Aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. E. Hess)

Quantitative Bestimmung des Blutgehaltes in der Muskulatur von Schlachtrindern nach Entbluten im Liegen und im Hängen \*\*

E. Hess und I. Klinger

EINLEITUNG

Der Ausblutungsgrad ist einer der Faktoren, welche die Haltbarkeit des Fleisches wesentlich beeinflussen. Blut fördert als ausgezeichneter Nährboden die bakterielle Zersetzung. In der vorliegenden Arbeit ging es uns darum, den Blutgehalt in der Muskulatur von normal geschlachteten Tieren quantitativ zu bestimmen.

Für den quantitativen Nachweis des Blut- bzw. Haemoglobingehaltes eignet sich der von uns erstmals für diesen Zweck
eingesetzte indirekte Haemagglutinationshemmungstest (KLINGER
1966). Den Aussagewert dieser serologischen Methode prüften
wir anhand von Paralleluntersuchungen mit Hilfe von J<sup>131</sup>markiertem Rinderalbumin.

TECHNIK

ВНИИ

1. Indirekter Haemagglutinationshemmungstest

### a) Herstellung des Antigens

Anlässlich der Normalschlachtung wird Blut von erwachsenen Rindern in Alseverlösung aufgefangen, die Erythrozyten abzentrifugiert, einmal in 0,85%-iger und viermal in 1,25%-iger NaCl-Lösung gewaschen. (Nach CHERNOFF (1953)

<sup>\*)</sup> Referat, gehalten an der 13. Tagung der Europäischen Fleischforscher in Rotterdam, Niederlande, 20.-26. Aug. 1967.

erzielt man durch Verwendung von 1,25%-iger NaCl-Lösung einen besseren Zentrifugationseffekt.) Das Erythrozytensediment wird durch Versetzen mit der neunfachen Menge Aq. bidest. zur Haemolyse gebracht, das Haemoglobin nach Passieren von Papier-, Klär- und Seitzfilter bei -20°C aufbewahrt.

#### b) Herstellung von Antihaemoglobin-Immunserum

Wir immunisierten Kaninchen zweimal wöchentlich mit je 10 ml eines Gemisches von 5 ml Haemoglobin von (erwachsenen) Rindern und 5 ml inkomplettem Adjuvans nach FREUND (Difco Detroit). Nach durchschnittlich 7 Wochen waren Gebrauchstiter von 1:5'000 bis 1:10'000 erreicht.

Der gewonnene Immunserumvorrat wurde bei -70°C, die zum täglichen Gebrauch bestimmten Chargen bei -20°C aufbewahrt.

#### c) Durchführung der indirekten Haemagglutination

aa. Gewinnung der Erythrozyten
Schafblut wird mit Alseverlösung im Verhältnis 1.1 gemischt und während mindestens 24 Stunden bei +4 C gelagert.
Nun werden die Erythroziten dreimal mit Puffer \* (pH 7,2)
gewaschen und dabei schonend (bei 2.000 U/min während
5 Minuten) zentrifugiert.

Bei unseren Versuchen erwies es sich als unerlässlich, die Blutspender auf Grund des Haematokritwertes auszuwählen.

Untere Grenze für die Verwendbarkeit der Erythrozyten ist ein Haematokritwert des Spenders von 36.Vol.%.

<sup>\*)</sup> FTA-Haemagglutinationspuffer, BBL, Baltimore (Maryland), USA, Katalog Nr. 01-647.

#### bb. Tannisierung

Eine 2%-ige, dreimal gewaschene Erythrozytensuspension (in Puffer von pH 7,2) wird mit dem gleichen Volumen einer Tanninlösung (Konzentration 1:50'000) versetzt. Da der gerbende Effekt des Tannins nicht nur von der Konzentration der Lösung, sondern auch von Einwirkungstemperatur und Einwirkungszeit entscheidend abhängt, ist es unerlässlich, alle genannten Faktoren zu standardisieren. Die Einwirkungstemperatur beträgt 37°C (Wasserbad). Die Einwirkungszeit (bei 37°C) limitieren wir exakt, indem wir das Gemisch 10 Minuten nach Tanninzugabe im Eiswasserbad kühlen, anschliessend abzentrifugieren und mit eiswassergekühltem Puffer (pH 7,2) einmal waschen.

#### cc. Sensibilisierung

Die tannisierten und anschliessend einmal gewaschenen Erythrozyten werden als 4%-ige Suspension in einer Haemoglobinlösung folgender Zusammensetzung sensibilisiert:

1 Teil gereinigtes Haemoglobin

1 Teil 1,7%-ig Kochsalzlösung

8 Teile Puffer \*\*\*((pH 6,4)

Diese Erythrozytensuspension wird unter mehrmaligem Aufschütteln während 60 Minuten im Wasserbad von 37°C belassen, anschliessend im Eiswasserbad gekühlt, abzentrifugiert und dreimal mit eiswassergekühltem Puffer (pH 7,2) gewaschen.

<sup>\*)</sup> Herstellung siehe Kapitel TECHNIK 1a

<sup>\*\*)</sup> Zusammensetzung: 3,44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
6,92 g KH<sub>2</sub>PÜ<sub>4</sub>
4,50 g NaCl
1000,00 g Aq. dest.

- 4 - C 1

dd. Herstellung der Gebrauchssuspension von tannisierten, sensibilisierten Erythrozyten (TSE)

Die TSE werden als 4%-ige Suspension in Puffer (pH 7,2) aufgeschwemmt. Diese Gebrauchssuspension ist ununterbrochen kühl zu lagern. Die Kühllagerung der Erythrozyten von der Gewinnung über die Verarbeitung bis zum Gebrauch trägt nach unseren Erfahrungen entscheidend bei zu klaren Agglutinationsbildern, zum Ausbleiben von Spontanagglutinationen und zur Stabilität der TSE.

#### ee. Serumtitration

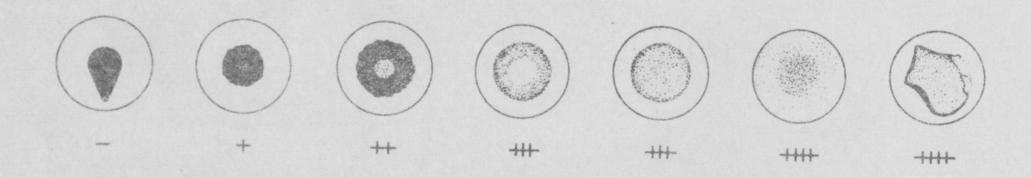
Die nach Kapitel TECHNIK 1b hergestellten Immunseren müssen zwecks Absättigung unspezifischer Agglutinine mit gewaschenen Schaferythrozyten versetzt werden. Dazu verdünnen wir die Seren vorgängig mit Puffer (pH 7,2) im Verhältnis 1:10 und versetzen sie mit einem, dem unverdünnten Serum adäquaten Volumen Erythrozytensediment.

Nach einer Bindung von 30 Minuten (bei Zimmertemperatur) werden die Erythrozyten abzentrifugiert.

Der Ueberstand des 1:10 verdünnten Serums stellt die Ausgangskonzentration für die Serumtitration und die Haemagglutinationshemmungsreaktion dar.

Für die Serumtiterbestimmung wird eine geometrische Serumverdünnungsreihe von 1:20 bis 1:327'680 hergestellt. Zu jeder Serumverdünnungsstufe von 0,2 ml werden 0,2 ml Puffer (pH 7,2) und 0,1 ml TSE pipettiert. Die Agglutination läuft über Nacht bei Zimmertemperatur ab. Die Serumverdünnung mit der vorletzten Vierkreuzreaktion (Gebrauchstiter) wird für den indirekten Haemagglutinationshemmungstest verwendet. Der Gebrauchstiter lag normalerweise bei 1:1280.

# Abb. 1 Beurteilung der indirekten Haemagglutinations-Reaktion



#### ff. Indirekter Haemagglutinationshemmungstest

Die zu prüfende Haemoglobinlösung wird in geometrischer Reihe bis 1:16'000 verdünnt. Zu je 0,2 ml Antigenverdünnung werden 0,2 ml Serum vom Gebrauchstiter pipettiert. Das Antigenserumgemisch wird während 30 Minuten im Wasserbad von 37°C der Bindung überlassen und anschliessend mit 0,1 ml TSE versetzt, gut geschüttelt und über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

#### d) Bewertung der Reaktion

Wir haben die Agglutinationsbilder mit 1-4 Kreuzen bewertet (siehe Abbildung 1). Zur Erleichterung der Ablesung der Reaktion sind wir dazu übergegangen, den Boden der Gestelle durch eine Plexiglasplatte zu ersetzen.

#### e) Anwendung der Methode zur Bestimmung des Haemoglobingehaltes in Muskeleluaten

#### aa. Eichkurve

Abb. 1

Um die abgelesenen Agglutinationswerte absoluten
Haemoglobinkonzentrationen zuordnen zu können, muss jeweils
eine Eichkurve, basierend auf definierten Haemoglobinkonzentrationen, aufgestellt werden. Nachdem wir in Erfahrung
gebracht hatten, dass die Haemoglobinwerte der Muskeleluate
zwischen 6,25 mg% und 100 mg% liegen, wählten wir Eichkurvenkonzentrationen von 100, 50, 25, 12,5 und 6,25 mg%

Die nach Kapitel TECHNIK 1a präparierte Haemoglobinlösung wurde auf Grund spektralphotometrischer Messungen\* auf 1000 mg% eingestellt. Aus dieser Stammlösung stellten wir

<sup>\*)</sup> Coleman-Spectralphotometer, Coleman Instruments Inc., Maywood (111), USA.

-6- C1

durch Verdünnung mit Aq. bidest. Standardkonzentrationen von 200, 100, 50, 25 und 12,5 mg% in grossen Mengen her, füllten Tagesdosen (von ca 1 ml) in Ampullen ab und lagerten sie bei -20°C. Die Verdoppelung der für die Eichkurve verwendeten Haemoglobinkonzentration ergab sich aus der Notwendigkeit, diese Lösungen im salzfreien Zustand einzugefrieren (Verhinderung der Kristallisation von Haemoglobin; KANIG 1954). Erst nach dem Auftauen wurden die jeweiligen Haemoglobinlösungen isotonisch gemacht. Die Hemmungsreaktionen der fünf definierten Haemoglobinkonzentrationen wurden auf die im Kapitel TECHNIK 1c ff. beschriebene Weise ermittelt. Nach der Beurteilung der Agglutinationsbilder wurden die Kreuzzahlen jeder einzelnen Haemoglobinverdünnungsreihe addiert, was gegenüber der alleinigen Berücksichtigung des Endtiters (letzte 4-Kreuz-Reaktion) den Vorteil des Einbezuges unterschiedlich abklingender Reaktionen hat. Auf der Ordinate (log. Masstab) wurden die 5 Haemoglobinwerte in mg% und auf der Abszisse die Summe der abgelesenen Kreuzzahlen aufgetragen. Wir haben durch 3-4malige Parallelbestimmung der einzelnen Punkte die Eichkurven gesichert.

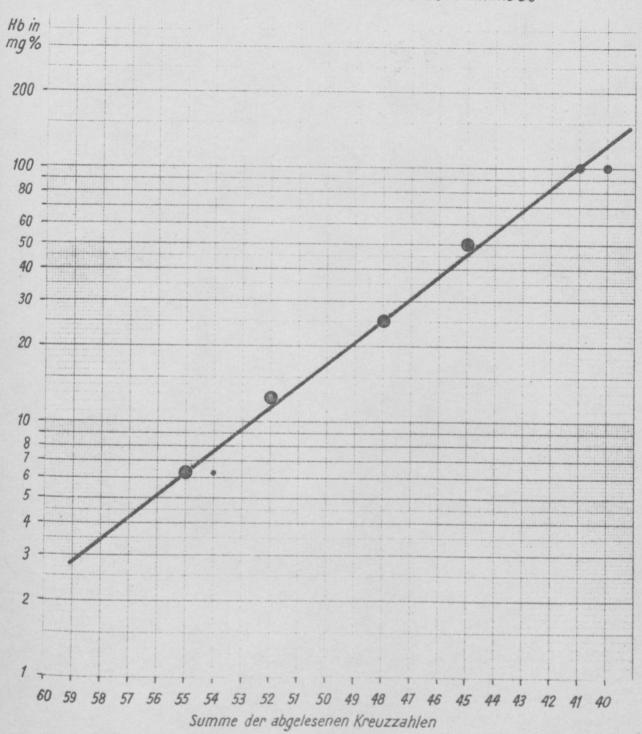
bb. Herstellung der Muskeleluate und Bestimmung des Haemoglobingehaltes

Um eine gültige Aussage über den Blutgehalt der gesamten Muskulatur eines Tierkörpers machen zu können, wurden jeweils fünf definierte Muskelstücke entnommen:

- 1) M. supraspinam rechts
- 2) M. rectus abdominis
- 3) M. semimembranaceus links
- 4) Zwerchfellpfeiler
- 5) Herzmuskel, Kammer and links (als besonders blutreiche Muskulatur)

Die Muskelstücke wurden unmittelbar nach der Entnahme eingefroren und während mindestens 4 Tagen gelagert.

Abb.2 Eichkurve für die Muskeleluate Nr. 166-170 vom 13.12.1966



sei bzw. drei identische Werte

Wir haben jeweils 50 g fett- und sehnenfreie Muskulatur im halbgefrorenen Zustand zerkleinert, mit 100 ml Aq. dest. versetzt und mit dem Polytrongerät PT 20 0D nach WILLEMS \* homogenisiert. Der Muskelbrei wurde im Eiswasserbad während 30 Minuten mit einem Mixer gerührt und anschliessend bei 5000 U/min während 40 Minuten zentrifugiert. Der rote klare Ueberstand wurde durch Papierfiltration vom kältestarren Fett befreit, das grauweisse Zentrifugensediment verworfen. Der Ueberstand wurde mit 1,7%-iger NaCl Lösung isotonisch gemacht und nach der im Kapitel TECHNIK 1c ff beschriebenen Methode auf Haemoglobingehalt untersucht. Jeden Tag führten wir eine Eichkurve mit (siehe Kapitel TECHNIK 1e aa).

## f) Bestimmung des Blutgehaltes auf Grund der Haemoglobinwerte

Die Agglutinationshemmung der Muskeleluate wurde zusammen mit derjeningen der definierten Haemoglobinkonzentration (Eichkurve) beurteilt. Aus der Eichkurve wurden die gesuchten Haemoglobinwerte in mg% abgelesen. Der entsprechende BTuttgehalt im Muskel errechnete sich aus dem Vergleich mit dem Haemoglobinwert des strömenden Blutes, der mit dem Hb-Meter für jedes Tier individuell zu bestimmen war. Dabei verwendeten wir den Mittelwert von drei, im Verlauf der Ausblutung entnommerenProben Bei der Berechnung des effektiven Blutgehaltes der Muskulatur musste der Verdünnungsfaktor des Muskeleluates berücksichtigt werden.

Beispiel: (Probe Nr. 168)

- 1. Abgelesene Gesamtkreuzzahl: 48
- 2. Dieser Kreuzzahl entspricht laut Eichkurve desselben Tages (Abbildung 2) ein Haemoglobingehalt von 25 mg%.

<sup>\*)</sup> Kinematica GmbH, Luzern, Schweiz.

<sup>\*\*</sup> Spencer Hb-Meter, American Optical Co, Buffalo (N.Y.), USA.

Diese drei Blutproben dienten ausserdem zur vergleichsweisen Aktivitätsbestimmung (siehe Kapitel TECHNIK 2).

-8-

3. Umrechnung auf den effektiven Haemoglobingehalt des Muskels in g%, unter Einbezug des Verdünnungsfaktors vom Muskeleluat (hier 12):

4. Berechnung des Blutgehaltes im Muskel auf Grund folgender Relation:

$$\frac{\text{x g\% Blut im Muskel}}{\text{g\% Hb im Muskel (0,300 g\%)}} = \frac{100 \text{ g zirkulierendes Blut}}{\text{individueller Hb-Gehalt im zirkulierenden Blut in g\%}}$$

$$\frac{0,300 \text{ x 100}}{\text{x = }} = \frac{0,300 \text{ x 100}}{13,0} = 2,3 \text{ g\% Blut im Muskel}}$$

Unsere statistischen Berechnungen zeigten, dass die angegebene Methode mit einem Streuungsfaktor von 0,09 behaftet
ist. Er fällt, gemessen an den individuellen Unterschieden
des Blutgehaltes, für unsere Aussage nicht ins Gewicht.

#### g) Spezifität der Methode

Die Fleischeluate enthalten ausser Haemoglobin noch andere Chromoproteine (Myoglobin, Cytochrome, Warburgsche Atmungsfermente usw.). Den weitaus gewichtigsten Störfaktor stellt das ähnlich aufgebaute Myoglobin dar (WEISS 1953). Es war entscheidend abzuklären, ob und wie weit Myoglobin bei unserer indirekten Haemagglutination interferierte. Zu diesem Zweck haben wir die Muskeleluate mit der Methode nach PERKOFF UND TYLER (1958) in einen Haemoglobin- und einen Myoglobinanteil getrennt. Die beiden

Fraktionen wurden dann auf ihre Reaktion mit Antihaemoglobinserum geprüft (vgl. Kapitel TECHNIK 1c ff).
In drei Versuchen stellten wir fest, dass die Fraktion
Myoglobin keine Haemagglutinationshemmung hervorbrachte,
wohingegen der Hemmtiter des Haemoglobins jeweils demjeningen des Gesamteluates entsprach.

## 2. Bestimmung des Blutgehaltes im Muskel auf Grund des Rückstandes von intra vitam injiziertem J<sup>131</sup>

Um den Aussagewert unserer serologischen Haemoglobin-bzw. Blutbestimmungsmethode zu überprüfen, haben wir versucht, den Blutgehalt in der Muskulatur mit Hilfe von radioaktiv-markiertem Rinderalbumin zu bestimmen. Für die Markierung von Rinderalbumin als Trägersubstanz erschien uns J<sup>131</sup> am geeignetsten, weil es dank seiner kurzen Halbwertszeit in den verwendeten minimalen Dosen bis zum Konsum des Fleisches abgebaut war, ganz abgesehen davon, dass beim Blutentzug der allergrösste Teil der (ohnehin geringen) Aktivität entfernt wurde.. Wir haben denn auch in unseren Muskelproben von je 100 g selbst im ganz frisch erschlachteten Zustand nur Spuren von Aktivität nachgewiesen, wobei in keinem Fall die Toleranzgrenze für genusstaugliche Lebensmittel erreicht oder überschritten wurde. Aus Gründen des Konsumentenschutzes haben wir auf die Verwendung von Cr<sup>51</sup> verzichtet, das sich zwar spezifisch an Haemoglobin bindet (PEARSON 1963), aber eine Halbwertszeit von 27,8 Tagen aufweist.

#### Tabelle 1

Blutmenge im Muskel
von liegend und hängend entbluteten Tieren
auf Grund der serologischen Bestimmung

Muskel	Entbluten im Liegen		Entbluten im Hängen		Verbesserung d.
	Anzahl Proben	g% Blut	Anzahl Proben	g% Blut	Ausblutungs- grades durch Ent- bluten im Hängen
M. suprasp.	53	1,0	47	0,6	40 %
M. rectus	48	0,9	47	0,6	33 %
M. semim.	53	0,9	45	0,5	44 %
Zwerchfellpfei-					
ler	60	1,9	48	1,1	42 %
Herzmuskel	31	4,0	48	1,8	55 %

Um eine Ausscheidung von J<sup>131</sup> bis zum Zeitpunkt der homogenen Durchmischung im strömenden Blut nach Möglichkeit zu vermeiden haben wir das J<sup>131</sup> an artspezifisches (Rinder-)Albumin gebunden. Vorerst musste in Erfahrung gebracht werden, wie lange es dauert, bis das i.v. injizierte J<sup>131</sup>-markierte Rinderalbumin einerseits im strömenden Blut homogen durchmischt ist und von welchem Zeitpunkt an anderseits mit einer wesentlichen Abwanderung des markierten Albumins aus dem Gefässsystem gerechnet werden muss.

Es hat sich gezeigt, dass die optimale Durchmischungszeit beim Rind 30 Minuten beträgt. Kürzere Zeiten ergaben inhomogene Durchmischung, was sich an Schwankungen der aufeinanderfolgenden Aktivitätswerte erwies. Bei 30 Minuten wurden die Werte gleichmässiger, nach 35 Minuten begannen sie deutlich abzufallen, offensichtlich bedingt durch zunehmende Auswanderung von markiertem Albumin. Da mit dem Austritt von radioaktivem Albumin grundsätzlich schon innerhalb von 30 Minuten zu rechnen ist, mussten unsere Restblutbestimmungen in der Muskulatur notwendigerweise zu einem gewissen Fehlresultat führen, einerseits bedingt durch Schwund der Aktivität im strömenden Blut (Bezugswert), anderseits durch entsprechende Anreicherung der Aktivität im Gewerbe.

## Bestimmung des Blutgehaltes in der Muskulatur

50 Minuten vor der Schlachtung wurde den Tieren J<sup>131</sup>-markiertes Rinderalbumin möglichst sorgfältig i.v. appliziert.
Anlässlich der Schlachtung haben wir jeweils drei Blutproben
(Anfang, Mitte und Ende der Entblutung) entnommen und zu je
100 g in Plastikbecher abgefüllt. Gleichzeitig wurden aus
den Muskelproben, die zur serologischen Bestimmung des
Haemoglobins verwendet wurden, je 100 g (fett- und sehnen freies) Material in Plastikbecher abgefüllt.Die Bestimmung

Das Rinderalbumin wurde vom Eidg. Institut für Reaktorforschung in Würenlingen (Schweiz) markiert.

Um eine Ausscheidung von J<sup>131</sup> bis zum Zeitpunkt der homogenen Durchmischung im strömenden Blut nach Möglichkeit zu vermeiden haben wir das J<sup>131</sup> an artspezifisches (Rinder-)Albumin gebunden. Vorerst musste in Erfahrung gebracht werden, wie lange es dauert, bis das i.v. injizierte J<sup>131</sup>-markierte Rinderalbumin einerseits im strömenden Blut homogen durchmischt ist und von welchem Zeitpunkt an anderseits mit einer wesentlichen Abwanderung des markierten Albumins aus dem Gefässsystem gerechnet werden muss.

Es hat sich gezeigt, dass die optimale Durchmischungszeit beim Rind 30 Minuten beträgt. Kürzere Zeiten ergaben inhomogene Durchmischung, was sich an Schwankungen der aufeinanderfolgenden Aktivitätswerte erwies. Bei 30 Minuten wurden die Werte gleichmässiger, nach 35 Minuten begannen sie deutlich abzufallen, offensichtlich bedingt durch zunehmende Auswanderung von markiertem Albumin. Da mit dem Austritt von radioaktivem Albumin grundsätzlich schon innerhalb von 30 Minuten zu rechnen ist, mussten unsere Restblutbestimmungen in der Muskulatur notwendigerweise zu einem gewissen Fehlresultat führen, einerseits bedingt durch Schwund der Aktivität im strömenden Blut (Bezugswert), anderseits durch entsprechende Anreicherung der Aktivität im Gewerbe.

## Bestimmung des Blutgehaltes in der Muskulatur

30 Minuten vor der Schlachtung wurde den Tieren J<sup>131</sup>-markiertes Rinderalbumin möglichst sorgfältig i.v. appliziert.
Anlässlich der Schlachtung haben wir jeweils drei Blutproben
(Anfang, Mitte und Ende der Entblutung) entnommen und zu je
100 g in Plastikbecher abgefüllt. Gleichzeitig wurden aus
den Muskelproben, die zur serologischen Bestimmung des
Haemoglobins verwendet wurden, je 100 g (fett- und sehnen freies) Material in Plastikbecher abgefüllt.Die Bestimmung

E) Das Rinderalbumin wurde vom Eidg. Institut für Reaktorforschung in Würenlingen (Schweiz) markiert.

- 11 -C 1

des Gehaltes an J<sup>131</sup> in den Blut- und Muskelproben erfolgte im analytischen Labor der Strahlenüberwachung des Eidg. Institutes für Reaktorforschung in Würenlingen, und zwar nach folgendem Prinzip:

Jod 131 emittiert beim radioaktiven Zerfall eine Gamma-Energie von 0,36 MeV. Diese Energie wurde mit Hilfe eines Natriumjodid-Kristalles und eines Einkanalspektrometers gemessen. Es gelang auf diese Weise, Fremdaktivitäten weitgehend auszuschalten.

Berechnung des Blutgehaltes:

x g Blut in 100 g Muskulatur

100 g zirkulierendes Blut

Aktivität in 100 g Muskulatur Aktivität in 100 g zirkulierendem Blut

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In den vorliegenden Versuchen ging es darum, die Differenz im Ausblutungsgrad der Muskulatur von liegend und hängend entbluteten Tieren quantitativ zu bestimmen.

Tabelle 1

Tabelle 1 zeigt, dass urch die Entblutung im Hängen eine Verbesserung des Ausblutungsgrades der Stammesmuskulatur und des Zwerchfells um 33-44% (d.h. durchschnittlich 40%) zu erzielen war. Fünf in der Tabelle nicht aufgeführte Tiere zeigten, obwohl sie hängend entblutet worden waren, wesentlich höhere (d.h. ungefähr doppelte) Werte, und zwar deshalb, weil die Ausblutung erst bei Herzstillstand erfolgt war. Das optimale Intervall zwischen Betäubung und Entblutung beträgt nach den Untersuchungen von VÖLLM (1964) 12 bis 2 Minuten, weil in dieser Zeitspanne die durch den

Blutmenge im Muskel
von liegend entbluteten Tieren
auf Grund der Radioaktivitätsbestimmung

Anzahl Proben	g % Blut a)	
45	1,2 (1,0)	
45	1,0 (0,9)	
45	0,9 (0,9)	
44	2,2 (1,9)	
44	6,6 (4,0)	
	45 45 45 45 44	

a) in Klammer sind die Werte der serolögischen Bestimmung angegeben

Betäubungsschock ausgelöste Tachycardie mehr oder weniger abklingt, ohne dass der Blutdruck bereits wesentlich abgesunken ist. Bei den vorliegenden Untersuchungen betrug das Zeitintervall zwischen Schuss und Stich im Mittel 1 Minute 57 Sekunden.

Die Durchschnitte der auf Grund der Serologie ermittelten
Werte lassen sich mit denjenigen der RadioaktivitätsbestimTab.2 mung (Tabelle 2) in bezug auf die Stammesmuskulatur und das
Zwerchfell vergleichen, sofern man den Austritt von markiertem Albumin aus der Blutbahn in die Muskulatur innerhalb
der Durchmischungszeit von 30 Minuten berücksichtigt. Das
weist darauf hin, dass unsere serologische Bestimmung auf
richtigen Voraussetzungen beruht. Ob die grössere Diskrepanz
in bezug auf die Herzmuskulatur, d.h. die verstärkte Speicherung von markiertem Albumin, auf ihrer besonderen Vaskularisation beruht, können wir nicht entscheiden.

## ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit ging es darum, den Blutgehalt in der Muskulatur von normal geschlachteten Tieren quantitativ zu bestimmen. Wir haben zwei verschiedene Methoden eingesetzt: Die seroligischeBestimmung von Haemoglobin mit Hilfe des indirekten Haemagglutinationshemmungstestes und die Messung der Restaktivität von i.v. injizierter, radioaktivmarkierter Substanz. Unsere Untersuchungen haben ergeben, dass vor allem der indirekte Haemagglutinationshemmungstest für die quantitative Bestimmung des Blutgehaltes in der Muskulatur geeignet ist.

Anhand von 480 Muskelproben gelang der Nachweis, dass der Ausblutungsgrad durch Entbluten im Hängen gegenüber demjenigen im Liegen im Durchschnitt um 40% verbessert werden kann.

Die Ergebnisse sind statistisch gesichert, und zwar mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1%.

#### LITERATUR

=======

- CHERNOFF A.I.: Immunologic studies of human hemoglobin. Blood 8, 399 (1953).
- FISHER R.A.: Appl. of Student's distribution. Metron 5, 90 (1926), zit. nach Th. Reich: Idee und Praxis der medizinischen Statistik. Habilitationsschrift Zürich, 1964.
- FREUND J.; THOMOSON K.J., HOUGH H.B., SOMMER H.E. and PISA-NI T.M.: Antibody formation and sensitization with the aid of adjuvants. J. Immunol. 60, 383 (1948).
- HESS E. und VÖLEM J.: Der Ausblutungsgrad von Schlachtkühen bei Entblutung im Liegen, im Hängen und
  nach Vorbehandlung mit "Octapressin" (Sandoz). Referat, gehalten an der 10. Tagung der Europäischen
  Fleischforscher, Roskilde, Dänemark, August 1964.
- KANIG K.: Methodische Notiz zur Gewinnung von Haemoglobinkristallen. Biochem. Zschr. 325, 347 (1954).
- KLINGER I.: Zur quantitativen Bestimmung des Blutgehaltes der Muskulatur von Schlachtrindern mittels indirekter Haemagglutination. Diss. Zürich, 1966.
- KLINGER I.: Zur serologischen Differenzierung des Haemoglobins von jugendlichen und erwachsenen Rindern. Im Druck 1967.

- PEARSON H.A.: The binding of  $Cr^{51}$  to hemoglobin. Blood 22, 218 (1963). 218 (1963).
- PERKOFF G.T. and TYLER F.H.: Estimation and physical properties of myoglobin in various species.

  Metabolism 7, 751 (1958).
- RACHMILEWITZ E.A., IZAK G. and NELKEN N.: Studies on hemoglobin: 1. Antigenic properties of human, canine and rabbit hemoglobin solutions. Blood 22, 566 (1963).
- VÖLLM J.: Der Ausblutungsgrad von Schlachtrindern bei Entblutung im Liegen, im Hängen und nach Vorbehandlung mit "Octapressin" (Sandoz). Diss. Zürich, 1964.
- v.d. WAERDEN B.L.: Mathematische Statistik. Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1957.
- WEINBACH R.: Die Verwendbarkeit formolbehandelter Erythrozyten als Antigenträger in der indirekten Haemagglutination. Schweiz. Z. Path. Bakt. 21, 1043 (1958) und 22, 1 (1959).
- WEISS H.: Ein Beitrag zur Klärung der Fehlerquelle bei der Bestimmung des Ausblutungsgrades von Schlachttieren, unter besonderer Berücksichtigung des Myoglobins. Diss. Berlin, 1953.

- PEARSON H.A.: The binding of  $Cr^{51}$  to hemoglobin. Blood 22, 218 (1963). 218 (1963).
- PERKOFF G.T. and TYLER F.H.: Estimation and physical properties of myoglobin in various species.

  Metabolism 7, 751 (1958).
- RACHMILEWITZ E.A., IZAK G. and NELKEN N.: Studies on hemoglobin: 1. Antigenic properties of human, canine and rabbit hemoglobin solutions. Blood 22, 566 (1963).
- VÖLLM J.: Der Ausblutungsgrad von Schlachtrindern bei Entblutung im Liegen, im Hängen und nach Vorbehandlung mit "Octapressin" (Sandoz). Diss. · Zürich, 1964.
- v.d. WAERDEN B.L.: Mathematische Statistik. Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1957.
- WEINBACH R.: Die Verwendbarkeit formolbehandelter Erythrozyten als Antigenträger in der indirekten Haemagglutination. Schweiz. Z. Path. Bakt. 21, 1043 (1958) und 22, 1 (1959).
- WEISS H.: Ein Beitrag zur Klärung der Fehlerquelle bei der Bestimmung des Ausblutungsgrades von Schlachttieren, unter besonderer Berücksichtigung des Myoglobins. Diss. Berlin, 1953.

#### SUMMARY

Subject of this paper was the quantitative determination of blood remaining in the muscle of normally slaughtered cattle. We applied two methods: The serological determination of hemoglobin with the indirect hemagglutination-inhibition-test, and on the other hand counting the activity of i.v. injected bovine albumine conjugated with J<sup>131</sup>. We conclude from our investigations that the indirect hemagglutination-inhibition-test is especially suited for the quantitative determination of blood remaining in the muscle. Investigating 480 muscle samples we were able to show that exsanguination was improved by 40 percent in animals bled in hanging position as compared with those bled in horizontal position. The results are statistically significant with a probability of 99 percent.

#### Résumé

Il s'agit de déterminer d'une manière quantitative le sang restant dans la musculature des animaux abattus normalement. Nous avons appliqué deux méthodes: La détermination serologique avec le test d'inhibition de l'hémagglutination indirecte et la détermination de l'activité d'albumine marquée avec J<sup>131</sup>, injectée par voie intravéneuse. Selon nos recherches le test d'inhibition de l'hémagglutination se prête surtout pour la détermination quantitative du sang restant dans la musculature. Le degré d'exsanguination peut être amélioré en moyenne de 40 pourcent par saignant les animaux en position verticale au lieu de les saignant en position horizontale.

Ces résultats sont assurés statistiquement avec une probabilité de 99 pourcent.