

Aus dem Institut für  
Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilian-Universität München

Lehrstuhl: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

---

**Untersuchung zur hämatogenen Streuung von ZNS-Material  
bei Schlachtrindern in Abhängigkeit der Betäubungsart**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Maria Elisabeth Riesemann  
aus Steingaden

München 2005

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilian-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle  
Referent: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. R. Mansfeld

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

Gefördert durch die  
Hanns-Seidel-Stiftung e. V.  
im Rahmen eines Promotionsstipendiums  
aus Mitteln des BMWF

Ein Optimist trägt mehr Träume in sich, als die Realität zerstören kann.

Adolf Nowaczynski

Meinen Eltern  
in Dankbarkeit



## Abkürzungsverzeichnis

A.	<i>Arteria</i>
Abb.	Abbildung
AS	Aminosäuren
ASE	Avian Spongiform Encephalopathy
BFAV	Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy
° C	Grad Celsius
ca.	circa
CWD	Chronic Wasting Disease
EEG	Elektro-Enzephalogramm
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EU	Europäische Union
FFI	Fatal Familial Insomnia
FSE	Feline Spongiform Encephalopathy
g	Gramm
GB	Großbritannien
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom
IE	Infektiöse Einheit
MBP	Myelin Basic Protein
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
ml	Milliliter
ms	Millisekunden
nm	Nanometer
NaCl	Natriumchlorid
NSE	Neuronen-spezifische Enolase
O.I.E.	Internationales Tierseuchenamt
PCR	Polymerase Chain Reaction
PNS	Peripheres Nervensystem
PrP	Prion-Protein
PrP <sup>C</sup>	zelluläre Isoform des Prion-Proteins
PrP <sup>Sc</sup>	pathologisches Scrapie-Isoform des Prion-Proteins

PrP-Gen	Prion-Protein-Gen
RMZ	Rückenmarkszerstörer
SAF	Scrapie-assoziierte Fibrillen
sCJD	sporadic Creutzfeldt-Jakob-Disease
s	Sekunden
SRM	Spezifiziertes Risikomaterial
Tab.	Tabelle
TBA	Tierkörperbeseitigungsanstalt
TSE	Transmissible Spongiforme Enzephalopathie
V.	<i>Vena</i>
V	Volt
vCJD	Variant of Creutzfeldt-Jakob-Disease
VO	Verordnung
ZNS	Zentrales Nervensystem
ì l	Mikroliter

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATUR</b>	<b>2</b>
2.1 TRANSMISSIBLE SPONGIFORME ENZEPHALOPATHIEN (TSE)	2
2.1.1 <i>Allgemeines über TSE</i>	2
2.1.2 <i>TSE beim Menschen</i>	3
2.1.2.1 <i>Erscheinungsformen</i>	3
2.1.2.2 <i>Neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD)</i>	5
2.1.3 <i>TSE beim Tier</i>	6
2.1.3.1 <i>Erscheinungsformen</i>	6
2.1.3.2 <i>Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)</i>	9
2.1.3.2.1 <i>Epidemiologie</i>	9
2.1.3.2.2 <i>Klinisches Krankheitsbild der BSE</i>	10
2.1.3.2.3 <i>Diagnostik der BSE</i>	11
2.1.4 <i>Prionen – Erregernatur und Erregerreplikation</i>	13
2.1.5 <i>Übertragbarkeit von BSE und vCJD</i>	15
2.1.5.1 <i>Speziesbarriere</i>	16
2.1.5.2 <i>Erregerausbreitung</i>	18
2.1.5.3 <i>Gewebsinfektiosität</i>	19
2.1.6 <i>Rechtliche Konsequenzen für den Verbraucherschutz</i>	21
2.1.7 <i>Einschätzung des Gefahrenpotentials für den Verbraucher</i>	23
2.2 ZNS-KONTAMINATION IM VERLAUF DER SCHLACHTUNG VON RINDERN	24
2.3 ZNS-EMBOLISIERUNG BEIM SCHLACHTPROZESSSCHRIFF BETÄUBUNG	27
2.3.1 <i>Betäubung</i>	27
2.3.1.1 <i>Bolzenschussbetäubung</i>	28
2.3.1.2 <i>Schuss-Schlag-Betäubung</i>	29
2.3.1.3 <i>Elektrobetäubung</i>	30
2.3.1.4 <i>Entblutung</i>	32
2.3.2 <i>Anatomie des Blutkreislaufes beim Rind</i>	33
2.3.2.1 <i>Blutversorgung des Gehirns</i>	33
2.3.2.2 <i>Venöser Blutkreislauf</i>	34
2.3.3 <i>Hämatogene ZNS-Disseminierung infolge Betäubung</i>	35



2.3.3.1	<i>Experimentelle Ergebnisse</i>	35
2.3.3.2	<i>Bewertung des Risikos für den Verbraucher</i>	40
2.3.4	<i>ZNS-Embolisierung in humanmedizinischen Studien</i>	43
2.4	ZNS-NACHWEIS	45
2.4.1	<i>ZNS-Nachweisverfahren im Überblick</i>	45
2.4.2	<i>ZNS-Nachweis über Saures Gliafaserprotein (GFAP)</i>	47
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>49</b>
3.1	MATERIAL	49
3.1.1	<i>Vorversuch</i>	49
3.1.1.1	<i>Geräte, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial</i>	49
3.1.1.2	<i>Probenmaterial und -aufbereitung</i>	50
3.1.1.3	<i>Überblick über Proben und Versuchsreihen</i>	51
3.1.2	<i>Hauptversuch</i>	54
3.1.2.1	<i>Geräte, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial</i>	54
3.1.2.2	<i>Probenmaterial und -entnahme</i>	54
3.1.2.3	<i>Probenvorbereitung</i>	60
3.2	PROBENUNTERSUCHUNG	60
3.2.1	<i>Geräte, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial</i>	60
3.2.2	<i>Testdurchführung</i>	61
3.2.3	<i>Auswertung</i>	62
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>64</b>
4.1	ERGEBNISSE AUS DEN VORVERSUCHEN	64
4.1.1	<i>Kontrolle der Nachweisgenauigkeit</i>	64
4.1.2	<i>Kontrolle der Spezifität</i>	65
4.1.2.1	<i>Originalprobenmaterial des Hauptversuches</i>	65
4.1.2.2	<i>Blut</i>	66
4.1.2.3	<i>Blut und ZNS</i>	67
4.2	ERGEBNISSE AUS DEM HAUPTVERSUCH	68
4.2.1	<i>Auswertung der Tupper- und Gewebeprobenstellen</i>	68
4.2.1.1	<i>Betrachtung der Einzelprobenstellen im Überblick</i>	68
4.2.1.2	<i>Betrachtung der Tupperprobenstellen im Einzelnen</i>	70
4.2.1.2.1	<i>Vergleich der Betäubungsmethoden</i>	73
4.2.1.2.2	<i>Vergleich der Betriebe</i>	76

4.2.1.3 <i>Betrachtung der Gewebeprobstellen im Einzelnen</i>	79
4.2.1.3.1 <i>Herz</i>	79
4.2.1.3.2 <i>Lunge</i>	79
4.2.1.4 <i>Gegenüberstellung von positiven Einzeltupferstellen und positiven Lungenproben</i>	80
4.2.2 <i>Auswertung der positiven Tiere</i>	82
4.2.3 <i>Gegenüberstellung von positiven Tieren und pos. Einzelprobenstellen</i>	85
4.2.4 <i>ZNS-Konzentration der Einzelprobenstellen</i>	87
4.2.5 <i>Vergleich der Betriebe A und B bezüglich Entblutung</i>	91
4.2.5.1 <i>Betrieb A: Hängend- und Liegendentblutung</i>	91
4.2.5.2 <i>Betriebe A und B: Liegendentblutung</i>	94
4.2.6 <i>Auswertung der Probenmenge</i>	94
<b>5 DISKUSSION</b>	<b>96</b>
5.1 VORVERSUCHE	96
5.2 BETRACHTUNG DER EINZELPROBENSTELLEN	98
5.3 BETRACHTUNG POSITIVER TIERE UND VERTEILUNG AUF PROBENTAGE	101
5.4 VERGLEICH DER BETÄUBUNGSMETHODEN	103
5.5 VERGLEICH DER BETRIEBSERGEBNISSE	108
5.6 EINSCHÄTZUNG DES GEFAHRENPOTENTIALS	112
<b>6 SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>114</b>
<b>7 ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>115</b>
<b>8 SUMMARY</b>	<b>117</b>
<b>9 LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>119</b>
<b>10 ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>144</b>
<b>11 TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>146</b>
<b>12 ANHANG</b>	<b>148</b>

# 1 Einleitung

Seit die Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE) im Jahr 1985 zum ersten Mal beobachtet worden war, wirft diese unheilbare Krankheit des zentralen Nervensystems (ZNS) nachhaltig offene Fragen auf. Aufgrund der Annahme, die BSE sei durch den Verzehr von Fleisch erkrankter Tiere auf den Menschen übertragbar und rufe in ihm das bislang ebenfalls unheilbare Krankheitsbild der sogenannten neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) hervor, wird die BSE in Europa vor allem auch aufgrund des von ihr verursachten immensen wirtschaftlichen Schadens zur Gewährleistung des vorbeugenden Verbraucherschutzes derzeit als eine der folgenschwersten Krankheiten des Rindes eingeschätzt.

Die bislang ergriffenen Maßnahmen reduzieren das Gefährdungspotential des Verbrauchers zwar auf ein weitgehendes Minimum, können jedoch ein mögliches Übertragungsrisiko nicht gänzlich ausschließen. So gilt es insbesondere, den Eintrag von ZNS-Gewebe des Rindes, welches im Falle einer BSE-Erkrankung eine besonders hohe Erregerdichte aufweist, in die menschliche Nahrungskette zu überwachen und soweit möglich zu vermeiden. Bei der Schlachtung von Rindern stellt der Prozessschritt Betäubung mit Bolzenschussapparat - das in Europa übliche Betäubungsverfahren - ein nicht zu vernachlässigendes Risiko einer ZNS-Kontamination dar. Infolge des durch den Bolzenschuss verursachten Traumas kommt es nämlich zu einer massiven Zerreißung von Gehirngewebe, welches daraufhin in die Blutbahn übertreten und, bei intakter Blutzirkulation bis zum Schlachttod durch Entblutung, hämatogen bis in den Schlachtkörper gestreut werden kann. Die Elektrobetäubung wird aus Verbraucherschutzsicht als alternatives Betäubungsverfahren propagiert, in der Annahme, dass infolge der elektrischen Herzdurchströmung ein Kreislaufstillstand ausgelöst und somit eine mögliche hämatogene Streuung verhindert wird. Jedoch gilt es kritisch anzumerken, dass diesbezüglich über die Elektrobetäubung bislang keine fundierten wissenschaftlichen Erkenntnisse vorliegen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten mit Hilfe eines immunochemischen, ZNS-spezifischen Nachweisverfahrens die Methoden Bolzenschuss- und Elektrobetäubung vergleichend auf die hämatogene Streuung von ZNS-Material in die Organe Herz und Lunge überprüft und im Hinblick auf den Verbraucherschutz beurteilt werden.

## 2 Literatur

### 2.1 Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (TSE)

#### 2.1.1 Allgemeines über TSE

Unter dem Überbegriff Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (TSE) sind verschiedene, bei Mensch und Tier vorkommende Prionerkrankungen zusammengefasst. Die Übertragbarkeit (Transmissibilität), teilweise auch zwischen den Arten, ist ihr prägnantestes Merkmal, so dass Prionerkrankungen zum großen Teil als Infektionskrankheiten betrachtet werden können (BODEMER und KAUP, 2002). Jedoch nicht alle Formen der TSE sind ansteckend oder natürlich übertragbar, sondern manche sind als Folge von Mutationen auch familiär-genetisch bedingt oder können spontan entstehen. Die ätiologische Vielfalt von Prionkrankheiten (HÖRNLIMANN, 2001) ist bedingt durch deren außergewöhnliche Erregernatur, den Prionen (PrP) (PRUSINER, 1982) (s. 2.1.4). Diese kommen physiologisch in Körperzellen (PrP<sup>c</sup>) vor, können jedoch auch als pathologische Prionisoformen (PrP<sup>Sc</sup>) exprimiert werden, welche als infektiöses Agens die Umwandlung von PrP<sup>c</sup> in krankhaftes PrP<sup>Sc</sup> induzieren. Prionen sind Eiweißmoleküle ohne Nukleinsäure (HORN et al., 2001), welche weder ein Entzündungsgeschehen noch eine Immunantwort auslösen, was somit die diagnostische Nachweisbarkeit erheblich erschwert (COLLINGE, 1999) (s. 2.1.3.1.3).

Der komplexe Schädigungsmechanismus der pathologischen Prionen (JEFFREY et al., 2004) verläuft kaskadenartig, ist hauptsächlich gegen Nervenzellen im Gehirn gerichtet und führt zum Absterben derselben (PRUSINER, 1995). Histopathologisch kommt es so zu schwammartigen Veränderungen im Gehirn (WELLS et al., 1987), welche der Krankheit ihren Namen geben. Im klinischen Bild äußert sich dies dementsprechend durch Verhaltensänderungen, Demenz sowie Sensibilitäts- und Bewegungsstörungen. Nach einer äußerst variablen Inkubationszeit von wenigen Jahren bis zu mehreren Jahrzehnten verlaufen diese degenerativen Formen von zentralnervösen Erkrankungen chronisch progressiv, sind therapieresistent und enden somit letal (SCHICKER, 1998).

## 2.1.2 TSE beim Menschen

### 2.1.2.1 Erscheinungsformen

Die Prionkrankheiten des Menschen können sporadisch auftreten, vererbbar sein oder als erworbene und somit übertragbare Erkrankungen vorkommen (Tab. 2.1).

Krankheit	Erstbeschreibung; Heutiges Verbreitungsgebiet	Ursache/Pathogene- tischer Mechanismus
Creutzfeldt-Jakob-Disease (CJD), drei Varianten: sporadisch (90% der Fälle); familiär; iatrogen	1920 (CREUTZFELDT), 1921 (JAKOB); weltweit	sporadisch: Ursache unbekannt, Mutation?; familiär: erbliche Mutation im PrP-Gen; iatrogene Inf.
Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS)	1928 (GERSTMANN); weltweit (ca. 50 betroffene Verwandtschaftskreise)	erbliche Mutation im PrP-Gen
Kuru	1957 (GAJDUSEK und ZIGAS); Papua-Neuguinea	erworben, durch rituellen Kannibalismus
Fatal Familial Insomnia (FFI)	1986 (LUGARESI et al.); weltweit (ca. 25 betroffene Verwandtschaftskreise)	erbliche Mutation im PrP-Gen
Neue Variante der CJD (vCJD)	1996 (WILL et al.); Großbritannien, Frankreich, Irland, Italien, Kanada, USA	erworben, durch BSE- infiziertes Rindfleisch (Hypothese)

**Tabelle 2.1:** TSE beim Menschen

(nach: AGUZZI, 2001a; HÖRNLIMANN, 2001; PRUSINER, 2001; RABENAU und DOERR, 2001)

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD) tritt zu 90 % in einer sporadischen Form (sCJD) auf, welche mit einer Inzidenz von 1 pro eine Million Einwohner die häufigste menschliche TSE darstellt und in ihrer Krankheitsentstehung nicht fassbar ist. Die familiäre Form der CJD beruht auf autosomal dominant vererbten Punktmutationen im Prionprotein(PrP)-Gen und ist weltweit in ca. 100 Verwandtschaftskreisen beschrieben. Ca. 5 % aller CJD-Erkrankungen sind iatrogen übertragen, durch Transplantation von Cornea oder Dura, durch intramuskuläre Applikation von Wachstumshormonen (gewonnen aus Hypophysen von Leichen) oder durch ungenügend sterilisierte Instrumente bei neurochirurgischen Operationen verursacht (RABENAU und DOERR, 2001; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001).

Das Durchschnittsalter der an sCJD Erkrankten liegt bei 65 Jahren, die Inkubationszeit reicht von 10 bis 35 Jahren. Das klinische Bild ist zu Beginn geprägt von progressiver Demenz und Myoklonien. Im EEG werden typische sogenannte „sharp wave“-Komplexe (generalisierte, triphasische, periodische Komplexe) gemessen. Später können Wesensveränderungen sowie Sprach- und Sehstörungen beobachtet werden. Aufgrund von cerebellärer und pyramidaler sowie extrapyramidaler Dysfunktion kommt es ferner zu Bewegungsstörungen, spastischen Muskelkrämpfen und Muskelstarre, bis hin zur Bewegungslosigkeit (Akinesie). Die Krankheitsdauer variiert zwischen einem Monat und zehn Jahren, endet aber durchschnittlich nach einem rasch progredienten Verlauf nach vier Monaten mit dem Tod (RABENAU und DOERR, 2001; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001).

Die Diagnostik der CJD ist an den Nachweis der PrP<sup>Sc</sup> und den damit verbundenen neuropathologischen Befund (spongiforme Veränderungen, histologisch feststellbarer Nervenzellverlust, Astrogliose und synaptische PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerungen) im ZNS gebunden und somit erst durch Autopsie zu erbringen. So bleibt intra vitam, wie bei anderen Demenzkrankheiten auch, nur eine Verdachtsdiagnose. Zu deren Untermauerung gewinnt dabei zunehmende Bedeutung die Untersuchung von sogenannten Surrogat-Markern wie den Nervenzellproteinen 14-3-3 und S 100 oder der neuronenspezifischen Enolase (NSE) im Liquor sowie die Messung von ausgeprägten Signalen in Kortex und Striatum mittels Magnetresonanztomographie (MRT) (BUDKA, 1998; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001; BSE-RISIKOANALYSE, 2003).

An der Kuru erkrankten bis heute ca. 3700 Patienten, ausschließlich Mitglieder des Fore-Stammes in Papua-Neuguinea. Ein dort praktiziertes kannibalisches Totenritual führte zu oraler, aber auch transdormaler und konjunktivaler Übertragung. Auslösendes Agens war wohl der Verzehr eines CJD-Patienten. Seit dem Verbot des Rituals nimmt die Inzidenz stetig ab (GAJDUSEK und ZIGAS, 1957; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001). Das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) und die Fatale Familiäre Insomnie (FFI) sind beides aufgrund von Punktmutationen im PrP-Gen autosomal-dominant vererbte Formen von Prionkrankheiten. Ihr Vorkommen ist auf weltweit nur wenige Familienkreise beschränkt (BUDKA, 1998).

### 2.1.2.2 Neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD)

Im Jahr 1995 wurde erstmals in Großbritannien (GB) ein aufgrund des jungen Patientenalters (16 Jahre) und wegen des abweichenden neuropathologischen Befundes auffälliger CJD-Fall beschrieben (BRITTON et al., 1995). Als WILL und Kollegen in dem Zusammenhang bei zehn weiteren Patienten jüngeren Alters (unter 45 Jahren) in GB gleiche Beobachtungen machten, prägten sie im Jahr 1996 neu den Begriff einer bisher unbekanntem Variante der CJD (vCJD) (WILL et al., 1996). Die Annahme, der Ursprung der vCJD liege, im Gegensatz zu den anderen Formen der CJD, im Verzehr von BSE-erregerhaltigem Rindfleisch, ist inzwischen zahlreich bekräftigt worden (COLLINGE et al., 1996; BRUCE et al., 1997; HILL et al., 1997a; ALMOND, 1998; LASMÉZAS et al., 2001). Aufgrund dieser wahrscheinlichen Übertragbarkeit der BSE auf den Menschen sind somit Sicherheitsmaßnahmen erforderlich, um das Risiko einer Neuinfektion für den Verbraucher durch den Verzehr möglicherweise BSE-erregerhaltiger Schlachtprodukte zu minimieren. Bislang sind in den betroffenen Ländern insgesamt 151 Menschen an der vCJD gestorben (Stand April 04) (N.N., 2005a), in Deutschland wurde bisher noch keine vCJD diagnostiziert. Aufgrund der langen Inkubationszeiten und des epidemischen Verlaufs der verwandten BSE wird von einem weiteren Anstieg der vCJD-Neuerkrankungen ausgegangen, die Prognosen über künftige Zahlen variieren jedoch deutlich (zwischen 4- und 6-stelligem Bereich weltweit) (HILL et al., 1999; N.N., 2003c).

Nach einer langen und variablen Inkubationszeit von 5 bis 35 Jahren (im Mittel 10 bis 25) liegt das durchschnittliche Alter der Erkrankten bei 27 Jahren (16 bis 74). Im Gegensatz zur sCJD zeigen die vCJD-Patienten initial psychische Verhaltensänderungen und Persönlichkeitsstörungen (Depressionen, Angstzustände, Wahnvorstellungen, Apathie). Schleichend kommen mit Muskeltremor, Myoklonie, Ataxie und Dysästhesie Symptome der Gruppe Sensibilitäts- und Bewegungsstörungen hinzu. Charakteristische EEG-Veränderungen sind nicht messbar, Demenz zeigt sich erst im fortgeschrittenen Stadium. Die Krankheitsdauer währt mit durchschnittlich 12 Monaten länger als bei der sCJD (WILL et al., 1996; SCHICKER, 1998). Bei vCJD-Patienten zeigt sich das Codon 129 des PrP-Gens (Polymorphismus mit Methionin und Valin) stets homozygot für Methionin, was eine genetische Prädisposition vermuten lässt (COLLINGE, 1999).

Neben der klinischen Symptomatik weicht auch das histopathologische Bild der vCJD deutlich von den anderen Formen der CJD ab. Neben Spongiose herrschen insbesondere charakteristische PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerungen vor, die ausgedehnt vor allem im Parenchym von Klein- und Großhirn sowie in Basalganglien und im Thalamus (RABENAU und DOERR, 2001) sog. „floride“ Plaques bilden (WILL et al., 1996). Die Diagnostik beruht auf dem PrP<sup>Sc</sup>-Nachweis im Gehirn und ist somit erst post mortem möglich. Jedoch kann bei der vCJD, wiederum im Gegensatz zu der Pathogenese anderer Formen der CJD, eine Erregerverteilung und -vermehrung nicht nur in Gehirn und Rückenmark, sondern zuvor bereits im lymphoretikulären Gewebe des Körpers und in Lymphozyten beobachtet werden. Somit ist durch Biopsieproben von Tonsillen oder Blinddarm ein PrP<sup>Sc</sup>-Nachweis (durch Immunhistochemie oder Western Blot) bereits am lebenden Patienten möglich (HILL et al., 1997b; HILTON et al., 1998; HILL et al., 1999). Der Erregernachweis in lymphoretikulärem Gewebe noch vor Ausbruch der Krankheit lässt jedoch auch eine iatrogene Übertragung der Infektion von Mensch auf Mensch befürchten (N.N., 2003b). Bei alltäglichen ärztlichen Eingriffen wie Operation oder Biopsie an Tonsillen, Lymphknoten oder Blinddarm besteht ein mögliches Risiko der Kontamination von Operationsbesteck mit dem Erreger, welcher von üblichen Desinfektionsmaßnahmen nicht abgetötet werden kann (s. 2.1.4) (COLLINGE, 1999; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a). Blutspenden unterliegen aufgrund dieser Überlegungen seit 2001 prophylaktisch einer Leukozytendepletion (N.N., 2003b).

## **2.1.3 TSE beim Tier**

### **2.1.3.1 Erscheinungsformen**

In Tabelle 2.2 sind alle beim Tier beschriebenen TSEs, natürlichen Ursprungs oder nach experimenteller Übertragung, zusammengefasst.



Krankheit	Wirtsgattung	Erstmalige Krankheitsentdeckung; heutiges Verbreitungsgebiet
Scrapie	Schaf, Ziege	1732; weltweites Vorkommen
Transmissible Mink Encephalopathy (TME)	Zuchtnerz	1947; Nordamerika und Europa
Chronic Wasting Disease (CWD)	Edel-, Großohr-, Wedelhirsche	1979; USA , Kanada und Japan
Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)	Rind	1985; Europa, USA und Kanada
Exotic Ungulate Encephalopathy	Exotische Wiederkäuer (Antilopenartige)	1986 – 1989; GB (Zoo)
Feline Spongiform Encephalopathy (FSE)	Hauskatze, Großkatzen (Zoo)	1990; GB, Irland, Italien, Frankreich, Schweiz, Norwegen
BSE	Schaf, Schwein, Primaten, versch. Nager/Heimtiere	seit 1993; experimentell

**Tabelle 2.2:** TSE beim Tier

(nach: WELLS und MCGILL, 1992; AGUZZI, 2001a; HÖRNLIMANN, 2001)

Die Scrapie der Schafe und seltener der Ziegen kommt weltweit sporadisch, in den Ländern GB, Irland, Frankreich und Island endemisch vor. Nur Australien und Neuseeland gelten bislang als frei von Scrapie. Da das infektiöse Agens (PrP<sup>Sc</sup>) vor allem über Plazenta und Fruchtwasser um den Zeitraum der Geburt vertikal und horizontal übertragen werden kann, sind Herdenerkrankungen üblich. Die Tiere erkranken im Alter von zwei bis vier Jahren und zeigen Juckreiz, Unruhe und Übererregbarkeit sowie charakteristisches Lippenspiel und Muskelzittern am Kopf. Durch traberartigen Gang in den Hintergliedmaßen und fortschreitende Tetraparese kommen sie vermehrt zum Niederstürzen und Festliegen und verenden innerhalb von wenigen Wochen bis sechs Monaten (SCHICKER, 1998; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001). Der Scrapie-Erreger gilt bislang als nicht humanpathogen (WEIKEL et al., 2003). Jedoch wird seit einer erfolgten experimentellen Übertragung von BSE auf das Schaf (FOSTER et al., 1993) eine schärfere Überwachung der TSEs der Schafe zum Schutze des Verbrauchers gefordert, da die BSE des Schafes im Gegensatz zu Scrapie eine potentielle Zoonose darstellt (WEIKEL et al., 2003). Denn das Auftreten von BSE beim Schaf oder bei der Ziege kann unter natürlichen Bedingungen weder ausgeschlossen werden (SSC, 2001), noch scheint BSE beim Schaf klinisch und pathologisch deutlich von Scrapie unterscheidbar zu sein (ANIL et al., 2001).

Bei als Zoo- oder Haustiere (Feliden, Ungulate), bzw. zur Zucht (Nerze) gehaltenen Tierarten kommt es durch mit BSE- oder Scrapie-Erreger kontaminiertes Tierfutter zur Übertragung. Die in **Tabelle 2.2** erwähnten jeweiligen Erkrankungen kommen sporadisch in verschiedenen europäischen Ländern vor. Hauptsymptome sind Verhaltensänderungen und Ataxien (WELLS und MCGILL, 1992; PATTISON, 1998; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001).

Die Chronic Wasting Disease (CWD) wird aufgrund von klinischer Symptomatik und histopathologischem Befund ebenfalls zu der Gruppe der TSEs gerechnet. Sie wird bei diversen frei lebenden und in Gefangenschaft gehaltenen Hirscharten beobachtet und hat in einigen Staaten Nordamerikas und Kanadas mit bis zu 15% Herdenbefall endemischen Charakter. Dies beruht auf der horizontalen Übertragung durch Speichel, Kot oder sogar direkten Kontakt (HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001; WILLIAMS und MILLER, 2003). Epidemiologisch und experimentell wurde keine enge Erregerverwandtschaft mit BSE oder Scrapie festgestellt, jedoch ist eine Übertragung auf andere Spezies, auch auf den Menschen, nicht auszuschließen (RAYMOND, 2000). Vor dem Hintergrund, dass bereits verdächtige Todesfälle in Nordamerika auftraten, stellt die CWD mit ihrem kontagiösen Charakter zumindest ein theoretisches Risiko für die Gesundheit des Menschen dar (SSC, 2002a).

Beim Schwein wurde bislang keine natürliche TSE beschrieben, nur eine Infektion im Rahmen von experimentellen Übertragungsversuchen (WELLS et al., 2003; CASTILLA et al., 2004). Gleiches gilt auch für Mäuse, andere Nagetiere und Primaten (BARLOW und MIDDLETON, 1990). Vögel gelten als resistent, nur beim Strauß wurde 1986 in Deutschland eine den TSEs ähnliche spongiforme Hirndegeneration beobachtet (SCHOON et al., 1991).

Da nach derzeitigen Erkenntnissen die spongiforme Enzephalopathie des Rindes in engem Zusammenhang mit der vCJD des Menschen steht (COLLINGE et al., 1996; BRUCE et al., 1997; HILL et al., 1997a; ALMOND, 1998; KRETZSCHMAR, 1998; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001), wird auf Epidemiologie, Klinik und Diagnostik der BSE im Folgenden genauer eingegangen.

## **2.1.3.2 Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)**

### **2.1.3.2.1 Epidemiologie**

Die BSE des Rindes wurde erstmals 1985 in GB beobachtet (WELLS et al., 1987). Die Verbreitung des Krankheitserregers erfolgte durch mangelhaft erhitzte Tierkörper- und Knochenmehle, welche, dem Kraftfutter oder Milchaustauscher beigemischt, an Rinder und insbesondere Kälber verfüttert wurden (COLLEE und BRADLEY, 1997; RABENAU und DOERR, 2001). Da Ende der 70er Jahre in GB in den Tierkörperbeseitigungsanlagen aus Kostengründen die Technologie zur Herstellung von Tierkörper- und Knochenmehl geändert wurde (Temperatur auf 80°C gesenkt, Fettextraktion ohne Lösungsmittel), konnte das TSE-Agens aufgrund seiner hohen Tenazität überleben (WILESMITH et al., 1988; PRUSINER, 1995; HORN et al., 2001; KAADEN, 2001; N.N., 2001a; GROSCHUP et al., 2002). Unklar ist, ob die Infektiosität des Tiermehls in einer durch Mutation innerhalb der Rinderpopulation spontan entstandenen BSE mit anfangs mildem Verlauf (WILESMITH et al., 1991) ihren Ursprung hatte, oder auf an Scrapie erkrankte Schafe (WILESMITH et al., 1988) zurückging. Neben der oralen Aufnahme des Erregers kommt einer vertikalen Übertragung von infizierten Muttertieren auf deren Nachkommen eine untergeordnete Rolle zu (N.N., 2003c). Eine horizontale Herdenverbreitung durch direkten Kontakt ist aufgrund der niedrigen Kontagiosität nicht zu beobachten (KAADEN, 2001; ROSSOW, 2002).

Die BSE tritt ohne Geschlechts- oder Rassedisposition als sporadische Einzeltier-erkrankung auf (ROSSOW, 2002), mit einer derzeitigen Inzidenz von unter 0,1% (<1 pro 100.000 Rinder über 24 Monate). Die Gesamtzahl der bislang weltweit diagnostizierten BSE-Fälle liegt annähernd bei 190.000, über 98% davon traten in GB auf. Jedoch geht man von einer Dunkelziffer von rund 1 Mio. infizierten Tieren in GB aus, wovon der Großteil in die Nahrungsmittelkette gelangt sein könnte (HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001). Seit einem Höhepunkt der Fallzahlen in GB im Jahr 1992 sinken diese dort kontinuierlich. Dies geht zum einen auf ein Tiermehl-Verfütterungsverbot im Jahr 1988 zurück, welches jedoch erst seit 1996 im Zusammenhang mit der ersten vCJD-Erkrankung in GB streng überwacht wird (N.N., 2001a; GROSCHUP et al., 2002); zum anderen werden dort alle Rinder über 30 Monate ohne BSE-Untersuchung unschädlich beseitigt. In der EU, v. a. in Irland,

Frankreich und in der Schweiz ist die Inzidenz seit den 90er Jahren hingegen angestiegen. Dies geht nicht zuletzt auf eine begünstigte flächenmäßige BSE-Diagnostik zurück, die seit Ende der 90er Jahre durch kommerziell verfügbare BSE-Schnelltests gewährleistet wird (s. 2.1.3.1.3) (KAADEN, 2001; ROSSOW, 2002). Die epidemiologische Überwachung der BSE wird jedoch maßgeblich von der langen Inkubationszeit (s. 2.1.3.1.2), während der bereits infizierte Rinder noch nicht als erkrankt diagnostiziert werden können, erschwert.

In Deutschland wurde bereits in den Jahren 1992, 1994 und 1997 bei aus GB importierten Rindern BSE festgestellt. Der erste BSE-Fall bei einem in Deutschland geborenen und gehaltenen Rind trat im November 2000 auf. Seitdem sind insgesamt 357 Rinder (Stand 31. Dez. 04) an BSE erkrankt, wobei die geographische Verbreitung ungefähr der Rinderdichte in den jeweiligen Regionen (v. a. Bayern, Niedersachsen/Schleswig-Holstein) entspricht (GROSCHUP et al., 2002). Der Anteil der im BSE-Test positiv reagierenden Tiere ist in der Gruppe der krankgeschlachteten oder notgetöteten Rinder (1 Rind von 300 Untersuchten positiv) und der klinischen Verdachtsfälle (1:8) deutlich höher im Vergleich zu Gesundgeschlachteten (1:60.000) (STOLZE und GROSCHUP, 2001; GROSCHUP et al., 2002). Sogenannte „born-after-ban-Fälle“, d. h. BSE-Erkrankungen, die nach Verhängen von Tiermehlverfütterungsverboten EU-weit und in GB neu auftreten, bringen neben infektiösem Tiermehl weitere ursächliche Einflüsse wie genetische Disposition, vertikale Übertragung, Einsatz von Insektiziden oder Mineralstoffimbilanzen in die Diskussion (WILESMITH et al., 1988; ALMOND, 1998; N.N., 2003b; N.N., 2003c).

#### **2.1.3.2.2 Klinisches Krankheitsbild der BSE**

Im klinischen Bild fallen die Tiere, nach einer extrem langen Inkubationszeit von im Mittel vier bis sechs Jahren (15 Monate bis zu 15 Jahre) (POHLENZ und STÖBER, 2002), mit Verhaltens-, Sensibilitäts-, und Bewegungsstörungen auf. Die Symptome treten bei einem durchschnittlichen Erkrankungsalter von 5 Jahren (20 Monate bis 19 Jahre) vielfach schleichend auf. Betroffene Tiere sind ängstlich und schreckhaft, wobei sie besonders auf Berührung, Geräusche oder Lichtreize reagieren. In diesem Zusammenhang werden vielfach Kopfscheuheit und -scheuern, Zähneknirschen, exzessive Ohrmotilität, Belecken der Nase sowie Ausschlagen und Scheue bei

Hindernissen beobachtet. Neben Milchleistungsrückgang und Gewichtsverlust können die Rinder aufgrund der progressiv verlaufenden neurologischen Ausfallerscheinungen infolge von Ataxien, Paresen und Niederstürzen zum Festliegen kommen (BRAUN et al., 1997; BRAUN et al., 1998; POHLENZ und STÖBER, 2002). Der Tod tritt nach zwei bis drei Monaten ein, im Extrem zwischen einer Woche und vierzehn Monaten. Differentialdiagnostisch müssen Stoffwechselerkrankungen wie Hypocalcämie oder zentralnervöse Erkrankungen anderer Genese wie Tollwut, Morbus Aujeszky oder Listeriose berücksichtigt werden (POHLENZ und STÖBER, 2002).

### 2.1.3.2.3 Diagnostik der BSE

Die **Untersuchung des lebenden Tieres** lässt aufgrund der fehlenden Antigenität des Erregers und somit fehlender Immunantwort (COLLINGE, 1999) lediglich eine Verdachtsdiagnose nach Eintreten klinischer Symptome zu. Diese stützt sich auf den sog. „BSE-Check“, bei dem charakteristische Überempfindlichkeit der Patienten gegenüber Lärm, Licht und Berührung sowie Bewegungsstörungen durch spezifische Provokationsproben nach BRAUN hervorgerufen werden können (BRAUN et al., 1997; BRAUN et al., 1998).

Die Annahme, der Verzehr von BSE-erregerehaltigem Material könne zur vCJD des Menschen führen (COLLINGE et al., 1996; BRUCE et al., 1997; HILL et al., 1997a; ALMOND, 1998; KRETZSCHMAR, 1998; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001; LASMÉZAS et al., 2001), fordert aus Verbraucherschutzrechtlicher Sicht eine sichere Diagnostik von an BSE erkrankten Rindern. Diese ist bislang nur durch Gehirnmaterial und somit nur am toten Tier zu erbringen. Dabei kommt neben dem Nachweis der pathologischen Prionen (PrP<sup>Sc</sup>) der Untersuchung **histopathologischer Veränderungen des Gehirns** als Referenzverfahren Bedeutung zu. Das charakteristische Läsionsprofil des Hirngewebes beruht auf Astrogliose und nichtentzündlicher, spongiformer Vakuolisierung und Zelluntergang der Neuronen und des Neuropils, v. a. in der grauen Substanz des Hirnstammes (WELLS et al., 1987; SCHREUDER, 1994; POHLENZ und STÖBER, 2002).

Dem **Nachweis des PrP<sup>Sc</sup>** kommt gerade in der flächenmäßigen BSE-Diagnostik, welche bei Rindern über 24 bzw. 30 Monaten rechtlich in der TSE-Verordnung

EG/999/2001 und der BSE-Untersuchungs-Verordnung verankert ist (s. 2.1.6), eine Schlüsselrolle zu. Dieses Verfahren ist für große Probenzahlen mittels ELISA oder Western Blot automatisiert, und liefert Ergebnisse innerhalb von vier bis acht Stunden. Das Probengewebe wird aus dem Obexbereich des Stammhirns am Übergang zum verlängerten Rückenmark entnommen, weil PrP<sup>Sc</sup> sich dort bereits in einem frühen Stadium der Erkrankung in höchsten Konzentrationen ablagern (GROSCHUP und STOLZE, 2002). Zur Differenzierung der physiologischen Prionisoform (PrP<sup>C</sup>) von PrP<sup>Sc</sup> erfolgt eine Hydrolysierung durch endogene Proteasen. Da PrP<sup>C</sup> im Gegensatz zu den resistenten PrP<sup>Sc</sup> durch diese Proteaseverdauung vollständig abgebaut werden (s. 2.1.4), kann in einem weiteren Schritt über markierte Antikörper gegen PrP nunmehr PrP<sup>Sc</sup> sichtbar gemacht werden (GROSCHUP et al., 2002; GROSCHUP und STOLZE, 2002).

Dieses Testprinzip hat sich als sogenannter **BSE-Schnelltest** etabliert. Eine Evaluierung durch die SSC liegt derzeit für 11 Verfahren vor (MOYNAGH und SCHIMMEL, 1999; SSC, 1999b; N.N. 2004b), von denen an deutschen Untersuchungsämtern überwiegend der Bio-Rad<sup>®</sup>-Test Platelia<sup>®</sup> BSE (80% der Proben) und der Prionics<sup>®</sup> - Check Western eingesetzt werden. Im Falle eines reaktiven Ergebnisses muss der Test zur endgültigen Bestätigung durch eine vom Internationalen Tierseuchenamt (O.I.E.) zugelassene **O.I.E.-Testmethode** wiederholt werden, welche sich sensitiver, aber diagnostisch aufwändiger verhalten (STOLZE und GROSCHUP, 2001). Mit wenigen Ausnahmen wird dabei ein Verdachtsfall einer histopathologischen Untersuchung unterzogen (N.N., 2005b). Zugelassen durch das O.I.E ist jedoch im Weiteren der O.I.E.-Western Blot, welcher am nationalen BSE-Referenzzentrum an der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere (BFAV, mit Sitz in Tübingen) Einsatz findet. Hierbei wird die Eigenschaft der PrP<sup>Sc</sup> untersucht, fibrilläre Strukturen zu bilden, sog. Scrapie-assoziierte Fibrillen (SAF) (PRUSINER, 1995). Ein weiteres zugelassenes und in Deutschland angewandtes Verfahren ist die Immunhistochemie. Im histologischen Schnitt können mit Hilfe von markierten, spezifischen Antikörpern PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerungen in und auf Nervenzellen sichtbar gemacht werden (GROSCHUP und STOLZE, 2002). Im **Tierversuch**, der zwischen 8 und 24 Monate dauert, wird durch intrazerebrale Injektion bei Mäusen oder Hamstern vor allem die Infektiosität von Geweben nachgewiesen (COLLINGE, 1999; ROSSOW, 2002).

Verschiedene **Lebendtests**, die bereits im symptomfreien Frühstadium der Erkrankung eine verbraucherschutzrechtlich relevante Diagnose noch vor der Schlachtung ermöglichen, befinden sich erst in der Entwicklungs- und Etablierungsphase (HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001; GROSCHUP et al., 2002; N.N., 2003a). Es handelt sich dabei um indirekte Nachweisverfahren, beispielsweise über den Surrogatmarker 14-3-3-Protein im Liquor, welcher durch Neuronenzerfall freigesetzt wird (HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001). Im Blut wird ein Nachweis über Plasminogen bindendes PrP<sup>Sc</sup> (FISCHER et al., 2000), über Serumveränderungen aufgrund von Ribonukleinsäuren (BRENIG et al., 2002) oder über Antikörpernachweis von vermehrt exprimierten Markerproteinen (Firma BOEHRINGER, Ingelheim) geprüft. Im Urin scheint der Nachweis eines Prion-Protein-Isoforms möglich zu sein (SHAKED et al., 2001).

#### 2.1.4 Prionen – Erregernatur und Erregerreplikation

Zur Erregernatur der TSEs gibt es verschiedene Hypothesen (RABENAU, 1997). Die heute weitestgehend akzeptierte ist die „Protein-only-Hypothese“, nach der „proteinaceous infectious particles“, kurz Prionen, eine zentrale Rolle bei der Krankheitsentstehung spielen (PRUSINER, 1982). Hingegen definiert die „Virino-Hypothese“ ein infektiöses Agens aus viralen Nukleinsäuren (DIRINGER et al., 1994) oder die Beteiligung von Nukleinsäuren als Kofaktor gleich einem Apopriion (WEISSMANN, 1991). Da ein Nachweis unterschiedlicher „Erregerstämme“ erbracht wurde (BRUCE et al., 1994), liegen diese Theorien nahe, jedoch konnten bislang keine Scrapie-spezifischen Nukleinsäuren in infiziertem Gehirn gefunden werden. Prionen haben ausgehend von der derzeit favorisierten „Protein-only-Hypothese“ keine Erbsubstanz (PRUSINER, 1995; HORN et al., 2001) und sind daher von bekannten Erregern wie Viren, Bakterien oder Parasiten deutlich abzugrenzen.

In der Nomenklatur beschreibt man physiologisch in Zellen vorkommende Prionen als Prionprotein<sup>zellulär</sup> – kurz: PrP<sup>C</sup>, das infektiöse Agens ist eine pathologische Prionproteinisoform – kurz: PrP<sup>Sc(rapie)</sup> (RABENAU und DOERR, 2001). Prionen sind Glycoproteine aus 254 bis 273 Aminosäuren (ROSSOW, 2002) und unterliegen je nach Wirtsspezies und Erregerstamm einem unterschiedlichen Glycosylierungsmuster (BRUCE et al., 1994). Nahezu alle Säugetiere, Vögel und Fische exprimieren mittels

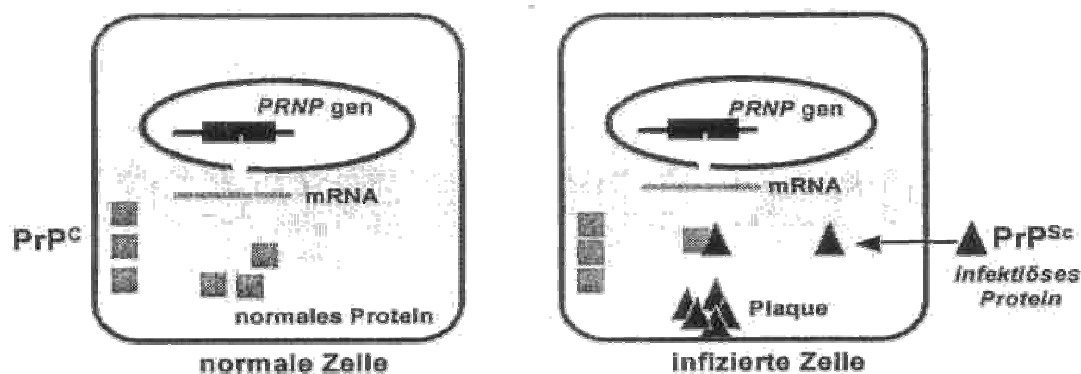
eines Prionprotein-(PrP)-Gens das PrP<sup>c</sup> (JEFFREY et al., 2004). Es ist hauptsächlich in Zellen des nervalen und lymphoretikulären Gewebes sowie der Nieren aufzufinden und dort durch einen Glycophosphatidyl-Inositol-Anker (GPI) mit der Zellmembran verbunden. Ein Abbau erfolgt im Zellinneren (Endozytose) durch Proteasen (GROSCHUP und STOLZE, 2002). Die Bedeutung des PrP<sup>c</sup> für die Zellphysiologie ist noch weitgehend unklar. Man vermutet eine synaptische Funktion bei der Erregungsleitung, ferner eine Beteiligung an der zirkadianen Rhythmik (KRETZSCHMAR, 1998; ROSSOW, 2002) oder bei der Kupferbindung zum Zellschutz gegenüber oxidativem Stress (N.N., 2001b). Transgene Mäuse ohne PrP<sup>c</sup>-Expriemierung, sog. Knock-out Mäuse, entwickeln sich jedoch normal und sind lebensfähig (BÜELER et al., 1992).

Die pathologische Isoform PrP<sup>Sc</sup> hat die identische Aminosäurezusammensetzung wie PrP<sup>c</sup>, was das Fehlen einer Immunreaktion erklärt. Eine Ausnahme stellen die vererbaren TSEs des Menschen dar, wo eine Punktmutation im PrP-Gen die Struktur des PrP<sup>c</sup> destabilisiert und die Umwandlung in PrP<sup>Sc</sup> bedingt (PRUSINER, 1995; RABENAU und DOERR, 2001). Eine Abweichung des PrP<sup>Sc</sup> gegenüber PrP<sup>c</sup> in der Tertiärstruktur beeinflusst jedoch maßgeblich seine biologischen und biochemischen Eigenschaften. Durch hohen Gehalt an  $\beta$ -Faltblattstrukturen und, im Vergleich zu PrP<sup>c</sup>, geringeren Gehalt an  $\alpha$ -helikalen Strukturen ist PrP<sup>Sc</sup> extrem widerstandsfähig gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen sowie gegenüber Desinfektionsmaßnahmen (z. B. viruziden Wirkstoffen) (DIRINGER et al., 1994; PRUSINER, 1995). Für eine Desinfektion sind nur 4%ige Natronlauge oder 2%ige Na-Hypochloritlösung mit einer Einwirkungsdauer von je 1 h oder Dampfsterilisation für mindestens 20 min, 133°C und 3,3 bar als wirksam zu betrachten (ROSSOW, 2002). Die Resistenz der PrP<sup>Sc</sup> gegen den Abbau durch endogene Proteasen (proteolytische Resistenz) ist entscheidend für ihre Zellpathogenität (PRUSINER, 1995; ALMOND, 1998; STOLZE und GROSCHUP, 2002).

Die Konversion des physiologischen PrP<sup>c</sup> in das pathologische PrP<sup>Sc</sup>, und somit seine Replikation, funktioniert nach derzeitigem Wissensstand ohne Beteiligung von Nukleinsäuren (PRUSINER, 1995; AGUZZI, 2001a). An innerzellulären Membranen (überwiegend von Neuronen) lagert sich dabei PrP<sup>Sc</sup> als infektiöses Agens an PrP<sup>c</sup>, wodurch ein Intermediärkomplex entsteht. Dabei induziert PrP<sup>Sc</sup> auf bisher unbekannte Weise autokatalytisch die Umwandlung der Tertiärstruktur des PrP<sup>c</sup> in



die pathologische Isoform. Mehrere PrP<sup>Sc</sup>, durch Proteasen nicht abbaubar, verklumpen zu unlöslichen Aggregaten und bilden somit Plaques oder die sogenannten SAF (**Abb. 2.1**). Dadurch aktivierte Astrozyten sowie die Plaques und SAF selbst wirken neurotoxisch (KRETZSCHMAR, 1998; PRINZ et al., 2004; JEFFREY et al., 2004) und lösen letztlich den Zelltod durch Apoptose aus (PRUSINER, 1995). Es entsteht histopathologisch eine klassische Trias aus Vakuolenbildung (spongiforme Dystrophie), Nervenzellverlust und Astrogliose (BUDKA et al., 1995).



**Abbildung 2.1:** Prionenreplikation nach der Prion-Hypothese (nach: AGUZZI, 2001a)

Untersuchungen mit transgenen Mäusen untermauern diese „Prionentheorie“. So konnte bei Knock-out-Mäusen, deren PrP-Gen inaktiviert wurde und die somit kein PrP<sup>C</sup> exprimieren, nach Inokulation von PrP<sup>Sc</sup> keine Vermehrung der PrP<sup>Sc</sup> oder Erkrankung der Tiere ausgelöst werden. Ferner wirkte die Menge an vorhandenen PrP<sup>C</sup> limitierend, da Mäuse, die lediglich 50% der normalen Menge im Gehirn exprimierten, sehr viel später und schwächer erkrankten (SAILER et al., 1994; PRUSINER, 1995).

### 2.1.5 Übertragbarkeit von BSE und vCJD

Die Übertragbarkeit von TSEs auf eine andere Tierart oder den Menschen ist abhängig von der Speziesbarriere, dem Applikationsweg des Erregers und der Infektionsdosis (AGUZZI, 2001a). Beim Vergleich verschiedener Übertragungswege ist die orale Erregeraufnahme am wenigsten effektiv. Reicht für die intrazerebrale Inokulation exemplarisch 1 infektiöse Einheit (IE) für eine Erkrankung aus, so ist bei intravenöser Applikation bereits die 10-fache IE, intraperitoneal die 100-fache IE, und subcutan die 10<sup>4</sup>-fache IE nötig. Eine Infektion nach oraler Übertragung bedarf einer

10<sup>5</sup>-fach höheren Dosis. Die Infektiosität kann bisher allerdings nicht nach ID<sub>50</sub>-Einheiten (IE, bei denen 50% der infizierten Tiere erkranken) quantifiziert werden. Ferner ist unbekannt, ob durch eine hohe Dosis oder durch Akkumulation niedriger Dosen eine Infektion erfolgt (COLLINGE, 1999). Nach DIRINGER et al. (1998) genügt laut Prionentheorie ein einziges pathologisches Prion, um die Umfaltung körpereigener Prionen in Gang zu setzen. Jedoch erhöhte sich mit der Menge der aufgenommenen Erreger das Risiko. Im Gehirn klinisch erkrankter Tiere können 1 Mio. bis 10 Mrd. infektiöse Einheiten pro Gramm Gewebe nachgewiesen werden. In GB war die Verarbeitung von bis zu 2 g Hirn in Hamburgern üblich, was folglich ein humanes Expositionsrisiko darstellte (ROSSOW, 2002).

### **2.1.5.1 Speziesbarriere**

Die Prionenübertragung auf eine fremde Spezies bedarf einer erhöhten Infektionsdosis und hat eine längere Inkubationszeit zur Folge. Nach mehreren Passagen des Erregers im neuen Wirt jedoch erfolgt eine Stabilisierung und deutliche Verkürzung der Inkubationszeit. Dies beruht auf der sog. Speziesbarriere, deren Ausmaß von der Ähnlichkeit der Molekülstruktur (Aminosäuren(AS)-sequenz) der Prionproteine (PrP) von Spender und Empfänger abhängig ist (COLLINGE, 1999; AGUZZI, 2001a). Diese Artenbarriere konnte im Tiermodell bei transgenen Mäusen überwunden werden (CASTILLA et al., 2004), indem durch Einschleusen des Hamster-PrP-Gens in das Genom von Mäusen die dadurch transgene Maus für Hamster-Scrapie empfänglich wurde (PRUSINER, 1995). Es können auch innerhalb einer Tierart mehrere verschiedene Prionenstämme („prion-strain-type“) auftreten, die entsprechend von unterschiedlichen PrP-Genotypen exprimiert werden. Gemäß der Speziesbarriere gilt auch hierbei, dass das Vorliegen verschiedener Erregerstämme die Übertragbarkeit erschwert. Eine große biochemische Übereinstimmung der „prion-strain-type“ zwischen Spender und Empfänger hingegen erhöht im Falle einer Übertragung die Pathogenität und verursacht darüber hinaus bei einer Erkrankung ein zwischen Spender und Empfänger identisches klinisches und histopathologisches Bild (BRUCE et al., 1994; FOSTER et al., 2001a).

Bei der CJD des Menschen sind drei verschiedene pathogene Prionenstämme (Typ 1 bis 3-Muster) bekannt, die sich von dem Isolat, welches die vCJD verursacht (Typ

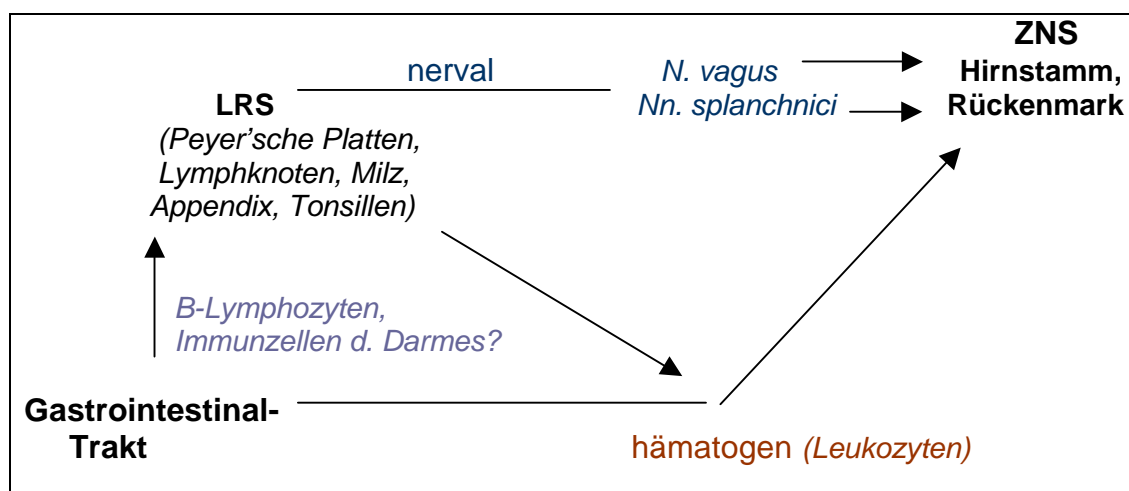
4-Muster), unterscheiden (LASMÉZAS et al., 1996). Dreißig verschiedene beim Schaf vorkommende Scrapie-Stämme zeigen alle eine entscheidende Nicht-Übereinstimmung der Molekülstruktur (in Position 143 und 155) mit menschlichen Prionen (BRUCE et al., 1994; BRUCE et al., 1997). Dies entspricht dem bisher fehlenden epidemiologischen Kontext zwischen Scrapie des Schafes und TSE des Menschen. Auch die experimentelle Übertragung von Scrapie auf Menschenaffen verlief bislang erfolglos (KRETZSCHMAR, 1998). Eine hohe molekulare Übereinstimmung der Prionen verbunden mit einer nachgewiesenen Übertragbarkeit besteht jedoch zwischen Rind und Schaf (FOSTER et al., 2001a) sowie zwischen Rind und Katzen, Zootieren (BRUCE et al., 1994) und Mäusen (BARLOW und MIDDLETON, 1990).

Zwischen Mensch und Rind besteht mit einer 92-93%igen Übereinstimmung (KRETZSCHMAR, 1998) ebenfalls eine deutliche Homologie in der AS-Sequenz ihrer Prionen. Bei experimenteller Übertragung von vCJD auf transgene Mäuse erkrankten diese mit identischer Inkubationszeit und klinisch-pathologischem Läsionsprofil wie Mäuse nach BSE-Inokulation. An vCJD und BSE erkrankte Mäuse unterschieden sich hingegen deutlich von mit Scrapie oder CJD infizierten Mäusen (BRUCE et al., 1997; HILL et al., 1997a; N.N., 2001a). In weiteren Versuchen zeigten mit BSE infizierte Makaken (hohe PrP-Übereinstimmung zum Menschen) einen neuropathologischen Befund, der dem unüblichen Schädigungsmuster (u.a. „floride“ Plaques) der vCJD sehr ähnelt und sich wiederum deutlich von anderen TSEs unterscheidet (LASMÉZAS et al., 1996). Die These, die vCJD habe ihren Ursprung in der BSE, wird zusätzlich durch biochemische Charakteristika erhärtet. So ergab die Analyse des Glycosylierungsmusters im Western Blot eine fast identische Molekülstruktur von Rinderprionen und dem menschlichen Priontyp 4, welcher der vCJD zugrunde liegt (COLLINGE et al., 1996; LASMÉZAS et al., 1996). Daraus lässt sich folgern, dass BSE und vCJD vom gleichen Erregerstamm verursacht werden (COLLINGE et al., 1996; BRUCE et al., 1997; N.N., 2001a).

### 2.1.5.2 Erregerausbreitung

Nach der oralen Aufnahme von Prionen mit der Nahrung, welche gerade bei BSE und vCJD die Hauptinfektionsquelle darstellt (DIRINGER et al., 1994), gelangen PrP<sup>Sc</sup> in das Hauptmanifestationsorgan ZNS über eine Infektionsausbreitung im Tierkörper (**Abb. 2.2**). Dabei kommt einer ersten Erregerreplikation im Lymphoretikulären System (LRS) und der anschließenden Neuroinvasion eine entscheidende Rolle zu. Im Tierversuch mit Labortieren erfolgte nach Aufnahme über den Gastrointestinaltrakt ein erster Erregernachweis in lymphatischem Gewebe des Pharynxbereiches (Tonsillen), folgend in Milz und dem lymphatischen Gewebe (B-Lymphozyten) des Darmes (MAIGNIEN et al., 1999).

Das Einschleusen von PrP<sup>Sc</sup> in peripheres Nervengewebe erfolgt vermutlich durch Vorläuferzellen von B-Lymphozyten (AGUZZI, 2001b). An viszeralem Nerven (*Nn. splanchnici*) entlang dringen die Prionen im Thoraxbereich in Spinalganglien und Rückenmark ein, von wo aus sie weiter aufsteigen in Richtung Kleinhirn, Großhirn und Netzhaut (AGUZZI, 2001b; FRIES et al., 2003). Eine alternative Weiterleitung erfolgt wohl entlang efferenter Fasern des Vagusnervs unter Umgehung des Rückenmarks in die *Medulla oblongata* des Gehirns (FRIES et al., 2003; N.N., 2004). Das Agens verteilt sich alternativ auch über das Blut im Organismus (MAIGNIEN et al., 1999). Im Tierexperiment gelang es dem Erreger, durch Überwinden der Blut-Hirn-Schranke das ZNS ohne nervale Ausbreitung zu erreichen (BANKS et al., 2004).



**Abbildung 2.2:** Ausbreitung der Prionen nach oraler Aufnahme

### 2.1.5.3 Gewebsinfektiosität

Der Erregerausbreitung beim Rind und einer damit verbundenen Infektiosität des beteiligten Gewebes kommt wegen der möglichen Übertragung auf den Menschen besonderes Augenmerk zu. Bei experimenteller Erregerübertragung auf Kälber über das Futter konnte nach 6 bis 18 Monaten mittels Mäusebioassay eine Infektiosität im distalen Ileum einschließlich der Peyer'schen Platten nachgewiesen werden. 32 Monate nach Inokulation gelang ein erster PrP<sup>Sc</sup>-Nachweis im ZNS (Rückenmark und *Medulla oblongata*) sowie in thorakalen und cervikalen Wurzelganglien. Infektiosität im Trigeminalganglion und im Knochenmark wurde nach 36 Monaten zeitgleich mit dem ersten Auftreten von klinischen Symptomen und histopathologischen Veränderungen beobachtet. Die höchste Prionendichte findet sich beim Rind in der terminalen Phase der Erkrankung im Gehirn (v. a. Hirnstamm) (WELLS et al., 1998). Bei oral mit BSE infizierten Mäusen gelang ein PrP<sup>Sc</sup>-Nachweis in zahlreichen Geweben des LRS wie Lymphknoten des Verdauungstraktes, Milz und Tonsillen, ferner im Pankreas und in peripheren Ganglien (MAGNIEN et al., 1999). Auch bei an BSE oder Scrapie erkrankten Schafen ist Infektiosität in der Körperperipherie (v. a. im LRS und peripheren Nervensystem) bereits deutlich vor einer Anreicherung von PrP<sup>Sc</sup> im ZNS messbar (WELLS et al., 1998; STOLZE und GROSCHUP, 2001; TERRY et al., 2003). Natürlich infizierte BSE-Kühe hingegen zeigen in den Körperorganen außerhalb des ZNS keine Infektiosität (FOSTER et al., 2001b). Somit weist BSE im Vergleich zu anderen TSEs eine geringere Verteilung der Infektiosität im Körper auf. Jedoch besteht Unklarheit darüber, ob der Unterschied zwischen Rindern und anderen Spezies nur quantitativer Art, nicht jedoch qualitativer Art sei. Pathologische Prionen könnten beim Rind in sehr niedrigem und somit nicht nachweisbarem Umfang außerhalb des ZNS vorhanden sein (THOMZIG et al., 2004).

Auch die Infektiosität von Muskelfleisch und Blut ist unzureichend geklärt. Blut von an BSE erkrankten Rindern gilt als nicht infektiös (SSC, 2002c). Ferner ist bislang Scrapie nicht durch Blut übertragbar, und bei der menschlichen sCJD gibt es ebenso keine epidemiologischen und experimentellen Hinweise darauf (KAWASHIMA et al., 1997; N.N., 2001c). Im Gegensatz dazu geht man bei vCJD-Patienten von einer möglichen iatrogenen Übertragung durch Bluttransfusion aus, da in lymphoretikulärem Gewebe und damit verbunden in Lymphozyten ein PrP<sup>Sc</sup>-Nachweis erbracht wurde (COLLINGE, 1999; HILL et al., 1999) (s. 2.1.2.1). Eine BSE-

Übertragung durch Blut gelang im Tierexperiment sowohl bei Schafen (HOUSTON et al., 2000), als auch bei Primaten, wobei die Infektiosität hauptsächlich an Leukozyten gekoppelt ist (BONS et al., 2002). Die potentielle Infektiosität von Blut (BROWN et al., 1998) und anderen lymphatischen Organen wirft zusätzliche Fragen für den Verbraucherschutz auf (N.N., 2003b).

In Muskulatur ist PrP<sup>Sc</sup> nachweisbar bei Scrapie-Fällen und sCJD-Patienten, jedoch in 5.000-fach bis 10.000-fach niedrigeren Mengen als im Gehirn (GLATZEL et al., 2003). Bei experimentell Scrapie-infizierten Hamstern erfolgte eine Erregerausbreitung in die Muskelfasern zentrifugal auf neuronalem Wege, ausgehend von Motoneuronen des Rückenmarks. Betroffen waren zum Ende der Inkubationszeit die Muskeln der Extremitäten, die Kaumuskulatur und die Zunge (THOMZIG et al., 2004). Die Muskulatur von Rindern mit BSE gilt dagegen als frei von Erregern (SSC, 2002c).

Durch das SSC (1998 und 1999a) erfolgte eine Klassifizierung von Organen nach ihrer potentiellen Infektiosität in vier verschiedene Risikogruppen (**Tab. 2.3**). Demnach ist im Falle einer BSE-Erkrankung im ZNS des Rindes mit der höchsten pathologischen Prionendichte zu rechnen. Die zum peripheren Nervensystem (PNS) zählenden Spinalganglien werden ebenso als hoch infektiös eingestuft. Weitere ZNS-nahe Anteile des PNS wie Vagusnerv und Ganglien des Kopfes und der Wirbelsäule sind bislang trotz vermuteter Erregerpassage (s. 2.1.5.2) und teilweise nachgewiesener Infektiosität (s. 2.1.5.3) nicht klassifiziert (LÜCKER und SCHLOTTERMÜLLER, 2001; FRIES et al., 2003).

Kategorie	Gewebe
1. Hohe Infektiosität	Gehirn, Rückenmark, Spinalganglien, Dura mater, Augen, Wirbelsäule, Hypophyse, Kopf (ohne Zunge), Lunge
2. Mittlere Infektiosität	Darm, Tonsillen, Milz, Plazenta, Uterus, fetales Gewebe, Liquor, Lymphknoten
3. Niedrige Infektiosität	Leber, Pankreas, Thymus, Knochenmark, Röhrenknochen, Nasenschleimhaut, periphere Nerven
4. Infektiosität nicht nachweisbar	restl. Gewebe wie Skelettmuskel, Herz, Niere, Milch, Blut, Urin, Fett, Bindegewebe, Haut, usw.

**Tabelle 2.3:** Einteilung der potentiellen Infektiosität von Organen BSE-infizierter Rinder (SSC, 1998 und 1999a).

Um ein mögliches Übertragungsrisiko des BSE-Erregers durch Schlachtprodukte auf den Verbraucher zu minimieren, erfolgte basierend auf der oben genannten Klassifizierung eine Einstufung von Geweben in sog. spezifiziertes Risikomaterial (SRM). SRM umfasst bestimmte Körperteile und Organe von Rindern, Schafen und Ziegen, von denen das größte Gefahrenpotential bezüglich einer möglichen Übertragung des TSE-Erregers ausgeht (N.N., 2003b) und die folglich unschädlich beseitigt werden müssen (s. 2.1.6). In Anhang XI der EG-Verordnung 999/2001 (N.N., 2001e), dessen letzte diesbezügliche Änderung durch die Verordnung 1492/2004 (N.N., 2004) erfolgte, sind spezifizierte Risikomaterialien derzeitig EU-einheitlich definiert (s. **Tab. 2.4**).

<b>Spezifizierte Risikomaterialien (SRM)</b>	
<b>Rinder</b> jeden Alters:	alle Tierkörperteile von positiv auf BSE getesteten Tieren Tonsillen Darm (Duodenum bis Rektum) und Mesenterium
Zusätzl. bei Rindern > 12 Monate:	Schädel ohne Unterkiefer, inkl. Hirn und Augen Wirbelsäule inkl. Rückenmark und Spinalganglien, exkl. Schwanzwirbel, Dorn- und Querfortsätze der Hals-, Brust- und Lendenwirbel und Crista sacralis mediana sowie Kreuzbeinflügel
<b>Schafe und Ziegen</b> jeden Alters:	alle Tierkörperteile von positiv auf TSE getesteten Tieren Milz; Ileum
Zusätzl. bei Schafen/Ziegen > 12 Monate:	Schädel inkl. Hirn, Augen Tonsillen; Rückenmark

**Tabelle 2.4:** Spezifizierte Risikomaterialien bei Rind, Schaf und Ziege

### 2.1.6 Rechtliche Konsequenzen für den Verbraucherschutz

Die BSE des Rindes gilt inzwischen durch den Verzehr von erregerehaltigem Material auf den Menschen übertragbar und scheint die humane vCJD hervorzurufen (COLLINGE et al., 1996; BRUCE et al., 1997; HILL et al., 1997a; ALMOND, 1998; HOSSAIN und CHAKRABORTY, 2001; LASMÉZAS et al., 2001). Dafür sprechen neben epidemiologischen Erhebungen vor allem experimentelle Befunde im Tiermodell

(N.N., 2003b). Neuropathologie und Klinik verhalten sich bei der Übertragung von BSE auf Mäuse oder Makaken identisch mit den Befunden einer vCJD-Infektion, welche sich deutlich von der Pathogenese anderer tierischer oder menschlicher TSEs unterscheidet (LASMÉZAS et al., 1996; BRUCE et al., 1997). Die Identifizierung eines übereinstimmenden Erregerstammes auf molekularer Ebene (COLLINGE et al., 1996; HILL et al., 1997a; BRUCE et al., 1997) erhärtet darüber hinaus die These, dass BSE die Quelle der vCJD ist. Diese Erkenntnisse machen Maßnahmen für den Verbraucherschutz unumgänglich. Insbesondere der Eintrag von ZNS, welches bis zu 95% der Infektiosität im BSE-positiven Fall ausmacht, und von SRM im Allgemeinen in die Nahrungskette ist zu vermeiden (SSC, 1998 und 1999a).

Ausgehend von diesen Überlegungen und als Reaktion auf die Ausbreitung von BSE wurden einzelstaatliche und gemeinschaftsrechtliche Maßnahmen zum Schutz der menschlichen und tierischen Gesundheit festgelegt. Der sog. TSE-Verordnung 999/2001 des Europäischen Parlamentes und des Rates (N.N., 2001e) kommt dabei mit ihren Änderungs-Verordnungen die zentrale Rolle zu. In ihr sind u. a. folgende Punkte zur Reduktion des Gefährdungspotentials geregelt:

1. Pflichttestung: Seit 1. Januar 2001 werden nach der TSE-Verordnung 999/2001, welche u. a. die Durchführung der BSE-Schnelltests (s. 2.1.3.2.3) regelt, europaweit alle Schlachtrinder über 30 Monate auf BSE getestet (N.N., 2001e). Deutschland hat national das testpflichtige Alter sogar auf 24 Monate gesenkt (N.N., 2001f).
2. Spezifiziertes Risikomaterial (SRM), dessen Infektiosität im Tierversuch nachgewiesen als erhöht gilt (s. 2.1.5.3), ist EU-weit von der Verarbeitung ausgeschlossen (nach EG-VO 999/2001, Anh. XI, geändert durch VO 1492/2004). Es muss entsprechend der genauen Vorgaben der EG-VO 1774/2002 einer Kennzeichnung unterzogen und unschädlich beseitigt werden. Mit BSE-positiv getesteten Rindern wird analog verfahren (N.N., 2004a).
3. Fütterungsverbot von tierischen Bestandteilen (nach EG-VO 999/2001 und EG-VO 1234/2003): das seit 1994 geltende Säugetier-Verfütterungsverbot an



Wiederkäuer wurde vom 1.1.2001 an in der EU ausgeweitet auf ein allgemeines Verfütterungsverbot von proteinhaltigen Erzeugnissen und Fetten aus Geweben warmblütiger Tiere und Fische an Wiederkäuer. Mit diesem „feeding-ban“ soll die vermutete Infektionskette bei Wiederkäuern unterbrochen und somit Neuinfektionen vermieden werden (N.N., 2001e).

Neben diesen zentralen Maßnahmen zur Kontrolle der BSE-Situation sind in der EG-VO 999/2001 darüber hinaus zahlreiche weitere Regelungen getroffen worden. So wurde ein Herstellungsverbot für Separatorenfleisch (Erzeugnis, das nach dem Entbeinen durch maschinelles Abtrennen des frischen Fleisches vom Knochen gewonnen wird) bei Rindern, Schafen und Ziegen für alle Knochen ausgesprochen. Der Einsatz eines Rückenmarkszerstörers (RMZ) zur Reflexausschaltung nach der Betäubung ist bei der Schlachtung von Rindern, Schafen und Ziegen zur Fleischgewinnung ebenso wie zur Gewinnung von Futtermitteln nicht mehr zugelassen (s. 2.3.1). Nach dem gemeinschaftsrechtlichen Überwachungsprogramm unterliegt BSE einer Meldepflicht, in Deutschland nach nationalem Recht sogar der Anzeigepflicht (ROSSOW, 2002).

### **2.1.7 Einschätzung des Gefahrenpotentials für den Verbraucher**

Da die deutsche BSE-Situation keinen Seuchencharakter aufweist, ist das Gesundheitsrisiko für den Verbraucher gering einzustufen (BODEMER und KAUP, 2002; N.N., 2003b). Deutsches Rindfleisch gilt weitgehend unbedenklich (KAADEN, 2001). Dennoch kann das Risiko für den Verbraucher durch Verzehr von Rindfleisch nicht vollständig ausgeschlossen werden, trotz der flächenmäßigen BSE-Schnelltestung. Der Nachweis von PrP<sup>Sc</sup> im Gehirn ist nämlich von der Menge des vorhandenen Erregers abhängig und kann im Falle einer Erkrankung erst ab sechs Monate vor den ersten klinischen Symptomen zuverlässig erfolgen. Aufgrund der langen Inkubationszeit und der Erregerausbreitung im Körper ist von einer potentiellen Infektiosität bestimmter Gewebe jedoch bereits zu einem Zeitpunkt auszugehen, zu dem PrP<sup>Sc</sup> noch nicht in ausreichendem Maße im Stammhirn nachgewiesen werden kann. Während der subklinischen Erkrankungsphase besteht also eine diagnostische Lücke, und ein BSE-negatives Testergebnis wäre in diesem

Fall nicht zwingend dem Freisein des Schlachttierkörpers von BSE-Erregern gleichzusetzen (ALMOND, 1998; WELLS et al., 1998; STOLZE und GROSCHUP, 2001).

Um in einem solchen Falle dennoch das Infektionsrisiko für den Verbraucher einschränken zu können, sind weitere umfassende Maßnahmen unabdingbar. So ist im Sinne eines vorbeugenden Verbraucherschutzes die Vermeidung des Eintrages von SRM, also potentiell infektiösem Gewebe, in die menschliche Nahrungskette von höchster Relevanz. Das größte Gefahrenpotential geht dabei von ZNS aus, das bei an BSE-erkrankten Rindern die Hauptinfektiosität trägt (höchste Prionendichte, macht zusammen mit dorsalen Wurzelganglien bis zu 95% der Gesamterregermenge aus) (SSC, 1998; N.N., 2003b). Maßnahmen wie das Entfernen und unschädliche Beseitigen von SRM, das Verbot des Rückenmarkszerstörers oder der Separatorenfleischgewinnung (s. 2.1.6) haben bei der Schlachtung von Rindern die wichtigsten Risiken für eine ZNS-Kontamination auf das derzeit mögliche Minimum reduziert. Dennoch gibt es bezüglich einer Kontamination mit SRM, und somit potentiell infektiösem Material, nach wie vor kritische Prozessschritte bei der Rindfleischgewinnung (FORSTER und STOLLE, 2002; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a; N.N., 2003b).

## 2.2 ZNS-Kontamination im Verlauf der Schlachtung von Rindern

Laut einer Stellungnahme des ehemaligen Bundesinstitutes für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Verbrauchersicherheit (BgVV) gibt es im Rahmen der Schlachtung und Zerlegung von Rindern kritische Arbeitsschritte, in deren Verlauf zu den spezifizierten Risikomaterialien (SRM) zählende Gewebe, insbesondere Hirn und Rückenmark, unter Zusammenhangstrennung von Geweben freigelegt werden. Im Falle einer Erkrankung eines Tieres an BSE ist SRM als infektiös zu betrachten, und es kann somit insbesondere an diesen kritischen Arbeitsschritten u. a. über Geräte und Einrichtungen zu einer Streuung pathologischer Prionen auf Fleisch und Arbeitspersonal kommen (N.N., 2001d).

Das **Absetzen des Kopfes** vom Rumpf wird unter Durchtrennung des Rückenmarks mit einem Messer ausgeführt. Dabei wird der Rückenmarkskanal eröffnet und

zentralnervöses Gewebe sowie Zerebrospinalflüssigkeit können aus dem Hinterhauptsloch austreten. Die übliche Heißwassersterilisation des möglicherweise ZNS-kontaminierten Messers bei 82 °C führt lediglich zu einer Proteindenaturierung, nicht zu einer Inaktivierung des möglicherweise vorhandenen BSE-Agens (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a; TRÖGER, 2002). Bei der folgenden **Bearbeitung des Kopfes** birgt insbesondere das Reinigen mittels Handbrausen eine Kontaminationsgefahr, indem Spritzwasser und Aerosole die Umgebung an der Schlachtlinie kontaminieren. Die Bandbeförderung des Kopfes durch die Schlachthalle und eventuell manuelles Umhängen des Kopfes begünstigen ebenfalls eine Verteilung von ZNS-Material (TRÖGER, 2002). Auch die Entnahme der BSE-Probe aus dem Stammhirn kann eine Umgebungsverunreinigung mit als SRM eingestuftem ZNS verursachen (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a).

Die **Spaltung des Tierkörpers** in der Längsrichtung der Wirbelsäule, nach Anl. 2 Kap. III Nr. 2.7 FIHV, stellt einen äußerst kritischen Arbeitsschritt dar (TRÖGER, 2002; FORSTER et al., 2003a). Im üblichen Schlachtablauf wird die Wirbelsäule in ihrer Medianen mit automatischen Kreissägen oder handgeführten Bandsägen getrennt, bzw. in handwerklichen Betrieben mit einem Beil. Dabei wird der Wirbelkanal eröffnet und das Rückenmark großflächig zersägt. Letzteres kann als Sägeabrieb oder per ablaufendem Sägewasser die Schlachtkörperhälften, insbesondere die mediale Kamm- und Rückenmuskulatur, kontaminieren (MARTIN et al., 2001; TRÖGER, 2002). Die Hauptgefahr geht von ZNS-haltigem Sägestaub aus, der an Sägeblatt und -gehäuse haftet (SCHWÄGELE et al., 2002) und von diesen auf nachfolgende Tierkörper übertragen wird (HELPS et al., 2004). Die **Entfernung des Rückenmarks** nach der Spaltung mittels Messer, Fräse oder Absauggerät (TrimVac®) kann alternativ auch vor der Spaltung erfolgen, nämlich in Form von Absaugen durch Unterdruck mit einem speziellen PVC-Schlauch innerhalb der *Dura mater* (FORSTER et al., 2002). Diese Methode wurde anfangs als vielversprechende Maßnahme zur Reduktion des Kontaminationsrisikos eingeschätzt (JOHANNSEN, 2002). Untersuchungen über die Effektivität der Rückenmarksabsaugung vor und nach der Spaltung sowie in weiterer Abhängigkeit von unterschiedlichen Sägeblättern zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede (BÄUERLE et al., 2004). SCHWÄGELE et al. (2002) konnten bei Absaugen vor Spaltung ein ZNS-spezifisches Markerprotein (GFAP) neben verschiedenen Probenahmestellen des Schlachttierkörpers auch an

Arbeitsgeräten und Schutzkleidung des Arbeitspersonals nachweisen. LÜCKER et al. (2002) beobachteten bei dieser Art der Rückenmarksentfernung sogar eine höhere ZNS-Kontamination der Rinderhälften (32%) im Vergleich zu konventionell gespaltenen (17%). Dies wurde zurückgeführt auf unvollständige intradurale Absaugung und Zerstörung des Rückenmarks (SCHWÄGELE et al., 2002) aufgrund anatomischer Einschränkungen (FORSTER et al., 2002). Das Heraussägen der Wirbelsäule im Ganzen wird in der sog. Sattel- und in der Keilschnitt-Methode mit Rundsägen bzw. Hackern umgesetzt. Dabei wird eine Freisetzung von SRM weitgehend verhindert. Gerade im Hinblick auf Praktikabilität und Wirtschaftlichkeit sind diese Zerlegungen im industriellen Ablauf jedoch nicht zu integrieren und es entstehen zudem Verluste an wertvollen Fleischteilen sowie Fleischqualitätsmängel (TRÖGER, 2002; FORSTER et al., 2003a).

Nach der Spaltung und Rückenmarksentfernung erfolgt in manchen Betrieben eine **Reinigung des Tierkörpers**, indem die medialen Sägeflächen der Hälften mit Wasser abgebraust werden. Dabei entstehendes Spritzwasser und Aerosole kontaminieren wiederum Fleisch, Gerätschaften und Arbeitspersonal. Im Wirbelkanal verbliebene *Dura mater* und anhaftende Nervenwurzeln werden üblicherweise manuell entfernt. Die ebenfalls zu SRM zählenden, als hoch infektiös eingestuften **Spinalganglien** (extradural in den Zwischenwirbellöchern gelegen) entgehen dieser manuellen Entfernung jedoch häufig aufgrund ihrer anatomischen Lage (FORSTER et al., 2002). Auch periphere Ganglien im Schädel- und Halsbereich sowie Brust- und Lendengrenzstrangganglien stellen ein Kontaminationsrisiko dar (JOHANNSEN, 2002). Bei der **Fleischuntersuchung** ist beim Anschneiden von Herz und Lunge ein Kontakt mit hämatogen verschlepptem ZNS-Gewebe (s. 2.3.3) möglich. Durch das Entfernen der Tonsillen (SRM) im Rahmen der Kopfuntersuchung können Messer mit ZNS kontaminiert werden und im Rahmen der Fennschnitts eine Verteilung in die Tiefe der Muskulatur erfolgen (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a).

Schließlich dürfen die Kontaminationsrisiken, die sich bereits bei der Betäubung der Schlachtrinder ergeben, nicht vernachlässigt werden. So kann aus der Einschussöffnung des Bolzenschussapparates und dem Hinterhauptsloch infektiöses Material austreten und v. a. das Kopffleisch verunreinigen (N.N., 2002b; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a). MOJE et al. (2001) fanden bei 100 auf ZNS untersuchten Köpfen

zu 95 % ein positives Ergebnis in der Umgebung des Schussloches. Die Muskulatur beidseits des Hinterhauptsloches (72 %) und die äußere Kaumuskulatur (26 %) waren ebenfalls positiv. Die Gewinnung der Muskulatur des Kopfes unterliegt konsequenterweise strengen rechtlich vorgeschriebenen Auflagen (SPERNER und FORSTER, 2005). Auch die Kontaktfläche des Bolzenschussapparates, die auf die Stirn des zu betäubenden Tieres aufgesetzt wird, war im immunochemischen ZNS-Nachweis positiv (TRÖGER, 2002). Von der **Bolzenschussbetäubung** geht, neben einer äußeren Verschleppung von Hirnmasse aus der Schussöffnung, vor allem die Gefahr einer hämatogenen Disseminierung in die inneren Organe aus, infolge Gewebszerstörungen mit Blutungen im Gehirn (JOHANNSEN, 2002).

## **2.3 ZNS-Embolisierung beim Schlachtprozessschritt Betäubung**

### **2.3.1 Betäubung**

Der Grundsatz, dass warmblütige Tiere beim Schlachten vor Beginn des Blutentzugs sachgerecht zu betäuben sind, ist in § 4a Abs. 1 TierSchG (N.N., 2003e) und EU-weit in der Richtlinie 93/119/EG (N.N., 1993) verankert. In der Tierschutzschlachtverordnung (TierSchlV) wird die Empfindungslosigkeit der Tiere gefordert. Ein Schlacht tier gilt nach § 13 TierSchlV als tierschutzgerecht betäubt, wenn es schnell und ohne vermeidbare Schmerzen oder Leiden in einen bis zum Tod anhaltenden Zustand der Empfindungs- und Wahrnehmungslosigkeit versetzt wird (N.N., 1999). Bei sachgerecht erfolgter Betäubung (durch den Bolzenschuss) stürzt demnach das Tier nieder und zeigt reflektorisch tonisch-klonische Krämpfe aufgrund des Wegfalls der zentralen Hemmung (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b). Wichtige Parameter für den anhaltenden Bewusstseinsverlust sind Ausfall der Atmung und des Cornealreflexes sowie starre Augen. Das Gehirn zeigt keine Reaktionsfähigkeit auf Reize der Außenwelt und im Elektroenzephalogramm sind charakteristische Veränderungen messbar. Der Herzschlag bleibt in der Regel erhalten, und erst durch anschließendes Entbluten (Schlachten = Töten durch Blutentzug) stirbt das Tier (BLACKMORE and DELANY, 1988).

Der Einsatz eines Rückenmarkszerstörers ist im Rahmen der Rinderschlachtung aufgrund einer nachgewiesenen Verschleppung von ZNS-Gewebsfragmenten in den Körperkreislauf (s. 2.3.3) und einer generellen Kontaminationsgefahr verboten (N.N., 2001e). Der Rückenmarkszerstörer ist ein 1-2 Meter langer Stab, der im ZNS, insbesondere im Stammhirnbereich, massive Verletzungen setzt und somit unwillkürliche Reflexe des Tieres unterdrückt (ANIL et al., 1999). Die zulässigen Verfahren zur Betäubung von Schlachtieren sind in Anlage 3 Teil I TierSchIV geregelt. Beim Rind werden demnach folgende Betäubungsmethoden eingesetzt:

- Bolzenschussbetäubung
- Elektrobetäubung
- Schuss-Schlag-Betäubung (nach § 14 Abs. 2 Nr. 1 TierSchIV in Deutschland nur mit Ausnahmegenehmigung der zuständigen Behörde zur Erprobung)
- Kugelschuss (nur zur Nottötung oder mit Einwilligung der zuständigen Behörde zur Betäubung bei Rindern, die ganzjährig im Freien gehalten werden)

Ausnahmen vom Zwang zur Betäubung vor dem Blutentzug gibt es neben Notschlachtungen auch für rituelles Schächten oder Halal (PLEITER, 2004).

### **2.3.1.1 Bolzenschussbetäubung**

Die penetrierende Bolzenschussbetäubung ist in Europa das übliche Verfahren zur Betäubung von Rindern. Bolzenschussapparate sind Geräte, aus denen mittels Treibladung oder Druckluft ein Bolzen um eine definierte Strecke geschleudert und über Federn automatisch rückgestellt wird (GREGORY, 1998). Druckluftinjizierende Bolzen, die ähnlich dem Rückenmarkszerstörer schwere Gewebszerreissungen verursachen, sind EU-weit verboten und nur in GB und in USA auf dem Markt (ANIL et al., 1999; ROTH, 2001). In Deutschland ist, neben pneumatischen Geräten, vor allem der munitionsgetriebene Bolzenschussapparat im Einsatz. Der korrekte Ansatz des Schussapparates auf dem Rinderschädel ist maßgeblich für die Betäubungswirkung und muss senkrecht zur Stirnfläche auf der Mittellinie, knapp über der Schnittstelle der diagonalen Verbindungslinien zwischen Hornansatz und Augenmitte erfolgen (JOHANNSEN, 2002). Nach der Zündung treiben ausreichende Geschwindigkeit (ca. 100 m/s) und Energiemenge den Metallbolzen (7-11 cm Länge,

1 cm Durchmesser) durch den Schädelknochen hindurch (GREGORY, 1998; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a).

Der Bewusstseinsverlust des Tieres, der innerhalb von 2 Millisekunden nach Auslösen des Betäubungsschusses eintritt, wird im Wesentlichen durch folgende Mechanismen ausgelöst: durch eine Erschütterung des Gehirns infolge des Schussaufpralls auf dem Schädeldach, durch den sog. Coup- und Contre-Coup-Effekt, in dessen Rahmen das Gehirn wellenartigen Druckschwankungen gegen das knöcherne Schädeldach ausgesetzt ist, sowie durch die invasive Zerstörung von Gehirngewebe (Zerreissungen, Quetschungen, Torsionen, Gefäßblutungen). Eine anhaltende und tiefe Betäubung wird dabei vor allem durch diese Gewebszerstörung der lebenswichtigen Zentren im Stammhirn aufrechterhalten (LAMBOOY, 1982; GREGORY, 1998). Der resultierende Ausfall der Atmung führt im Gehirn zu progressivem Sauerstoffmangel und kann in Einzelfällen durch dessen Funktionsausfall bereits zum Tod führen. Um ein Wiedererwachen der Tiere sicher zu verhindern, muss die Entblutung, welche infolge Kreislaufkollaps zum Schlachttod führt, laut TierSchlV innerhalb von 60 Sekunden nach dem Schuss erfolgen. Nach TierSchlV wird zur Gewährleistung einer optimiert ausgeführten Betäubung ein Sachkundenachweis des Betäubungspersonals und regelmäßige Wartung des Schussapparates gefordert. Ferner sind die Tiere in geeignete Stellung zu bringen und in ihrer möglichen Kopfabwehr einzuschränken (N.N., 1999; JOHANNSEN, 2002; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a).

### **2.3.1.2 Schuss-Schlag-Betäubung**

Die Schuss-Schlag-Betäubung wird mit einem modifizierten Bolzenschussapparat, der mittels Treibladung oder Druckluft betrieben wird, ausgeführt. Pilzförmige Metallplatten bilden den Schlagkopf, welcher mit im Vergleich zum konventionellen Bolzenschussapparat erheblich vergrößerter Auftrefffläche (Durchmesser 4-5 cm) stumpf auf dem Schädel aufschlägt, ohne in das Gehirn einzudringen (TRÖGER, 2002; MOJE, 2003). Mit dieser Betäubungsmethode soll der Schädel nicht eröffnet werden, und eine ZNS-Kontamination von Arbeitspersonal und Umgebung könnte aus Verbraucherschutz-relevanter Sicht eingeschränkt werden (JOHANNSEN, 2002). MOJE (2003) verwies in seiner Studie jedoch auf über 90 % Impressions- bzw. 40 %

Splitterfrakturen im Stirnbein, sowie Hirnhautperforation oder Hämatome im Gehirn. Dies ist wohl auf die bislang unzureichend kontrollierbare Wechselwirkung von Druck und Schädelknochenanatomie zurückzuführen, welche abhängig von Rasse, Alter und Geschlecht ist.

Entsprechend der Bolzenschussbetäubung kommt es durch den Aufprall des Gehirnes an dem Schädeldach in Stirnhöhe infolge einer schweren Gehirnerschütterung zum Bewusstseinsverlust (TRÖGER, 2002). Die reflektorisch verursachten Abwehrbewegungen sind im Vergleich zum Bolzenschuss wesentlich geringer ausgeprägt. Das Betäubungsergebnis ist aus Tierschutzsicht jedoch unbefriedigend, da es bislang oft zu Fehlbetäubungen kommt (MOJE, 2003) und die Tiere schneller wieder das Bewusstsein erlangen als bolzenschussbetäubte Rinder. JOHANNSEN (2002) forderte daher eine effektive Kopffixierung und unverzügliche Entblutung nach dem Betäubungsschuss.

### **2.3.1.3 Elektrobetäubung**

Während in Australien und Neuseeland die Elektrobetäubung seit Jahrzehnten das übliche Verfahren bei der Rinderschlachtung darstellt, wird sie in Europa erst im Zusammenhang mit der BSE-Krise zunehmend praktiziert (FORSTER et al., 2003b). In Deutschland sind inzwischen in drei industriellen Rinderschlachtbetrieben vollautomatische Betäubungsanlagen implementiert (PLEITER, 2004). Der Betäubungsablauf lässt sich folgendermaßen beschreiben: nach Betreten der Betäubungsbox wird das Tier von zwei Halselektroden fixiert, die unmittelbar in Nähe des Zielorgans Gehirn auf Höhe des Nackens seitlich herangeführt werden. Ein Kinnheber drückt von unten kommend den Kopf nach oben, so dass das Flotzmaul Kontakt mit der von vorne heranfahrenden Elektrode (Flotzmaulelektrode) bekommt (FORSTER et al., 2003b). Ist dieser Kontakt erfolgt, kommt es zwischen der paarigen Nackenelektrode und der Flotzmaulelektrode in einem ersten Betäubungsschritt für die Dauer von 2 Sekunden zur Gehirndurchströmung, mit einer Stromstärke von 2,5 bis 3,2 Ampère bei durchschnittlich effektiven 250 bis 270 bzw. 270 bis 330 Volt (FORSTER, 2002; TRÖGER, 2002). Dies führt durch einen epileptiformen Anfall zum initialen Bewusstseinsverlust. In der TierSchIV, Anlage 3 Teil II, Nr. 3.3, wird darüber hinaus für Rinder über 6 Monate eine zusätzliche Herzdurchströmung gefordert (N.N.,



1999). Die Durchströmung des Herzens wird unmittelbar im Anschluss an die 2 Sekunden währende Kopfdurchströmung in einem zweiten Betäubungsschritt durchgeführt. Hierzu wird eine Brustelektrode vom Boden der Betäubungsbox an das Brustbein des Rindes herangefahren. Zwischen dieser nun dritten Elektrode paramedian am Brustbein und der Flotzmaulelektrode kommt es für 18 bis 20 Sekunden zum Stromfluss, wodurch infolge Herzkammerflimmern der Kreislauf sistiert (FORSTER, 2002; PLEITER, 2004). Der Entblutungsschnitt muss bei Entblutung im Hängen innerhalb von 20 Sekunden, bei Entblutung im Liegen innerhalb von 10 Sekunden erfolgen (N.N., 1999).

Der epileptiforme Anfall der betäubten Tiere kommt einem sog. *Grand mal* epileptischen Anfall beim Menschen gleich (COOK und DEVINE, 2002). Bei der elektrischen Durchströmung des Kopfes kommt es zur Ausschüttung erregender Neurotransmitter in den Extrazellulärraum, in deren Folge Nervenzellverbände in bestimmten Gehirnregionen in einem Zustand erhöhter Erregung sind und sich unkoordiniert epileptiform entladen (MÄNNL, 1994). Eine damit verbundene Störung der Signalverarbeitung und -weiterleitung führt innerhalb von 200 ms zu Empfindungs- und Wahrnehmungslosigkeit sowie zum Aussetzen der Atmung. Da dem epileptiformen Status des Gehirns bei intaktem Kreislauf eine Phase der Erholung mit rascher Wiedererlangung des Bewusstseins folgt, ist die zusätzliche Herzdurchströmung für das tierschutzgerechte Aufrechterhalten der Betäubung von entscheidender Bedeutung. Die gestörte Blutzirkulation infolge Herzkammerflimmern verursacht im Gehirn den Zustand einer Anoxie und das Tier fällt ins Koma. Die Betäubung ist somit irreversibel. Äußerlich wahrnehmbar ist nach einer anfänglichen starren Krampfphase (währt ca. 10 s) eine Phase der konvulsiven, klonischen Gliedmaßenbewegungen zu beobachten, bevor das Tier ein Stadium der völligen Muskelrelaxation erreicht (GREGORY, 1998; FORSTER et al., 2003b; PLEITER 2004).

Im Gegensatz zur Bolzenschussbetäubung ist dieses Verfahren durch ein Sistieren der Blutzirkulation und durch Intaktbleiben von ZNS-Gewebe und -Gefäßen gekennzeichnet, was aus Verbraucherschutzsicht die Gefahr einer Embolisierung von Gehirnmaterial erheblich einschränkt (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a). Der Tierschutz ist bei elektrischer Betäubung gewährleistet. Jedoch kann es bei mangelhaft und zu spät ausgeübter Entblutung oder inkorrektem Sitz der Herzelektrode zu

Unregelmäßigkeiten kommen (FORSTER et al., 2003b). Mit der Implementierung der komplexen Elektrobetäubungsanlagen sind hohe Investitionskosten verbunden, welche sich nur im industriellen Schlachtablauf rechnen (TRÖGER, 2002). Für registrierte Betriebe besteht lediglich die Möglichkeit einer Elektroimmobilisierung nach Bolzenschuss. Dabei wird das Tier zwischen Flotzmaul und Schwanzfalte mit Niedervolt bis 50 V durchströmt und damit dem Arbeitsschutz gerade nach Verbot des Rückenmarkszerstörers Rechnung getragen. Das Ansetzen einer tragbaren Betäubungsgabel an der Brust der Tiere für eine Herzdurchströmung im Rahmen einer vollständigen Elektrobetäubung stellt hingegen für das Schlachtpersonal wegen möglicher Abwehrbewegungen eine Gefahr dar (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b).

#### **2.3.1.4 Entblutung**

Die zulässige Höchstdauer bis zur Entblutung richtet sich nach der Betäubungsart und ist in Anlage 2 der TierSchlV verankert. Die Entblutung des Schlachttieres soll schnell den Schlachttod herbeiführen und muss somit unmittelbar nach der Betäubung vollzogen werden. Denn erst der durch Blutentzug eingeleitete Blutdruckabfall bewirkt einen Kreislaufkollaps mit Herzstillstand sowie Gehirntod durch cerebrale Anoxie (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b). Beim Halsschnitt wird die Hauptschlagader (*A. carotis communis*) durchtrennt, während beim alternativen Bruststich das gemeinsame Ursprungsgefäß (*Truncus brachiocephalicus*) der Halsschlagadern in Herznähe durchstoßen wird. Der Bruststich unterbricht auch den Blutfluss der Vertebralarterien, welche beim Rind als anatomische Besonderheit das Gehirn zusätzlich versorgen (s. 2.3.2.1). Deren Funktion kann bei alleiniger Durchtrennung der Halsschlagadern bis über eine Minute länger erhalten sein und somit den Gehirntod verzögern (JOHANNSEN, 2002).

Der Erfolg einer raschen Entblutung hängt von verschiedenen Faktoren ab. Bei den Betäubungsverfahren unterscheidet sich dabei die Elektrobetäubung trotz Herzkammerflimmern nicht nachteilig von der konventionellen Bolzenschussbetäubung, da es infolge der Durchströmung zu einer deutlichen Blutdrucksteigerung kommt (BUCHER et al., 2003). Diskutiert wird weiterhin der Einfluss der Lage des Tierkörpers. HESS (1968) beobachtete im Hängen (bei Bolzenschussbetäubung) eine um 12 % höhere Stechblutmenge als bei Liegendentblutung. BUCHER et al. (2003)

konnten auch - jedoch bei Elektrobetäubung - bei Entblutung im Hängen nach 30 Sekunden durchschnittlich 18 Liter Blut gewinnen, im Liegen nur 14 Liter. Dennoch maßen die Autoren nicht der Lage des Tierkörpers, sondern der Korrektheit des Entblutestichs, welche vom Faktor Mensch abhängt, die entscheidende Bedeutung bei. Der Ausblutungsgrad beträgt insgesamt 40 bis max. 60 % des Gesamtblutvolumens. Das restliche Blut verbleibt im Schlachtkörper, insbesondere in den Organen. Im Herz ist sogar nach der Herzeröffnung im Rahmen der Fleischuntersuchung stets Restblut in den Kammern, oder es haften Koagula an den Innenstrukturen des Herzens (N.N., 2001c). Der Prozessschritt Entblutung dauert nach ANIL et al. (1999) 90 Sekunden, der Herzschlag kann noch mehrere Minuten andauern. Während dieser Phase kann das Blut weiterhin durch den Kreislauf zirkulieren. Da für den Abschnitt Eutervene/Eutervene beim Rind eine Kreislaufzeit von 52 s gemessen wurde, geht SCHÜTT-ABRAHAM (2002b) davon aus, dass während der nach der Betäubung noch bis zu wenigen Minuten aufrecht erhaltenen Blutzirkulation ausreichend Zeit für eine Blutpassage durch den gesamten Kreislauf bleibt.

## 2.3.2 Anatomie des Blutkreislaufes beim Rind

### 2.3.2.1 Blutversorgung des Gehirns

Die **arterielle, cerebrale Blutversorgung** wird von mehreren Gefäßen, die in der Schädelhöhle netzartig über zahlreiche verschlungene Zweige miteinander anastomosieren, gewährleistet. Beim erwachsenen Rind stehen diese sog. Wundernetze (*Retia mirabilia*) miteinander über den *Circulus arteriosus* in Verbindung und werden in der Hauptsache von der *A. maxillaris* (aus *A. carotis externa*) und der *A. vertebralis* gespeist. Letztere ist ein Ast der *A. subclavia*, verläuft ventral der Halswirbelkörper zur Schädelhöhle und entgeht somit einer Durchtrennung per Halsschnitt im Rahmen der Entblutung.

Der **venöse, cerebrale Blutstrom** ist in großlumige dorsale und ventrale Blutleitersysteme unterteilt, die miteinander in Verbindung stehen. Das dorsale Venensystem besteht zur Hauptsache aus dem *Sinus sagittalis*, der zwischen den Hemisphären verlaufend zahlreiche kleine Gehirnvenen und den *Sinus rectus*

(Hauptvene, welche tiefe Strukturen des Gehirns drainiert) aufnimmt. Am Kleinhirnzelt spaltet er sich bilateral in ampullenartig erweiterte Querblutleiter (*Sinus transversus*). Diese verlassen als *Sinus sigmoideus* zum einen den Schädel in Richtung des vertebralen Venenplexus (*V. vertebralis*) und der inneren Jugularvene (*V. jugularis interna*), und nehmen zum anderen Verbindung mit dem ventralen Blutleitersystem auf. Das ventrale Venensystem ist ein ringförmig um die Hypophyse angelegtes Sammelbecken und besteht aus dem caudalen *Sinus basilaris* und den cranialen *Sinus cavernosi*. Diese sind ein schwammartiges Hohlraumssystem, nehmen zahlreiche kleine Venen auf und bilden rostral durch die Orbita einen Abfluss zur *V. facialis* und *V. temporalis superficialis* (münden in *V. carotis externa*). Der caudale *Sinus basilaris* wiederum entlässt eine Verbindung zur *V. maxillaris* (mündet ebenfalls in *V. carotis externa*) und geht über den *Sinus sigmoideus* die Verbindung zum dorsalen Venensystem ein. Den Venen des ZNS fehlen jegliche Venenklappen, so dass die Blutleiter immer geöffnet sind. Dadurch ist die Durchströmung in jede Richtung gesichert, wodurch Unregelmäßigkeiten im hämodynamischen Druck ausgeglichen werden können (DYCE et al., 1991; NICKEL et al., 1992).

### 2.3.2.2 Venöser Blutkreislauf

Infolge eines Traumas können ZNS-Fragmente über zerrissene Gehirngefäße, insbesondere über die großlumigen dorsalen und basalen venösen Blutleiter, in die vom Kopf zum Herz führenden Venen gelangen (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b). Die Carotisvene und die äußere Jugularvene sind - neben der inneren Jugularvene - das Hauptabflussgefäß des Kopfes. Das Einzugsgebiet ihrer Zuflüsse sind neben den oberflächlichen auch die tiefen Kopfstrukturen. Sie gehen kurz vor der Brusthöhle, nach Mündung der ebenfalls vom ZNS kommenden Vertebralvene, in die craniale Hohlvene (*V. cava cranialis*) über.

### Herz-/Lungenkreislauf

Die craniale Hohlvene mündet zusammen mit anderen großen Venen des Körpers in den rechten Herzvorhof. Der Vorhof weist um die Venenöffnungen eine glatte Innenstruktur auf und ist von der anschließenden Kammer durch die dreizipflige rechte Atrioventrikularklappe (*Valva tricuspidalis*) funktionell getrennt. Die Wandmuskulatur

der rechten Herzkammer ist von Fleischbalken durchsetzt, welche Bestandteil des herzeigenen Erregungsleitungssystems sind. Zahlreiche Warzenmuskeln (*Mm. papillares*) entlassen Sehnenfäden in die Atrioventrikularklappe, um diese zu stabilisieren. Über den *Truncus pulmonalis*, der an seinem Ursprung drei halbmondförmige Taschenklappen (*Valva trunci pulmonalis*, Pulmonalisklappe) als Rückstromventil besitzt, nimmt das venöse Blut seinen Weg von der rechten Herzkammer in die Lunge. Außerhalb des Herzbeutels teilt sich der Lungentruncus in die rechte und linke Lungenarterie, welche an den jeweiligen Lungenflügeln ihre Äste entlassen. Diese Äste folgen dem Verlauf der Bronchien in das Kapillarbett der Lunge. Nach der Oxygenierung gelangt das nun arterielle Blut über Äste der Lungenvenen durch mehrere (5-7) Öffnungen in die Vorkammer des linken Herzens. Der Übergang in die linke Kammer ist wiederum von einer Atrioventrikularklappe (*Valva bicuspidalis*, zweizipflig) mit der Wirkung eines Rückschlagventils umrahmt. Die linke Kammerwandmuskulatur ist von nur wenigen Warzenmuskeln oder Fleischbalken durchsetzt, ihre Wanddicke ist aber aufgrund der großen Pumparbeit stärker ausgeprägt. Die aus der linken Herzkammer hervorgehende Aorta hat an ihrem Ursprung eine *Valva aortae*, welche sich aus drei halbmondförmigen Klappen zusammensetzt. Unmittelbar über den Aortenklappen entspringen die linke und rechte Koronararterie, in welche etwa 15% des Blutausstosses für die Eigenversorgung des Herzens fließt. Beim Rind als linkskoronarem Typ kommt der linken Koronararterie das größere Versorgungsgebiet zu (DYCE et al., 1991).

### **2.3.3 Hämatogene ZNS-Disseminierung infolge Betäubung**

#### **2.3.3.1 Experimentelle Ergebnisse**

Erste tiermedizinische Untersuchungen über möglicherweise abgeschwemmtes Gehirnmaterial erfolgten beim Rind über eine makroskopische Suche nach mutmaßlichen Gehirn-Emboli (GARLAND et al., 1996). SCHMIDT et al. (1999a) konnten in 33% der untersuchten rechten Herzen embolische Partikel entdecken, HORLACHER et al. (2000) bei ca. 60% der Proben aus Lungengefäßen. Diese Emboli erwiesen sich jedoch nur zu einem geringen Prozentsatz (0,2% bis 3,2% der Proben) bei Untersuchungen mit histologischen oder immunologischen Methoden als ZNS-positiv, während der Großteil der Emboli nicht aus ZNS-Gewebe bestand. In **Tabelle 2.5** sind Studien mit positivem ZNS-Nachweis, die alle zur Überprüfung einer

möglichen ZNS-Streuung infolge verschiedener Betäubungsmethoden durchgeführt wurden, zusammengefasst.

Quelle	Art der Bolzenschussbetäubung	Anteil ZNS-positiver Proben	Untersuchungsmaterial	Methodik des ZNS-Nachweises
GARLAND et al., 1996 BAUER et al., 1996	druckluftinjizierend	7 pos. von 220 (3,2%)	Rind; Emboli aus Lungenarterie	Histologie
SCHMIDT et al., 1999a	druckluftinjizierend	2 pos. von 1050 (0,2%)	Rind; Emboli aus rechter Herzkammer	Histologie
ANIL et al., 1999	- druckluftinjizierend - munitionsgetrieben, mit RMZ	4 pos. von 15 (27%) 1 pos. von 16 (6,3%)	Rind; Blut aus Jugularvenen	1. Histologie 2. Immunzytochemie (S-100 $\beta$ ); 3. Immunochemie (Syntaxin 1-B und Annexin V)
LOVE et al., 2000	keine Angabe	5 pos. von 60 (8,3%)	Rind; Blut aus Jugularvenen	wie ANIL et al., 1999
ANIL et al., 2001	- pneumatisch - munitionsgetrieben	2 pos. von 15 (je 13,3%) 2 pos. von 15	Schaf; Blut aus Jugularvenen	1. Immunzytochemie (S-100 $\beta$ ); 2. Immunochemie (Syntaxin 1-B)
ROTH, 2001	druckluftinjizierend	Rechte Herzkammer; Blutgefäß v. Lunge, Leber, Niere	1 Rind; Emboli aus Blutgefäßen versch. Organe	Histologie
COORE et al., 2004	Pneumatisch	2 pos. von 11 (Meth. 1) (18%) 6 pos. von 11 (Meth. 2) (55%)	Schaf; arterielles Blut	1. Immunzytochemie (S-100 $\beta$ ); 2. Immunochemie (GFAP)
HORLACHER et al., 2000; 2002	munitionsgetrieben	2 Poolproben pos. von 108 Poolproben (1,9%)	Rind; 355 Emboli aus venösen Lungengefäßen	1. Immunochemie (NSE; GFAP) 2. Immunhistochemie (NSE)
HORLACHER et al., 2002	munitionsgetrieben	2 pos. von 3 (66%)	Rind; Emboli aus Lungenarterien	Immunhistochemie (NSE und GFAP)
MARTIN et al., 2001 LÜCKER et al., 2002	munitionsgetrieben, teilweise m. RMZ	2 pos. von 3 (66%)	Rind/Schwein; Emboli aus Lungenarterien und re. Herz	1. Immunochemie (NSE) 2. Histologie
MOJE et al., 2001	munitionsgetrieben	4 pos. von 200 (2%)	Rind; Emboli aus rechtem Herz	Immunochemie (GFAP)

**Tabelle 2.5:** Positiver ZNS-Nachweis bei Einsatz unterschiedlicher Bolzenschussbetäubungsmethoden und teilweiser Anwendung von Rückenmarkszerstörer (RMZ)

ANIL et al. (1999) sowie ANIL und HARBOUR (2001) gingen von bis zu 10 g Gehirngewebe aus, das infolge der Betäubung vom Gewebeverband abgesprengt wird und ins Blut gelangen kann. Generell ist der Umfang einer Verbreitung von ZNS-Emboli vom Schweregrad der durch die Betäubung gesetzten Verletzungen abhängig (SCHMIDT et al., 1999a; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a). Entsprechend wurde in bisherigen Versuchen mit der als stark invasiv eingestuften druckluftinjizierenden Bolzenschussbetäubung Gehirngewebe nachgewiesen (s. **Tab. 2.5**). Bei der weniger invasiven Betäubung mit einem munitionsgetriebenen Bolzenschussapparat hingegen verlief in zahlreichen Studien (zusammengefasst in **Tab. 2.6**) der ZNS-Nachweis negativ. Die pneumatische Bolzenschussbetäubung nimmt bezüglich der Invasivität des gesetzten Hirntraumas eine Zwischenstellung ein und konnte in Untersuchungen sowohl positive als auch negative Ergebnisse bezüglich ZNS-Streuung erbringen.

Quelle	Betäubungsverfahren/ Art des Bolzenschusses	Probenumfang	Untersuchungsmaterial	Methodik des ZNS-Nachweises
TAYLOR, 1996	keine Angabe	10	<i>Rind; Emboli in Lunge</i>	makroskopisch
MUNRO, 1997	- munitionsgetrieben ohne RMZ - munitionsgetrieben mit RMZ	60 140	<i>Rind; Emboli in Lungengefäßen u. Lungengewebe</i>	makroskopisch u. Histologie
SCHMIDT et al., 1999a	- pneumatisch - munitionsgetrieben	450 480	<i>Rind; Emboli aus re. Herzkammer</i>	Histologie
MARTIN et al., 2001 LÜCKER et al., 2002	munitionsgetrieben	412	<i>Rind/Schwein; Emboli aus Lungenarterien und re. Herz</i>	1. Immunochemie (NSE) 2. Histologie
ANIL et al., 1999	- munitionsgetrieben ohne RMZ - nicht penetrierend (stumpfe S-S-B)	15 14	<i>Rind; Blut aus Jugularvenen</i>	1. Histologie 2. Immunzytochemie (S-100 $\beta$ ); 3. Immunochemie (Syntaxin 1-B und Annexin V)
ANIL et al., 2001	- Elektrobetäubung - pneumatisch - munitionsgetrieben	15 venös 5 arteriell 5 arteriell 5 arteriell	<i>Schaf; venöses und arterielles Blut</i>	1. Immunzytochemie (S-100 $\beta$ ); 2. Immunochemie (Syntaxin 1-B)

**Tabelle 2.6:** Negativer ZNS-Nachweis bei Einsatz unterschiedlicher Betäubungsverfahren

Der inzwischen durch die Verordnung EG/999/2001 verbotene Einsatz von Rückenmarkszerstörern (RMZ) verursacht ähnlich der gasinjizierenden Betäubung

massive Gewebszerreissungen (s. 2.3.1). So waren bei ANIL et al. (1999) Proben aus dem Jugularvenenblut nach druckluftinjizierender Betäubung zu 27% ZNS-positiv, bei der Anwendung eines munitionsgetriebenen Bolzenschussapparates mit anschließendem Einsatz eines Rückenmarkszerstörers noch zu 6,3% der Proben. Jedoch auch bei munitionsgetriebenem Bolzenschuss ohne Rückenmarkszerstörer konnte sowohl bei Rindern als auch bei Schafen ZNS nachgewiesen werden. Beim Schaf ergaben neuere Ergebnisse dieser konventionellen Betäubungsmethode sogar 13,3% positive Proben (ANIL et al., 2001). Ergebnisse bezüglich alternativer Betäubungsverfahren liegen bislang nur in geringem Umfang vor. In diesen Studien jedoch verlief der ZNS-Nachweis in einem Einzelversuch mit geringem Probenumfang nach nicht penetrierender (stumpfer Schuss-Schlag-) Betäubung, sowie nach Elektrobetäubung negativ (ANIL et al., 1999; ANIL et al., 2001).

Nach ANIL et al. (1999) durchströmen die abgesprengten Hirngewebsfragmente 10 bis 40 Sekunden nach erfolgter Betäubung die Jugularvene. Die bis wenige Minuten nach der Betäubung anhaltende Herzfähigkeit ermöglicht den Emboli bis zum endgültigen Ausbluten des Schlachttierkörpers (nach ca. 90 s) (s. 2.3.1), ein Passieren der Lunge (COORE et al., 2004). Große ZNS-Emboli, mit einer Länge von mehreren mm bis zu 14 cm (makroskopisch sichtbarer Rückenmarksstrang), wie sie bei GARLAND et al. (1996) und SCHMIDT et al. (1999a) beschrieben sind, werden dabei im Kapillarsystem der Lunge wohl ausgefiltert (ANIL et al., 1999). Infolge der Bolzenschussbetäubung treten jedoch auch mikroskopisch kleine ZNS-Fragmente in das venöse Blut über, welche bis zu einem Durchmesser von ca. 50  $\mu$ m die Lungenkapillaren passieren können und anschließend durch das linke Herz in den arteriellen Kreislauf gelangen (ANIL et al., 1999 und 2002; LOVE et al., 2000). COORE et al. (2004) konnten beim Schaf in Blutproben aus der Aorta bereits nach 60 s ZNS nachweisen (18% und 55% positiv, s. **Tab. 2.5**). Eine weitere Verteilung durch die arterielle Zirkulation wurde von ROTH (2001) untermauert durch Detektion von ZNS-Fragmenten in Gefäßen von Niere und Leber nach druckluftinjizierender Bolzenschussbetäubung. Ein Nachweis von ZNS-Gewebe in der Muskulatur blieb bei dieser Untersuchung negativ, wird von genanntem Autor aber als nahe liegend eingestuft.



Als Modell für die mögliche Disseminierung von abgesprengten ZNS-Fragmenten untersuchten DALY et al. (2002) die Ausbreitung von Markerorganismen nach munitionsgetriebener Bolzenschussbetäubung. Antibiotikaresistente Pseudomonaden wurden entweder über einen kontaminierten Betäubungsbolzen oder unmittelbar nach Betäubung in das Schussloch inokuliert und die Verbreitung der Pseudomonaden über die nachgewiesene Kontamination des Schlachttierkörpers und der Umgebung geschlussfolgert. Ein positiver Pseudomonaden-Nachweis gelang dabei neben Blut und zahlreichen Organen auch in der Muskulatur von Nacken und Flanken. Die Ausbreitung der Markerkeime im Schlachttierkörper erfolgte somit über den arteriellen Blutstrom nach Passieren von Herz und Lunge. Eine Kontamination der Umgebung (33% der Proben positiv, vor allem untersuchtes Schlachtpersonal und -gegenstände) kam durch Aerosolbildung zustande, insbesondere bei den Prozessschritten Betäubung, Entblutung und Schlachtkörperspaltung (DALY et al., 2002). BUNCIC et al. (2002) untersuchten ebenfalls eine durch munitionsgetriebene Bolzenschussbetäubung verursachte interne und externe mikrobielle Kontamination mit Markerkeimen. Proben aus Blut und Leber waren zu 90% kontaminiert, Lunge und Milz zu 80%, die Schlachttieroberfläche zu 50%, und in tiefer Muskulatur gelang ein positiver Keimnachweis in 20% der Proben. Über den kontaminierten Bolzen gelang auch eine teilweise Weiterverbreitung auf nachfolgend betäubte Tiere, welche zu 30% Markerkeim-positive Blutproben, jedoch keine positiven Gewebeproben aufwiesen. Die Autoren wiesen darauf hin, dass die Betäubungspistole wie unter Praxisbedingungen zwischen einzelnen Tieren weder gereinigt noch sterilisiert wurde. Im Vergleich der verschiedenen Studien konnte bei Markerorganismen eine weitläufigere Ausbreitung im Schlachttierkörper und dessen Umgebung nachgewiesen werden als bei der direkten Untersuchung auf ZNS-Gewebe. Ob somit ZNS-Gewebe, und damit verbunden pathologische Prionen, ein geringeres Ausmaß an Disseminierung und Kontamination zeigen, oder die bisherigen Untersuchungen zu deren Nachweis nicht ausreichend sensitiv reagierten, ist unklar (DALY et al., 2002). Pathologische Prionen, die auch im Extrazellulärraum des Gehirns oder im Liquor vorkommen, vermögen nämlich aufgrund ihrer Größe, im Vergleich zu Gewebsfragmenten oder Bakterien, feinste Gefäßbarrieren leichter zu überwinden (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b).

### 2.3.3.2 Bewertung des Risikos für den Verbraucher

Die von verschiedenen Betäubungsmethoden ausgehende Gefahr für den Verbraucher durch mögliche ZNS-Kontamination von Schlachtprodukten ist sehr schwer einschätzbar (TRÖGER, 2002) und wird unterschiedlich bewertet. Die in **Tabelle 2.5** zusammengefassten Studien belegen, dass penetrierende Betäubung zu einer mechanischen Zerstörung von Gehirngewebe und -gefäßen führt, in deren Folge ZNS-Material fragmentiert wird und in Blutgefäße übertritt. Über den bis wenige Minuten nach der Betäubung intakten Blutkreislauf erfolgt venös eine Verschleppung von Hirngewebspartikeln in das rechte Herz und die Lunge. Obwohl das Lungenkapillarsystem eine gewisse Filterfunktion ausübt, kann es darüber hinaus zu einer arteriellen Embolisierung von ZNS-Gewebe in verschiedene Organe kommen (N.N., 2001c; SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a; TRÖGER, 2002). Laut SSC (2002b) gelten bei der Anwendung penetrierender Betäubungsmethoden die Organe Lunge mit Lungenarterie, rechtes Herz und Blut als gefährdet für eine ZNS-Kontamination.

Eine Kontamination beim Schlachten mit als Risikomaterial eingestuftem ZNS führt im Falle einer BSE-Erkrankung zwangsläufig zur Verteilung pathologischer Prionen (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a; COORE et al., 2004). Das Bundesinstitut für Risikobewertung vertritt die Ansicht, dass aus Gründen des vorbeugenden Verbraucherschutzes bei Tieren, die mit penetrierendem Bolzenschuss betäubt werden, der gesamte Kopf sowie Blut, Herz und Lunge zu SRM erklärt werden sollten (N.N., 2001c). Herz und Lunge sind bislang unabhängig von der Betäubungsmethode für den menschlichen Verzehr geeignet und werden in geringem Umfang in Fleischerzeugnissen verarbeitet (GARLAND et al., 1996; N.N., 1998).

Aufgrund der Abhängigkeit einer möglichen ZNS-Kontamination vom Schweregrad der mechanischen Zerstörung durch den verwendeten Schussapparat (s. 2.3.1) hat das SSC (2002b) eine Einstufung unterschiedlicher Betäubungsmethoden bezüglich des BSE-Gefährdungspotentials vorgenommen (**Abb. 2.3**). Eine penetrierende Betäubung mit Bolzenschuss gilt demnach als risikoreich. Von der Elektrobetäubung geht dagegen laut SSC keine Gefahr von ZNS-Kontamination aus.

Penetrierende Betäubung <b>Abnehmendes Risiko</b>	Pneumatische Bolzenschussbetäubung mit Gasinjizierung  Pneumatische Bolzenschussbetäubung ohne Gasinjizierung  Munitionsgetriebene Bolzenschussbetäubung mit Rückenmarkszerstörer  Munitionsgetriebene Bolzenschussbetäubung ohne Rückenmarkzerstörer
Nicht penetrierende Betäubung <b>Sehr geringes oder kein Risiko</b>	Schuss-Schlag-Betäubung Elektrobetäubung

**Abbildung 2.3:** Risikoeinstufung verschiedener Betäubungsmethoden (nach SSC, 2002b)

Die Autorengruppen HORLACHER et al. (2000; 2002), MARTIN et al. (2001) und LÜCKER et al. (2002) gehen insgesamt aufgrund ihrer Untersuchungen (s. **Tab. 2.5** und **2.6**) von keinem nennenswerten Infektionsrisiko für den Verbraucher aus. Die Embolisierung von ZNS-Gewebe infolge Bolzenschussbetäubung in die Lunge sei ein sehr seltenes Ereignis in mikroskopischem Umfang (0,6% positiv) und unterliege durch die Verschleppung einem Verdünnungseffekt. Ferner weist Deutschland nur eine geringe BSE-Inzidenz auf und SRM sowie BSE-positive Tiere werden unschädlich beseitigt (LÜCKER et al., 2002). Auf dieser Basis erfolgte eine Quantifizierung des humanen, oralen Expositionsrisikos auf  $4,4 \times 10^{-4}$  bis  $2,2 \times 10^{-5}$  CoID<sub>50/g</sub> (CoID<sub>50/g</sub> dient als Indikator und ist die orale Infektionsdosis bei Kühen pro Gramm; ZNS besitzt in dieser Beispielrechnung eine infektiöse Dosis von 10 CoID<sub>50/g</sub>). Unter Berücksichtigung des seltenen Verzehrs von Rinderlunge könne ein orales Gefährdungspotential des Verbrauchers durch Aufnahme von in Deutschland gewonnener Rinderlunge zwar nicht ausgeschlossen werden, sei jedoch als sehr gering einzustufen (HORLACHER et al., 2000).

SCHÜTT-ABRAHAM (2002b) widerspricht dieser Einschätzung aufgrund der nicht vorhandenen Kenntnis über die minimale humane Infektionsdosis und einem zu geringen Versuchsumfang. Für eine Risikoabschätzung sei ein fehlender Nachweis kein Beweis für ein tatsächliches Nichtvorhandensein von ZNS-Kontamination. So fordern SCHÜTT-ABRAHAM (2002a) und TRÖGER (2002) eine Alternative zur Bolzenschussbetäubung. Jedoch auch bei der nicht penetrierenden Schuss-Schlag-Betäubung ist eine hämatogene Verschleppung von ZNS-Material nicht

auszuschließen (MOJE, 2003). In einem Betäubungsversuch mit 900 Tieren wiesen etwa die Hälfte der untersuchten Schädel frakturierte Knochenlamellen im Stirnbein oder eine verletzte *Dura mater* auf (TRÖGER, 2002). Wie Befunde bei Menschen mit geschlossenen Schädel-Hirn-Verletzungen belegen (s. 2.3.3), kann auch bereits eine bloße Druckerhöhung eine ZNS-Abspregung verursachen (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b). Untersuchungen aus der Tiermedizin bezüglich einer ZNS-Embolisierung infolge Schuss-Schlag-Betäubung sind noch unveröffentlicht (ENDRES, 2005). Auch durch die als weitere Alternative anzuführende Elektrobetäubung könnte es zu einer vorübergehend höheren Durchlässigkeit der Gehirnkapillaren und infolgedessen zu einem Übertritt von BSE-Infektiosität in das venöse Blut kommen (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002b). LOVE et al. (2000) gehen in diesem Zusammenhang von einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke für neuronale Proteine aus, unabhängig von Gewebsfragmentierung und -embolisierung. Hinweise darauf kommen bislang nur aus humanmedizinischen Studien (s. 2.3.4). Eine Disseminierung über den Blutkreislauf kann jedoch bei der Elektrobetäubung durch den Einsatz der zusätzlichen Herzelektrode wirksam verhindert werden. Die hierdurch unmittelbar im Anschluss an die elektrische Durchströmung des Kopfes ausgelöste Herzdurchströmung bewirkt den hierfür entscheidenden Kreislaufstillstand, der eine Unterbrechung des Blutkreislaufs nach sich zieht. Ein Ausweichen auf die Elektrobetäubung wird auch zur Minimierung der Umgebungs- und Oberflächenkontamination des Schlachtkörpers empfohlen. Insbesondere von der Einschussöffnung des Bolzens geht eine Kontamination aus (FORSTER, 2002). Die Projektgemeinschaft „BSE-Risikoanalyse“ kam zu dem Ergebnis, dass ZNS-Embolisierung zwar kein regelmäßig zu erwartendes Ereignis darstellt, aber nicht auszuschließen ist (N.N., 2003b). Daher würde ein Verbot von penetrierender Bolzenschussbetäubung zu einer erheblichen Minderung des Kontaminationsrisikos, auch im Hinblick auf den Arbeitsschutz, beitragen (JOHANNSEN, 2002).

### 2.3.4 ZNS-Embolisierung in humanmedizinischen Studien

In der Humanmedizin ist das Vorkommen von embolisierten Hirngewebsfragmenten in Lungengefäßen ein sehr seltenes Ereignis und wird bei Personen unterschiedlichen Alters infolge schwerer Schädel-Hirntraumata beobachtet. OPPENHEIMER (1954) beschrieb erstmals bei einem Patienten mit Schädelfraktur in den Gefäßästen der Lunge weitverbreitet ZNS-Emboli (histologisch bestätigt). Die Inzidenzrate bei ZNS-Disseminierung in die Lunge, verursacht durch Hirntrauma, bezifferte MCMILLIAN (1956) auf 2%. Er konnte in 4 von 213 Fällen ZNS-Gewebsfragmente in den Lungenarterien nachweisen. Es handelte sich um durch Stürze oder Autounfälle verursachte Schädelfrakturen mit starken Gehirngewebszerreissungen und Hämorrhagien. TORRY (1987) und HATFIELD und CHALLA (2004) erwähnten bei Hirntrauma Nekrose, Ödeme und Hämatomate in verschiedenen Regionen des Gehirns sowie zerstörte Nervenzellverbände. Diese sind in der Lage, in den venösen Blutstrom des Kopfes einzudringen, die inneren und äußeren Jugularvenen zu passieren und in einer großen Lungenarterie einen totalen Verschluss derselben herbeizuführen. Bei einem Hirntrauma infolge Schussverletzung konnte die Verletzung des *Sinus sigmoideus* (Verbindungsvene zwischen der dorsalen und ventralen Venenblutleiter des Gehirns, s. 2.3.2.1) als Eintrittsort für ZNS-Fragmente in zerebrale Gefäße ausgemacht werden (HATFIELD und CHALLA, 2004).

HAUCK et al. (1990) fanden bei einer ausgedehnten Lungenembolie eines Neugeborenen, ausgelöst durch Geburtstrauma, ZNS-Material auch in Ästen der Koronararterien. Sie verwiesen auf weitere 17 Fälle von ZNS-Embolisierung bei Neugeborenen mit Hirntrauma, deren Entbindung teilweise mit einer Geburtszange durchgeführt wurde. Dabei konnte außer erhöhtem Schädelinnendruck größtenteils kein Befund, wie Blutungen und Gewebszerstörungen im Gehirn, erhoben werden. In ihrer retrospektiven Studie mit 102 Autopsiebefunden beschrieben COLLINS und DAVIS (1994) eine Inzidenz von 10% an ZNS-Embolisierung in die Lunge nach schwerem Schädel-Hirntrauma. Bei sieben der zehn positiven Fälle handelte es sich dabei um ein geschlossenes Schädel-Hirntrauma, bei dem die *Dura mater* (harte Hirnhaut) und größere Venenerweiterungen intakt geblieben waren. Somit muss ZNS-Gewebe auch über kleinste zentralnervöse Venen in die systemische Zirkulation gelangen können.

TANNO et al. (1992) ermittelten bei einem milden Hirntrauma unabhängig von Gefäßzerreißungen eine erhöhte Gefäßpermeabilität für Plasmaproteine. Eine traumatische Einwirkung auf das Gehirn hat durch Störung der Blut-Hirn-Schranke üblicherweise Ödeme vergesellschaftet mit Hämorrhagien zur Folge. Im Rattenmodell konnte jedoch belegt werden, dass die Blut-Hirn-Schranke bereits schwachen Traumata gegenüber sensitiv mit einer abnormen Permeabilität der Blutgefäße für Proteine reagiert. Die Hirnhaut der Tiere wurde nach Kraniotomie einer durch Flüssigkeitsdruck (isotone NaCl) induzierten Erschütterung ausgesetzt. Daraufhin sammelten sich Plasmaproteine extravaskulär in verschiedenen Hirnregionen, besonders ausgeprägt im Hirnstamm, intra- und extrazellulär an. Fehlende klinische (lediglich EEG-Depression) und morphologische Befunde (u. a. keine Blutungen) belegten die Schwäche dieses gesetzten Traumas. Als Ursache der veränderten Gefäßpermeabilität vermuteten die Autoren vasoaktive, Ischämie-induzierte Plasmakomponenten.

SUZUKI et al. (1984) und WESTERGAARD et al. (1978) beschäftigten sich in Tiermodellen ebenfalls mit Permeabilitätsschwankungen der Blut-Hirn-Schranke, nämlich im Zusammenhang mit Bluthochdruck und epileptiformen Anfällen. Bei arteriellem Hochdruck und bei Epilepsie, welche mit Bluthochdruck einhergeht, kommt es jeweils zu einem Verlust der Autoregulation des zerebralen Blutflusses. Dies äußert sich in einem starken Anstieg der Gehirndurchblutung und geht mit einer Störung der Blut-Hirn-Schranke einher. Das Ausmaß der Permeabilitätserhöhung von Gehirngefäßen hängt dabei maßgeblich von der quantitativen Erhöhung des arteriellen Blutdruckes ab (HÄGGENDAL und JOHANSSON, 1972; PETITO et al., 1977; WESTERGAARD et al., 1978). Wurden im Rattenmodell durch hohe Elektroschock-Induktion epileptiforme Anfälle ausgelöst, so kam es parallel infolge einer abrupten Blutdrucksteigerung zu messbaren Permeabilitätsveränderungen der Blut-Hirn-Schranke. Bei einem verzögerten Blutdruckanstieg hingegen scheint die Blut-Hirn-Schranke nicht mit erhöhter Durchlässigkeit zu reagieren. In diesem Fall verbleibt der präventiven Autoregulation des Gehirns ausreichend Zeit, um mit Vasodilatation und Gefäßwandwiderstandsreduktion (beides führt zu sinkendem intraluminalem Druck) das empfindliche Gehirngewebe vor erhöhtem zerebralem Druck zu schützen. (HÄGGENDAL und JOHANSSON, 1972; SUZUKI et al., 1984). Es konnte so vor allem bei medikamentös induzierten epileptiformen Anfällen oder bei alleinigem systemischem Bluthochdruck keine Permeabilitätsveränderung der Gehirngefäße erfasst werden.

So ist akuter Hochdruck der zerebralen Gefäße per se der Mechanismus für eine erhöhte Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke (PETITO et al., 1977; WESTERGAARD et al., 1978; SUZUKI et al., 1984).

Unter physiologischen Bedingungen können eingesetzte proteinogene Markersubstanzen die nur selektiv durchlässige Blut-Hirn-Schranke (aktive Kontrollbarriere zum Schutz der Hirnsubstanz) nicht überwinden. Die pathophysiologische Permeabilität für Proteine im Rahmen hämodynamischer Störungen in Gehirngefäßen scheint durch Pinozytose ermöglicht zu sein. Durch diesen vesikulären Transport können die Proteine das Endothel passieren und somit vom Gehirn in cerebrale Gefäße gelangen (HÄGGENDAL und JOHANSSON, 1972; PETITO et al., 1977; WESTERGAARD et al., 1978).

## 2.4 ZNS-Nachweis

Zur Gewährleistung des Verbraucherschutzes sind zahlreiche Verfahren für den Nachweis von ZNS in der Lebensmittelüberwachung entwickelt worden. Allerdings konnte bislang keines dieser Methoden als Referenzverfahren etabliert werden. Da ZNS bei einem BSE-positiven Tier durch hohe Erregerdichte die Hauptinfektiosität beinhaltet (SSC, 1998 und 1999a), ist die Kontrolle einer ZNS-Kontamination im Rahmen der Fleischgewinnung und -verarbeitung von zentraler Bedeutung (LÜCKER und SCHLOTTERMÜLLER, 2001).

### 2.4.1 ZNS-Nachweisverfahren im Überblick

Die histologische Gewebsuntersuchung mittels ZNS-spezifischer Zellen ist durch neu entwickelte Nachweisverfahren abgelöst worden, deren ZNS-Detektion über ZNS-spezifische **Markersubstanzen** erfolgt. Für den Einsatz dieser Marker-Verfahren sind Spezifität sowie Sensitivität des jeweiligen Markers für ZNS-Material Voraussetzung. Eine Tierartendifferenzierung zwischen ZNS von Rindern und anderen Spezies ist nur wenigen Nachweisverfahren möglich. Die ZNS-Detektion wird neben der Kontrolle bei Oberflächen roher Schlachtprodukte vor allem bei

Fleischerzeugnissen eingesetzt, um unerlaubte ZNS-Beimengungen aufzuspüren. Dies erfordert Markersubstanzen, die eine hohe Stabilität gegenüber Hitze und weiteren technologischen Faktoren besitzen, welchen sie im Rahmen der Herstellung von Fleischerzeugnissen ausgesetzt sind (LÜCKER et al., 2000; HOLTBECKER, 2004).

Mit dem Enzym-Nachweis von **Cholesterin** steht ein Marker zur Verfügung, der sich durch Praktikabilität im Einsatz als Schnellverfahren (als kommerzieller Testkit erhältlich) auszeichnet, jedoch nicht ausschließlich ZNS-spezifisch reagiert. Die Bestimmung von Cholesterin wird daher als Screeningmethode eingesetzt und bei Überschreiten eines auf Anwesenheit von ZNS hinweisenden Grenzwertes mit immunzyto- oder immunhistochemischen Verfahren überprüft. Dies erfolgt im Rahmen des sog. integrierten Nachweisverfahrens nach LÜCKER et al (2000). Als Markersubstanz dient dabei neben dem Sauren Gliafaserprotein (GFAP, s. 2.4.2) vor allem die **Neuronen-spezifische Enolase (NSE)**. Der NSE-Nachweis wird immunzytochemisch über Western Blot als Routinediagnostik eingesetzt (LÜCKER und SCHLOTTERMÜLLER, 2001). Jedoch weist NSE positive Reaktionsergebnisse auf, die mit dem Vergleichsmarker GFAP nicht bestätigt werden konnten und somit als falsch-positiv beurteilt wurden (HORLACHER et al., 2002). Ungeeignet ist der immunzytochemische NSE-Nachweis bei stark erhitzten Fleischerzeugnissen (LÜCKER et al., 2000). In der immunhistologischen Detektion hingegen zeichnet sich NSE durch hohe Hitzestabilität aus. Ebenfalls für den immunhistologischen Nachweis geeignet sind die Marker **Neurofilament**, **Peripherin** (spezifisch für peripheres Nervengewebe) und **Myelin Basic Protein (MBP)** (AUPPERLE et al., 2002). Das MBP, Bestandteil des Myelins, wurde von HOLTBECKER (2004) auch in einem praxistauglichen ELISA-Verfahren als Marker etabliert. Es zeichnet sich durch sensitiven und spezifischen Nachweis von bovinem Nervengewebe aus.

Nach LOVE et al. (2000) und ANIL et al. (2002) hat sich zur ZNS-Detektion in nicht verarbeiteten Schlachtprodukten auch das ZNS-spezifische Markerprotein **Syntaxin 1-B** bewährt. Das parallel eingesetzte Markerprotein **S-100b** wird allerdings nicht ausschließlich im ZNS exprimiert. Die Untersuchung beider Marker erfolgte über ELISA immunzytochemisch in Blutproben. Da positive ELISA-Ergebnisse in der Histologie teilweise nicht bestätigt werden konnten, bescheinigten die Autoren diesem Nachweisverfahren eine hohe Sensitivität. Sie gingen davon aus, dass eine



Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke für neuronale Proteine bereits bei geringen Druckschwankungen, ohne Gewebsfragmentierung und -embolisierung, möglich ist. Da Prionen ähnlich den Proteinen durch eine erhöhte Gefäßdurchlässigkeit in die Zirkulation gelangen könnten, erscheint somit ein Proteinmarker das potentielle Risiko sicherer aufzuzeigen als etwa der histologische Nachweis von ZNS-Fragmenten. Bezüglich weiterer Nachweisverfahren wie z. B. Gaschromatographie-Massenspektrometrie (Marker: Fettsäuren) und PCR (Polymerase Chain Reaction) wird auf die Arbeiten von LÜCKER und SCHLOTTERMÜLLER (2001) sowie HOLTBECKER (2004) verwiesen.

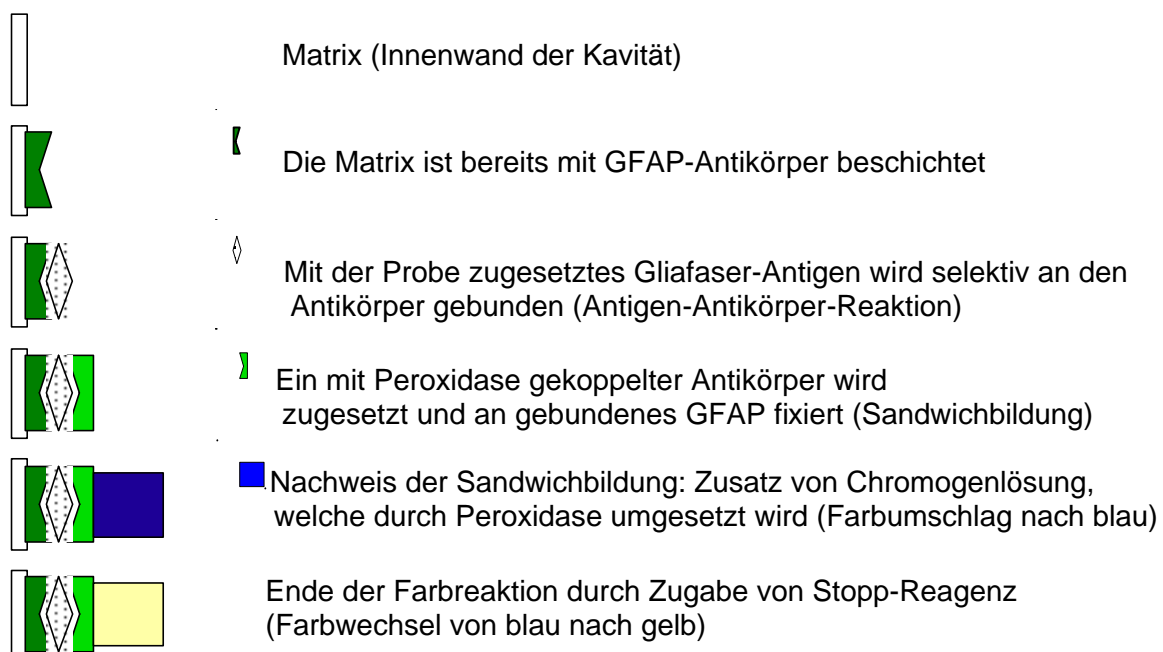
#### **2.4.2 ZNS-Nachweis über Saures Gliafaserprotein (GFAP)**

Das Saure Gliafaserprotein (glial fibrillary acidic protein, GFAP) kommt in neuronenumgebenden Gliazellen (Astrozyten) als intermediäres Filament vor. Es kann als spezifischer Marker für Gehirn und Rückenmark eingesetzt werden (ENG, 1985; SCHMIDT et al., 1999b; HORLACHER et al., 2002). Nur in sehr geringen Spuren ist es auch in peripherem Nervengewebe nachweisbar, so dass erst ab einem PNS-Anteil von 25-50% in den Proben mit einer Kreuzreaktivität gerechnet werden müsse (SCHMIDT et al., 1999b; LÜCKER et al., 2002). Gegenüber Hitzeinfluss verhält sich GFAP stabil, jedoch unterliegt es einem postmortalen Abbau. Nach zwei bis vier Tagen Lagerungsdauer ist eine leichte Reduktion der Reaktivität feststellbar, nach acht Tagen ist diese bereits zu 50% eingeschränkt. Darüber hinaus kann mit GFAP keine Tierartendifferenzierung erfolgen (SCHMIDT et al., 1999b).

Ursprünglich wurde GFAP in der Humanmedizin u. a. zur Diagnostik von Hirntumoren eingesetzt (ENG, 1985). In der Lebensmittelüberwachung wird GFAP als ZNS-Marker neben den Verfahren Western Blot und PCR vor allem über ELISA nachgewiesen. Mit Hilfe der kommerziell erhältlichen RIDASCREEN®-Sandwich-Enzymimmunoassays lässt sich GFAP bei hohem Probendurchsatz sowohl in Fleischerzeugnissen als auch in rohem Fleisch detektieren. Der RIDASCREEN® Risk Material 10/5 zum Nachweis von ZNS in rohen Fleisch- und Wurstwaren sowie auf kontaminierten Oberflächen (N.N., 2002a) wurde in vorliegender Studie als Methodik angewandt. Dieses Verfahren ermöglicht eine semiquantitative Aussage über den ZNS-Gehalt der Probe. Da der GFAP-Gehalt im Rückenmark jedoch um den Faktor 4

bis 5 höher liegt als im Gehirn, ist eine Quantifizierung je nach ZNS-Anteil nur grob abschätzbar (SCHMIDT et al., 1999b; HORLACHER et al., 2002). Mit einer Nachweisgrenze von 0,1% ZNS-Anteil in der Probe zeichnet sich der RIDASCREEN® Risk Material 10/5 durch hohe Sensitivität aus. Nach SCHURR et al. (2003) kann es bei dieser Methode jedoch infolge stark bluthaltiger Proben zu falsch positiven Ergebnissen kommen. So konnte bei Proben ab 10% Plasmaanteil eine positive GFAP-Reaktion gemessen werden, welche somit als falsch-positiver ZNS-Nachweis interpretiert wurde. SCHMIDT et al. (1999b) und COORE et al. (2004) konnten hingegen keine negative Beeinflussung durch Blut feststellen. So hat sich der RIDASCREEN® Risk Material 10/5, begünstigt durch seine automatisierbare Durchführbarkeit, in der Routinediagnostik als geeignet erwiesen (SCHMIDT et al., 1999b; HORLACHER et al., 2002; LÜCKER et al., 2002).

Grundlage des Testprinzips ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay mit GFAP-spezifischen Antikörpern (**Abbildung 2.4**) (N.N., 2002a). Die Testdurchführung ist dem Kapitel 3.2.2 zu entnehmen.



**Abbildung 2.4:** Testprinzip des GFAP-Nachweises (Sandwich-Enzymimmunoassay) im RIDASCREEN® Risk Material 10/5 (nach N.N., 2002c)

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Material

#### 3.1.1 Vorversuch

Ziel der Vorversuchsreihe war es, das Testverfahren RIDASCREEN® Risk Material 10/5 auf die Sicherheit des ZNS-Nachweises hin zu überprüfen, vor allem für dessen Einsatz an den Schlachtmaterialien Herz und Lunge. Besonderes Augenmerk galt dabei zum einen der eigenen Ermittlung von ZNS-Nachweisgrenzen, um die Nachweisgenauigkeit bei sinkender ZNS-Konzentration zu untersuchen. Zum anderen sollte eine falsch-positive Beeinflussung des ZNS-Nachweises durch dem Testmarker Saures Gliafaserprotein (GFAP) verwandte Proteinstrukturen, wie sie vor allem im Blut vorkommen könnten, ausgeschlossen werden. Das Probenmaterial für den Vorversuch wurde unter Berücksichtigung dieser Parameter ausgewählt.

##### 3.1.1.1 Geräte, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial

- Analysenwaage: MC 1; SARTORIUS
- Mixer: Moulinette Electronic; Type 89902; MOULINEX
- Probenröhrchen und Wattetupfer: RIDASCREEN® Probennahme-Zubehör;  
Type Z 0010; R-BIOPHARM
- Schraubverschlussgefäße: 50 ml; Type 216-4150;  
VWR INTERNATIONAL GmbH
- Verschlussstopfen: 11 mm; Type 217-8931; VWR INTERNATIONAL GmbH
- Reagenzglas-Gestell: 5x10 Bohrungen; Type 212-8401;  
VWR INTERNATIONAL GmbH
- Laborflaschen mit Schraubkappe: 100 ml; Type 215-8401;  
SCHOTT GLASWERKE
- Blutentnahmeröhrchen: Kunststoff, 10 ml; STUART
- 0,9%ige Kochsalzlösung (NaCl); VWR INTERNATIONAL GmbH
- Probenpuffer : RIDASCREEN® Risk Material 10/5; Type R 6703; R-BIOPHARM;  
10-fach Konzentrat aufgelöst in 100 ml destilliertem Wasser
- Präzisionspipette: Reference variabel, 200-1000 µl; Type 613-3650;

## EPPENDORF

- Pipettenspitzen: 50-1000 µl; Type 612-5756; VWR INTERNATIONAL GmbH

### 3.1.1.2 Probenmaterial und -aufbereitung

Das **Ausgangsmaterial** wurde an einem bayerischen Rinderschlachtbetrieb entnommen. Die Proben wurden von fünf Rinderschlachtierkörpern unterschiedlicher Rasse, Alters und Geschlechts gewonnen, welche nach erfolgter Fleischuntersuchung als tauglich beurteilt worden waren. Der Transport der Proben erfolgte in Kühlboxen, die weitere Lagerung bis zur Probenaufbereitung und anschließenden Untersuchung fand im Kühlschrank bei +4°C statt. Als Probenbehälter dienten für die Tupferproben Probenröhrchen, gefüllt mit Probenpuffer. Die Gewebeproben bis 10 g wurden in mit 5 ml NaCl gefüllte Kunststoff-Schraubenschlussgefäße verbracht, größere Gewebeproben in Plastiktüten. Das Blut wurde in Blutentnahmeröhrchen ohne Zusatz von Gerinnungshemmern aufgefangen.

Folgende Schlacht- und Schlachtnebenprodukte wurden, teilweise mit Messer und Pinzette, je fünffach als Proben entnommen:

- Muskelfleisch: ca. 50 g, entnommen aus der Schulter;  
zur weiteren Probenaufbereitung in 5 x 5 cm große Stücke  
geschnitten oder püriert mit Mixer
- Lungengewebe: ca. 10 g, entnommen aus distalem, rechten Lungenflügel an  
der Schnittfläche der Fleischuntersuchung,  
zur weiteren Probenbereitung püriert mit Mixer
- Myokard: ca. 5 g, entnommen aus rechter Kammerwand des Herzens,  
zur weiteren Probenbereitung püriert mit Mixer
- Endokard: handflächengroß, aus linker Herzkammer
- Blutgefäß: Aorta, am Herzsprung, Länge 5 cm
- Blut: ca. 10 ml, aufgefangen beim Entblutungsstich
- Rindergehirn: in Würfeln zu je 10 g, zur Aufbewahrung tiefgefroren

Darüber hinaus wurden mittels Tupfer Probenstellen auf einer Fläche von 5 mal 5 cm beprobt und das aufgenommene Material in 1 ml Probenpuffer überführt. Die Probenstellen entsprachen denen der späteren Originalproben des Hauptversuches:

- Vordere Hohlvene (*Vena cava cranialis*)
- Rechter Herzvorhof (*Atrium dextrum*)
- Rechte Herzkammer (*Ventriculus dexter*)
- Lungenarterie (*Truncus pulmonalis*)
- Linker Herzvorhof (*Atrium sinistrum*)
- Linke Herzkammer (*Ventriculus sinister*)
- Aorta (am Aortenursprung, unmittelbar am Austritt aus dem Herz)

Ferner wurde der Tupfer eingetaucht und vollgesogen in:

- Herzkammerinhalt (am nicht vollständig eröffneten Herzen, bestehend aus zum Teil geronnenem und nicht geronnenem Blut)
- Inhalt des luftführenden Lungengewebes (Schaumgemisch aus Sekret und Wasser)

Zur **Aufbereitung der Proben** des Vorversuches, die schließlich im Test (s. 3.2) eingesetzt werden konnten, mussten die einzelnen Schlachtmaterialien folgenden Verarbeitungsschritten unterzogen werden: wurden Gewebeproben püriert, so erfolgte dies durch eine mechanische Zerkleinerung mit einem Mixer. Die Ermittlung des Gewichts von ZNS bzw. Probengewebe wurde mit einer Mikrowaage vorgenommen. Bei der Untersuchung von mit ZNS-Gewebe kontaminiertem Muskelfleisch und weiteren Geweben wurden nach vorheriger Zerkleinerung in dem Mixer die ZNS-Mengen mit einem Wattetupfer auf die beschriebene Gewebsfläche übertragen. Die Kontamination von Gewebsflächen mit Blut erfolgte durch Auftragen mit einer Pipette und anschließendem Verstreichen des Blutes mittels Tupfer.

### 3.1.1.3 Überblick über Proben und Versuchsreihen

Die Vorversuchsreihe wurde in vier aufeinander folgende Versuchsphasen unterteilt. Dabei waren die jeweils ermittelten Ergebnisse für die Modifikation der neu zu untersuchenden Proben ausschlaggebend. Die in den nachfolgenden Tabellen angeführten Probenmaterialien wurden von jedem der 5 beprobten Tiere untersucht. Ab der Vorversuchs-Phase II wurde die Beprobung, soweit nicht anders angegeben,

mit einem Wattetupfer vorgenommen, welcher anschließend in 1 ml Probenpuffer überführt wurde (Vorgehensweise s. 3.1.2.2).

### Phase I:

Probennummer	Probenmaterial
1	Probenpuffer
2	ZNS: Konzentration: 2 g, püriert, in 1 ml Probenpuffer
3	Konzentration: 1 g, püriert, in 1 ml Probenpuffer
4	Blut: Konzentration: 1 ml Blut unverdünnt
5	Konzentration: 0,5 ml Blut + 0,5 ml Probenpuffer
6	Konzentration: 0,25 ml Blut + 0,75 ml Probenpuffer
7	Muskelfleisch: nativ, betupfert, in 1 ml Probenpuffer
8	püriert, betupfert, in 1 ml Probenpuffer

**Tabelle 3.1:** Vorversuchs-Phase I: Untersuchung von ZNS, Blut und Muskelfleisch

Die in **Tabelle 3.1** zusammengefassten Proben dienten einer ersten Handhabung und Validierung des RIDASCREEN® Risk Material 10/5 mit fraglichen Geweben und Lösungen. Ein gezielter Einsatz von Blut und ZNS mit definierten Konzentrationen sowie in Kombination untereinander und mit Muskelfleisch erfolgte dann in den **Tabelle 3.2** dargestellten Untersuchungen.

### Phase II:

Probennummer	Probenmaterial	Konzentration
1	ZNS auf Muskelfleisch	1 g ZNS auf 10 cm <sup>2</sup> Fleisch
2		0,5 g ZNS auf 10 cm <sup>2</sup> Fleisch
3		0,2 g ZNS auf 10 cm <sup>2</sup> Fleisch
4	Blut	Tupfer vollgesogen in: Koagulum
5		Tupfer vollges. in: Serumüberstand
6	Muskelfleisch + Blut	0,5 ml Blut auf 10 cm <sup>2</sup> Fleisch
7	Muskelfleisch + Blut + ZNS	0,5 ml Blut und 0,2 g ZNS auf 10 cm <sup>2</sup> Fleisch

**Tabelle 3.2:** Vorversuchs-Phase II: Modifikation der Konzentration von ZNS, Blut und Muskelfleisch

**Phase III:**

Probennummer	Probenmaterial	Konzentration
1	Lunge, gewaschen u. püriert	10 g
2	Lunge, mit Blut	0,5 ml Blut auf 10 g Lunge
3	Lunge, mit ZNS	0,2 g ZNS auf 10 g Lunge
4	Myokard, gewaschen u. püriert	5 g
5	Myokard, mit Blut	0,5 ml Blut auf 5 g Myokard
6	Myokard, mit ZNS	0,2 g ZNS auf 5 g Myokard
7	Endokard, gewaschen	5 g
8	Endokard, mit Blut	0,5 ml Blut auf 10 cm <sup>2</sup> Endokard
9	Endokard, mit ZNS	0,2 g ZNS auf 10 cm <sup>2</sup> Endokard
10	Blutgefäß, gewaschen	Länge 5 cm
11	Blutgefäß, mit Blut	0,5 ml Blut auf 5 cm Gefäß
12	Blutgefäß, mit ZNS	0,2 g ZNS auf 5 cm Gefäß

**Tabelle 3.3:** Vorversuchs-Phase III: Originaluntersuchungsmaterial, mit ZNS und Blut

Die in **Tabelle 3.3** aufgeführten Proben Lunge, Myokard, Endokard und Blutgefäß wurden in der Vorversuchs-Phase III sowohl nativ als auch kombiniert mit Blut und ZNS getestet. Mit dem Untersuchungsmaterial der Vorversuchs-Phase IV sollte die Eignung der Originalproben des Hauptversuches (**Tabelle 3.4**) überprüft werden.

**Phase IV:**

Probennummer	Probenmaterial
1	Tupfer <i>Vena cava cranialis</i>
2	Tupfer rechter Herzvorhof
3	Tupfer rechte Herzkammer
4	Tupfer <i>Truncus pulmonalis</i>
5	Tupfer linker Herzvorhof
6	Tupfer linke Herzkammer
7	Tupfer Aorta
8	Gewebe Myokard, püriert
9	Gewebe Lunge, püriert
10	Tupfer Blutsuppe Lunge
11	Tupfer Blutsuppe Herzkammer

**Tabelle 3.4:** Vorversuchs-Phase IV: Originalproben vom Schlachthof

### 3.1.2 Hauptversuch

#### 3.1.2.1 Geräte, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial

- Mixer: Moulinette Electronic; Type 89902; MOULINEX
- Dispergiergerät: ULTRA TURRAX<sup>®</sup> T 25; Type 431-2400; JANKE & KUNKEL,  
IKA<sup>®</sup> LABORTECHNIK
- Probenröhrchen (aus Polystrol) und Wattetupfer: RIDASCREEN<sup>®</sup>  
Probennahme-Zubehör; Type Z 0010; R-BIOPHARM
- Verschlussstopfen: 11 mm; Type 217-8931; VWR INTERNATIONAL GmbH
- Schraubverschlussgefäße: 50 ml; Type 216-4150;  
VWR INTERNATIONAL GmbH
- Reagenzglas-Gestell: 5x10 Bohrungen; Type 212-8401;  
VWR INTERNATIONAL GmbH
- Laborflaschen mit Schraubkappe: 100 ml; Type 215-8401;  
SCHOTT GLASWERKE
- Probenpuffer : RIDASCREEN<sup>®</sup> Risk Material 10/5; Type R 6703; R-BIOPHARM;  
10-fach Konzentrat aufgelöst in 100 ml destilliertem Wasser

#### 3.1.2.2 Probenmaterial und -entnahme

Bei der **Auswahl der Schlachthöfe** war die dort praktizierte Betäubungsmethode ausschlaggebend. So wurden an jeweils zwei Rinderschlachtbetrieben mit Elektro- und mit Bolzenschussbetäubung, welche allesamt eine EG-Zulassung besitzen und sich in Bayern befinden, Proben entnommen (**Tabelle 3.5**).

Schlachthof	Betäubungsmethode
A	Elektrobetäubung
B	
C	Bolzenschussbetäubung
D	

**Tabelle 3.5:** Übersicht über Schlachtbetriebe



Die Schlachthöfe A und B sind reine Rinderschlachtbetriebe, in welchen eine vollautomatisierte Elektrobetäubungsanlage der Firma JARVIS, Neuseeland implementiert ist. Die Betäubungsbox ist mit Flotzmaul-, Hals-, und Brustelektrode (Herz) mit jeweils integriertem Bewässerungssystem ausgestattet. Betrieb A betäubt mit einer Stromstärke von 3,2 Ampère. Je nach dem zu überwindenden Widerstand am Tier kann die angelegte Spannung zur Gewährleistung einer konstanten Stromstärke bis max. 550 Volt betragen, liegt jedoch durchschnittlich bei 270 - 330 Volt. Die insgesamt Durchströmungszeit beträgt 18-22 Sekunden. Betrieb B betäubt mit identischen Spannungsverhältnissen und gleicher Stromflussdauer, jedoch liegt die dort bei Kühen eingesetzte Stromstärke bei 2,1 Ampère (nach einer von der zuständigen Behörde erteilten Ausnahmegenehmigung der in § 14 Abs. 2 Nr. 1 TierSchIV (N.N., 1999) geforderten Mindeststromstärke von 2,5 Ampère). In Betrieb B wurde anschließend die Entblutung im Liegen auf einem Förderband vorgenommen, wobei die Liegezeit je nach Schlachtbandgeschwindigkeit bis zu 3 Minuten betragen kann, ehe das Rind an einer Hintergliedmaße angeschlungen und aufgezogen wird. In Schlachthof A wurde eine mit Betrieb B übereinstimmende Entblutung im Liegen auf einem Plattenförderer jedoch erst im Verlauf der Untersuchungen installiert. Somit war eine Hälfte der dort untersuchten Rinder liegend entblutet, während bei der zuvor untersuchten anderen Hälfte an Rindern die Entblutung im Hängen erfolgte. Im Rahmen des Einbaus einer neuen Entblutungsanlage erfolgte auch eine technische Veränderung an der Herzelektrode der Elektrobetäubungsbox: nachdem die Herzelektrode zuvor, und somit bei der ersten Hälfte der untersuchten Tiere, einer starren Schiene entsprach, wurde diese nun dahingehend modifiziert, dass die Elektrode durch einen beweglichen Gelenkkopf optimiert an die Brustbasis herangeführt werden kann. Die Schlachtkapazität beträgt in Betrieb A 72 Tiere pro Stunde, mit durchschnittlich 2500 Rindern in der Woche. In Betrieb B liegt die Schlachtgeschwindigkeit bei 36 Tieren pro Stunde, bei einem durchschnittlichen Umfang von 850 Rindern pro Woche.

Teilweise wurden bei elektrobetäubten Rindern unmittelbar im Anschluss an die elektrische Durchströmung, nachdem die Tiere von der Betäubungsbox auf das Entblutband ausgeworfen worden waren, EKG-Ableitungen gemessen. Dies ermöglichte eine Kontrolle der Herzdurchströmung, welche bei korrekter Ausführung und korrektem Sitz der Elektroden Herzkammerflimmern verursacht.

In den Schlachtbetrieben C und D erfolgt die Betäubung mittels munitionsgetriebenem und penetrierendem Bolzenschuss. Bei Schlachthof C fand ein Apparat der Firma EFA, Type Cash Magnum 9000 S, Kaliber 22, Anwendung. Entsprechend der Herstellerangaben wurden als Zubehör für die Betäubung von Rindern und Kühen rote Kartuschen eingesetzt. Betrieb D betäubte mit einem Bolzenschussapparat von ACCLES & SHELVOKE, Type Magnum 9000 S, Kaliber 22. Es wurden gemäß Herstellerangaben ebenfalls rote Kartuschen eingesetzt. Schlachthof C ist auf Rinderschlachtung spezialisiert, mit einer durchschnittlichen Kapazität von 75-80 Tieren pro Stunde und 2500 in der Woche, während in Betrieb D täglich zeitlich versetzt Schweine und Rinder geschlachtet werden, mit einer wöchentlichen Anzahl von ca. 800 Rindern.

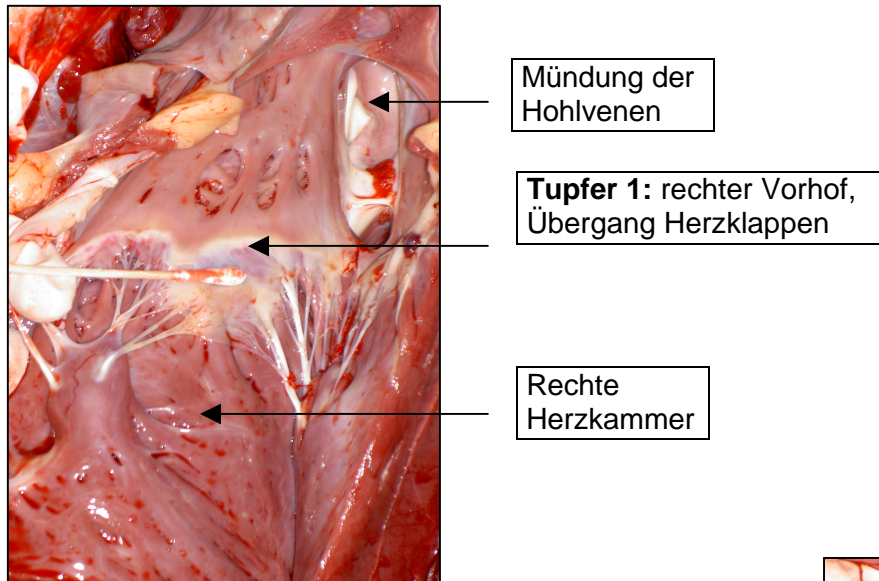
Die vier Schlachtbetriebe wurden zur Probenentnahme abwechselnd und an verschiedenen Wochentagen aufgesucht. Bei den Elektrobetäubungsbetrieben betrug die Anzahl der Probentage 5, die Anzahl der untersuchten Tiere pro Tag schwankte zwischen 7 und 18 Rindern (im Durchschnitt 12-13 Rinder/Tag). Die Bolzenschussbetäubungsbetriebe wurden an 4 Tagen mit 7 bis 23 Tieren pro Tag (im Durchschnitt 15) beprobt.

Als **Tiermaterial** dienten ausschließlich weibliche Rinder bzw. Kühe der Rasse Deutsches Fleckvieh mit einem Schlachalter von über 24 Monaten. Pro Schlachthof wurden je 60 weibliche Rinder beprobt, was insgesamt also eine Tierzahl von 240 Stück ergibt.

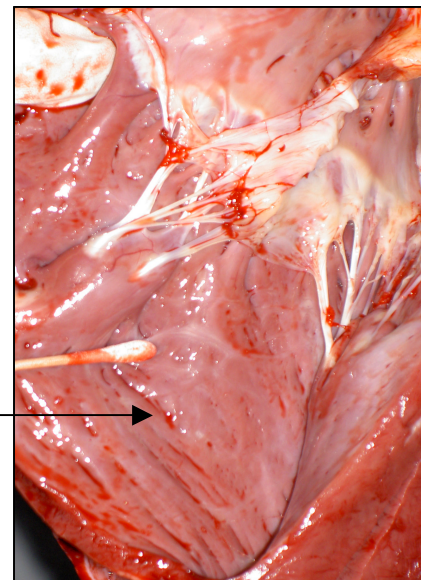
Die **beprobten Organe** waren Herz und Lunge. Pro Tier wurden folgende acht **Probenstellen** untersucht:

Tupferproben:       rechter Herzvorhof; rechte Herzkammer  
                          *Truncus pulmonalis*  
                          linker Herzvorhof; linke Herzkammer  
                          Aorta

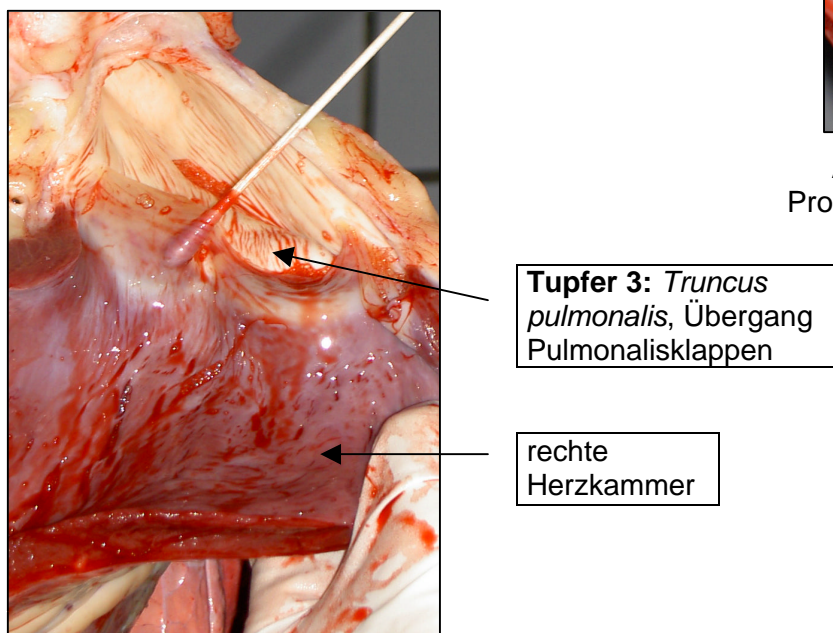
Gewebeproben:     Lungenparenchym; Myokard



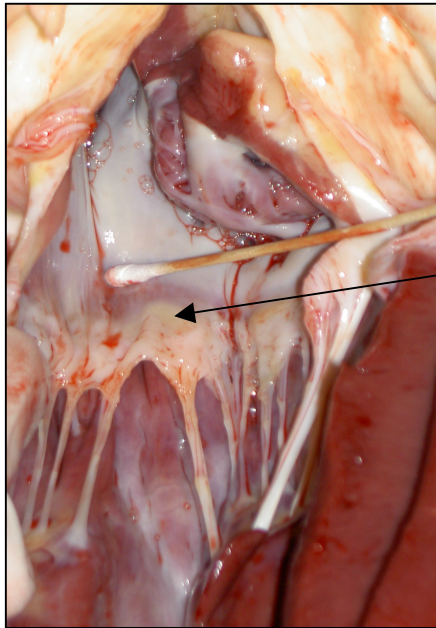
**Abbildung 3.1:** Tupfer 1; Probenstelle rechter Herzvorhof



**Abbildung 3.2:** Tupfer 2; Probenstelle rechte Herzkammer

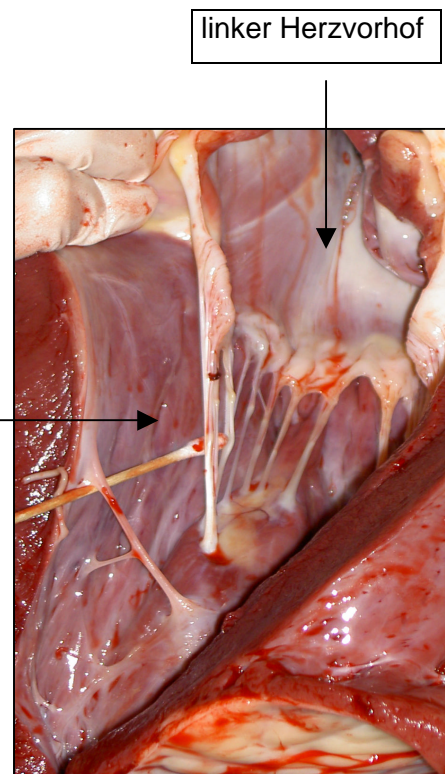


**Abbildung 3.3:** Tupfer 3; Probenstelle *Truncus pulmonalis*



**Tupfer 4:** linker Vorhof, Übergang Herzklappen

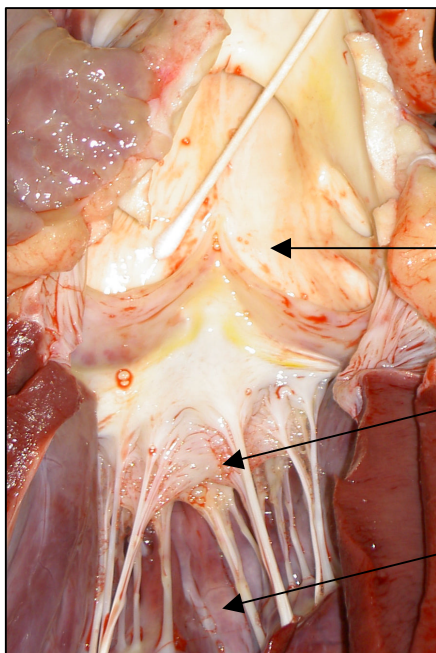
**Abbildung 3.4:** Tupfer 4; Probenstelle linker Herzvorhof



linker Herzvorhof

**Tupfer 5:** linke Herzkammer

**Abbildung 3.5:** Tupfer 5; Probenstelle linke Herzkammer



**Tupfer 6:** Aorta, Übergang Aortenklappen

linke Herzklappe

linke Herzkammer

**Abbildung 3.6:** Tupfer 6; Probenstelle Aorta

Das Geschlinge wurde, nach erfolgter Fleischuntersuchung als tauglich beurteilt und mit den entsprechenden Untersuchungsschnitten versehen, zur Probenentnahme vom Schlachtband genommen und vorher nicht ausgespült bzw. gereinigt. Die Beprobung der aufeinander folgenden, anatomischen Innenstrukturflächen vom rechten Herzvorhof bis zur Aorta (Tupfer 1-6, s. Abb. 3.1 – 3.6) erfolgte jeweils durch einen Wattetupfer, der zuvor mit destilliertem Wasser benetzt worden war. Dabei wurde der Tupfer unter drehenden Bewegungen über die Probenfläche, welche der jeweiligen Anatomie angepasst im Durchschnitt 5 cm mal 5 cm maß, gestrichen. Anschließend wurde die Probe in ein mit 1 ml Probenpuffer gefülltes Röhrchen überführt, indem der Abstrichtupfer nach dem Eintauchen und Ausschütteln im Probenpuffer am Gefäßrand ausgedrückt wurde. Die Entnahme der Gewebeproben an Herz und Lunge (Proben 7 und 8) erfolgte mit einem Fleischermesser und einer Pinzette. Vom Myokard wurden ca. 5 g aus der linken Herzkammerwand, ohne Endokardanteile, entnommen. Das Lungengewebe, im Umfang von ebenfalls ca. 5 g, stammte vom distalen Drittel der rechten Lungenhälfte von der Anschnittsfläche der Fleischuntersuchung. Das Untersuchungsmaterial wurde in mit 2 ml destilliertem Wasser gefüllten Schraubverschlussgefäßen aufbewahrt. Der Transport der Proben erfolgte in Kühlboxen und die weitere Lagerung im Kühlschrank bei +4°C, bevor die Proben am darauf folgenden Tag rund 24 Stunden nach der Probennahme untersucht (s. 3.1.2.3 und 3.2) wurden. Tabelle 3.6 gibt einen Überblick über das Probenmaterial des Hauptversuchs.

Beprobte Stellen je Tier	Schlachthof A	Schlachthof B	Schlachthof C	Schlachthof D	
	Elektrobetäubung		Bolzenschussbetäubung		
Rechter Herzvorhof	je 60 Tupfer				240 beprobte Tiere je Stelle (120 pro Betäubungs- methode)
Rechte Herzkammer					
<i>Truncus pulmonalis</i>					
Linker Herzvorhof					
Linke Herzkammer					
Aorta					
Myokard	je 60 Gewebeproben				
Lungengewebe					
	480 Einzelproben je Schlachthof 960 Einzelproben je Betäubungsmethode				Gesamt: 1920 Einzelproben

**Tabelle 3.6:** Gesamtübersicht über Probenumfang und Probenstellen

### 3.1.2.3 Probenvorbereitung

Für die Untersuchung der Proben (siehe 3.2) mussten die Gewebeproben einer mechanischen Aufbereitung unterzogen werden, um den eventuell vorhandenen ZNS-Marker saures Gliafaserprotein in flüssiges Medium zu überführen. Hierzu wurden die Myokard- und Lungengewebsstücke jeweils mittels eines Dispergiergerätes zerkleinert, bis sie eine breiähnliche Konsistenz hatten. Aus dieser pastösen Gewebsmasse war nun die Beprobung mit einem angefeuchteten Wattetupfer und die anschließende Überführung in ein mit 1 ml Probenpuffer befülltes Teströhrchen durch Ausdrücken des Tupfers, wie oben beschrieben, möglich.

## 3.2 Probenuntersuchung

Die Untersuchung des Probenmaterials erfolgte mit einem Sandwich-Enzymimmunoassay, zur quantitativen Bestimmung von Risikomaterial (ZNS) in und an rohem Schlachtmaterial, über den zellulären ZNS-Marker Saures Gliafaserprotein (GFAP). Der Testkit RIDASCREEN® Risk Material 10/5, R-BIOPHARM enthält alle hierfür nötigen Reagenzien.

### 3.2.1 Geräte, Hilfsmittel und Verbrauchsmaterial

- Präzisionspipette: Reference variabel, 10-100 µl; Type 613-3649; EPPENDORF
- Mehrkanalpipette: Research multi 3114, 30-300 µl; Type 613-3606
- Pipettenspitzen: 2-200 µl; Type 612-5755; VWR INTERNATIONAL GmbH
- Schüttelgerät: Vortex, Genie 2®; Type G-560 E; BENDER und HOBEIN AG
- Mikrotitrations-Plattenschüttler: Titertek®; Type 541307; FLOW LABORATORIES GmbH
- Mikrotiterplattenphotometer: Microplate Reader Model 3550-UV; BIO RAD
- Software für Auswertung der Extinktionswerte: PC Data Analysis Software for the
- Model 3550-UV Microplate Readers, Version 3.1; BIO RAD
- ELISA-Testkit: RIDASCREEN® Risk Material 10/5; R 6703; R-BIOPHARM bestehend aus:

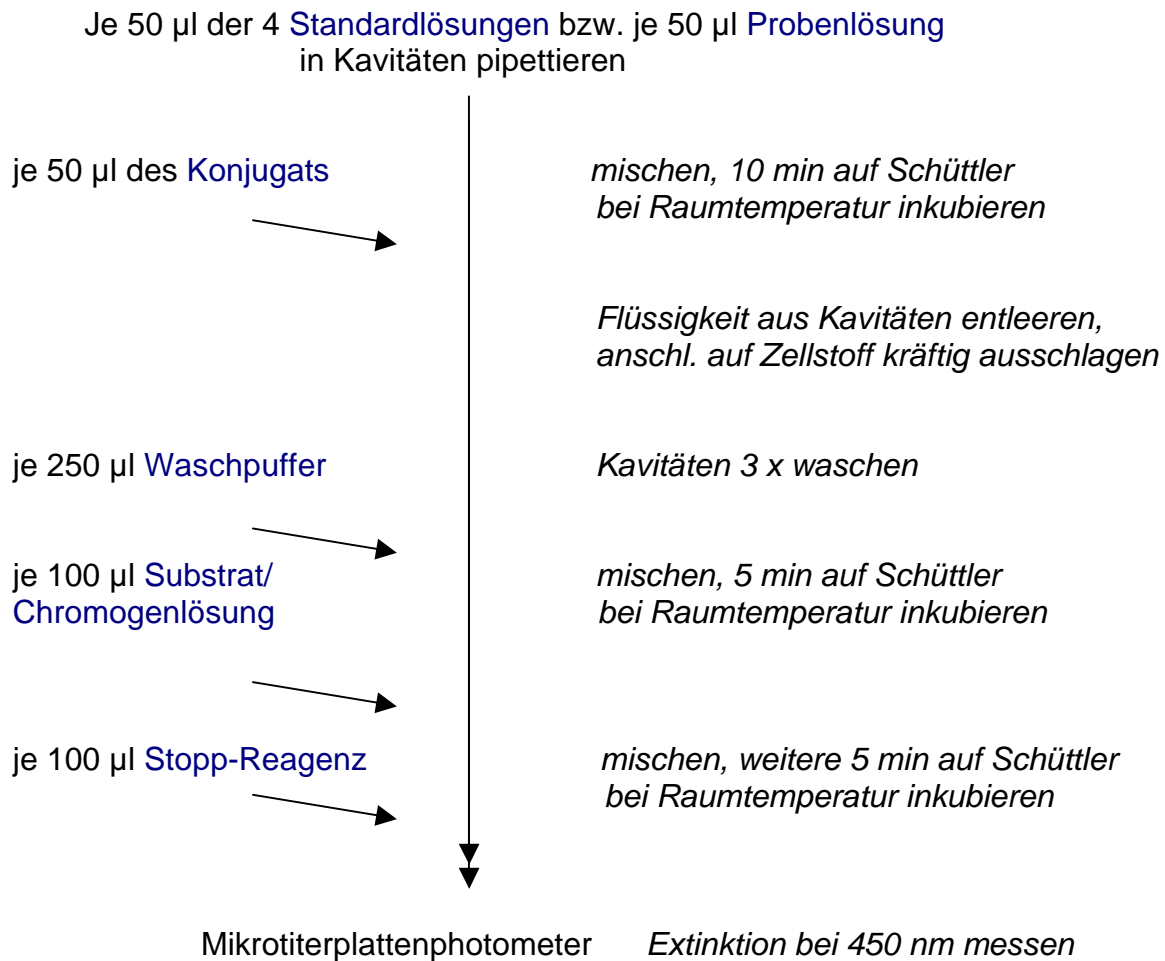
Mikrotiterplatte: 96 Kavitäten mit Antikörpern gegen GFAP beschichtet  
4 Standardlösungen: GFAP in wässriger Lösung; entsprechend 0 %  
(Nullstandard), 0,1 %, 0,2 %, 0,4 % Risikomaterial (ZNS)  
Konjugat: Peroxidase-konjugierter Antikörper gegen GFAP  
Substrat/Chromogen: enthält Tetramethylbenzidin  
Stopp-Reagenz: enthält 1 N Schwefelsäure  
Waschpuffer (Salz): zur Herstellung eines 10 mM Phosphatpuffers, pH 7,4,  
durch Auflösung in 1 l destilliertem Wasser;  
enthält 0,05 % Tween 20

### 3.2.2 Testdurchführung

Die Untersuchung des Probenmaterials erfolgte jeweils einen Tag nach dessen Entnahme. Hierfür mussten alle Proben und Reagenzien auf untere Zimmertemperatur (ca. 18°C) gebracht werden. In den Halterahmen für die Mikrotiterplatten wurden pro Testdurchlauf 3 Streifen à 8 Einzelkavitäten eingesetzt. So konnten pro Ansatz, neben den 4 Standards, von je drei Tieren die 6 Einzeltupfer (18 Proben) bzw. von insgesamt 10 Tieren die je 2 Gewebeproben (20 Proben) untersucht werden. Zum Aufschütteln der Proben und Reagenzien vor dem Einsatz im Test fand ein Schüttelgerät Verwendung.

Beim Ansatz der Proben wurde wie in **Abbildung 3.7** schematisch dargestellt vorgegangen. Nach dem Einpipettieren von je 50 µl der vier Standardlösungen und der Probenlösungen in die Kavitäten erfolgte durch die weitere Zugabe von 50 µl des Konjugats eine Durchmischung und Inkubation für 10 Minuten auf einem Schüttler (Antigen-Antikörper-Reaktion) In einem anschließenden, dreimal durchgeführten Waschgang wurden die Kavitäten mittels Mehrkanalpipette mit je 250 µl Waschpuffer befüllt, daraufhin wieder entleert und auf saugfähigem Zellstoff kräftig ausgeklopft (Auswaschen des nicht gebundenen Konjugats). Nach der Zugabe von je 100 µl Substrat erfolgte, geschützt gegen Lichteinstrahlung durch Abdecken der Mikrotiterplatte, die Durchmischung und Inkubation auf dem Schüttler (Peroxidasereaktion). Nach 5 Minuten wurde diese Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopp-Reagenz beendet (N.N., 2002a).





**Abbildung 3.7:** Testdurchführung zur Untersuchung auf Risikomaterial mittels RIDASCREEN® Risk Material 10/5 (nach N.N., 2002a)

### 3.2.3 Auswertung

Das abschließende Messen der Farbintensität bei 450 nm im Photometer ermittelte die Extinktionswerte der einzelnen Proben in den Kavitäten für den ZNS-spezifischen Marker GFAP. Diese Werte wurden in *Microplate Manager*® von BIO RAD, Version 5.2 übernommen und mittels linearer Regression ausgewertet. Dabei wurde aus den gemessenen Extinktionen und den bekannten Konzentrationen der Standards die Regressionsgleichung ermittelt. Anhand dieser errechneten Ergebnisse der Proben wurde ab einer Konzentration von 0,1% als positiv für ZNS gewertet (N.N., 2002a). In einem weiteren Schritt wurde, wie in **Tabelle 3.7** aufgezeigt, eine Einteilung der



ZNS-positiven Proben nach ihrer Konzentration in drei Kategorien vorgenommen. Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels SPSS, Inc. 2003; Version 12.0.1.

<b>Ermittelter ZNS-Gehalt der Proben</b>	<b>Wertung der Konzentration</b>
0,1% - 0,24%	<i>schwach positiv</i>
0,25% - 0,49%	<i>mittel positiv</i>
ab 0,5%	<i>stark positiv</i>

**Tabelle 3.7:** Einteilung der ZNS-positiven Probenwerte nach Konzentration

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse aus den Vorversuchen

Im Rahmen der Vorversuche wurde die Einsetzbarkeit des Testverfahrens RIDASCREEN® Risk Material 10/5 untersucht, und vor allem auf dessen Nachweisgenauigkeit für ZNS-Material überprüft. Da der Test nur eine semiquantitative Aussage zulässt, wurde nur zwischen einer positiven und negativen Reaktion unterschieden. Ein positives Ergebnis wurde darüber hinaus in drei Konzentrationskategorien unterteilt (s. **Tab. 3.7**). Die Ergebnisse der in Kapitel 3.1.1.1 aufgeführten Vorversuchsphasen I-IV (s. **Tab. 3.1** bis **3.4**), die bei jeweils 5 beprobten Tieren durchgeführt wurden, werden ihrer Bedeutung nach im Folgenden zusammengefasst (vollständige Resultate aller Vorversuchsphasen siehe Anhang).

#### 4.1.1 Kontrolle der Nachweisgenauigkeit

Es konnte, wie in **Tabelle 4.1** aufgeführt, in allen untersuchten ZNS-Verdünnungen ein ZNS-positives Ergebnis erbracht werden. Auch mit einem stark erniedrigten ZNS-Gehalt von nur mehr 0,2 g, aufgebracht auf einer Fläche von 10 cm<sup>2</sup>, wurden noch Konzentrationsergebnisse in *mittel* und *stark* positivem Umfang erbracht.

ZNS-Menge	Ergebnisse Probenansatz 1-5 (Konzentration)
2 g; in Probenpuffer (1 ml)	positiv (alle <i>stark positiv</i> )
1 g; in Probenpuffer (1 ml)	positiv (alle <i>stark positiv</i> )
1 g; auf Muskelfleisch (10 cm <sup>2</sup> )	positiv (alle <i>stark positiv</i> )
0,5 g; auf Muskelfleisch (10 cm <sup>2</sup> )	positiv (alle <i>stark positiv</i> )
0,2 g; auf Muskelfleisch (10 cm <sup>2</sup> )	positiv (2 <i>mittel positiv</i> ; 3 <i>stark positiv</i> )

**Tabelle 4.1:** Untersuchung verschiedener ZNS-Verdünnungsreihen unter Berücksichtigung der ermittelten Konzentrationen

Bei einer weiteren Verteilung der ZNS-Menge von 0,2 g auf verschiedenen Geweben, welche den Originalprobenmaterialien des Hauptversuches entsprachen, konnten ebenfalls in allen Proben positive Nachweise von *mittel* oder *stark positiver* Konzentration (**Tabelle 4.2**) festgestellt werden.

ZNS-Menge	Ergebnisse Probenansatz 1-5 (Konzentration)
0,2 g auf Lunge püriert (10 g)	positiv (4 <i>mittel positiv</i> , 1 <i>stark positiv</i> )
0,2 g auf Myokard püriert (5 g)	positiv (alle <i>stark positiv</i> )
0,2 g auf Endokard (10 cm <sup>2</sup> )	positiv (1 <i>mittel positiv</i> , 4 <i>stark positiv</i> )
0,2 g auf Blutgefäß (5 cm)	positiv (alle <i>stark positiv</i> )

**Tabelle 4.2:** Untersuchung einer definierten ZNS-Menge mit Originaluntersuchungsmaterial des Hauptversuches

#### 4.1.2 Kontrolle der Spezifität

Bei der Kontrolle der Spezifität des Nachweisverfahrens wurde Untersuchungsmaterial ohne Zusatz von ZNS untersucht, um möglicherweise falsch positive Beeinflussungen des Testergebnisses durch dem GFAP verwandte Proteinstrukturen festzustellen.

##### 4.1.2.1 Originalprobenmaterial des Hauptversuches

Es wurden folgende Proben betupfert und untersucht:

*Muskelfleisch, Lungengewebe, Myokard* (jeweils püriert), *Endokard, Blutgefäßinnenwand*  
 Tupferstellen 1-6 des Hauptversuches: *rechter Herzvorhof und –kammer, Truncus pulmonalis, linker Herzvorhof und –kammer, Aorta*  
 Pürierte Gewebeproben des Hauptversuches: *Lungenparenchym und Myokard*

Alle Proben erbrachten in allen 5 Ansätzen ein negatives Ergebnis, und somit keinen (falsch-positiven) ZNS-Nachweis.

#### 4.1.2.2 Blut

Eine positive Reaktion, und somit ein (falsch-) positiver ZNS-Nachweis wurde bei der Untersuchung aller 5 Proben Vollblut festgestellt. Die Konzentration wurde jeweils als *schwach positiv* ermittelt. Eine Verdünnung des Blutes (1:1 mit Pufferlösung) erbrachte nur noch in 1 von 5 Proben (entspricht 20%) ein *schwach* positives Ergebnis (**Tabelle 4.3**).

Vollblut, Verdünnungsstufen:	Ergebnisse Probenansatz 1-5
unverdünnt (1 ml)	alle positiv ( <i>schwach positiv</i> )
Verdünnung 1:1 m. Puffer (je 0,5 ml)	1 positiv ( <i>schwach positiv</i> ); 4 negativ
Verdünnung 1:3 m. Puffer (0,25 + 0,75 ml)	alle negativ

**Tabelle 4.3:** Untersuchung von Blut-Verdünnungsreihen unter Berücksichtigung der ermittelten Konzentrationen

Bei allen weiteren, in **Tabelle 4.4** zusammengefassten Probenreihen mit Blut, die dem Umfang einer Kontamination der Proben des Originalversuchs mit Blut entsprechen, zeigte das Nachweisverfahren keine positive Reaktion und somit keine verfälschte Spezifität.

Tupfer vollgesogen in:	koaguliertem Plasma	Ergebnisse in allen 5 Probenansätzen <b>negativ</b>
	Serum	
	Blutsuppe Lunge	
	Blutsuppe Herzkammer	
0,5 ml Blut verteilt auf:	Muskelfleisch (10 cm <sup>2</sup> )	Ergebnisse in allen 5 Probenansätzen <b>negativ</b>
	Lunge püriert (10 g)	
	Myokard püriert (5 g)	
	Endokard (10 cm <sup>2</sup> )	
	Gefäß (5 cm Länge)	

**Tabelle 4.4:** Untersuchung eines möglichen Einflusses von Blut-Zugaben auf Originaluntersuchungsmaterial des Hauptversuches

### **4.1.2.3 Blut und ZNS**

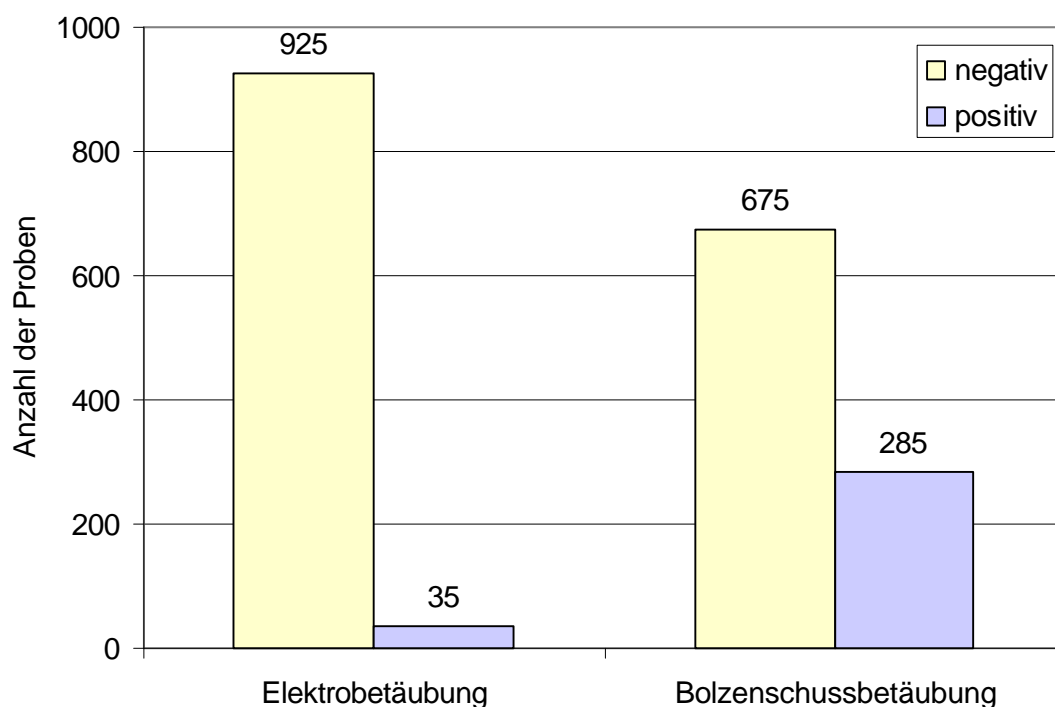
Bei den aufgeführten Versuchsreihen wurde jeweils auch eine wechselseitige Beeinflussung von ZNS und Blut überprüft. Die Kombination definierter Blut- und ZNS-Gehalte bewirkte jedoch keine veränderten ZNS-Nachweisergebnisse im Vergleich zu ZNS-Proben ohne Blutkontamination. Auch die ermittelte ZNS-Konzentration wurde durch Blutzusatz weder erhöht noch erniedrigt.

## 4.2 Ergebnisse aus dem Hauptversuch

### 4.2.1 Auswertung der Tupper- und Gewebeprobeinstellen

#### 4.2.1.1 Betrachtung der Einzelprobenstellen im Überblick

Die insgesamt 1920 Einzelprobenstellen der vier Schlachtbetriebe wurden mit RIDA-SCREEN®-Risk Material 10/5 untersucht. Davon zeigten 320 Proben ein Extinktionsergebnis von 0,1% und höher (Werte ab 0,1% und höher werden als positiv gewertet). Somit lag ein ZNS-positives Ergebnis bei 16,7% aller untersuchten Tupper- und Gewebeprobeinstellen vor. Im gegenüberstellenden Vergleich der je 960 Einzelproben der Methoden Elektro- und Bolzenschussbetäubung zeigt sich allerdings eine deutlich unterschiedliche Verteilung der positiven Ergebnisse (**Abb. 4.1**).



**Abbildung 4.1:** Vergleich der Einzelprobenstellenergebnisse nach den Methoden Elektro- und Bolzenschussbetäubung (n=960 Proben/Betäubungsmethode)

Mit 35 positiven und 925 negativen Ergebnissen konnte in 3,6% der Proben von elektrobetäubten Rindern ZNS nachgewiesen werden. Die Proben der Tiere mit Bolzenschussbetäubung waren positiv in 285 und negativ in 675 Fällen. Dies ergibt einen Anteil der positiven Proben von 29,7% innerhalb dieser Betäubungsmethode.

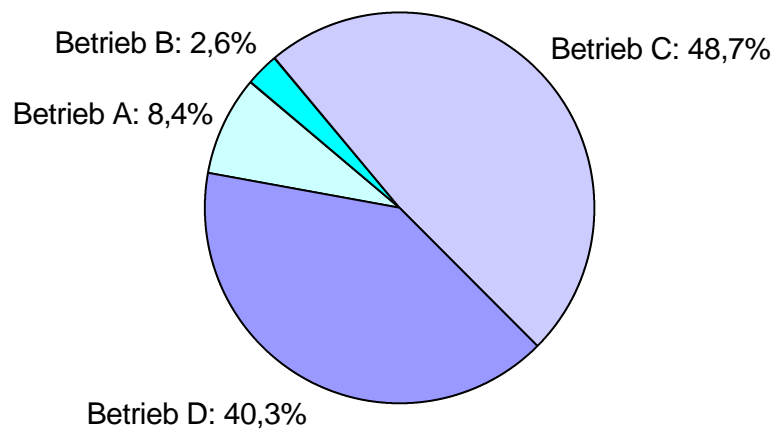
Somit erbrachte die ZNS-Detektion in Bolzenschussbetäubungsbetrieben ein um 8,1-mal deutlich höheres positives Resultat als in Elektrobetäubungsbetrieben. **Tabelle 4.5** ermöglicht den Vergleich der Ergebnisse zwischen den vier einzelnen Schlachtbetrieben.

Betäubungsmethode	Schlachtbetrieb	Anzahl Probenstellen		Anteil der positiven Proben
		negativ	positiv	
Elektrobetäubung	A	453	27	5,6%
	B	472	8	1,7%
Bolzenbetäubung	C	324	156	32,5%
	D	351	129	26,9%

**Tabelle 4.5:** Vergleich der Einzelprobenstellen nach Betrieb (n=480 Proben/Betrieb)

Der Anteil der positiven Probenergebnisse variierte auch innerhalb der Betriebe mit identischer Betäubungsmethode. So hatte Schlachtbetrieb A mit 27 (5,6%) positiven Proben ein um den Faktor 3,4 höheres positives Ergebnis als Betrieb B mit nur 8 (1,7%) positiven Proben. In Betrieb B wurde im Vergleich aller 4 Betriebe in geringstem Umfang ZNS nachgewiesen. In Betrieb D war mit 129 (26,9%) positiven Befunden mehr als jede vierte Probe positiv. Das Ergebnis mit dem häufigsten positiven Untersuchungsmaterial stammte mit 156 Fällen (32,5%) von Betrieb C. Somit ist das positive Resultat des Betriebes C um den Faktor 1,2 höher als im betäubungsgleichen Schlachthof D.

Die prozentuale Verteilung der in **Tabelle 4.5** aufgeführten positiven Probenergebnisse auf die Betäubungsmethoden und die Betriebe ist in **Abbildung 4.2** im Überblick dargestellt. Dabei entfielen 89% von den insgesamt 320 positiven Einzelproben auf mit Bolzenschuss betäubte Tiere (Betriebe C und D), und nur 11% auf elektrobetäubte Tiere (Betriebe A und B). Betrieb C (Bolzenschussbetäubung) hatte mit 48,7% den größten Anteil an den gesamtpositiven Einzelstellen, während Betrieb B (Elektrobetäubung) mit 2,6% den geringsten Anteil aufwies.



**Abbildung 4.2:** Verteilung der positiven Einzelstellen (n=320) anteilig nach Betäubungsmethoden bzw. Schlachtbetrieben

#### 4.2.1.2 Betrachtung der Tupferprobenstellen im Einzelnen

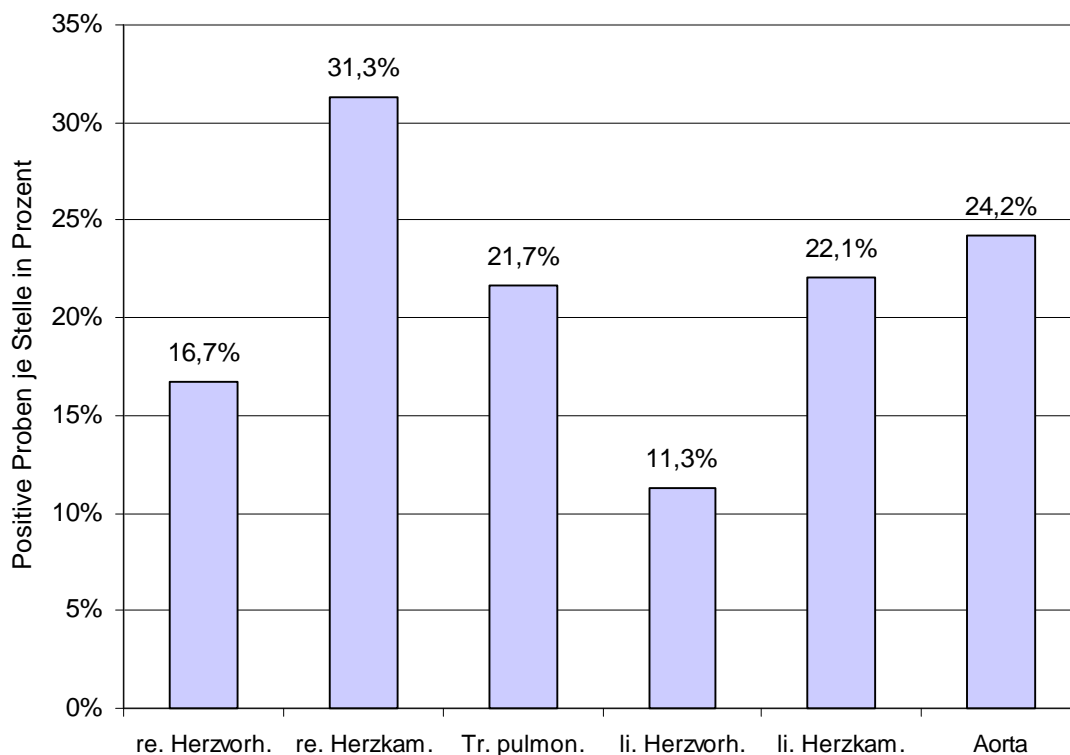
Im Folgenden werden von den gesamten Probenergebnissen die sechs mit einem Wattetupfer beprobten Innenflächen des Herzens bzw. der dort entspringenden Gefäßwände im Einzelnen betrachtet. **Tabelle 4.6** gibt einen Überblick zu den Untersuchungsergebnissen der jeweiligen Tupferprobenstellen. Die Beprobung der einzelnen Herzstrukturen wurde bei jeweils 240 Rindern durchgeführt.

Probenstelle Tupfer (T) 1- 6	Anzahl der Probenstellen		Anteil der positiven Proben
	negativ	positiv	
rechter Herzvorhof (T 1)	200	40	16,7%
rechte Herzkammer (T 2)	165	75	31,3%
Truncus pulmonalis (T 3)	188	52	21,7%
linker Herzvorhof (T 4)	213	27	11,3%
linke Herzkammer (T 5)	187	53	22,1%
Aorta (T 6)	182	58	24,2%
Gesamt	1135	305	21,2%

**Tabelle 4.6:** Vergleich der einzelnen Tupferprobenstellen (n=240 Proben/Tupferstelle)

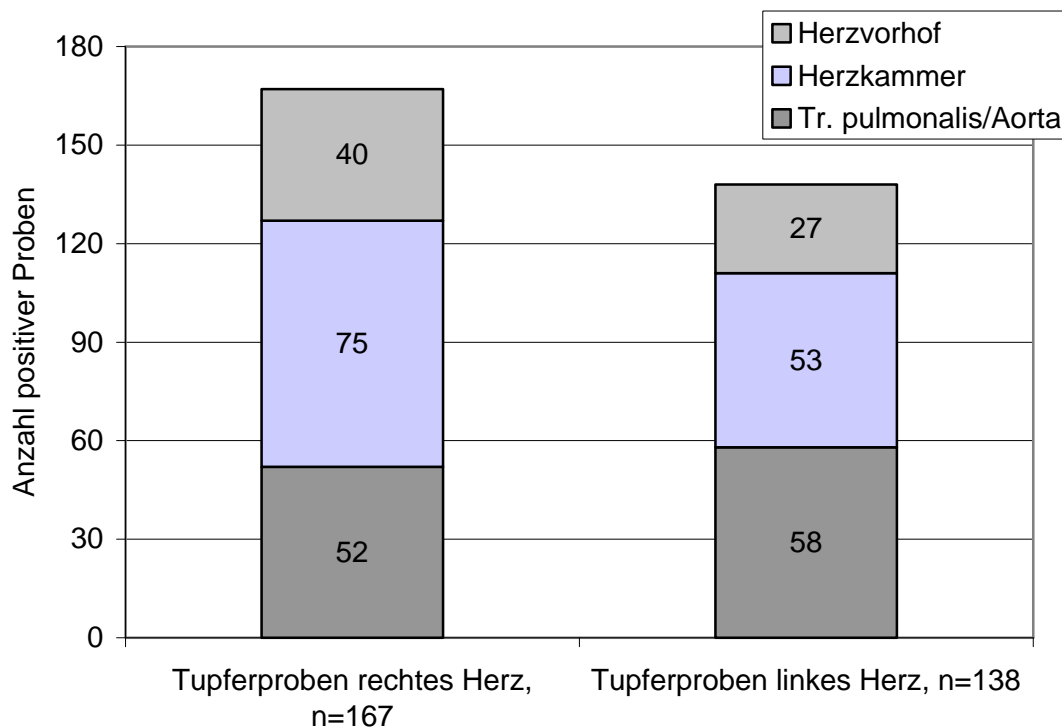


In allen sechs aufeinander folgenden Tupferprobenstellen des Herzens konnte ZNS nachgewiesen werden, jedoch mit unterschiedlicher Häufigkeit. So hatte die rechte Herzkammer mit 31,3% (75) positiven Tupfern mit Abstand am häufigsten ein positives Ergebnis. Die Mündungsstelle der Aorta, welche vom Blut unter den beprobten Tupferstellen zuletzt durchströmt wird, zeigte mit 24,2% (58) den zweithöchsten Anteil positiver Tupfer auf. Auffallend war ferner, dass den beiden strukturähnlichen Herzvorhöfen (rechts und links) die Probenstellen mit den zwei geringsten positiven Tupferanzahlen zukamen. Dabei wurde im linken Vorhof mit 11,3% (27) positiven Proben im Vergleich zu den anderen Stellen am seltensten ZNS nachgewiesen. Somit bewegte sich die positive ZNS-Detektion in den einzelnen Herzstrukturen zwischen 11,3% (linker Herzvorhof) und 31,3% (rechte Herzkammer) der Tupferproben. In **Abbildung 4.3** sind diese Werte graphisch dargestellt.



**Abbildung 4.3:** Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Tupferstellen (nach den jeweiligen Probenstellenergebnissen)

Fasst man nur die positiven Einzelprobenstellen nach ihrer funktionellen Einheit bezüglich der Blutzirkulation zusammen, so kann man die betupferten Strukturen vor dem Lungenkreislauf (Tupferprobenstellen des rechten Herzens) denen nach dem Lungenkreislauf (Tupfer des linken Herzens) gegenüberstellen (**Abb. 4.4**). So konnte in den drei rechten Herzstrukturen insgesamt an 167 Tupfern ein positiver ZNS-Nachweis erbracht werden. In den zusammengefassten linken Herzstrukturen fiel das Ergebnis mit 138 positiven Tupfern lediglich um den Faktor 1,2 niedriger aus. Prozentual verteilten sich die positiven Proben somit zu 54,8% auf rechte und zu 45,2% auf linke Herzstrukturen.



**Abbildung 4.4:** Verteilung positiver Tupfer nach Probenstellen vor (rechte Herzstrukturen) und nach Lungenkreislauf (linke Herzstrukturen)

#### 4.2.1.2.1 Vergleich der Betäubungsmethoden

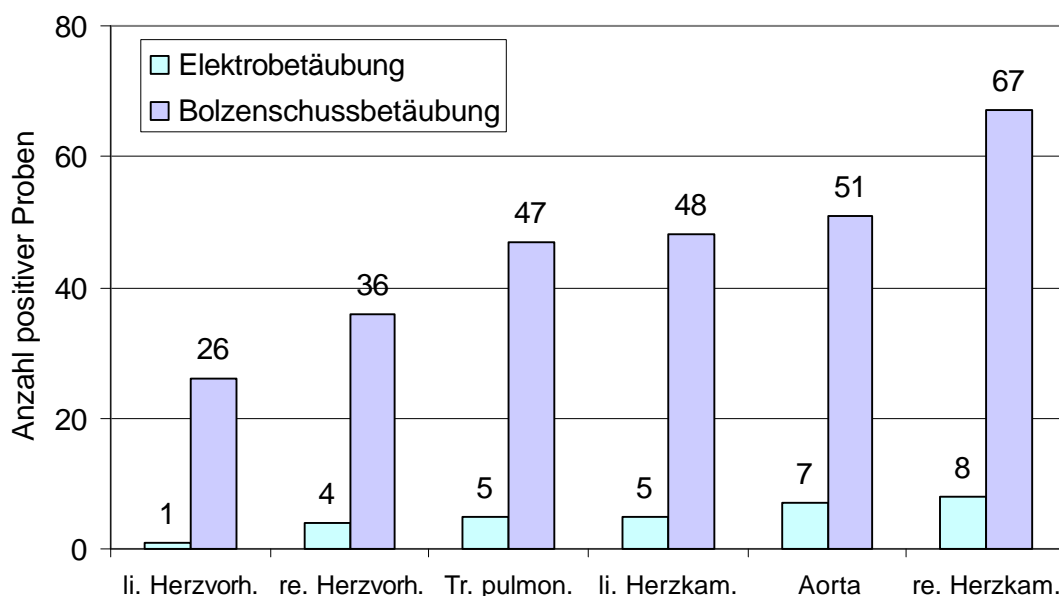
Eine weitere Analyse der Einzeltupferergebnisse erfolgte in Abhängigkeit der angewandten Betäubungsmethode. Es kann analog der Auswertung der gesamten Einzelstellen (**Abb. 4.1**) auch bei Betrachtung der einzelnen Tupferstellen eine kontinuierliche Diskrepanz der positiven Ergebnisse zwischen elektrobetäubten und bolzenschussbetäubten Tieren ausgemacht werden. **Tabelle 4.7** zeigt eine Auflistung der negativen und positiven Tupferergebnisse nach Betäubungsmethode. Jede Tupferstelle wurde in beiden Betäubungsmethoden bei je 120 Tieren untersucht.

Probenstelle Tupfer (T) 1-6	Elektrobetäubung			Bolzenschussbetäubung		
	Anzahl negative	Anzahl positive	Anteil positive	Anzahl negative	Anzahl positive	Anteil positive
re. Herz- vorhof (T 1)	116	4	<b>3,3%</b>	84	36	<b>30,0%</b>
rechte Herz- kammer (T 2)	112	8	<b>6,7%</b>	53	67	<b>55,8%</b>
Tr. pulmo- nalis (T 3)	115	5	<b>4,2%</b>	73	47	<b>39,2%</b>
linker Herz- vorhof (T 4)	119	1	<b>0,8%</b>	94	26	<b>21,7%</b>
linke Herz- kammer (T 5)	115	5	<b>4,2%</b>	72	48	<b>40,0%</b>
Aorta (T 6)	113	7	<b>5,8%</b>	69	51	<b>42,5%</b>
Gesamt	690	30	<b>4,2%</b>	445	275	<b>38,2%</b>

**Tabelle 4.7:** Vergleich der einzelnen Tupferprobenstellenergebnisse nach Betäubungsmethodik

Der positive Anteil der Tupferprobenstellen von Betrieben mit Bolzenschussbetäubung schwankte zwischen 21,7% und 55,8%. Das höchste positive Ergebnis mit 55,8% fiel der Probenstelle rechte Herzkammer zu, bei welcher somit mehr als jeder zweite Tupfer ein ZNS-positives Ergebnis erbrachte. Bei der Probenstelle mit dem geringsten ZNS-Nachweis (linker Herzvorhof: 21,7%) zeigte sich mehr als jede fünfte Probe noch positiv. Dem gegenüber wurden in Tupferstellen von Betrieben mit Elektrobetäubung in deutlich geringerem Umfang Proben positiv getestet. Dennoch konnte auch bei dieser Methode an jeder der 6 Tupferstellen ZNS nachgewiesen werden. Beim linken Herzvorhof reagierte jedoch nur eine

Tupferprobe positiv (0,8%). Die höchste ZNS-Detektion erfolgte mit 6,7% Positiven wiederum an der Probenstelle rechte Herzkammer. Im Folgenden werden die Probenstellen nach der Anzahl positiver Tupferergebnisse (**Tab. 4.7**) im Betäubungsmethodenvergleich gestaffelt.

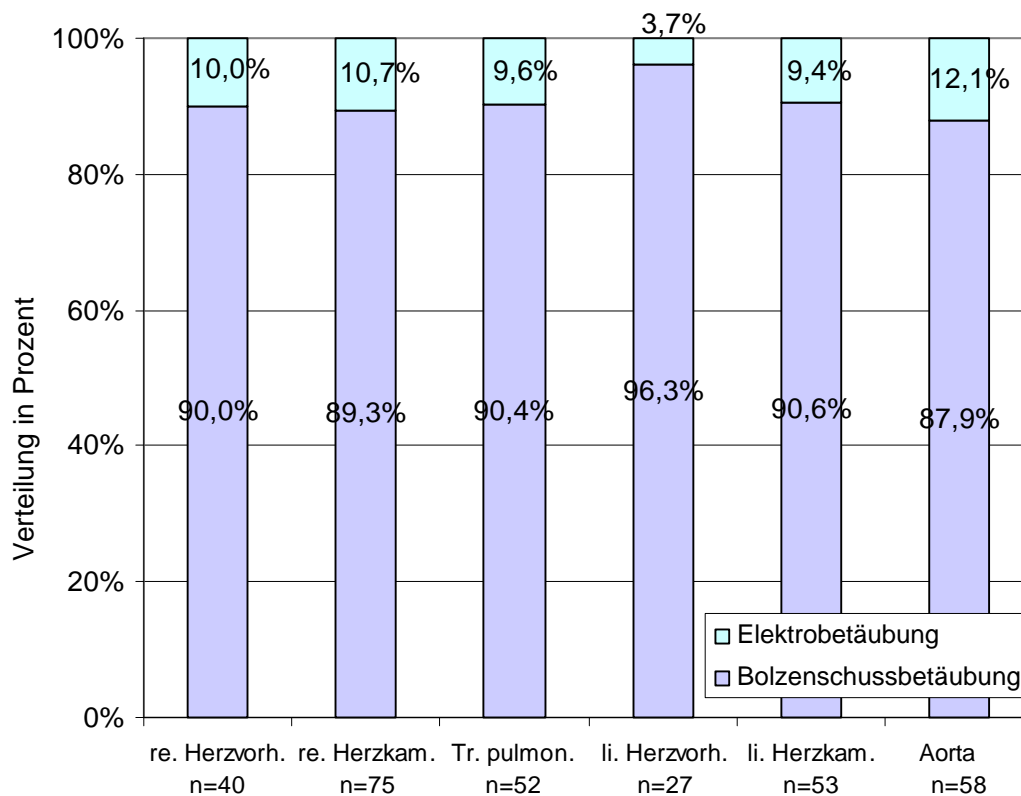


**Abbildung 4.5:** Staffelung der Tupferprobenstellen nach der Anzahl positiver Ergebnisse, vergleichend nach Betäubungsmethode

In beiden Betäubungsmethoden erbrachten die strukturverwandten Vorhöfe (des rechten und linken Herzens) den geringsten ZNS-Nachweis. Die rechte Herzkammer war sowohl bei elektro- als auch bei bolzenschussbetäubten Rindern die Probenstelle mit dem häufigsten positiven Ergebnis, gefolgt von der Tupferstelle Aorta. Der Truncus pulmonalis (rechtes Herz) und die linke Herzkammer hatten in beiden Betäubungsmethoden (fast) identische Mengen positiver Proben. Diese zwei Probenstellen reihten sich mit ihrer Anzahl positiver Tupfer im Mittelfeld der sechs untersuchten Herzstrukturen ein.

In **Abbildung 4.6** werden wiederum nur die positiven Ergebnisse der sechs Tupferstellen betrachtet und nach ihrer Verteilung anteilig der Betäubungsmethode einander gegenüber gestellt. In Elektrobetäubungsbetrieben wurden im linken Herzvorhof nur 3,7% der gesamten positiven Ergebnisse dieser Probenstelle erfasst,

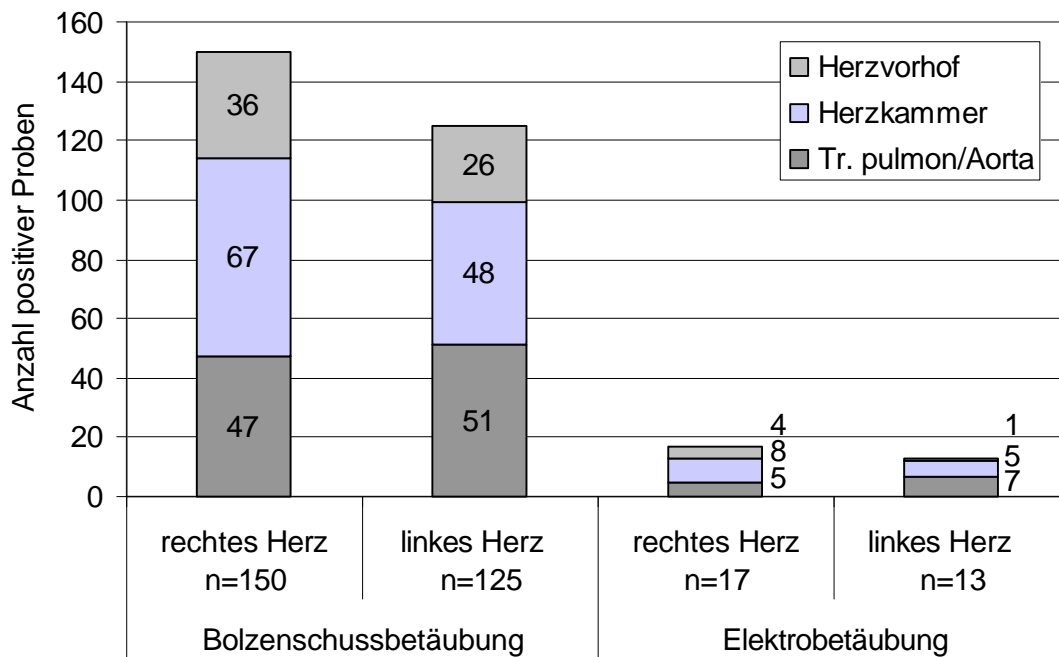
die restlichen 96,3% stammten von Proben des linken Herzvorhofes der Bolzenschussbetriebe. Die Aorta war mit 12,1% die Probenstelle mit dem höchsten anteiligen Positivergebnis auf Seiten der Elektrobetäubung. Im Durchschnitt wurden 90,7% der positiven Proben in den betupften Herzstrukturen von bolzenschussbetäubten Rindern nachgewiesen. Nur weniger als jedes zehnte positive Tupferergebnis (9,3%) wurde bei elektrobetäubten Tieren erbracht.



**Abbildung 4.6:** Verteilung der positiven Tupferprobenstellenergebnisse anteilig nach Betäubungsmethodik

Im Folgenden sollen in Abhängigkeit der Betäubungsmethode erneut die einzelnen Tupferstellen bezüglich ihrer funktionellen Einheit zusammengefasst in Proben vor und nach dem Lungenkreislauf betrachtet werden (**Abbildung 4.7**). Das Verhältnis positiver Tupferproben vor dem Lungenkreislauf zu der Anzahl positiver Tupferergebnisse nach dem Lungenkreislauf unterscheidet sich dabei zwischen Bolzenschussbetäubungsbetrieben und Elektrobetäubungsbetrieben nur unwesentlich. Bei bolzenschussbetäubten Rindern ist eine Differenz der zusammengefassten 150 positiven Proben der drei Herzstrukturen vor der Lunge zu

den 125 positiven Proben nach der Lunge um den Faktor 1,20 messbar. Die Elektrobetäubung wies mit dem Faktor 1,23 (16 zu 13 positive Tupperproben) sogar einen minimal höheren Wert auf als die Bolzenschussbetäubung.



**Abbildung 4.7:** Verteilung positiver Tupper nach Probenstellen vor (rechte Herzstrukturen) und nach Lungenkreislauf (linke Herzstrukturen), vergleichend nach Betäubungsmethode

#### 4.2.1.2.2 Vergleich der Betriebe

Die Ergebnisse der einzelnen Herztupper variierten, wie auch schon bei den Einzelprobenstellen insgesamt aufgezeigt (**Tab. 4.5**), zwischen den zwei Betrieben einer jeweiligen Betäubungsmethode.

Probenstelle (Tupfer 1-6) n=60	Betrieb C		Betrieb D	
	Anzahl positive	Anteil positive	Anzahl positive	Anteil positive
rechter Herzvorhof	20	33,3%	16	26,7%
rechte Herzkammer	35	58,3%	32	53,3%
Truncus pulmonalis	29	48,3%	18	30,0%
linker Herzvorhof	13	21,7%	13	21,7%
Linke Herzkammer	26	43,3%	22	36,7%
Aorta	28	46,7%	23	38,3%
Gesamt	151	41,9%	124	34,4%

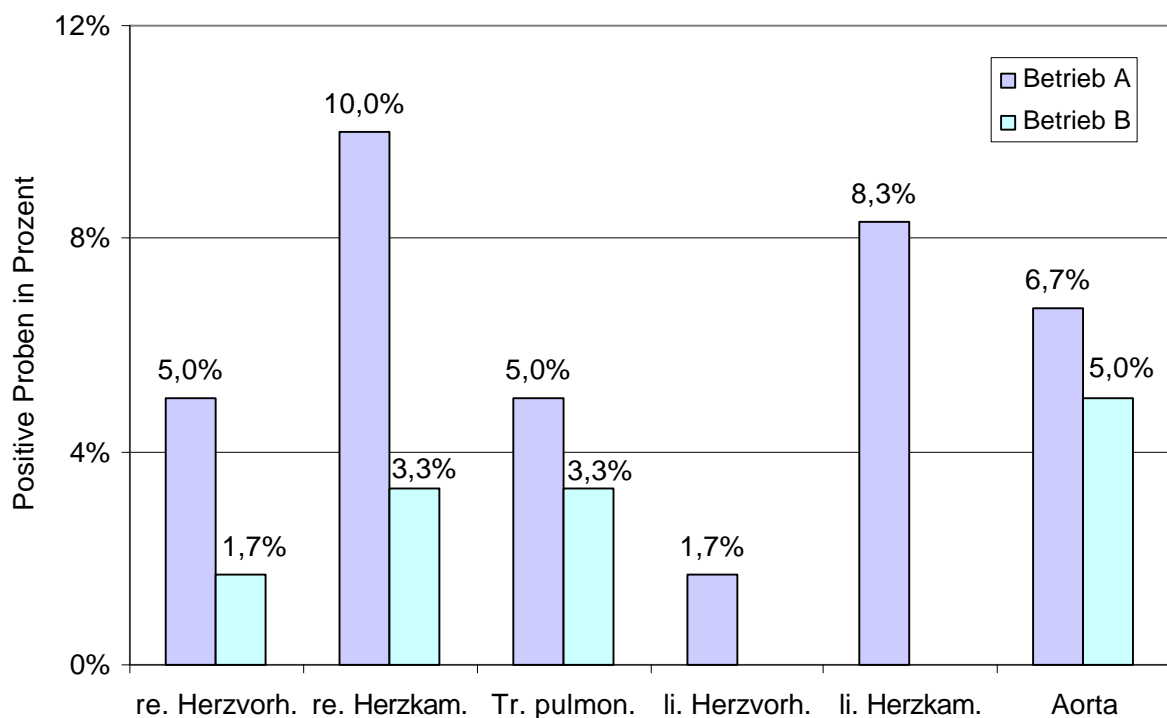
**Tabelle 4.8:** Vergleich der Tupferprobenstellen nach Betrieben mit Bolzenschussbetäubung (n=60 je Probenstelle)

Betrieb C (insgesamt 41,9% positive Tupferproben) wies bei jeder der betupferten Herzstrukturen durchgehend eine höhere Anzahl positiver Proben auf als Betrieb D (insgesamt 34,4% positive Tupfer). Der höchste Anteil positiver ZNS-Nachweise wurde in Betrieb C in der rechten Herzkammer mit 58,3% positiver Proben erbracht. Die Probenstelle mit dem geringsten positiven Ergebnis war in beiden Betrieben der linke Herzvorhof mit je 21,7%.

Probenstelle (Tupfer 1-6) N=60	Betrieb A		Betrieb B	
	Anzahl positive	Anteil positive	Anzahl positive	Anteil positive
rechter Herzvorhof	3	5,0%	1	1,7%
rechte Herzkammer	6	10,0%	2	3,3%
Truncus pulmonalis	3	5,0%	2	3,3%
linker Herzvorhof	1	1,7%	0	0,0%
linke Herzkammer	5	8,3%	0	0,0%
Aorta	4	6,7%	3	5,0%
Gesamt	22	6,1%	8	2,2%

**Tabelle 4.9:** Vergleich der Tupferprobenstellen nach Betrieben mit Elektrobetäubung (n=60 je Probenstelle)

Die Ergebnisse der Elektrobetäubungsbetriebe A und B sind in **Tabelle 4.9** zusammengefasst. In den zwei Elektrobetäubungsbetrieben A und B wies Schlachthof A an jeder Tupferstelle das höhere Resultat an positiven Proben auf. Die Tupferstellen von Betrieb A hatten Anteile positiver Ergebnisse zwischen 1,7% (linker Herzvorhof) und 10% (rechte Herzkammer). Der errechnete Gesamtanteil positiver Proben der 6 Tupferstellen lag bei 6,1% je Stelle. Betrieb B ist der einzige Schlachthof, an dem einzelne Probenstellen keinen ZNS-Nachweis erbrachten. So konnte hier in Vorhof und Kammer des linken Herzens kein positives Ergebnis ermittelt werden. Jedoch war die Aorta als weiterer Probenort des linken Herzens mit 5% positiven Proben die Stelle mit dem höchsten Ergebnis in Schlachthof B. Insgesamt waren nur 2,2% der Tupferproben von Betrieb B positiv. In **Abbildung 4.8** folgt die graphische Darstellung dieser Werte.



**Abbildung 4.8:** Vergleich der positiven Tupferprobenstellen nach den Elektrobetäubungsbetrieben A und B (n=60 Tupfer/Stelle)



### 4.2.1.3 Betrachtung der Gewebeprobstellen im Einzelnen

Neben den 6 Tupferstellen wurde aus Lungenparenchym sowie Myokard jeweils eine Gewebeprobe pro Tier entnommen und nach mechanischer Zerkleinerung auf den ZNS-Gehalt hin überprüft.

#### 4.2.1.3.1 Herz

Analog dem Umfang der untersuchten Tupferprobenstellen wurden von 240 Rindern Proben aus dem Myokard entnommen. Diese verteilten sich zu je 120 Gewebeproben pro Betäubungsmethode und zu je 60 pro Schlachtbetrieb. Unabhängig von Methode und Betrieb konnte in allen 240 Proben aus der Herzkammerwandmuskulatur kein positives Ergebnis und somit kein ZNS-Nachweis erbracht werden (**Tabelle 4.10**).

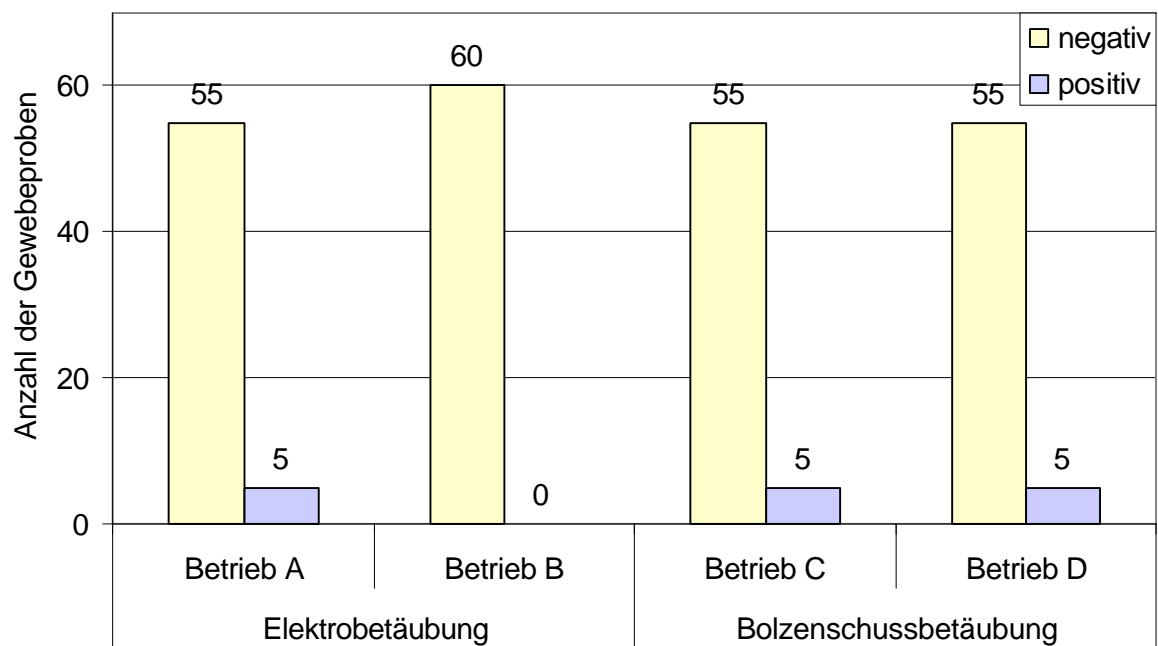
Gewebeproben Herz n=240	240 negative Probenergebnisse (0 Proben positiv)
----------------------------	---

**Tabelle 4.10:** Untersuchung der Myokardproben auf ZNS

#### 4.2.1.3.2 Lunge

Die Untersuchung der insgesamt 240 Proben des Lungenparenchyms brachte in 15 Fällen ein positives und in 225 Fällen ein negatives Ergebnis. Dies ergibt einen Anteil der positiven ZNS-Nachweise in der Lunge von 6,3%.

Die Verteilung der positiven Lungenproben auf die 4 Schlachtbetriebe ist in **Abbildung 4.9** dargestellt. In Betrieb B konnte in keinem der 60 untersuchten Lungengewebe ein positives Ergebnis festgestellt werden. Betrieb A hingegen hatte in den Lungenproben die gleiche Anzahl positiver Ergebnisse wie Betriebe C und D. In den je 60 Lungengeweben dieser drei Betriebe zeigten je 5 Proben eine positive Reaktion, was einem positiven Anteil von 8,3% entspricht.



**Abbildung 4.9:** Vergleich der Lungengewebeproben nach Betrieb (n=60)

Zusammengefasst nach Betäubungsmethode konnten bei der Elektrobetäubung (Betrieb A und B) 5 positive (entspricht 4,2%) und bei der Bolzenschussbetäubung (Betrieb C und D) 10 positive (entspricht 8,3%) Lungenproben ermittelt werden. Damit kommen 33,3% der Gesamtanzahl von 15 positiven Lungenergebnissen auf die Methode Elektrobetäubung zu. Jedoch gilt es anzumerken, dass das positive Ergebnis der Elektrobetäubung nur auf Betrieb A zurückgeht. 66,6% der positiven Proben wurden in Betrieben mit Bolzenschussbetäubung ermittelt.

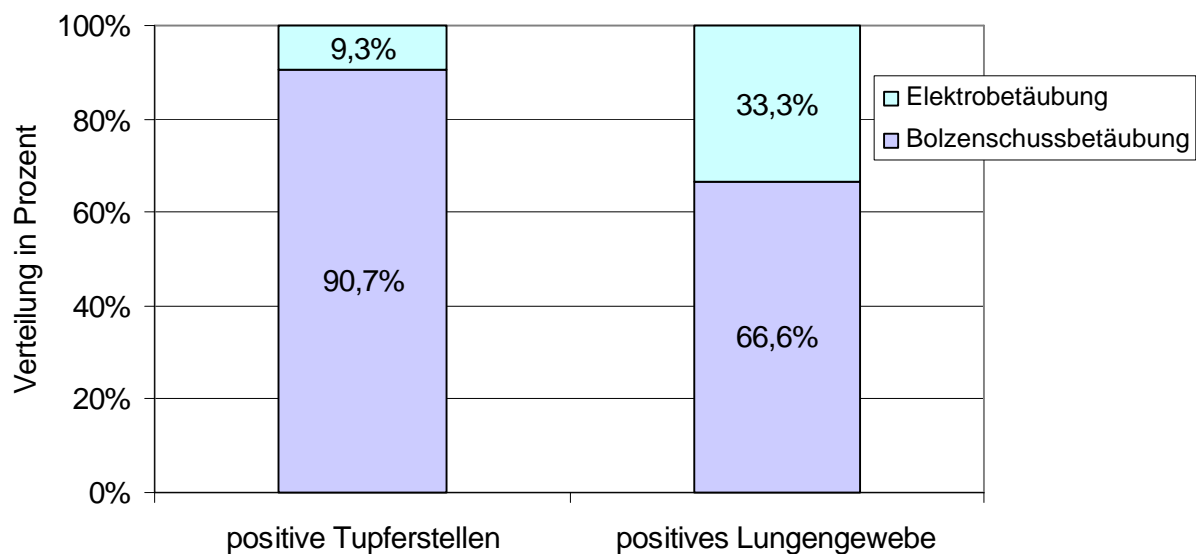
#### 4.2.1.4 Gegenüberstellung von positiven Einzeltupferstellen und positiven Lungenproben

Vergleicht man den positiven Anteil aller Lungenproben von 6,3% mit dem durchschnittlich 21,2%-igen positiven Probenanteil aller Tupferstellen (vgl. **Tab. 4.6**), so ist das positive ZNS-Resultat der Lungenproben um den Faktor 3,4 geringer (**Tabelle 4.11**).

Tupferproben Herz n=1440		Gewebeproben Lunge n=240	
Anzahl positiver Proben	Anteil positiver Proben	Anzahl positiver Proben	Anteil positiver Proben
305	21,2%	15	6,3%

**Tabelle 4.11:** Vergleich der positiven Lungengewebsproben und der positiven Tupferproben

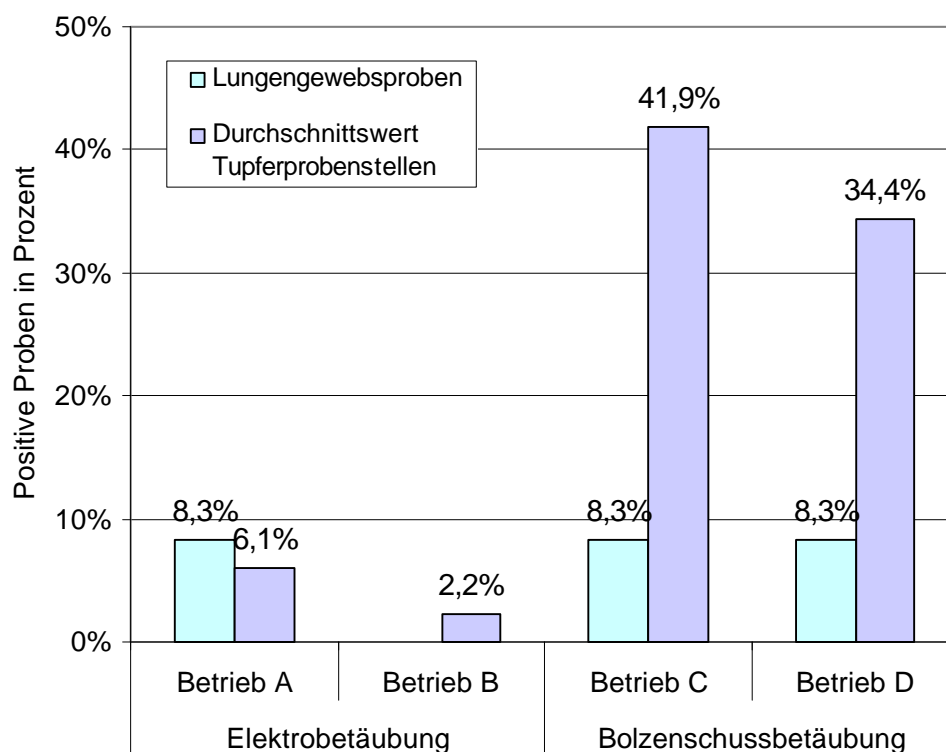
**Abbildung 4.10** zeigt die Verteilung der positiven ZNS-Nachweise der Tupferprobenergebnisse (**Abb. 4.6**) im Vergleich mit den Lungengewebsergebnissen (s. 4.2.1.3.2), bezogen auf die Betäubungsmethode.



**Abbildung 4.10:** Verteilung der positiven Herztupferproben (n=305) und Lungengewebsproben (n=15) anteilig nach Betäubungsmethode

Die Verteilung positiver Tupferproben zu 90,7% auf die Methode Bolzenschussbetäubung unterscheidet sich deutlich von den nur 66,6% anteilig positiven Lungenproben dieser Methode. Während weniger als jede 10. positive Herztupferprobe (9,3%) der Elektrobetäubung zukommt, war jede 3. positive Lungenprobe (33,3%) diesem Betäubungsverfahren zuzurechnen. Das positive Lungenergebnis bei Elektrobetäubungsbetrieben wurde jedoch nur in Betrieb A

nachgewiesen, was in **Abbildung 4.11** im Vergleich zu den positiven Tupferproben, aufgeführt nach den einzelnen Schlachthöfen, nochmals aufgezeigt wird.



**Abbildung 4.11:** Vergleich der Lungengewebsergebnisse und der durchschnittlichen Herztupferergebnisse nach Betrieb

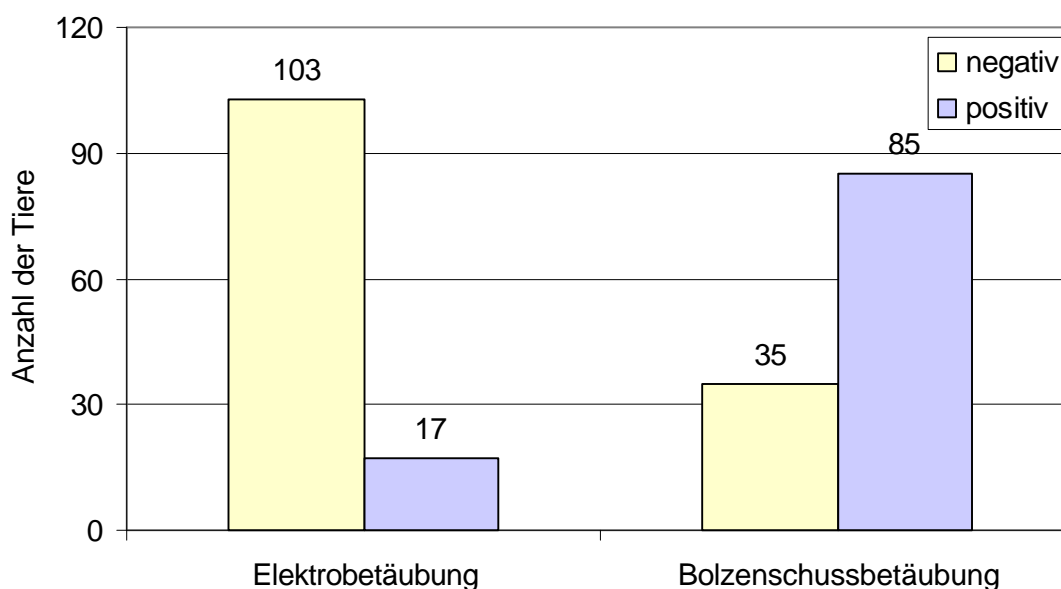
#### 4.2.2 Auswertung der positiven Tiere

Es wurden insgesamt 240 Rinder an den aufgeführten Einzelprobenstellen untersucht. Für die folgende Betrachtung wurde ein Tier als positiv bewertet, wenn an mindestens 1 Probenstelle (von den jeweils 8 beprobten Stellen pro Tier) ein positiver ZNS-Nachweis erbracht werden konnte. So wurde nach **Tabelle 4.12** bei 102 der gesamten 240 Rinder an einer oder mehreren Stellen ein positives ZNS-Ergebnis nachgewiesen, was einem Anteil von 42,5% entspricht. Bei Anwendung der Bolzenschussbetäubung hatten 85 der 120 Rinder (70,8%) ein positives Ergebnis,

bei Elektrobetäubung wurde nur bei 17 Tieren (14,2%) ein positives Resultat ermittelt (**Abbildung 4.12**).

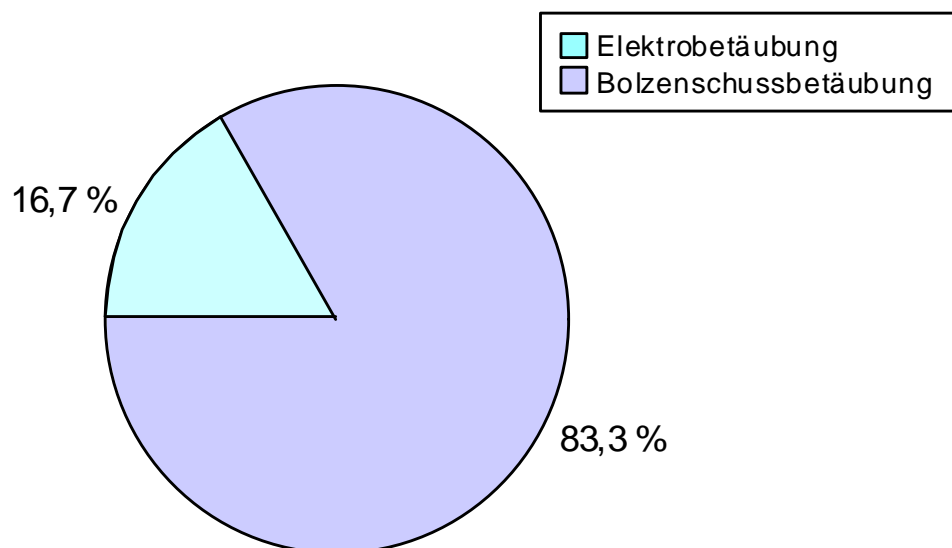
Betäubungsmethodik	Anzahl der Tiere (n=120)		Anteil der positiven Tiere
	negativ	positiv	
Elektrobetäubung	103	17	14,2%
Bolzenschussbetäubung	35	85	70,8%
Gesamtergebnis	138	102	42,5%

**Tabelle 4.12:** Vergleich der Tierergebnisse nach Betäubungsmethode (Tier positiv ab mind. 1 positiven Einzelprobenstelle)



**Abbildung 4.12:** Vergleich der Tierergebnisse nach Betäubungsmethode (n=120) (Tier positiv ab mind. 1 positiven Einzelprobenstelle)

Betrachtet man nach **Abbildung 4.13** nur die 102 Tiere mit positivem Ergebnis, so verteilen sich diese zu 16,7% auf Elektro- (n=17), und zu 83,3% (n=85) auf Bolzenschussbetäubung. Das positive Tierergebnis der Methode Elektrobetäubung fiel somit um den Faktor 5 niedriger aus.



**Abbildung 4.13:** Verteilung der positiven Tiere (n=102) anteilig nach Betäubungsmethode

Im Schlachthof B wurde mit nur 4 positiven von insgesamt 60 beprobten Tieren (entspricht 6,7% Positive) die geringste Zahl positiver Nachweise festgestellt. Die Untersuchung in Betrieb A ermittelte 13 Tiere (21,7%) mit einem positiven ZNS-Nachweis. Das positive Ergebnis der beiden Elektrobetäubungsbetriebe unterscheidet sich damit um den Faktor 3,2. In Betrieb D hatten 2 von 3 Tieren (66,7%) positive Probenergebnisse, und das höchste Resultat mit 3 positiven Tierergebnissen von 4 (75%) wurde in Betrieb C nachgewiesen.

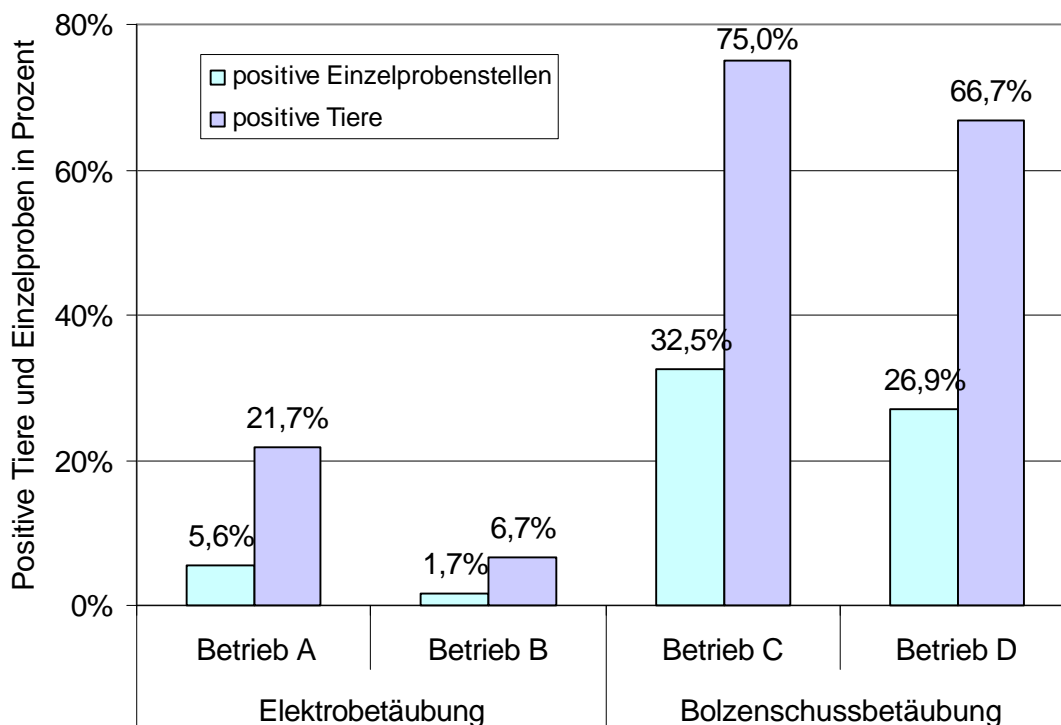
Schlachtbetrieb	Anzahl der Tiere (n=60)		Anteil der positiven Tiere
	negativ	positiv	
Betrieb A	47	13	21,7%
Betrieb B	56	4	6,7%
Betrieb C	15	45	75,0%
Betrieb D	20	40	66,7%

**Tabelle 4.13:** Vergleich der Tierergebnisse nach Schlachtbetrieb

### 4.2.3 Gegenüberstellung von positiven Tieren und pos. Einzelprobenstellen

Ein Vergleich des prozentualen Anteils positiver Tiere zu positiven Einzelprobenstellen ermöglicht eine Aussage über den Umfang positiver Einzelstellen je positives Tier. Umso größer der Quotient positives Tier zu positiven Einzelprobenstellen ausfällt, desto geringer ist die Anzahl ZNS-positiver Einzelproben je Tier. Dieser Wert erlaubt Rückschlüsse über die Kontinuität der Verschleppung und möglicherweise über den Umfang verschleppten Materials.

In **Abbildung 4.14** sind die prozentualen Positivergebnisse der Tiere (**Tab. 4.13**) und der Einzelprobenstellen (**Tab. 4.5**) zusammengefasst und nach Schlachtbetrieb gegenübergestellt.



**Abbildung 4.14:** Vergleich des Anteils positiver Tiere mit dem Anteil positiver Einzelprobenergebnisse nach Schlachtbetrieb

In allen vier Schlachthöfen lag das prozentuale Ergebnis positiver Tiere deutlich über den anteilig prozentual positiven Einzelprobenstellen. Das Verhältnis dieser Werte zueinander ergibt die in **Tabelle 4.14** errechneten Faktoren.

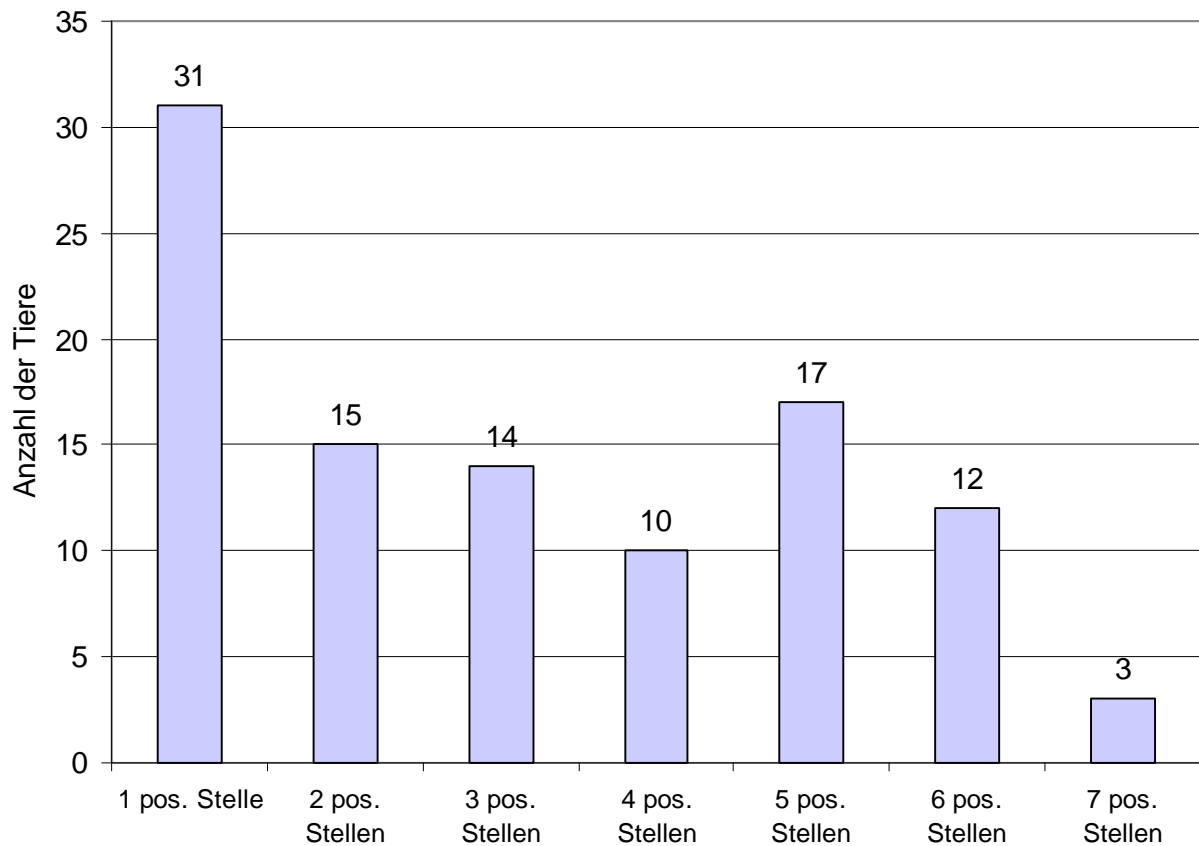
Verhältnis positiver Tiere in % zu positiven Einzelstellen in %		Faktor
Betrieb A	21,7% : 5,6%	<b>3,88</b>
Betrieb B	6,7% : 1,7%	<b>3,94</b>
Betrieb C	75% : 32,5%	<b>2,31</b>
Betrieb D	66,7% : 26,9%	<b>2,48</b>
Elektrobetäubung gesamt	14,2% : 3,6%	<b>3,89</b>
Bolzenschussbet. gesamt	70,8% : 29,7%	<b>2,39</b>
Gesamtergebnis	42,5% : 16,7%	<b>2,55</b>

**Tabelle 4.14:** Verhältnis positiver Tiere zu positiven Einzelprobenstellen

Die Betriebe C und D der Methode Bolzenschussbetäubung (Faktor 2,39) wiesen im Vergleich zu den Elektrobetäubungsbetrieben A und B (Faktor 3,89) einen wesentlich kleineren Differenzfaktor auf. Somit konnte bei bolzenschussbetäubten Rindern mit positivem Ergebnis eine ZNS-Verschleppung an einer größeren Zahl von Einzelstellen nachgewiesen werden als bei elektrobetäubten Rindern mit positivem Ergebnis. Die Betriebsergebnisse innerhalb der Betäubungsmethoden schwankten unwesentlich.

Ein weiterer Parameter für die Bewertung der Kontinuität einer möglichen ZNS-Verschleppung ist die absolute Anzahl positiver Einzelstellen je positives Tier. Da die Gewebeprobe Myokard in allen Fällen einen negativen Nachweis lieferte, wird im Folgenden von maximal 7 möglichen positiven Einzelprobenstellen, zusammengesetzt aus den 6 Herztupfern und dem Lungengewebe, ausgegangen. Wie in **Abbildung 4.15** zusammengefasst, wurde die maximale Anzahl 7 positiver Proben je Tier bei 3 von den insgesamt 102 positiven Rindern festgestellt (entspricht prozentualen Anteil von 2,9%). Bei 31 positiven Tieren (30,4%) gelang ein positives Ergebnis bei jeweils nur einer Probenstelle. Dieser Gruppe mit dem nur punktuellen ZNS-Nachweis kommen somit anteilig die meisten Rinder zu. 69,6% der positiven Tiere hatten an 2 oder mehr Stellen, in jeweils relativ ähnlichem Umfang, ein positives Probenergebnis. Der ermittelte Durchschnittswert lag bei 3,2 positiven Stellen je positives Tier.





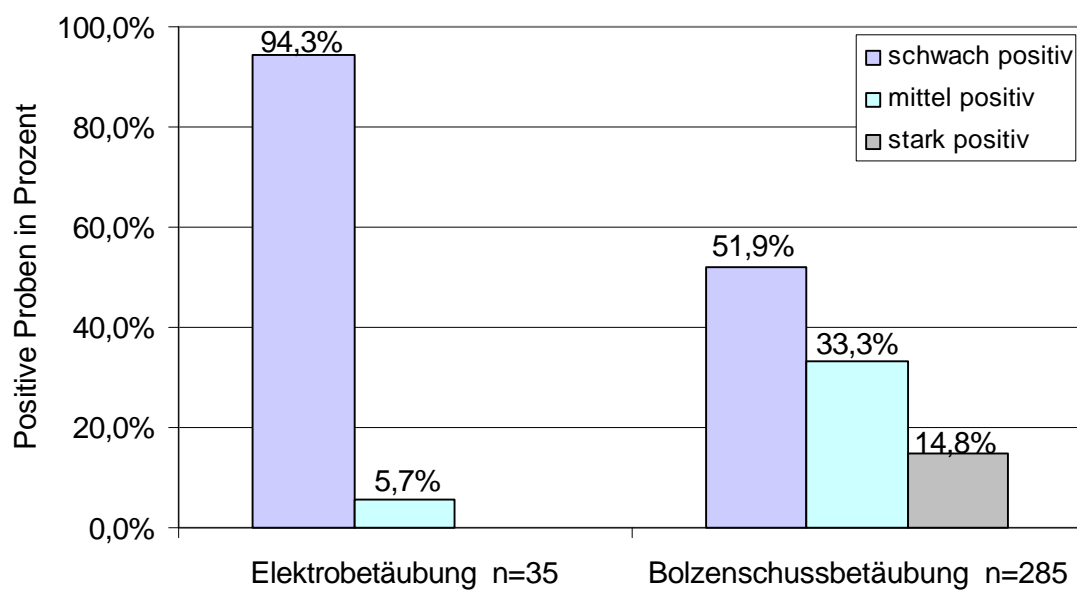
**Abbildung 4.15:** Anzahl der positiven Einzelprobenstellen (Herztupfer und Lungengewebe) je positives Tier (gesamt 102 positive Tiere)

#### 4.2.4 ZNS-Konzentration der Einzelprobenstellen

Der RIDASCREEN®-Risk Material 10/5 ermöglicht einen semiquantitativen Nachweis des ZNS-Gehaltes. Dies erlaubt eine grobe Zuweisung der ermittelten ZNS-Ergebnisse in bestimmte Konzentrations-Kategorien (s. Kap. 3.2.3, Tab. 3.7). Die Einteilung der ZNS-positiven Proben in *schwach positiv*, *mittel positiv* und *stark positiv* lässt eine tendenzielle Aussage über die Intensität der ZNS-Disseminierung treffen.

Unter den insgesamt 320 positiven Einzelprobenstellen (s. 4.2.1.1) wurden positive ZNS-Ergebnisse in allen drei verschiedenen Konzentrations-Kategorien ermittelt. Im Vergleich der Betäubungsmethoden ergab sich jedoch auch beim Parameter Konzentration erneut ein deutlicher Unterschied (**Abbildung 4.16**). Von den

insgesamt 35 Einzelprobenstellen der Methode Elektrobetäubung wiesen 33 (entspricht 94,3%) eine *schwach positiv* Konzentration auf. Nur 2 Proben (5,7%) wurden aufgrund höherer Konzentration als *mittel positiv* eingestuft. Diese 2 Proben wurden an den Probenstellen rechte Herzkammer und Lunge ermittelt. Der ZNS-Gehalt der Ergebnisse der Bolzenschussbetäubung war demgegenüber insgesamt von deutlich höherer Konzentration. Diese Befunde sind in **Tabelle 4.15** nach Einzelprobenstellen aufgelistet.

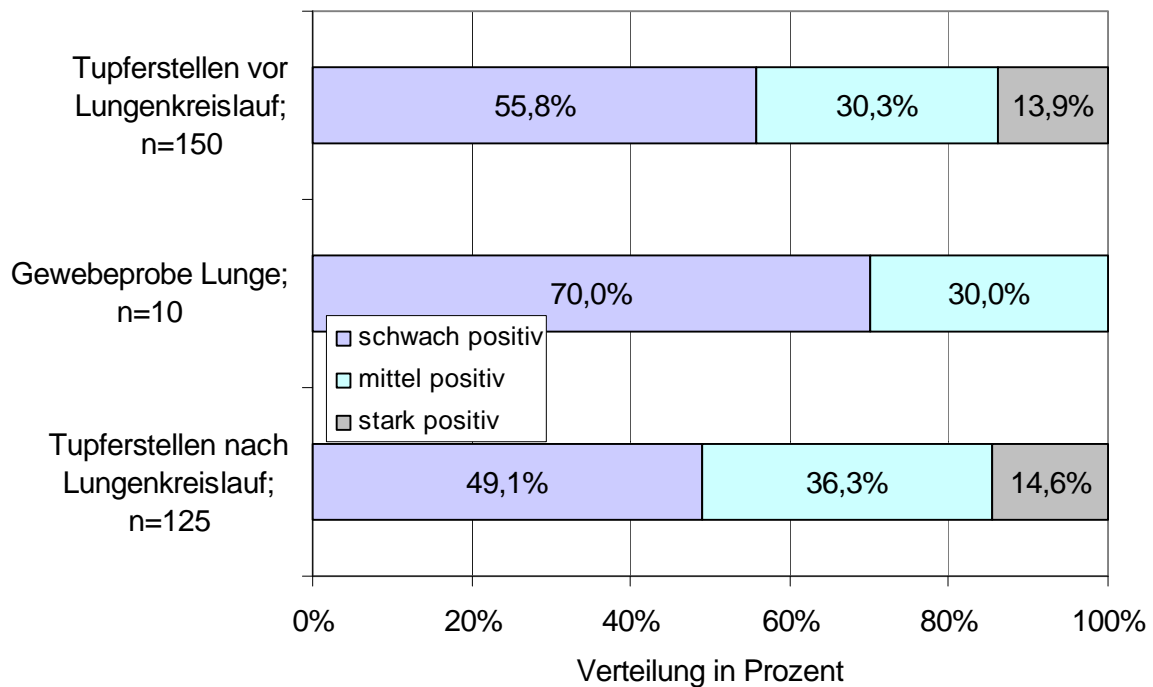


**Abbildung 4.16:** Vergleich der Konzentrationskategorien aller positiven Einzelprobenstellen (n=320) nach Betäubungsmethode

Probenstelle	<i>schwach positiv</i>		<i>mittel positiv</i>		<i>stark positiv</i>	
	Anzahl	% Anteil	Anzahl	% Anteil	Anzahl	% Anteil
re. Herzvorhof	22	61,1%	9	25,0%	5	13,9%
re. Herzkammer	31	46,3%	23	34,3%	13	19,4%
Tr. pulmonalis	28	59,6%	15	31,9%	4	8,5%
li. Herzvorhof	14	53,8%	10	38,5%	2	7,7%
li. Herzkammer	27	56,3%	14	29,2%	7	14,5%
Aorta	19	37,3%	21	41,2%	11	21,5%
Lunge	7	70,0%	3	30,0%	0	0
Gesamt	148	51,9%	95	33,3%	42	14,8%

**Tabelle 4.15:** Methode Bolzenschussbetäubung: Einteilung der positiven Einzelprobenstellen (n=285) nach Konzentrations-Kategorien

Von den Einzelstellen der Methode Bolzenschussbetäubung mit positivem Ergebnis wiesen 51,9% nur eine *schwach positive* Konzentration auf. Jede dritte Probe (33,3%) zeigte eine *mittel positive*, und 14,8% sogar eine *stark positive* Konzentration. Die Lunge war die einzige Probenstelle, bei der kein Ergebnis von *stark positiver* Konzentration ermittelt werden konnte. Vergleicht man die positiven Einzelprobenstellen bezüglich ihrer anteiligen Konzentrationsergebnisse, so zeigt sich eine parallele Tendenz zur Häufigkeit des positiven ZNS-Nachweises (**Abb. 4.3** und **4.5**): die Probenstellen rechte Herzkammer und Aorta wiesen in ihren positiven Ergebnissen den höchsten ZNS-Gehalt auf. Die höchste Anzahl an höherkonzentrierten Probenergebnissen wurde in der Aorta (*mittel positiv*=41,2% und *stark positiv*=21,5%) nachgewiesen.



**Abbildung 4.17:** Methode Bolzenschussbetäubung: Verteilung der Konzentrationskategorien nach Einzelprobenstellen (n=285), vor bzw. nach Lungenkreislauf

Fasst man in **Abbildung 4.17** die Probenstellen des linken Herzens erneut zusammen (in Stellen nach dem Lungenkreislauf) und stellt sie den Probenstellen des rechten Herzens (somit vor dem Lungenkreislauf) gegenüber, so wiesen die positiven Einzelproben der linken Herzstrukturen im Vergleich zu den Ergebnissen der rechten Herzstrukturen im Durchschnitt etwas höhere Konzentrationen auf.

#### 4.2.5 Vergleich der Betriebe A und B bezüglich Entblutung

Sowohl bezüglich der Einzelproben als auch der positiven Tiere zeigte sich innerhalb der Elektrobetäubungsbetriebe A und B eine deutliche Differenz bezüglich des Anteils positiver Ergebnisse. So wurde, wie in **Tabelle 4.16** zusammengefasst, in Schlachthof A kontinuierlich ein höherer Anteil positiver Ergebnisse nachgewiesen.

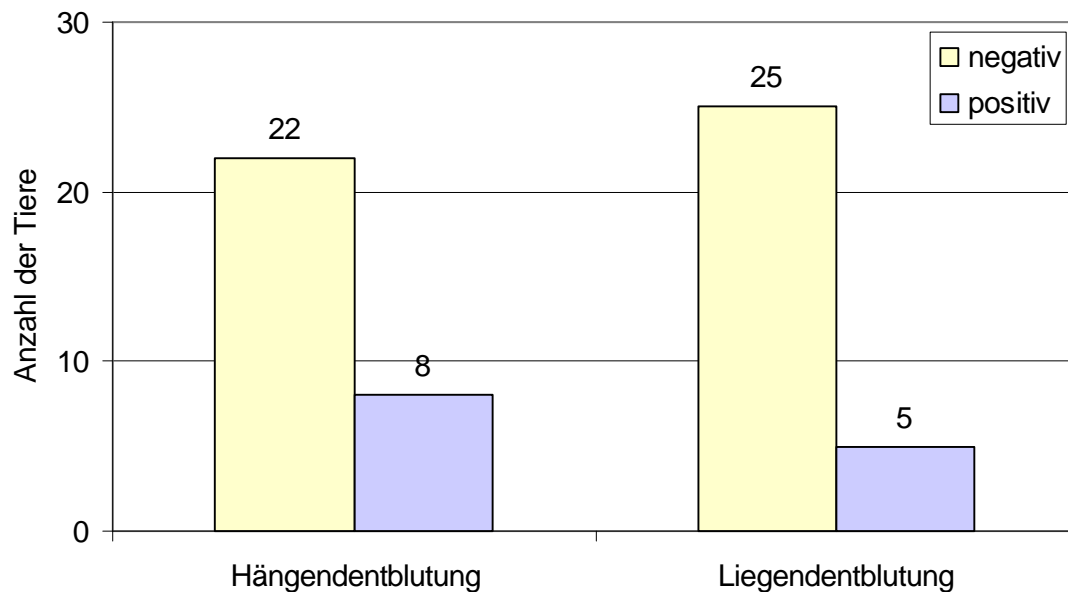
Untersuchungsparameter	positives Ergebnis in Prozent		Faktor A:B
	Betrieb A	Betrieb B	
positive Tiere	21,7%	6,7%	<b>3,3</b>
positive Einzelprobenstellen	5,6%	1,7%	<b>3,4</b>
positive Herz-Tupferstellen	6,1%	2,2%	<b>2,8</b>
positive Lungengewebe	8,3%	0 %	0

**Tabelle 4.16:** Vergleich der Ergebnisse von Betrieb A und B

Die Betriebe A und B unterschieden sich neben ihrer Methodik der Elektrobetäubung (in Betrieb A wurde mit 3,2 A eine höhere Stromstärke eingesetzt als in Betrieb B mit 2,1 A) auch in der anschließenden Entblutungsmethodik. So erfolgte in Betrieb B die Entblutung aller 60 beprobten Rinder im Liegen, während in Betrieb A nur 30 Rinder im Liegen entblutet wurden, und die weiteren 30 Tiere einer Hängendentblutung unterzogen wurden.

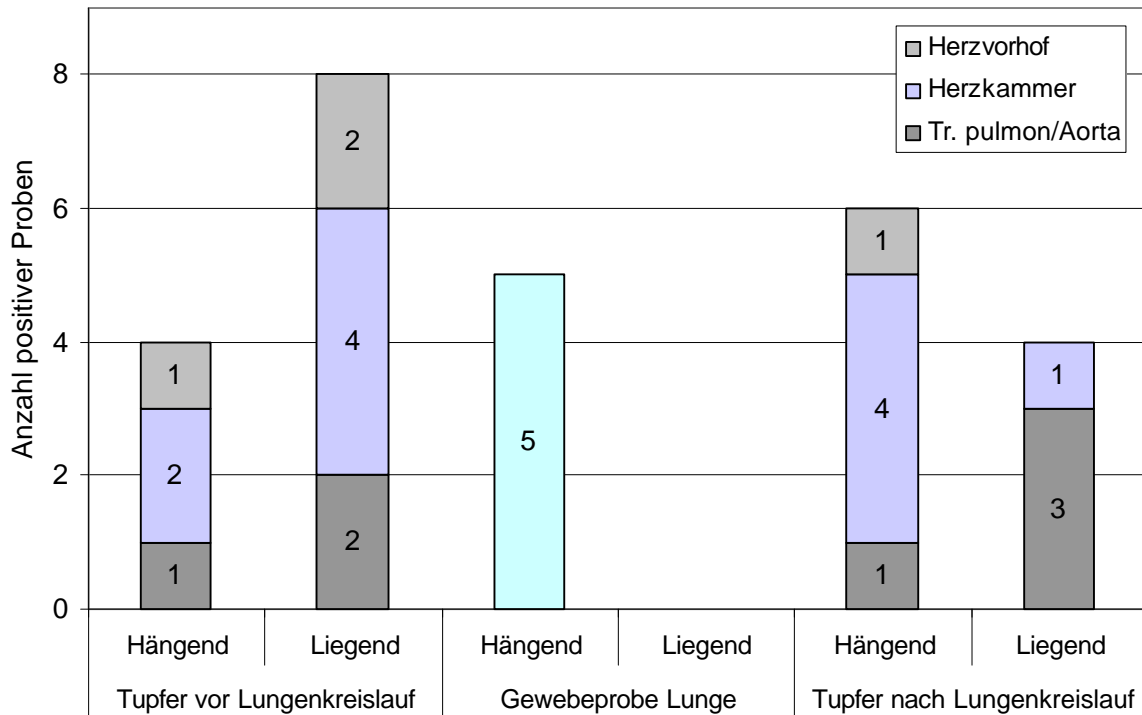
##### 4.2.5.1 Betrieb A: Hängend- und Liegendentblutung

Wie **Abbildung 4.18** veranschaulicht, wurden die insgesamt 13 Tiere mit positivem Ergebnis von Betrieb A in 8 Fällen hängend (entspricht 61,5% anteilig der 13 positiven Tiere) und in 5 Fällen liegend (38,5%) entblutet. Die Anzahl der Tiere mit positivem ZNS-Nachweis war bei Hängendentblutung somit um den Faktor 1,6 höher als bei Liegendentblutung (entsprechend Kapitel 4.2.2 wurde ein Tier als positiv betrachtet, sobald mindestens eine der Einzelprobenstellen ein positives ZNS-Ergebnis aufwies).



**Abbildung 4.18:** Betrieb A: Vergleich der Tierergebnisse nach Entblutungsmethode (n=30 Tiere je Methode; Tier positiv ab mind. 1 positiven Einzelprobenstelle)

Die Anzahl der positiven Einzelstellen war mit 15 positiven Proben von insgesamt je Entblutungsmethode 240 untersuchten Proben bei der Hängendentblutung ebenfalls höher als bei der Liegendentblutung mit 12 positiven Proben. Die insgesamt 27 positiven Einzelproben von Betrieb A verteilten sich somit zu 55,6% auf hängend und zu 44,4% auf liegend entblutete Rinder, und unterschieden sich um den Faktor 1,25. Bei Liegendentblutung wurde an den Probenstellen linker Herzvorhof und Lunge sogar kein positives Ergebnis erzielt. Hängend entblutete Tiere wiesen hingegen die Lunge als Probenstelle mit dem häufigsten positiven Einzelstellenergebnis auf. In **Abbildung 4.19** ist die Anzahl der positiven Probenstellen dargestellt, wobei erneut die Probenstellen unterteilt wurden in Herzstrukturen vor bzw. nach Lungenkreislauf.



**Abbildung 4.19:** Betrieb A: Verteilung der positiven Einzelprobenstellen (n=27) nach Lungenkreislauf, vergleichend nach Entblutungsmethode

Bei der Methode Hängendentblutung zeigte sich ein Anstieg von 4 positiven Probenstellen vor Lungenkreislauf auf 6 positive Probenstellen nach dem Lungenkreislauf. Die in der Blutzirkulation dazwischen befindliche Probenstelle Lunge hatte 5 positive Ergebnisse. Eine andere Verteilung ist bei der Methode Liegendentblutung zu beobachten, die kein positives Lungenergebnis aufwies. Mit 8 positiven Einzelprobenstellen vor der Lunge und nur mehr 4 positiven Proben nach der Lunge nahm die Häufigkeit der positiven Ergebnisse nach der Lungenzirkulation um die Hälfte ab.

#### 4.2.5.2 Betriebe A und B: Liegendentblutung

Die positiven Ergebnisse des Elektrobetäubungsbetriebes A schwankten in Abhängigkeit der angewandten Entblutungsmethode und fielen insgesamt bei Hängendentblutung höher aus. Ein Vergleich der positiven Probenresultate von liegendentbluteten Rindern des Betriebes A mit den gleichfalls elektrobetäubten und liegendentbluteten Rindern von Schlachthof B ist in **Tabelle 4.17** zusammengefasst.

	Betrieb A ( <b>30 Tiere</b> )		Betrieb B ( <b>60 Tiere</b> )		Faktor A:B
	Anzahl	Anteil in %	Anzahl	Anteil in %	
positive Tiere	5	16,6%	4	6,7%	2,5
pos. Einzelprobenstellen	12	5,0%	8	1,7%	3

**Tabelle 4.17:** Liegendentblutung: Vergleich positiver Tiere und positiver Einzelprobenstellen nach Schlachtbetrieb

Betrieb A hatte bei Liegendentblutung mit 16,6% positiv beprobten Tieren ein um den Faktor 2,5 höheres Ergebnis als Betrieb B mit 6,7% positiv Beprobten (vgl. **Tab. 4.16** mit Betrieb A gesamt zu Betrieb B: Faktor 3,3). Die Anzahl positiver Einzelprobenstellen war in Betrieb A mit 5,0% um das dreifache höher als in Betrieb B mit 1,7% positiven Einzelproben (vgl. Betrieb A gesamt zu Betrieb B: Faktor 3,4). Somit konnte auch innerhalb der Methode Liegendentblutung in Betrieb A ein ZNS-Nachweis häufiger erbracht werden als in Betrieb B. Jedoch fiel der errechnete Differenzfaktor zwischen Betrieb A mit Liegendentblutung zu Betrieb B niedriger aus als das Verhältnis Betrieb A gesamt zu Betrieb B (**Tab. 4.16**).

#### 4.2.6 Auswertung der Probenmenge

Die Probennahme erfolgte bei den Bolzenschussbetäubungsbetrieben auf 4 Tage, bei den Elektrobetäubungsbetrieben auf 5 Tage verteilt. Da die Anzahl der beprobten Tiere an den einzelnen Tagen stark schwankte, kann eine Auswertung der Ergebnisse in Abhängigkeit des Probenmenges nur bedingt vorgenommen werden. Dennoch erfolgt in **Tabelle 4.18** ein Vergleich der Probenmengeergebnisse, aus dem hervorgeht, dass an den verschiedenen Tagen eine teilweise höchst unterschiedliche



Anzahl an Tieren mit mindestens einer positiven Probe (=positive Tiere) ermittelt wurde.

Proben- tag	Betrieb A			Betrieb B		
	Anzahl be- probter Tiere	Anzahl pos. Tiere	Anteil pos. Tiere	Anzahl be- probter Tiere	Anzahl pos. Tiere	Anteil pos. Tiere
Tag 1	10	2	20%	11	0	<b>0%</b>
Tag 2	13	6	<b>46,2%</b>	12	1	<b>8,3%</b>
Tag 3	7	0	<b>0%</b>	12	1	8,3%
Tag 4	12	2	16,7%	12	1	8,3%
Tag 5	18	3	16,7%	13	1	7,7%

Proben- tag	Betrieb C			Betrieb D		
	Anzahl be- probter Tiere	Anzahl pos. Tiere	Anteil pos. Tiere	Anzahl be- probter Tiere	Anzahl pos. Tiere	Anteil pos. Tiere
Tag 1	15	8	<b>53,3%</b>	15	7	46,7%
Tag 2	15	14	<b>93,3%</b>	7	1	<b>14,3%</b>
Tag 3	23	17	73,9%	18	13	72,2%
Tag 4	7	6	85,7%	20	19	<b>95%</b>

**Tabelle 4.18:** Vergleich der Tierergebnisse nach Proben Tagen (höchstes und niedrigstes prozentuales Tagesergebnis fettgedruckt hervorgehoben)

Betrieb D wies die höchste Schwankungsbreite an positiven Ergebnissen pro Tag auf. Hatten am Proben Tag 2 nur 14,3% der untersuchten Tiere positive Ergebnisse, so konnte am Tag 4 in 95% der beprobten Tiere ein positiver ZNS-Nachweis in höchstem Umfang, auch im Vergleich aller 4 Betriebe, erbracht werden. In Betrieb C waren an allen 4 Untersuchungstagen jeweils mehr als die Hälfte der Tiere (53,3%-93,3%) mit positivem Ergebnis. In Betrieb A wurde an Tag 2 mit 46,2% bei überdurchschnittlich vielen Rindern ein positiver ZNS-Nachweis erbracht, während an drei Tagen in relativ gleichem Tierumfang (zwischen 16,7% und 20%) ein positives Ergebnis ermittelt wurde. Ein Proben Tag in Schlachthof A verlief sogar negativ. Das kontinuierlichste positive Ergebnis je Proben Tag wies Betrieb B auf. An 4 Tagen wurde in je einem Tier (8,3% bzw. 7,7%) ZNS nachgewiesen, ein Proben Tag blieb ohne positives Ergebnis.

## 5 DISKUSSION

Epidemiologische, klinische, neuropathologische und molekularbiologische Hinweise untermauern die Annahme, dass die vCJD des Menschen durch den Verzehr von Fleisch von BSE-infizierten Rindern hervorgerufen wird. Da insbesondere in Geweben des ZNS höchste Erregerkonzentrationen nachgewiesen und sie aus diesem Grunde als Spezifiziertes Risikomaterial (SRM) eingestuft wurden, muss der Eintrag des potentiell hoch-infektiösen ZNS-Materials in die Nahrungskette vermieden werden. Um dieser Forderung aus der Sicht des Verbraucherschutzes nachzukommen, werden im Rahmen der Schlachtung des Rindes verschiedene Prozessschritte überwacht, von denen eine erhöhte Gefahr der ZNS-Kontamination des Schlachttierkörpers oder der Umgebung ausgehen. In diesem Zusammenhang ist das in Europa übliche Betäubungsverfahren mittels Bolzenschuss in die Kritik geraten und es wird vor allem die Elektrobetäubung als alternative Betäubungsmethode propagiert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Risiko einer Streuung von ZNS-Gewebe über die Blutzirkulation in die Organe Herz und Lunge bei den Betäubungsmethoden Bolzenschuss- und Elektrobetäubung in jeweils zwei Schlachtbetrieben untersucht.

### 5.1 Vorversuche

Um eine ZNS-Kontamination im Schlachtprozess oder bei der Fleischverarbeitung kontrollieren zu können, wurden Nachweismethoden entwickelt, die über ZNS-spezifische Marker einen Rückschluss auf die Anwesenheit potentiell infektiösen Materials erlauben. Das in dieser Studie eingesetzte Verfahren weist ZNS immunzytochemisch über den Marker GFAP nach, ist als kommerzieller Testkit RIDASCREEN® Risk Material 10/5 erhältlich und hat sich aufgrund seiner Zuverlässigkeit und Praktikabilität in der Routinediagnostik der Lebensmittelüberwachung durchgesetzt. Dennoch sollte - aufgrund von Angaben in der Literatur über mögliche Kreuzreaktionen - durch eigene Vorversuchsreihen die Sicherheit dieser ZNS-Nachweismethode kritisch überprüft werden.

Die Empfindlichkeit des GFAP-Nachweisverfahrens wurde über definierte ZNS-Verdünnungsreihen untersucht. Da alle Versuchsreihen auch mit abnehmendem ZNS-Gehalt ein positives Nachweisergebnis erbrachten, konnte der Testkit als geeignet für das Versuchsvorhaben beurteilt werden. Bei dieser Methode werden Extinktionsergebnisse ermittelt, welche semiquantitativ interpretiert werden können und dadurch eine Zuordnung positiver Ergebnisse in Konzentrationskategorien ermöglichen. Dabei zeigte sich, dass erst ab einem ZNS-Anteil von 0,2 g ZNS (verteilt auf Probenflächen) ein Ergebnis *mittel positiver* Konzentration festgestellt wurde, während ein höherer ZNS-Anteil durchweg ein *stark positives* Konzentrationsergebnis erbrachte. Die somit aufgezeigte Abhängigkeit des Konzentrationsergebnisses vom Grad der Verdünnung wurde auch bei der Verteilung von 0,2 g ZNS auf den unterschiedlichen Oberflächen der späteren Originalproben beobachtet. Umso größer die Fläche war, auf der die Menge von 0,2 g ZNS verteilt wurde, desto niedriger war das Konzentrationsergebnis von nachgewiesenem ZNS. Dies verdeutlichte die Notwendigkeit, im Hauptversuch übereinstimmende Strukturflächen zu beproben.

In der Literatur wird z. T. berichtet, das Nachweisverfahren könne auch Geweben gegenüber positiv reagieren, welche nicht ZNS-spezifisch sind und somit einen verfälschten positiven ZNS-Nachweis ergeben. So ermittelten SCHURR et al. (2003) in Untersuchungen mit Blut bereits bei einem Plasmaanteil der Proben von 10% ein positives GFAP-Ergebnis. In den eigenen Vorversuchen konnte mit unverdünntem Blut in allen fünf Proben ein positiver Nachweis (*schwach positive* Konzentration) erbracht werden, der als falsch-positiv zu interpretieren ist und wohl auf eine gewisse Reaktivität des Nachweissystems gegenüber bestimmten im Blut enthaltenen proteinogenen Inhaltsstoffen zurückzuführen ist. Wurde das Blut jedoch zur Hälfte mit Pufferlösung verdünnt, reagierte bereits nur noch eine Probe von fünf positiv und ab einem Blutanteil von 25% wurden ausschließlich negative Ergebnisse ermittelt. Versuche, bei denen mit unterschiedlichen Blutbestandteilen vollgesogene Tupfer in 1 ml Probenpuffer überführt wurden, verliefen ebenfalls ohne positive Nachweise. Da das Ausmaß der Blut-Kontamination dieser Proben deutlich den Verhältnissen der Originalproben entsprach, konnte geschlussfolgert werden, dass die Nachweisgenauigkeit des RIDASCREEN® Risk Material 10/5 in den eigenen Untersuchungen trotz Blutbeimengungen gewährleistet sein werde. So zeigten auch

mit Blut kontaminierte ZNS-Verdünnungsreihen identische Nachweisergebnisse wie ZNS-Proben ohne Blutbeimengungen. Dies stimmt auch mit Ergebnissen von SCHMIDT et al. (1999b) und COORE et al. (2004) überein, welche keine negative Beeinflussung des ZNS-Nachweises durch Blut feststellten.

Eine weitere Kreuzreaktivität des Nachweisverfahrens kann durch Anteile von peripherem Nervensystem (PNS), welche GFAP in geringen Spuren enthalten, zustande kommen (SCHMIDT et al., 1999b; LÜCKER et al, 2002). In diesem Zusammenhang wurden im Vorversuch auch die Probenahmestellen (Tupfer- und Gewebeproben) des Hauptversuchs daraufhin überprüft. Es könnte sich beispielsweise im Falle der Proben aus dem Herzen bei der zufälligen Beprobung von herzeigenem Reizleitungssystem, welches histologisch und physiologisch dem PNS zuzurechnen ist, eine positive Reaktion ergeben. Diese Untersuchungen im Rahmen der Vorversuche verliefen jedoch ohne positiven Nachweis, so dass auch eine mögliche positive Verfälschung des Testergebnisses durch PNS ausgeschlossen werden konnte.

Zusammenfassend konnte eine Eignung sowohl des Nachweisverfahrens als auch der Tupfer- und Gewebeprobenstellen für den ZNS-Nachweis im Hauptversuch festgestellt werden, da sich an den gewählten Strukturen ZNS-Anteile nachweisen ließen, und Blut oder PNS die Spezifität dieser Ergebnisse nicht beeinflussen konnten.

## 5.2 Betrachtung der Einzelprobenstellen

Vorhof, Kammer und *Truncus pulmonalis*-Ursprung des rechten Herzens sind die ersten Organstrukturen, welche von aus dem Kopfbereich kommendem venösem Blut passiert werden. Räumlich davon getrennt erhalten Vorhof, Kammer und Aortenursprung des linken Herzens Blut, das zuvor in der Lunge oxygeniert wurde und in den arteriellen Kreislauf weiterbefördert wird. Mit der Auswahl dieser sechs aufeinander folgenden Herzstrukturen als Tupferprobenstellen bei jedem untersuchten Tier sollte eine aussagekräftige Beurteilung einer potentiellen Verschleppung von ZNS-Gewebe mit dem Blutfluss ermöglicht werden. Die Gewebeprobe des Lungenparenchyms diene darüber hinaus der Überprüfung einer möglichen

Ausfilterung von ZNS-Partikeln in dem dichten Kapillarsystem der Lunge, während das Myokard-Gewebe aufgrund seiner exponierten arteriellen Versorgung durch die Koronararterien, welche unmittelbar am Aortenursprung abzweigen, beprobt wurde. Unabhängig von den unterschiedlichen Einflüssen der Betäubungsmethode auf das Ergebnis wurde vorneweg betrachtet, in wieweit es generell zu einer hämatogenen Streuung von ZNS-Gewebe in die genannten Einzelprobenstellen kommen kann.

Da in allen sechs aufeinander folgenden **Tupferprobenstellen des Herzens** ZNS nachgewiesen werden konnte, ist von einer weitreichenden Verteilung zentralnervösen Materials mit der Blutzirkulation auszugehen. Im Zuge der Blutdurchströmung kann es dabei zum Anhaften von ZNS-Gewebe an Oberflächenstrukturen kommen. Dieses Anhaften könnte dabei allerdings von der anatomischen Beschaffenheit der Probenstellenstruktur abhängig sein. So wurde in den eigenen Untersuchungen festgestellt, dass die Herzvorhöfe des rechten Herzens (zu 16,7% positives Ergebnis) und des linken Herzens (11,3%) die beiden Probenstellen mit dem am wenigsten häufigen ZNS-Nachweis waren. Beide Vorhöfe üben auf den Blutfluss zwar durch den wiederkehrenden Herzklappenschluss einen temporären Widerstand aus, jedoch scheint insgesamt nicht zuletzt durch die sehr glatte Oberfläche des Vorhofendokards die Zirkulation nicht maßgeblich beeinträchtigt zu werden. Demgegenüber erfährt in die sackartigen Herzkammern einströmendes Blut eine Umlenkung der Zirkulation und die durch Muskelbälkchen furchige Oberfläche bietet mitfließenden Emboli eine bessere Haftungsmöglichkeit. Die rechte Herzkammer erzielte folglich mit 31,3% positiven Ergebnissen das höchste Resultat der Einzeltupferstellen.

In der Probenstelle Aorta wurde das zweithäufigste ZNS-positive Einzelstellenergebnis nachgewiesen (24,2%). Da die Aorta die letzte der sechs funktionell aufeinander folgenden Probenstellen ist, zeigt sich damit deutlich eine Kontinuität der Verschleppung entlang der Zirkulation. Inwieweit darüber hinaus eine arterielle Streuung von ZNS-Material in die Organe oder gar in die Muskulatur stattfindet, konnte in den eigenen Studien nicht fundiert beurteilt werden, da die Beprobung der Aorta an anderen Stellen des Kreislaufs in großem Probenumfang technisch schwer durchführbar gewesen wäre. Da jedoch nach der Bolzenschussbetäubung noch von einer für einige Minuten aufrecht erhaltenen Herztätigkeit ausgegangen werden kann

(ANIL et al., 1999 und 2002) und COORE et al. (2004) schon 60 s nach der Betäubung in arteriellem Blut (proximale Aorta) von Schafen ZNS nachgewiesen haben, scheint über arterielles Blut eine weitere ZNS-Streuung und somit eine kritisch zu beurteilende Kontamination gut durchbluteter Körperstrukturen mit ZNS-Material wahrscheinlich. So war auch in Untersuchungen über mikrobielle Disseminierung eine Streuung von Markerkeimen neben arteriellem Blut in Organen und Muskulatur zu beobachten (DALY et al., 2002; BUNCIC et al., 2002). Auch SCHÜTT-ABRAHAM (2002b) geht bei Tieren, in denen ZNS-Material hämatogen abgesprengt wurde, von der Möglichkeit einer weiteren Streuung in die arterielle Zirkulation aus. Dass ROTH (2001) nicht nur im rechten Herzen und der Lunge, sondern auch in Blutgefäßen von Leber und Niere ZNS-haltige Emboli nachwies, erscheint somit eine konsequente Folge zu sein.

Die einzige Probenstelle, an der in den eigenen Untersuchungen der ZNS-Nachweis in allen Fällen negativ verlief, war die **Gewebeprobe des Myokards**. Da dem Myokard über die Koronararterien, welche an den Aortenklappen entspringen und in die etwa 15% des arteriellen Blutausstosses einströmen (DYCE et al., 1991), eine exponierte Eigenversorgung zukommt, wäre bei Tieren mit einer nachgewiesenen Embolisierung von ZNS-Material bis in die Probenstelle Aorta - entsprechend oben erwähnten Studien mit arterieller ZNS-Streuung - auch ein positiver Nachweis im Myokard durchaus erwartungsgemäß. Dass dieser Nachweis in keiner der untersuchten Proben erbracht wurde, könnte vermutlich auf die kompakte Gewebsbeschaffenheit der Herzmuskulatur zurückzuführen sein. Für die Beprobung des Myokards wurde die Kammerwandmuskulatur ausgewählt, um einen Rückschluss auf eine mögliche arterielle ZNS-Streuung über das Organkapillarsystem bis in tiefer gelegene Organstrukturen hinein zu ermöglichen.

Eine Ausfilterung von im Blut befindlichen ZNS-Partikeln könnte im Rahmen der Lungendurchströmung durch das engmaschige Kapillarsystem der Lunge erfolgen. Vergleicht man jedoch die in der eigenen Studie ermittelte Anzahl positiver Einzeltupferstellen zusammengefasst nach ihrer funktionellen Einheit bezüglich der Blutzirkulation, so wurde in den drei Tupferproben des rechten Herzens nur um 1,2 mal öfter ein positiver ZNS-Nachweis erbracht als in den drei Tupferproben des linken Herzens. Somit war eine Ausfilterung von ZNS-Partikeln und damit verbunden eine Verdünnung von potentiell im Blut befindlichem ZNS bei der Durchströmung des

Kapillarsystems der Lunge, wie sie in der Literatur vielfach vermutet wird (ANIL et al., 1999; SCHMIDT et al., 1999a), kaum zu beobachten. Nach ANIL et al. (2002) können Fragmente bis zu einem Durchmesser von ca. 50  $\mu$ m die Lungenkapillaren passieren und anschließend durch das linke Herz in den arteriellen Kreislauf gelangen. Demzufolge wäre im eigenen Versuch nur von mikroskopisch kleinen ZNS-Emboli auszugehen. Die Ergebnisse der **Gewebeproben des Lungenparenchyms** untermauern die Annahme einer nicht erfolgten Ausfilterung und resultierenden Ablagerung in der Lunge: mit 6,3% ZNS-Nachweisen war der Anteil der positiven Lungenproben um 3,4-mal niedriger als im ermittelten Durchschnitt der positiven Tupferstellen (21,2%).

Bei der Betrachtung der Konzentrationsergebnisse der positiven Einzelproben zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der ZNS-Nachweishäufigkeit der jeweiligen Probenstelle und der Höhe der dort ermittelten ZNS-Konzentration. Während sich in der Lunge in keiner positiven Probe die Konzentrationskategorie *stark positiv* ergab, wurden (bei bolzenschussbetäubten Rindern) in den Probenstellen rechte Herzkammer und Aorta, an welchen am zahlreichsten ein positives ZNS-Ergebnis festgestellt wurde, auch am häufigsten *mittel* und *stark positiv* konzentrierte Probenergebnisse nachgewiesen. In den anteilig ihrer Lage nach dem Lungenkreislauf zusammengefassten Tupferprobenstellen des linken Herzens konnte sogar öfter ein Ergebnis höherer Konzentrationen nachgewiesen werden als in den Tupferstellen des rechten Herzens. Dies untermauert erneut, dass es infolge der Lungenkapillarendurchströmung zu keiner Verdünnung von im Blut enthaltenem ZNS-Gewebe kommt und folglich von arteriellem Blut eine ZNS-Kontaminationsgefahr ausgehen kann. Inwieweit das Ausmaß einer ZNS-Streuung von dem angewandten Betäubungsverfahren beeinflusst wird, findet unter 5.4 Beachtung.

### 5.3 Betrachtung positiver Tiere und Verteilung auf Probentage

Die Kontinuität einer oben erwähnten möglichen ZNS-Verschleppung kann auch über die Anzahl positiver Einzelstellen je Tier bewertet werden. Betrachtet man ein Tier als positiv ab einer bei ihm nachgewiesenen positiven Probenstelle, so konnte in den eigenen Untersuchungen bei 42,5% der Rinder (= 102) ein positiver ZNS-Nachweis

(an einer oder mehreren Probenstellen) erbracht werden. Dass von diesen 102 Rindern bei fast jedem dritten Tier (30,4%) ein positives Ergebnis bei jeweils nur einer Probenstelle festgestellt wurde, ist gleichzusetzen mit einem hohen Anteil nur punktuell erfolgter ZNS-Nachweise. Der berechnete Durchschnittswert lag jedoch bei 3,2 positiven Stellen je positives Tier, von insgesamt 7 möglichen Probenstellen (6 Herztupfer und Lungenparenchym, exkl. das stets negativ reagierende Myokard). Diese maximale Anzahl von insgesamt 7 positiven Proben, welche im Zuge einer ausgesprochen kontinuierlichen Verschleppung und Anhaftung das alarmierende Kontaminationsrisiko einer ausgeprägten ZNS-Streuung signalisiert, zeigte sich immerhin bei 2,9% der positiven Tiere.

Darüber hinaus unterlag die Anzahl ZNS-positiv ermittelter Rinder deutlichen Tagesschwankungen. Da die Zahl der beprobten Tiere an den 4 bzw. 5 Probetagen variierte, ist die statistische Aussagekraft der Ergebnisse eingeschränkt. Dennoch ist das Auftreten von Probetagen mit keinem positiven Tier bis hin zu einem Probetag mit 95% positiv festgestellten Tieren (ausführlicher s. 5.5, Betriebsvergleich) ein deutlicher Hinweis für eine Abhängigkeit positiver ZNS-Nachweise von äußeren Faktoren. Diese von außen kommenden Einflüsse konnten aufgrund der Ausrichtung der Studie nicht wissenschaftlich erfasst werden, sondern beruhen auf subjektiven Einschätzungen und Beobachtungen während der Probennahme. So kommen für eine derartige Beeinflussung der Tagesergebnisse die Faktoren Technik, Mensch und Tier in Frage. Die Tiere sind im Rahmen der Anlieferung an den Schlachtbetrieb zahlreichen Stressoren ausgesetzt, so dass sie sich in Abhängigkeit von Transport- und Zutriebsbedingungen zur Schlachtkette in einem teilweise stark erregten Zustand befinden. Dieser Stresszustand der Tiere kann wiederum das Betäubungsergebnis und die damit ausgelösten Vorgänge im Körper beeinträchtigen. Da diese Rahmenbedingungen für das Schlachttier vom Menschen maßgeblich koordiniert werden, kommt einem äußerst sorgfältigen Umgang des Transport- und Schlachtpersonals mit den Tieren große Bedeutung zu. Insbesondere kann in Abhängigkeit der Routine der Fachkraft, welche mit dem Bolzenschussapparat bzw. bei der Elektrobetäubung vollautomatisch per Knopfdruck die Betäubung des Tieres auslöst, das Betäubungsergebnis optimiert werden. Darüber hinaus können technisierte Arbeitsschritte im Rahmen der Betäubung und anschließenden Entblutung unter Umständen Störanfälligkeiten unterliegen.



## 5.4 Vergleich der Betäubungsmethoden

Das in Europa übliche Betäubungsverfahren stellt die Bolzenschussbetäubung dar, welche jedoch seit Auftreten der BSE-Krise wegen einer möglichen ZNS-Kontamination zunehmend kritisch beurteilt wird. Eine alternative Methode zur Betäubung von Rindern ist die Elektrobetäubung, bei welcher - bislang jedoch ohne ausreichende wissenschaftliche Untersuchungen belegt - eine aus Verbraucherschutzsicht propagierte Einschränkung der ZNS-Streuung angenommen wird. Dieses ebenfalls tierschutzgerechte Verfahren setzt sich jedoch vor allem wegen einer kostenintensiven Implementierung der technisch aufwendigen Anlagen nur sehr zögerlich durch.

Bei einer vergleichenden Gegenüberstellung der mit beiden Betäubungsmethoden ermittelten Ergebnisse konnten die erwähnten Einschätzungen bezüglich der ZNS-Streuung deutlich bestätigt werden. So wurde bei bolzenschussbetäubten Rindern in einer hohen Anzahl der Tiere ein positiver ZNS-Nachweis an den untersuchten Probenstellen Herztupfer und Lungengewebe erbracht. Bei elektrobetäubten Tieren wurde ZNS ebenfalls an all diesen Probenstellen nachgewiesen, jedoch in deutlich geringerem Ausmaß als bei der Bolzenschussbetäubung. Waren nach Elektrobetäubung nur 3,6% der Proben aller untersuchten Einzelstellen positiv, so war bei Bolzenschussbetäubung mit 29,7% positiven Nachweisen ein um 8,1-fach höheres Ergebnis festgestellt worden. Betrachtet man ein einzelnes Tier als positiv, wenn bei mindestens einer Einzelprobenstelle ZNS nachgewiesen wurde, so fiel der Anteil positiver Tiere bei Bolzenschussbetäubung mit 70,8% noch um das 5-fache höher aus als bei der Elektrobetäubung mit 14,2%. Auch das Verhältnis positiver Tiere zu positiven Einzelstellen war bei der Bolzenschussbetäubung mit 2,39 enger als bei der Elektrobetäubung mit 3,89. Dies bedeutet, dass bei bolzenschussbetäubten Rindern mit positivem Ergebnis an mehr Einzelstellen ein positives Ergebnis erbracht werden konnte als bei elektrobetäubten und damit bei der Methode Bolzenschussbetäubung eine ZNS-Verschleppung in größerem Umfang angenommen werden kann.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse nach ihrer in **Tabelle 3.7** eingeteilten ZNS-Konzentrationskategorie, welche neben der Häufigkeit positiver Ergebnisse einen

weiteren Parameter für die Beurteilung des Gefahrenpotentials im Falle einer ZNS-Embolisierung darstellt, unterschieden sich die Betäubungsmethoden ebenfalls sehr deutlich. Während die positiven Proben elektrobetäubter Rinder zu 94,3% ein nur *schwach positives* und die restlichen 5,7% ein *mittel positives* Ergebnis lieferten, reagierten nur 51,9% der positiven Proben bei Bolzenschussbetäubten Rindern *schwach positiv*. Bereits jede dritte Probe (33,3%) hatte bei der Bolzenschussbetäubung eine *mittel positive* ZNS-Detektion und 14,8% der Proben zeigten einen *stark positiven* ZNS-Nachweis. Somit erfolgte die Streuung von ZNS-Material bei der Bolzenschussbetäubung nicht nur in zahlreicheren Fällen, sondern auch in beunruhigend höheren Konzentrationen im Vergleich zur Elektrobetäubung.

Auch in der Literatur wurde eine hämatogene Streuung von Gehirnmaterial bei Bolzenschussbetäubten Rindern beschrieben. Die Ursache hierfür wird in dem invasiven Trauma gesehen, das der penetrierende Bolzenschuss auf die Schädeldecke und das darunter gelegene Gehirn auslöst. Durch die massive Gewebszerstörung werden dabei das Gewebe und die Gefäße des Gehirns beschädigt und ZNS-Fragmente können somit in die Blutbahn gelangen. Da der Blutkreislauf bis zum Schlachttod durch Blutentzug noch einige Minuten nach der Betäubung intakt sein kann, besteht die mögliche Gefahr einer ZNS-Disseminierung in den Körper und die Organe des geschlachteten Tieres.

Die in der Literatur beschriebenen (s. **Tab. 2.5** und **2.6**) ZNS-Nachweisversuche bei Bolzenschussbetäubung unterscheiden sich in der Anzahl an positiven Ergebnissen teilweise deutlich von oben aufgeführten Werten, da in den eigenen Ergebnissen zumeist ein positiver ZNS-Nachweis in größerem Umfang erfolgte. Dies überrascht insofern, als dass in vorliegender Arbeit mit einem munitionsgetriebenen Bolzen betäubt wurde, dem von der SSC (2002b) im Vergleich zu den deutlich invasiveren druckluftinjizierenden oder pneumatischen Bolzenschussapparaten, wie sie in zahlreichen der erwähnten Studien verwendet wurden, ein reduziertes Gefährdungspotential im Hinblick auf eine ZNS-Embolisierung beigemessen wird. So konnten beispielsweise MUNRO (1997) und LÜCKER et al. (2002) in Untersuchungen mit ebenfalls munitionsgetriebener Bolzenschussbetäubung keine Verschleppung von ZNS-Material nachweisen. Großteils wurden in den bisher durchgeführten

Studien ZNS-Nachweisraten zwischen 0,2% und 3,2% ermittelt (GARLAND et al., 1996; SCHMIDT et al., 1999a; MOJE et al., 2001; HORLACHER et al., 2002), sowohl nach munitionsgetriebener als auch nach druckluftinjizierender Betäubung. Lediglich eine Untersuchung von ANIL et al. (1999) erbrachte mit 27% ZNS-positiven Proben ein der eigenen Studie vergleichbares Ergebnis, jedoch bei Anwendung druckluftinjizierender Bolzenschussbetäubung und einem geringen Versuchsumfang von nur 15 Proben. Ein direkter Vergleich mit anderen Studien bezüglich des Umfangs positiver Ergebnisse lässt sich generell nur schwer treffen, selbst wenn die Proben von Versuchen mit ebenfalls munitionsgetriebenen Bolzenschussapparaten stammen. Die Ursache für die deutlichen Diskrepanzen ist in der Differenz des ausgewählten Probenmaterials zu suchen. In einigen der erwähnten Studien erfolgte der ZNS-Nachweis beispielsweise über Emboli, welche nur makroskopisch erfasst werden konnten, so dass in mikroskopischen Größenordnungen vorhandenes ZNS nicht in der Untersuchung mitberücksichtigt wurde. Der Nachweis von ZNS in Jugularvenenblut, wie er in manchen Studien erfolgte, lässt nur ein punktuelles Messergebnis zu und unterliegt unter Umständen einer nicht dem reellen Bild entsprechenden Verdünnung. Dem gegenüber scheint eine ZNS-Erfassung mit dem Probenmaterial des eigenen Versuches umfassender möglich zu sein. So zeichnen sich die Tupferprobenstellen des Herzens durch eine Oberflächenstruktur aus, die ein Anheften von embolisierendem Material begünstigen könnte. Um die mangelnde Aussagekraft eines nur punktuellen Untersuchungsergebnisses einzuschränken wurden insgesamt sechs in der Blutzirkulation aufeinander folgende Herzstrukturen betupfert. Darüber hinaus wurden zusätzlich Gewebeproben vollständig als Probenmaterial überführt sowie untersucht und damit auch ein Miterfassen von ZNS-Fragmenten in mikroskopischen Größenordnungen, die in den kleinsten Gefäßstrukturen der Gewebe versacken, gewährleistet. Somit scheint die Aussage über die alarmierend hohe ZNS-Nachweisrate in den Einzelprobenstellen der vorliegenden Studie bolzenschussbetäubter Rinder einem wirklichkeitsgetreuen Bild zu entsprechen.

Beim Verfahren Elektrobetäubung wird die Unterbrechung der Blutzirkulation als der maßgebliche Grund für die Einschränkung einer möglichen Disseminierung von ZNS-Gewebe gesehen. Das durch die elektrische Herzdurchströmung ausgelöste Herzkammerflimmern (FORSTER, 2002), welche durch EKG-Ableitungen bestätigt werden

kann, führt zu einem sofortigen Kreislaufstillstand. Zudem stellt die Elektrobetäubung im Vergleich zum Bolzenschuss kein mechanisch-zerstörendes Trauma für den Schädel-Hirn-Bereich dar, was zur Folge hat, dass bei der elektrischen Durchströmung von Tieren keine Zerstörung von Gehirngewebe oder -gefäßen zu erwarten ist (SCHÜTT-ABRAHAM, 2002a). Da in der vorliegenden Studie dennoch ein positiver ZNS-Nachweis in 3,6% der Probenstellen in Herz und Lunge bzw. in 14,2% der Tiere zu erbringen war, ist ein Überwinden der Blut-Hirn-Schranke für ZNS-Partikel wohl auch ohne sichtbare Gefäßschädigung möglich. Ergebnisse von Versuchen aus der Humanmedizin belegen, dass Gehirngefäße durch akuten zerebralen Bluthochdruck einer Permeabilitätsveränderung unterliegen. Gerade bei Epilepsie, welche mit Bluthochdruck einhergeht, wurde im Tierversuch – teilweise ausgelöst durch elektrische Durchströmung und somit den Verhältnissen eines epileptiformen Anfalls im Rahmen der Elektrobetäubung gleichzusetzen – eine erhöhte Permeabilität für neuronale Proteine gemessen (WESTERGAARD et al., 1978; SUZUKI et al., 1984). Die Passage des Gefäßendothels wird dabei durch einen vesikulären Transport ermöglicht, der neben Proteinen auch möglicherweise vorhandene Erreger der BSE (pathologische Prionen) die Gefäßbarriere überwinden lassen könnte.

Es lässt sich durch vorliegende Ergebnisse allerdings keine Aussage darüber treffen, in welchem Umfang von einer tatsächlichen Passage ZNS-spezifischer Proteine bei Rindern im Rahmen einer elektrobetäubungsbedingten Epilepsie ausgegangen werden muss. Hierfür wäre eine Probennahme bei Tieren erforderlich, deren Blutzirkulation nach der Betäubung aufrecht erhalten bleibt. Dies würde eine Versuchsanordnung mit einer elektrischen Betäubung ohne Einsatz der gemäß TierSchIV vorgeschriebenen Herzelektrode, welche durch Auslösen des Herzkammerflimmerns eine mögliche hämatogene Streuung von in die Blutgefäße übergetretenem ZNS-Material maßgeblich einschränkt, erfordern. Jedoch scheint bereits die Zeitspanne von zwei Sekunden, um welche die Herzdurchströmung verzögert auf die initiale Kopfdurchströmung mit Bewusstseinsverlust durch epileptiformen Anfall, auszureichen, um eine Streuung in nachgewiesenem Umfang zu ermöglichen. Darüber hinaus kann eine Kontrolle des geforderten Herzkammerflimmerns über EKG-Ableitungen aus arbeitsschutzrechtlichen und technischen Gründen erst nach Auswurf des Tieres aus der Betäubungsbox und somit erst nach Abschluss der Betäubung durchgeführt werden. Also lässt sich keine

wissenschaftliche Aussage über die Vorgänge während der rund 20 Sekunden dauernden Durchströmung treffen. In Einzelfällen könnte ein korrekter Ansatz der Herzelektrode an der Brustbasis des Tieres nicht ausreichend gewährleistet sein und dadurch ein Herzkammerflimmern nicht unmittelbar ab Einsetzen der Herzdurchströmung induziert werden.

Da eine mögliche Disseminierung von ZNS-Material nach Elektrobetäubung bislang nur von ANIL et al. (2001) bei einem Tierumfang von 15 Schafen mit negativem Ergebnis untersucht wurde, ist ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit der Literatur, welche im allgemeinen jedoch ohne Bezug auf empirische Studien eine Streuung von ZNS-Gewebe bei der Elektrobetäubung für unwahrscheinlich hält, nicht möglich. Der von der SSC (2002b) getroffenen Einschätzung, von der Elektrobetäubung gehe keine Gefahr einer Embolisierung aus, muss aufgrund der ermittelten positiven ZNS-Nachweise allerdings widersprochen werden. Bei elektrobetäubten Rindern ist eine ZNS-Disseminierung in geringem Ausmaß möglich und somit geht auch von der Elektrobetäubung ein, wenngleich nach bisherigen Erkenntnissen nur geringes, Risiko für den Verbraucher aus. Dem gegenüber wurde für die Bolzenschussbetäubung in den eigenen Untersuchungen ein beträchtliches und deutlich höheres Risiko der Streuung von ZNS-Gewebe ermittelt.

Keine Unterscheidung der beiden Betäubungsmethoden Bolzenschuß- und Elektrobetäubung ohne Berücksichtigung des weiteren Ablaufs der Schlachtung und daraus resultierender eventueller Einflüsse (s. 5.5) konnte jedoch in den Parametern ausgemacht werden, die Rückschlüsse auf die Kontinuität der ZNS-Disseminierung entlang der Zirkulation erlauben. So ergab sich bei der Gesamtbetrachtung der Bolzenschuss- und Elektrobetäubung eine identische Staffelung der Tupferstellen nach ihrer Häufigkeit an positiven Ergebnissen. Stellt man ferner diese positiven Tupferproben bezüglich ihrer Lungendurchblutung im unmittelbaren Betäubungsmethodenvergleich einander gegenüber, so ist der Anteil ZNS-positiver Stellen nach der Lungendurchströmung (Tupfer aus dem linken Herzen) in beiden Betäubungsverfahren übereinstimmend nur um ein geringes niedriger als der Anteil ZNS-positiver Stellen vor der Lungendurchströmung (Tupfer aus dem rechten Herzen). Folglich ist bei elektrobetäubten Rindern - im Falle einer ZNS-Embolisierung - prinzipiell in gleichem Ausmaß wie bei bolzenschussbetäubten

Tieren mit einer ZNS-Disseminierung bis in das arterielle Blutsystem zu rechnen und zudem keine Ausfilterung durch das Lungenkapillarsystem zu beobachten. Dennoch erfolgte bei der Elektrobetäubung mit 4,2% positiven Lungengewebsproben ein anteilig unerwartet häufiger ZNS-Nachweis in der Lunge. Während dieses Ergebnis dem Mittelwert der positiven Tupferproben bei der Elektrobetäubung genau entsprach, fiel bei der Bolzenschussbetäubung das positive Lungenergebnis um 4,6-mal niedriger aus als der positive Tupferproben-Mittelwert dieser Betäubungsmethode. Die Ursache, weshalb bei dem Elektrobetäubungsverfahren im Verhältnis zum Tupferprobenergebnis anteilig mehr positive Lungenproben ermittelt wurden, ist spekulativ und wird unter Punkt 5.5 erörtert.

## 5.5 Vergleich der Betriebsergebnisse

Beide Betäubungsmethoden wurden an jeweils zwei Schlachtbetrieben untersucht, um durch einen Vergleich der zwei Betriebsergebnisse innerhalb einer Betäubungsmethode eine breitere Aussagekraft zu gewährleisten. Da sich die betrieblichen Nachweisergebnisse der jeweiligen Betäubungsverfahren unterschieden, ist von einem Einfluss äußerer Faktoren auf das Vorkommen einer ZNS-Streuung auszugehen.

Innerhalb der beiden Betriebe mit munitionsgetriebenem, penetrierendem **Bolzenschussbetäubungsverfahren** konnte in Schlachthof C durchschnittlich um den Faktor 1,2 mal zahlreicher ein ZNS-Nachweis erbracht werden als in Schlachthof D. So waren in Betrieb C 75% der untersuchten Tiere mit mindestens einem positiven ZNS-Nachweis, während in Betrieb D bei 66,7% der Tiere ein positives Ergebnis festgestellt worden war. Auch die Anzahl der positiven Tupferstellen war in Schlachthof C (um 1,2 mal) höher als in Betrieb D, jedoch war die Staffelung der einzelnen Tupferprobenstellen nach der Häufigkeit ihrer positiven Ergebnisse übereinstimmend. Das Verhältnis der Anzahl positiver Tiere zu anteilig positiven Einzelprobenstellen ergab in Betrieb C den Faktor 2,31 und in Betrieb D den Faktor 2,48. Da somit auch je positivem Tier eine nahezu identische Anzahl an positiven Einzelprobenstellen ermittelt werden konnte, lässt sich im Falle einer ZNS-Embolisierung in beiden Betrieben eine übereinstimmende Kontinuität der Verschleppung schlussfolgern.

Eine Analyse der festgestellten ZNS-positiven Betriebsergebnisse in Abhängigkeit der Probenmenge lässt wie unter Punkt 5.3 erwähnt einen Einfluss von äußeren Faktoren, beispielsweise durch das Arbeitspersonal oder den Stresszustand der Tiere, auf den Betäubungserfolg mutmaßen: in Betrieb C schwankte die Anzahl positiver Tiere je Probenmenge zwischen 53,3% und 93,3%. Ein extrem hohes Tagesergebnis war auch in Betrieb D mit 95% positiver Tiere an einem Probenmenge zu erbringen, jedoch wurde an einem weiteren Probenmenge bei nur 14,3% der untersuchten Tiere eine ZNS-Streuung nachgewiesen. Ein Einfluss von Rasse und Geschlecht der untersuchten Tiere auf die stark schwankenden Tagesergebnisse ist auszuschließen, da nur weibliche Rinder über 24 Monate der Rasse deutsches Fleckvieh als Untersuchungsmaterial verwendet worden waren.

Im Vergleich der beiden **Elektrobetäubungs**betriebe wies Schlachthof A eine deutlich höhere (im Durchschnitt um den Faktor 3,3) Anzahl ZNS-positiver Ergebnisse auf als Schlachthof B. In Betrieb B gab es sogar - als einziger der vier in der Studie überprüften Betriebe - Probenstellen, an denen nie ein positiver Nachweis erbracht werden konnte (Lunge sowie Vorhof und Kammer des linken Herzens). Das Verhältnis anteilig positiver Einzelstellen je positivem Tier und darüber hinaus das Verhältnis der positiven Tupferprobenstellen vor und nach Durchströmen des Lungenkreislaufs als Parameter für die Kontinuität der ZNS-Disseminierung sind jedoch in beiden Elektrobetäubungsbetrieben übereinstimmend. Folglich unterscheiden sich die Betriebe A (21,7% positive Tiere) und B (6,7% positive Tiere) nur in der Häufigkeit einer ZNS-Embolisierung.

Jedoch ist zu beachten, dass sich an die Elektrobetäubung verschiedene Technologien der Entblutung anschlossen. Während in Betrieb B alle Tiere nach Auswurf aus der Betäubungsbox auf einem Förderband im Liegen entblutet werden, erfolgte in Betrieb A die Entblutung bei der ersten Hälfte der beprobten Tiere im Hängen, ehe dort ebenfalls auf Liegendblutung umgestellt wurde. Zeitgleich mit der Einrichtung einer neuen Entblutungs Vorrichtung erfolgte in Betrieb A darüber hinaus eine Modifizierung der Herzelektrode. Beim Vergleich der Ergebnisse liegendentbluteter Tiere von Betrieb A mit den Resultaten von Betrieb B (ebenfalls Liegendentblutung) ist die Anzahl positiver Ergebnisse nur geringfügig niedriger als das Verhältnis der positiven Ergebnisse hängendentbluteter Tiere von Betrieb A zu

Betrieb B. Eine deutliche Differenz zeigt sich jedoch in der Gegenüberstellung der positiven Ergebnisse innerhalb des Schlachthofes A bezüglich Hängend- und Liegendentblutung. So war die Anzahl positiver Tiere nach Hängendentblutung um das 1,6-fache höher als die Anzahl bei liegendentbluteten Tieren. Nach Liegendentblutung konnte an den Probenstellen linker Herzvorhof und Lunge sogar in keiner der untersuchten Proben ZNS nachgewiesen werden, wohingegen bei hängendentbluteten Tieren die Lunge die Probenstelle mit dem häufigsten (5) positiven Einzelstellenresultat war. Trotz dieses positiven Lungenergebnisses stieg bei der Entblutung im Hängen die zusammengefasste Anzahl positiver Tupferstellen nach dem Lungenkreislauf (6) im Vergleich zu den Tupferstellen vor dem Lungenkreislauf (4) an. Bei der Entblutung im Liegen hingegen reduzierte sich die Anzahl von 8 positiven Tupferstellen vor der Lungendurchströmung um die Hälfte auf 4 positive Tupferstellen nach der Lungendurchströmung, bei keinem einzigen positiven Lungengewebsergebnis. Somit ist ein positiver ZNS-Nachweis in der Lunge unter Umständen kein Indikator für eine Ausfilterung von ZNS-Fragmenten aus der Zirkulation, sondern eher ein Hinweis für eine Nachhaltigkeit der Streuung mit dem Blutfluss. In Anbetracht der anteilig häufig positiven Lungenergebnisse sowie der insgesamt höheren Anzahl positiver ZNS-Ergebnisse bei Elektrobetäubung im Zusammenhang mit der Methode Hängendentblutung stellt sich die Frage nach ursächlichen Faktoren. Die Technologie der Entblutung könnte dabei eine gewisse Rolle spielen. Prinzipiell ist zwar davon auszugehen, dass bei der Elektrobetäubung aufgrund des zeitnah auf die Betäubung eintretenden Herzkammerflimmerns eine ZNS-Disseminierung nur über einen relativ kurzen Zeitraum stattfinden kann, so dass die sich anschließende Schlachttechnologie keinen weiteren Einfluß auf das sowieso geringe Ausmaß der Streuung haben sollte. Auf der anderen Seite ist jedoch vorstellbar, dass in Einzelfällen durch das Hochziehen der Tiere bei der Hängendentblutung das Herz durch den Vorfall des Pansens stimuliert werden kann und dieses wieder in den Sinusrhythmus zurückkehrt. Dies würde den im Vergleich zur Liegendentblutung vermehrten Anteil positiver Probenstellen nach dem Lungenkreislauf, also bereits an einer weiter fortgeschrittenen Stelle des Blutkreislaufs, erklären.

Weiterhin könnte der erwähnten Veränderung der Herzelektrode - zeitgleich zum Umbau der Entblutungsvorrichtung vorgenommen - ein maßgeblicher Einfluss



zukommen. Unter Berücksichtigung der deutlich sinkenden Anzahl nachgewiesener hämatogener ZNS-Streuung bei Einsatz der modifizierten Herzelektrode in Betrieb A kann die Annahme, die Unterbindung einer ZNS-Disseminierung hänge wesentlich von einer erfolgreichen Herzdurchströmung ab, bekräftigt werden. Die neu installierte Herzelektrode ermöglicht nämlich durch einen eingebauten Gelenkkopf ein optimiertes Heranführen und Ansetzen der Elektrodenkontaktfläche an die Brustbasis des Tieres.

Dass Betrieb B mit nur 2,1 Ampère im Vergleich zu Betrieb A mit 3,2 Ampère - bei einem sonst identischen Elektrobetäubungsablauf - eine deutlich geringere Stromstärke zur Betäubung einsetzte, könnte einen weiteren Grund für die unterschiedlichen Resultate der beiden Betriebe darstellen. Die Schlussfolgerung wäre, dass es infolge einer Durchströmung mit höherer Stromstärke zu einem erhöhten Blutdruckanstieg in den cerebralen Gefäßen kommt. Nach WESTERGAARD et al. (1978) und SUZUKI et al. (1984) reagieren die Gehirngefäße daraufhin mit einer erhöhten Gefäßpermeabilität, wodurch eine erhöhte Passage von ZNS-Gewebe in die Blutbahn ermöglicht wird. Zudem unterscheiden sich die Betriebe A und B in ihrer Schlachtkapazität: in Betrieb B wird stündlich bei identischer Betäubungsanlage nur die Hälfte der Tieranzahl betäubt wie in Betrieb A, was einen eventuell reibungsloseren Zutrieb der Tiere zur Betäubung ermöglicht, der sich günstig auf die Stressbelastung der Tiere und somit auf das Betäubungsergebnis auswirken könnte. Deutliche Schwankungen in den positiven Tagesergebnissen auch bei den Betrieben mit Elektrobetäubung untermauern überdies erneut den Einfluss verschiedener sog. äußerer Faktoren auf eine ZNS-Streuung in Abhängigkeit des Betäubungsergebnisses. So variierten die Ergebnisse positiver Tiere in Betrieb A beträchtlich zwischen 0 und 46,2% je Probenstag, in Betrieb B hingegen zeigte sich ein relativ konstantes Tagesergebnis mit Resultaten zwischen 0 und 8,3%. Die Tatsache, dass an einzelnen Probenstagen ein ZNS-Nachweis aller untersuchten Proben negativ verlief, stellt Potential für eine Optimierung von möglichen erwähnten Schwachstellen im Sinne der Vermeidung von ZNS-Embolisierung dar.

## 5.6 Einschätzung des Gefahrenpotentials

Aufgrund des aufgezeigten Ausmaßes einer möglichen ZNS-Disseminierung besteht für den Verbraucher das Risiko, dass mit Herz und Lunge ZNS-kontaminierte Schlachtprodukte in die Nahrungsmittelkette gelangen könnten. So sollten die Organe Herz und Lunge, welche bislang unabhängig von der Tierart für den menschlichen Verzehr geeignet sind und in geringem Umfang in Fleischerzeugnissen verarbeitet werden (N.N., 1998), aus Gründen des vorbeugenden Verbraucherschutzes nachhaltig aus der menschlichen Nahrungskette ausgeschlossen werden. Die Einschätzung der SSC (2002b), wonach bei der Anwendung penetrierender Betäubungsmethoden die Organe Lunge mit Lungenarterie, rechtes Herz und Blut als gefährdet für eine ZNS-Kontamination gelten, ist auf das linke Herz auszuweiten und eventuell auch auf das Verfahren Elektrobetäubung. Ferner gilt es abzuwägen, ob der Forderung des ehemaligen Bundesinstitutes für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Verbrauchersicherheit (BgVV), bei Bolzenschussbetäubten Tieren u. a. Blut, Herz und Lunge zu SRM zu erklären (N.N., 2001c) folge geleistet werden und diese Einstufung ebenfalls auf das Elektrobetäubungsverfahren ausgedehnt werden sollte. Denn auch bei dieser Betäubungsmethode kommt es wie in der vorliegenden Studie ermittelt, zu einer Streuung von ZNS-Material, jedoch in weitaus geringerem Umfang als bei der Bolzenschussbetäubung. Aus diesem Grunde ist die Elektrobetäubung im Methodenvergleich der Bolzenschussbetäubung, von der ein beträchtliches ZNS-Kontaminationsrisiko ausgeht, deutlich vorzuziehen.

Aussagen von Autoren, welche die Verschleppung von ZNS in die Lunge infolge Bolzenschussbetäubung nur als extrem selten einschätzen (u. a. HORLACHER et al., 2000; LÜCKER et al., 2002; FRIES, 2003), muss widersprochen werden. Aufgrund fehlender Kenntnis der Höhe der oralen humanen Infektionsdosis und der zudem nicht möglichen Quantifizierung des hämatogen disseminierten ZNS-Materials ist eine abschließende Aussage über das tatsächliche Gefährdungspotential für den Verbraucher im Falle des Verzehrs kontaminierter Schlachtprodukte derzeit jedoch kaum zu erbringen. Inwieweit es durch arterielles Blut zu einer ZNS-Streuung und ZNS-Kontamination in den anschließenden Körperkreislauf kommen kann, müsste außerdem durch weitergehende Untersuchungen abgeklärt werden. Auch der

mögliche Einfluss äußerer Faktoren auf eine hämatogene ZNS-Disseminierung, welcher bereits wiederholt im Hinblick auf die teilweise stark schwankenden Probenergebnisse innerhalb der untersuchten Betriebe und Probenmenge erwähnt wurde, sollte für eine anzustrebende Optimierung der Betäubungsverfahren für Rinder im Sinne des Verbraucherschutzes weiter Beachtung finden.

Das oben erwähnte, deutlich reduzierte Gefährdungspotential der Elektrobetäubung im Vergleich zur Bolzenschussbetäubung wird nochmals untermauert, indem man die Ergebnisse der elektrobetäubten Tiere nach Liegendentblutung isoliert betrachtet. So lag der Anteil von positiven Tieren, die liegend entblutet wurden - im Gegensatz zu den in Betrieb A hängend entbluteten Tieren - bei nurmehr 10%. Auch bezüglich der Kontinuität der hämatogenen ZNS-Streuung entlang der Zirkulation konnte mit insgesamt 13 positiven Tupferstellen vor der Lungendurchströmung zu 7 positiven nach der Lungenzirkulation eine Disseminierung in geringerem Ausmaß festgestellt werden. Da die Hängendentblutung aus tierschutzrelevanten Aspekten nicht eingesetzt werden soll und folglich in der Praxis kaum Anwendung findet, sind daher bei der Einschätzung des Risikopotentials nur die Resultate der Elektrobetäubung mit Liegendentblutung heranzuziehen. Diese Ergebnisse zeigen im Vergleich zur Bolzenschussbetäubung eine deutliche Risikominimierung für den Verbraucherschutz auf.

## 6 Schlussfolgerungen

1. Im Rahmen der Bolzenschussbetäubung kommt es bei Rindern in erheblichem Umfang zu einer hämatogenen Streuung von ZNS-Material in die Organe Herz und Lunge. Auch bei der Elektrobetäubung findet eine ZNS-Disseminierung statt, jedoch in einer weitaus geringeren Anzahl an Tieren und deren untersuchten Probenstellen, so dass die elektrische Betäubung dem Bolzenschussbetäubungsverfahren aus der Sicht des Verbraucherschutzes vorzuziehen ist.

2. Einhergehend mit einem häufigen positiven ZNS-Nachweis wurden bei bolzenschussbetäubten Tieren auch ZNS-Ergebnisse von erhöhter Konzentration nachgewiesen, während die ZNS-Ergebnisse elektrobetäubter Tiere weitestgehend von nur schwach positiver Konzentration waren.

3. In allen Tupferprobenstellen des Herzens sowie in der Lungengewebsprobe konnte unabhängig vom Betäubungsverfahren ZNS nachgewiesen werden. Somit erfolgte eine kontinuierliche Verschleppung von ZNS-Material entlang der Blutzirkulation, ohne dass eine Ausfilterung bzw. Verdünnung durch die Lungenkapillaren beobachtet werden konnte. Die Kontinuität der ZNS-Verschleppung bis in die Aorta, und somit möglicherweise in den arteriellen Kreislauf hinein, zeigte sich dabei unabhängig von der Anzahl positiver Ergebnisse der Betäubungsmethoden oder Betriebe.

4. Trotz der Möglichkeit einer arteriellen Disseminierung von ZNS-Material wurde im Myokard kein ZNS-Nachweis erbracht. Das Myokard war somit die einzige Probenstelle mit negativem Ergebnis.

5. Die Ergebnisse variierten nicht nur innerhalb der beiden Betäubungsmethoden, sondern aufgrund äußerer Faktoren auch zwischen den zwei Betrieben der jeweiligen Betäubungsverfahren. Ferner zeigte unter dem Einfluss äußerer Faktoren die Ermittlung positiver Ergebnisse starke Schwankungen in Abhängigkeit der Probenmenge.

## 7 Zusammenfassung

Im Hinblick auf die Problematik der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) und ihrer möglichen Übertragbarkeit auf den Menschen muss dem vorbeugenden Verbraucherschutz nachhaltig Rechnung getragen werden. So geht vor allem von einer möglichen ZNS-Kontamination im Rahmen der Betäubung von Rindern ein definitives Risiko aus, weshalb die konventionelle Bolzenschussbetäubung in die Kritik geraten ist und die Elektrobetäubung als mögliche Alternative betrachtet wird. Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, bei diesen beiden beim Rind zulässigen Betäubungsverfahren die Streuung von ZNS-Gewebe über die Blutzirkulation in innere Organe zu untersuchen.

Um die Bolzenschuss- und die Elektrobetäubung bezüglich einer ZNS-Disseminierung miteinander vergleichen zu können, wurden beide Methoden an jeweils zwei Schlachtbetrieben überprüft, wobei pro Betrieb 60 weibliche Rinder an jeweils acht Probenstellen in Herz und Lunge untersucht wurden. Somit ergab sich eine Gesamtprobenzahl von 1920 Einzelproben. Die Probenstellen waren im Einzelnen sechs aufeinanderfolgende Herzstrukturen, nämlich Vorhof und Kammer des rechten und linken Herzens sowie *Truncus pulmonalis* und Aorta, beprobt mit einem Wattetupfer, und zwei Gewebeproben von Lungenparenchym und Myokard. Zum Nachweis einer ZNS-Kontamination der einzelnen Probenstellen wurde ein immunzytochemisches Verfahren eingesetzt, welches das ZNS-spezifische Markerprotein GFAP detektiert.

Die Untersuchungen zeigten auf, dass an allen sechs Tupferprobenstellen des Herzens und der Lungengewebsprobe ZNS-positive Ergebnisse ermittelt wurden, und somit im Falle einer Embolisierung - unabhängig von der Betäubungsmethode - eine Kontinuität der ZNS-Streuung entlang der Zirkulation zu beobachten war. Je Tier mit positivem Ergebnis konnte im Durchschnitt an 3,2 untersuchten Einzelprobenstellen ZNS nachgewiesen werden. Indem die Anzahl positiver Tupferstellen des linken Herzens, und somit anatomisch nach der Lungendurchströmung, nur um ein geringes niedriger ausfiel im Vergleich zu den dem Lungenkreislauf vorgelagerten Tupferstellen des rechten Herzens, konnte keine Ausfilterung und damit verbundene Verdünnung des im Blut zirkulierenden ZNS-

Gewebes durch das engmaschige Lungenkapillarsystem festgestellt werden. An der Tupferprobenstelle Aortenursprung konnte sogar das zweithäufigste positive Einzelstellenresultat nachgewiesen werden, was eine weitere Streuung von ZNS-Material über die arterielle Zirkulation in den Körperkreislauf erwarten lässt.

Beim Vergleich der Betäubungsmethoden zeigte sich, dass bei Bolzenschussbetäubten Rindern mit 29,7% positiven Einzelprobenstellen in einer großen Anzahl der untersuchten Proben ZNS nachgewiesen wurde, und somit ein nicht zu vernachlässigendes Risiko für den Verbraucher beim Verzehr der Schlachtprodukte Herz und Lunge besteht. Auch bei elektrobetäubten Rindern konnte eine ZNS-Streuung in die Einzelprobenstellen festgestellt werden, jedoch nur in 3,6% der untersuchten Proben. Somit erfolgte bei Bolzenschussbetäubung in erheblich größerem Umfang, und darüber hinaus in höheren Konzentrationen, eine ZNS-Disseminierung als bei der Elektrobetäubung. Betrachtet man ein Tier als positiv, wenn an mindestens einer der insgesamt acht untersuchten Einzelprobenstellen ein positives Ergebnis ermittelt wurde, so konnte bei Bolzenschussbetäubung in 70,8% der beprobten Tiere ZNS nachgewiesen werden, während bei Elektrobetäubung mit 14,2% positiven Tieren ein um das Fünffache geringeres ZNS-Ergebnis nachgewiesen wurde. Zudem zeigte sich ein Einfluss äußerer Faktoren durch teilweise deutlich schwankende Ergebnisse bei den Betrieben innerhalb einer Betäubungsmethode beispielsweise in Abhängigkeit der Methode der Entblutung und der untersuchten Probenmenge. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, das Risiko der Kontamination mit ZNS-Material durch Optimierungsmaßnahmen bezüglich der Betäubungsverfahren weiter zu minimieren.

Zusammenfassend muss herausgestellt werden, dass die Elektrobetäubung das einzige beim Rind zur Verfügung stehende Betäubungsverfahren darstellt, bei dem eine ZNS-Streuung wirksam unterbunden werden kann, und es somit Bemühungen um deren optimierten Einsatz in der Routineschlachtung zu intensivieren gilt.

## 8 Summary

### **Study on hematogenic dissemination of CNS tissue depending on stunning method**

With respect to Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) and the possible transmission of this disease to humans preventive measures to ensure consumer protection have to be taken. Especially contamination with tissue of the central nervous system (CNS) resulting from cattle stunning is associated with a definite risk. In this context, the commonly used conventional method of captive bolt stunning has been subject to criticism whereas electrical stunning is considered a possible alternative. The aim of the present study was the examination of CNS dissemination via blood circulation into inner organs of slaughter animals after application of these two stunning methods currently approved for stunning cattle in Germany.

In order to be able to directly compare captive bolt and electrical stunning both of the methods were examined in two slaughterhouses. In each of the four slaughterhouses 60 female cows were included in the investigation. Of each animal eight samples were taken, resulting in a total of 1920 individual samples. The following consecutive heart structures were sampled by swabbing: right atrium and ventricle, pulmonary trunk, left atrium and ventricle and aorta. In addition, lung and myocardium tissue samples were taken. The CNS contamination of the samples was analysed using an immunological method based on the detection of a CNS specific marker protein.

Positive results and therefore CNS contamination could be shown in all of the six heart structures sampled by swabbing and also in lung tissue. Therefore, in the case of neural embolism due to stunning a continuous dissemination of CNS tissue along the bloodstream was observed irrespective of the stunning method used. In each positive animal an average of 3.2 individual samples was positive. The number of positive swabs taken from the structures of the left heart, the anatomical location of which is subsequent to blood passage of the lung, was only slightly lower than that of the positive samples originating from the right heart situated prior to pulmonary circulation. Therefore, proof for filtration and resulting dilution of CNS tissue

circulating in the blood by passage through the pulmonary capillary system could not be established. The samples taken from the origin of the aorta even showed the second highest contamination rate, which implies that a further dissemination of CNS material via the arterial blood stream is to be expected.

The comparison of the stunning methods showed that in cattle stunned with a captive bolt 29.7% of the individual samples were positive. This large number of samples in which CNS was detected indicates that the risk for the consumer associated with consumption of the by-products heart and lung is not to be neglected. After electrical stunning positive results were also obtained, yet in only 3.6% of the individual samples examined. Therefore, captive bolt stunning was associated with CNS dissemination to a considerably higher extent and also in higher concentrations in comparison to electrical stunning. An animal was considered positive when at least one of the eight individual samples taken from that animal showed a positive result. While in 70.8% of the animals stunned with a captive bolt CNS was detected, only 14.2% of the animals were positive after electrical stunning. In addition, the results were shown to be influenced by external factors as clear variations between slaughterhouses using the same stunning technique occurred, depending e.g. on the method of bleeding and the day of sampling. From this, the necessity of further minimizing the risk of CNS contamination by optimizing stunning technology arises.

In summary, it has to be emphasized that electrical stunning is the only method currently available for stunning cattle with the potential to effectively prevent CNS dissemination. Therefore, the efforts to optimize the use of this technique in routine slaughter should be intensified.



## 9 Literaturverzeichnis

Aguzzi, A. (2001a):

**BSE und Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung.**

In: Stockmeyer Stiftung für Lebensmittelforschung (Hrsg.); BSE – eine unendliche Geschichte?!; Werkstattbericht 7 vom 24.10.2001; Bonn; S. 36-53

Aguzzi, A. (2001b):

**Blood simple prion diagnostics.**

Nat. Med., **7**: 289-290

Almond, J.W. (1998):

**Bovine spongiform encephalopathy and new variant Creutzfeldt-Jakob disease.**

Brit. Med. Bull., **54**: 749-759

Anil, M.H.; Love, S.; Williams, S.; Shand, A.; Mc Kinstry, J.L.; Helps, C.R.;

Waterman-Pearson, A.; Seghatchian, J.; Harbour, D.A. (1999):

**Potential contamination of beef carcasses with brain tissue at slaughter.**

Vet. Rec., **145**: 460-462

Anil, M.H.; Harbour, D.A. (2001):

**Current stunning and slaughter methods in cattle and sheep.**

Fleischwirtsch., **11**: 123-124

Anil, M.H.; Love, S.; Helps, C.R.; Mc Kinstry, J.L.; Brown, S.N.; Philips, A.; Williams, S.; Shand, A.; Bakirel, T.; Harbour, D.A. (2001):

**Jugular venous emboli of brain tissue induced in sheep by the use of captive bolt guns.**

Vet. Rec., **148**: 619-620

Anil, M.H.; Love, S.; Helps, C.R.; Harbour, D.A. (2002):

**Potential for carcass contamination with brain tissue following stunning and slaughter in cattle and sheep.**

Food Control, **13**: 431-436

Aupperle, H.; Lücker, E.; Overhoff, M.; Schoon, H.A. (2002):

**Verfahren zum Nachweis von im Hinblick auf die BSE unerwünschten Zutat  
in Fleischerzeugnissen.**

Fleischwirtsch., **3**: 100-104

Bäuerle, B.; Sperner, B.; Forster, S.; Stolle, A. (2004):

**ZNS-Kontamination von Schlachtkörperhälften beim Prozessschritt Spaltung.**

45. Tagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“; Garmisch-Partenkirchen;  
28.09-1.10.04

Banks, W.A.; Niehoff, M.L.; Adessi, C.; Soto, C. (2004):

**Passage of murine scrapie prion protein across the mouse vascular blood-  
brain barrier.**

Biochem. Biophys. Res. Commun., **318**: 125-130

Barlow, R.M.; Middleton, D.J. (1990):

**Dietary transmission of bovine spongiform encephalopathy to mice.**

Vet. Rec., **126**: 111-112

Bauer, N.E.; Garland, T.; Edwards, J.F. (1996):

**Brain emboli in slaughtered cattle.**

Vet. Pathol., **33**: 600

Blackmore, D.K.; Delany, M.W. (1988):

**Slaughter of stock – A practical review and guide.**

Dep. Of Vet. Pathology and Public Health, Massey Univ., Palmerston North New  
Zealand; Publ. No. 118

Bodemer, W.; Kaup, F.J. (2002):

**Grundlagen zur Übertragbarkeit der BSE auf den Menschen.**

Dtsch. Tierärztl. Wschr., **109**: 338-341

Bons, N.; Lehmann, S.; Mestre-Francès, N.; Dormont, D.; Brown, P. (2002):  
**Brain and buffy coat transmission of BSE to the primate *Microcebus murinus*.**  
Transfusion, **42**: 513-516

Braun, U.; Kihm, U.; Pusterla, N.; Schönmann, M. (1997):  
**Klinischer Untersuchungsgang bei Verdacht auf bovine spongiforme  
Enzephalopathie (BSE).**  
Schweiz. Arch. Tierheilk., **139**: 35-41

Braun, U.; Schicker, E.; Pusterla, N.; Schönmann, M. (1998):  
**Klinische Befunde bei 50 Kühen mit boviner spongiformer Enzephalopathie  
(BSE).**  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **111**: 27-32

Brenig, B.; Schütz, E.; Urnovitz, H. (2002):  
**Zelluläre Nucleinsäuren im Serum und Plasma als neue diagnostische  
Werkzeuge.**  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **115**: 122-124

Britton, T.; Al-Sarraj, S.; Shaw, C.; Campbell, T.; Collinge, J. (1995):  
**Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in a 16-year-old in the UK.**  
Lancet, **346**: 1155

Brown, P.; Rohwer, R.G.; Dunstan, B.C.; MacAuley, C.; Gajdusek, D.C.; Drohan,  
W.N. (1998):  
**The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in  
experimental models of TSE.**  
Transfusion, **38**: 810-816

Bruce, M.; Chree, A.; McConnell, I.; Foster, J.; Pearson, G.; Fraser, H. (1994):  
**Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice:  
strain variation and the species barrier.**  
Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci., **343**: 405-411

Bruce, M.; Will, R.; Ironside, J.; McConell, I.; Drummond, D.; Suttie, A.; McCardle, L.; Chree, A.; Hope, J.; Birkett, C.; Cousens, S.; Fraser, H.; Bostock, C. (1997):

**Transmissions to mice indicate that “new variant” CJD is caused by the BSE agent.**

Nature, **389**: 498-501

Bucher, M.; Forster, S.; Stolle, A. (2003):

**Entblutung beim Rind im Rahmen der Elektrobetäubung.**

44. Tagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“; Garmisch-Partenkirchen; 29.09-2.10.03; DVG-Eigenverlag, Gießen; 188-191

Budka, H. (1998):

**Übertragbare spongiforme Enzephalopathien – Erkrankungen des Menschen.**

Wien. Münch. Wschr., **4**: 86-95

Budka, H.; Aguzzi, A.; Brown, P.; Brucher, J.M.; Bugiani, O.; Gullotta, F.; Haltia, M.; Hauw, J.J.; Ironside, J.W.; Jellinger, K.; Kretzschmar, H.A.; Lantos, P.L.; Masullo, C.; Schlote, W.; Tateishi, J.; Weller, R.O. (1995):

**Neuropathological diagnostic criteria for Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (prion diseases).**

Brain Pathol., **5**: 459-466

Büeler, H.R.; Fischer, M.; Lang, Y.; Bluethmann, H.; Lipp, H.P.; DeArmond, S.J.; Prusiner, S.B.; Aguet, M.; Weissmann, C. (1992):

**Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein.**

Nature, **356**: 577-582

Buncic, S.; McKinstry, J.; Reid, C.A.; Anil, M.H. (2002):

**Spread of microbial contamination associated with penetrative captive bolt stunning of food animals.**

Food Control, **13**: 425-430

Castilla, J.; Gutierrez-Adan, A.; Brun, A.; Doyle, D.; Pintado, B.; Ramirez, M.A.; Salguero, F.J.; Parra, B.; Diaz San Segundo, F.; Sanchez-Vizcaino, J.M.; Rogers, M.; Torres, J.M. (2004):

**Subclinical bovine spongiform encephalopathy infection in transgenic mice expressing porcine prion protein.**

J. Neurosci., **24**: 5063-5069

Collee, J.G.; Bradley, R. (1997):

**BSE: a decade on – part 2.**

Lancet, **349**: 715-721

Collinge, J. (1999):

**Variant Creutzfeldt-Jakob disease.**

Lancet, **354**: 317-323

Collinge, J.; Sidle, K.C.L.; Meads, J.; Ironside, J.; Hill, A.F. (1996):

**Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of new variant CJD.**

Nature, **383**: 685-690

Collins, K.A.; Davis, G.J. (1994):

**A retrospective and prospective study of cerebral tissue pulmonary embolism in severe head trauma.**

J. Forens. Sci., **39**: 624-628

Cook, C.J.; Devine, C.E. (2002):

**Electrical stunning of cattle: aspects of animal welfare and meat quality.**

Abstract; 22. World Buiatrics Congress; Hannover

Coore, R.R.; Love, S.; Mc Kinstry, J.L.; Weaver, H.R.; Phillips, A.; Hillman, T.; Hiles, M.J.; Shand, A.; Helps, C.R.; Anil, M.H. (2004):

**Dissemination of brain emboli following captive bolt stunning of sheep: capacity for entry into the systemic arterial circulation.**

J. Food Prot., **67**: 1050-1052

Creutzfeldt, H. (1920):

**Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems.**

Z. Ges. Neurol. Psychiat., **57**: 1-20

Daly, D.J.; Prendergast, D.M.; Sheridan, J.J.; Blair, I.S.; McDowell, D.A.: (2002):

**Use of a marker organism to model the spread of central nervous system tissue in cattle and the abattoir environment during commercial stunning and carcass dressing.**

Appl. Environ. Microbiol., **68**: 791-798

Diringer, H.; Beekes, M.; Oberdieck, U. (1994):

**The nature of the scrapie agent: The virus theory.**

Ann. N.Y. Acad. Sci., **724**: 246-258

Diringer, H.; Roehmel, J.; Beekes, M. (1998):

**Effect of repeated oral infection of hamsters with scrapie.**

J. Gen. Virol., **79**: 609-612

Dyce, K.M.; Sack, W.O.; Wensing, C.J. (1991):

**Das Kreislaufsystem.**

In: Budras, K.D.; Goller, H.; Hofmann, R.R.; Hummel, G.; Weyrauch, K.D. (Hrsg.):

Anatomie der Haustiere; Enke, Stuttgart; 340-343

Endres, J. (2005):

**Effektivität der Schuss-Schlag-Betäubung im Vergleich zur Bolzenschussbetäubung von Rindern in der Routineschlachtung.**

Diss. Vet. Med., Univ. München; im Druck

Eng, L.F. (1985):

**Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP): the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes.**

J. Neuroimmun., **8**: 203-214

Fischer, M.B.; Roeckl, C.; Parizek, P.; Schwarz, H.P.; Aguzzi, A. (2000):

**Binding of disease-associated prion protein to plasminogen.**

Nature, **408**: 479-483

Forster, S. (2002):

**SRM – Management und alternative Betäubungsverfahren.**

Fortbildungsveranstaltung der amtlichen Tierärzte; München; 1.10.- 2.10.2002

Forster, S.; Stolle, A. (2002):

**BSE und SRM – immer noch ein Thema?**

Tierärztl. Praxis, **80**: 419-421

Forster, S.; Stolle, A.; Maierl, J.; Liebich, H.G. (2002):

**Anatomie setzt natürliche Grenzen.**

Fleischwirtsch., **1**: 17-21

Forster, S.; Sperner, B.; Stolle, A. (2003a):

**Rückenmarksentnahme beim Rind – Theorie und Praxis.**

44. Tagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“; Garmisch-Partenkirchen; 29.09-2.10.03; DVG-Eigenverlag, Gießen; 192-195

Forster, S.; Aichinger, C.; Bucher, M. (2003b):

**Elektrobetäubungsverfahren beim Rind.**

Bayer. Tierärztetag; München; 30.05.2003

Foster, J.D.; Hope, J.; Fraser, H. (1993):

**Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats.**

Vet. Rec., **133**: 339-341

Foster, J.D.; Parnham, D.; Chong, A.; Goldmann, W.; Hunter, N. (2001a):

**Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural scrapie to sheep and goats.**

Vet. Rec., **148**: 165-171

Foster, J.D.; Parnham, D.; Hunter, N.; Bruce, M. (2001b):

**Distribution of the prion protein in sheep terminally affected with BSE following experimental oral transmission.**

J. Gen. Virol., **82**: 2319-2326

Fries, R. (2003):

**Nachweis von Gehirn und Rückenmark im Hinblick auf TSE.**

Fleischwirtsch., **8**: 108-110

Fries, R.; Eggers, T.; Hildebrandt, G.; Rauscher, K.; Buda, S.; Budras, K.D. (2003):

**Autonomous nervous system with respect to dressing of cattle carcasses and its probable role in transfer of PrP<sup>res</sup> molecules.**

J. Food Prot., **66**: 890-895

Gajdusek, D.; Zigas, V. (1957):

**Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea – The endemic occurrence of Kuru in the native population.**

N. Engl. J. Med., **257**: 974-978

Garland, T.; Bauer, B.; Bailey, M. (1996):

**Brain emboli in the lungs of cattle after stunning.**

Lancet, **348**: 610

Gerstmann, J. (1928):

**Über ein noch nicht beschriebenes Reflexphänomen bei einer Erkrankung des zerebellären Systems.**

Wien. Med. Wochenschr., **78**: 906-908

Glatzel, M.; Abela, E.; Maissen, M.; Aguzzi, A. (2003):

**Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease.**

N. Engl. J. Med., **349**: 1812-1820



Gregory, N.G. (1998):

**Animal welfare and meat science.**

CAB International, New York; 74-92

Groschup, M.H.; Stolze, A. (2002):

**BSE- und Scrapie-Diagnostik in Deutschland.**

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **115**: 106-110

Groschup, M.H.; Stolze, A.; Kramer, M. (2002):

**BSE/TSE – Aktuelle epidemiologische und diagnostische Situation.**

Dtsch. Tierärztl. Wschr., **109**: 463-469

Häggendal, E.; Johansson, B. (1972):

**On the pathophysiology of the increased cerebrovascular permeability in acute arterial hypertension in cats.**

Acta Neurol. Scandinav., **48**: 265-270

Hatfield, S.; Challa, V.R. (2004):

**Embolism of cerebral tissue to lungs following gunshot wound to head.**

J. Trauma, **20**: 353-355

Hauck, A.J.; Bambara, J.F.; Edwards, W.D. (1990):

**Embolism of brain tissue to the lung in a neonate.**

Arch. Pathol. Lab. Med., **114**: 217-218

Helps, C.R.; Fisher, A.V.; Harbour, D.A.; O'Neill, D.H.; Knight, A.C. (2004):

**Transfer of spinal cord material to subsequent bovine carcasses at splitting.**

J. Food Prot., **67**: 1921-1926

Hess, E. (1968):

**Bestimmung des Ausblutungsgrades.**

Fleischwirtsch., **48**: 292-293

Hill, A.F.; Desbruslais, M.; Joiner, S.; Sidle, K.C.; Gowland, I.; Collinge, J.; Doey, L.J.; Lantos, P. (1997a):

**The same prion strain causes vCJD and BSE.**

Nature, **389**: 448-450

Hill, A.F.; Zeidler, M.; Ironside, J.; Collinge, J. (1997b):

**Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy.**

Lancet, **349**: 99-100

Hill, A.F.; Butterworth, R.J.; Joiner, S.; Jackson, G.; Rossor, M.N.; Thomas, D.J.; Frosh, A.; Tolley, N.; Bell, J.E.; Spencer, M.; King, A.; Al-Sarraj, S.; Ironside, J.W.; Lantos, P.L.; Collinge, J. (1999):

**Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples.**

Lancet, **353**: 183-189

Hilton, D.A.; Fathers, E.; Edwards, P.; Ironside, J.W.; Zajicek, J. (1998):

**Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-Jakob disease.**

Lancet, **352**: 703-704

Hörnlimann, B. (2001):

**Historische Einführung: Prionen und Prionkrankheiten.**

In: Hörnlimann, B.; Kretzschmar, H.; Riesner, D. (Hrsg.): Prionen und Prionkrankheiten; de Gruyter, Berlin – New York; 3-19

Holtbecker, J. (2004):

**Detektion von bovinem Nervengewebe als Spezifiziertes Risikomaterial in Fleischerzeugnissen durch Etablierung eines speziesspezifischen ELISA für die Routinediagnostik unter Verwendung des Myelin Basic Protein.**

Diss. Vet. Med., Univ. München

Horlacher, S.; Lücker, E.; Eigenbrodt, E.; Wenisch, S. (2000):

**Kontamination der Rinderlunge mit ZNS.**

41. Tagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“; Garmisch-Partenkirchen; 25.-28.09.2000; DVG-Eigenverlag, Gießen; 168-171

Horlacher, S.; Lücker, E.; Eigenbrodt, E.; Wenisch, S. (2002):

**ZNS-Emboli in der Rinderlunge.**

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **115**: 1-5

Horn, G.; Bobrow, M.; Bruce, M.; Goedert, M.; McLean, A.; Webster, J. (2001):

**Review of the origin of BSE** vom 05.07.01.

[www.defra.gov.uk/animalh/bse/index.html](http://www.defra.gov.uk/animalh/bse/index.html)

Hossain, H.; Chakraborty, T. (2001):

**Prion-Krankheiten.**

Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther., **36**: 15-24

Houston, F.; Foster, J.D.; Chong, A.; Hunter, N.; Bostock, C.J. (2000):

**Transmission of BSE by blood-transfusion in sheep.**

Lancet, **356**: 999-1000

Jakob, A. (1921):

**Über eigenartige Erkrankungen des Zentralnervensystems mit bemerkenswerten anatomischen Befunden.**

Z. Ges. Neurol. Psychiatr., **64**: 147-228

Jeffrey, M; Goodsir, C.M.; Race, R.E.; Chesebro, B. (2004):

**Scrapie-specific neuronal lesions are independent of neuronal PrP expression.**

Ann. Neurol., **55**: 781-792

Johannsen, S. (2002):

**Abschlussbericht Schlachttechnik.**

ABAS Abschlussbericht, Amt f. Arbeitsschutz, Hamburg; 1-38

Kaaden, O.R. (2001):

**Wie sicher ist Rindfleisch aus Deutschland? – Stand der BSE-Forschung –**  
Fleisch aus Deutschland, **3**: 2-7

Kawashima, T.; Furukawa, H.; Dohura, K. (1997):

**Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy.**  
Lancet, **350**: 68-69

Kimberlin, R.H.; Walker, C.A. (1988):

**Pathogenesis of experimental scrapie.**  
Ciba Found. Symp., **135**: 37-62

Kretzschmar, H. (1998):

**Übertragbare spongiforme Enzephalopathien (Prion-Krankheiten) – Molekulare Grundlagen und In-vitro-Modelle.**

Wien. Münch. Wschr., **4**: 67-73

Lambooy, E. (1982):

**Electrical stunning of sheep.**  
Meat Sci., **6**: 123-135

Lasmézas, C.J.; Deslys, J.P.; Demaimay, R. (1996):

**BSE transmission to macaques.**  
Nature, **381**: 743-744

Lasmézas, C.J.; Fournier, J.; Nouvel, V.; Boe, H.; Marcé, D.; Lamoury, F.; Kopp, N.; Hauw, J.; Ironside, J.; Bruce, M.; Dormont, D.; Deslys, J. (2001):

**Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with Creutzfeldt-Jakob disease : Implications for human health.**  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **98 (7)**: 4142-4147

Love, S.; Helps, C.R.; Williams, S.; Shand, A.; McKinstry, J.L.; Brown, S.N.; Harbour, D.A.; Anil, M.H. (2000):

**Methods for detection of haematogenous dissemination of brain tissue after stunning of cattle with captive bolt guns.**

J. Neurosc. Meth., **99**: 53-58

Lücker, E.; Horlacher, S.; Eigenbrodt, E.; Bülte, M. (2000):

**Verfahren zum Nachweis von im Hinblick auf BSE unerwünschte Zutaten in Fleischerzeugnissen.**

Fleischwirtsch., **5**: 74-77

Lücker; E.; Schlottermüller, B. (2001):

**Verfahren zum Nachweis von im Hinblick auf BSE unerwünschte Zutaten in Fleischerzeugnissen.**

Fleischwirtsch., **11**: 102-107

Lücker, E.; Schlottermüller, B.; Martin, A. (2002):

**Studies on contamination of beef with tissues of the central nervous system (CNS) as pertaining to slaughtering technology and human BSE-exposure risk.**

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **115**: 118-121

Lugaresi, E.; Medori, R.; Montagna, P.; Baruzzi, P.; Cortelli, P.; Lugaresi, A.; Tinuper, P.; Zucconi, M.; Gambetti, P. (1986):

**Fatal familiar insomnia and dysautonomia, with selective degeneration of thalamic nuclei.**

N. Engl. J. Med., **315**: 997-1003

Männl, M. (1994) :

**Betäubung und Entblutung von Schwein und Rind.**

In: Schlachten von Schwein und Rind. Kulmbacher Reihe; **13**: 62-83

Maignien, T.; Lasmézas, C.I.; Beringue, V.; Dormont, D.; Deslys, J.P. (1999):  
**Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents.**

J. Gen. Virol., **80**: 3035-3042

Martin, A.; Schlottermüller, B.; Lücker, E. (2001):

**Untersuchungen zur Problematik der Kontamination mit Geweben des Zentralen Nervensystems (ZNS) in Abhängigkeit von der Schlachttechnologie.**

42. Tagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“; Garmisch-Partenkirchen; DVG-Eigenverlag, Gießen; 642-647

McMillian, J.B. (1965):

**Emboli of cerebral tissue in the lungs following severe head injury.**

Am. J. Pathol., **32**: 405-409

Moje, M. (2003):

**Alternative Verfahren beim Rind.**

Fleischwirtsch., **5**: 22-23

Moje, M; Hoffmann, A.; Tröger, K.; Jankowitsch, H.; Kolb, R. (2001):

**Nachweis von Gewebe des zentralen Nervensystems auf enthäuteten Rinderköpfen und in der rechten Herzkammer nach Bolzenschussbetäubung.**

BAFF Kulmbach, Jahresbericht; 34-35

Moynagh, J.; Schimmel, H. (1999):

**Tests for BSE evaluated.**

Nature, **400**: 105

Munro, R. (1997):

**Neural tissue embolism in cattle.**

Vet. Rec., **5**: 536

Nickel, R.; Schummer, A.; Seiferle, E. (1992):

**Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.**

Band IV: Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen; 3. Auflage;  
Parey, Berlin

N.N. (1993):

**Richtlinie 93/119/EG über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Schlachtung oder Tötung.**

ABl. EG Nr. L 340, S. 21

N.N. (1998):

**Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse.**

Dt. Lebensmittelbuch, Bundesanzeiger, Köln; 49-150

N.N. (1999):

**Tierschutz-Schlachtverordnung (TierSchIV).**

Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung, vom 25. November 1999; BGBl I, 54, S. 2392

N.N. (2001a):

**Die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) des Rindes und deren Übertragbarkeit auf den Menschen.**

Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz, 44: 1-11

N.N. (2001b):

**Prionen schwächen Reaktion auf oxidativen Stress.**

Transcript, 7: 36

N.N. (2001c):

**Verwendbarkeit von Herz, Lunge und Blut bei Rindern nach Bolzenschussbetäubung.**

Stellungnahme des BgVV vom 15.03.2001; <http://www.bgvv.de>

N.N. (2001d):

**Fleischhygienerechtliche Maßregelungen von Tierkörpern bei positivem BSE-Befund.**

Stellungnahme des BgVV vom 10.01.2001; <http://www.bgvv.de>

N.N. (2001e):

**Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Mai 2001 mit Vorschriften zur Verhütung, Kontrolle und Tilgung bestimmter transmissibler spongiformer Enzephalopathien.**

ABl. EG Nr. L 147; S. 1-40

N.N. (2001f):

**Erste Verordnung zur Änderung der Verordnung zur fleischhygienerechtlichen Untersuchung von geschlachteten Rindern auf BSE vom 25.01.2001.**

BGBl. I; S. 164

N.N. (2002a):

**RIDASCREEN® Risk Material 10/5.**

Produktinformation; r-biopharm, Darmstadt

N.N. (2002b):

**Liste von kritischen Hygienepunkten bei der Gewinnung von Köpfen und von Rinderbackenfleisch.**

Stellungnahme des BgVV vom 15. Mai 2002; <http://www.bgvv.de>

N.N. (2003a):

**Entwicklung der BSE-Tests.**

<http://userpage.fu-berlin.de/-dittbern/BSE/F/acts3.html>

N.N. (2003b):

**Risikoanalyse im Zusammenhang mit Auftreten von BSE einschließlich einer Untersuchung zum Vorkommen von vCJD in Bayern.**

Studie der Projektgemeinschaft „BSE-Risikoanalyse“, der LMU-München, im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz



N.N. (2003c):

**BSE Report.**

Consumers' Association, Juni 2003, S. 1-21

N.N. (2003d):

**Verordnung (EG) Nr. 1234/2003 der Kommission vom 10. Juli 2003 zur Änderung der Anhänge I, IV und XI der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates.**

ABl. EG Nr. L 173; S. 6-13

N.N. (2003e):

**Tierschutzgesetz.**

Vom 24. Juli 1972, neugefasst durch Bek. V. 25. Mai 1998, zuletzt geändert am 25. November 2003;

BGBI I 1277

N.N. (2004a):

**Verordnung (EG) Nr. 1492/2004 der Kommission vom 23. August 2004 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Maßnahmen zur Tilgung transmissibler spongiformer Enzephalopathien bei Rindern, Schafen und Ziegen.**

ABl. EG Nr. L 274; S. 3-8

N.N. (2004b):

**Scientific report of the European Food Safety Authority on the evaluation of seven new rapid *post mortem* BSE tests.**

vom 16. November 2004

[www.efsa.eu.int/science/tse-assessments/bse-tse/694/sreport18\\_7new\\_rpmt\\_bse\\_en1.pdf](http://www.efsa.eu.int/science/tse-assessments/bse-tse/694/sreport18_7new_rpmt_bse_en1.pdf)

N.N. (2005a):

**vCJD Cases.**

[http://www.fact.cc/BSE\\_Table.htm](http://www.fact.cc/BSE_Table.htm)

N.N. (2005b):

**Verordnung (EG) Nr. 36/2005 der Kommission vom 12. Januar 2005 zur Änderung der Anhänge III und X der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates.**

ABl. EG Nr. L 10; S. 9-17

Oppenheimer, E.H. (1954):

**Massive pulmonary embolization by cerebral cortical tissue.**

Bull. Johns Hopkins Hosp., **94**: 86-89

Pattison, J. (1998):

**The emergence of Bovine Spongiform Encephalopathy and related diseases.**

Emerg. Inf. Dis., **4**: 390-394

Petito, C.K.; Schaefer, J.A.; Plum, F. (1977):

**The blood-brain barrier in experimental seizures.**

In: Pappius, H.M.; Feindel, W. (Hrsg.): Dynamics of brain edema; Springer, Berlin; S. 38-42

Pleiter, H. (2004):

**Elektrobetäubung bei Rindern – Erfahrungen in Neuseeland.**

Dtsch. Tierärztl. Wschr., **111**: 106-108

Pohlenz, J.; Stöber, M. (2002):

**Bovine Spongiforme Enzephalopathie.**

In: Dirksen, G.; Gründer, H.D.; Stöber, M. (Hrsg.): Innere Medizin und Chirurgie des Rindes; Parey, Berlin; S. 1071-1075

Prinz, M.; Montrasio, F.; Furukawa, H.; der Haar, M.E.; Schwarz, P.; Rüllicke, T.; Giger, O.; Häusler, K.G.; Perez, D.; Glatzel, M.; Aguzzi, A. (2004):

**Intrinsic resistance of oligodendrocytes to prion infection.**

J. Neurosci., **24**: 5974-5981

Prusiner, S. (1982):

**Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie.**

Science, **216**: 136-144

Prusiner, S. (1995):

**Prionen Erkrankungen.**

Spektr. Wiss., **3**: 44-52

Rabenau, H.F. (1997):

**Viren oder infektiöse Proteine? – die Erreger der subakuten spongiformen Enzephalopathien.**

Mikrobiol., **7**: 165-169

Rabenau, H.F.; Doerr, H.W. (2001):

**Prionen und Enzephalopathie.**

Virologische Hauptvorlesung; Institut für Medizinische Virologie der J. W. Goethe-Universität Frankfurt/Main; Handout zum Vortrag, 31.01.2001, S. 1-10

Raymond, G.J. (2000):

**Evidence of a molecular barrier limiting susceptibility of humans, cattle and sheep to chronic wasting disease.**

EMBO J., **19**: 4425-4430

Rossow, N. (2002):

**Bovine Spongiforme Encephalopathie (BSE).**

file:///D:/TSE/body\_BSE\_Rossow.htm

Roth, L. (2001):

**Collateral damage: brain tissue in bovine lung.**

Transfusion, **41**: 1325

Sailer, A.; Büeler, H.; Fischer, M.; Aguzzi, A.; Weissmann, C. (1994):

**No propagation of prions in mice devoid of PrP.**

Cell., **77**: 967-968

Schicker, E. (1998):

**Spongiforme Enzephalopathien bei Mensch und Tier.**

In: Braun, U. (Hrsg.): BSE und andere spongiforme Enzephalopathien; Parey, Berlin

Schmidt, G.R.; Hossner, K.L.; Yemm, R.S.; Gould, D.H. (1999a):

**Potential for disruption of central nervous system tissue in beef cattle by different types of captive bolt stunners.**

J. Food Prot., **62**: 390-393

Schmidt, G.R.; Hossner, K.L.; Yemm, R.S.; Gould, D.H.; O'Callaghan, J.P. (1999b):

**An enzyme-linked immunosorbent assay for glial fibrillary acidic protein as an indicator of the presence of brain or spinal cord in meat.**

J. Food Prot., **62**: 394-397

Schoon, H.A.; Brunckhorst, D.; Pohlenz, J. (1991):

**Spongiforme Enzephalopathie beim Rothalsstrauß (*Struthio camelus*).**

Tierärztl. Prax., **19**: 263-265

Schreuder, B.E.C. (1994):

**Animal spongiform encephalopathies - An update; Part II. BSE**

Vet. Quarterl., **3**: 182-192

Schütt-Abraham, I. (2002a):

**BSE-Präventivmaßnahmen bei der Schlachtung von Rindern.**

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **115**: 125-130

Schütt-Abraham, I. (2002b):

**Möglichkeiten der Reduzierung des Risikos der Verschleppung von ZNS-Material durch den Bolzenschuss bei der Schlachtung von Rindern.**

<http://www.schuett-abraham.de/ReduzEmboli.htm>, 29.08.2002

Schurr, B.; Lücker, E.; Tröger, K. (2003):

**Untersuchungen zur analytischen Qualität der Erfassung von ZNS-Kontamination im Schlachtprozess.**

44. Tagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“; Garmisch-Partenkirchen; 29.09-2.10.03; DVG-Eigenverlag, Gießen; 572-577

Schwägele, F.; Müller, E.; Fischer, K.; Kolb, R.; Moje, M.; Tröger, K. (2002):

**Nachweis von Gewebe des ZNS auf Rinderschlachttierkörpern nach Absaugen des Rückenmarks.**

Fleischwirtsch., **6**: 118-120

Shaked, G.M.; Shaked, Y.; Kariv-Inbal, Z.; Halimi, M.; Avraham, I.; Gabizon, R. (2001):

**A protease-resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases.**

J. Biol. Chem., **276**: 31479-31482

Sperner, B.; Forster, S. (2005):

**Gewinnung von Kopf- bzw. Backenfleisch von Rindern: Rechtliche Grundlagen und ZNS-Nachweis.**

RFL, im Druck

SSC (1998):

**Opinion on BSE risk adopted by the SSC at its plenary meeting of 26-27 March 1998, following a public consultation on the preliminary opinion adopted on 19-20 February 1998.**

[http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

SSC (1999a):

**Opinion on the human exposure risk (HER) via food with respect to BSE.**

Adopted by the SSC on 10.12.1999;

[http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

SSC (1999b):

**The evaluation of tests for the diagnosis of transmissible spongiform encephalopathy in bovines.**

Adopted by the SSC on 8. Juli 1999;

[http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

SSC (2001):

**TSE in small ruminants – Opinion on the safety of small ruminant products should BSE in small ruminants become probable confirmed.**

Adopted by the SSC on 18.-19.10.2001;

[http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

SSC (2002a):

**Chronic wasting disease and tissues that may carry a risk for human food and animal feed chains.**

Report. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

SSC (2002b):

**Scientific opinion on stunning methods and BSE risks (The risk of dissemination of brain particles into the blood and carcass when applying certain stunning methods).**

Adopted by the SSC on 10.-11.01.2002;

[http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

SSC (2002c):

**Update of the opinion on TSE infectivity distribution in ruminant tissues.**

Adopted by the SSC on 10.-11.01.2002 and on 7.-8.11.2002.

[http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome\\_en.html](http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html)

Stolze, A.; Groschup, M.H. (2001):

**BSE: Analytik.**

In: Stockmeyer Stiftung für Lebensmittelforschung (Hrsg.); BSE – eine unendliche Geschichte?!; Werkstattbericht 7 vom 24.10.2001, Bonn; S. 4-15

Suzuki, R.; Nitsch, C.; Fujiwara, K.; Klatzo, I. (1984):

**Regional changes in cerebral blood flow and blood-brain barrier permeability during epileptiform seizures and in acute hypertension in rabbits.**

J. Cereb. Blood Flow Metabol., **4**: 96-102

Tanno, H.; Nockels, R.P.; Pitts, L.H.; Noble, L.J. (1992):

**Breakdown of the blood-brain barrier after fluid percussive brain injury in the rat. Part 1: Distribution and time course of protein extravasation.**

J. Neurotrauma, **9**: 21-32

Taylor, K.C. (1996):

**Brain emboli in the lungs of cattle.**

Lancet, **348**: 749

Terry, L.A.; Marsh, S.; Ryder, S.J.; Hawkins, S.A.; Wells, G.A.; Spencer, Y.I. (2003):

**Detection of disease-specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy.**

Vet. Rec., **152**: 387-392

Thomzig, A.; Schulz-Schaeffer, W.; Kratzel, C.; Mai, J.; Beekes, M. (2004):

**Preclinical deposition of pathological prion protein PrP<sup>Sc</sup> in muscles of hamsters orally exposed to scrapie.**

J. Clin. Invest., **113**: 1465-1472

Torry, J.M. (1987):

**Massive brain tissue and fat pulmonary embolism following severe head injury.**

Med. Sci. Law, **27**: 128-131

Tröger, K. (2002):

**BSE – Konsequenzen für Schlachtung, Zerlegung und Arbeitsschutz.**

Dtsch. Tierärztl. Wschr., **109**: 368-371

Weikel, J.; Buschmann, A.; Groschup, M.H.; Truyen, U. (2003):

**Erstbeschreibung der Scrapie im Freistaat Bayern – ein Fallbericht.**

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., **116**: 142-143

Weissmann, C. (1991):

**A unified theory of prion propagation.**

Nature, **352**: 679-683

Wells, G.A.; Scott, A.; Johnson, C.; Cuning, R.; Hancock, R.; Jeffrey, M.; Dawson, M.; Bradley, R. (1987):

**A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle.**

Vet. Rec., **121**: 419-420

Wells, G.A.; McGill, I.S. (1992):

**Recently described scrapie-like encephalopathies of animals: case definitions.**

Vet. Sci., **53**: 1-10

Wells, G.A.; Hawkins, S.A.; Green, R.B.; Austin, A.R.; Dexter, I.; Spencer, Y.I.; Chaplin, M.J.; Stack, M.J.; Dawson, M. (1998):

**Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update.**

Vet. Rec., **142**: 103-106

Wells, G.A.; Hawkins, S.A.; Austin, A.R.; Ryder, S.J.; Done, S.H.; Green, R.B.; Dexter, I.; Dawson, M.; Kimberlin, R.H. (2003):

**Studies of the transmissibility of the agent of bovine spongiform encephalopathy to pigs.**

J. Gen. Virol., **84**: 1021-1031

Westergaard, E.; Hertz, M.M.; Bolwig, T.G. (1978):

**Increased permeability to horseradish peroxidase across cerebral vessels, evoked by electrically induced seizures in the rat.**

Acta Neuropath., **41**: 73-80



Wilesmith, J.W.; Wells, G.A.; Cranwell, M.P.; Ryan, J.B. (1988):

**Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies.**

Vet. Rec., **123**: 638-644

Wilesmith, J.W.; Ryan, J.B.; Atkinson, M.J. (1991):

**Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin.**

Vet. Rec., **128**: 199-203

Will, R.; Ironside, J.W.; Zeidler, M. (1996):

**A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK.**

Lancet, **347**: 921-995

Williams, E.S.; Miller, M.W. (2003):

**Transmissible spongiform encephalopathies in non-domestic animals: origin, transmission and risk factors.**

Rev. Sci. Tech. Off. Int. E., **22**: 145-156

## 10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Prionenreplikation nach der Prion-Hypothese

Abbildung 2.2: Ausbreitung der Prionen nach oraler Aufnahme

Abbildung 2.3: Risikoeinstufung verschiedener Betäubungsmethoden

Abbildung 2.4: Testprinzip des GFAP-Nachweises (Sandwich-Enzymimmunoassay)  
im RIDASCREEN® Risk Material 10/5

Abbildung 3.1: Tupfer 1; Probenstelle rechter Herzvorhof

Abbildung 3.2: Tupfer 2; Probenstelle rechte Herzkammer

Abbildung 3.3: Tupfer 3; Probenstelle *Truncus pulmonalis*

Abbildung 3.4: Tupfer 4; Probenstelle linker Herzvorhof

Abbildung 3.5: Tupfer 5; Probenstelle linke Herzkammer

Abbildung 3.6: Tupfer 6; Probenstelle Aorta

Abbildung 3.7: Testdurchführung zur Untersuchung auf Risikomaterial  
mittels RIDASCREEN® Risk Material 10/5

Abbildung 4.1: Vergleich der Einzelprobenstellenergebnisse nach den Methoden  
Elektro- und Bolzenschussbetäubung  
(n=960 Proben/Betäubungsmethode)

Abbildung 4.2: Verteilung der positiven Einzelstellen (n=320) anteilig nach  
Betäubungsmethoden bzw. Schlachtbetrieben

Abbildung 4.3: Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Tupferstellen

Abbildung 4.4: Verteilung positiver Tupfer nach Probenstellen vor (rechte  
Herzstrukturen) und nach Lungenkreislauf (linke Herzstrukturen)

Abbildung 4.5: Staffelung der Tupferprobenstellen nach der Anzahl positiver  
Ergebnisse, vergleichend nach Betäubungsmethode

Abbildung 4.6: Verteilung der positiven Tupferprobenstellenergebnisse anteilig  
nach Betäubungsmethodik

Abbildung 4.7: Verteilung positiver Tupfer nach Probenstellen vor (rechte  
Herzstrukturen) und nach Lungenkreislauf (linke Herzstrukturen),  
vergleichend nach Betäubungsmethode

Abbildung 4.8: Vergleich der positiven Tupferprobenstellen nach den  
Elektrobetäubungsbetrieben A und B (n=60 Tupfer/Stelle)

Abbildung 4.9: Vergleich der Lungengewebsproben nach Betrieb (n=60)

Abbildung 4.10: Verteilung der positiven Herztupferproben (n=305) und

- Lungengewebsproben (n=15) anteilig nach Betäubungsmethode
- Abbildung 4.11: Vergleich der Lungengewebsergebnisse und der durchschnittlichen Herztupferergebnisse nach Betrieb
- Abbildung 4.12: Vergleich der Tierergebnisse nach Betäubungsmethode (n=120) (Tier positiv ab mind. 1 positiven Einzelprobenstelle)
- Abbildung 4.13: Verteilung der positiven Tiere (n=102) anteilig nach Betäubungsmethode
- Abbildung 4.14: Vergleich des Anteils positiver Tiere mit dem Anteil positiver Einzelprobenergebnisse nach Schlachtbetrieb
- Abbildung 4.15: Anzahl der positiven Einzelprobenstellen (Herztupfer und Lungengewebe) je positives Tier (gesamt 102 positive Tiere)
- Abbildung 4.16: Vergleich der Konzentrationskategorien aller positiven Einzelprobenstellen (n=320) nach Betäubungsmethode
- Abbildung 4.17: Methode Bolzenschussbetäubung: Verteilung der Konzentrationskategorien nach Einzelprobenstellen (n=285), vor bzw. nach Lungenkreislauf
- Abbildung 4.18: Betrieb A: Vergleich der Tierergebnisse nach Entblutungsmethode (n=30 Tiere je Methode; Tier positiv ab mind. 1 positiven Einzelprobenstelle)
- Abbildung 4.19: Betrieb A: Verteilung der positiven Einzelprobenstellen (n=27) nach Lungenkreislauf, vergleichend nach Entblutungsmethode

## 11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: TSE beim Menschen

Tabelle 2.2: TSE beim Tier

Tabelle 2.3: Einteilung der potentiellen Infektiosität von Organen  
BSE-infizierter Rinder

Tabelle 2.4: Spezifizierte Risikomaterialien bei Rind, Schaf und Ziege

Tabelle 2.5: Positiver ZNS-Nachweis bei Einsatz unterschiedlicher  
Bolzenschussbetäubungsmethoden und teilweiser Anwendung von  
Rückenmarkszerstörer (RMZ)

Tabelle 2.6: Negativer ZNS-Nachweis bei Einsatz unterschiedlicher  
Betäubungsverfahren

Tabelle 3.1: Vorversuchs-Phase I: Untersuchung von ZNS, Blut und Muskelfleisch

Tabelle 3.2: Vorversuchs-Phase II: Modifikation der Konzentration von ZNS,  
Blut und Muskelfleisch

Tabelle 3.3: Vorversuchs-Phase III: Originaluntersuchungsmaterial, mit ZNS und Blut

Tabelle 3.4: Vorversuchs-Phase IV: Originalproben vom Schlachthof

Tabelle 3.5: Übersicht über Schlachtbetriebe

Tabelle 3.6: Gesamtübersicht über Probenumfang und Probenstellen

Tabelle 3.7: Einteilung der ZNS-positiven Probenwerte nach Konzentration

Tabelle 4.1: Untersuchung verschiedener ZNS-Verdünnungsreihen unter  
Berücksichtigung der ermittelten Konzentrationen

Tabelle 4.2: Untersuchung einer definierten ZNS-Menge mit Originalunter-  
suchungsmaterial des Hauptversuches

Tabelle 4.3: Untersuchung von Blut-Verdünnungsreihen unter Berücksichtigung der  
ermittelten Konzentrationen

Tabelle 4.4: Untersuchung eines möglichen Einflusses von Blut-Zugaben auf  
Originaluntersuchungsmaterial des Hauptversuches

Tabelle 4.5: Vergleich der Einzelprobenstellen nach Betrieb (n=480 Proben/Betrieb)

Tabelle 4.6: Vergleich der einzelnen Tupferprobenstellen  
(n=240 Proben/Tupferstelle)

Tabelle 4.7: Vergleich der einzelnen Tupferprobenstellenergebnisse  
nach Betäubungsmethodik

- Tabelle 4.8: Vergleich der Tupferprobenstellen nach Betrieben  
mit Bolzenschussbetäubung (n=60 je Probenstelle)
- Tabelle 4.9: Vergleich der Tupferprobenstellen nach Betrieben  
mit Elektrobetäubung (n=60 je Probenstelle)
- Tabelle 4.10: Untersuchung der Myokardproben auf ZNS
- Tabelle 4.11: Vergleich der positiven Lungengewebsproben  
und der positiven Tupferproben
- Tabelle 4.12: Vergleich der Tierergebnisse nach Betäubungsmethode
- Tabelle 4.13: Vergleich der Tierergebnisse nach Schlachtbetrieb
- Tabelle 4.14: Verhältnis positiver Tiere zu positiven Einzelprobenstellen
- Tabelle 4.15: Methode Bolzenschussbetäubung: Einteilung der positiven  
Einzelprobenstellen (n=285) nach Konzentrations-Kategorien
- Tabelle 4.16: Vergleich der Ergebnisse von Betrieb A und B
- Tabelle 4.17: Liegendentblutung: Vergleich positiver Tiere und positiver  
Einzelprobenstellen nach Schlachtbetrieb
- Tabelle 4.18: Vergleich der Tierergebnisse nach Proben Tagen (höchstes und  
niedrigstes prozentuales Tagesergebnis fettgedruckt hervorgehoben)

## 12 Anhang

Dieses Kapitel enthält die Ergebnisse der im Vorversuch durchgeführten Probenphasen I-IV, siehe **Tabelle 3.1-3.4**.

Probennummer	Ergebnisse Proben 1-5 ( <i>Konzentration</i> )
1	alle negativ
2	alle positiv ( <i>stark positiv</i> )
3	alle positiv ( <i>stark positiv</i> )
4	alle positiv ( <i>schwach positiv</i> )
5	1 positiv ( <i>schwach positiv</i> ); 4 negativ
6	alle negativ
7	alle negativ
8	alle negativ

Vorversuchs-Phase I: Untersuchung von ZNS, Blut und Muskelfleisch

Probennummer	Ergebnisse Proben 1-5 ( <i>Konzentration</i> )
1	alle positiv ( <i>stark positiv</i> )
2	alle positiv ( <i>stark positiv</i> )
3	alle positiv (2 <i>mittel positiv</i> , 3 <i>stark positiv</i> )
4	alle negativ
5	alle negativ
6	alle negativ
7	alle negativ

Vorversuchs-Phase II: Modifikation der Konzentration von ZNS,

Probennummer	Ergebnisse Proben 1-5 ( <i>Konzentration</i> )
1	alle negativ
2	alle negativ
3	alle positiv (4 <i>mittel positiv</i> , 1 <i>stark positiv</i> )
4	alle negativ
5	alle negativ
6	alle positiv ( <i>stark positiv</i> )
7	alle negativ
8	alle negativ
9	alle positiv (1 <i>mittel positiv</i> , 4 <i>stark positiv</i> )
10	alle negativ
11	alle negativ
12	alle positiv ( <i>stark positiv</i> )

Vorversuchs-Phase III: Originaluntersuchungsmaterial, mit ZNS und Blut  
Blut und Muskelfleisch

Probennummer	Proben 1-5
1	negativ
2	negativ
3	negativ
4	negativ
5	negativ
6	negativ
7	negativ
8	negativ
9	negativ
10	negativ
11	negativ

Vorversuchs-Phase IV: Originalproben vom Schlachthof

---

## Danksagung

Mein *herzlicher Dank* gilt:

Herrn Professor A. Stolle für die Überlassung dieses interessanten Themas und für die jederzeit gewährte Betreuung beim Anfertigen dieser Arbeit sowie für die engagierte Unterstützung meiner Bewerbung um Drittmittel;

der Hanns-Seidel-Stiftung e.V. für die großzügige ideelle und finanzielle Förderung im Rahmen der Promotionsförderung;

Frau Dr. S. Forster für die stets ermunternde und kompetente Betreuung meiner Arbeit;

Frau Dr. B. Sperner für die Einarbeitung in die Serologie, für die freundlich und jederzeit gewährten Anregungen und für die äußerst konstruktive und sorgfältige Durchsicht meines Manuskripts;

Herrn Dr. M. Bucher für seine Unterstützung bei Computerfragen, Frau Dr. B. Bäuerle und Frau I. Fitzek für die kollegiale Zusammenarbeit sowie allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für die hilfsbereite Aufnahme;

den Verantwortlichen der vier bayrischen Schlachtbetriebe für die unkomplizierte Bereitstellung des Probenmaterials und den Mitarbeitern für Hilfestellungen bei der Probennahme, insbesondere Herrn Harald Kyri;

meinen Freundinnen Martina und Kerstin für den motivierenden Austausch sowie Eleonore für ihre jahrelange Rückenstärkung;

meinen Eltern für ihr Dasein und ihr Verständnis sowie meiner Schwester Antonie mit ihrer Familie für die hilfsbereite bürotechnische Unterstützung;

meinem lieben Freund Klaus.



---

## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name	Maria Rieseemann
Geburtsdatum und –ort	14.02.1978 in Steingaden
Familienstand	ledig
Eltern	Vefi Rieseemann, geb. Jais, und Georg Rieseemann

### Ausbildung:

Schulbildung	Sept. 1984 – Juli 1988; Franz Lutz Grundschule, Steingaden Sept. 1988 – Juli 1990; Staatliches Gymnasium, Hohenschwangau Sept. 1990 – Juni 1997; Mariengymnasium, Kaufbeuren
Allgemeine Hochschulreife	27. Juni 1997
Studium	Nov. 1997 – Febr. 2003; Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität, München
Tierärztliches Staatsexamen	24. Februar 2003
Approbation	21. März 2003
Promotionsarbeit	Mai 2003 – Juli 2005 Doktorandin am Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
Berufstätigkeit	seit Juli 2003 Tierärztin in Freier Mitarbeit, Tierärztl. Praxis Mahrla, Lechbruck