

**Die Verwendung von Schweineblut in der
Blutspurenmusteranalyse: Hämatologische und
hämorheologische Eigenschaften von alterndem
Schweineblut**

Bachelorarbeit

Zur Erlangung des akademischen Grades

Bachelor of Science in Health Studies (BSc)

der Fachhochschule FH Campus Wien
Bachelorstudiengang: Biomedizinische Analytik

Vorgelegt von:

Bianca Serp

Personenkennzeichen

1210550010

Erstbegutachter/in:

ao. Univ.-Profⁱⁿ. Drⁱⁿ. Ursula Windberger, BSc

Zweitbegutachter/in:

Mag^a. Christine Rieß

Eingereicht am:

26. 05. 2015

Erklärung:

Ich erkläre, dass die vorliegende Bachelorarbeit von mir selbst verfasst wurde und ich keine anderen als die angeführten Behelfe verwendet bzw. mich auch sonst keiner unerlaubter Hilfe bedient habe.

Ich versichere, dass ich diese Bachelorarbeit bisher weder im In- noch im Ausland (einer Beurteilerin/einem Beurteiler zur Begutachtung) in irgendeiner Form als Prüfungsarbeit vorgelegt habe.

Weiters versichere ich, dass die von mir eingereichten Exemplare (ausgedruckt und elektronisch) identisch sind.

Datum:

Unterschrift:

Kurzfassung

Im Rahmen der Blutspurenmusteranalysen kommen unterschiedliche Blutprodukte zum Einsatz, wie zum Beispiel Blut von Menschen, sowie von verschiedenen Tierarten oder synthetische Blutersatzflüssigkeiten. Sofern Abnahmeart, Lagerung und Lagerdauer der jeweiligen Blutkonserven variieren, können selbst Blutproben von ein und derselben Spezies unterschiedliche Qualität haben. Dadurch kommen weltweit Blutproben mit unterschiedlicher Qualität zum Einsatz. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Verwendung von Schweineblut in der Blutspurenmusteranalyse und gibt einen Einblick in die Veränderung der Materialcharakteristiken von Blut in Abhängigkeit von Abnahmeart und Dauer der Lagerung, um die Verwendung von Blut in einheitlicher Qualität zu fördern.

Es bestehen große Unterschiede zwischen Schweineblut vom geschlachteten Tier und Schweineblut vom lebenden Tier. Der Hämatokrit sowie die Totalproteinkonzentration von Blut, welches von Schweinen während des Schlachtungsprozesses gewonnen wurde, war im Vergleich zu den venösen Blutproben der lebenden Schweine von Beginn an höher. Als Grund hierfür zeigte sich die Auswirkung von Stress auf den bevorstehenden Schlachtungsprozess. Während die Proben vom lebenden Tier bereits vom ersten Tag kontinuierlich hämolytischer wurden, trat Hämolyse bei den Schlachthofblutproben erst zu späten Zeitpunkten und langsamer ein. Dies deutete an, dass Blut von geschlachteten Tieren während der Lagerung stabiler blieb. Frequenztests zeigten, dass die Speichermodul der Proben der geschlachteten Tiere während einer Kreisfrequenz von 20 bis $0,1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ höher waren als jene der Proben der lebenden Tiere. Während der Lagerung der Proben der geschlachteten Tiere konnte ein Absinken des Verlustfaktors auf unter 1 beobachtet werden. Die Stabilität dieser Proben in Abhängigkeit vom Hämolysegrad lässt eine Materialveränderung in Richtung Gel-Charakter andeuten. Obwohl es auch bei den Proben der lebenden Tiere zu einer Erhöhung der Viskosität und des Speichermoduls kam, blieben diese während der Lagerung viskoelastisch.

Die Totalproteinmessung mittels Chemie-Analysegerät war nicht vergleichbar mit den Ergebnissen des Handrefraktometers. Mit einem Handrefraktometer wurde die optische Dichte des Plasmas ermittelt, welche allerdings mit dem Alter der Probe durch den Grad der Hämolyse verfälscht wurde. Diese Methode war für die Ermittlung des Totalproteins nicht geeignet. Die Analyse des Totalproteins mit der Biuret-Methode stellte die spezifischere und sensitivere Messmethode dar, da die Hämolyse die Messgenauigkeit der Biuret-Methode nicht beeinträchtigte und somit das Totalprotein exakter und unabhängig vom Hämolysegrad ermittelt werden konnte. Mit dem Refraktometer konnte die Zunahme der Hämolyse in den alternden Blutproben auf einfache Weise quantifiziert werden. Obwohl das Handrefraktometer somit nicht geeignet war, in alternden Blutproben das alleinige Totalprotein anzuzeigen, konnte es durch das Anzeigen von Hämolyse über die Zunahme des Brechungsindex der Probe durch das zusätzliche freie Hämoglobin im Plasma zur Beurteilung der Qualität der Blutprobe verwendet werden.

Abstract

For the purposes of Bloodstain Pattern Analysis (BPA), different types of blood products like human blood as well as animal blood from various species or blood substitute fluids are used. There is a remarkable quality distinction between samples in regard to blood withdrawal and storage, even when they originate from the same species. So blood with different quality will be used. This thesis deals with the use of swine blood within BPA. It is aimed at communicating the deterioration of such blood properties that are relevant for BPA and, as a long-term objective, to harmonize the quality of animal blood used for BPA.

There are big differences between blood from pigs taken during the slaughtering process and blood from living pigs. The hematocrit values as well as the total protein concentrations of the samples from the slaughter are much higher than the haematocrit values of the samples from living animals. This can be the result of a high level of stress the animals experience during their slaughter. Due to the increased hematocrit in our samples from the abbatoir, the dynamic viscosity was affected and shear thinning of blood was pronounced. Blood of the living animals showed hemolysis right from the beginning, whereas hemolysis in blood from the slaughtered pigs occurred on a more delayed basis. This would indicate that samples from the abbatoir were more stable during storage. Frequency sweep tests during small amplitude oscillation revealed that swine blood from the abbatoir showed higher initial values of storage modulus (G') throughout a frequency range between 20 and 0.1 $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$ than blood withdrawn by venepuncture. During cold storage, these samples achieved percolation, as indicated by a decrease of loss factor below 1. The stabilisation of the abbatoir samples in regard to hemolysis may originate in a change of blood's typical material characteristics towards a more jellylike fluid. Samples withdrawn by venepuncture remained viscoelastic fluids although viscosity and G' -values increased during cold storage. Despite, they maintained their primary viscoelastic properties.

The total protein measurement with the automatic analyzer showed that the data were different from the results of the refractometer. Refractometry displays the optical density of blood plasma, which increases at the presence of free hemoglobin. This method turned out to be inaccurate for the detection of total protein. The analysis of total protein with the biuret-method represented the more precise method since both, sensitivity and specificity to total protein were improved. The biuret-method was not affected by the presence of free hemoglobin. In contrast, the refractory index indeed can be used to estimate the degree of hemolysis. Therefore refractometry provides a quick and rather cheap method to indicate the quality of an aged blood sample.

Abkürzungsverzeichnis

BPA	Bloodstain Pattern Analysis
CSS	Continuous Shear Stress
G'	Speichermodul
G''	Verlustmodul
Hct	Hämatokrit (%)
ICSH	International Council for Standardization in Haematology
LVE	Linear Viskoelastischer Bereich
MCH	Mean corpuscular hemoglobine, mittlerer Hämoglobingehalt pro Erythrozyt (pg)
MCHC	Mean corpuscular hemoglobine concentration, mittlere Hämoglobinkonzentration pro Erythrozyt (g/dL)
MCV	Mean corpuscular volume, mittleres Erythrozytenvolumen (fl)
Na ₂ -EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (Ethylene diamine tetraacetic acid)
PCV	Packed-Cell-Volume (%)
Rpm	Rounds per minute
SAOS	Small Amplitude Oscillatory Shear
tanδ	Verlustfaktor
TP	Totalprotein, Gesamteiweiß (g/dL)

Schlüsselbegriffe

Bloodstain Pattern Analysis

Blutspurenmusteranalyse

Schweineblut

Hämatologie

Hämorheologie

Hämatokrit

Totalprotein

Qualitätskontrolle

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
1.1. Problemstellung	2
1.2. Forschungslücke.....	2
1.3. Forschungsfragen.....	2
1.4. Ziel	3
1.5. Hypothesen.....	4
2. MATERIAL UND METHODE.....	4
2.1. Hämatologie.....	5
2.1.1. Zellzahlbestimmung und Erythrozytenindizes.....	5
2.1.2. Packed-Cell-Volume (PCV)	6
2.2. Chemie	7
2.2.1. Manuelle Totalproteinmessung.....	7
2.2.2. Automatische Totalproteinmessung.....	7
2.3. Hämorheologie	8
2.3.1. Rotationsmessung - Fließkurve	9
2.3.2. Oszillationsmessung - Frequenztest.....	10
3. ERGEBNISSE.....	13
3.1. Hämatologie.....	13
3.1.1. Hämatokrit.....	13
3.1.2. Durchschnittliches Erythrozytenvolumen (MCV).....	15
3.1.3. Packed-Cell-Volume (PCV)	17
3.2. Chemie	18
3.2.1. Manuelle Totalproteinmessung.....	18
3.2.2. Automatische Totalproteinmessung.....	20
3.2.3. Vergleich automatische und manuelle TP-Messung.....	23
3.3. Hämorheologie	24
3.3.1. Rotationsmessung - Fließkurve	24
3.3.2. Oszillationmessung - Frequenztest.....	29
4. DISKUSSION UND CONCLUSIO	33

LITERATURVERZEICHNIS	37
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	41
TABELLENVERZEICHNIS	43
ANHANG	44

1. Einleitung

Um Kriminalfälle aufklären und Gerichtsgutachten erstellen zu können, muss ein Tathergang durch Polizei, forensische WissenschaftlerInnen und KriminaltechnikerInnen rekonstruiert werden. Hierfür benötigt es nicht nur Verständnis, Vorstellungsvermögen, korrekte Interpretationen und Analysen des Falles, sondern auch praktisch orientierte Experimente und Simulationen von Tathergängen, in dessen Bereich auch die Analyse von Blutspuren auf unterschiedlichen Oberflächen fällt.

Die Blutspurenmusteranalyse (BPA, Bloodstain Pattern Analysis) ist eine forensische Disziplin, die sich unter anderem mit den physikalischen Eigenschaften des Blutes beschäftigt. Formen, Größe und Positionen von Blutspuren an Tatorten können Aufschluss über den Tathergang oder die Tatwaffe geben und dienen so der Aufklärung von Gewalttaten. Weiters können sie Informationen darüber geben, woher der Blutaustritt stammt, die Distanz der Blutflecken zum Opfer, die Richtung sowie die Geschwindigkeit des Aufpralls der Blutropfen, die Position des Opfers sowie jene des Täters oder der Täterin, der Bewegungsablauf von Opfer und TäterIn und die Anzahl der Attacken durch den Täter oder die Täterin. Durch diese Disziplin und das dazugehörige Fachwissen ist es möglich, Tathergänge zu rekonstruieren, Aussagen oder fragliche Tatbeteiligungen zu überprüfen oder zwischen Unfällen und Straftaten zu differenzieren¹⁻⁵. Für die Qualität der Begutachtung von Blutspuren sind solide physikalische und blutspurenmusteranalytische Kenntnisse von essentieller Bedeutung.

Blutspurenmusteranalysen werden auf internationaler Ebene in forensischen Labors von Wissenschaftlern und Wissenschaftlerinnen, Polizisten und Polizistinnen und Ärzten sowie Ärztinnen durchgeführt, einerseits im Rahmen von Ermittlungstätigkeiten, andererseits in der Ausbildung zum Blutspurenmusteranalytiker oder zur Blutspurenmusteranalytikerin. Die Blutspurenmusteranalyse ist eine empirische Wissenschaft, die von der Erfahrung des Analytikers und der Analytikerin abhängt. Für eine Ausbildung zum Blutspurenmusteranalytiker oder zur Blutspurenmusteranalytikerin und zur Rekonstruktion von Blutspuren, werden mit menschlichen Materialien vergleichbare Arbeitsmittel benötigt. Da menschliches Blut eine wertvolle Ressource in der Transfusionsmedizin ist und eine potentielle Kontamination mit menschlicher DNA in forensischen Labors unerwünscht ist, wird oft auf Tierblut zurückgegriffen. Dabei kommt Blut von Nutztieren wie Rind, Schwein, Pferd und Schaf zum Einsatz oder es werden Blutersatzprodukte in Verwendung gebracht, wobei diese noch wenig erforscht sind^{1,6-9}. Außerdem stellt menschliches Blut ein erhöhtes biologisches Risiko für die Beteiligten des Experiments durch die potentielle Infektionsgefahr von Hepatitis B, C und HI-Viren dar.

Die hämatologischen und hämorheologischen Eigenschaften von Blut spielen bei der Rekonstruktion von Tathergängen im Rahmen einer Blutspurenmusteranalyse wesentliche Rollen. Um einen Geschehenshergang möglichst genau nachvollziehen zu können, müssen diese Eigenschaften und dessen zeitliche Veränderung bekannt sein, weswegen nur jene Substanzen in Verwendung kommen sollen, die mit menschlichen Blut vergleichbar sind.

1.1. Problemstellung

Die Variabilität der physikalischen Eigenschaften von Blutproben unterschiedlicher Tierspezies oder von gealterten Blutproben wird unterschätzt. So werden Blutproben von unterschiedlichen Säugetierspezies, aber auch Blutersatzflüssigkeiten verwendet, die unterschiedliche Thixotropie und Scherverdünnung im Vergleich zu menschlichem Blut aufweisen^{1,6-9}. Dazu kommt, dass die Blutproben auf unterschiedliche Weise abgenommen werden (Beispielsweise durch Punktion der Vene am lebenden Tier, Abnahme am Schlachthof vom getöteten Tier). Dies führt dazu, dass es zu unterschiedlich starker Ausschüttung von Akutphaseproteinen kommt, da das Stressempfinden individuell variiert. Auch die Bedeutung der Lagertemperatur und der Lagerdauer der Konserven sind in keinem Institut einheitlich definiert und werden unterschätzt. Die Durchführung einer Blutspurenmusteranalyse erfordert eine qualifizierte Fachausbildung. So sollten auch die Kenntnisse über Blut als viskoelastische Flüssigkeit, inklusive der tierartigen Unterschiede seiner Eigenschaften sowie das Wissen bezüglich der optimalen Aufbewahrung und Haltbarkeit übernommen werden. Diesem Wissen wird jedoch weder während der Ausbildung, noch in weiterer Folge bei praktischen Experimenten wesentliche Beachtung geschenkt. In Folge dessen führt dies zu deutlichen Qualitätsunterschieden in den forensischen Labors.

1.2. Forschungslücke

Die geringen Kenntnisse über die möglichen Qualitätsunterschiede der verschiedenen Blutkonserven hinsichtlich Spezies, Abnahmeart oder Lagerdauer für die Verwendung in der BPA bedarf weiteren Nachforschungen. Dabei spielen die physikalischen Eigenschaften von Blut die größte Rolle (Viskosität, Oberflächenspannung von Blutstropfen, Suspensionsstabilität). Obwohl die Viskosität von Tierblut bei unterschiedlichen Scherraten ausreichend bekannt ist, wurde Vollblut im oszillierenden Scherfeld noch nicht rheologisch charakterisiert. In der Oszillationsmessung kann vor allem die Stabilität einer Suspension unter Einwirkung verschiedener Oszillationsfrequenzen und -amplituden gemessen werden. Amplitudentest und Frequenztest sind Routinetests in der Polymerchemie, Lebensmitteltechnologie und Galenik. Da in diesem Fachbereich auch mit speziesspezifischen Unterschieden zu rechnen ist, kann eine weitere Forschungslücke aufgezeigt werden.

1.3. Forschungsfragen

Die Ergebnisse der ersten Bachelorarbeit zeigen, dass Tierblut, besonders Schweineblut dem menschlichen Blut sowohl in hämatologischer, als auch in hämorheologischer Hinsicht sehr ähnlich ist, da es eine ähnliche Zusammensetzung sowie ähnliche physikalische Eigenschaften aufweist. Vor allem die Referenzwerte der Parameter Hämatokrit, MCHC und Totalprotein weisen starke Gemeinsamkeiten auf^{10,11}.

Aufbauend auf diese Erkenntnisse stellt sich für die zweite Bachelorarbeit folgende Forschungsfrage:

- Liefert Schweineblut vom geschlachteten Tier bezogen auf die hämatologischen und hämorheologischen Parameter vergleichbare Ergebnisse wie frisch abgenommenes Blut vom lebenden Tier?

In dieser Studie soll ermittelt werden, wie lange Blutkonserven vom Schwein haltbar und somit für die Blutspurenmusteranalyse verwendbar sind und welche hämatologischen Zielparameter das Alter einer Blutkonserve bestimmen. Eigene Voruntersuchungen im Rahmen einer Fallzahlplanung ergaben, dass das manuell mittels Handrefraktometer ermittelte Totalprotein ein Zielparameter für die Blutalterung darstellen kann.

Um eine Blutkonserve vor Ort schnellstmöglich verwenden zu können, muss rasch das Alter der Konserve festgestellt und ermittelt werden, ob diese Konserve mit menschlichem Blut vergleichbar ist. Nicht jedes Labor hat für diese Fragestellung ein Analysegerät zur Verfügung. Hierfür stellt sich die Frage:

- Ist die manuelle Totalproteinmessung einer Probe mittels Handrefraktometer vergleichbar mit der automatisierten Messung eines Analysegerätes?

1.4. Ziel

Ziel dieser Arbeit ist die Ermittlung hämatologischer Zielparameter, die für die Evaluierung der Güte einer Blutprobe für die BPA herangezogen werden können. Demnach wird ermittelt, wie lange das Blut im Kühlschrank bei einer Lagertemperatur von 4°C vergleichbare Ergebnisse liefert wie frisches menschliches Blut. Des Weiteren soll aufgezeigt werden, wie lange es für die Blutspurenmusteranalyse verwendbar ist. Diese Zielparameter sollen sowohl in Blut, das von Schweinen während der Schlachtung abgenommen wurde, als auch in Blutproben von lebenden Tieren (Abnahme durch Punktion der Vene) festgestellt werden. Außerdem soll geklärt werden, ob das Totalprotein mit einfachen Messmethoden vergleichbare Ergebnisse liefert, wie mit speziellen Analysegeräten. Durch einen Frequenztest wird das Blut auf seine Stabilität und Elastizität untersucht und mittels Fließkurven werden die Viskosität und die Scherverdünnung der alternden Blutproben dargestellt.

Langfristiges Ziel der wissenschaftlichen Forschungsgruppe ist es, international einheitliche Versuchsbedingungen im Rahmen einer Blutspurenmusteranalyse zu schaffen.

1.5. Hypothesen

1. Hypothese

- a. Nullhypothese: Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen Blut, welches von Schweinen während des Schlachtungsprozesses abgenommen wurde und Schweineblut abgenommen vom lebenden Tier.
- b. Alternativhypothese: Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Blutproben.

2. Hypothese

- a. Nullhypothese: Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen der Totalproteinmessung mittels Handrefraktometer und jenen mittels Chemie-Automaten.
- b. Alternativhypothese: Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Messergebnissen der beiden Methoden.

2. Material und Methode

Probencharakteristik

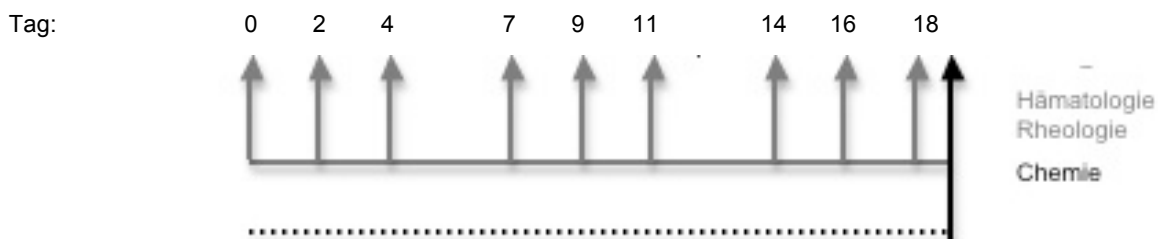


Abbildung 1: Messzeitpunkte jeder Charge zu je fünf Blutproben

Für diese Arbeit wurden insgesamt 10 Blutproben analysiert, sowohl Schweineblut, welches von gesunden Hausschweinen (*Sus scrofa domestica*) während der Schlachtung abgenommen wurde, als auch Schweineblut abgenommen von lebenden Tieren. Die fünf Blutproben der lebenden Schweine wurden an der Veterinärmedizinischen Universität Wien gewonnen. Die Tiere wurden mit Hilfe einer Oberkieferschlinge fixiert, die Blutabnahme erfolgte durch einen Tierarzt. Hierfür wird die *V. cava cranialis* mit einer Kanüle gezielt punktiert und das heraustretende Blut in 9 mL EDTA-Röhrchen (Vacurette®) aufgefangen. Insgesamt werden pro Schwein 10 Röhrchen abgenommen, welche anschließend sofort gekippt wurden, um das Blut ausreichend mit EDTA zu vermengen und es so ungerinnbar zu machen. Die EDTA-Röhrchen mit den Proben eines Individuums wurden nach der Abnahme in einem geeigneten sterilen Glasgefäß gesammelt, mit Parafilm® verschlossen und im Kühlschrank gelagert. Drei Wochen lang wurden alle zwei bis drei Tage sowohl die hämatologischen als auch die hämorheologischen Eigenschaften untersucht (siehe Timeline in Abbildung 1). An jedem Messtag wurde Plasma für die Totalproteinbestimmung entnommen und eingefroren. Die Messung des Totalproteins erfolgte am letzten Tag der Messungen (Tag 18) mit dem Chemieanalyse-Automat. Für die Blutabnahme liegt eine Bewilligung gemäß TVG 2012 vor (BMWF-66.009/0372-WF/V/3b/2014).

Die Blutproben der geschlachteten Tiere wurden für diese Arbeit von der Fleischerei Hödl im 23. Wiener Gemeindebezirk zur Verfügung gestellt. Diese wurden jeweils montags morgens während des Schlachtungsprozesses gewonnen. Hierfür wurden die Tiere elektrisch betäubt. Während des Halsschnittes wurden die Blutproben, jeweils 1 Liter, in sterile Glasbehältnisse mit einer EDTA-Lösung aus 7 g Na₂-EDTA und 40 g physiologischer Kochsalzlösung (NaCl) aufgefangen, gekippt, um eine Gerinnung zu vermeiden und anschließend sofort verschlossen. Im Labor wurden die Proben vom Schlachthof nochmals mehrere Male gekippt und mit einem feinen Sieb von etwaigen Koageln befreit. Ungefähr 150 mL wurden in geeignete sterile Glasgefäße transferiert. Die Glasbehältnisse wurden ebenfalls mit Parafilm[®] verschlossen und im Kühlschrank aufbewahrt. Insgesamt wurden so fünf Glasgefäße mit Schweineblut im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

Methodik und Parameter

2.1. Hämatologie

2.1.1. Zellzahlbestimmung und Erythrozytenindizes

Mit Hilfe des Hämatologieautomaten ADVIA[®] 2120i von Siemens (Erlangen, Deutschland) wurden von jeder Blutprobe zu den ausgewählten Messzeitpunkten komplette Blutbilder nach dem Prinzip der Photometrie, Durchflusszytometrie und der Impedanzmessung erstellt. Für die Messungen wurden etwa 300 µl Blut benötigt.

2.1.1.1. Durchflusszytometrie

Bei dieser Messung wird die Probe zuerst mit physiologischer Kochsalzlösung (NaCl) verdünnt und anschließend durch eine dünne Kapillare in eine Messküvette eingesaugt und gemessen. Die Zellen werden einzeln durch einen Messbereich geführt, der mit einem Laser bei einer Wellenlänge von 546 nm bestrahlt wird. Sobald die Zellen den Laserstrahl passieren, entsteht Streulicht, welches von einem Detektor (Photomultiplier) ausgewertet wird. Durch den Fokus des Lasers werden im Moment des Durchtritts als physikalische Messgrößen die Lichtstreuung der Zellen in einem engen Winkel zum Laserstrahl als Vorwärtsstreulicht und die Lichtstreuung im rechten Winkel als Seitwärtsstreulicht gemessen. Die Menge des gestreuten Lichts korreliert mit der Größe der Zelle. Das Vorwärtsstreulicht ist ein Maß für die Beugung des Lichts und hängt vom Volumen einer Zelle ab. Das Seitwärtsstreulicht ist ein Maß für die Brechung des Lichts und ist abhängig von der Granularität der Zelle sowie der Größe und Struktur des Zellkerns.

2.1.1.2. Impedanzmessung

Weitere Parameter wie beispielsweise der Hämatokrit (Hct) wurden nach dem Wechselstromprinzip detektiert. Bei der Impedanzmessung wird beim Ansaugen der Probe eine Änderung der elektrischen Leitfähigkeit durch die passierenden Zellen zwischen einer positiv geladenen und einer negativ geladenen Elektrode gemessen. Jede Zelle, die dieses elektrische Feld passiert, erzeugt eine kurzzeitige Erhöhung des elektrischen Widerstands. Die Impulserhöhung korreliert mit der Größe und Konzentration des Partikels. Der Hämatokrit wird aus der Summe der Impulshöhen der einzelnen Zellen errechnet.

2.1.1.3. Photometrische Hämoglobinmethode

Hämoglobin (Hb) wurde in einem photometrischen Messkanal mit einer Wellenlänge von 546 nm gegen eine Referenzlösung gemessen. Hierfür werden die Erythrozyten lysiert, anschließend werden die Hämoglobinfraktionen mit Kaliumcyanid oxidiert und als Zyanmethämoglobin gemessen. Dabei handelt es sich um eine spezifisch modifizierte ICSH-Methode.

2.1.1.4. Erythrozytenmessmethode

Erythrozyten wurden optisch bei 670 nm in einem Laser-Messkanal gemessen. Hierfür werden die Erythrozyten isovolumetrisch aufgekugelt und mit Hilfe der hydrodynamischen Fokussierung jeweils als singuläre Zellen gemessen und validiert. Die Vorwärtstreulichtsignale jeder Zelle werden in zwei unterschiedlichen Winkelbereichen von Detektoren aufgefangen, um diese in ein Scattergramm zu projizieren. Bei der Hochwinkeldetektion von 5-15° wird die Hämoglobinkonzentration eines Erythrozyten gemessen, die Niedrigwinkeldetektion von 2-3° ermittelt das Zellvolumen. Durch diese beiden Angaben kann das mittlere Erythrozytenvolumen (MCV) und die mittlere Hämoglobinkonzentration (MCHC) ermittelt werden.

2.1.2. Packed-Cell-Volume (PCV)

Nach der hämatologischen Messung wurde das Packed-Cell-Volume (PCV) der einzelnen Blutproben ermittelt. Hierfür wurde eine Glaskapillare mit einem Durchmesser von 1,5-1,6 mm und einem Fassungsvermögen von 75 µl möglichst waagrecht in den Flüssigkeitsspiegel des Probenbehälters geführt, um diese zu mindestens zwei Drittel mit Vollblut zu füllen. Durch das enge Lumen der Glasröhrchen entstehen Kapillarkräfte, die dazu führen, dass das Blut nach oben steigt. Die Kapillaren wurden anschließend mit Kit verschlossen. Jedes Kapillarröhrchen wurde in eine eigene Kammer einer Hämatokritzentrifuge (Hettich Haematokrit 2010, Tuttlingen, Deutschland) gelegt und fünf Minuten lang mit einer Zentrifugalbeschleunigung von 13.000 rpm zentrifugiert. Während der Zentrifugation wird der zelluläre Anteil vom Plasma getrennt. Die Glaskapillaren wurden abschließend nach einer Drehscheibenskala abgelesen, wodurch die Bestimmung des Volumenanteils der Erythrozyten im Blut als PCV in Prozent möglich gemacht wurde.

2.2. Chemie

2.2.1. Manuelle Totalproteinmessung

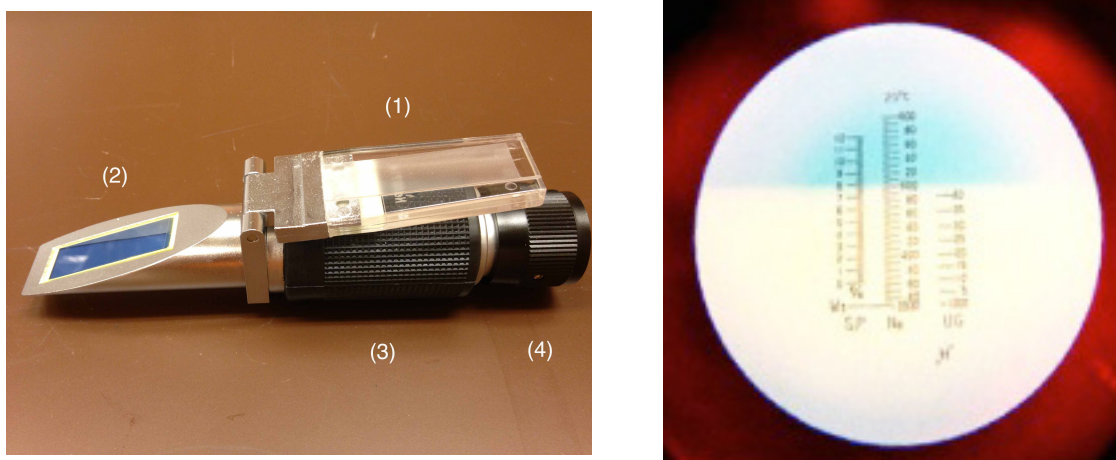


Abbildung 2: Handrefraktometer und Messskala im inneren des Okulars. Geräteteile: Prismenklappe (1), Messprisma (2), Justierschraube (3) und Okular (4). Bilder: Bianca Serp

Nach der Ermittlung des PCV wurde das Röhrchen einer Probe im zellfreien Plasmabereich gebrochen um die Totalproteinkonzentration im Plasma mit Hilfe des Handrefraktometers ermitteln zu können. Hierfür wurde die Prismaklappe des vorjustierten Handrefraktometers geöffnet. Anschließend wurde ein Tropfen Plasma luftblasenfrei auf das gesäuberte Prismenglas aufgebracht. Die Prismenklappe wurde geschlossen und sanft angedrückt. Das Refraktometer wurde waagrecht gegen eine ausreichende Lichtquelle gehalten. Im inneren des Okulars befand sich eine Messskala, anhand derer die Totalproteinkonzentration in der Messeinheit g/dL abgelesen werden konnte (Abb. 2). Das Handrefraktometer ermittelt den Brechungsindex einer Flüssigkeit. Der Brechungswinkel ist abhängig von der optischen Dichte der zu messenden Substanz.

2.2.2. Automatische Totalproteinmessung

Zu jedem Messzeitpunkt wurden im Anschluss an die hämatologischen Messungen von jeder Blutprobe ungefähr 300 μL Plasma gesammelt. Dafür wurden jeweils 800 μL der Blutproben in Eppendorf[®] Tuben pippettiert und anschließend bei 3000 rpm 10 Minuten lang zentrifugiert. Danach wurde das vom zellulären Anteil getrennte Plasma in Hitachi-Cups transferiert, in denen Sie verschlossen bei einer Temperatur von -30°C eingefroren wurden, um den Totalproteingehalt aller Proben und Messzeitpunkte gesammelt am letzten Tag der Messungen mit dem Chemie-Analysegerät Hitachi Cobas[®] c311 (Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) zu ermitteln. Der Chemie-Analyzer ist mit einem Photometer zur Messung der Extinktion der Reaktionsgemische in den Küvetten ausgestattet. Der Lichtstrahl aus der Photometerlampe gelangt durch die Hauptkomponenten des Gerätes sowie durch die Küvette mit der Probe auf ein Streugitter. Dieses zerlegt das Licht in seine einzelnen Wellenlängen und reflektiert diese auf eine Anordnung von 12 Photodioden. Jede Photodiode befindet sich in einer konstanten Position, um das Licht einer bestimmten Wellenlänge zu erkennen.

Anhand der entsprechenden Testparameter wählt das Gerät die Wellenlängen und die Messzeitpunkte der Extinktion des Reaktionsgemisches und für die Berechnung der Ergebnisse aus.

Das Messprinzip der Totalproteinmessung basiert auf der Biuret-Reaktion, eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Proteinen und Peptiden. Sobald Proteine im Plasma auf Kupferionen in einer stark alkalischen Lösung treffen, bilden diese über ihre Peptidbindungen mit Kupfer einen purpurfarbener Komplex. Die Farbintensität dieser Komplexe ist proportional zum Proteingehalt und wird photometrisch bei 550 nm gemessen. Durch eine Eichkurve wird die Menge an Protein in einer Lösung ermittelt.

2.3. Hämorheologie

Im Anschluss an die hämatologischen Verfahren erfolgten die hämorheologischen Messungen. Die Hämorheologie beschäftigt sich mit den Fließeigenschaften des Blutes. Hierfür kam das Rheometer MCR[®]301 (Paar, Graz, Österreich) sowie die entsprechende Software Rheoplus[®] (Version 3.40, Paar, Graz, Österreich) zum Einsatz (Abbildung 3). Die Messungen der Proben erfolgen nach dem Searle-System: der außen liegende Messbecher ist starr und der innen liegende Messkörper führt von der Software gesteuerte Rotationen und Oszillationen aus. In dieser Arbeit wurde ein Doppelspalt-Zylindersystem als Messgeometrie verwendet. Der Vorteil dieses Systems liegt in der großen Kontaktfläche von Blut und Messkörper.



Abbildung 3: Doppelspalt-Zylinder-Geometrie am Rheometer sowie grafische Darstellung des Messvorganges. Abteilung für Biomedizinische Forschung, MedUni Wien. Bilder: Bianca Serp. Grafik modifiziert nach¹²

2.3.1. Rotationsmessung - Fließkurve

Blut stellt eine Zwei-Phasen-Suspension dar mit zellulären Bestandteilen in kolloidaler Lösung. Blut ist eine Nicht-Newton'sche Flüssigkeit, deren charakteristische Eigenschaft durch die Strukturviskosität beschrieben wird. Die Blutprobe wurde vor der Verwendung ausreichend geschwenkt, um eine homogene Suspension herzustellen. Danach wurden 5000 µL Blut in den engen Ringspalt des stationären Messzylinders luftblasenfrei pipettiert, wo es mit Hilfe eines im Rheometer befindlichen Thermoelements (Peltier-Element) langsam auf die vordefinierte Temperatur von 21°C erwärmt wurde. Weiters wurde der Messkolben am Gerät befestigt, wodurch dieser mit dem Motor in Verbindung gebracht wird und angetrieben werden konnte. Der Rotationskörper wurde auf die entsprechende Höhe in den Ringspalt des darunter befindlichen Messzylinders mit der Probe hinunter gelassen, wo nun zwischen der äußeren starren Messzylinderwand und dem Rotationskörper die Flüssigkeit geschert wurde. Die Probe befindet sich zwischen den beiden Zylindern in einem Doppelspalt mit 24,261 mm Durchmesser, von denen der eine ruht und der andere mit einer definierten Geschwindigkeit bewegt wird. Die einzelnen Flüssigkeitsschichten werden durch die vorherrschende Strömung der bewegten Fläche laminar gegeneinander geschert. Die Rotationsmessungen erfolgten bei Scherraten zwischen 1 s⁻¹ und 2000 s⁻¹ mit einer logarithmischen Scherratenrampe. Die Vorscherephase bestand aus einer 30-sekündigen Rotation bei 300 s⁻¹ gefolgt von einer 10-sekündigen Pause. Danach begann die Messung der Viskosität der Probe bei der niedrigsten Scherrate. In dem eingestellten Scherratenbereich wurden 11 Messpunkte gesetzt. Die Steigerung der Schergeschwindigkeit (= Drehzahl des Messkörpers) bringt in Folge eine Erhöhung des Drehmoments (= Schubspannung) mit sich, aus welcher sich die Viskosität berechnet:

$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$	η <i>dynamische Viskosität</i>
	τ <i>Schubspannung</i>
	$\dot{\gamma}$ <i>Scherrate</i>

Die Darstellung der dynamischen Viskosität (in Pa.s) auf der y-Achse mit der Scherrate (s⁻¹) auf der x-Achse ergibt dann die Fließkurve (Beispiel siehe Abbildung 4).

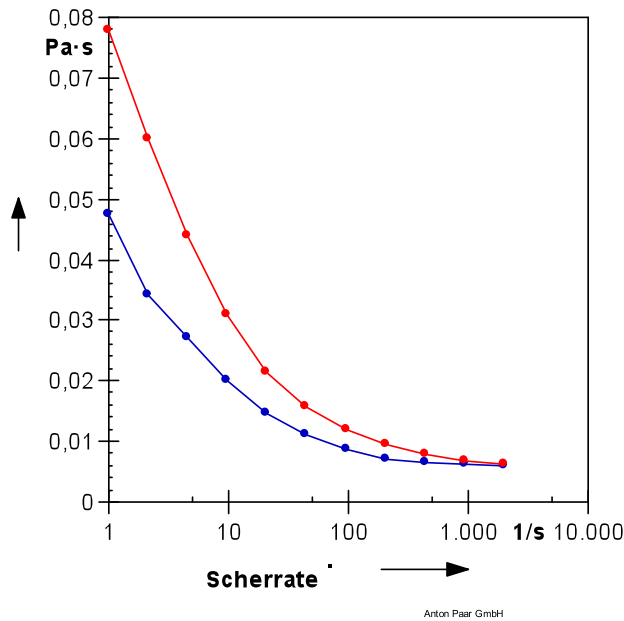


Abbildung 4: Beispiel einer Fließkurve von zwei Schweineblutproben. Originalgrafik der Software Rheoplus® von Anton Paar GmbH.

2.3.2. Oszillationsmessung - Frequenztest

Nach den Rotationsmessungen wurden die Oszillationsmessungen in derselben Messgeometrie gestartet. Bei Versuchen im oszillierenden Scherfeld (SAOS, Small Amplitude Oscillatory Shear) wird die Probe harmonischen Schwingungen unterworfen, die vom Messkolben direkt an die zu untersuchende Substanz übertragen werden. Vordefinierte Parameter sind eine fixe Deformationsamplitude bzw. Schubspannung, sowie eine variable Frequenz bzw. Kreisfrequenz. In dieser Arbeit wurde ein Kreisfrequenzbereich von 20 bis $0,1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ gewählt. 8 Messpunkte wurden auf einer logarithmischen Rampe verteilt. Die Vorscherphase bestand aus einer 30-sekündigen Rotation bei 300 s^{-1} gefolgt von einer 10-sekündigen Pause. Danach begann die Messung bei der höchsten Kreisfrequenz. Der Frequenztest wurde im linearen viskoelastischen Bereich (LVE) der Blutprobe durchgeführt. Das bedeutet, dass die Deformationsamplitude der Probe kleiner war als die Nachgebrenze der zu messenden Blutprobe. Damit ist gewährleistet, dass Strukturen in der Blutprobe wie beispielsweise Geldrollen der Erythrozyten oder Assoziate mit Protein, während der Messung reversibel deformiert und daher nicht zerstört werden. Der LVE-Bereich der Blutproben muss vorab im Amplitudentest bestimmt werden. Hier lässt man bei fix eingestellter Frequenz (z.B. 1,5 Hz, entsprechend einer Herzfrequenz von 90 Schlägen pro Minute) eine steigende Deformationsamplitude auf das System einwirken. Jene Deformation, bei der die Schubmoduln ihren konstanten Wert erstmals verlassen ist die Nachgebrenze. Der Frequenztest muss unterhalb dieser Grenze durchgeführt werden. Damit können chaotische Messergebnisse, die durch eine irreversible Deformation generiert werden würden, ausgeschlossen werden. Für die vorliegende Arbeit wurde die Nachgebrenze in verschiedenen Blutproben von Schweinen vorab bestimmt (siehe Bachelorarbeit 1). Sie lag zwischen 0,05 und 1 Pa. Der Frequenztest wurde bei 0,01 Pa im Continuous Shear Stress-Modus (CSS) durchgeführt.

Das Messprinzip ist folgendes: Der Messkörper übt in der Blutflüssigkeit eine Kraft (= ein sinusförmiges Drehmoment) aus. Der Auslenkwinkel ψ und der Phasenverschiebungswinkel δ werden aufgezeichnet und von der Computersoftware Rheoplus[®] in die Schubmoduln umgerechnet. In einem klassischen Frequenztest werden Speichermodul (G') und Verlustmodul (G'') auf der y-Achse in Abhängigkeit von der Frequenz auf der x-Achse aufgezeichnet (Beispiel siehe Abbildung 5).

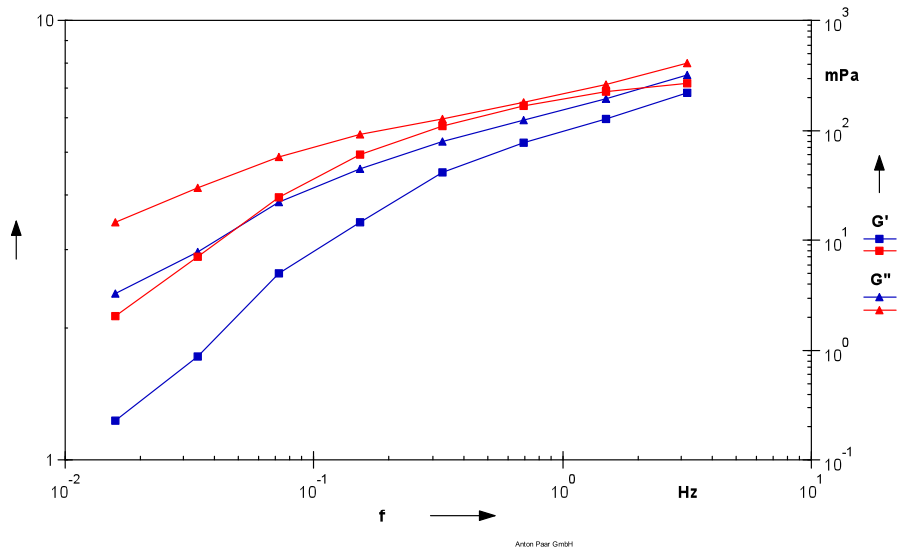


Abbildung 5: Beispiel eines Frequenztests von zwei Schweineblutproben. Originalgrafik der Software Rheoplus[®] von Anton Paar GmbH

Das Speichermodul ist die während des Scherprozesses in der Probe gespeicherte Deformationsenergie. Diese Energie steht nach der Entlastung der Probe wieder vollständig zu Verfügung und wirkt somit als Antrieb zur Rückdeformation. Die vorgehende Deformation wird dadurch teilweise oder vollkommen ausgeglichen. Das Verlustmodul gilt als Maß für die verbrauchte Deformationsenergie, die während des Scherprozesses an die Umgebung abgegeben und/oder in der Probe aufgebraucht wird und dadurch verloren geht¹². Das Verhältnis von Verlustmodul und Speichermodul sagt aus, ob eine Probe eine viskoelastische Flüssigkeit oder ein viskoelastischer Festkörper ist, je nachdem ob der viskose oder der elastische Anteil in der Probe überwiegt. Dieses Verhältnis beschreibt man mit dem Verlustfaktor ($\tan\delta$). Der Verlustfaktor wird folgendermaßen berechnet:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

- $\tan \delta$ Verlustfaktor
- G'' Verlustmodul
- G' Speichermodul

Der Gelpunkt einer Flüssigkeit ist bei einem $\tan\delta$ von 1 erreicht, da G' und G'' denselben Wert haben. Das Material hat somit gleich viele elastische wie visköse Anteile. Gelpunkte sind wichtige Parameter bei Polymerisationsprozessen, da sie das Aushärten einer Probe anzeigen. Vollblut ist eine viskoelastische Flüssigkeit. Das Verlustmodul G'' ist bei physiologischen Hämatokritwerten immer höher als das Speichermodul G' . Der Verlustfaktor ist dadurch immer größer als 1. Bilden sich in Blut allerdings durchgehende verbindende Strukturen (Perkolation), zum Beispiel Zellen, die mit Proteinen umgeben sind, die ihrerseits wieder an Zellen haften, so kann es sein, dass der elastische Charakter der Blutprobe steigt. Demzufolge steigt G' und $\tan\delta$ sinkt. Wenn der $\tan\delta$ unter 1 sinkt, hat Blut tendenziell mehr Festkörpercharakter als Flüssigkeitscharakter – eine für Blut untypische Eigenschaft.

Mit einem Frequenztest wird das zeitabhängige Deformationsverhalten der Blutprobe gemessen. Niedrige Frequenzen simulieren das Verhalten der Probe in Ruhe (die Schwerkraft wirkt auf die Probe), hohe Frequenzen simulieren das Kurzzeit-Verhalten der Probe (z.B. schneller Aufprall an eine Wand). Mit dem $\tan\delta$ kann beispielsweise gezeigt werden, ob eine Probe bei einer bestimmten Frequenz ein Maximum oder ein Minimum hat, d.h. ob sie bei einer bestimmten Frequenz am stabilsten oder am labilsten ist. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass der Verlustfaktor von Vollblut verschiedener Spezies bei Frequenzen zwischen 0,3 und 1 Hz ein Minimum aufweist. Dieses Minimum wurde auch in dieser Arbeit beobachtet und für die Auswertung verwendet.

3. Ergebnisse

Die deskriptive Statistik wurde mit Microsoft® Excel® 2008 und IBM® SPSS Statistics durchgeführt. Die Ergebnisse sowie die jeweilige Verteilungen der Daten werden in den Abbildungen 6-22 anhand von Liniendiagrammen mit den jeweiligen Konfidenzintervallen, in Originaldiagrammen und in Tabelle 3 veranschaulicht. Zusammenfassende Tabellen befinden sich im Anhang.

3.1. Hämatologie

3.1.1. Hämatokrit

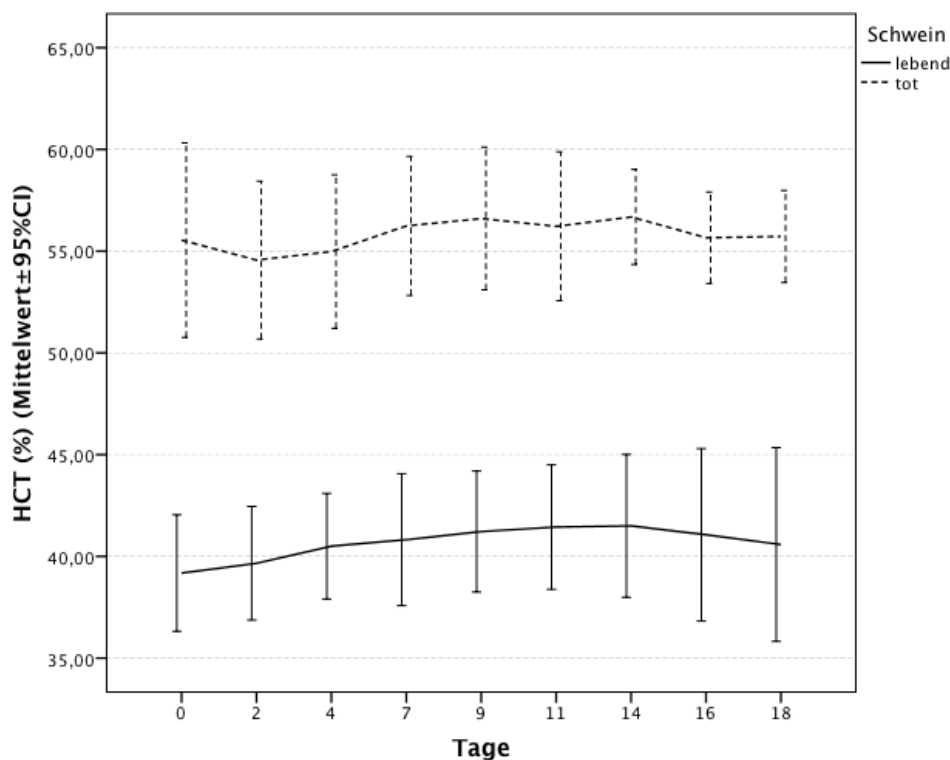


Abbildung 6: Grafische Darstellung der Mittelwerte der Hämatokrite (Hct, %) der Blutproben der lebenden Schweinen (lebend) und der geschlachteten Schweine (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Bereits nach der ersten Messung an Tag 0 konnten von Beginn an signifikante Unterschiede im Hämatokrit zwischen den Blutproben der geschlachteten Tiere (tot) und der lebenden Tiere (lebend) aufgezeigt werden. Die Hämatokrit-Werte der Blutproben der geschlachteten Tiere waren deutlich höher (rund 42%) als jene Proben der lebenden Schweine (siehe Abbildung 6). Bei gesunden ausgewachsenen Schweinen liegt der Hämatokrit zwischen 36% und 43%¹³. Diese Beobachtung konnte in der eigenen Untersuchung anhand der Blutproben der lebenden Schweine bestätigt werden. Der Ausgangshämatokrit der geschlachteten Tiere lag im Bereich zwischen 50% und 60% (siehe Tabelle im Anhang).

Es konnte beobachtet werden, dass der Hämatokrit der beiden Messgruppen leicht anstieg, im späteren Verlauf der Blotalterung blieben die Werte jedoch konstant. Der hohe Hämatokrit der geschlachteten Tiere lässt sich als Stressreaktion aufgrund des bevorstehenden Schlachtungsprozesses erklären.

Stress definiert sich als Reaktion des Körpers auf ihm unbekannte Faktoren jeglicher Art, welche das physiologische Gleichgewicht stören¹⁴. Diese Störungen kann der Körper durch neuronale, neuro-endokrine und neuro-endokrin-immunologische Mechanismen in gewissen Grenzen bewältigen. Wenn allerdings Stressoren über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben, können diese das Immunsystem auf verschiedene Weise supprimieren und schließlich den Organismus erkranken lassen¹⁵. Stress führt neben einer starken Immunreaktion auch zur vermehrten Ausschüttung von Catecholaminen aus dem Nebennierenmark, wodurch sich Herzfrequenz, Atemfrequenz und Blutdruck erhöhen. Weiterführend kommt es zur Ausstoßung großer Mengen an Erythrozyten aus der Milz in die Blutbahn, was zum Anstieg von Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Hämoglobin führt und somit die Blutviskosität erhöht¹⁶⁻²³. Die Erythrozytenaggregation ist gekoppelt an die Anwesenheit großer Plasmaproteine wie Fibrinogen und α 2-Makroglobulin. Diese Proteine können Brücken zwischen benachbarten Erythrozyten ausbilden und die gegenseitige Abstoßung der roten Blutzellen, die durch ihre negative Oberflächenspannung entsteht, überwinden. Die Aggregate lösen sich mit steigenden Scherkräften und reaggregieren bei einer niedrigen Strömungsgeschwindigkeit²⁴.

Ein Faktor, der außerdem zu einer Erhöhung des Hämatokrits führt, ist die Dehydratation der Tiere beim Transport. Wie aus der Literatur bekannt ist, kann es durch den Transport der Tiere vor allem bei langen Transportwegen zu einer starken Dehydrierung aufgrund von Wasserentzug während des Transports, Flüssigkeitsverlust durch urinieren, erhöhte Atemfrequenz und erhöhte Körpertemperatur kommen^{16,25-30}.

3.1.2. Durchschnittliches Erythrozytenvolumen (MCV)

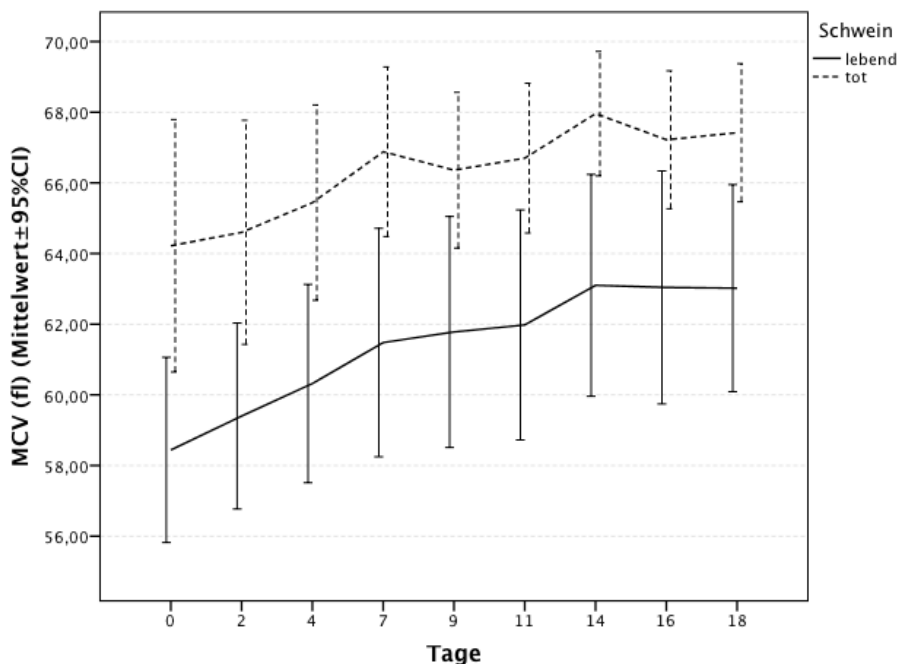


Abbildung 7: Grafische Darstellung der Erythrozytenvolumina (MCV, fl) der Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Neben dem erhöhten Hämatokrit der Blutproben der geschlachteten Schweine konnte zudem festgestellt werden, dass auch das mittlere Zellvolumen (MCV) bei diesen Proben höher war. Trotzdem lagen die MCV-Werte beider Messgruppen im Referenzbereich eines gesunden Schweines bei 50 bis 68 fl¹³. Allerdings konnte eine Erhöhung der MCV-Werte aller Blutproben im Lauf der Alterung der Proben beobachtet werden. Es zeigte sich, dass das MCV der Proben der geschlachteten Tiere vergleichsweise geringere Veränderungen aufwies als jenes der lebenden Tiere. Dies ist anhand der kleineren Konfidenzintervalle bei den Blutproben der geschlachteten Tiere erkennbar.

Als Folge der Blutalterung ist bekannt, dass Erythrozyten Wasser aufnehmen und anschwellen, bis es schlussendlich zum Platzen der Zelle und dem Austritt des Hämoglobins kommt. Grund für diesen Effekt ist, dass die meiste Energie in Form von ATP für den Erhalt des osmotischen Gleichgewichtes zwischen der Zelle und seiner Umgebung durch die Funktion der Na⁺-K⁺-Pumpe aufgewendet wird. Wird Blut dem lebenden Organismus entnommen, wird es nicht weiter mit Sauerstoff versorgt, wodurch sich in weiterer Folge kein osmotisches Gleichgewicht mehr einstellen kann und es zu einem unkontrollierten Einstrom von Wasser in die Zellen kommt. Als Folge des Anschwellens der Erythrozyten kann ein deutlicher Anstieg des MCV-Wertes sowie des Hämatokritwertes beobachtet werden³¹⁻³⁴. Sobald es zur Hämolyse kommt, sinkt auch der MCV schlagartig. Dieser Effekt war auch in dieser Arbeit erkennbar. Außerdem kann die Kontaktdauer der roten Blutkörperchen mit EDTA ebenso zu einem Anschwellen der Zellen führen. Die Erythrozytenindices, der Hämatokrit und das MCV können damit erhöht sein³⁵. In dieser Arbeit war allerdings anzunehmen, dass ein Anschwellen der

roten Blutzellen durch EDTA in beiden Versuchsgruppen vergleichbar war und somit keinen Unterschied hinsichtlich der Messgruppen erzeugte.

Folgedessen kann gesagt werden, dass die beobachteten Anstiege der MCV-Werte durch die Lagerung hervorgerufen wurden. Laut Mäde und Wujanz (1995) kommt es bereits nach wenigen Stunden zu deutlichen Veränderungen des Blutes durch die metabolische Aktivität der Erythrozyten, den Zerfall der Leukozyten und den Metabolismus der Plasmaproteine³⁶. Die Veränderung der Blutproben mit dem Alter konnte anhand der Differenzialblutbilder der Schweineblutproben vom 1. Messzeitpunkt und vom 9. Messzeitpunkt ebenso deutlich gemacht werden (Abbildungen 8 und 9).

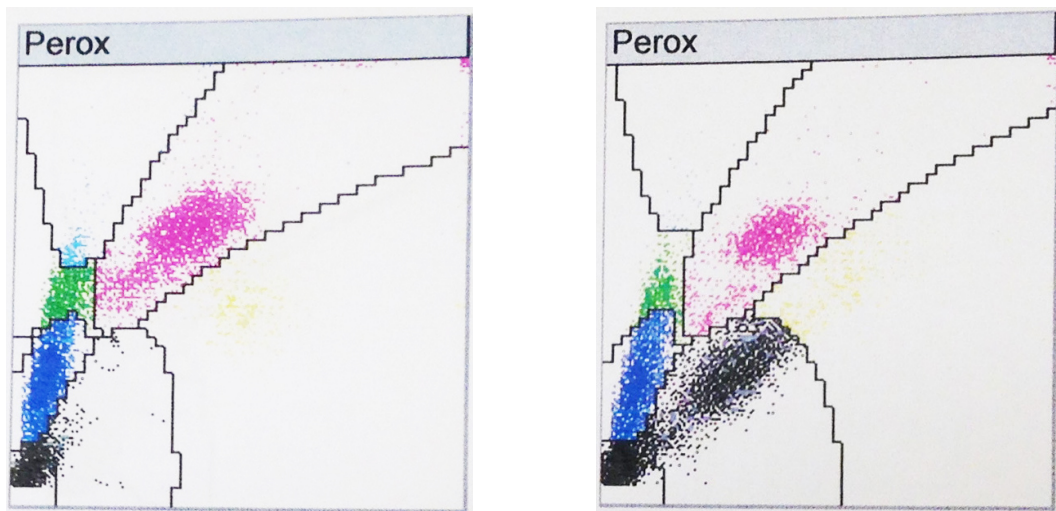


Abbildung 8: Leukogramme einer Probe eines lebenden Schweines zum 1. Messzeitpunkt (Tag 0) und zum 9. Messzeitpunkt (Tag 18).

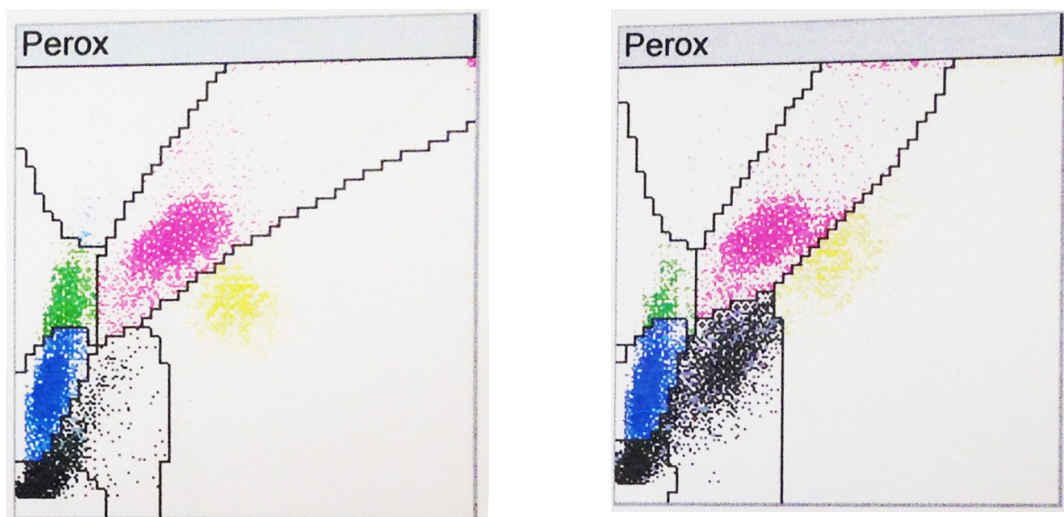


Abbildung 9: Leukogramme einer Probe eines geschlachteten Schweines zum 1. Messzeitpunkt (Tag 0) und zum 9. Messzeitpunkt (Tag 18)

Anhand der Leukogramme war erkennbar, dass die Zellzahl im Bereich der neutrophilen Granulozyten (pinkfarbene Wolke) vor allem bei den Proben der lebenden Schweine kontinuierlich abnahm, der „Debris“ Bereich (schwarze Wolke, Zelltrümmer) dafür stetig stieg.

3.1.3. Packed-Cell-Volume (PCV)

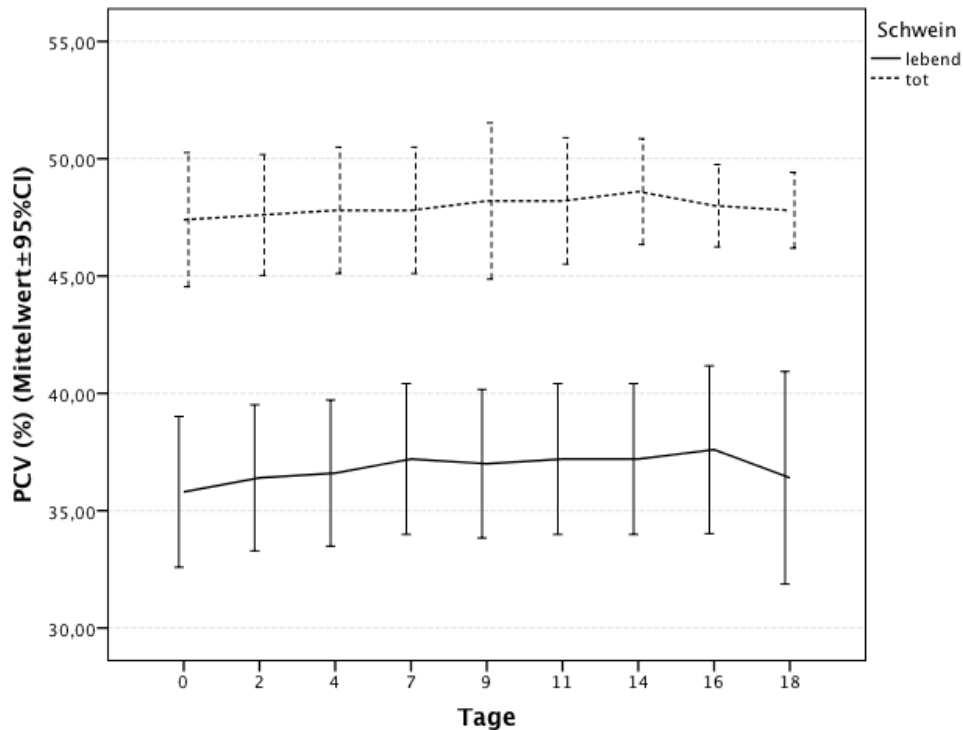


Abbildung 10: Grafische Darstellung des Verlaufs des PCV (%) der Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Anhand des Packed-Cell-Volumens der beiden Messgruppen war der Unterschied zwischen den Proben der lebenden Schweine und der geschlachteten Tiere erneut deutlich zu erkennen. Das PCV der Blutproben, die während des Schlachtens abgenommen wurden, war vom ersten Messzeitpunkt an signifikant höher als jene der lebenden Schweine. Hinsichtlich der Blutalterung war jedoch keine starke Veränderung ersichtlich.

3.2. Chemie

3.2.1. Manuelle Totalproteinmessung

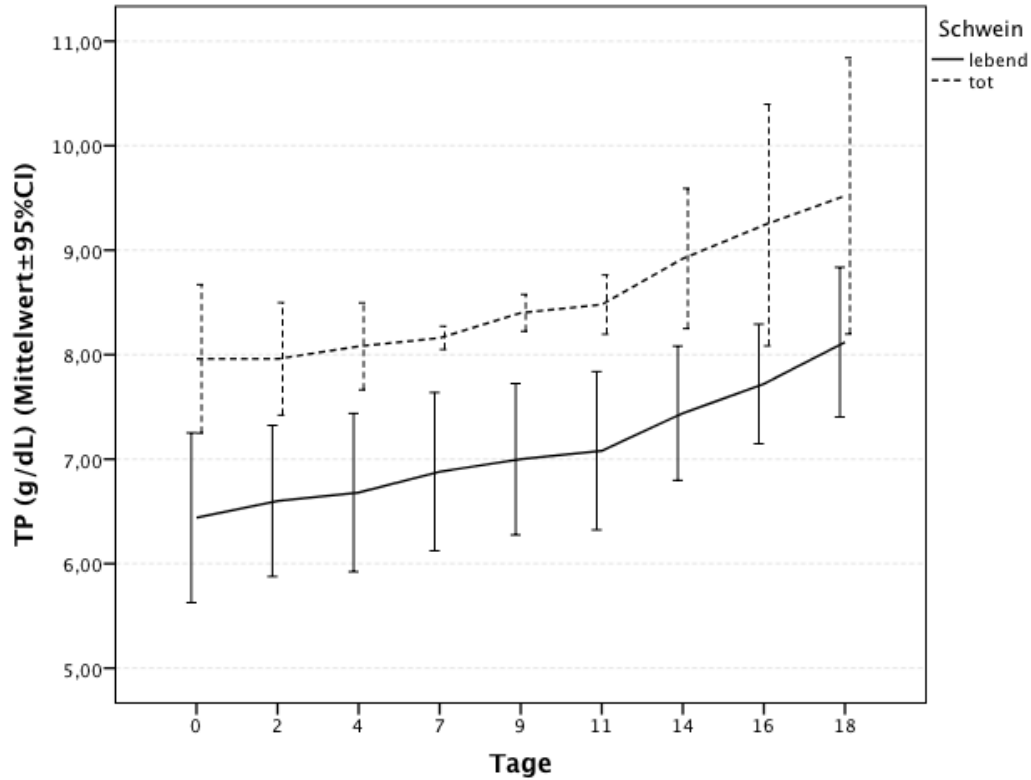


Abbildung 11: Verlauf der manuell mittels Handrefraktometer ermittelten Totalproteinkonzentrationen (g/dL) über einen Messzeitraum von 18 Tagen von Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) mit einem Konfidenzintervall von 95%.

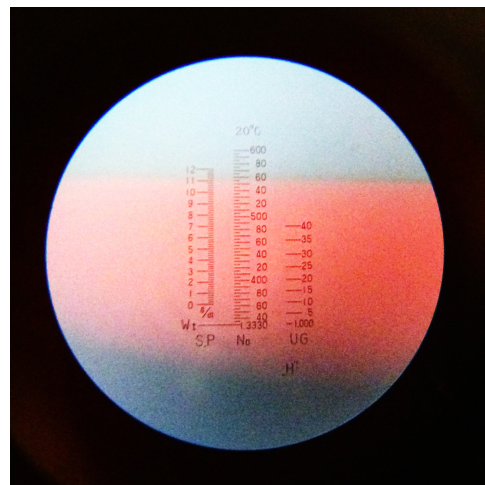
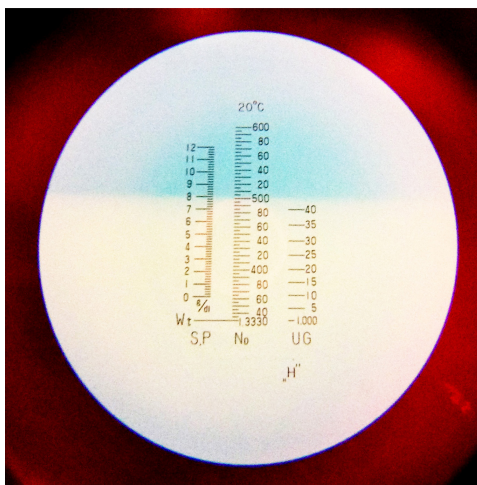


Abbildung 12: Handrefraktometrische Ermittlung des Totalproteins einer Probe bei der ersten Messung (Tag 0) verglichen mit einer Probe bei der letzten Messung (Tag 18). Bilder: Bianca Serp

lebend				
Tage	MW [LCI, UCI]	MED [Interquartils- abstand]	SD	Min/Max
0	6,44 [5,63;7,25]	6,20 [1,20]	0,65422	5,6/7,2
2	6,70 [5,71;7,69]	6,70 [1,20]	0,62183	6,0/7,4
4	6,68 [5,92;7,44]	6,60 [1,20]	0,60992	6,0/7,4
7	6,88 [6,12;7,64]	6,80 [1,20]	0,60992	6,2/7,6
9	7,00 [6,28;7,72]	6,80 [1,10]	0,5831	6,4/7,8
11	7,08 [6,32;7,84]	7,00 [1,20]	0,60992	6,4/7,8
14	7,44 [6,80;8,08]	7,20 [1,00]	0,51769	7,8/8,0
16	7,72 [7,15;8,29]	7,60 [0,90]	0,46043	7,2/8,2
18	8,12 [7,40;8,84]	8,00 [0,90]	0,57619	7,4/9,0

Tabelle 1: Zusammenfassende Tabelle der handrefraktometrisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von lebenden Schweinen.

tot				
Tage	MW [LCI, UCI]	MED [Interquartils- abstand]	SD	Min/Max
0	7,96 [7,25;8,67]	8,00 [0,90]	0,57271	7,2/8,8
2	7,96 [7,42;8,50]	8,00 [0,70]	0,43359	7,4/8,6
4	8,08 [7,66;8,50]	8,00 [0,60]	0,33466	7,6/8,4
7	8,16 [8,05;8,27]	8,20 [0,10]	0,08944	8,0/8,2
9	8,40 [8,22;8,58]	8,40 [0,20]	0,14142	8,2/8,6
11	8,48 [8,20;8,76]	8,40 [0,40]	0,22804	8,2/8,8
14	9,10 [8,44;9,76]	9,10 [0,80]	0,41633	8,6/9,6
16	9,24 [8,08;10,40]	9,00 [1,80]	0,93167	8,2/10,4
18	10,13 [7,89;12,37]	10,20 [-]	0,90185	9,2/11,0

Tabelle 2: Zusammenfassende Tabelle der handrefraktometrisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von geschlachteten Schweinen.

Die mittels Handrefraktometer ermittelten Messergebnisse der Totalprotein-Konzentrationen zeigten in allen Blutproben eine kontinuierliche Erhöhung der Werte mit zunehmendem Alter. Bei den Proben der geschlachteten Tiere waren die Werte bereits von Anfang an mit einem Mittelwert von 7,96 g/dL deutlich höher als bei den Konzentrationen der Proben der lebenden Schweine (6,44 g/dL) (siehe Abbildung 11, Tabelle 1 und 2). Die Totalproteinkonzentrationen der Proben der geschlachteten Schweine stieg auf durchschnittlich 10 g/dL an, während jene der Proben der lebenden Schweine auf durchschnittlich 8 g/dL anstieg. Beachtet man in der grafischen Darstellung die Größe der Konfidenzintervalle, so ist erkennbar, dass die Proben der lebenden Schweine jeweils eine gleichmäßige aber kontinuierliche Erhöhung des TP aufwiesen. Die Proben der geschlachteten Tiere zeigten vor allem zwischen Tag 7 und Tag 14 vergleichsweise wenig Veränderungen und ab Tag 16 bis Tag 18 hingegen große Variationen der Messergebnisse. Dies ist auch in Tabelle 2 ersichtlich. Zudem konnte beobachtet werden, dass das Plasma der Blutproben der lebenden Schweine bereits sehr früh sichtbar hämolytisch wurde, während jene Proben vom Schlachthof erst während der letzten Messzeitpunkte sichtbare Veränderungen aufwiesen. Die Hämolyse war im Handrefraktometer deutlich erkennbar (siehe Abbildung 12).

3.2.2. Automatische Totalproteinmessung

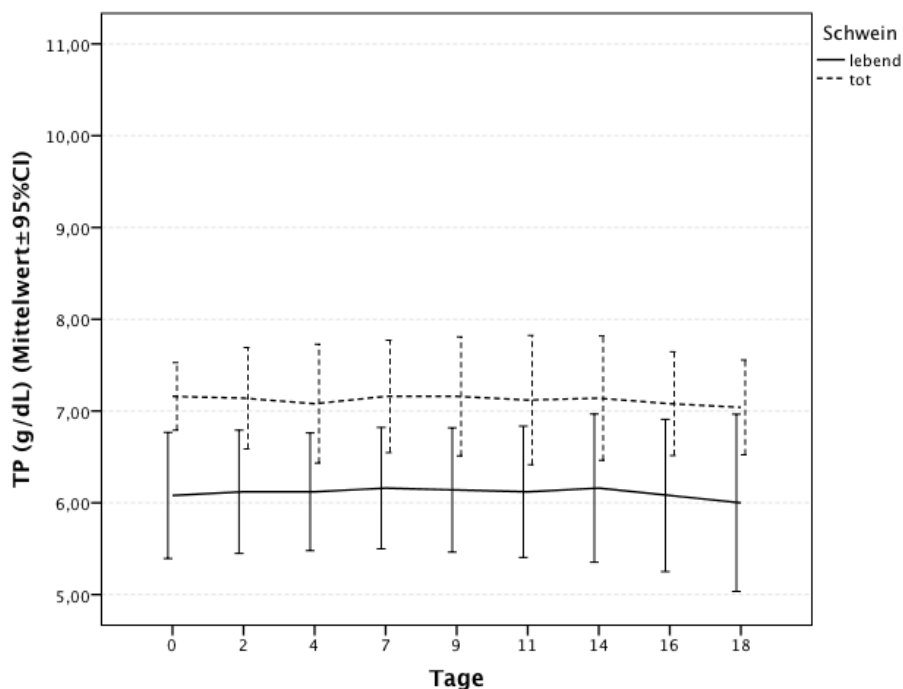


Abbildung 13: Verlauf der automatisierten Totalproteinermittlung (g/dL) über einen Messzeitraum von 18 Tagen von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) mit einem Konfidenzintervall von 95%.

lebend				
Tage	MW [LCI, UCI]	MED [Interquartils- abstand]	SD	Min/Max
0	6,08 [5,40;6,77]	6,00 [1,10]	0,55408	5,5/6,7
2	6,23 [5,33;7,12]	6,30 [1,07]	0,56199	5,5/6,8
4	6,12 [5,48;6,76]	6,00 [1,00]	0,51672	5,5/6,7
7	6,16 [5,50;6,82]	6,10 [1,05]	0,53198	5,6/6,8
9	6,14 [5,46;6,82]	6,00 [1,05]	0,54589	5,5/6,8
11	6,12 [5,40;6,84]	6,00 [1,10]	0,57619	5,5/6,9
14	6,16 [5,35;6,97]	6,10 [1,25]	0,65038	5,4/7,0
16	6,08 [5,25;6,91]	6,00 [1,30]	0,66858	5,3/6,9
18	6,00 [5,03;6,97]	6,00 [1,50]	0,77782	5,0/6,9

Tabelle 3: Zusammenfassende Tabelle der automatisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von lebenden Schweinen.

tot				
Tage	MW [LCI, UCI]	MED [Interquartils- abstand]	SD	Min/Max
0	7,16 [6,80;7,53]	7,10 [0,55]	0,29665	6,9/7,6
2	7,14 [6,59;7,69]	7,00 [0,85]	0,44497	6,6/7,6
4	7,08 [6,43;7,73]	7,00 [1,00]	0,52154	6,4/7,6
7	7,16 [6,55;7,77]	7,00 [0,90]	0,49295	6,5/7,7
9	7,16 [6,51;7,81]	7,10 [0,95]	0,52249	6,4/7,7
11	7,12 [6,42;7,82]	7,10 [1,05]	0,56745	6,3/7,7
14	7,33 [6,67;7,98]	7,40 [0,77]	0,41130	6,8/7,7
16	7,08 [6,52;7,64]	7,20 [0,80]	0,45497	6,4/7,6
18	7,30 [6,87;7,73]	7,20 [-]	0,17321	7,2/7,5

Tabelle 4: Zusammenfassende Tabelle der automatisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von geschlachteten Schweinen.

Die Messergebnisse der automatisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen mit dem Chemie-Analysegerät zeigten keine signifikant veränderten Totalprotein-Konzentrationsunterschiede sämtlicher Proben während der Alterung (Abbildung 13, Tabelle 3 und 4). Erneut ist jedoch erkennbar, dass die Proben der geschlachteten Tiere höhere Totalprotein-Konzentrationen aufwiesen, als die Proben der lebenden Tiere. Diese Tatsache lässt sich erneut durch den Stress, dem die Tiere während des Schlachtungsprozesses ausgesetzt sind, erklären.

Schweine werden im Laufe ihres Transportweges zum Schlachthof mit Stressoren wie Angst, Hunger, Durst, Lärm oder ähnlichem konfrontiert. Sie werden aus ihrer gewohnten Umgebung entrissen, unsanft auf Transportwägen verfrachtet und müssen oft stundenlang eingepfercht in Lastwägen zusammen mit anderen Tieren den Transport zum Schlachthof überstehen, bis sie vor Ort das höchste Stresslevel durch Angstschreie von Artgenossen erreichen³⁷⁻⁴². Diese Stimuli führen zu physiologischen und metabolischen Veränderungen, wodurch es nicht nur zu einer starken Ausschüttung von Akutphaseproteinen über einen längeren Zeitraum kommt, es kann die Anpassungsfähigkeit des Organismus derart überfordern, dass sogar der Tod der Tiere die Folge der Stressoren sein können^{16,42-44}. Bei der Reaktion des Organismus auf Stressoren spielen nicht nur klassische Hormone eine Rolle in der Regulation sondern auch Interleukine wie IL-1, IL-6 und das Zytokin TNF- α ⁴⁵. Durch die Ausschüttung von Zytokinen wird die Bildung von Akutphaseproteinen induziert, die wiederum im Blut nachweisbar sind und die Viskosität des Plasmas wesentlich beeinflussen. Demnach können die unterschiedlichen Totalproteinkonzentrationen zwischen Blut von Schweinen während der Schlachtung und Schweineblut vom lebenden Tier auf die unterschiedliche Konzentration von Interleukinen sowie Zytokinen und Akutphaseproteinen im Blut zurückzuführen sein, die sich nachweislich in Relation mit dem Stresslevel des Individuums befinden^{15,46,47}. Die im Blut nachweisbaren Konzentrationsveränderungen diverser Proteine kann schon nach wenigen Stunden detektiert werden^{39,48}.

3.2.3. Vergleich automatische und manuelle TP-Messung

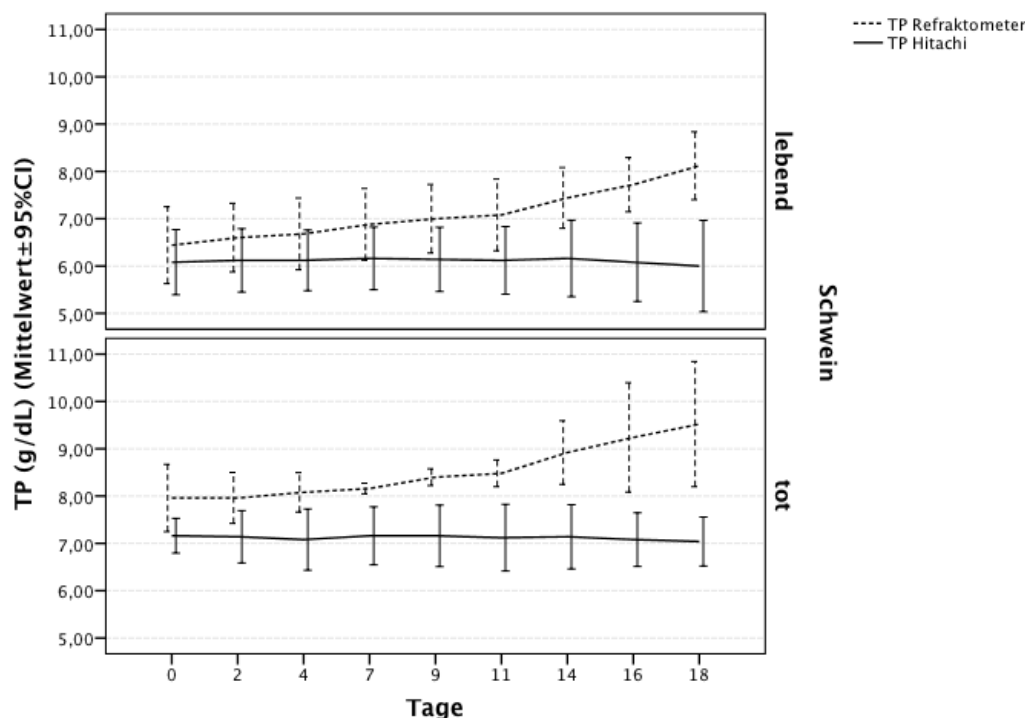


Abbildung 14: Vergleich der Messergebnisse der automatischen TP-Ermittlung mittels Hitachi Chemieanalysegerät und der manuellen TP-Ermittlung mittels Refraktometer der Blutproben der lebenden Schweine und jene der geschlachteten Tiere.

In Abbildung 14 wird ersichtlich, dass die Messergebnisse des manuellen Totalproteins bei den lebenden Schweinen zwischen dem 11. und dem 14. Messtag von den automatisch ermittelten Ergebnissen signifikant abwichen. Bei den Blutproben der geschlachteten Tiere bestand bereits zwischen dem 2. und dem 4. Messtag ein signifikanter Unterschied.

Das Blutplasma besteht zu 90% aus Wasser und zu 10% aus darin gelöste Substanzen wie etwa Elektrolyte (Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} etc.), Nährstoffe wie Glukose, Abbauprodukte diverser Stoffwechselwege wie Laktat oder Kreatin, sowie Hormone und Plasmaproteine wie Albumine, Glykoproteine, Transferrin, Immunglobuline, Fibrinogen und C-reaktives Protein. Die Gesamtkonzentration aller Proteine im Blut wird mit dem Plasma-Totalprotein gemessen. Mit der Biuret-Methode wird der Gehalt an Totalprotein im Serum photometrisch detektiert und quantifiziert. Da Totalprotein im lebenden Organismus gebildet wird und diverse Ausgangsfaktoren die Bildung der Proteine beeinflussen und für deren Ausschüttung verantwortlich sind, kommt es aufgrund der fehlenden Stoffwechselvorgänge der Blutprobe im Glasgefäß nicht zum Metabolismus. Angesichts der Messgeräteabweichung, welche durch das Chemie-Analysegerät selbst verursacht wird, scheinen die Totalproteinkonzentrationen leichte Veränderungen hinsichtlich der Blutalterung zu zeigen. Die ermittelte Ausgangskonzentration an Totalprotein einer Blutprobe blieb allerdings durchwegs erhalten und veränderte sich kaum.

Die ermittelten Werte durch das Handrefraktometer korrelierten somit nicht mit den ermittelten Totalproteinkonzentrationen des Chemie-Analysegerätes, da mit Hilfe des Handrefraktometers lediglich die optische Dichte des Plasmas ermittelt werden konnte. Diese war abhängig von der Proteinkonzentration und dem Hämolysegrad des Plasmas. Das durch die Hämolyse freiwerdende Hämoglobin führte zu einem Anstieg des Brechungsindex, da ein Konglomerat aus Totalprotein und Hämoglobin gemessen wurde. Daraufhin kam es mit dem Grad der Hämolyse zu einer Verfälschung der Totalprotein-Werte im Handrefraktometer. Die Messgenauigkeit der Totalproteinanalyse mit der Biuret-Methode des Chemie-Automaten wurde durch den Hämolysegrad der Proben nicht beeinträchtigt, wodurch die Totalproteinermittlung mit dieser Methode exakter und somit sowohl spezifischer als auch sensitiver war.

Über die Exaktheit der Totalproteinmessung mittels Handrefraktometer sind sich Wissenschaftler bis heute nicht einig. So wird in manchen Arbeiten die Messgenauigkeit der refraktometrischen Methode mit jener der Biuret Methode gleich gestellt und ihre Vorteile wie rasche, kostengünstige und einfache Durchführung der Analysen hervorgehoben, während in anderen Arbeiten sowohl höhere als auch niedrigere Ergebnisse durch die Handrefraktometrie erzielt wurden als mit der Biuret Methode⁴⁹⁻⁵¹. In der Arbeit von Briend-Marchal et al. (2005) wird explizit darauf hingewiesen, dass die refraktometrische Methode der Totalproteinermittlung bei hämolysiertem Blut zu falsch hohen Werten führen kann⁵².

3.3. Hämorheologie

3.3.1. Rotationsmessung - Fließkurve

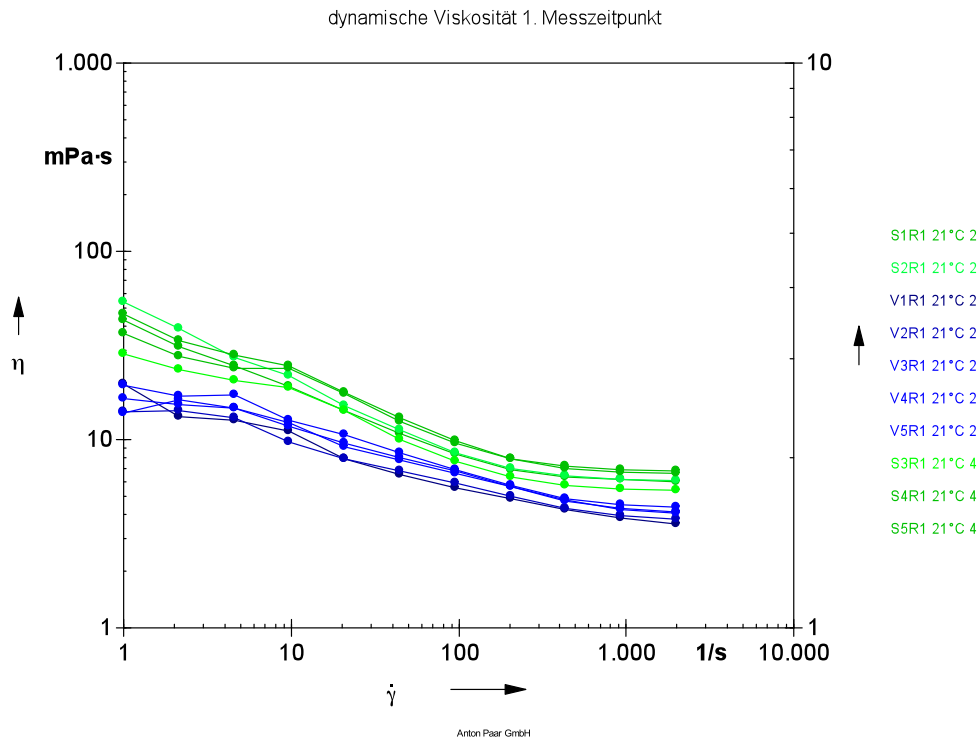


Abbildung 15: Fließkurven der Blutproben aller lebenden Tiere (V, blau) und aller geschlachteten Tiere (S, grün) am 1. Messzeitpunkt (Tag 0). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus[®] von Anton Paar GmbH.

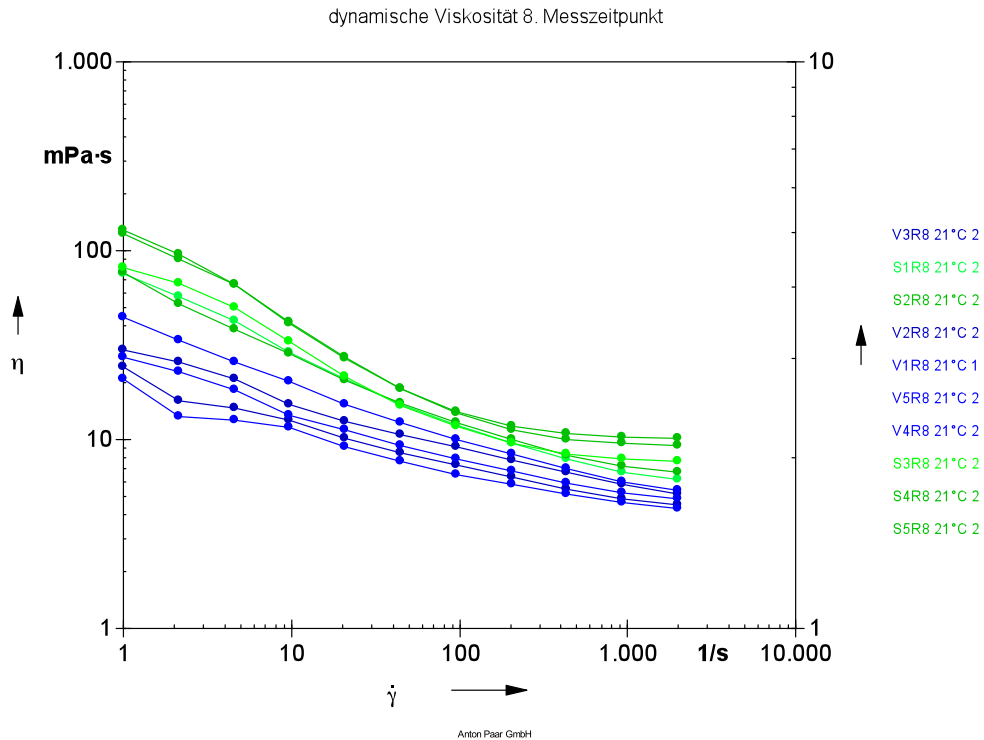


Abbildung 16: : Fließkurven der Blutproben aller lebenden Tiere (V, blau) und aller geschlachteten Tiere (S, grün) am 8. Messzeitpunkt (Tag 16). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus[®] von Anton Paar GmbH.

Die Fließkurven der Blutproben in Abbildung 15 zeigen die Scherverdünnung und damit die nicht-Newton'sche Eigenschaft von frischem Blut. Bei niedrigen Scherraten kam es zu einer Viskositätserhöhung, während sich die Viskosität der Blutproben mit zunehmender Scherrate verringerte. Die Fließkurven der Blutproben vom Schlachthof (S1-S5, grün) wiesen vom ersten Messzeitpunkt an eine höhere Viskosität auf als jene der lebenden Tiere (V1-V5, blau). Dies war auf den wesentlich höheren Hämatokrit der Proben der geschlachteten Tiere als auf jene Proben der lebenden Schweine zurückzuführen. Durch die größere Erythrozytenanzahl im Blut der geschlachteten Tiere kam es insgesamt zu einer größeren Oberfläche, wodurch es bei Zellkontakt zu einer besseren Anhaftung der Zellen kam und so der Zellzusammenhalt wesentlich stabiler war. Bei hohen Scherraten kam es bei allen Proben zu einer Annäherung der Viskositäten, da es mit steigender Schubspannung zu einer Aufwirbelung und zu einer Verformung der Erythrozyten kommt. Diese nehmen dann eine rheodynamisch günstige Paraboloidform an. Die Zellanhaftung ist dann kaum mehr möglich, weshalb die beiden Blutproben trotz unterschiedlichen Hämatokrits ähnliche Viskositäten zeigten.

Verglichen mit Abbildung 15 kann in Abbildung 16 die Steigerung der Blutviskosität mit der Blutalterung deutlich gemacht werden. Am 16. Tag kam es vor allem bei den Proben der geschlachteten Tiere (S1-S5, grün) zu einer starken Viskositätserhöhung bei niedrigen Scherraten. Die Blutproben von den lebenden Schweinen (V1-V5, blau) hingegen wiesen keine ausgeprägte Erhöhung der Blutviskosität mit zunehmender Lagerdauer auf.

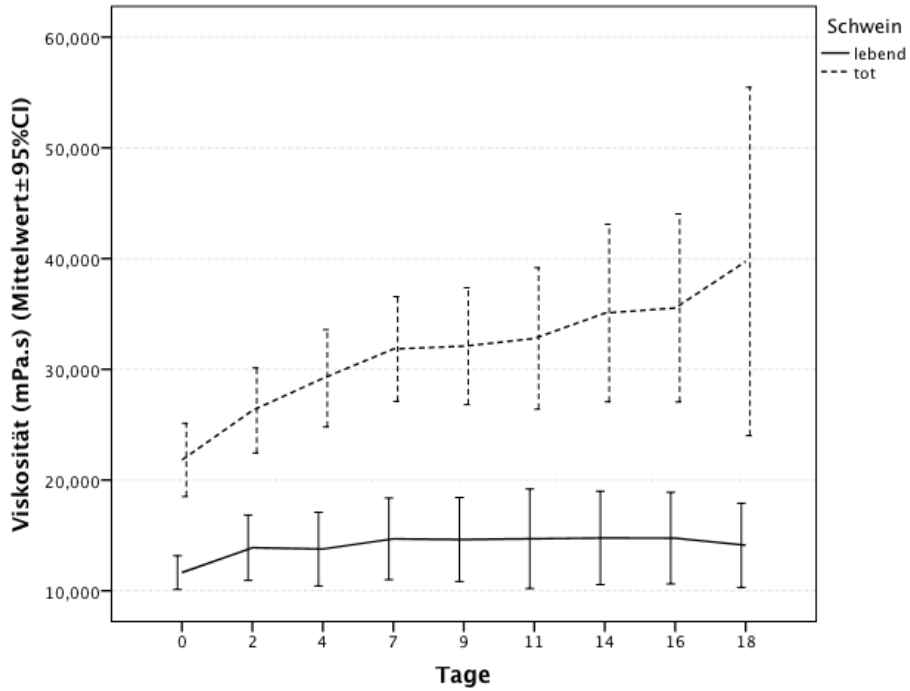


Abbildung 17: Verlauf der Viskosität (mPa.s) bei einer niedrigen Scherrate von 10s^{-1} von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

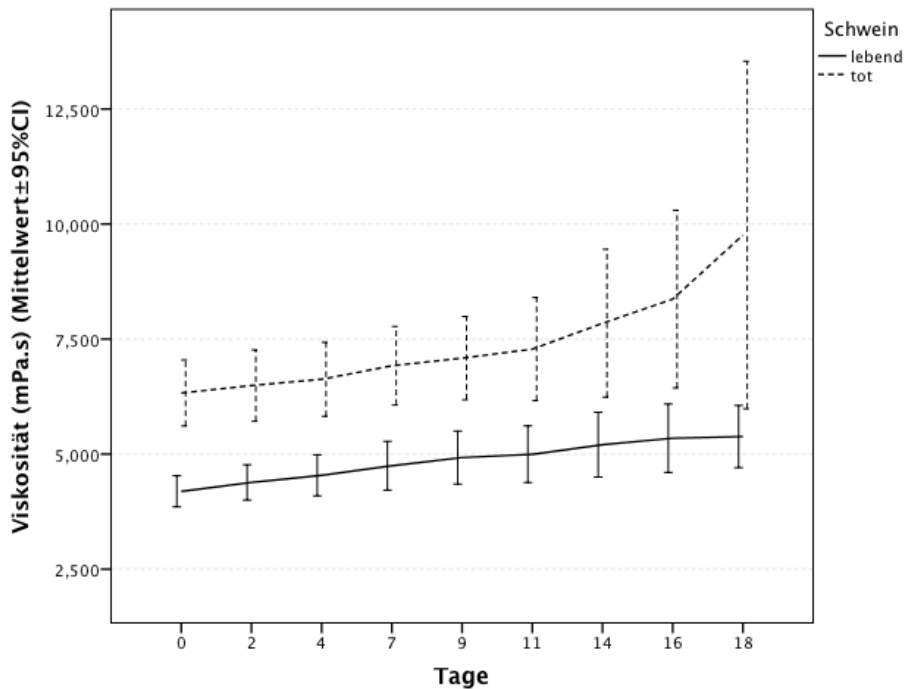


Abbildung 18: Verlauf der Viskosität (mPa.s) bei einer hohen Scherrate von 1000s^{-1} von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Bei niedrigen Scherraten von 10s^{-1} konnte erneut der signifikante Unterschied zwischen Blut vom lebenden Schwein und Blut vom geschlachteten Tier deutlich gemacht werden (Abbildung 17). bei den Proben der geschlachteten Schweine kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Viskosität über den Messzeitraum von 18 Tagen. Die Proben der lebenden Tiere blieben hinsichtlich der Viskosität auf nahezu gleichem Level trotz Alterung.

Signifikante Unterschiede zwischen den Blutproben der geschlachteten Schweine und jene der lebenden Tiere sind auch bei hohen Scherraten von 1000s^{-1} in Abbildung 18 erkennbar. Zudem wurde der Anstieg der Viskosität mit der Alterung bei beiden Probengruppen deutlich. Der Grund für die Viskositätserhöhung der Proben mit zunehmendem Alter ist wiederum auf das Anschwellen der Blutzellen durch das osmotische Ungleichgewicht zurückzuführen. Aufgrund der Vergrößerung der Zellen vergrößert sich auch die Oberfläche, wodurch es bei Zellkontakt zu einer besseren Anhaftung der Erythrozyten kommt.

Scherrate (s^{-1})	Viskosität (mPa.s) Hct 28%	Viskosität (mPa.s) Hct 41%	Viskosität (mPa.s) Hct 56%
1,3	7,15 ± 1,1	18,60 ± 3,9	39,70 ± 4,2
3,2	5,30 ± 0,6	12,00 ± 2,1	23,50 ± 2,2
8,1	4,29 ± 0,4	8,57 ± 1,3	15,60 ± 1,4
15	3,86 ± 0,3	7,22 ± 1,0	12,50 ± 1,1
51	3,36 ± 0,2	5,65 ± 0,7	9,07 ± 0,8
150	3,12 ± 0,2	4,46 ± 0,5	6,86 ± 0,7
750	2,67 ± 0,2	3,63 ± 0,4	5,36 ± 0,7
1.500	2,57 ± 0,2	3,44 ± 0,4	5,03 ± 0,7

Tabelle 5: Durchschnittliche Vollblutviskositätswerte ($\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$) sowie deren Standardabweichungen von menschlichem Blut mit vermindertem Hämatokrit (28%, n=8), normalem Hämatokrit (41%, n=44) und erhöhtem Hämatokrit (56%, n=6). Tabelle modifiziert nach ⁵³.

Scherrate (s ⁻¹)	Viskosität (mPa.s ⁻¹) (Hct 39%)	Viskosität (mPa.s ⁻¹) Hct 56%
2,14	16,24 ± 1,1	31,76 ± 5,2
4,75	14,15 ± 2,5	25,32 ± 3,2
9,78	11,67 ± 1,2	21,28 ± 2,7
20,9	9,14 ± 0,8	16,07 ± 1,8
44,7	7,61 ± 0,4	11,72 ± 1,3
205	5,40 ± 0,4	7,28 ± 0,7
437	4,63 ± 0,3	6,64 ± 0,6
2.000	3,99 ± 0,3	6,20 ± 0,5

Tabelle 6: Durchschnittliche Vollblutviskositätswerte (mPa.s⁻¹) sowie deren Standardabweichungen von Schweineblut abgenommen von fünf lebenden Tieren und von fünf Tieren während des Schlachtungsprozesses bei Hämatokriten von durchschnittlich 39% (lebend) und etwa 56% (tot) zum ersten Messzeitpunkt (Tag 0). Siehe zusammenfassende Tabelle im Anhang.

Vergleicht man die Viskositäten von frischem menschlichen Blut bei unterschiedlichen Hämatokriten sowie unterschiedlichen Scherraten von Baskurt et al. (2007)⁵³. in Tabelle 5 mit den in dieser Arbeit ermittelten Viskositäten beider Messgruppen (lebend und tot) vom ersten Messzeitpunkt (Tag 0) in Tabelle 6, so ist ersichtlich, dass der Ausgangshämatokrit eine wesentliche Rolle in der Blutviskosität spielt. Zudem ist die Ähnlichkeit der Vollblutviskositätswerte zwischen Menschenblut und Schweineblut erkennbar. Je höher der Hämatokrit einer Blutprobe ist, desto höher ist auch die Viskosität, und die Frequenztests haben gezeigt, dass auch die Suspension stabiler ist bzw. bleibt, wenn der Ausgangshämatokrit erhöht war.

3.3.2. Oszillationmessung - Frequenztest

Speichermodul 1. Messzeitpunkt

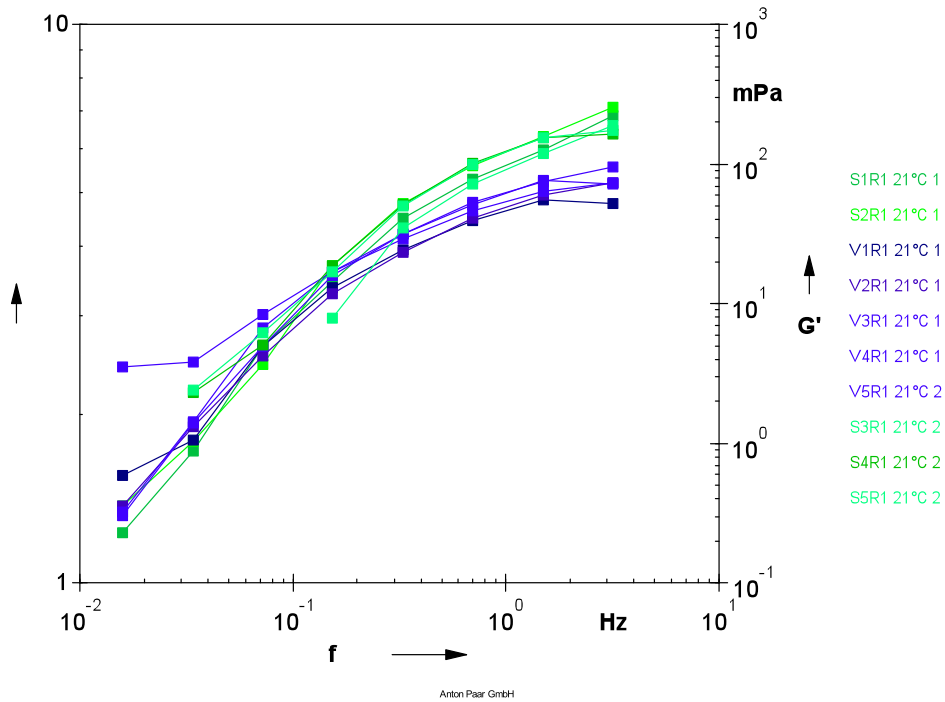


Abbildung 19: Speichermodul (G') zum 1. Messzeitpunkt (Tag 0) bei Blutproben von fünf lebenden Schweinen (V, blau) und fünf geschlachteten Schweinen (S, grün). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus®.

Speichermodul 8. Messzeitpunkt

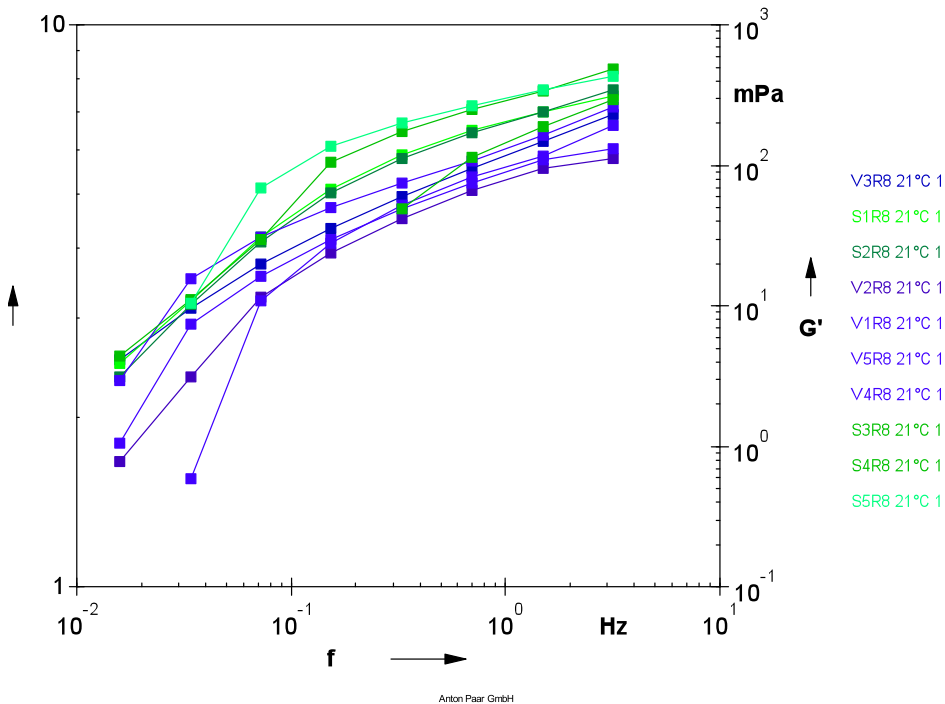


Abbildung 20: Speichermodul (G') zum 8. Messzeitpunkt (Tag 16) bei Blutproben von fünf lebenden Schweinen (V) und fünf geschlachteten Schweinen (S). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus®.

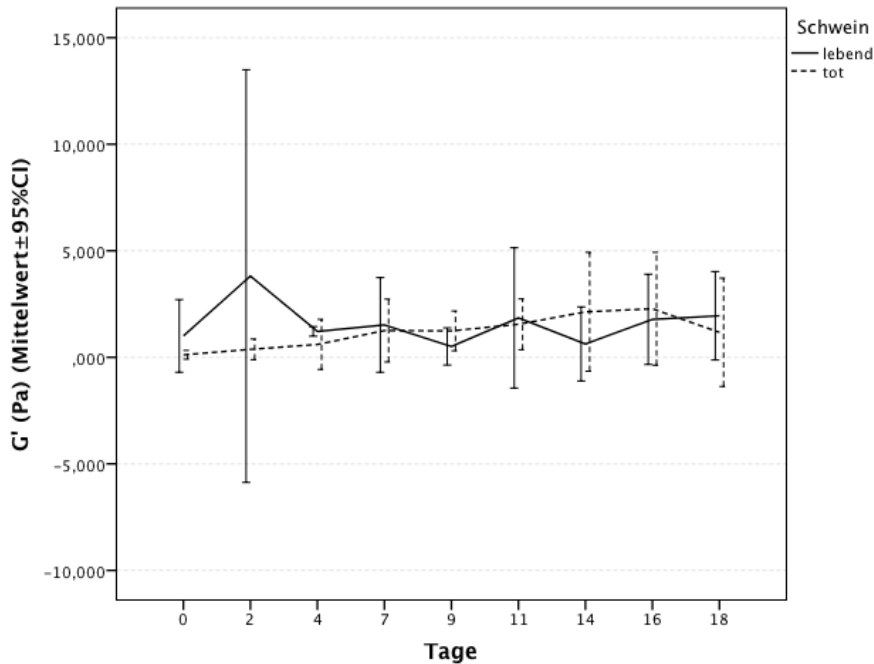


Abbildung 21: Grafische Darstellung der Speichermodule (G' , Pa) bei der geringsten eingesetzten Kreisfrequenz von $0,1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ (Ruhestabilität der Probe). Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Anhand von Abbildung 19 kann deutlich gemacht werden, dass zum ersten Messzeitpunkt bei einer hohen Kreisfrequenz von $20 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ die Blutproben der Schweine vom Schlachthof (S1-S5, grün) ein höheres Speichermodul G' und somit eine höhere Stabilität aufwiesen, als die Proben der lebenden Schweine (V1-V5, blau). Je niedriger die Frequenz wurde, desto geringer war der Unterschied zwischen den beiden Messgruppen. Bei einer geringen Kreisfrequenz $0,969 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ kam es zu einer Überlappung der Messpunkte beider Messgruppen, wodurch kein wesentlicher Unterschied mehr zwischen den Proben erkennbar war. Dies konnte auch in Abbildung 20 deutlich gemacht werden, die aufzeigt, dass bei einer geringen Scherrate von $0,1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ kein Unterschied im G' zwischen den Blutproben von lebenden Schweinen und Proben von geschlachteten Schweinen bestand. Die Ruhestabilität der Proben war daher vergleichbar. Auch im Verlauf der Lagerung zeigte sich kein Unterschied in der Ruhestabilität (Abbildung 21).

Der Verlauf der Kurven in Abbildung 20 zum 8. Messzeitpunkt zeigte, dass mit der Blutalterung eine Erhöhung der Stabilität einherging. In allen Blutproben zeigte sich ein Anstieg des Speichermoduls ab Tag 16 bei hohen Kreisfrequenzen verglichen mit der ersten Messung an Tag 0 aus Abbildung 19. Die Blutproben, vor allem aber die Proben der geschlachteten Tiere (S1-S5, grün) wiesen mit der Erhöhung des Speichermoduls G' eine zunehmende Stabilitätserhöhung auf. Zwar kam es bei niedrigeren Kreisfrequenzen wieder zu Überlappungen der beiden Messgruppen, diese fand allerdings erst bei einer Scherrate von $0,454 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ statt.

Der Grund für die Stabilitätserhöhung der Proben der geschlachteten Tiere war erneut der hohe Hämatokrit und wahrscheinlich auch die höhere Totalprotein-Konzentration. Durch den Zellzusammenhalt – gegebenenfalls unter Beteiligung großer Proteine - gewinnt die Suspension an Stabilität. Diese Stabilität geht auch bei der Alterung nicht verloren.

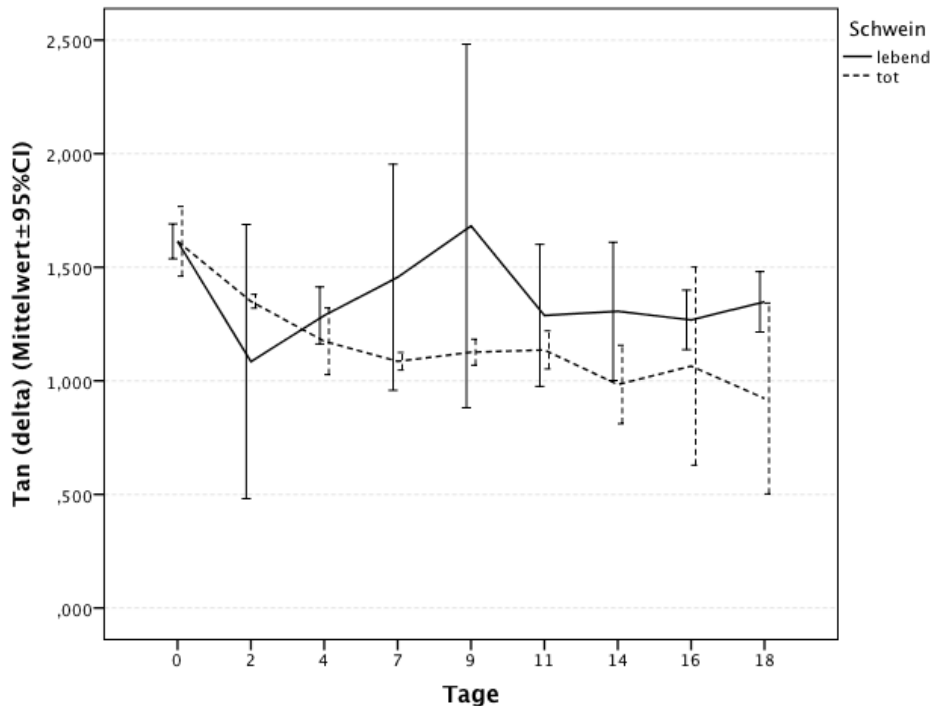


Abbildung 22: Ermittlung des $\tan\delta$ bei $4,4\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$ von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.

In dieser Arbeit wurde sowohl in den Proben vom lebenden Schwein, als auch in den Proben vom geschlachteten Schwein ein Minimum im Verlustfactors $\tan\delta$ bei einer Kreisfrequenz von $4,4\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$ beobachtet. In Abbildung 22 wird dieses Minimum in den beiden Messgruppen vergleichend dargestellt. Bei der ersten Messung gab es zwischen den beiden Messgruppen noch keinen wesentlichen Unterschied. Ab Tag 2 wurde allerdings das Konfidenzintervall in der Messgruppe der lebenden Schweine größer. Das zeigte, dass die Werte breit gestreut waren und die Proben vom lebenden Schwein keine einheitliche maximale Festigkeit zeigten. Auch im zeitlichen Verlauf wurden die Blutproben der lebenden Schweine zuerst fester, dann wieder flüssiger, bis sie schließlich am Tag 18 wieder an Festigkeit zunahmen. Offensichtlich ist dieser variable Verlauf für das große Konfidenzintervall in der Messgruppe Schweine lebend verantwortlich (siehe Abbildung 22). Die Proben der geschlachteten Tiere zeigten eine andere Charakteristik. Der Verlustfaktor war von Anfang an vergleichbar, daher ist auch das Konfidenzintervall vergleichsweise gering. Das Konfidenzintervall blieb auch während der darauf folgenden Lagerdauer klein. Interessanterweise verfestigten sich die Proben der geschlachteten Schweine mit der Lagerdauer tendentiell, der Verlustfaktor sank mit der Dauer der Lagerung.

Eine Probe weist bei $\tan\delta$ -Werten unter 1 Gelcharakter auf. Je niedriger der Verlustfaktor ist, desto höher ist der Festkörperanteil einer viskoelastischen Flüssigkeit. Vor allem ab Tag 14 zeigten die meisten Proben der geschlachteten Schweine einen Wechsel der Materialcharakteristik in Richtung viskoelastischen Festkörper. Das ist eine für Blut unübliche Beobachtung und deutet an, dass sich die grundlegende Materialcharakteristik von Blut verändert hat. Die Proben der lebenden Schweine zeigten über den Messzeitraum hinweg einen durchwegs höheren Verlustfaktorwert von über 1. Die Proben blieben also weiterhin viskoelastische Flüssigkeiten. Dieses Ergebnis passte mit den Messergebnissen aus Abbildung 19 und 20 überein, da die Proben der lebenden Schweine insgesamt weniger Stabilität und Festigkeit aufwiesen.

4. Diskussion und Conclusio

Die Blutspurenmusteranalyse (BPA) ist eine empirische Wissenschaft, die sehr von den Kenntnissen und der Erfahrung des Analytikers oder der Analytikerin abhängt. Die Durchführung einer BPA erfordert eine qualifizierte Fachausbildung, in der auch die Kenntnisse über die physikalischen Eigenschaften von Blut inklusive der tierartlichen Unterschiede dieser Eigenschaften eine Rolle spielen. Kenntnisse über die optimale Aufbewahrung und Haltbarkeit sind ebenfalls essentiell. Um eine fachgerechte Ausbildung zum Blutspurenmusteranalytiker oder zur Blutspurenmusteranalytikerin zu erhalten, bedarf es Blutprodukte, die sich nur gering von nativem menschlichen Blut unterscheiden. Allgemein kann man annehmen, dass die Variabilität der physikalischen Eigenschaften von Blutproben unterschiedlicher Tierspezies sowie von gealterten Blutproben unterschätzt wird. Menschliches Blut ist eine wertvolle Ressource. Umso wichtiger ist es, den Bedarf an Blutkonserven für die BPA anderwertig zu decken. Durch die Verwendung von Tierblut oder synthetischen blutähnlichen Flüssigkeiten wird das möglich gemacht. Mit dem Einsatz von menschlichem Blut in den forensischen Labors kommt es außerdem zu einem erhöhten biologischen Risiko für das Personal. Eine Kontamination des Labors mit „fremder“ menschlicher DNA während einer BPA muss vielerorts vermieden werden. Tierblut, idealerweise von Säugetieren, stellt eine gute Alternative dar. Vor allem Blut von Nutztieren wie Rind, Schwein, Schaf oder Pferd ist leicht und in großen Mengen zu beschaffen. Schweineblut hat sich als gute Alternative zu menschlichem Blut erwiesen, da es sowohl eine ähnliche Zusammensetzung, als auch ähnliche physikalische Eigenschaften aufweist^{10,11}.

Aufbauend auf diese Erkenntnisse wurden in der vorliegenden Arbeit die hämatologischen und hämorheologischen Eigenschaften von alternden Schweineblutproben erhoben. Da in der BPA hauptsächlich Schweineblut aus dem Schlachthof verwendet wird, wurde eine Vergleichsstudie mit Blut von lebenden Schweinen durchgeführt. Die erste Annahme war, dass Schweineblut, das während des Schlachtungsprozesses gewonnen wird, eine andere Zusammensetzung und daher andere Materialeigenschaften hat als Schweineblut, das von lebenden Tieren durch Venenpunktion gewonnen wird. Die zweite Annahme war, dass die Lagerfähigkeit abhängig von der Art der Blutproben ist. Es wurden also zwei Messgruppen - Schweineblut vom Schlachthof und Schweineblut von lebenden Tieren - gebildet. Jede Messgruppe bestand aus 5 Individuen. Alle Blutproben wurden 18 Tage lang im Kühlschrank gelagert und regelmäßig alle 2-3 Tage analysiert. In einem eigenen Pilotprojekt im Rahmen der Bachelorarbeit 1 konnte gezeigt werden, dass es möglich ist mit dem Handrefraktometer das Alter der Blutproben abzuschätzen, da der angezeigte Wert für Serumprotein im Lauf der Alterung der Blutproben anstieg. Aufgrund der bekannten Ungenauigkeit der Messung mit dem Handrefraktometer stellte sich nun die Frage: Ist die manuelle Totalproteinmessung mittels Handrefraktometer vergleichbar mit der automatisierten Messung eines Analysegerätes? Oder ist die automatisierte Messung des Totalproteins aufgrund der größeren Genauigkeit der Messmethode in der Abschätzung des Alterungsprozesses der Blutprobe überlegen?

Durch die hämatologischen und hämorheologischen Messungen über einen Zeitraum von 18 Tagen konnte deutlich gemacht werden, dass große Unterschiede zwischen den Blutproben von lebenden Schweinen, welche mittels Punktion der *V. cava cranialis* entnommen wurden und von toten Schweinen, deren Blutproben während des Schlachtungsprozess gewonnen wurden, bestehen. Der Hämatokrit von Schweineblut ist dem des menschlichen Blutes sehr ähnlich. Während Blut von gesunden ausgewachsenen Schweinen einen Referenzbereich von 36% bis 43% aufweist, liegt der Referenzbereich eines ausgewachsenen gesunden Menschen zwischen 36% und 50%^{13,54,55}. In dieser Arbeit wiesen die Blutproben der geschlachteten Tiere von Beginn an wesentlich höhere Hämatokritwerte auf. Im Alterungsverlauf kam es jedoch nur bei den Blutproben der lebenden Schweine zu einer kontinuierlichen Erhöhung des Hämatokrits, die Blutproben der geschlachteten Schweine zeigten vergleichsweise weniger Veränderung. Auch das MCV war bei den geschlachteten Tieren höher als bei den lebenden Tieren, obgleich die Werte beider Messgruppen im Referenzbereich eines gesunden Schweins zwischen 50 und 68 fl liegen¹³. Das MCV stieg bei beiden Messgruppen kontinuierlich an, bei den Proben der lebenden Schweine kam es aber zu einem eher individuellen Anstieg. Dies ist anhand der größeren Konfidenzintervalle zu erkennen. Das MCV in den Proben der geschlachteten Schweine veränderten sich einheitlicher. Das ist am kleineren Konfidenzintervall ablesbar. Laut Raymond et al. kann Schweineblut bis zu 14 Tage nach Entnahme für eine BPA verwendet werden, sofern die Konserven durchgehend bei 4°C gelagert werden¹¹. Dieses Ergebnis kann in dieser Arbeit bestätigt werden. Es zeigte sich, dass die Konfidenzintervalle bei der in dieser Arbeit gewählten Stichprobenanzahl groß sind. Trotzdem kann gesagt werden, dass bereits bei der gewählten Probenanzahl ein signifikanter Unterschied erkennbar ist und dass bei der Anwendung eines statistischen Tests mit einem größeren Stichprobenumfang die Unterschiede eindeutig signifikant wären. Es wird somit für weitere Untersuchungen ein größerer Stichprobenumfang empfohlen.

Die Fließkurven zeigten, dass die Blutviskosität der Proben der geschlachteten Tiere stets größer war als bei den Proben der lebenden Tiere. Der Grund dafür lag wieder bei der erhöhten Anzahl an Erythrozyten im Blut der geschlachteten Tiere, und dem entsprechenden erhöhten MCV, welches durch das Anschwellen der Zellen zurückführbar ist. Hinsichtlich der Blutalterung konnte deutlich gemacht werden, dass die Viskosität bei beiden Messgruppen anstieg, der Anstieg allerdings bei den geschlachteten Tieren wesentlich stärker ausgeprägt war. Sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Scherraten konnte sowohl der signifikante Unterschied zwischen den beiden Messgruppen, als auch die Veränderung hinsichtlich der Lagerdauer deutlich gemacht werden.

Die Frequenztests machten deutlich, dass die Proben der geschlachteten Tiere eine wesentlich stabilere Suspension ausgebildet haben als die der lebenden Tiere. Dies zeigte sich am deutlichsten bei hohen Kreisfrequenzen. Die Energie, mit der die Blutprobe in Schwingung versetzt wurde, wurde bei den Blutproben der lebenden Tiere vermehrt für die Bewegung verbraucht und weniger für die nachfolgende Rückdeformation gespeichert (niedrigeres Speichermodul G' in diesen Proben). Bei den Blutproben der geschlachteten Tiere konnte ein größerer Teil jener Energie resorbiert und für eine Rückdeformation eingesetzt werden. Die zurückgeworfene („gespeicherte“) Energie G' war bei den Blutproben der geschlachteten Schweine größer als bei den Blutproben der lebenden Tiere. Diesen Effekt kann man mit Hilfe einer Drahtfeder, die

ihre Ausgangsposition wieder erreicht, am besten beschreiben. Diese Fähigkeit lässt sich erklären durch das Vorhandensein von elastischen Strukturen in der Probe. Diese Strukturen sind nicht nur in der Qualität einzelner Zellmembranen zu finden, sondern vor allem in zusammenhängenden Strukturen bestehend aus Erythrozytenaggregaten („Geldrollen“) samt umgebenden Proteinen und anderen Kolloiden. Der hohe Hämatokrit erklärt die hohe Zellzahl in den Schlachthofblutproben. Weiters war bei den Proben vom Schlachthof das Totalprotein erhöht. Die Erythrozytenaggregation ist stark von der Totalprotein-Konzentration abhängig. Die gleichzeitige Anwesenheit einer größeren Anzahl von Zellen und Proteinen erklärt damit den Aufbau einer ausgeprägteren Struktur in den Schlachthofproben. Durch diese stärkere Strukturgebung ist offensichtlich die Stabilität der Suspension erhöht. Der Verlustfaktor bestätigt den Zuwachs an Stabilität. Bei einem $\tan\delta$ von 1 hat Blut Gel-Charakter. Je niedriger das $\tan\delta$ ist, desto höher ist der Festkörperanteil der Flüssigkeit. Ein $\tan\delta$ -Wert von unter 1 ist ein Hinweis darauf, dass sich bereits eine Perkolationsstruktur ausgebildet hat. Somit scheint das Blut der geschlachteten Schweine von Anfang an stabiler und länger haltbar zu sein, während die frisch entnommenen Blutproben der lebenden Tiere eine sofortige und kontinuierliche Veränderung durchmachen. Diese Beobachtung deckt sich mit dem Hämolysegrad der Proben, der mit dem Handrefraktometer ermittelt wurde.

Insgesamt kann gesagt werden, dass Schweineblut vom Schlachthof von Beginn an höhere und damit unphysiologische Werte von Hämatokrit, Totalprotein und Viskosität aufweist und dass sich die Proben im Laufe der Alterung stabilisieren. Daher kann gesagt werden, dass dieses Blut hinsichtlich der Lagerfähigkeit das stabilere ist. Der stabilisierende Effekt der Proben der geschlachteten Tiere kann durch die Oszillationsmessungen bestätigt werden. Diese bessere Lagerfähigkeit geht jedoch mit einer unphysiologischen Materialcharakteristik einher. Anders als die Blutproben der geschlachteten Tiere scheinen jene der lebenden Tiere im Laufe des Alterungsprozesses bis zum 18. Messtag diverse biologische Prozesse zu durchlaufen. Die Messergebnisse sind labiler und eine tendenzielle Entwicklung scheint unbestimmbar zu sein. Auch die Hämolyse des Blutes ist früher zu erkennen als bei den Schlachthof-Proben. Die Frequenztests zeigen, dass sich die Proben der lebenden Tiere im Zuge des Alterungsprozesses den Ausgangswerten der Schlachthofproben zum Tag 0 annähern. Aufgrund dieser Ergebnisse muss die Alternativhypothese angenommen werden.

Die ermittelten Ergebnisse bezüglich der Relevanz der automatisierten Totalproteinmessung im Vergleich zur Messung mit dem Handrefraktometer zeigten, dass die manuelle und die automatische Totalproteinermittlung keine vergleichbaren Ergebnisse liefern, weshalb die Alternativhypothese angenommen werden muss. Laut Alberghina et al. (2013) kommt es proportional mit dem Alter einer Blutkonserve zur Veränderung des Totalproteins⁵⁶. Diese Erkenntnis konnte in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Die Messergebnisse der Totalproteinmessung mit dem Chemie-Analysegerät und der Biuret-Methode zeigten, dass das Totalprotein keine merkbaren Veränderungen während der Alterung durchmachte, während das Handrefraktometer einen stetigen Anstieg des Totalproteins mit dem Alter der Probe maß. Dies ist aufgrund der Hämolyse der Blutproben und der dadurch verfälschten optischen Dichte, welche im Handrefraktometer ermittelt wird, zu erklären. Dagegen ermittelt das Chemie-Analysegerät den tatsächlichen Gehalt an Totalprotein im Serum photometrisch durch die Biuret-Methode und macht dadurch nicht den Hämolysegrad der Probe erkennbar. Die Totalproteinmessung nach der Biuret-Methode mit Hilfe eines automatischen Chemie-Analysegerätes kann forensischen WissenschaftlerInnen, KriminaltechnikerInnen oder

PolizistInnen nicht empfohlen werden, wenn damit das Alter oder die Hämolyse einer Blutprobe abgelesen werden soll. Die Totalprotein-Konzentration ändert sich durch die Lagerung in einem verschlossenen Gefäß nicht und mit der Biuret-Methode wird spezifisch nur Totalprotein erfasst. Der große Vorteil der refraktometrischen Proteinbestimmung ist, dass der Grad der Hämolyse einer Blutprobe rasch, unkompliziert und kostengünstig ermittelt werden kann. Damit kann entschieden werden, ob eine Blutprobe verwendbar ist oder ob die fortgeschrittene Hämolyse die Probe bereits unbrauchbar gemacht hat.

Da diese Arbeit in Kooperation mit dem wissenschaftlichen Forschungsteam des Instituts for Environmental Science and Research (ESR) in Christchurch, Neuseeland (Leiter: Dr. M. Taylor) entstanden ist, können die vorliegenden Ergebnisse eine Grundlage für weitere Forschungsfragen im Rahmen von Blutspurenmusteranalyse darstellen, mit dem langfristigen Ziel, einheitliche Blutproben in der BPA einzusetzen.

Literaturverzeichnis

1. **Bevel, T. & Gardner, R. M.** *Bloodstain Pattern Analysis - With an Introduction of Crime Scene Reconstruction*. 405 (2002).
2. **MacDonell, H. L.** *Bloodstain patterns*. 182 (Laboratory of Forensic Science Publishers: New York, 1997).
3. **MacDonell, H. L.** *Bloodstain Pattern Interpretation*. 98 (Laboratory of Forensic Science Publishers: New York, 1982).
4. **Brodbeck, S.** Einführung in die Blutspurenmusteranalyse. *SIAK 4* (2011), 68–75 (2011).
5. **James, S. H. & Eckert, W. G.** *Interpretation of Bloodstain Evidence at Crime Scenes*. 322 (CRC Press LLC: New York, 1998).
6. Brochure for the Course “Bloodstain Pattern Analysis & Other Courses.” at http://www.enfsi.eu/sites/default/files/documents/brochure_courses_loci_forensic_s_b.v._-_spring_2015.pdf Download: 2015-05-05
7. **Millington, J.** *LTSN Physical Sciences Development Project : Final Report Development of a Synthetic Blood Substitute for use in Forensic Science Teaching Research Framework Market Research : commercially available blood substitutes Theatrical Bloods*. 1–20 (London, 2002).
8. **Adam, C. D.** Fundamental studies of bloodstain formation and characteristics. *Forensic science international* **219** (1-3), 76–87 (2012).
9. **Chang, T. M. S.** *Blood Substitutes: Principles, Methods, Products and Clinical Trials*. 141 (1997).
10. **Serp, B.** Hämatologischer und hämorheologischer Vergleich zwischen Tier- und Menschenblut für die Verwendung in der Blutspurenmusteranalyse. 30 (2015).
11. **Raymond, M. A., Smith, E. R. & Liesegang, J.** The physical properties of blood–forensic considerations. *Science & Justice* **36**, 153–160 (1996).
12. **Mezger, T.** *Das Rheologie Handbuch: Für Anwender von Rotations- und Oszillationsrheometern*. 334 (Vincentz Network GmbH & Co KG: 2007).
13. Hematologic Reference Ranges. at http://www.merckmanuals.com/vet/appendixes/reference_guides/hematologic_reference_ranges.html Download: 2015-05-05
14. **Sommer, H., Greuel, E. & Müller, W.** *Hygiene der Rinder- und Schweineproduktion*. , 568 (Eugen Ulmer: Stuttgart, 1991).
15. **McEwen, B. S.** Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences* **840**, 33–44 (1998).
16. **Mota-Rojas, D., Becerril-Herrera, M., et al.** Effects of long distance transportation and CO2 stunning on critical blood values in pigs. *Meat science* **90** (4), 893–8 (2012).
17. **Eades, S. C. & Bounous, D. I.** *Laboratory Profiles Of Equine Diseases, 1st edition*. 1–31 (St. Louis, USA, 1997).

18. **Kaneko, J. J., Harvey, J. W. & Bruss, M. L.** *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 928 (Academic Press: San Diego, USA, 1997).
19. **Whalan, J. E.** *A Toxicologist's Guide to Clinical Pathology in Animals: Hematology, Clinical Chemistry, Urinalysis*. 151 (Springer International Publishing: 2015).
20. **Warriss, P. D.** *Meat Science: An Introductory Text*. 310 (CABI: 2000).
21. **Werner, M. & Gallo, C.** Effects of transport, lairage and stunning on the concentrations of some blood constituents in horses destined for slaughter. *Livestock Science* **115** (1), 94–98 (2008).
22. **Mitchell, G., Hattingh, J. & Ganhao, M.** Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter. *The Veterinary record* **123** (8), 201–5 (1988).
23. **Cockram, M. S. & Corley, K. T.** Effect of pre-slaughter handling on the behaviour and blood composition of beef cattle. *The British veterinary journal* **147** (5), 444–54
24. **Chien, S. & Sung, L. A.** Physicochemical basis and clinical implications of red cell aggregation. *Clinical Haemorrhology* **7**, 71–91 (1987).
25. **Becerril-Herrera, M., Alonso-Spilsbury, M., et al.** Changes in blood constituents of swine transported for 8 or 16 h to an Abattoir. *Meat science* **86** (4), 945–8 (2010).
26. **Brown, S. N., Knowles, T. G., Edwards, J. E. & Warriss, P. D.** Behavioural and physiological responses of pigs to being transported for up to 24 hours followed by six hours recovery in lairage. *The Veterinary record* **145** (15), 421–6 (1999).
27. **Schaefer, A. L., Jones, S. D. & Stanley, R. W.** The use of electrolyte solutions for reducing transport stress. *Journal of animal science* **75** (1), 258–65 (1997).
28. **Hambrecht, E., Eissen, J. J., et al.** Preslaughter stress and muscle energy largely determine pork quality at two commercial processing plants. *Journal of animal science* **82** (5), 1401–9 (2004).
29. **Hambrecht, E., Eissen, J. J. & Versteegen, M. W. A.** Effect of processing plant on pork quality. *Meat science* **64** (2), 125–31 (2003).
30. **Mota-Rojas, D., Becerril, M., et al.** Effects of mid-summer transport duration on pre- and post-slaughter performance and pork quality in Mexico. *Meat science* **73** (3), 404–12 (2006).
31. **Von Rücker, A., Henkel, E., et al.** Evaluationsprotokoll für hämatologische Zellzähl- und Zelldifferenzierungsgeräte. *Klinische Chemie Mitteilungen* **25**, 272–286 (1994).
32. **Kieffer, J. A.** Cell-Dyn 3500-A fully automated instrument for veterinary hematology : performance evaluation for the analysis of mouse and rat blood. 43 (1995).
33. **Moritz, A.** *Der Einsatz lasergestützter Multiparameter-Hämatologiesysteme in der Veterinärmedizin*. 392 (Büchse der Pandora: 2002).
34. **Neuerer, F. F.** Evaluation des vollautomatischen Hämatologiegerätes CELL-DYN 3500 im klinischen Einsatz bei Hund und Katze. 123 (2005).

35. **Nakagawa, J.** *Evaluation der Hämatologiesysteme Sysmex pochH-100iV Diff und XT-2000iV für die Tierart Katze.* 145 (2010).
36. **Mäde, D. & Wujanz, G.** Untersuchungen zur Stabilisierung von Schweineblut für hämatologische Untersuchungen. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* **108**, 299–304 (1995).
37. **Parrott, R. F. & Misson, B. H.** Changes in pig salivary cortisol in response to transport simulation, food and water deprivation, and mixing. *The British veterinary journal* **840** (6), 501–5 (1989).
38. **McGlone, J. J., Salak, J. L., Lumpkin, E. A., Nicholson, R. I., Gibson, M. & Norman, R. L.** Shipping Stress and Social Status Effects on Pig Performance, Plasma Cortisol, Natural Killer Cell Activity, and Leukocyte Numbers - 888. *Journal of Animal Science* **71**, 888–896 (1993).
39. **Dalin, A. M., Magnusson, U., Häggendal, J. & Nyberg, L.** The effect of transport stress on plasma levels of catecholamines, cortisol, corticosteroid-binding globulin, blood cell count, and lymphocyte proliferation in pigs. *Acta veterinaria Scandinavica* **34** (1), 59–68 (1993).
40. **Wallgren, P., Wilén, I.-L. & Fossum, C.** Influence of experimentally induced endogenous production of cortisol on the immune capacity in swine. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **42** (3-4), 301–316 (1994).
41. **Witek, B., Kolataj, A. & Krol, T.** *Adaptive changes of activity of lysosomal enzymes in the liver, kidney and spleen of pigs subjected to transport stress.* 55–59 (1996).
42. **Grandin, T. & Collins, F.** Assessment of Stress During Handling and Transport. *Journal of Animal Science* **75**, 249–257 (1997).
43. **Dantzer, R. & Mormède, P.** Stress in farm animals: a need for reevaluation. *Journal of animal science* **57** (1), 6–18 (1983).
44. **Wimmers, K., Ponsuksili, S., Krutmuang, P., Gymnich, S., Schellander, K. & Petersen, B.** *Evaluierung der Nutzungsmöglichkeiten verschiedener Blutparameter zur retrospektiven Diagnose von Stress beim Schwein.* 53 (Bonn, 2002).
45. **Tuchscherer, M. & Manteuffel, G.** Die Wirkung von psychischem Streß auf das Immunsystem. Ein weiterer Grund für tiergerechte Haltung (Übersichtsreferat). *Arch.Tierz.* **43** (6), 547–560 (2000).
46. **Deinhammer, K.** *Einfluss von Stress auf den Immunstatus von Hunden - Gesamtverbund.* 103 (2003).
47. **Ballweg, I. C.** Vergleich der Immunkompetenz, Mastleistung und Fleischqualität der Rassen Turopolje, Hybridschweine (Deutsche Landrasse x Pietrain) und der Kreuzungsrassen Deutsche Landrasse x Turopolje. 167 (2013).
48. **Fuchs, Y.** *Effekte einer moderaten Infrarot-Ganzkörper-Hyperthermie auf die Akut-Phase-Reaktion.* 73 (2010).
49. **George, J. W.** The Usefulness and Limitations of Hand-held Refractometers in Veterinary Laboratory Medicine: An Historical and Technical Review. *Veterinary Clinical Pathology* **30** (4), 201–210 (2001).

50. **Lumeij, J. T. & Maclean, B.** Total Protein Determination in Pigeon Plasma and Serum: Comparison of Refractometric Methods with the Biuret Method. *Journal of Avian Medicine and Surgery* **10** (3), 150–152 (1996).
51. **Andreasen, C. B., Latimer, K. S., Kircher, I. M. & Brown, J.** Determination of Chicken and Turkey Plasma and Serum Protein Concentrations by Refractometry and the Biuret Method. *Avian Diseases* **33** (1), 93–96 (1989).
52. **Briend-Marchal, A., Médaille, C. & Braun, J. P.** Comparison of total protein measurement by biuret method and refractometry in canine and. *Revue Méd. Vét.* **156** (12), 615–619 (2005).
53. **Baskurt, O. K., Hardeman, M. R., Rampling, M. W. & Meiselman, H. J.** *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. 469 (IOS Press: 2007).
54. **Windberger, U., Bartholovitsch, A., Plasenzotti, R., Korak, K. J. & Heinze, G.** Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data. *Experimental Physiology* **88** (3), 431–440 (2003).
55. Normal Laboratory Values (Haematology Reference Values). at <http://www.bloodindex.org/normal_laboratory_values.php> Download: 2015-05-05
56. **Alberghina, D., Casella, S., Giannetto, C., Marafioti, S. & Piccione, G.** Effect of storage time and temperature on the total protein concentration and electrophoretic fractions in equine serum. *Canadian Journal of Veterinary Research* **77** (4), 293–296 (2013).

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Messzeitpunkte jeder Charge zu je fünf Blutproben	4
Abbildung 2: Handrefraktometer und Messskala im inneren des Okulars. Geräteteile: Prismenklappe (1), Messprisma (2), Justierschraube (3) und Okular (4). Bilder: Bianca Serp	7
Abbildung 3: Doppelspalt-Zylinder-Geometrie am Rheometer sowie grafische Darstellung des Messvorganges. Abteilung für Biomedizinische Forschung, MedUni Wien. Bilder: Bianca Serp. Grafik modifiziert nach ¹²	8
Abbildung 4: Beispiel einer Fließkurve von zwei Schweineblutproben. Originalgrafik der Software Rheoplus [®] von Anton Paar GmbH.....	10
Abbildung 5: Beispiel eines Frequenztests von zwei Schweineblutproben. Originalgrafik der Software Rheoplus [®] von Anton Paar GmbH.....	11
Abbildung 6: Grafische Darstellung der Mittelwerte der Hämatokrite (Hct, %) der Blutproben der lebenden Schweinen (lebend) und der geschlachteten Schweine (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	13
Abbildung 7: Grafische Darstellung der Erythrozytenvolumina (MCV, fl) der Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	15
Abbildung 8: Leukogramme einer Probe eines lebenden Schweines zum 1. Messzeitpunkt (Tag 0) und zum 9. Messzeitpunkt (Tag 18).....	16
Abbildung 9: Leukogramme einer Probe eines geschlachteten Schweines zum 1. Messzeitpunkt (Tag 0) und zum 9. Messzeitpunkt (Tag 18).....	16
Abbildung 10: Grafische Darstellung des Verlaufs des PCV (%) der Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	17
Abbildung 11: Verlauf der manuell mittels Handrefraktometer ermittelten Totalproteinkonzentrationen (g/dL) über einen Messzeitraum von 18 Tagen von Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	18
Abbildung 12: Handrefraktometrische Ermittlung des Totalproteins einer Probe bei der ersten Messung (Tag 0) verglichen mit einer Probe bei der letzten Messung (Tag 18). Bilder: Bianca Serp.....	18
Abbildung 13: Verlauf der automatisierten Totalproteinermittlung (g/dL) über einen Messzeitraum von 18 Tagen von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	20
Abbildung 14: Vergleich der Messergebnisse der automatischen TP-Ermittlung mittels Hitachi Chemieanalysegerät und der manuellen TP-Ermittlung mittels Refraktometer der Blutproben der lebenden Schweine und jene der geschlachteten Tiere.	23
Abbildung 15: Fließkurven der Blutproben aller lebenden Tiere (V, blau) und aller geschlachteten Tiere (S, grün) am 1. Messzeitpunkt (Tag 0). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus [®] von Anton Paar GmbH.	24

Abbildung 16: : Fließkurven der Blutproben aller lebenden Tiere (V, blau) und aller geschlachteten Tiere (S, grün) am 8. Messzeitpunkt (Tag 16). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus [®] von Anton Paar GmbH.	25
Abbildung 17: Verlauf der Viskosität (mPa.s) bei einer niedrigen Scherrate von 10s^{-1} von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	26
Abbildung 18: Verlauf der Viskosität (mPa.s) bei einer hohen Scherrate von 1000s^{-1} von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	26
Abbildung 19: Speichermodul (G') zum 1. Messzeitpunkt (Tag 0) bei Blutproben von fünf lebenden Schweinen (V, blau) und fünf geschlachteten Schweinen (S, grün). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus [®]	29
Abbildung 20: Speichermodul (G') zum 8. Messzeitpunkt (Tag 16) bei Blutproben von fünf lebenden Schweinen (V) und fünf geschlachteten Schweinen (S). Originalgrafik der Computersoftware Rheoplus [®]	29
Abbildung 21: Grafische Darstellung der Speichermodule (G' , Pa) bei der geringsten eingesetzten Kreisfrequenz von $0,1\text{ rad.s}^{-1}$ (Ruhestabilität der Probe). Blutproben von fünf lebenden Schweinen (lebend) und fünf geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	30
Abbildung 22: Ermittlung des $\tan\delta$ bei $4,4\text{rad.s}^{-1}$ von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) über einen Messzeitraum von 18 Tagen mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	31

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassende Tabelle der handrefraktometrisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von lebenden Schweinen.....	19
Tabelle 2: Zusammenfassende Tabelle der handrefraktometrisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von geschlachteten Schweinen.	19
Tabelle 3: Zusammenfassende Tabelle der automatisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von lebenden Schweinen.....	21
Tabelle 4: Zusammenfassende Tabelle der automatisch ermittelten Totalproteinkonzentrationen der Blutproben von geschlachteten Schweinen.	21
Tabelle 5: Durchschnittliche Vollblutviskositätswerte ($\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$) sowie deren Standardabweichungen von menschlichem Blut mit vermindertem Hämatokrit (28%, $n=8$), normalem Hämatokrit (41%, $n=44$) und erhöhtem Hämatokrit (56%, $n=6$). Tabelle modifiziert nach ⁵³	27
Tabelle 6: Durchschnittliche Vollblutviskositätswerte ($\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$) sowie deren Standardabweichungen von Schweineblut abgenommen von fünf lebenden Tieren und von fünf Tieren während des Schlachtungsprozesses bei Hämatokriten von durchschnittlich 39% (lebend) und etwa 56% (tot) zum ersten Messzeitpunkt (Tag 0). Siehe zusammenfassende Tabelle im Anhang.....	28
Tabelle 7: Zusammenfassende Tabelle aller hämatologischen, chemischen und hämorheologischen Messergebnisse von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) in einem Messzeitraum von 18 Tagen.....	47

Anhang

Schwein	Nr.	Messtage	Hct (%)	MCV (fl)	PCV (%)	TP _{Refrakt} (g/dL)	TP _{Hitachi} (g/dL)	Viskosität bei 10s ⁻¹	Viskosität bei 1000s ⁻¹	tanδ bei 4,4 rad.s ⁻¹	G' bei 0,1 rad.s ⁻¹
lebend	1	0	35,9	54,9	32	5,6	5,5	10,75	3,835	1,59	0,590
lebend	1	2	36,2	55,9	33	6,0	5,5	11,85	3,995	1,39	0,000
lebend	1	4	37,3	57,0	33	6,0	5,5	10,95	4,100	1,33	1,240
lebend	1	7	36,5	57,6	33	6,2	5,6	11,60	4,230	2,14	0,000
lebend	1	9	37,9	58,1	33	6,4	5,5	11,45	4,385	2,72	1,340
lebend	1	11	37,8	58,2	33	6,4	5,5	10,90	4,395	1,51	0,000
lebend	1	14	37,0	59,5	33	7,0	5,4	10,75	4,515	1,38	0,000
lebend	1	16	35,9	59,1	33	7,4	5,3	11,60	4,620	1,29	0,000
lebend	1	18	34,4	59,6	31	8,0	5,0	10,80	4,760	1,47	0,441
lebend	2	0	39,2	60,2	36	6,2	5,6	9,99	4,000	1,71	0,357
lebend	2	2	39,4	61,5	36	6,2	5,7	11,85	4,150	0,23	-
lebend	2	4	41,1	62,9	37	6,2	5,8	11,70	4,230	1,41	0,929
lebend	2	7	41,5	64,7	38	6,4	5,7	12,65	4,410	1,43	0,668
lebend	2	9	43,1	64,7	38	6,6	5,8	12,45	4,535	1,74	0,000
lebend	2	11	41,9	65,0	38	6,6	5,7	11,80	4,615	1,44	0,947
lebend	2	14	42,3	66,0	38	7,0	5,7	12,90	4,785	1,10	0,000
lebend	2	16	41,3	65,9	38	7,2	5,6	12,95	4,940	1,36	0,782
lebend	2	18	41,1	65,5	36	7,4	5,5	11,85	4,975	1,45	1,720
lebend	3	0	39,9	58,3	37	7,2	6,6	12,50	4,335	1,56	0,322
lebend	3	2	40,5	59,2	37	7,0	6,5	14,70	4,585	1,31	1,000
lebend	3	4	40,7	59,3	37	7,2	6,6	14,95	4,760	1,16	1,290
lebend	3	7	41,1	60,7	38	7,4	6,6	16,55	5,090	1,13	0,463
lebend	3	9	41,1	60,3	37	7,4	6,6	15,60	5,290	1,10	0,000
lebend	3	11	41,7	60,8	38	7,6	6,5	16,30	5,340	0,98	6,370
lebend	3	14	42,0	61,8	38	8,0	6,6	16,30	5,595	1,44	0,000
lebend	3	16	41,1	61,8	38	8,2	6,6	15,50	5,855	1,33	4,140
lebend	3	18	41,4	61,7	36	9,0	6,6	15,55	5,785	1,27	4,390

lebend	4	0	42,3	59,8	39	7,0	6,7	12,85	4,520	1,57	0,304
lebend	4	2	42,4	60,3	40	7,4	6,8	17,55	4,745	1,13	-
lebend	4	4	43,1	61,5	40	7,4	6,7	17,65	4,940	1,21	1,420
lebend	4	7	43,6	62,3	40	7,6	6,8	18,85	5,225	1,21	4,420
lebend	4	9	43,9	63,6	40	7,8	6,8	19,25	5,455	1,19	1,210
lebend	4	11	44,7	63,6	40	7,8	6,9	19,90	5,595	1,05	1,930
lebend	4	14	44,8	64,6	40	8,0	7,0	19,65	5,900	1,01	3,130
lebend	4	16	45,5	64,6	41	8,2	6,9	20,15	6,040	1,09	2,940
lebend	4	18	45,0	64,4	41	8,2	6,9	18,50	6,065	1,23	2,750
lebend	5	0	38,6	59,0	35	6,2	6,0	12,15	4,270	1,64	3,450
lebend	5	2	39,8	60,1	36	6,4	6,1	13,50	4,455	1,36	1,350
lebend	5	4	40,3	60,9	36	6,6	6,0	13,60	4,670	1,33	1,200
lebend	5	7	41,4	62,1	37	6,8	6,1	13,80	4,790	1,37	2,040
lebend	5	9	40,1	62,2	37	6,8	6,0	14,40	4,965	1,66	0,000
lebend	5	11	41,1	62,3	37	7,0	6,0	14,60	5,040	1,46	0,000
lebend	5	14	41,4	63,6	37	7,2	6,1	14,25	5,230	1,60	0,000
lebend	5	16	41,5	63,8	38	7,6	6,0	13,55	5,275	1,27	1,040
lebend	5	18	41,0	64,4	38	8,0	6,0	13,85	5,330	1,32	0,448

Schwein	Nr.	Messtage	Hct (%)	MCV (fl)	PCV (%)	TP _{Refrakt} (g/dL)	TP _{Hitachi} (g/dL)	Viskosität bei 10s ⁻¹	Viskosität bei 1000s ⁻¹	tanδ bei 4,4 rad.s ⁻¹	G' bei 0,1 rad.s ⁻¹
tot	1	0	56,6	66,2	46	8,8	7,1	19,65	6,150	1,61	0,227
tot	1	2	54,7	66,7	46	8,6	7,0	23,65	6,150	1,38	0,930
tot	1	4	54,9	67,0	46	8,4	7,0	27,10	6,205	1,29	2,160
tot	1	7	54,7	68,1	46	8,2	7,0	30,50	6,375	1,04	0,000
tot	1	9	56,7	67,6	46	8,6	7,1	29,95	6,410	1,11	2,000
tot	1	11	56,7	67,3	46	8,6	6,9	28,90	6,440	1,09	1,990
tot	1	14	56,4	67,8	47	8,6	6,8	30,30	6,600	1,07	2,010
tot	1	16	54,7	66,3	46	8,6	6,9	29,70	6,740	1,02	3,910
tot	1	18	55,0	66,8	46	8,8	6,9	-	.	-	-
tot	2	0	58,3	68,0	47	8,0	6,9	22,45	6,225	1,47	0,352
tot	2	2	58,1	67,8	47	8,0	6,6	26,20	6,385	1,33	0,491
tot	2	4	58,1	68,3	47	8,4	6,4	27,45	6,400	0,99	0,000
tot	2	7	58,8	69,4	47	8,2	6,5	28,65	6,685	1,12	2,230
tot	2	9	59,5	68,2	47	8,4	6,4	28,45	6,700	1,20	0,000
tot	2	11	59,1	68,5	47	8,4	6,3	28,05	6,805	1,13	2,430
tot	2	14	58,2	68,5	47	8,2	6,4	28,95	6,820	-	-
tot	2	16	57,0	67,8	48	8,2	6,4	29,00	7,265	1,03	3,080
tot	2	18	57,0	68,6	47	8,4	6,4	-	-	-	-
tot	3	0	50,7	63,2	45	7,2	6,9	18,50	5,510	1,81	0,000
tot	3	2	50,2	63,7	46	7,4	6,9	22,90	5,695	1,36	0,454
tot	3	4	50,3	65,0	46	7,6	6,8	25,45	5,930	1,26	0,000
tot	3	7	52,4	66,7	46	8,0	7,0	28,25	6,245	1,08	0,000
tot	3	9	52,4	66,8	46	8,2	7,0	28,80	6,600	1,14	1,400
tot	3	11	51,8	67,6	47	8,2	7,1	30,35	6,745	1,25	0,000
tot	3	14	54,3	69,9	48	9,0	7,2	32,05	7,430	1,06	2,240
tot	3	16	53,0	69,9	48	9,0	7,2	33,40	7,880	1,66	0,000
tot	3	18	53,2	69,5	48	9,2	7,2	32,50	8,085	1,07	1,610

tot	4	0	52,4	60,7	48	8,0	7,6	24,75	6,795	1,57	0,000
tot	4	2	53,0	61,7	48	8,0	7,6	30,10	7,000	1,32	0,000
tot	4	4	54,4	62,7	49	8,0	7,6	33,10	7,140	1,14	0,000
tot	4	7	56,5	64,5	49	8,2	7,7	35,60	7,535	1,08	1,600
tot	4	9	55,6	63,8	50	8,4	7,6	35,50	7,670	1,09	1,210
tot	4	11	55,0	64,1	50	8,4	7,7	37,60	7,825	1,13	1,280
tot	4	14	55,6	66,0	50	9,2	7,6	41,95	8,785	0,97	0,000
tot	4	16	56,2	65,5	48	10,0	7,6	42,95	9,570	0,85	4,400
tot	4	18	55,0	65,7	49	11,2	7,5	44,20	10,150	0,96	1,900
tot	5	0	59,7	63,0	51	7,8	7,3	23,75	6,965	1,61	0,000
tot	5	2	56,8	63,1	51	7,8	7,6	28,60	7,230	1,36	0,000
tot	5	4	57,2	64,2	51	8,0	7,6	32,85	7,465	1,19	0,858
tot	5	7	58,8	65,7	51	8,2	7,6	36,20	7,765	1,11	2,450
tot	5	9	58,8	65,4	52	8,4	7,7	37,75	8,055	1,09	1,600
tot	5	11	58,5	66,0	51	8,8	7,6	39,05	8,600	1,08	2,050
tot	5	14	58,9	67,6	51	9,6	7,7	42,15	9,590	0,84	4,290
tot	5	16	57,4	66,9	50	10,4	7,3	42,65	10,400	0,76	0,000
tot	5	18	57,9	66,5	49	11,0	7,2	42,55	11,050	0,74	0,000

Tabelle 7: Zusammenfassende Tabelle aller hämatologischen, chemischen und hämorheologischen Messergebnisse von fünf Blutproben von lebenden Schweinen (lebend) und fünf Proben von geschlachteten Schweinen (tot) in einem Messzeitraum von 18 Tagen.