Schweine müssen aus offiziell als „trichinenfrei“ anerkannten Haltungen (integrierte Produktionssysteme mit kontrollierten Haltungsbedingungen) stammen oder bis zum Vorliegen des negativen Ergebnisses einer serologischen Untersuchung in Isolation gehalten werden.
- Alle Schweine müssen gekennzeichnet sein.
- Schlachtschweine dürfen keinen Zugang zu Freigehegen haben. Ausnahmen sind nur unter bestimmten Voraussetzungen während der ersten Lebenswochen vor der Ablaktation möglich.

Die zuständigen Behörden können auch in Mitgliedstaaten, in denen in den letzten 10 Jahren Trichinen bei Hausschweinen nachgewiesen worden sind, einen Betrieb als trichinenfrei anerkennen (Anhang IV, Kapitel II, Buchstabe A):

- Vor der Registrierung müssen mindestens 2 Kontrollen durchgeführt und alle geschlachteten Schweine in den letzten 24 Monaten negativ auf Trichinen getestet worden sein.

- In der Region muss ein „risikobasiertes Überwachungssystem für frei lebende Tiere“ bestehen.

Alle als trichinenfrei anerkannten Betriebe müssen regelmäßig durch die zuständige Behörde kontrolliert werden. Zusätzlich stellt die Behörde sicher, dass alle Zuchtsauen und -eber aus solchen Betrieben auf Trichinen untersucht werden (Artikel 10).

Ein Mitgliedstaat kann unter folgenden Voraussetzungen eine **Region mit vernachlässigbarem Trichinenrisiko** amtlich anerkennen (Artikel 3, Absatz 2, Buchstabe b):

- Eine Notifizierung und ein erster Bericht, der verschiedene Angaben über untersuchte Tiere, Untersuchungsverfahren und die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen und Überwachungsprogramme einschließlich des Vorkommens (eingeschleppter und autochthoner) Krankheitsfälle beinhaltet, muss an die Kommission und die anderen Mitgliedstaaten übermittelt werden.
- Wird die Region anerkannt, muss dieser Bericht jährlich von den zuständigen Behörden verfasst und bei der Kommission eingereicht werden.

Die zuständige Behörde muss ein **Überwachungsprogramm** (Artikel 11) für Hausschweine, Pferde und andere für Trichinen empfängliche Tierarten aus als trichinenfrei anerkannten Betrieben oder aus Regionen, in denen die Gefahr des Auftretens von Trichinen bei Schweinen als vernachlässigbar anerkannt ist, festlegen, um sicherzustellen, dass diese Tiere tatsächlich frei von Trichinen sind.

Für das Überwachungsprogramm werden Fleischproben von verschiedenen Indikator-Tierarten entnommen und mit einer Digestionsmethode untersucht. Die zu untersuchende Tierart, die Anzahl der untersuchten Tiere, die Häufigkeit der Tests und ein Probenentnahmeplan müssen im Überwachungsprogramm festgelegt werden.

Für die **Einfuhr** (Artikel 13/14) gilt, dass das Fleisch von Trichinellose anfälligen Tierarten, das (quer-gestreifte) Skelettmuskeln enthält und aus einem Drittland kommt, nur dann in die Europäische Gemeinschaft eingeführt werden darf, wenn es vor der Ausfuhr in dem betreffenden Drittland auf Trichinen untersucht wurde. Ausnahmen gelten für Hausschweine, die aus einem Betrieb stammen, der von der Gemeinschaft als trichinenfrei anerkannt wurde, oder die bereits einer Gefrierbehandlung unterzogen worden sind.

Die Möglichkeit einer Ausnahme von der Trichinenuntersuchung gilt nach dieser Verordnung fast ausschließlich für Schweine aus industriemäßigen Haltungen. Schweine aus ökologischen und alternativen Haltungen mit Zugang zu Freigehegen nach der Ablaktation müssen nach wie vor direkt am Schlachthof auf Trichinen untersucht werden.

2.12 Untersuchungsmethoden

Der Nachweis von *Trichinella* erfolgt durch direkte und indirekte Methoden. Bei den direkten Methoden, wie Trichinoskopie und Digestionsmethode, wird die Trichinenlarve (L1) unmittelbar in einem Stück Muskulatur oder nach Digestion der Muskulatur sichtbar gemacht. Bei den indirekten Methoden, wie z.B. dem ELISA, handelt es sich um serodiagnostische Tests zum Nachweis spezifischer Antikörper (EUROPEAN COMMISSION 2001).

Schon in den 1860ern schafften Friedrich Albert Zencker und Rudolf Virchow mit der Erforschung der Trichinellose die Grundvoraussetzung für die spätere staatliche Untersuchung in Deutschland (NÖCKLER et al. 2000). Die Trichinoskopie wurde erstmals 1863 in Deutschland eingesetzt (BLANCOU 2001), jedoch nur zur Untersuchung einzelner Tiere genutzt. Zu dieser Zeit war die Trichinellose in Europa und den USA weit verbreitet, wobei auch zahlreiche Fälle von Humantrichinellose zu verzeichnen waren (BLANCOU 2001). Erst mit der Entwicklung der Digestionsmethode verlor die Trichinoskopie in den 1970ern und 1980ern in Europa zunehmend an Bedeutung. Obwohl die Digestionsmethode effizienter, zuverlässiger und billiger ist, ist die Trichinoskopie in manchen Osteuropäischen Ländern noch stark verbreitet (EUROPEAN COMMISSION 2001). Auch in Westeuropa wird sie bis heute gelegentlich bei der Untersuchung von Wild und einzelner Tiere angewandt.

Heute ist die Digestion in allen EU-Ländern als Standarduntersuchungsmethode bei der Routineuntersuchung und der Untersuchung von Importfleisch aus Drittstaaten vorgeschrieben. Zusätzlich werden die indirekten Methoden bei der epidemiologischen Untersuchung von Wildtieren und Wirten, die als Reservoir dienen, genutzt.

Neben den direkten Methoden wurden in den letzten 2 Jahrzehnten zunehmend serodiagnostische Methoden entwickelt und verbessert (NÖCKLER et al. 2000). Es ist generell akzeptiert, dass die momentanen serodiagnostischen Methoden die klassische Digestion nicht komplett ersetzen können, allerdings können sie bei Überwachungsprogrammen auf Bestandesebene und für epidemiologische Studien bei Wildtieren genutzt werden (NÖCKLER et al. 2000).

2.12.1 Direkte Methoden

Die direkten Methoden sind bisher Teil der Routineuntersuchung auf Trichinellose, wobei den Tierkörpern nach der Schlachtung Muskelproben entnommen werden. Dabei hängt die Sensitivität von der Größe der Proben, dem Ort der Probenentnahme und der Wahl der Methode ab. Die Größe der Muskelprobe muss der gewählten Sensitivität angepasst sein. Um bei einem Schwein mit Hilfe einer Digestionsmethode eine Trichineninfektion von 1 - 3 Larven / g nachzuweisen, sollte mindestens 1 g Muskulatur untersucht werden. Eine größere Probenmenge erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass auch geringere Infektionsdosen nachgewiesen werden (EUROPEAN COMMISSION 2001). Der Ort der Probenentnahme hängt von den jeweiligen Prädilektionsstellen ab. Die Prädilektionsstellen eines Wirtes können je nach Tierart voneinander abweichen und sind nach KAPEL (2000b) abhängig von dessen Ernährungsweise (karnivor, herbivor oder omnivor):

- Hausschwein (*T. spiralis*): Diaphragma, Zunge, M. masseter (GAMBLE 1996; FORBES und GAJADHAR 1999)
- Hausschwein (*T. britovi*): Diaphragma, Zunge, M. masseter und zusätzlich Nackenmuskulatur (KAPEL et al. 1998)
- Pferd (experimentell mit *T. spiralis*): Zunge, M. masseter (SOULÉ et al. 1989; SOULÉ et al. 1993a; GAMBLE et al. 1996)
- Pferd (*T. spiralis*): vor allem die Kopfmuskeln, Zunge, M. masseter (POZIO et al. 1998)
- Geflügel (*T. pseudospiralis*): Kopfmuskulatur, Nackenmuskulatur, M. masseter (NÖCKLER et al. 2000)

Eine Muskelbiopsie, etwa im Rahmen einer ante-mortem Untersuchung entnommen, ist schwierig und wird nur selten durchgeführt. Direkte Methoden werden in epidemiologischen Studien, vor allem zur Untersuchung von sogenannten Indikatortieren verwendet. Dabei wird die Eignung der Wirte als Reservoir für verschiedenen *Trichinellaspezies* und ihre Wichtigkeit im domestischen und silvatischen Zyklus untersucht (NÖCKLER et al. 2000).

Die direkten Methoden, die bei der Routineuntersuchung angewendet werden, sind primär entwickelt worden, um eine klinische Trichinellose des Menschen zu verhindern, können jedoch eine Infektion an sich nicht völlig ausschließen (NÖCKLER et al. 2000).

2.12.1.1 Trichinoskopie

Die Trichinoskopie ist eine direkte Nachweismethode, bei der haferkorngroße Fleischstückchen zwischen den Gläsern eines Kompressoriums (Quetschglas) gequetscht und dann mit Hilfe eines Glühlampentrichinoskops oder eines Mikroskops durchleuchtet werden.

Laut Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen kann die Trichinoskopie in den Mitgliedsländern der Europäischen Union nur noch bis zum 31. Dezember 2009 in bestimmten Ausnahmefällen für Haus- und Wildschweine unter den folgenden Bedingungen genehmigt werden:

- wenn einzelne Schlachtkörper separat in einem Betrieb untersucht werden müssen, der nicht mehr als 15 Hausschweine pro Tag oder 75 Hausschweine pro Woche schlachtet oder nicht mehr als 10 Wildschweine pro Tag verarbeitet
- keine Digestionsmethoden verfügbar sind
- wenn das Fleisch durch eine bestimmte Genusstauglichkeitskennzeichnung gekennzeichnet wird
- wenn das Fleisch nicht für die Herstellung von Produkten verwendet wird, bei deren Produktionsprozess Trichinen nicht sicher abgetötet werden (Artikel 16)

In Anhang I, Kapitel III der Verordnung wird die Trichinoskopie detailliert beschrieben.

1) Probenentnahme

- Hausschwein: Sind beide Zwerchfellspfeiler vorhanden, sind jeweils 28 haferkorngroße Stückchen aus beiden Teilen am Übergang vom muskulösen in den sehnigen Teil zu entnehmen, pro Schlachtkörper also 56 Stückchen. Ist nur ein Zwerchfellspfeiler vorhanden, sind 56 Stücke an verschiedenen Stellen am Übergang vom muskulösen in den sehnigen Teil zu entnehmen.
- Wildschwein: Es werden die gleichen Proben wie beim Hausschwein entnommen, zusätzlich ist vom Kiefer, der Unterschenkelmuskulatur, der Zwischenrippenfellmuskulatur und der Zungenmuskulatur je eine Probe zu entnehmen. Die zusätzlichen 4 Proben werden in je 7 haferkorngroße Stückchen zerteilt, was zusammen mit den Proben aus den Zwerchfellspfeilern, insgesamt 84 Stückchen pro Schlachtkörper ergibt.
- Fleischteile: Es sind 4 haselnussgroße Proben von quer gestreifter Muskulatur, möglichst fettfrei, an verschiedenen Stellen in der Nähe von Knochen oder Sehnen zu entnehmen. Jede Probe wird in je 14 haferkorngroße Stückchen, also 56 Stückchen pro Fleischteil, zerteilt.

2) Untersuchung

Bei der Untersuchung muss jedes Präparat bei 30- bis 40facher Vergrößerung langsam und sorgfältig durchgemustert werden. Die Mindestuntersuchungszeit beträgt 6 Minuten. Von einem Untersucher dürfen pro Tag höchstens 840 Stückchen untersucht werden, was 15 Hausschweinen oder 10 Wildschweinen entspricht. Fallen bei der Trichinoskopie verdächtige Bereiche auf, müssen diese mit der stärksten Vergrößerung (80- bis 100fach) untersucht werden. Positive Proben müssen mit einer Digestionsmethode nachuntersucht werden (Artikel 6, Absatz 1, Buchstabe b).

2.12.1.2 Digestionsmethode

Bei der Digestion handelt es sich um eine direkte Nachweismethode, bei der Fleischproben mit Hilfe von Pepsin und Salzsäure während einer bestimmten Zeitdauer und Temperatur künstlich verdaut werden, wobei eventuell vorhandene Trichinenlarven freigesetzt werden. *Trichinellalarven* können in der Verdauungsflüssigkeit bis zu 24 h lang überleben.

In der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen ist vorgeschrieben, dass alle auf Trichinen zu untersuchenden Tiere mit einer Digestionsmethode untersucht werden müssen (Artikel 2, Absatz 1 und Artikel 6, Absatz 1).

Als Referenznachweismethode ist das Magnetrührverfahren für die künstliche Verdauung von Sammelproben nach Anhang I, Kapitel I vorgesehen. Als gleichwertige Methoden sind 3 weitere Digestionsmethoden erlaubt (Anhang I, Kapitel II):

- die mechanisch unterstützte Methode der künstlichen Verdauung von Sammelproben (Sedimentationstechnik)
- die mechanisch unterstützte Methode der künstlichen Verdauung von Sammelproben („On-Filter-Isolation“-Technik)
- das automatische Verdauungsverfahren für Sammelproben bis zu 35 g

1) Probenentnahme

- Hausschwein: Eine mindestens 1 g schwere Probe ist aus dem Zwerchfellspfeiler am Übergang vom muskulösen in den sehnigen Teil zu entnehmen. Bei Zuchtsauen und Zuchtebern muss die Probe 2 g betragen. Fehlen die Zwerchfellspfeiler, ist je eine Probe mit dem doppelten Gewicht aus dem Rippenstück, dem Brustbeinstück des Zwerchfells, dem Kaumuskel oder dem Bauchmuskel zu entnehmen.
- Fleischteile: Fleischteilen ist eine mindestens 5 g schwere, fettarme Probe aus quer gestreiftem Muskelfleisch in der Nähe von Knochen und Sehnen zu entnehmen

- Wildschwein: Dem Antebrachium, der Zunge oder dem Zwerchfell ist eine Probe von mindestens 10 g zu entnehmen.
 - Pferd: Dem Zungen- oder Kiefermuskel ist eine Probe von mindestens 10 g zu entnehmen. Fehlt diese Muskulatur, ist eine größere Probe aus einem Zwerchfellpfeiler am Übergang vom muskulösen in den sehnigen Teil zu entnehmen.
 - Anderes Wild: Anderem Wild als Wildschweinen ist an der Prädilektionsstelle eine 10 g schwere Probe zu entnehmen. Ist diese Muskulatur nicht vorhanden, ist an einer anderen Stelle eine größere Menge zu entnehmen.
- Prädilektionsstellen sind beim Bären Zwerchfell, Kaumuskel und Zunge, beim Walross die Zunge, beim Krokodil Kaumuskel, Musculi pterygoidei und die Zwischenrippenmuskulatur und bei Vögeln die Kopfmuskeln (z.B. Kaumuskeln und Halsmuskulatur).

2) Untersuchung

In einem Ansatz können bis zu 100 g Fleisch gleichzeitig untersucht werden. Kommt es bei der Untersuchung der Sammelprobe zu einem verdächtigen oder positiven Befund, werden 20 g Proben von je 5 Schweinen gemeinsam untersucht, ist das Ergebnis auch dann positiv, wird von jedem Schwein eine 20 g Probe einzeln untersucht. Die isolierten Trichinenlarven können dann in einem Referenzlabor näher bestimmt werden.

2.12.1.3 PCR (Polymerase Chain Reaction)

Bandi et al. (1993) wies zum ersten Mal die Möglichkeit auf, einzelne Muskellarven von *Trichinella* mit Hilfe einer PCR zu identifizieren. Die PCR ist hoch sensitiv und wurden in den folgenden Jahren immer weiter zur Genotypisierung von Trichinenspezies entwickelt (EUROPEAN COMMISSION 2001):

- Nachweis von amplifizierten Sequenzen mit Hilfe einer PCR (DUPOUY-CAMET et al. 1991; SOULÉ et al. 1993b)

- Nachweis von spezifischen Genen (NAGANO et al. 1999)
- RAPD-Analyse (random amplified polymorphic DNA (DUPOUY-CAMET et al. 1994b; BANDI et al. 1995)
- Multiplex PCR (ZARLENGA et al. 1999)

Von den oben genannten wird die Multiplex PCR am häufigsten verwendet, da ihre einfache Vorgehensweise schneller und einfacher zu interpretieren und sie daher ideal für epidemiologische Untersuchungen ist (ZARLENGA et al. 1999).

2.12.2 Indirekte Methoden

Bei den indirekten Methoden handelt es sich um serologische Tests, die auf den Nachweis von Antikörpern gegen *Trichinella*antigene basieren.

Mit Hilfe einer serologischen Methode können *Trichinella*-spezifische Antikörper schnell im Blut vor oder nach der Schlachtung nachgewiesen werden. Sie weisen eine hohe Sensitivität auf, so dass auch niedrige Infektionsdosen von 1 Larve / 100 g nachgewiesen werden können (EUROPEAN COMMISSION 2001; NÖCKLER et al. 2000).

In experimentell infizierten Hausschweinen, Wildschweinen und Füchsen konnte ein enger Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Muskellarven und einem nachweisbaren Titer von Antikörpern festgestellt werden (KAPEL and GAMBLE 2000; KAPEL 2001).

Antikörper können bei Schweinen mit einer hohen Infektionslast nach etwa 2,5 - 3 Wochen im Blut nachgewiesen werden (KAPEL und GAMBLE 2000). Bei Schweinen mit einer leichten Infektion von < 1 Larve pro Gramm sind Antikörper erst nach 4 - 7 Wochen nachweisbar (GAMBLE 1996).

Somit besteht während der ersten Phase der Infektion ein „diagnostisches Fenster“, während dessen keine Antikörper im Blut eines infizierten Tieres nachzuweisen sind (NÖCKLER et al. 1995; 2000). Seropositive Hausschweine, Wildschweine und Füchse bleiben ihr Leben lang

seropositiv, während in Langzeitstudien nachgewiesen werden konnte, dass die Antikörperkonzentration bei Pferden mit der Zeit abnimmt (EUROPEAN COMMISSION 2001). Nach 15 bis 25 Wochen waren bei experimentell infizierten Pferden keine Antikörper mit immundiagnostischen Tests mehr nachweisbar (SOULÉ et al. 1993b, BOIREAU et al. 2000). Zu falsch negativen Ergebnissen kann es außerdem dann kommen, wenn der Wirt durch wenig virulente Stämme (z.B. *T. britovi* in Schweinen) infiziert wurde oder die Infektionsdosis nur gering war (GAMBLE 1996; 1998).

Wesentlich für den Nachweis von Antikörpern ist das verwendete Antigen. In den 1970igern wurden somatische Antigene zum Nachweis von Antikörpern in Schweinen eingesetzt (RUITENBERG und VAN KNAPEN 1977). Aus dem gesamten Körper der Trichinenlarve 1 werden Larvenextrakte durch Digestion gewonnen. Somatische Antigene werden nicht mehr verwendet, da sie eine hohe Wahrscheinlichkeit für Kreuz-Reaktionen mit verschiedenen Nematoden, wie *Toxocara* und *Anisakis* spp., aufweisen. Seit den 1980igern wird Exkretorisch-sekretorisches (E/S) Antigen verwendet, wodurch die Spezifität des ELISA wesentlich erhöht wurde. Dabei handelt es sich um metabolische Produkte von in vitro kultivierten Trichinenlarven (GAMBLE et al. 1983). Die Antigene bestehen aus einer Gruppe von strukturell ähnlichen Glykoproteinen, die zur so genannten TSL-1 Gruppe gehören. Diese kommen in Stichizytenzellen auf der Oberfläche der Kutikula vor und werden aktiv durch die Larve 1 sezerniert (GAMBLE et al. 2004).

Die Untersuchung von Blutserum wird bevorzugt, allerdings kann auch Vollblut oder Gewebesaft beim ELISA verwendet werden. Blut sollte nach dem Abnehmen gerinnen und das Blutserum bei - 20 °C eingefroren werden. Das Wiedereinfrieren von aufgetauten Proben sollte vermieden werden, da der Serumtiterspiegel dadurch absinkt. Bei der Untersuchung post mortem kann alternativ auch Fleischsaft verwendet werden. Das Fleisch sollte gewaschen, in kleine Stücke geschnitten, eingefroren und aufgetaut werden, um Fleischsaft zu gewinnen. Originalfleischsaft sollte nicht genutzt werden, da er Blut enthält und kontaminiert sein kann (GAMBLE et al. 2004).

Die Sensitivität des ELISA liegt bei der Untersuchung von Schweinen bei etwa 93,1 - 99,2 %, die Spezifität bei etwa 90,6 - 99,4 %. Mit dem ELISA können bis zu 0,01 Larven pro Gramm nachgewiesen werden (GAMBLE 1998).

Weitere serologische Nachweismethoden sind die Western-blot Analyse, der indirekte Immunofluoreszenz Test (IFT) der complement fixation test (CFT), der Agglutinationstest und der Hämagglutinations Test (HAT). Diese Methoden sind äußerst arbeitsintensiv und können nicht in einem automatischen System angewandt werden, wodurch sie im Vergleich zum ELISA teurer sind und bevorzugt in der Humanmedizin angewendet werden. Der IFT und der HAT erreichen eine höhere Sensitivität als der CFT (NÖCKLER et al. 2000). Da diese Tests auf der Anwendung von somatischem Antigen basieren, können Kreuzreaktionen mit Filarien und Schistosomen auftreten (NÖCKLER et al. 2000).

2.12.3 Vergleich der verschiedenen Untersuchungsverfahren

Während die meisten Trichinenspezies eine Kapsel in der Muskulatur ihrer Wirte ausbilden, fehlt diese bei den nicht kapselbildenden Spezies *T. pseudospiralis*, *papuae* und auch *T. zimbabwensis*. Die Trichinoskopie ist als Standardmethode zum Nachweis von Trichinen ungeeignet, da damit die nicht kapselbildenden Spezies nur schwer oder gar nicht nachgewiesen werden können. Während die anderen beiden Spezies nicht in Europa vorkommen, ist *T. pseudospiralis* in der Wildtierpopulation Europas durchaus vertreten und konnte schon in Deutschland, Finnland, Frankreich und Italien nachgewiesen werden (LA ROSA et al. 2001). Die Trichinoskopie ist eine einfach durchzuführende Methode der Trichinenuntersuchung, die jedoch zusätzlich viel Zeit und Arbeit in Anspruch nimmt.

Mit der Digestionsmethode können in etwa der gleichen Zeit bis zu 100 Tierkörper untersucht werden. Obwohl die Digestion einen höheren Aufwand an technischer Ausrüstung erfordert, ist sie billiger und mittlerweile das Mittel der Wahl bei der Trichinenuntersuchung (NÖCKLER et al. 2000). Mit der Digestion sind außerdem alle bekannten Trichinenspezies zuverlässig nachweisbar.

PCR-Testverfahren sind die bei weitem sensitivsten Nachweisverfahren (Tabelle 2.8). Auf Grund der aufwendigen Technik und des Kostenaufwandes sind sie jedoch für eine Routinefleischuntersuchung im großen Umfang nicht geeignet. Allerdings sind sie für die Genotypisierung einzelner in Menschen oder Tieren nachgewiesener Trichinenlarven nützlich.

Die meisten serologischen Nachweismethoden sind arbeits- und kostenintensiv und können nicht in einem automatischen System genutzt werden. Daher wird vor allem der ELISA bevorzugt, der gut durchzuführen, vergleichsweise günstig und automatisierbar ist. Da der ELISA aber sowohl in der frühen Phase als auch in der späten Phase der Infektion bei Schweinen versagen kann, kann er bei der Routineuntersuchung die Digestionsmethoden nicht ersetzen. Dennoch ist diese Methode für die epidemiologische Überwachung von Schweineherden und beim Einsatz von Überwachungsprogrammen geeignet.

Tabelle 2.8: Nachweisgrenzen verschiedener Untersuchungsmethoden (EUROPEAN COMMISSION 2001)

Nachweisverfahren	Nachweisgrenze in Larven pro g (LPG)
Trichinoskopie	3
Digestionsmethode (1g)	1
Immunofluoreszenz Test	0,1
Digestionsmethode (2x20g)	0,01
ELISA Antigennachweis	
ELISA Antikörpernachweis	
PCR	0,001

Es besteht nach wie vor ein hoher Bedarf nach validierten und standardisierten diagnostischen Methoden, die eine Trichineninfektion schon in der frühen Phase der Infektion nachweisen können (EUROPEAN COMMISSION 2001).

3 Material und Methoden

3.1 Herkunft der Tiere

Für die Untersuchungen wurden in einem Zeitraum von September 2003 bis Mai 2004 insgesamt 1.922 Hausschweine aus Norddeutschland beprobt.

Alle untersuchten Schweine stammten aus so genannten „ökologischen“ Haltungen. Dabei handelte es sich um 41 kleine bis mittelgroße Betriebe, die Mitglieder in einer von 4 verschiedenen „ökologischen“ Fleischvermarktungsgesellschaften waren. Für die Betriebe gelten spezielle Vorgaben, was den ökologischen Landbau und die Tierhaltung angeht, wobei die gesetzlichen Vorgaben der **Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel** und zusätzliche Anforderungen der ökologischen Fleischvermarktungsgesellschaften einzuhalten sind.

Tabelle 3.1: Haltung der untersuchten Tiere

Haltung		Anzahl der Tiere
Ferkelaufzucht	Mast	
Stallhaltung	Stallhaltung	17
Stallhaltung mit Grasauslauf	Stallhaltung mit Grasauslauf	25
Stallhaltung mit Betonauslauf	Stallhaltung mit Betonauslauf	1.531
Stallhaltung mit Betonauslauf	Freilandhaltung	115
Hütten auf Betonauslauf	Stallhaltung	29
Hütten auf Betonauslauf	Stallhaltung mit Betonauslauf	32
Hütten auf Betonauslauf/ Freilandhaltung	Stallhaltung mit Betonauslauf	45
Freilandhaltung	Stallhaltung	20
Freilandhaltung	Stallhaltung mit Betonauslauf	25
Freilandhaltung	Hütten auf Betonauslauf	83

Bei der Haltung der Tiere wurde zwischen Ferkelaufzucht und Mast unterschieden. Während die Schweine bei einem Großteil der Betriebe vergleichbar gehalten wurden, gab es bei einem Teil der Betriebe Unterschiede in der Haltung der beiden Gruppen. Die häufigste Haltungsform war die durchgängige Stallhaltung mit einem frei zugänglichen Betonauslauf (Tabelle 3.1). Alle Ausläufe waren von einem festen Zaun begrenzt.

Die Betriebe lagen in sieben Bundesländer in Nord- und Ostdeutschland. Der Großteil der Betriebe und untersuchten Tiere stammte aus Niedersachsen (Tabelle 3.2). Die Schweine der einzelnen Betriebe wurden jeweils von den entsprechenden Fleischvermarktungsgesellschaften gesammelt und zu den Schlachthöfen transportiert.

Tabelle 3.2: Geographische Verteilung der Proben

Bundesland	Anzahl der Betriebe	Anzahl der Proben
Brandenburg	5	227
Mecklenburg-Vorpommern	5	198
Niedersachsen	23	1196
Nordrhein-Westfalen	5	71
Sachsen	1	110
Sachsen-Anhalt	1	5
Schleswig-Holstein	1	115
Gesamt	41	1922

Eine genauere Aufteilung der Betriebe nach Haltungsform, Bundesland und Anzahl der beprobten Tiere findet sich im Anhang der Arbeit.

3.2 Probenmaterial

Die Proben wurden direkt in drei Schlachtbetrieben während des Schlachtprozesses entnommen. Bei zwei der Betriebe (1 und 2) handelte es sich um Schlachtbetriebe mit einer Schlachtkapazität von je etwa 300 - 350 Schweinen pro Stunde, in denen vor allem Schweine aus Intensivhaltungen, aber auch Schweine aus ökologischer Haltung geschlachtet werden. In Betrieb 3 wurden primär Schweine aus alternativen Haltungen geschlachtet. Dieser Betrieb hatte eine Schlachtkapazität von etwa 100 - 150 Schweinen pro Stunde (Tabelle 3.3). Schlachtbetrieb 1 befindet sich in Mecklenburg-Vorpommern, Schlachtbetrieb 2 in Niedersachsen und Betrieb 3 in Nordrhein-Westfalen.

Tabelle 3.3: Übersicht über die Schlachtbetriebe

Schlachtbetrieb	Ausfahrten	Beprobte Schweine insgesamt
1	A - C und E - J	560
2	K - W	1.397
3	D	78

Die Schweine aus „ökologischer Haltung“ wurden normalerweise abends am Vortag der Schlachtung angeliefert und morgens als erste geschlachtet, um ein Minimum an Stress zu garantieren.

Die beprobten Tiere waren Hausschweine beiderlei Geschlechts mit einem Schlachtgewicht von etwa 120 Kg. Das jeweils erste Schwein in der beprobten Schlachtreihenfolge wurde anhand seiner Ohrmarke identifiziert und mit einer 1 beziffert, alle nachfolgenden Tiere wurden anhand der Reihenfolge der Schlachtung registriert und durchnummeriert. Zusätzlich wurde jedes Tier gemäß der Ausfahrt mit einem Buchstaben benannt. Insgesamt erfolgten 22 Ausfahrten, die in alphabetischer Reihenfolge mit Großbuchstaben benannt wurden. Dementsprechend wurde das erste Schwein der ersten Ausfahrt A mit dem Kürzel A1 benannt und die folgenden Tiere mit A2, A3 und so fort. Der Buchstabe I wurde weggelassen, um Verwechslungen vorzubeugen

Derart wurde sichergestellt, dass die entnommenen Blut- und Fleischproben vom selben Tier stammen. Bei jeder Ausfahrt wurden jeweils zwischen 37 bis 130 Schweine beprobt (siehe Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4: Übersicht über die Ausfahrten

Ausfahrten	Benennung	Datum	Anzahl der beprobten Schweine
1	A	01.09.2003	61
2	B	29.09.2003	68
3	C	27.10.2003	39
4	D	03. - 07.11.2003	71
5	E	10.11.2003	130
6	F	21.11.2003	37
7	G	28.11.2003	46
8	H	01.12.2003	58
9	J*	12.01.1004	96
10	K	23.01.2004	92
11	L	01.03.2004	118
12	M	15.03.2004	108
13	N	22.03.2004	129
14	O	29.03.2004	113
15	P	02.04.2004	77
16	Q	05.04.2004	123
17	R	16.04.2004	79
18	S	19.04.2004	108
19	T	26.04.2004	106
20	U	03.05.2005	104
21	V	07.05.2004	72
22	W	10.05.2004	87

* Der Buchstabe I wurde weggelassen, um Verwechslungen vorzubeugen.

3.2.1 Blutproben

Die Blutproben wurden unmittelbar beim Entbluten in 10 ml-Glasröhrchen abgefüllt, die in Ständern aufbewahrt wurden. Alle Glasröhrchen waren den beprobten Tieren entsprechend gekennzeichnet. Die Blutröhrchen wurden nach der Entnahme zunächst stehengelassen, bis das Blut geronnen war und dann ungekühlt transportiert, wobei bei dem Transport größere Erschütterungen nach Möglichkeit vermieden wurden.

Die Proben wurden auf direktem Wege ins Institut für Fleischhygiene und -technologie verbracht. Die Blutröhrchen mit dem geronnenen Blut wurden über Nacht im Kühlschrank bei 8 °C aufbewahrt. Am nächsten Tag wurde das Blutserum aus den Röhrchen abpipettiert, in Eppendorf-Hütchen verbracht und bis zur Untersuchung bei - 20 °C eingefroren.

3.2.2 Muskelproben

Die Fleischproben wurden nach der amtlichen postmortalen Untersuchung entnommen. Dafür wurden sie mit einem Messer aus dem Zwerchfellspfeiler herausgeschnitten und wie beschrieben in beschriftete Plastikgefriertüten verbracht. Die entnommene Fleischmenge pro Tier betrug etwa 30 - 40 g.

Die Gefriertüten mit den Fleischproben wurden nach der Entnahme in einer Kühlbox mit Kühlelementen aufbewahrt und derart transportiert.

3.2.3 Fleischsaftproben

Die Fleischproben der ersten 3 Ausfahrten wurden durchgängig bei 8 °C im Kühlschrank gekühlt und innerhalb der nächsten Tage mit Hilfe der Digestion untersucht. Vor der Digestion wurden die Fleischproben ausgepresst und der dabei gewonnene Fleischsaft in beschriftete Eppendorf-Hütchen pipettiert und bei - 20 °C eingefroren.

Bedingt durch die große Anzahl an Proben und Ausfahrten konnten die Proben der restlichen Ausfahrten nicht mehr unmittelbar nach der Entnahme untersucht werden. Aus diesem Grund wurden die Fleischproben der anderen Ausfahrten direkt nach ihrer Ankunft im Institut für Fleischhygiene und -technologie bei - 20 °C eingefroren. Der Fleischsaft dieser Proben wurde erst nach dem Auftauen entnommen und ebenfalls eingefroren.

3.3 Untersuchung der Proben

Die Proben wurden mittels Digestion und ELISA untersucht. Die Digestion wurde im Labor des Bundesinstitutes für Risikobewertung durchgeführt, der ELISA im Labor des Institutes für Fleischhygiene und -technologie. Die notwendigen verwendeten Geräte, Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sind im Anhang aufgeführt.

3.3.1 Digestionsverfahren

Den rechtlichen Bestimmungen entsprechend, war bereits bei allen Tieren während der amtlichen postmortalen Untersuchung je 1 g Zwerchfellsmuskulatur auf Trichinen untersucht worden. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden noch einmal 10 g Muskulatur pro Tier mit dem Digestionsverfahren untersucht. Jeweils 10 Proben wurden zu einem Pool zusammengefasst und nach den Vorgaben der seinerzeitigen AVVFIH (Kap. III, Nr.1) wie folgt untersucht:

Das Fett- und Bindegewebe der Proben wurde entfernt und das reine Muskelfleisch mit Scherenschlägen in kleine Stückchen zerteilt. Die 10 zu untersuchenden Proben wurden zusammengegeben und mit einem Mixer (Moulinette) zerkleinert. Das Fleisch wurde in ein Becherglas mit einem Fassungsvermögen von 3 Litern gegeben, mit 10 g Pepsin (30.000 E / g) bestreut und mit 2 Litern warmen Leitungswassers, das eine Temperatur von 46 - 48 °C aufwies, übergossen. Hinzu kamen 16 ml einer 25 %igen Salzsäure. Ein etwa 5 cm langer Magnetrührstab wurde auf den Boden des Becherglases gelegt, das Gefäß mit Aluminiumfolie abgedeckt und das ganze 30 Min. bei einer Temperatur von 44 - 46 °C auf dem Magnetrührer gerührt. Nach Ablauf von 30 Min. wurde die Flüssigkeit durch ein Sieb (Maschenweite ca. 180 µl) und einen Glastrichter in einen Scheidetrichter zur Sedimentation abgefüllt und weitere 30 Min. stehen gelassen. Anschließend wurden 40 ml des Bodensatzes in ein Zentrifugenglas abgelassen und weitere 10 Min. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach wurden 30 ml des Überstandes vorsichtig vom Rand her mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Die verbleibenden 10 ml Bodensatz wurden sofort untersucht oder bei starker Eintrübung erst wieder mit 40 ml Leitungswasser aufgeklärt. Der Bodensatz wurde dann zur Untersuchung in eine Petrischale gefüllt und das Zentrifugenglas erneut mit 10 ml

Leitungswasser ausgespült. Der Boden der Petrischale war zur besseren Untersuchung gitterförmig unterteilt. Der Inhalt der Petrischale wurde zuletzt mit einem Stereomikroskop bei 20 - 40facher Vergrößerung sorgfältig durchgemustert.

Die verdaute Restflüssigkeit wurde mit NaOH neutralisiert und entsorgt. Alle Gegenstände, die mit dem Fleisch in Kontakt gekommen waren, wurden zur Desinfektion mit kochend heißem Wasser behandelt.

3.3.2 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Bei diesem indirekten Nachweisverfahren werden IgG-Antikörper gegen *Trichinella spp.* im Blutserum und im Fleischsaft nachgewiesen. Als Antigen wurde ein exkretorisch-sekretorisches Antigen (E/S-Antigen) der Larve 1 von *Trichinella spiralis* verwendet.

Die Untersuchung wurde nach den Vorgaben der Laborarbeitsanweisung des Bundesinstitutes für Risikobewertung durchgeführt (BfR 2004), das auch das Referenzlabor für Trichinellose darstellt.

3.3.2.1 Vorbereitung der notwendigen Reagentien und Geräte

***Trichinella*-Antigen**

Die mit dem exkretorisch-sekretorischen *Trichinella*-Antigen beschichteten Mikrotiterplatten wurden freundlicherweise vom Bundesinstitut für Risikobewertung zur Verfügung gestellt. Das E/S-Antigen wurde dort hergestellt und an die Mikrotiterplatten gekoppelt. Die Mikrotiterplatten waren zu zweit in einer Plastiktüte luftdicht verschweißt und wurden bei Zimmertemperatur gelagert. Nach Anbruch der Verpackung wurden die Mikrotiterplatten bis zum Gebrauch bei 8 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Eine Mikrotiterplatte enthält 96 Kavitäten (wells). Pro Tag wurden 1 - 4 Mikrotiterplatten untersucht.

Aqua bidest

Aqua bidest wurde im Institut für Fleischhygiene und -technologie zubereitet und bei Zimmertemperatur gelagert.

Puffer

Der PBS-T Puffer wurde täglich frisch zubereitet. Die Rezeptur ist für 2 Liter Puffer berechnet und reicht aus für die Untersuchung von 2 Mikrotiterplatten. Der pH wurde mit einigen Tropfen HCl auf 7,4 eingestellt. Das pH-Meter wurde mindestens ein Mal wöchentlich kalibriert. Der Puffer wurde als Wasch- und Verdünnungspuffer verwendet.

Positiv- und Negativ-Kontrollen

Die Positiv- und Negativ-Kontrollseren stammten vom Schwein und wurden lyophilisiert vom Bundesinstitut für Risikobewertung bezogen. Nach Erhalt wurden sie jeweils in einem Milliliter Aqua bidest resuspendiert, in Eppendorf-Hütchen aliquotiert (20 µl) und bei - 21 °C eingefroren. Kurz vor Gebrauch wurden die benötigten Kontrollseren aufgetaut und mit PBS-T Puffer 1 : 100 verdünnt.

Serum- und Fleischsaftproben

Vor Gebrauch wurden die gewonnenen Seren und der Fleischsaft aufgetaut. Serumproben wurden in einem Verhältnis von 1 : 100 mit PBS-T Puffer verdünnt, Fleischsaftproben in einem Verhältnis von 1 : 10. Serum und Fleischsaft wurde vor der Verdünnung geschüttelt, wie auch die verdünnten Seren und der verdünnte Fleischsaft, bevor sie in die Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert wurden.

Konjugat

Das Peroxidase-konjugierte Anti-IgG vom Kaninchen (Fa. Sigma) wurde nach Erhalt 1 : 10 mit Aqua bidest vorverdünnt, in Eppendorf-Hütchen aliquotiert und bei - 20 °C eingefroren. Vor Gebrauch wurde die benötigte Menge an Konjugat aufgetaut und nochmals mit PBS-T Puffer in einem Verhältnis von 1 : 200 weiter verdünnt, was einer Endverdünnung von 1 : 2000 entsprach (in Absprache mit dem Bundesinstitut für Risikobewertung hielten wir uns

hierbei nicht an die Laboranweisung, in der eine Endverdünnung von 1 : 1000 vorgegeben ist, da das neue Konjugat im Bundesinstitut für Risikobewertung getestet und als relativ stark eingestuft worden war).

Substrat

Zur Herstellung der ABTS-Gebrauchslösung wurden 100 g Trockenpuffer (ABTS-Puffer, Roche) in 100 ml Aqua bidest gelöst, zu 10 ml portioniert und bei - 20 °C eingefroren. Bei Bedarf wurden 10 ml der Gebrauchslösung aufgetaut, mit Aqua bidest auf 100 ml aufgefüllt und 2 Tabletten ABTS (ABTS-Tabletten, Roche) dazugegeben. Das ganze wurde so lange mit einem Magnetrührer gerührt, bis sich die Tabletten gelöst hatten. Die gebrauchsfertige ABTS-Lösung konnte im Kühlschrank (lichtgeschützt bei 4 °C) bis zu 3 Wochen gelagert werden. Etwa 3 Stunden vor Gebrauch wurde die ABTS-Lösung aus dem Kühlschrank entnommen, lichtundurchlässig abgedeckt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen, um sich auf etwa 15 bis 25 °C zu erwärmen.

Washer

Mit dem Washer wurden die Mikrotiterplatten während der Untersuchung mit Aqua bidest und PBS-T Puffer gespült (gewaschen), um die Reste der jeweils eingesetzten Reagentien zu entfernen. Zu Beginn der Untersuchung wurden die 3 Vorratsbehälter des Washers frisch aufgefüllt. Die Vorratsbehälter enthielten PBS-T Puffer, Aqua bidest und 70 % Alkohol. Der Alkohol diente der Desinfizierung der Füll- und Absaugnadeln des Washers. Die für den ELISA notwendigen Programme sind eingespeichert und werden nach der Auswahl des Programms selbständig ausgeführt. Das Gerät füllt jeweils alle Wells der eingelegten Mikrotiterplatte mit der vorgesehenen Flüssigkeit an, schüttelt die Platte automatisch, falls erforderlich und saugt die Flüssigkeit zuletzt wieder ab. Vor jeder Nutzung wurden die Füll- und Absaugnadeln des Gerätes mit Aqua bidest durchgespült.

3.3.2.2 Durchführung und Auswertung

Abblocken der Mikrotiterplatte

Zu Beginn der Untersuchung wurden die Mikrotiterplatten „abgeblockt“, dh. 2 x mit PBS-T Puffer angefüllt, je 5 Minuten geschüttelt und dann wieder abgesaugt, um überschüssiges, nicht gebundenes Antigen zu entfernen. Damit sollte sichergestellt werden, dass nur die vorgesehene, definierte Menge an fest gebundenem Antigen vorhanden war. Danach wurde die Platte aus dem Washer genommen und einmal per Hand auf einem Papierhandtuch ausgeklopft.

Beschicken der Mikrotiterplatte

Jede Platte wurde im Vierfachansatz mit einer Positiv- und einer Negativkontrolle beschickt. Die Proben (Serum und Fleischsaft) wurden jeweils im Doppelansatz untersucht. Beide Ansätze wurden aus einem Eppendorf-Hütchen entnommen. Zusätzlich wurden auf jeder Platte 5 verschiedene, definierte Kontrollproben mit untersucht.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	S1	S3	S5	S7	S9	S11	S13	S15	S17	S19	K3
B	+	S1	S3	S5	S7	S9	S11	S13	S15	S17	S19	K3
C	+	FS1	FS3	FS5	FS7	FS9	FS11	FS13	FS15	FS17	FS19	K4
D	+	FS1	FS3	FS5	FS7	FS9	FS11	FS13	FS15	FS17	FS19	K4
E	-	S2	S4	S6	S8	S10	S12	S14	S16	S18	K1	K5
F	-	S2	S4	S6	S8	S10	S12	S14	S16	S18	K1	K5
G	-	FS2	FS4	FS6	FS8	FS10	FS12	FS14	FS16	FS18	K2	BLK
H	-	FS2	FS4	FS6	FS8	FS10	FS12	FS14	FS16	FS18	K2	BLK

Abbildung 3.1: Prinzip der Mikrotiterbeschickung

+	<i>Trichinella</i> -Positiv-Kontrollserum
-	<i>Trichinella</i> -Negativ-Kontrollserum
S	Feldserum
FS	dazugehöriger Fleischsaft
K	Kontrollseren
BLK	Platten-Blank

Die Mikrotiterplatten wurden mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette mit je 50 µl/Well beschickt. Zur Ermittlung des plattenspezifischen Leerwertes (Blank) wurden die zwei letzten Wells jeder Platte nur mit PBS-T Puffer beschichtet.

Inkubation

Die Mikrotiterplatte wurde mit Alufolie abgedeckt und 30 Minuten bei 37 °C im Brutschrank inkubiert.

Waschen der Mikrotiterplatte

Nach der Inkubation wurde die Platte ausgeschüttelt und anschließend im Washer gewaschen. Dabei wurde die Mikrotiterplatte zuerst mit Aqua-bidest angefüllt, abgesaugt und dann drei Mal mit PBS-T Puffer angefüllt, wobei die Platte vor dem Absaugen jeweils 5 Minuten geschüttelt wurde.

Beschicken der MTP mit Konjugat

Die Mikrotiterplatte wurde mit 50 µl Konjugat/Well beschickt.

Inkubation

Die Platte wurde mit Alufolie abgedeckt und 30 Minuten bei 37 °C inkubiert.

Waschen

Anschließend wurde die Platte wieder gewaschen. 1x mit Aqua bidest, 3x mit PBS-T Puffer und noch 2x mit Aqua bidest, wobei das Aqua bidest nur angefüllt und wieder abgesaugt wurde, der Puffer aber jeweils 5 Min. geschüttelt wurde.

Beschicken der MTP mit Substrat

Die Mikrotiterplatte wurde mit zimmerwarmem Substrat beschickt (50 µl / Well).

Inkubation

Die Platte wurde mit Alufolie abgedeckt und bei Zimmertemperatur auf einem Schüttler für 10 - 20 Minuten inkubiert.

Messen

Nach etwa 10 - 20 Minuten Inkubationszeit tritt ein Farbwechsel von farblos nach grün ein. Die Farbreaktion wurde bei einer Wellenlänge von 405 nm mit einem Reader gemessen. Der genaue Messzeitpunkt wurde anhand der Farbinintensität der *Trichinella*-Positiv-Kontrollseren geschätzt.

Für jede Serum- und Fleischsaftprobe wurde aus der Differenz des photometrisch gemessenen absoluten Extinktionswertes (E_a) und der Eigenextinktion der Mikrotiterplatte (E_{Blank}) der relative Extinktionswert (E_r) bestimmt:

$$\text{Relativer Extinktionswert } (E_r) = (E_a) - (E_{Blank})$$

Als interner Referenzwert der Untersuchung diente der Extinktionswert des *Trichinella*-Positiv-Kontrollserums. Die Auswertung der Proben erfolgte erst dann, wenn der relative Extinktionswert der Positiv-Kontrollen (E_{rPK}) einen Wert von 1,30 - 1,40 erreicht hatte. Aus dem Quotienten des relativen Extinktionswertes des Feldserums (E_{rS}), beziehungsweise der Fleischsaftprobe (E_{rFS}) und des relativen Extinktionswertes des *Trichinella*-Positiv-Kontrollserums (E_{rPK}) errechnet sich der Index des Feldserums (I_S) wie folgt:

$$\text{Index des Feldserums } (OD\%) = \frac{E_{rS}}{E_{rPK}} \times 100$$

Der Index des Feldserums (OD%) stellt den prozentualen Gehalt an Antikörpern im Vergleich zum mitgeführten Positiv-Kontrollserum dar. Die Beurteilung der OD%-Werte stellte sich wie folgt dar:

„*Trichinella*-negativ“: OD% < 14 %

„*Trichinella*-positiv“: OD% > 14 %

3.3.2.3 Interne Kontrollen

Um die untersuchten Serum- und Fleischsaftproben besser beurteilen zu können, wurden auf jeder Mikrotiterplatte zusätzlich verschiedene Serumproben mitgeführt, die bei der Beurteilung der Proben als Referenzwerte dienten. Die Proben stammten aus dem Bundesinstitut für Risikobewertung und wurden uns freundlicher Weise zur Verfügung gestellt. Es handelte sich um stark positive oder grenzwertige Serumprobe experimentell infizierter Schweine, die einen bestimmten Grenztiter aufwiesen. Diese waren im Bundesinstitut für Risikobewertung zuerst mit dem Magnetrührverfahren und anschließend mit dem ELISA untersucht worden, der Infektionsgrad war somit bekannt. Bei den anderen Serumproben handelte es sich um *Trichinella*-negative Serumproben und um eine Serumprobe, die kreuzreagierende Antikörper (von *Trichuris suis* oder *Ascaris suum*) enthielt.

Während eine der *Trichinella*-positiven Serumproben und die zwei *Trichinella*-negativen Serumproben auf jeder Platte durch Seren von verschiedenen Tieren vertreten waren, stammte die mitgeführte grenzwertige Serumprobe auf jeder untersuchten Platte von selben Tier. Da nach einem Teil der Untersuchungen diese erste Probe aufgebraucht war, wurde sie während der weiteren Untersuchungen durch eine ähnliche ersetzt (Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5: Interne *Trichinella*-grenzwertige Seren von infizierten Schweinen

Serumprobe	Spezifikation	Infektionsdosis	LpG	ELISA %	Grenztiter
A	grenzwertig	150	1,04	12	1:40
B	grenzwertig	150	1,51	12	1:80

Dosis Infektionsdosis des Tieres in Trichinenlarven

LpG Anzahl der nachgewiesenen Larven/1g Muskulatur

Grenztiter größte Verdünnung bis zu der das Serum als *Trichinella*-positiv erkannt wurde

Auf Grundlage dieser zusätzlichen Proben konnten die Platte untereinander verglichen und die einzelnen Werte besser beurteilt werden. Alle Proben, die einen Index von $> 14 \%$ aufwiesen oder einen höheren Wert als die mitgeführte positive bzw. grenzwertige Serumprobe hatten, wurden vorerst als *Trichinella*-positiv eingeschätzt.

3.3.2.4 Abklärung der Seroreagenten

Zur endgültigen Abklärung wurden die als *Trichinella*-positiv eingeschätzten Serum- und Fleischsaftproben vom Bundesinstitut für Risikobewertung als Referenzlabor für Trichinellose untersucht. Die Proben wurden dort erneut mittels ELISA untersucht. Für jede Probe, die dort einen Index von $> 8 \%$ erreichten, erfolgte eine Bestimmung des Grenztiters, das ist die geringste Serumkonzentration, bei der das Serum noch als *Trichinella*-positiv zu beurteilen ist.

Dazu wurden die Serumproben in PBS-T Puffer von 1 : 10 bis zu einer Verdünnung von 1 : 1280 verdünnt (Abbildung 3.2) und erneut dem ELISA unterzogen. Der Fleischsaft wurde bis zu einer Verdünnung von 1 : 128 austitriert.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10
B	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20
C	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40
D	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80
E	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160
F	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
G	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
H	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280	1:1280

Abbildung 3.2: Prinzip der Grenztiterbestimmung (Serum)

Die Proben wurden dann als ELISA-positiv gewertet, wenn die Serumproben bei der 1 : 10 Verdünnung einen Index von $\geq 80 \%$ erreichten und bei der Titration mindestens bis zu einem Titer von 1 : 80 positiv waren. Die Fleischsaftproben wurden dann als ELISA-positiv

gewertet, wenn sie bei der 1 : 1 Verdünnung einen Index von ≥ 70 % und bei der Titration mindestens einen Titer von 1 : 8 aufwiesen.

TG-ROC Analyse (receiver operating characteristic)

Des Weiteren wurde mittels einer TG-ROC Analyse der optimale Cut-off für die untersuchten Proben überprüft und die Sensitivität und die Spezifität des ELISA-Testes ermittelt. Dazu werden alle negativen und alle positiven untersuchten Proben des ELISA in einem Computerprogramm erfasst. Der Computer berechnet den Cut-off, an dem die positiven und die negativen Proben ideal getrennt sind und die Sensitivität und die Spezifität des Testes möglichst hoch sind.

3.3.2.5 Endgültige Bewertung der Proben

Für die endgültige Bewertung der Proben wurden zum einen die Ergebnisse aus dem ELISA (Serum und Fleischsaft des gleichen Tieres) und zum anderen die Ergebnisse der Digestion gegenübergestellt. Zusätzlich wurden die Ergebnisse der Nachuntersuchungen aus dem Bundesinstitut für Risikobewertung miteinbezogen. Erst Anhand aller Daten wurde die endgültige Bewertung der Proben als *Trichinella*-positiv oder *Trichinella*-negativ vorgenommen.

3.3.2.6 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse des ELISA für Serum- und Fleischsaftproben wurden in einer Excel-Datei zusammengestellt, gespeichert und die ELISA-Index-Werte mit dem Statistikprogramm SPSS analysiert.

Als statistische Parameter wurden für die beiden Gruppen Serum und Fleischsaft der Mittelwert, der Standardfehler des Mittelwertes, der Median, die Standardabweichung, Minimum und Maximum, die Spannweite und der Interquartilbereich ermittelt.

Danach wurden die Ergebnisse mit dem Kruskal-Wallis-Test verglichen und einer Varianzanalyse unterzogen. Die Häufigkeitsverteilungen für Serum- und Fleischsaftwerte wurden graphisch erfasst und mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Auch die Korrelation der Werte wurde graphisch dargestellt und der Korrelationskoeffizient errechnet.

Zusätzlich wurden die Ergebnisse der ELISA-Werte der Serum- und Fleischsaftproben bezogen auf die Bundesländer und die Betriebe, in Boxplots dargestellt. Auch die Ergebnisse der internen Kontrollen wurden ausgewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Digestionsverfahren (Muskelproben)

Alle 1.922 beprobten Schweine wurden bereits im Schlachthof mittels der vorgeschriebenen Digestionsmethode auf Trichinen untersucht. Bei keinem dieser Schweine konnten Trichinenlarven nachgewiesen werden. Die Schweine waren demnach auf Basis der amtlichen Untersuchung *Trichinella* negativ.

Auch bei der Untersuchung von weiteren 10 g je Schwein mittels Digestionsmethode waren alle Tiere negativ.

4.2 ELISA (Serum- und Fleischsaftproben)

Von jedem Schwein wurde je eine Serum- und eine Fleischsaftprobe mittels ELISA auf *Trichinella*-Antikörper untersucht, insgesamt 1.922 Serum- und Fleischsaftproben. Die Mehrzahl der untersuchten Proben wies ELISA-Index-Werte unter 14 % auf und wurde als negativ eingestuft. 1.877 Schweine, 97,66 % der getesteten Schweine, wurden demnach auch mittels ELISA als *Trichinella*-negativ bewertet (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: Ergebnisse der Untersuchung auf Antikörper gegen Trichinen mittels ELISA

		Fleischsaft		(%)
		positiv	negativ	
Serum	positiv	3	2	5 (0,26 %)
	negativ	40	1.877	1.917 (99,74 %)
(%)		43 (2,24 %)	1.879 (97,76 %)	1.922 (100 %)

5 Serumproben und 43 Fleischsaftproben hatten bei der Untersuchung auf *Trichinella*-Antikörper-Indexwerte über 14 % und waren demnach positiv (Tabelle 4.1). Von den 45 Schweinen, die mit dem ELISA positiv getestet wurden, waren bei 3 Tieren sowohl die Serum- als auch die Fleischsaftprobe positiv (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.2: Ergebnisse der untersuchten Serum- und Fleischsaftproben (ELISA)

Bundesland	Anzahl Betriebe	Anzahl Schweine	pos. Serumproben (%)	pos. Fleischsaftproben (%)
Brandenburg	5	227	0 (0 %)	3 (1,3 %)
Meckl.-Vorp.	5	198	0 (0 %)	11 (5,6 %)
Niedersachsen	23	1.196	4 (0,3 %)	23 (1,9 %)
NRW	5	71	0 (0%)	2 (2,8 %)
Sachsen	1	110	1 (0,9 %)	1 (0,9 %)
Sachsen-Anhalt	1	5	0 (0%)	0 (0%)
Schlesw.-H.	1	115	0 (0%)	3 (2,6 %)

Positive Fleischsaftproben stammten aus allen Bundesländern (ausgenommen Sachsen-Anhalt), während positive Serumproben nur in Niedersachsen und Sachsen vorkamen (Tabelle 4.2).

Von den insgesamt untersuchten 41 Beständen wurden Serumproben in 5 (12,2 %) und Fleischsaftproben in insgesamt 18 Betrieben (43,9 %) als *Trichinella*-positiv beurteilt. Eine ausführliche Tabelle mit den Angaben über positive Serum- oder Fleischsaftseren in den einzelnen Betrieben findet sich im Anhang.

4.2.1 Statistische Auswertung der ELISA-Ergebnisse

Bei der statistischen Auswertung wurden alle Ergebnisse des ELISA-Tests berücksichtigt, d.h. insgesamt wurden die ELISA-Index-Werte von 1.922 Tieren ausgewertet. Tabelle 4.3 zeigt die ermittelten statistischen Parameter der Serum- und Fleischsaftproben.

Tabelle 4.3: Statistische Parameter der ELISA-Index-Werte

Parameter		Serum	Fleischsaft
N		1.922	1.922
Mittelwert		6,7873	7,8774
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	6,6676	7,6776
	Obergrenze	6,9069	8,0772
Median		6,5660	7,2175
Varianz		7,152	19,950
Standardabweichung		2,6743	4,4665
Minimum		-0,483	0,346
Maximum		18,565	77,144
Spannweite		19,048	76,798
Interquartilbereich		3,377	4,297

Während der Mittelwert und der Median der Serum- und Fleischsaftwerte nahe beieinander liegen, zeigen sich deutliche Unterschiede in der Varianz und der Spannweite der untersuchten Proben, was auf die positiven Fleischsaftwerte zurückgeführt werden kann. Auffällig sind die unterschiedlichen Maxima: während die Seren Indexwerte bis etwa 18 % aufweisen, erreichen die Fleischsaftwerte ein Maximum von 77 %.

Nach der Auswertung mit dem Kruskal-Wallis-Test, einem nicht parametrischen statistischen Test, in dem unabhängige Stichproben im Rahmen einer Varianzanalyse verglichen werden, waren die ELISA-Werte für die Fleischsaftproben signifikant höher im Vergleich zu den Seren. Dazu wurden die Messwerte der Größe nach aufsteigend geordnet und mit Rängen versehen (Tabelle 4.4) Bei einer asymptotischen Signifikanz von 0,000 muss die Nullhypothese, nach der die Proben der gleichen Grundgesamtheit entstammten, verworfen werden und die Unterschiede als signifikant betrachtet werden (Tabelle 4.5).

Tabelle 4.4: Kruskal-Wallis-Test, Ränge

	N	Mittlerer Rang
Werte Serum	1.922	1.786,41
Fleischsaft	1.922	2.058,59
Gesamt	3.844	

Tabelle 4.5: Kruskal-Wallis-Test, Statistik

	Werte
Chi-Quadrat	57,801
df	1
Asymptotische Signifikanz	,000

df Freiheitsgrad

4.2.2 Vergleich der Serum- und Fleischsaftergebnisse, Häufigkeitsverteilung

In Abbildung 4.1 sind die 1.922 ermittelten ELISA-Index-Werte der untersuchten Seren dargestellt. Abbildung 4.2 zeigt alle ermittelten ELISA-Index-Werte der untersuchten Fleischsaftproben.

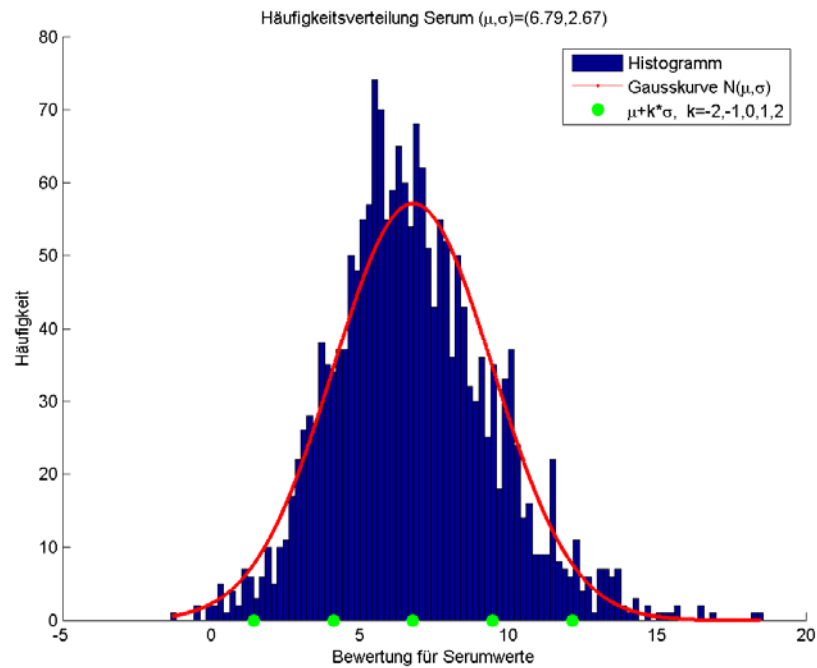


Abbildung 4.1: ELISA-Index-Werte der Serumproben

Während die ELISA-Werte für das Serum annähernd normalverteilt erscheinen, weisen die Werte für den Fleischsaft eine deutliche rechtsschiefe (linkssteile) Verteilung auf. Nach der Entfernung der positiven Werte (Indexwerte > 14), wiesen auch die Fleischsaftproben eine annähernd normalverteilte Form auf (Abbildung 4.3).

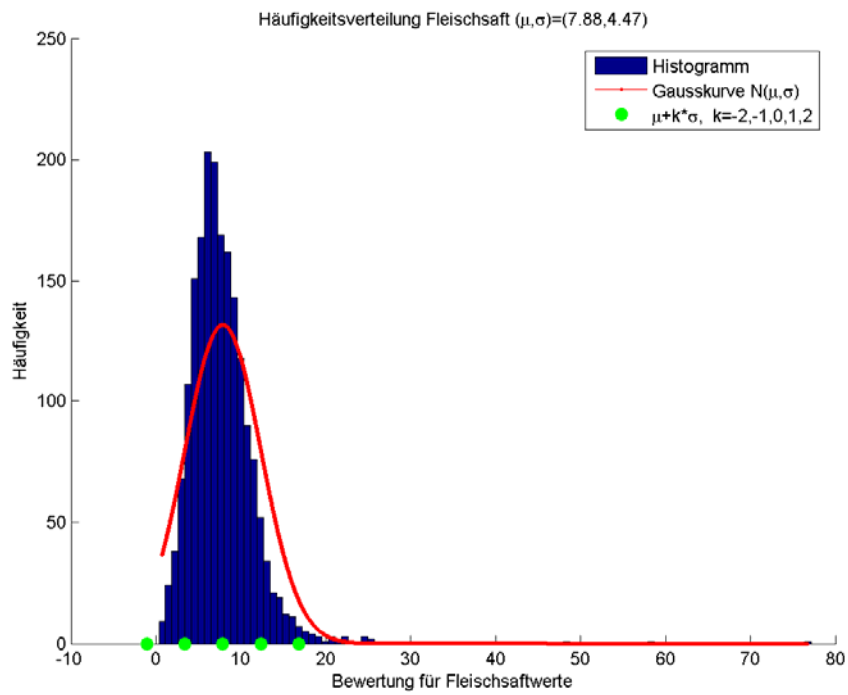


Abbildung 4.2: ELISA-Index-Werte aller Fleischproben

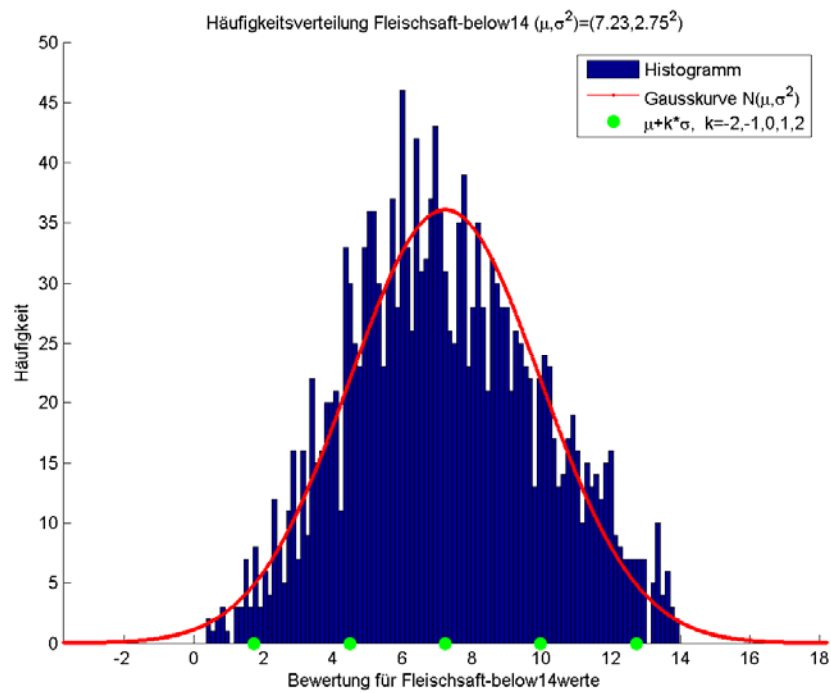


Abbildung 4.3: ELISA-Index-Werte der Fleischsaftproben < 14 %

Alle ELISA-Werte wurden dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest unterzogen, einem nichtparametrischen Test zur Prüfung auf Normalverteilung. Weder die Serum- noch die Fleischsaftwerte wiesen eine Normalverteilung auf (Tabelle 4.6).

Tabelle 4.6: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest

	Komogorov-Smirnov ^a		
	Statistik	df	Signifikanz
Werte	,042	1.922	,000

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

df Freiheitgrade

4.2.3 Prüfung auf Vergleichbarkeit der ELISA-Index-Werte

Die ELISA-Index-Werte der Serum- und der Fleischsaftproben wurden graphisch gegenüber gestellt und der Korrelationskoeffizient (r) der Proben berechnet (Abbildung 4.4).

Bei einem Korrelationswert von 1, ist eine vollständige Korrelation gegeben und die Werte stellen sich in einer Abbildung als Linie dar. Der errechnete Korrelationskoeffizient der Proben von 0,1477 tendiert gegen Null. Dies zeigt an, dass kein Zusammenhang zwischen den Vergleichswerten gegeben ist. Dementsprechend stellen sich die Daten in der Abbildung 4.4 eher als Wolke denn als Linie dar, was einer Korrelation widerspricht.

Zusätzlich wurde die Korrelation zwischen den Serumwerten und den negativen Fleischsaftwerten (Indexwerte < 14 %) berechnet. Auch hier konnte mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,1842 keine Korrelation festgestellt werden.

Dabei ist allerdings zu beachten, dass es sich bei den Daten um die Messwerte negativer Tiere handelt. Negative Daten weisen stets eine gewisse Streuung auf, die keiner festen Regelmäßigkeit folgt, so dass Aussagen, die über diese Daten getroffen werden, nicht auf positive Proben übertragen werden dürfen.

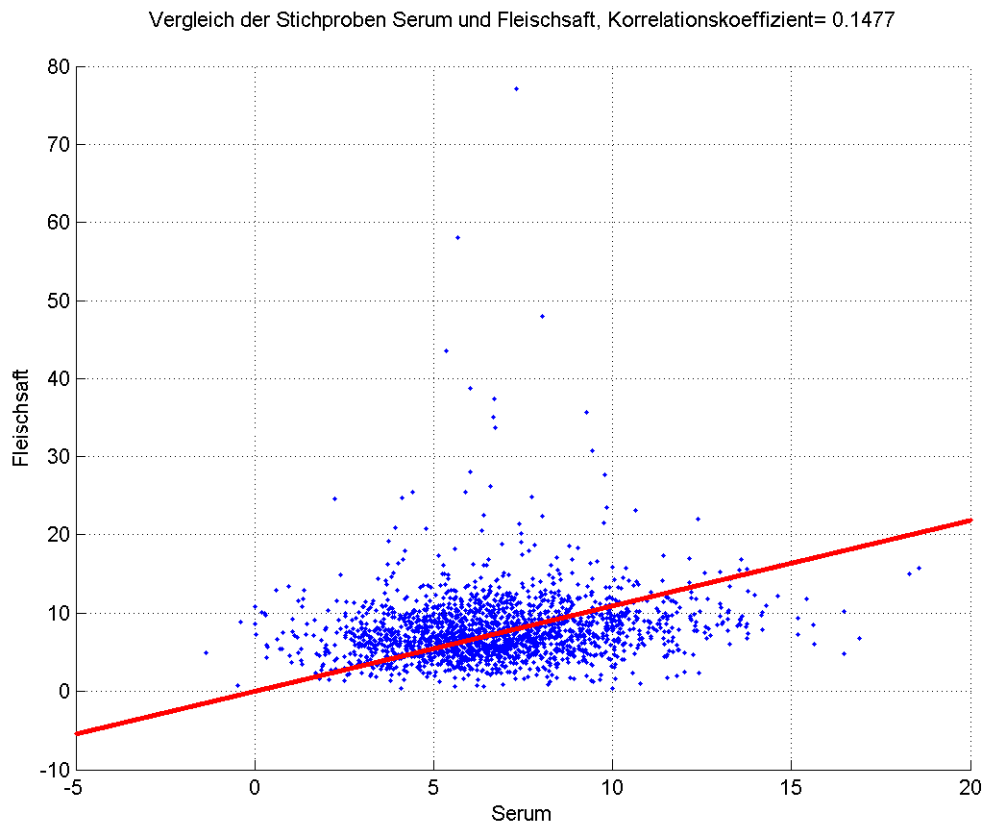


Abbildung 4.4: Vergleich der ELISA-Index-Werte der Serum- und Fleischsaftproben

$r = 0$, vollständige Unabhängigkeit der beiden Merkmale

$r = 1$, vollständige Abhängigkeit der beiden Merkmale

4.2.4 Statistische Auswertung der Ergebnisse der Bundesländer

Die Ergebnisse der Serum- und Fleischsaftproben wurden getrennt nach den 7 Bundesländern, aus denen die Proben stammten, betrachtet und verglichen. Alle Bundesländer, bis auf Sachsen-Anhalt weisen Maxima $> 14\%$ auf. Die Mittelwerte und Mediane variieren zwischen Werten von 5 bis 9.

In Abbildung 4.5 sind die Ergebnisse der Serum- und Fleischsaftwerte der Bundesländer in Boxplots dargestellt.

Eine Übersicht über die untersuchten Proben je Betrieb und Bundesland und die statistischen Parameter der Bundesländer ist im Anhang dargestellt.

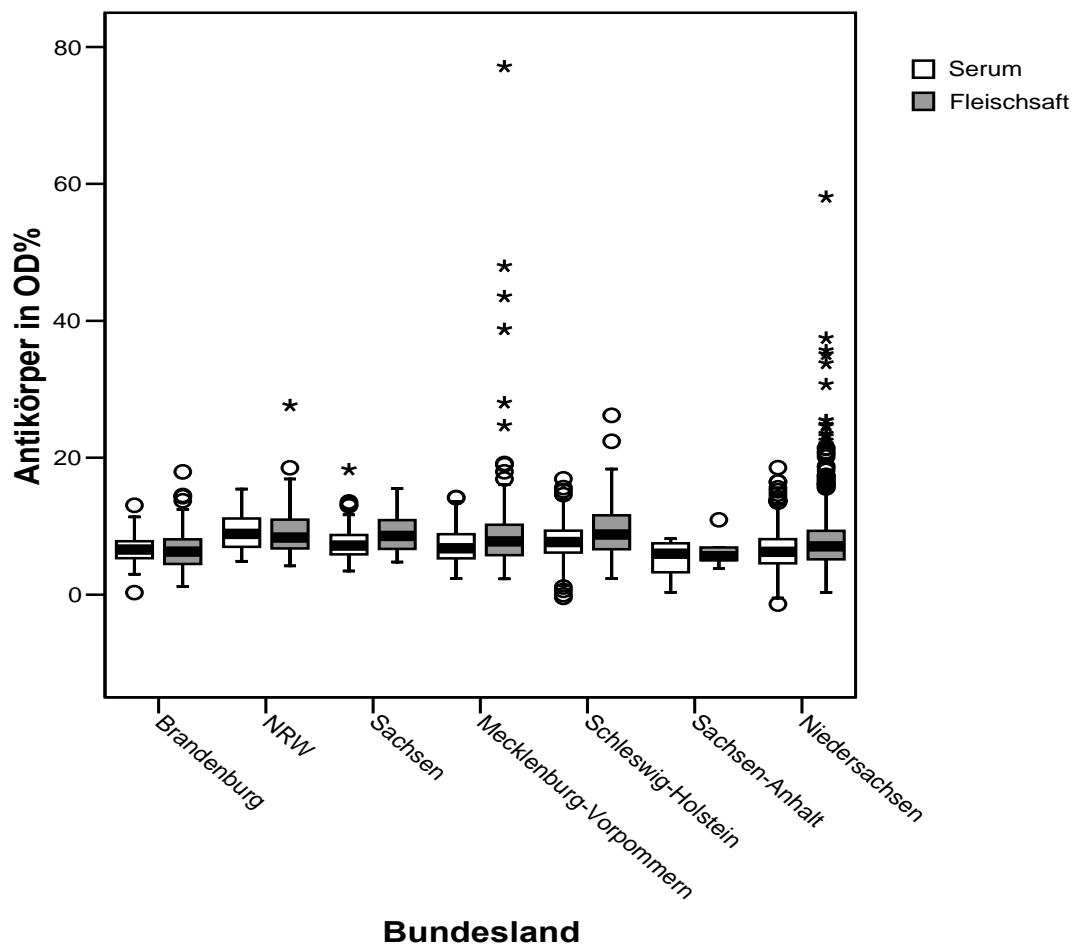


Abbildung 4.5: Boxplots der Ergebnisse der Bundesländer

4.2.5 Statistische Auswertung der Ergebnisse der Betriebe

Die Ergebnisse der Serum- und Fleischsaftproben wurden getrennt nach den 41 Betrieben, aus denen die Proben stammten, betrachtet und verglichen.

In den Abbildungen 4.6 und 4.7 sind die Ergebnisse getrennt nach Serum und Fleischsaft in Boxplots dargestellt. Während die Verteilungen bis auf Schwankungen regelmäßig verteilt sind, finden sich bei den Betrieben 16, 19 und 27 vermehrt Ausreißer, die mit den positiv ausgefallenen ELISA-Proben erklärt werden können.

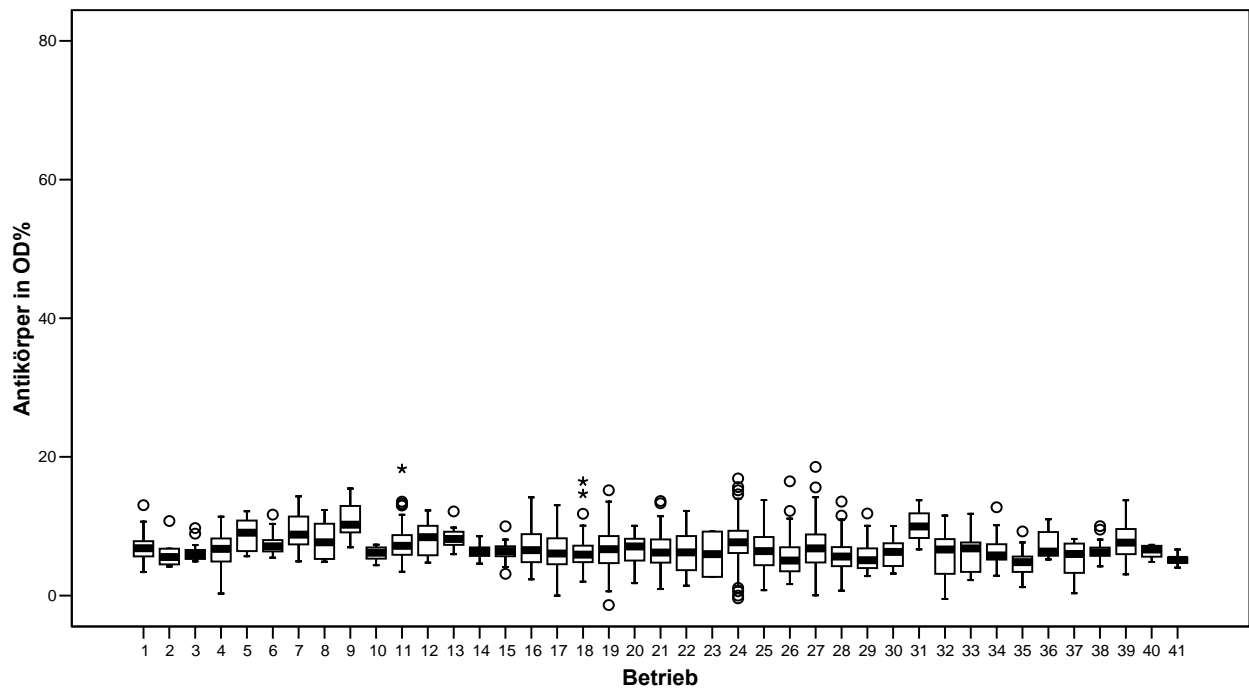


Abbildung 4.6: Boxplots der untersuchten Serumproben

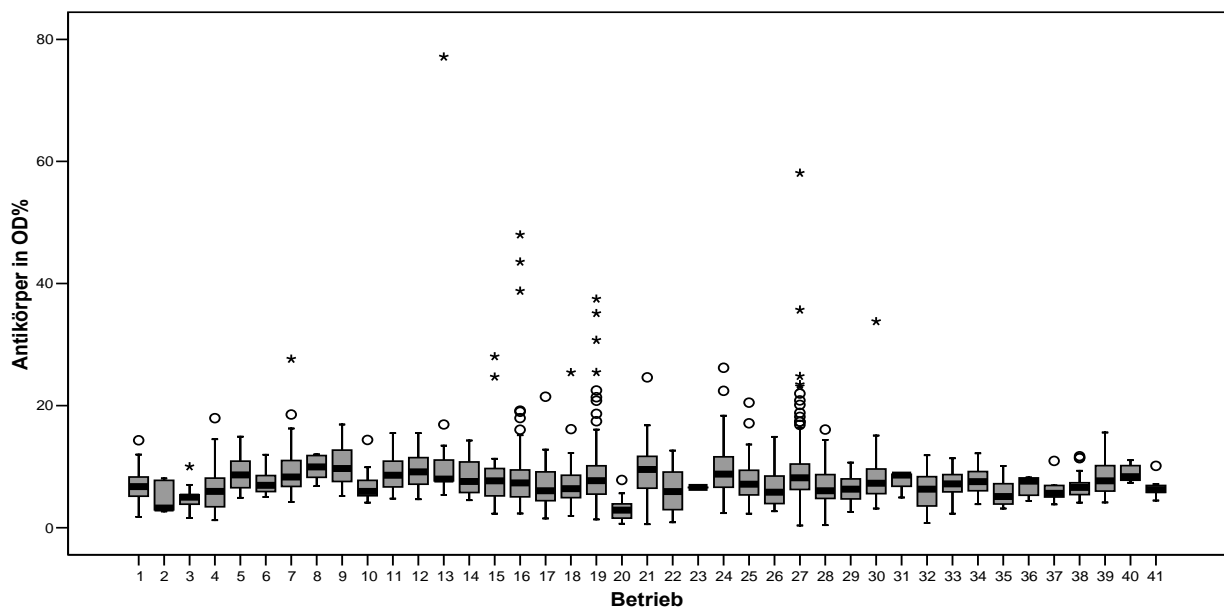


Abbildung 4.7: Boxplots der untersuchten Fleischsaftproben

4.3 Vergleich der Ergebnisse von Digestionsverfahren und ELISA

Anhand einer Vierfelder-Analyse der Ergebnisse von Digestion und ELISA (Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8) konnte die Spezifität des ELISA ermittelt werden. Die Digestion wurde dabei als „Gold Standard“ gewertet. Beim Serum erreichte der ELISA eine Spezifität von 99,7 %. Die Sensitivität konnte nicht ermittelt werden, da alle Proben bei der Untersuchung mittels Digestion negativ waren.

Tabelle 4.7: Vierfelder-Analyse der Ergebnisse der Digestion und des ELISA (Serum)

		Digestion		Summe (%)
		positiv	negativ	
ELISA (Serum)	positiv	0	5	5 (0,26 %)
	negativ	0	1.917	1.917 (99,74 %)
Summe (%)		0 (0 %)	1.922 (100 %)	1.922 (100 %)

$$\text{Spezifität (\%)} = \frac{\text{Zahl der negativen Tiere im vergleichenden Test (ELISA)}}{\text{Zahl der negativen Tiere im "Goldstandard"}} \times 100$$

$$= 99,7 \%$$

Tabelle 4.8: Vierfelder-Analyse der Ergebnisse der Digestion und des ELISA (Fleischsaft)

		Digestion		Summe (%)
		positiv	negativ	
ELISA (Fleischsaft)	positiv	0	43	43 (2,24 %)
	negativ	0	1.879	1.879 (97,76 %)
Summe (%)		0 (0 %)	1.922 (100 %)	1.922 (100 %)

$$\text{Spezifität (\%)} = \frac{\text{Zahl der negativen Tiere im vergleichenden Test (ELISA)}}{\text{Zahl der negativen Tiere im "Goldstandard"}} \times 100$$

$$= 97,8 \%$$

Beim Fleischsaft erreichte der ELISA eine Spezifität von 97,8 %. Genau wie beim Serum konnte auch hier die Sensitivität nicht ermittelt werden.

4.4 Abklärung der Ergebnisse

4.4.1 Ergebnisse der internen Kontrolle

Alle negativen Kontrollseren, die zusätzlich in jedem Test mitgeführt wurden, waren *Trichinella*-negativ. Alle kreuzreagierenden Proben fielen ebenfalls *Trichinella*-negativ aus. Alle *Trichinella*-positiven Kontrollseren fielen *Trichinella*-positiv aus. Die 2 grenzwertigen Kontrollseren (A und B), die auf allen Platten mituntersucht wurden, schwankten bei den Ergebnissen zwischen positiv und negativ und waren jeweils normalverteilt. Tabelle 4.9 zeigt die Ergebnisse der grenzwertigen Proben im Vergleich.

Tabelle 4.9: Ergebnisse der grenzwertigen Referenzproben im ELISA

Ergebnisse der Proben	Probe A		Probe B		Gesamt	
	Anzahl der Ergebnisse	Anzahl in %	Anzahl der Ergebnisse	Anzahl in %	Anzahl der Ergebnisse	Anzahl in %
positiv	23	53,5 %	30	48,4 %	53	50,5 %
negativ	20	46,5 %	32	51,6 %	52	49,5 %
gesamt	43	100 %	62	100 %	105	100 %

4.4.2 Ergebnisse der Abklärungsuntersuchungen

Alle 5 in der ersten Untersuchung beurteilten *Trichinella*-positiven Seren waren in der Abklärungsuntersuchung negativ (Tabelle 4.10). Von den 43 als positiv beurteilten Fleischsaftproben erwiesen sich in der Abklärungsuntersuchung 28 (65,1 %) als negativ, 11 (25,6 %) als fraglich und 4 (9,3 %) als *Trichinella* positiv (Tabelle 4.11).

Tabelle 4.10: Ergebnisse der Nachuntersuchung – Serum

Serum	Ergebnisse der 1. Untersuchung	Ergebnisse der Nachuntersuchung			
		Indices (%) Verd. 1:100	Indices (%) Verd. 1:100	Indices (%) Verd. 1:10	Erreichter Grenztiter
E 101	18,3	16,8	48,9	1:40	-
N131	18,6	12,3	23,2	1:20	-
S 80	16,5	10,3	40,3	1:40	-
T 35	14,7	9,8	30,9	1:20	-
W 17	15,2	15,2	25,9	1:20	-

Tabelle 4.11: Ergebnisse der Nachuntersuchung – Fleischsaft

Fleischsaft	Ergebnisse der 1. Untersuchung	Ergebnisse der Nachuntersuchung im Bundesinstitut für Risikobewertung			
		Indices (%) Verd. 1:10	Indices (%) Verd. 1:10	Indices (%) Verd. 1:1	Erreichter Grenztiter
A 5	14,3	13,4	40,1	1:4	-
C 21	17,9	5,9	-	-	-
D 26	27,6	1,4	-	-	-
D 77	16,4	19,9	27,4	1:8	?
E 5	14,4	6,5	-	-	-
E 101	15,0	21,3	36,8	1:16	?
G 1	16,9	12,3	29,2	1:2	-
G 2	77,1	14,3	15,3	1:1	-
G 31	28,0	14,8	23,1	1:2	-
G 37	24,7	21,6	25,2	1:2	-
H 45	19,0	7,5	-	-	-
H 51	18,0	3,7	-	-	-
H 53	15,1	6,0	-	-	-

Tabelle 4.11 (Fortsetzung)

H 57	19,2	3,6	-	-	-
J 31	43,6	10,7	17,4	1:1	-
J 44	38,8	6,9	-	-	-
J 51	48,0	11,9	16,4	1:1	-
K 20	25,4	8,1	11,6	-	-
K 70	24,6	8,1	29,3	1:2	-
M 18	22,4	19,9	53,3	1:8	?
M 20	26,2	28,9	63,8	1:32	?
M 59	23,1	2,5	-	-	-
M 77	16,8	39,7	83,0	1:64	+
N 109	30,7	11,2	31,1	1:4	-
N 131	15,7	38,0	52,7	1:32	?
N 132	22,0	38,0	71,2	1:16	+
O 24	23,5	13,6	58,8	1:4	-
O 52	20,5	7,6	-	-	-
Q 92	18,3	28,3	45,2	1:32	?
T 35	16,1	12,2	46,4	1:4	-
U 40	21,4	9,2	26,6	1:2	-
U 43	25,5	14,8	30,7	1:2	-
U 44	18,7	5,0	-	-	-
U 95	16,3	3,6	-	-	-
U101	58,1	9,8	46,4	1:2	-
V 39	15,6	11,3	55,5	1:8	?
W 2	37,5	33,0	49,9	1:32	?
W 11	35,1	34,1	63,8	1:16	?
W 42	14,1	13,1	41,1	1:16	?
W 58	16,6	9,8	35,2	1:4	-
W 71	14,9	13,9	44,4	1:32	?
W 74	14,4	24,6	69,7	1:64	+
W 78	33,8	22,3	120,0	1:64	+

4.4.3 Endgültige Bewertung der Proben

Bei der endgültigen Beurteilung der Proben wurden die Ergebnisse aus allen Untersuchungen berücksichtigt. Die Ergebnisse der Digestion wurden als „Gold Standard“ und damit als ausschlaggebend gewertet. Ein Großteil der nachuntersuchten Proben war negativ. Außerdem wurde die Tatsache berücksichtigt, dass bei keinem der untersuchten Schweine in der Nachuntersuchung sowohl Serum als auch Fleischsaft positiv waren. Dementsprechend wurden alle Proben als *Trichinella*-negativ beurteilt.

5 Diskussion

5.1 Hintergrund der Arbeit

Beim Hausschwein werden Trichinellen selten nachgewiesen, so sind nur etwa 0 - 3 Schweine von den ca. 40 Mio., die jährlich geschlachtet werden, *Trichinella*-positiv (POZIO 2005). Im Gegensatz dazu ist die Trichinellose im silvatischen Zyklus noch immer von Bedeutung. Beim Wildschwein lag die Prävalenz von *Trichinella spiralis* in den letzten 10 Jahren zwischen 0,001 und 0,01 %. Auch beim Fuchs (*Trichinella spiralis*, *Trichinella britovi*) und Marderhund (*Trichinella spiralis*) können immer wieder Trichinen nachgewiesen werden.

Normalerweise kann eine Infektion von Haustieren auf *Trichinella spiralis* zurückgeführt werden. Doch gelegentlich werden auch die silvatischen Spezies *Trichinella britovi* und *Trichinella pseudospiralis* bei Schweinen aus Freilandhaltungen und bei Pferden nachgewiesen (MURRELL and POZIO 2000).

Eine Infektion von Hausschweinen ist ausschließlich in extensiven Systemen festzustellen, wo keine Barrieren den Kontakt zu Wild- und Nagetieren verhindern. Dagegen kommt es in industrialisierten Managementsystemen äußerst selten zu einer Infektion mit Trichinen (KAPEL 2005). Ausbrüche, die auf solche extensiven Haltungen zurückgeführt werden konnten, gab es bereits in verschiedenen Regionen Spaniens, Südfinnlands und an diversen Orten in Zentral- und Osteuropa (POZIO 1998).

Vor allem in den osteuropäischen Ländern ist die Anzahl der Trichinellose-Fälle in den letzten 10 bis 15 Jahren massiv angestiegen. Aufgrund politischer und wirtschaftlicher Umwälzungen stieg die Anzahl der kleinbäuerlichen Betriebe mit einer entsprechenden Abnahme der Haltungshygiene und einer verminderten Qualität der Fleischuntersuchung. Im Zuge dessen kam es in Bulgarien, Rumänien, Serbien, Kroatien, Polen und Litauen zu verschiedenen Ausbrüchen mit mehreren tausend infizierten Personen durch den Verzehr von trichinösem Schweinefleisch (POZIO 2005).

Diese Situation spiegelt sich auch in der Untersuchung von HAMIDI (2005) wider. In dieser Untersuchung wurden Hausschweine aus Outdoor- und Indoorhaltungen aus Kroatien und

Deutschland auf Trichinen untersucht. Alle 1.401 untersuchten Proben aus Deutschland (225 aus Indoorhaltungen und 1.176 aus Outdoorhaltungen) waren *Trichinella*-negativ. In Kroatien waren alle 163 Schweine aus Indoorhaltungen *Trichinella*-negativ, während bei den 63 untersuchten Schweinen aus Outdoorhaltungen mit der Digestion 11 *Trichinella*-positive Proben nachgewiesen werden konnten.

Da mittlerweile ein immer größer werdendes Interesse des Verbrauchers an Produkten aus ökologischen Betrieben und tiergerechter Haltung besteht, ist in Deutschland und der Europäischen Union ein zunehmender Anstieg ökologischer Landwirtschaft zu beobachten, die zumeist mit Outdoorhaltung (Freiland- oder Auslaufhaltung) verbunden ist. Dies war Anlass, das Vorkommen der Trichinellose in Outdoorhaltungen in Deutschland weitergehend zu untersuchen.

5.2 Auswahl der Tiere

Bei der Auswahl der Proben wurde ein Schwerpunkt darauf gesetzt, dass die beprobten Schweine aus Outdoorhaltungen stammten und damit im Gegensatz zu Indoorhaltungen Kontaktmöglichkeiten zur Außenwelt hatten.

Aus organisatorischen Gründen konnten nur Tiere aus mittelgroßen Betrieben untersucht werden, die in größeren ökologischen Fleischvermarktungsgesellschaften organisiert waren. Diese sammeln die zur Schlachtung vorgesehenen Tiere der einzelnen Betriebe ein und transportieren sie dann zusammen zu den Schlachthöfen. Da für die Untersuchung die Schweine von 4 verschiedenen Vermarktungsgesellschaften beprobt wurden, konnte eine relativ große Auswahl an Tieren untersucht werden, die aus insgesamt 42 verschiedenen Betrieben aus 7 Bundesländern stammte.

Auf Grund der Übergangszeiten, die in der **Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel** vorgesehen sind, wurde ein geringer Teil der Schweine noch in Stallhaltungen ohne Auslauf gehalten. Dabei handelte es sich zumeist um Außenklimaställe. Die restlichen Tiere wurden zumindest über einen Teil ihrer Aufzucht in Ställen mit Auslaufmöglichkeiten gehalten. Für die Haltung, Fütterung und Aufzucht galten die Vorgaben der Verordnung Nr. 2092/91 und zum Teil zusätzliche Anforderungen der Fleischvermarktungsgesellschaften. Wie diese Anforderungen praktisch durch die Betriebe umgesetzt wurden, ist nicht bekannt.

5.3 Auswahl der Methoden

Digestionsmethode

Zum Zeitpunkt der Probenentnahmen galt die Richtlinie 77/96 EWG, nach der die Digestionsmethode für die amtliche Trichinenuntersuchung vorgeschrieben war. Daher wurden alle beprobten Schweine schon am Tage der Schlachtung mit 1 g Zwerchfellmuskulatur auf Trichinellen untersucht. Bei einer Probenmenge von 1 g liegt die Nachweissensitivität der Digestion bei 1 - 3 Larven pro g Muskulatur. Da die amtliche Trichinenuntersuchung vor allem eine klinische Trichinellose des Menschen verhindern soll, ist dieser Grad an Sensitivität ausreichend (GAMBLE et al. 2000).

Die Digestionsmethode gilt als Referenznachweismethode für den Nachweis der Trichinellose. Um die Nachweisempfindlichkeit zu verstärken und auch geringere Mengen an Larvenbefall nachweisen zu können, wurde eine weitere Untersuchung mit einem erhöhten Probengewicht (10 g) vorgenommen.

ELISA

Unter den serologischen Nachweismethoden stellt der ELISA eine praktikable und einfache Variante dar, die vor allem bei der epidemiologischen Überwachung von Wildtieren und beim Herdenmonitoring genutzt wird. Die zusätzliche Untersuchung mit dem ELISA bot die Möglichkeit, zwei verschiedene Nachweismethoden der *Trichinella*-Diagnostik zu vergleichen und die Sensitivität und Spezifität des ELISA der Digestionsmethode („Gold Standard“) gegenüber zu stellen.

Bei der Untersuchung mittels ELISA wird die Verwendung von Serum bevorzugt, allerdings besteht auch die Möglichkeit, Vollblut oder Gewebesaft zu nutzen (GAMBLE et al. 2004). Für diese Untersuchungen wurde sowohl Serum als auch Fleischsaft verwendet. Der Fleischsaft wurde dabei den Fleischproben aus der Zwerchfellmuskulatur entnommen. Bei der Entnahme der Proben wurde auf exaktes und sauberes Arbeiten geachtet, soweit dies unter den gegebenen Umständen möglich war. Laut GAMBLE et al. (2004) sollte das Wiedereinfrieren von bereits aufgetauten Proben vermieden werden. Dies konnte nicht immer umgangen werden, da die Proben in 2 verschiedenen Instituten untersucht wurden.

Bei der Verwendung von Fleischsaft wird empfohlen (GAMBLE et al. 2004), das Fleisch nach der Entnahme zu waschen, in kleine Stücke zu schneiden, einzufrieren und dann aufzutauen, um den Fleischsaft zu gewinnen. Originalfleischsaft sollte nicht genutzt werden, da er Blut enthält und kontaminiert sein könnte. Auf Grund der gegebenen Umstände konnte das Probenfleisch vor Ort nicht gewaschen werden, stattdessen wurden die Fleischstücke in einem Stück gekühlt und später eingefroren. Für die ersten Untersuchungen wurde der Originalfleischsaft genutzt, damit die frischen Proben danach direkt mittels Digestion untersucht werden konnten.

Der ELISA wurde nach Absprache mit dem Referenzlabor für Trichinellose nach den Vorgaben von NÖCKLER et al. (1995) durchgeführt. Die Verwendung eines exkretorisch-sekretorischen Antigens anstelle eines somatischen Antigens konnte dabei die hohe Spezifität des Testes gewährleisten.

Der Nachweis von Trichinellen-Antikörpern hat jedoch nur eine eingeschränkte Aussagekraft, da in der Früh- und Spätphase der Infektion falsch-negative Ergebnisse möglich sind. Der Antikörpertiter kann in der Frühphase der Infektion noch zu gering oder nicht ausgebildet sein und in der Spätphase der Infektion bereits so stark abgesunken sein, dass Antikörper mit dem ELISA nicht mehr nachzuweisen sind.

5.4 Betrachtung der Ergebnisse

Alle 1.922 untersuchten Schweine wurden bereits anhand der amtlichen Untersuchung im Schlachthof als *Trichinella*-negativ eingestuft. Auch bei der Untersuchung von 10 g Zwerchfellsmuskulatur konnten keine Trichinenlarven nachgewiesen werden.

Dieses Ergebnis wurde bei 1.877 der untersuchten Schweine mit dem ELISA bestätigt. 5 Serumproben (0,26 %) und 43 Fleischsaftproben (2,24 %) wiesen jedoch bei der Untersuchung mit dem ELISA Indexwerte über 14 % auf und wurden demnach auf Basis des ELISA als *Trichinella*-positiv gewertet.

Es stellte sich die Frage, inwiefern die Nachweisempfindlichkeit des ELISA über der des Larvennachweises der Digestion lag und ob demnach die ELISA-positiven Proben in der Tat *Trichinella*-positiv waren oder ob es sich um falsch-positive Ergebnisse handelte.

Auffällig war, dass nur 3 der untersuchten Tiere einen positiven Serum- und gleichzeitig einen positiven Fleischsaftbefund aufwiesen. Bei allen anderen positiv-getesteten Tieren war nur eine der untersuchten Proben positiv, was gegen eine tatsächliche Infektion spricht, da sich im Falle von positiven Proben die Serum- und Fleischsaftproben entsprechen müssten. Bei der Nachuntersuchung im Referenzlabor für Trichinellose konnte bestätigt werden, dass es sich um falsch-positive Befunde handelte: nach der Titration wurden nur noch 4 der untersuchten Fleischsaftseren als *Trichinella*-positiv und 11 als *Trichinella*-fraglich bewertet. Die restlichen Fleischseren und alle Blutseren waren *Trichinella*-negativ, so dass keine Probe auf Grundlage der Nachuntersuchung sowohl Serum- als auch Fleischsaftpositiv blieb

Betrachtet man zudem die Digestionmethode als "Gold-Standard", waren die ELISA-positiven Werte als falsch-positiv einzuschätzen. Dafür spricht auch die Tatsache, dass auch bei der Untersuchung von 10 g Muskulatur mittels Digestion und damit einer Erhöhung der Sensitivität um das 10-fache keine Trichinenlarven nachgewiesen werden konnten. Aus den Ergebnissen wurde geschlossen, dass die untersuchten Proben durchweg *Trichinella*-negativ waren.

Auffällig war, dass viele der falsch-positiven Fleischsaftproben einen hohen Anteil an korpuskulären Bestandteilen aufwiesen, was die hohen Extinktionen erklären könnte.

Die verminderte Qualität der Proben kann mit der Probenentnahme im Schlachthof und durch den langen Transport erklärt werden. Bei dem Vergleich der Ausfahrten fiel auf, dass die falsch-positiven Proben recht gleichmäßig auf alle Ausfahrten verteilt waren (Tabelle 5.1). Einzig bei der letzten Ausfahrt fiel eine leichte Häufung der falsch-positiven Proben auf. Dies stimmte mit der Beobachtung überein, dass einige Fleischsaftproben der letzten Ausfahrt vermehrt korpuskuläre Teilchen aufwiesen. Ein direkter Grund hierfür konnte nicht ermittelt werden.

Tabelle 5.1: ELISA-positive Proben geordnet nach Ausfahrten

Ausfahrt	Anzahl der beprobten Schweine	Positive Ergebnisse der 1. Untersuchung		Positive Ergebnisse (BfR)
		Serum	Fleischsaft	Fleischsaft
A	61	0	1	0
C	39	0	1	0
D	71	0	2	1
E	130	1	2	1
G	46	0	4	0
H	58	0	4	0
J	96	0	3	0
K	92	0	2	0
M	108	0	4	3
N	129	1	3	2
O	113	0	2	0
Q	123	0	1	1
S	108	1	0	0
T	106	1	1	0
U	104	0	5	0
V	72	0	1	1
W	87	1	7	6

Bei der Untersuchung von Fleischsaft sollte daher darauf geachtet werden, dass die Probenentnahme sauber verläuft, das Fleisch nach der Entnahme gereinigt und möglichst bald eingefroren wird. Der nach dem Auftauen entnommene Fleischsaft sollte sofort wieder eingefroren werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren von Proben sollte soweit möglich vermieden werden: Die Empfehlungen vom GAMBLE et al. (2004) können somit bestätigt werden.

Auch das Blut sollte möglichst hygienisch entnommen und bis zum Gerinnen stehen gelassen werden. Das abgesetzte Blutserum sollte schnellstmöglich bis zur Aufarbeitung eingefroren werden. Insgesamt zeigte sich das Blutserum weit weniger anfällig für einen Qualitätsverlust als der Fleischsaft.

Die Spezifität des ELISA liegt laut GAMBLE (1998) bei der Untersuchung von Probenmaterial vom Schwein bei etwa 90,4 - 99,6 % und die Sensitivität bei etwa 93,1 - 99,2 %. Mit der Digestion als „Gold Standard“, betrug die Spezifität 97,8 % für den Fleischsaft und bezogen auf das Blutserum sogar 99,7 %, was die hohe Spezifität des ELISA bestätigt. Ein weiterer Punkt, der für die Spezifität des ELISA spricht, ist die Tatsache, dass alle parallel untersuchten Seren mit kreuzreagierenden Antikörpern *Trichinella*-negativ waren. Mit den ELISA-Ergebnissen der auf jeder Platte mitgeführten internen Kontrollseren (*Trichinella*-negativ, -grenzwertig und -positiv), konnte zusätzlich gezeigt werden, dass die erwarteten Ergebnisse mit dem verwendeten ELISA erhalten wurden. Die höhere Spezifität des ELISA beim Blutserum lässt sich mit der geringeren Anfälligkeit des Serums gegenüber Qualitätsschwankungen erklären. Die Sensitivität des ELISA konnte auf Grund der Tatsache, dass alle in der Digestion untersuchten Muskelproben negativ waren, nicht ermittelt werden.

Mit Hilfe weiterer Untersuchungen mit dem ELISA (Austitration der *Trichinella*-positiven Serum- und Fleischsaftproben) konnte ein Großteil der Seroreagenten abgeklärt werden. Auch der Westernblot ist ein geeigneter Bestätigungstest zur Abklärung von Seroreagenten in der *Trichinella*-Diagnostik (NÖCKLER and KAPEL 2007). Dieser Test stand für die eigenen Untersuchungen jedoch nicht zur Verfügung.

Bei der Untersuchung der ELISA-Ergebnisse für Serum und Fleischsaft mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test war bei beiden Matrices eine Normalverteilung nicht gegeben. Dies kann zum einen auf die Anzahl extremen Ausreißer (insbesondere beim Fleischsaft) und

zum anderen auf die relativ hohe Zahl der in den statistischen Test eingegangenen Werte (1.922) zurückgeführt werden (Abbildung 5.1).

Trotz der annähernd gleichen Mittelwerte für die ELISA-Ergebnisse der Serum- und Fleischsaftproben, ergab die statistische Auswertung signifikant höhere OD%-Werte für die Fleischsaftproben, was ebenfalls auf die extremen Ausreißer bei diesen Proben zurückgeführt werden kann (Abbildung 5.1).

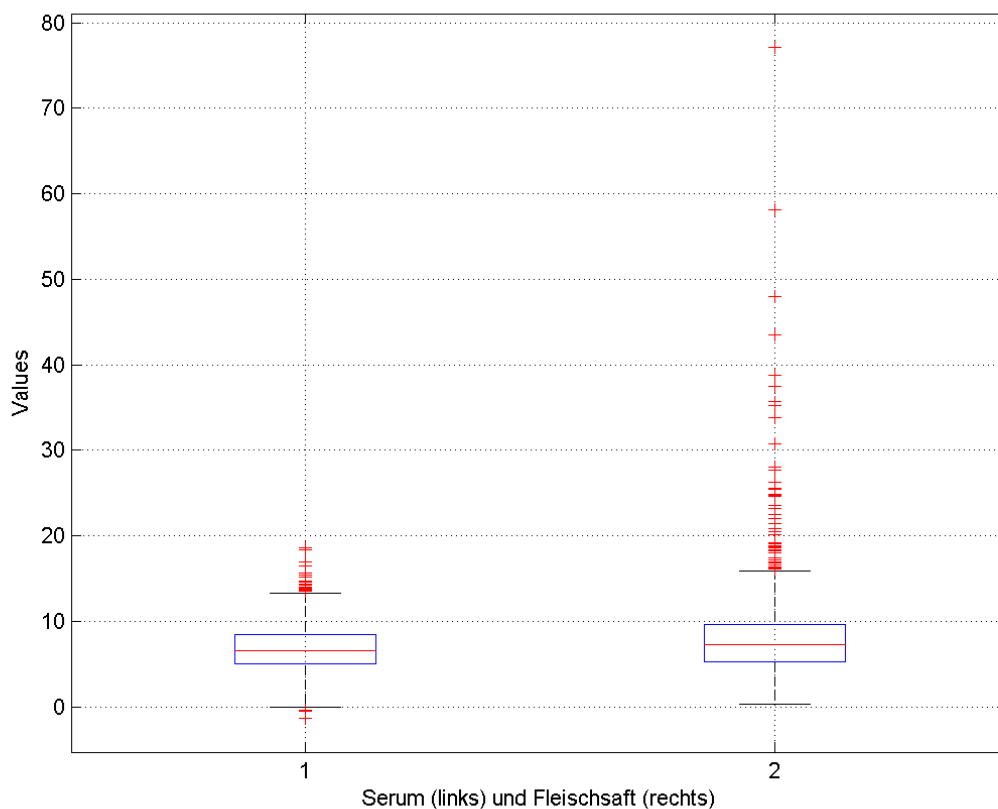


Abbildung 5.1: Boxplots der Serum- und Fleischsaftproben

Zusätzlich wurden die Ergebnisse der Serum- und Fleischsaftproben nach Bundesländern und Betrieben geordnet und verglichen. Die signifikant unterschiedlichen ELISA-Werte für die Fleischsaftproben (niedriger für Brandenburg und Niedersachsen) und Serumproben (höher für Nordrhein-Westfalen) sind wahrscheinlich nicht auf regionale Unterschiede zurückzuführen. Eventuell hatte die Wahl des Schlachthofes einen Einfluss auf dieses Ergebnis. Eine andere Erklärung dafür könnte auch die unterschiedlich große Anzahl von Proben sein, die für die Untersuchung aus den einzelnen Bundesländern zur Verfügung stand. Bei der Untersuchung der Herkunft der *Trichinella*-positiven Serum- und Fleischsaftproben

waren diese auf die Betriebe und Bundesländer, aus denen die Schweine zur Schlachtung kamen, gleichmäßig verteilt, so dass ein unmittelbarer Zusammenhang zum Herkunftsbetrieb nicht hergestellt werden konnte (Tabelle 5.2).

Tabelle 5.2: ELISA-positive Proben geordnet nach Herkunft

Herkunft	Bundesland	Anzahl der untersuchten Schweine	Positive Ergebnisse der 1. Untersuchung		Positive Ergebnisse (BfR)
			Serum	Fleischsaft	Fleischsaft
Bestand 1	Brandenburg	107	0	1	0
Bestand 4	Brandenburg	78	0	1	0
Bestand 7	NRW	29	0	1	0
Bestand 9	NRW	15	0	1	1
Bestand 10	Brandenburg	20	0	1	0
Bestand 11	Sachsen	110	1	1	1
Bestand 13	Meckl.-Vorp.	12	0	2	0
Bestand 15	Meckl.-Vorp.	25	0	2	0
Bestand 16	Meckl.-Vorp.	115	0	7	0
Bestand 18	Niedersachsen	81	1	2	0
Bestand 19	Niedersachsen	160	1	6	2
Bestand 21	Niedersachsen	65	0	4	2
Bestand 24	Schlesw.-H.	115	0	3	3
Bestand 25	Niedersachsen	164	0	1	0
Bestand 26	Niedersachsen	20	1	0	0
Bestand 27	Niedersachsen	190	1	7	3
Bestand 28	Niedersachsen	109	0	1	1
Bestand 30	Niedersachsen	45	0	1	1
Bestand 39	Niedersachsen	32	0	1	1

5.5 Epidemiologische Erörterungen

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen kann geschlossen werden, dass die Trichinellose gegenwärtig auch bei Schweinen aus Outdoorhaltungen im domestischen Zyklus in Norddeutschland nicht von Bedeutung ist.

Eine Prävalenz von *Trichinella* in der Schadnagerpopulation des untersuchten Gebietes ist entweder nicht vorhanden oder zu gering, um sich im domestischen Zyklus niederzuschlagen. Allerdings kann diese Feststellung nur für die untersuchten Regionen getroffen werden, da in einem anderen Habitat möglicherweise andere Voraussetzungen bestehen, die eine Übertragung in den domestischen Zyklus ermöglichen.

Zur endgültigen Klärung dieser Fragen sind weitere Untersuchungen in ganz Deutschland sinnvoll. Dabei wären sicherlich vor allem auch die östlichen Gebiete Deutschlands an der Grenze zu Polen und Tschechien von Interesse. Während in Tschechien die Trichinellose, wie auch in Deutschland, nur im sylvatischen Zyklus auftritt, ist sie in Polen auch im endemischen Zyklus vertreten (POZIO 2001). In Süddeutschland wiederum sind die Strukturen der Betriebe anders, so dass auch dort Untersuchungen angebracht wären.

Obwohl zurzeit das Risiko vernachlässigbar ist, besteht in Outdoorhaltungen die Möglichkeit, dass potentielle Kreisläufe geschlossen werden und es damit zu einer Übertragung von Trichinen auf Hausschweine und damit zu einer Gefährdung von Menschen kommt.

5.6 Schlussfolgerungen

Der ELISA ist als Methode für das Trichinellen-Herdenmonitoring beim Schwein sehr geeignet. Mit der Verwendung eines exkretorischen-sekretorischen Antigens konnte eine hohe Spezifität, sowohl bei der Untersuchung von Blutseren als auch bei der Untersuchung von Fleischsaft, erzielt werden. Bei der Untersuchung mittels ELISA ist die Verwendung von Blutserum vorzuziehen, da Blutserum eine geringere Anfälligkeit für Qualitätsveränderungen aufwies.

Dennoch besitzt der ELISA als diagnostische Methode zum Nachweis spezifischer *Trichinella*-Antikörper nur eine beschränkte Aussagekraft, da in der Frühphase und in der Spätphase der Infektion falsch-negative Ergebnisse möglich sind.

Für die amtliche Fleischuntersuchung empfiehlt sich als Referenznachweismethode noch immer die Digestion, wie sie in **Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen** vorgesehen ist.

Angesichts des sehr seltenen Vorkommens der Trichinellose in Deutschland waren auch bei der Untersuchung von Outdoorschweinen keine *Trichinella*-positiven Tiere zu erwarten, was anhand der Untersuchungsergebnisse bestätigt werden konnte.

Da die Trichinellose in Deutschland endemisch ist und bei Wildtieren immer wieder nachgewiesen wird, kann für die Untersuchung auf Trichinellose jedoch keine Entwarnung gegeben werden. Auch weiterhin besteht bei Outdoorhaltungen ein größeres Risiko für eine mögliche Infektion mit Trichinen, da bei Tieren in Auslaufhaltungen die Wahrscheinlichkeit größer ist, dass sie in Kontakt zu trichinösen Wild- oder Nagetieren kommen. Bei Schweinen in Indoorhaltungen wird dies allein schon durch die geschlossene Haltung weitestgehend verhindert. Doch auch in Outdoorhaltungen kann das Risiko einer Infektion durch ein gutes Hygienemanagement minimiert werden. Dazu gehören Bekämpfungsmaßnahmen gegen Schädlinge z.B. ebenso wie eine kontrollierte Fütterung und ein kontrollierter Zukauf neuer Tiere.

Das erhöhte Risiko in Outdoorhaltungen wird auch in der **Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen** berücksichtigt.

Während für Schweine aus Indoorhaltungen die Möglichkeit einer Abweichung von der Trichinenuntersuchung besteht, müssen Schweine, die Zugang zu Freigehegen haben, nach wie vor direkt am Schlachthof mittels Digestion auf Trichinen untersucht werden, was angesichts des bestehenden Risikos gerechtfertigt ist.

6 Zusammenfassung

Mit der zunehmenden Verbreitung ökologischer Haltungen von Schweinen ist auch ein Anstieg an Auslauf- und Freilandhaltungen festzustellen. Damit stellt sich die Frage, ob empfängliche Nutzungsgruppen aus diesen Haltungen vermehrt durch eine Infektion mit Trichinen gefährdet sind, da ein Kontakt zu infizierten Wild- und Nagetieren nicht immer vermieden werden kann.

Es wurden insgesamt 1.922 Hausschweine aus Outdoorhaltungen mit einer direkten und einer indirekten Methode auf Trichinen untersucht. Die Tiere stammen aus kleinen bis mittelgroßen ökologischen Betrieben aus Norddeutschland, wo sie zumeist in Ställen mit Auslaufhaltung gehalten wurden. Für den direkten Nachweis wurden 10 g Zwerchfellsmuskulatur mittels Magnetrührverfahren auf Trichinenlarven untersucht. Für den indirekten Nachweis wurden Serumproben in einer Verdünnung von 1 : 100 und Fleischsaftproben in einer Verdünnung von 1 : 10 mittels ELISA auf Trichinen-Antikörper untersucht. Der ELISA wurde unter Verwendung eines exkretorisch-sekretorischen Larvenantigens durchgeführt.

Alle untersuchten Schweine waren sowohl bei der Digestionsmethode als auch beim ELISA *Trichinella*-negativ, allerdings wiesen eine geringe Anzahl von Fleischsaftseren falsch-positive Ergebnisse auf, die auf Proben mit schlechter Qualität zurückzuführen sind. Die negativen Ergebnisse sprechen dafür, dass die Trichinellose in Deutschland gegenwärtig auch in Outdoorhaltungen nicht von Bedeutung ist. Dennoch stellen Outdoorhaltungen auch weiterhin ein größeres Infektionsrisiko für Parasiten dar als konventionelle Indoorhaltungen, was auch in der gegenwärtigen Gesetzeslage berücksichtigt wird. So ist für Outdoorhaltungen keine Möglichkeit zur Zertifizierung als Trichinenfreier Betrieb vorgesehen.

Für die Untersuchung großer Probenmengen erwies sich der ELISA als bei weitem praktikabler und zeitsparender als die Digestion, auch ermöglicht er die Untersuchung und den Vergleich verschiedener Testmedien, wie Fleischsaft und Serum. Er zeigt sich jedoch auf Grund der Komplexität etwas störanfälliger, so wurden vor allem bei den Fleischsaftproben falschpositive Proben nachgewiesen, die in der Digestion negativ ausfielen. Die im Vergleich zum ELISA geringere Sensitivität der Digestion konnte durch die Untersuchung einer größeren Probenmenge ausgeglichen werden.

Unsere Ergebnisse stützen daher die vorherrschende Auffassung, nach der die Digestion nach wie vor für die amtliche Untersuchung vorzuziehen ist, während der ELISA eher für epidemiologische Untersuchungen und für das Herdenmonitoring zu empfehlen ist.

7 Summary

Prevalence of *Trichinella spiralis* in pigs kept outdoors

An increasing number of farms applies ecological principles of keeping techniques with an increase of animals kept outdoors. These animals may undergo increased epidemiological pressure, because of their contact with wildlife and environment.

In this study, 1.922 domestic fattening pigs from outdoor were examined for *Trichinella* with the direct digestion method and indirectly using a *Trichinella* ELISA. The animals came from smaller holdings as well as from medium size ecological based farms in Northern Germany. For the direct technique, 10 g of diaphragm muscles were taken and examined by digestion technique. For indirect ELISA testing, serum was diluted 1 : 100, meat juice was diluted 1 : 10, based on the excretory-secretory antigen of *Trichinella spiralis*.

All samples tested negatively using both techniques. However, some samples were false-positive, which refers to a low quality of these samples. Data show, that at present, trichinellosis deems not to represent a risk in Northern Germany, which was true for the outdoor farms also. However, with the change of the epidemiological pressure, outdoor offers a greater risk for *Trichinella spiralis* infections, too. This situation is reflected in the legislation, too: Outdoor cannot get the certification as a *Trichinella*-free farm acc. to Regulation (EC) 2075/2005.

ELISA turned out to be practical and time efficient compared to digestion. Moreover, ELISA may be used for the comparison of different matrices such as blood serum or meat juice. With meat juice, this ELISA tested in few cases false-positively. This was not the case with the digestion. In comparison to ELISA the digestion method is less sensitive, this can be compensated with a higher amount of samples.

Finally, ELISA might serve well as an instrument for epidemiological studies and for herd monitoring, but not as a means of mandatory inspection. As a reference technique, only digestion should be used.

Literaturverzeichnis

ANCELLE, T. (1998):

History of trichinellosis outbreaks linked to horse meat consumption 1975 - 1998.

Eurosurveillance 3, 86 - 89

ANCELLE, T., DUPOUY-CAMET, J., BOUGNOUX, M. E., FOURESTIE, V., PETIT, H.,
MOUGEOT, G., NOZAIS, J. P., and J. LAPIERRE (1988):

Two outbreaks of trichinosis caused by horse meat in France in 1985.

Am. J. Epidemiol. 127, 1302 - 1311

ANCELLE, T., RENAUD, G., DUPOUY-CAMET, J., and G. FOULON (1990):

Evaluation of the medical and social cost of 2 trichinosis outbreaks in France in 1985.

Rev. Epidemiol. Sante Publique 38, 179 - 186 (in French)

APPLEYARD, G. D., CONBOY, G., and A. A. GAJADHAR (1998):

Trichinella spiralis in sylvatic hosts from Prince Edward Island.

J. Wildl. Dis. 34, 158 - 160

BANDI, C., LA ROSA, G., BARDIN, M. G., DAMIANI, G., DE CARNERI, I., and E.
POZIO (1993):

Arbitrarily primed polymerase chain reaction of individual *Trichinella* specimens.

J. Parasitol 79, 437 - 440

BANDI, C., LA ROSA, G., BARDIN, M. G., DAMIANI, G., COMINCINI, S., TASCIOTTI,
L., and E. POZIO (1995):

Random amplified polymorphic DNA fingerprints of the eight taxa of *Trichinella* and their comparison with allozyme analysis.

Parasitol. 10, 401 - 407

BLANCOU, J. (2001):

History of trichinellosis surveillance.

Parasite 8, 16 - 19

BOIREAU, P., VALLÈE, I., ROMAN, T., PERRET, C., LIU MINGYUAN, GAMBLE, H. R., and A. GAJADHAR (2000):

Trichinella in horses: a low frequency infection with high human risk.

Vet. Parasitol. 93, 309 - 320

BRITOV, V. A., and S. N. BOEV (1972):

Taxonomic rank of various strains of *Trichinella* and their circulation in nature.

Vestnik Akademii Nauk KSSR 28, 27 - 32 (in Russian)

CAMPBELL, W. C. (1979):

History of trichinosis: Paget, Owen and the discovery of *Trichinella spiralis*.

Bull. Hist. Med. 53, 520 - 552

CAMPBELL, W. C. (1983a):

Historical introduction.

In: Campbell, W. C. (Ed.), *Trichinella* and Trichinellosis.

Plenum Press, New York (London), pp. 1 - 28

CAMPBELL, W. C. (1983b):

Epidemiology I. Modes of transmission.

In: Campbell, W. C. (Ed.), *Trichinella* and Trichinosis.

Plenum Press, New York (London), pp. 425 - 444

CHOMEL, B. B., KASTEN, R. W., CHAPPUIS, G., SOULIER, M., and Y. KIKUCHI (1998):

Serological survey of selected canine viral pathogens and zoonoses in grizzly bears (*Ursus arctos horribilis*) and black bears (*Ursus americanus*) from Alaska.

Rev. Sci. Tech. 17, 756 - 766

DESPOMMIER, D. D. (1998):

How does *Trichinella spiralis* make itself at home?

Parasitol. Today 14, 318 - 323

DUPOUY-CAMET, J. (1999):

Is human trichinellosis an emerging zoonosis in the European community?

Helminthologia 36, 201 - 204

DUPOUY-CAMET, J., SOULÉ, C., GUILLOU, J. P., ROUER, E., LAVAREDA DE SOUZA, S., ANCELLE, T., and R. BENAROUS (1991):

Detection of repetitive sequences of *Trichinella spiralis* by the polymerase chain reaction in experimentally infected mice.

Parasitol. Res. 77, 180 - 182

DUPOUY-CAMET, J., SOULE, C., and T. ANCELLE (1994a):

Recent news on trichinellosis: another outbreak due to horse meat consumption in France in 1993.

Parasite 1, 99 - 103

DUPOUY-CAMET, J., ROBERT, F., GUILLOU, J. P., VALLET, C., PERRET, C., and C. SOULÉ (1994b):

Identification of *Trichinella* isolates with random amplified polymorphic DNA markers.

Parasitol. Res. 80, 358 - 360

ENEMARK, H. L., BJORN, H., HENRIKSEN, S. A., and B. NIELSEN (2000):

Screening for infection of *Trichinella* in red fox (*Vulpes vulpes*) in Denmark.

Vet. Parasitol. 88, 229 - 237

EUROPEAN COMMISSION (2001):

Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on Trichinellosis, epidemiology methods of detection and *Trichinella*- free pig production.

Health & consumer protection directorate-general, Directorate C- Scientific Opinions

FORBES, L. B., and A. A. GAJADHAR (1999):

A validated *Trichinella* digestion assay and an associated sampling and quality assurance system for use in testing pork and horse meat.

J. Food Prot. 62, 1308 - 1313

GAMBLE, H. R. (1996):

Detection of trichinellosis in pigs by artificial digestion and enzyme immunoassay.

J. Food Prot. 59, 295 - 298

GAMBLE, H. R. (1998):

Sensitivity of artificial digestion and enzyme immunoassay methods of inspection of Trichinellosis in pigs.

J. Food Prot. 61, 339 - 343

GAMBLE, H. R., ANDERSON, W. R., GRAHAM, C. E., and K. D. MURRELL (1983):

Diagnosis of swine trichinellosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an excretory-secretory antigen.

Vet. Parasitol. 13, 349 - 361

GAMBLE, H. R., GAJADHAR, A. A., and M. B. SOLOMON (1996):

Methods for the detection of trichinellosis in horses.

J. Food Prot. 59, 420 - 425

GAMBLE, H. R., BESSONOV, A. S., CUPERLOVIC, K., GAJADHAR, A. A., VAN KNAPEN, F., NÖCKLER, K., SCHENONE, H., and X. ZHU (2000):

International commission on Trichinellosis:

Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption.

Vet. Parasitol. 93, 393 - 408

GAMBLE, H. R., POZIO, E., BRUSCHI, F., NÖCKLER, K., KAPEL, C. M. O., and A. A. GAJADHAR (2004):

International commission on Trichinellosis:

Recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man.

Parasite 11, 3 - 13

GARKAVI, B. L. (1972):

Species of *Trichinella* isolates from wild animals.

Veterinariya 10, 90 - 91 (in Russian)

GOTTSTEIN, B., POZIO, E., CONNOLY, B., GAMBLE, H. R., ECKERT, J., and H.P. JAKOB (1997):

Epidemiological investigation of trichinellosis in Switzerland.

Vet. Parasitol. 72, 201 - 207

HAMIDI, A. (2005):

Vergleichende Untersuchungen zum Vorkommen von *Trichinella spiralis* in zwei europäischen Regionen.

Diss. Vet. Med., FU Berlin, Journal-Nr. 2933

KAPEL, C. M. O. (2000a):

Host diversity and biological characteristics of the *Trichinella* genotypes and their effect on transmission.

Vet. Parasitol. 93, 263 - 278

KAPEL, C. M. O. (2000b):

Experimental infection with sylvatic and domestic *Trichinella spp.* in wild boars: infectivity, muscle larvae distribution, and antibody response.

J. Parasitol. 93, 263 - 278

KAPEL, C. M. O. (2001):

Sylvatic and domestic *Trichinella spp.* in wild boars; infectivity, muscle larvae distribution, and antibody response.

J. Parasitol. 87, 309 - 314

KAPEL, C. M. O. (2005):

Changes in the EU legislation on *Trichinella* inspection. New challenges in the epidemiology.

Vet. Parasitol. 132, 189 - 194

KAPEL, C. M. O., WEBSTER, P., LIND, P., POZIO, E., HENRIKSEN, S. A., MURRELL, K. D., and P. NANSEN (1998):

T. britovi, and *T. nativa*: infectivity, larval distribution in muscle, and antibody response after experimental infection of pigs.

Parasitol. Res. 84, 264 - 271

KAPEL, C. M. O., POZIO, E., SACCHI, L., and P. PRESTRUD (1999):

Freeze tolerance, morphology, and RAPD-PCR identification of *Trichinella nativa* in naturally infected arctic foxes.

J. Parasitol. 85, 144 - 147

KAPEL, C. M. O., and H. R. GAMBLE (2000):

Infectivity, persistence, and antibody response to domestic and sylvatic *Trichinella spp.* in experimentally infected pigs.

Int. J. Parasitol. 30, 215 - 221

KASSUR, B., and J. JANUSZKIEWICZ (1986):

Clinical classification of trichinellosis (in Polish).

Przegl. Epidemiol. 22, 203 - 208

KOCIECKA, W. (2000):

Trichinellosis: human disease, diagnosis and treatment.

Vet. Parasitol. 93, 365 - 383

KUMAR, V., POZIO, E., DE BORCHGRAVE, J., MORTELMANS, J., and W. DE MEURICHY (1990):

Characterization of a *Trichinella* isolate from polar bear.

Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 70, 131 - 135

LA ROSA, G., and E. POZIO (2000):

Molecular investigation of African isolates of *Trichinella* reveals genetic polymorphism in *Trichinella nelsoni*.

Int. J. Parasitol. 30, 663 - 667

LA ROSA, G., POZIO, E., BARRAT, J., and J. BLANCOU (1991):

Identification of sylvatic *Trichinella* (T3) in foxes from France.

Vet. Parasitol. 40, 113 - 117

LA ROSA, G., MARRUCCI, G., ZARLENGA, D. S. and POZIO, E. (2001):

Trichinella pseudospiralis populations of the Palearctic region and their relationship with populations of the Nearctic and Australian regions.

Int. J. Parasitol. 31, 297 - 305

LEIBY, D. A., DUFFY, C. H., MURRELL, K. D. and G. A. SCHAD (1990):

Trichinella spiralis in an agricultural ecosystem: transmission in the rat population.

J. Parasitol. 76, 360 - 364

MADSEN, H. (1974):

The principles of the epidemiology of trichinellosis with a new view on the life cycle.

In: Kim, C. W. (Ed.), Trichinellosis. Intext, New York, pp. 615 - 638

MALACZEWSKA, M., MALCZEWSKI, A., ROCKI, B., and W. CABAJ (1997):

The red fox (*Vulpes vulpes*) as reservoir of *Trichinella sp.* in Poland.

Wiad. Parazytol. 43, 303 - 306

MOORHEAD, A., GRUNENWALD, P. E., DIETZ, V. J., and P. M. SCHANTZ (1999):

Trichinellosis in the United States, 1991 - 1996: declining but not gone.

Am. J. Trop. Med. Hyg. 60, 66 - 69

MURRELL, K. D., and E. POZIO (2000):

Trichinellosis: the zoonosis that won't go quietly.

Int. J. Parasitol. 30, 1339 - 1349

MURRELL, K. D., STRINGFELLOW, F., DAME, J. B., LEIBY, D. A., DUFFY, C., and G. A. SCHAD (1987):

Trichinella spiralis in an agricultural ecosystem. II. Evidence for natural transmission of *Trichinella spiralis* from domestic swine to wildlife.

J. Parasitol. 73, 103 - 109

MURRELL, K. D., LICHTENFELS, R. J., ZARLENGA, D. S., and E. POZIO (2000):

The systematics of the genus *Trichinella* with a key to species.

Vet. Parasitol. 93, 293 - 307

NAGANO, I., WU, Z., MATSUO, A., POZIO, E., and Y. TAKAHASHI (1999):

Identification of *Trichinella* isolates by polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism of the mitochondrial cytochrome c-oxidase subunit I gene.

Int. J. Parasitol. 29, 1113 - 1120

NÖCKLER, K. (2000):

Gegenwärtiger Stand der Diskussion um die Zertifizierung sogenannter "Trichinen-freier Regionen".

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 113, 134 - 138

NÖCKLER, K. (2005):

Vorkommen und Bedeutung von *Trichinella* spp. in Deutschland.

Wien. Tierärztl. Mschr. 92, 301 - 307

NÖCKLER, K and C. M. O. KAPEL (2007):

Chapter 3, Detection and surveillance for *Trichinella*: meat inspection and hygiene, and legislation.

In: Dupouy-Camet, J., Murrell, K. D. (Edts.) FAO/WHO/OIE

Guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis.

World Organization for animal Health (OIE) Paris, 69 - 98

NÖCKLER, K., VOIGT, W. P., PROTZ, D., MIKO, A., and K. ZIEDLER (1995):

Diagnosis of trichinellosis in living pigs using indirect ELISA.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 108, 167 - 174

NÖCKLER, K., POZIO, E., VOIGT, W. P., and J. HEIDRICH (2000):

Detection of *Trichinella* infection in food animals.

Vet. Parasitol. 93, 335 - 350

OKSANEN, A., LINDGREN, E., and P. TUNKKARI (1998):

Epidemiology of trichinellosis in lynx in Finland.

J. Helminthol. 72, 47 - 53

OWEN, R. (1835):

Description of a microscopic entozoon infesting the muscles of the human body.

Trans. Zool. Soc. London 1, 315 - 324

PAWLOWSKI, Z. S. (1983):

Clinical aspects in man.

In: CAMPBELL, W. C. Ed.: *Trichinella* and Trichinosis.

Plenum Press, New York, London, pp. 367 - 401

POZIO, E. (1998):

Trichinellosis in the European Union: epidemiology, ecology and economic impact.

Parasitol. Today 14, 35 - 38

POZIO, E. (2000a):

Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*.

Vet. Parasitol. 93, 241 - 262

POZIO, E. (2000b):

Is horsemeat trichinellosis an emerging disease in the EU?

Parasitol. Today 16, 266

POZIO, E. (2001):

New patterns of *Trichinella* infection.

Vet. Parasitol. 98, 133 - 148

POZIO, E. (2005):

The broad spectrum of *Trichinella* hosts: from cold- to warm-blooded animals.

Vet. Parasitol. 132, 3 - 11

POZIO, E., and G. LA ROSA (2000):

Trichinella murrelli n. sp.: etiological agent of sylvatic trichinellosis in temperate areas of North America.

J. Parasitol. 86, 134 - 139

POZIO, E., LA ROSA, G., ROSSI, P., and R. FICO (1989):

Survival of *Trichinella* muscle larvae in frozen wolf tissue in Italy.

J. Parasitol. 75, 472 - 473

POZIO, E., LA ROSA, G., MURRELL, K. D., and J. R. LICHTENFELS (1992a):

Taxonomic revision of the genus *Trichinella*.

J. Parasitol. 78, 654 - 659

POZIO, E., LA ROSA, G., MIGNONE, W., AMATI, M., and C. ERCOLINI (1992b):

Survival of muscle larvae of *Trichinella britovi* in frozen muscle tissues of wild boar.

Arch. Vet. Ital. 43, 57 - 60

POZIO, E., LA ROSA, G., ROSSI, P., and K. D. MURRELL (1992c):

Biological characterization of *Trichinella* isolates from various host species and geographical regions.

J. Parasitol. 78, 647 - 653

POZIO, E., LA ROSA, G., SERRANO, F. J., BARRAT, J., and L. ROSSI (1996):

Environmental and human influence on the ecology of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Western Europe.

Parasitology 113, 527 - 533

POZIO, E., DE MENEGHI, D., ROELKE-PARKER, M. E., and G. LA ROSA (1997a):

Trichinella nelsoni in carnivores from the Serengeti ecosystem, Tanzania.

J. Parasitol. 83, 1195 - 1198

POZIO, E., TAMBURRINI, A., SACCHI, L., GOMEZ MORALES, M. A., CORONA, S., GOFFREDO, E., and G. LA ROSA (1997b):

Detection of *Trichinella spiralis* in a horse during routine examination in Italy.

Int. J. Parasitol. 27, 1613 - 1621

POZIO, E., CELANO, G. V., SACCHI, L., PAVIA, C., ROSSI, P., TAMBURRINI, A., CORONA, S., and G. LA ROSA (1998):

Distribution of *Trichinella spiralis* larvae in muscles from a naturally infected horse.

Vet. Parasitol. 74, 19 - 27

POZIO, E. and C. M. O. KAPEL (1999):

Trichinella native in sylvatic wild boars.

J. Helminthol. 73, 87 - 89

POZIO, E., OWEN, I. L., LA ROSA, G., SACCHI, L., ROSSI, P., and S. CORONA (1999):

Trichinella papuae n. sp. (Nematoda), a new non-encapsulated species from domestic and sylvatic swine of Papua New Guinea.

Int. J. Parasitol. 29, 1825 - 1839

POZIO, E., NÖCKLER, K., HOFFMANN, L., and W. P. VOIGT (2000a):

Autochthonous and imported *Trichinella* isolates in Germany.

Vet. Parasitol. 87, 157 - 161

POZIO, E., and G. LA ROSA (2000):

Trichinella murrelli n. sp.: etiological agent of sylvatic trichinellosis in temperate areas of North America.

J. Parasitol. 86, 134 - 139

POZIO, E., FOGGIN, C. M., MARUCCI, G., LA ROSA, G., SACCHI, L., CORONA, S., ROSSI, P., and S. MUKARATIRWA (2002):

Trichinella zimbabwensis n.sp. (Nematoda), a new non-encapsulated species from crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in Zimbabwe also infecting mammals.

ROBERTS, T., MURRELL, K. D., and S. MARKS (1994):

Economic losses caused by foodborne parasitic diseases.

Parasitol. Today 10, 419 - 423

RUITENBERG, E. J., and F. VAN KNAPEN (1977):

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as a diagnostic method for *Trichinella spiralis* infections in pigs.

Vet. Parasitol. 3, 317 - 326

SOULÉ, C., DUPOUY-CAMET, J., GEORGES, P., ANCELLE, T., GILLET, J. P.,
VAISSAIRE, J., DELVIGNE, A., and E. PLATEAU (1989):

Experimental trichinellosis in horses: biological and parasitological evaluation.

Vet. Parasitol. 31, 19 - 36

SOULÉ, C., DUPOUY-CAMET, J., GEORGES, P., FONTAINE, J. J., ANCELLE, T.,
DELVIGNE, A., PERRET, C., and C. COLLOBERT (1993a):

Biological and parasitic variations in horses infested and reinfested by *Trichinella spiralis*.

Vet. Res. 24, 21 - 31

SOULÉ, C., GUILLOU, J. P., DUPOUY-CAMET, J., VALLET, C., and E. POZIO (1993b):
Differentiation of *Trichinella* isolates by polymerase chain reaction.

Parasitol. Res. 79, 461 - 465

STRUCK, M. (1959):

In: Lehrbuch für Trichinenschauer

Paul Parey Verlag, S. 5 - 7

THEODOROPOULOS, G., KAPEL, C. M. O., WEBSTER, P., SARAVANOS, L., ZAKI, J.,
and K. KOUTSOTOLIS (2000):

Infectivity, predilection sites, and freeze tolerance of *Trichinella spp.* in experimentally infected sheep.

Parasitol. Res. 86, 401 - 405

WORLEY, D. E., FOX, J. C., WINTERS, J. B., and K. R. GREER (1974):

Prevalence and distribution of *Trichinella spiralis* in carnivorous mammals in the United States northern Rocky Mountain region.

In: Proceedings of the Third International Conference on trichinellosis, Miami Beach, FL, pp. 597 - 602

WRUCK, M. (1998):

Epidemiologische Erhebungen zur Prävalenz von Trichinellen bei Wildtieren und Schädigern in der Bundesrepublik Deutschland, den EU-Staaten und einigen europäischen Drittländern unter dem Aspekt der Erklärung von "Trichinellen-freien Betrieben" in der Schweineproduktion.

Vet.-med. Diss., Freie Universität Berlin, Journal-Nr. 2204

ZARLENGA, D. S., CHUTE, M. B., MARTIN, A., and C. M. KAPEL (1999):

A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella*.

Int. J. Parasitol. 29, 1859 - 1867

ZARNKE, R. L., GAJADHAR, A. A., TIFFIN, G. B., and J. M. VER HOEF (1995):

Prevalence of *Trichinella nativa* in lynx (*Felis lynx*) from Alaska, 1988-1993.

J. Wildl. Dis. 31, 314 - 318

STATISTISCHES BUNDESAMT:

Im Blickpunkt: Deutschland in der Europäischen Union 2006, S. 7.

Schweinebestand in Betrieben mit ökologischem Landbau

(Statistisches Jahrbuch 2006, Statistisches Bundesamt S. 336)

Gesetze, Richtlinien, Verordnungen und Vorschriften

Allgemeine Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung nach dem Fleischhygienegesetz und dem Geflügelfleischhygienegesetz (AVVFIH) vom 19. Februar 2002

Richtlinie 64/433 des Rates über die gesundheitlichen Bedingungen für die Gewinnung und das Inverkehrbringen von frischem Fleisch in der Fassung der Richtlinie 91/497 EWG des Rates. Abl.L 268 vom 24.09.1991, zuletzt geändert durch Richtlinie Nr. 95/23 EG. ABL. Nr.L 243 vom 11.10.1995.

Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel

Verordnung (EG) Nr. 1804/99 des Rates vom 19. Juli 1999 zur Einbeziehung der tierischen Erzeugung in den Geltungsbereich der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel

Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs

Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 der Kommission vom 5. Dezember 2005 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen

Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates vom 28. Juni 2007 über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91

Verordnung (EG) Nr. 889/2008 der Kommission vom 5. September 2008 mit Durchführungsvorschriften zur Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen hinsichtlich der ökologischen/biologischen Produktion, Kennzeichnung und Kontrolle

Anhang

Auflistung der Betriebe nach Haltungform, Bundesland und Anzahl der dort beprobten Tiere

Herkunft	Haltung Ferkelaufzucht	Haltung Mast	Bundesland	Anzahl der untersuchten Schweine
Bestand 1	Betonauslauf	Betonauslauf	Brandenburg	107
Bestand 2	Betonauslauf	Betonauslauf	Brandenburg	5
Bestand 3	Betonauslauf	Betonauslauf	Brandenburg	17
Bestand 4	Betonauslauf	Betonauslauf	Brandenburg	78
Bestand 5	Betonauslauf	Betonauslauf	NRW	10
Bestand 6	Stallhaltung	Stallhaltung	NRW	11
Bestand 7	Hütten	Stallhaltung	NRW	29
Bestand 8	Stallhaltung	Stallhaltung	NRW	6
Bestand 9	Betonauslauf	Betonauslauf	NRW	15
Bestand 10	Freilandhaltung	Stallhaltung	Brandenburg	20
Bestand 11	Betonauslauf	Betonauslauf	Sachsen	110
Bestand 12	Betonauslauf	Betonauslauf	Meckl.-Vorp.	31
Bestand 13	Betonauslauf	Betonauslauf	Meckl.-Vorp.	12
Bestand 14	Betonauslauf	Betonauslauf	Meckl.-Vorp.	15
Bestand 15	Grasauslauf	Grasauslauf	Meckl.-Vorp.	25
Bestand 16	Betonauslauf	Betonauslauf	Meckl.-Vorp.	115
Bestand 17	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	55
Bestand 18	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	81
Bestand 19	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	160
Bestand 20	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	22
Bestand 21	Freilandhaltung	Hütten	Niedersachsen	65
Bestand 22	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	70
Bestand 23	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	2
Bestand 24	Betonauslauf	Freilandhaltung	Schlesw.-H.	115

Tabelle S. 127 (Fortsetzung)

Bestand 25	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	164
Bestand 26	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	20
Bestand 27	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	190
Bestand 28	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	109
Bestand 29	Freilandhaltung	Hütte	Niedersachsen	18
Bestand 30	Feilandhaltung/ Hütten	Betonauslauf	Niedersachsen	45
Bestand 31	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	3
Bestand 32	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	22
Bestand 33	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	31
Bestand 34	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	40
Bestand 35	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	22
Bestand 36	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	5
Bestand 37	Betonauslauf	Betonauslauf	Sachsen-Anhalt	5
Bestand 38	Freilandhaltung	Betonauslauf	Niedersachsen	25
Bestand 39	Hütten	Betonauslauf	Niedersachsen	32
Bestand 40	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	6
Bestand 41	Betonauslauf	Betonauslauf	Niedersachsen	9

Reagentien, Geräte und Verbrauchsmaterialien für die Digestionsmethode

Reagentien:

- Pepsin (30.000 E / g)
- Leitungswasser (46 - 48 °C)
- Salzsäure (25 %ig)

Geräte:

- Kühlschrank (5 °C)
- Gefrierschrank (- 21 °C)
- Präzisionswaage
- Moulinette
- Wasserboiler
- Magnetrührer mit Heizplatte (44 - 46 °C)
- Wasserstrahlpumpe
- Stereomikroskop

Verbrauchsmaterialien:

- Pinzette
- Messer
- 3 - Liter Becherglas
- Messzylinder
- Aluminiumfolie
- Teflonbeschichtetes Magnetührstäbchen (5 cm)
- Thermometer (1 - 100 °C)
- 50 ml Zentrifugengläser
- Prüfsieb (Maschenweite ca. 180 µm)
- Einfülltrichter

- 2-Liter Scheidetrichter
- Stativ
- Petrischalen (deren Boden gitterförmig in Quadrate von 1 cm Seitenlänge unterteilt ist)

Reagentien, Geräte und Verbrauchsmaterialien für den ELISA

Reagentien:

- mit *Trichinella*-Antigen beschichtete Mikrotiterplatten (Zul.-Nr.: BgVV 152)
- *Trichinella*-Positiv-Kontrollserum (1 ml lyophilisiert, Zul.-Nr.: BgVV 153)
- *Trichinella*-Negativ-Kontrollserum (1 ml lyophilisiert, Zul.-Nr.: BgVV 154)
- PBS-T Puffer
- Aqua bidest.
- Peroxidase-konjugiertes Anti-Schwein IgG vom Kaninchen (1.0 ml flüssig, Fa. Sigma)
- ABTS-Gebrauchslösung

Pufferrezeptur:

PBS-T (Phosphate buffered saline / Tween 20)

- | | |
|--|------------|
| - Kaliumdihydrogenphosphat
(KH_2PO_4 , VWR/Merck) | 0,4 g |
| - Di-natriumhydrogen- phosphat-dodecahydrat
($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$, VWR/Merck) | 5,8 g |
| - Natriumchlorid
(NaCl, VWR/Merck) | 16,0g |
| - Kaliumchlorid
(KCl, VWR/Merck) | 0,4 g |
| - Aqua bidest | ad 2000 ml |
| - Tween 20
(Polyoxyethylensorbitanmonolaurat, $\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$, VWR/Merck) | 1,0ml |

ABTS-Gebrauchslösung:

- Puffertrockensubstanz für ABTS-Lösung (Fa. Roche)
- ABTS-Tabletten (Fa. Roche)

Geräte:

- Kühlschrank 5 °C (± 3 °C)
- Gefrierschrank -21 °C (± 3 °C)
- Brutschrank 37 °C (± 1 °C)
- Präzisionswaage
- Kolbenhubpipette (10 - 100 μ l, 100 - 1000 μ l)
- 8-Kanal-Multipipette (Eppendorf, 50 - 250 μ l,)
- pH-Meter
- Schüttler (Vortex)
- Mikrotiterplattenwascher mit 3 Vorratsbehältern
(EL_X50 Automated Strip Washer, Bio-Tek Instruments)
- Mikrotiterplattenreader
(EL 800 Universal Microplate Reader, Bio-Tek Instruments,
Filter: 405 - 410 nm)

Gebrauchsmaterialien:

- Messzylinder
- Bechergläser
- Reagenzgläser und -ständer
- Pipettenspitzen

Anzahl der untersuchten Serum- und Fleischsaftproben je Betrieb und Bundesland

Bundesland		Probe			Gesamt
		Serum	Fleischsaft		
Brandenburg	Betrieb	1	107	107	214
		2	5	5	10
		3	17	17	34
		4	78	78	156
		10	20	20	40
	Gesamt	5	227	227	454
NRW	Betrieb	5	10	10	20
		6	11	11	22
		7	29	29	58
		8	6	6	12
		9	15	15	30
	Gesamt	5	71	71	142
Sachsen	Betrieb	11	110	110	220
	Gesamt	1	110	110	220
Mecklenburg-Vorpommern	Betrieb	12	31	31	62
		13	12	12	24
		14	15	15	30
		15	25	25	50
		16	115	115	230
	Gesamt	5	198	198	396
Schleswig-Holstein	Betrieb	24	115	115	230
	Gesamt	1	115	115	230
Sachsen-Anhalt	Betrieb	37	5	5	10
	Gesamt	1	5	5	10
Niedersachsen	Betrieb	17	55	55	110
		18	81	81	162
		19	160	160	320

Tabelle S. 133 (Fortsetzung)

		20	22	22	44
		21	65	65	130
		22	70	70	140
		23	2	2	4
		25	164	164	328
		26	20	20	40
		27	190	190	380
		28	109	109	218
		29	18	18	36
		30	45	45	90
		31	3	3	6
		32	22	22	44
		33	31	31	62
		34	40	40	80
		35	22	22	44
		36	5	5	10
		38	25	25	50
		39	32	32	64
		40	6	6	12
		41	9	9	18
	Gesamt	23	1.196	1.196	2.392

**Anzahl der der untersuchten Schweine und der positiven Serum- und Fleischsaftproben
je Bestand**

Herkunft	Bundesland	Anzahl der untersuchten Schweine	Positive Serumproben	Positive Fleischsaft- proben
Bestand 1	Brandenburg	107	0	1
Bestand 2	Brandenburg	5	0	0
Bestand 3	Brandenburg	17	0	0
Bestand 4	Brandenburg	78	0	1
Bestand 5	NRW	10	0	0
Bestand 6	NRW	11	0	0
Bestand 7	NRW	29	0	1
Bestand 8	NRW	6	0	0
Bestand 9	NRW	15	0	1
Bestand 10	Brandenburg	20	0	1
Bestand 11	Sachsen	110	1	1
Bestand 12	Meckl.-Vorp.	31	0	0
Bestand 13	Meckl.-Vorp.	12	0	2
Bestand 14	Meckl.-Vorp.	15	0	0
Bestand 15	Meckl.-Vorp.	25	0	2
Bestand 16	Meckl.-Vorp.	115	0	7
Bestand 17	Niedersachsen	55	0	0
Bestand 18	Niedersachsen	81	1	2
Bestand 19	Niedersachsen	160	1	6
Bestand 20	Niedersachsen	22	0	0
Bestand 21	Niedersachsen	65	0	4
Bestand 22	Niedersachsen	70	0	0
Bestand 23	Niedersachsen	2	0	0
Bestand 24	Schlesw.-H.	115	0	3
Bestand 25	Niedersachsen	164	0	1
Bestand 26	Niedersachsen	20	1	0

Tabelle S. 135 (Fortsetzung)

Bestand 27	Niedersachsen	190	1	7
Bestand 28	Niedersachsen	109	0	1
Bestand 29	Niedersachsen	18	0	0
Bestand 30	Niedersachsen	45	0	1
Bestand 31	Niedersachsen	3	0	0
Bestand 32	Niedersachsen	22	0	0
Bestand 33	Niedersachsen	31	0	0
Bestand 34	Niedersachsen	40	0	0
Bestand 35	Niedersachsen	22	0	0
Bestand 36	Niedersachsen	5	0	0
Bestand 37	Sachsen-Anhalt	5	0	0
Bestand 38	Niedersachsen	25	0	0
Bestand 39	Niedersachsen	32	0	1
Bestand 40	Niedersachsen	6	0	0
Bestand 41	Niedersachsen	9	0	0

Statistische Parameter der Bundesländer

Bundesland	Statistik	Serum	Fleischsaft
Brandenburg	N	227	227
	Mittelwert	6,6362	6,4292
	Median	6,5990	6,2780
	Standartabweichung	1,8032	2,84409
	Minimum	0,300	1,226
	Maximum	13,047	17,933
	Spannweite	12,747	16,707
NRW	N	71	71
	Mittelwert	9,0262	9,3680
	Median	8,8630	8,3500
	Standartabweichung	2,5809	3,9163
	Minimum	4,890	4,209
	Maximum	14,435	27,635
	Spannweite	9,545	23,426
Sachsen	N	110	110
	Mittelwert	7,6271	8,7930
	Median	7,1835	8,5845
	Standartabweichung	2,3389	2,5093
	Minimum	3,440	4,755
	Maximum	18,287	15,490
	Spannweite	14,847	10,735
Mecklenburg- Vorpommern	N	198	198
	Mittelwert	7,1588	9,0500
	Median	6,7750	7,7645
	Standartabweichung	2,4609	7,5125
	Minimum	2,350	2,305
	Maximum	13,186	77,144
	Spannweite	10,836	74,839

Tabelle S. 137 (Fortsetzung)

Schleswig-Holstein	N	115	115
	Mittelwert	7,7635	9,1931
	Median	7,6880	8,7820
	Standartabweichung	3,1683	3,7694
	Minimum	-0,394	2,366
	Maximum	13,906	26,191
	Spannweite	14,300	23,825
Sachsen-Anhalt	N	5	5
	Mittelwert	5,0572	6,4540
	Median	5,9930	5,6080
	Standartabweichung	3,2352	2,7351
	Minimum	0,353	3,813
	Maximum	8,172	10,928
	Spannweite	7,819	7,115
Niedersachsen	N	1.196	1.196
	Mittelwert	6,4576	7,6649
	Median	6,2490	7,0665
	Standartabweichung	2,7200	4,1626
	Minimum	-0,483	0,346
	Maximum	18,565	58,098
	Spannweite	19,048	57,752

Danksagung

An erster Stelle danke ich Herrn Professor Fries für die Überlassung des Dissertationsthemas, die wissenschaftliche Anleitung, die Organisation der Probenentnahmen und die intensive Betreuung und Unterstützung der Arbeit.

Herrn Dr. Nöckler danke ich besonders für die Bereitstellung der Untersuchungsmaterialien und die ausführliche Beratung, fachliche Hilfe und Betreuung im Hinblick auf die Untersuchungsmethoden und speziell den ELISA.

Mein besonderer Dank gilt Fr. Irsigler für die wissenschaftliche Anleitung, die Organisation, die umfangreiche Hilfe bei der Untersuchung der Proben und die herzliche Betreuung.

Ebenso gilt mein Dank Fr. Reckinger für die Einführung in die Labormethoden und Ihre Unterstützung bei der Laborarbeit.

Des Weiteren danke ich Herrn Bahn für die ausführliche Beratung und Hilfe bei der Auswertung der statistischen Daten.

Den Mitarbeitern des Institutes für Fleischhygiene und –technologie vom Fachbereich Veterinärmedizin danke ich für die vielfältige Unterstützung und besonders den Doktoranden für die tatkräftige Unterstützung bei den Probenentnahmen.

Außerdem bedanke ich mich bei Daniel Kettner für die Hilfe bei der Auswertung der statistischen Daten und insbesondere der graphischen Umsetzung.

Ich bedanke mich bei meinen Eltern, ohne deren Unterstützung diese Arbeit nie zustande gekommen wäre und bei meinem Freund für die liebevolle Unterstützung und Hilfe.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Stuttgart, den 27.03.2010