



Bundesanstalt für  
Landwirtschaft und Ernährung



Bundesministerium für  
Ernährung, Landwirtschaft  
und Verbraucherschutz

# Innovationstage 2009



Projekte im Bereich Nutztierwissenschaften



# Einleitung

Ziel des Programms zur Innovationsförderung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) ist die Unterstützung von technischen und nicht-technischen Innovationen in Deutschland in den Bereichen Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. Durch Stärkung der wirtschaftlichen Innovationskraft, Schaffung und Sicherung von Arbeitsplätzen, Schonung natürlicher Ressourcen und Verbesserung der Arbeitsbedingungen soll somit die Wettbewerbsfähigkeit in diesen Bereichen gestärkt werden.

Eine Vielzahl von Unternehmen und kooperierenden Forschungspartnern haben bisher die vom BMELV veröffentlichten Bekanntmachungen genutzt, um Ideenskizzen beim Projektträger Innovationsförderung in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) einzureichen. Viele richtungsweisende Projekte konnten auf dieser Grundlage bereits auf den Weg gebracht werden.

Im Mittelpunkt der Innovationstage 2009 stehen die Innovationsprojekte, die sich mit der Haltung von Nutztieren und der sicheren Produktion tierischer Erzeugnisse beschäftigen. Die deutsche Tierproduktion kann im globalen Wettbewerb nur bestehen, wenn verstärkt Innovationen forciert werden. Nur mit innovativem produktionstechnischem Wissen, neuartigen Technologien, dem effektiven Einsatz von Betriebsmitteln und der nachhaltigen Nutzung unserer Ressourcen kann die biologische Leistung der Tiere, ihr Wohlergehen und gleichzeitig ein nachhaltiger unternehmerischer Gewinn für alle Marktbeteiligten sichergestellt werden.

An den zwei Innovationstagen soll ein prägnanter Überblick über die Vorhaben in den Bereichen Zoonosen, Tierhaltung, Tierarzneimittel, Technik in der Tierhaltung und Fleischwirtschaft gegeben werden. Die Einzel- oder Verbundvorhaben werden durch die Projektnehmer im Rahmen eines Kurzvortrages vorgestellt und erste Ergebnisse präsentiert. Wir freuen uns auf eine angeregte Diskussion aller beteiligten Akteure, um Erfahrungen auszutauschen und wichtige Anregungen zu gewinnen.

## **Projektträger Innovationsförderung**

# Inhalt

## Innovationen im Bereich Zoonosen

- Forschungs-Sofortprogramm Influenza ..... 7
- Neuartiger Ansatz zur Entwicklung eines heterosubtypischen Marker-Impfstoffs gegen die aviäre Influenza in Geflügel ..... 9
- Entwicklung innovativer Therapieverfahren für die Behandlung von Infektionen mit Influenzaviren ..... 10
- Innovatives Barriersystem gegen aviäre Influenza für die Freilandhaltung ..... 11
- Entwicklung eines diagnostischen Systems zur Entdeckung von West-Nile Virus Infektionen und Entwicklung eines gentechnischen Impfstoffes gegen diese Infektion ..... 13
- Einsatz von Bakteriophagen zur quantitativen Senkung der Campylobacter-Belastung von Masthähnchen (CAMPYQUANT) ..... 14

## Innovationen im Bereich Tiergesundheit

- Insektizidbehandelte Netze zur Bekämpfung von tiermedizinisch bedeutenden Vektoreuseuchen ..... 17
- Entwicklung eines Impfstoffes zur Prophylaxe der Chlamydiose des Rindes ..... 19
- Frühdiagnostik von Infektionen mit Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (MAP) bei Rindern ..... 21
- Entwicklung eines Rotlaufimpfstoffes für Geflügel ..... 22
- Implementierung verbesserter Betriebsweisen in der Imkerpraxis zur allgemeinen Krankheitsprävention als nachhaltiger Schutz vor Bienenvölkerverlusten ..... 24
- EvA - Entwicklung von Anti-Nosemose-Wirkstoffen über ein 2-Stufen-Testsystem ..... 26

## **Innovation im Bereich Tierhaltung und Tierschutz**

- Möglichkeiten der In ovo-Geschlechtsbestimmung beim Haushuhn (Gallus gallus f. dom.) als Alternative zur routinemäßigen Tötung männlicher Eintagsküken aus Legehennenlinien ..... 28
- Nutzung männlicher Legehybriden als Stubenküken ..... 30
- Weiterentwicklung der Kleingruppenhaltung für Legehennen ..... 31
- Entwicklung einer zentralen Online-Analyse- und Steuerungseinheit zur Milchgewinnung „OASE“ ..... 34
- Entwicklung und Bewertung eines automatischen optischen Sensorsystems zur Körperkonditionsüberwachung bei Milchkühen ..... 36
- Agro-SAW-IDENT-Entwicklung und Erprobung eines Verfahrens zur elektronischen Tierkennzeichnung auf der Grundlage der SAW-Technologie zur Erhöhung der Identifikationssicherheit ..... 37
- Innovatives Aufruf-Fütterungssystem für tier- und produktionsgerechte Sauenhaltung ..... 39
- Kontinuierliche Erfassung, Aufbereitung und Weiterleitung von Daten zum Mikroklima in Straßenfahrzeugen für lange Transporte von Rindern und Schweinen ..... 40

## **Innovationen im Bereich Fleischwirtschaft**

- Objektive Bewertung der Qualität von Frisch- und Tiefkühlfleisch mittels Hochfrequenztechnologie ..... 43
- AIDA-Allianzen für Informations- und Dienstleistungsagenturen zur horizontalen Bündelung von Koordinierungsaufgaben im Qualitäts-, Gesundheits- und Risikomanagement der Fleischwirtschaft ..... 44
- Verbesserung von Qualitäts- und Risikomanagementsystemen mit Hilfe einer Informationsplattform für die Vieh- und Fleischwirtschaft zur Reduzierung von Eintragsquellen in die fleischerzeugende Produktionskette ..... 57



# Innovationen im Bereich Zoonosen

## Forschungs-Sofortprogramm Influenza

### *Research program Influenza*

#### **FKZ**

28-1-31.001-06 bis 28-1-31.016-06

#### **Laufzeit**

2006 – 2011

#### **Projektnehmer/Institution**

Friedrich-Loeffler-Institut (FLI)

#### **Ansprechpartnerin**

Hr. Dr. Beer

#### **Einzelprojekte**

28-1-31.001-06 „Entwicklung und Einsatz der DNA-Chip-Technologie für eine umfassende Diagnostik“

28-1-31.002-06 „Ultraschnelle Ad-Hoc-Pathotypisierung und Charakterisierung von AIV-Gesamtgenomen“

28-1-31.003-06 „Referenzmaterialien für die Validierung und Qualitätssicherung der Diagnostik der aviären Influenza“

28-1-31.004-06 „Entwicklung viraler Vektorvakzinen/Markervakzinen“

28-1-31.005-06 „Pilotstudie zum Einsatz kommerziell erhältlicher AIV H5-Impfstoffe“

28-1-31.006-06 „Entwicklung einer Subunit- und inaktivierten Vollvirus-Vakzine zur Immunisierung von Katzen gegen eine Influenza H5N1-Infektion“

28-1-31.007-06 „Serologische Untersuchungen zur Empfänglichkeit von ausgewählten Vogelspezies und Säugetieren in natürlichen Ausbruchgebieten der aviären Influenza H5N1-Infektion“

28-1-31.008-06 „Untersuchungen zur molekularen Epidemiologie in der Wildvogelpopulation“

28-1-31.009-06 „Untersuchungen zur Empfänglichkeit von ausgewählten Vogelspezies und Säugetieren für das in Deutschland isolierte HPAIV H5N1“

28-1-31.010-06 „Untersuchungen zum Virulenzpotential von Influenzaviren“

28-1-31.011-06 „Untersuchungen zur Induktion der unspezifischen und spezifischen Immunantwort nach H5N1-Influenzavirus-Infektion“

28-1-31.012-06 „Untersuchungen zur Pathogenese des hämorrhagischen Syndroms und zum Organtropismus von hochvirulenten H5N1-Isolaten in unterschiedlichen Spezies“

28-1-31.013-06 „AIV-Nachweise: Biochip-Detektion, HAH, Antigen-Schnelltest“

28-1-31.014-06 „Herstellung monoklonaler Antikörper zur serologischen Diagnostik“

28-1-31.015-06 „AIV-Nachweise: Sensitive, rekombinante Zellkultursysteme“

28-1-31.016-06 „Entwicklung, Prüfung und Validierung einer DIVA-Diagnostik“

#### **Kurzportrait**

Influenzaviren sind als Krankheitserreger bei Tier und Mensch seit langem bekannt. Wildvögel stellen ein natürliches Reservoir für alle Influenzaviren dar, aus dem sporadisch und unvorhersehbar Influenzaviren auf andere Wirte, so z.B. Nutzgeflügel, oder auf Säugetiere wie z.B. Schweine oder den Menschen, übergehen können. Erst in diesen Spezies kann es dann zum Ausbruch von schwerwiegenden Erkrankungen kommen, die als räumlich

begrenzte Epidemien und umfassende Pandemien bedeutende Ausmaße annehmen können. Diese ständige Bedrohung wurde in den letzten Jahren durch die geographische Ausbreitung des Influenzavirustyps H5N1 von Südostasien bis nach Mitteleuropa und Afrika auch einer breiteren Öffentlichkeit bewusst. Gleichzeitig wurde deutlich, dass trotz jahrzehntelanger Forschung große Lücken bestehen hinsichtlich der Biologie und Ökologie der Influenzaviren, ihrem krankmachenden Potential, der Zahl möglicher Wirte sowie auch der Entwicklung von empfindlichen Schnelltesten zum Vor-Ort-Nachweis der Viren und bei der Bereitstellung adäquater Impfstoffe für Mensch und Tier.

Unter der Federführung der Ressortforschungsinstitute des Bundes wurden im Rahmen eines Sofortprogrammes (Forschungs-Sofortprogramm Influenza [FSI]) wesentliche Wissenslücken geschlossen. Die auf veterinärmedizinische Fragestellungen fokussierte Projekte wurden vom Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) bearbeitet und konzentrierten sich auf die Bereiche (i) Diagnostik, (ii) Impfstoffentwicklung, (iii) Epidemiologie und (iv) Pathogenese.

Im Rahmen dieser Projekte wurden nicht nur bedeutende Erkenntnisse im Bereich der Epidemiologie des hochpathogenen aviären Influenzavirus (HPAIV) vom Subtyp H5N1 in Deutschland erarbeitet und durch phylogenetische Analysen wichtige Informationen zur Verbreitung und Dynamik der Infektion in Deutschland und Europa ermittelt, sondern auch völlig neue und richtungsweisende Methoden zur Charakterisierung von Influenzaviren mittels Sequenzieretechniken der nächsten Generation (deep sequencing) sowie Microarray-Technologie (DNA-Chips) entwickelt. Zusätzlich wurden beispielsweise Prototypen für neue Markerimpfstoffe konstruiert und eine zugelassene, konventionelle Vakzine im Feldeinsatz geprüft und bewertet. Hinzu kamen umfangreiche Untersuchungen zur Pathogenese des HPAIV H5N1 mittels Infektionsversuchen an zahlreichen Vogel- und

Säugetierspezies sowie zur Suche und Definition von Virulenzmarkern mit Hilfe reverser genetischer Systeme.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das Forschungs-Sofortprogramm Influenza eine „Erfolgsgeschichte“ darstellt und die geförderten Projekte zu einem erheblichen und notwendigen Erkenntnisgewinn im Bereich der Influenzaviren und insbesondere bezüglich HPAIV H5N1 geführt haben. Der Erfolg und die Bedeutung des Forschungs-Sofortprogrammes wird durch die Vorstellung ausgewählter Projekte und Ergebnisse im Rahmen des Vortrages dokumentiert werden.



Neuartiger Ansatz zur Entwicklung eines heterosubtypischen Marker-Impfstoffs gegen die aviäre Influenza in Geflügel.

*New approach for the development of a heterosubtypic marker vaccine against Avian Influenza in poultry.*

**FKZ**

28-1-32.008-06

**Laufzeit**

10.11.2008 – 09.11.2010

**Projektnehmer/Institution**

Creatogen Laboratories GmbH

**Ansprechpartner**

Prof. Dr. Matthias Schramm

**Kooperationspartner**

Friedrich-Loeffler-Institut

**Kurzportrait**

Das aviäre Influenza Virus (AI-Virus) zeichnet sich, wie alle Inflenzaviren, durch seine große genetische Varianz und die damit verbundene hohe Anpassungsfähigkeit aus. Es besteht jederzeit die Gefahr, dass das Virus hochvirulente Varianten hervorbringt, die nicht nur bei Vögeln, sondern auch bei Säugetieren und bei Menschen zu Epidemien führen.

Im geplanten Vorhaben soll ein heterosubtypischer Influenza Impfstoff entwickelt werden, der vakzinieren Tiere gleichzeitig gegen verschiedene Virusvarianten schützt. Mittels verschiedener, konservierter Virusantigene, die von abgeschwächten zugelassenen *Salmonella*-Impfstämmen exprimiert werden, soll eine breit angelegte humorale und zelluläre Immunität insbesondere aber eine mukosale Immunität in den vakzinieren Tieren gegen das Virus aufgebaut werden. Der Impfschutz sollte also an der Stelle maximal sein, an dem auch die AI-Virus Infektion erfolgt.

Ziel des Vorhabens ist, mittels eines immunogenen *Salmonella*-Impfstamms verschiedene *Salmonella*-Impfstammvarianten zu erzeugen, die ausgewählte konservierte Antigene vom AI-Virus in jeweils unterschiedlicher Zusammensetzung exprimieren. Neben einem bekannten konservierten Antigen, M2e, werden weitere konservierte Strukturen vom AI-Virus einzeln und in Kombinationen in vakzinieren Hühnern untersucht. Es wird ermittelt, welche *Salmonella*-Impfstammvarianten in der Lage sind, im Blut und Darm von geimpften Hühnern eine Immunantwort gegen das verwendete AI-Virusantigen auszulösen. Schließlich wird die Schutzwirkung der aussichtsreichsten *Salmonella*-Impfstammvarianten in vakzinieren Küken ermittelt.

Aus verschiedenen, für Legehennen zugelassenen lebend-attenuierten *Salmonella*-Impfstämmen konnte in vergleichenden Immunisierungsexperimenten in Küken ein stark immunogener *Salmonella*-Impfstamm für das Vorhaben ausgewählt werden. Dieser Impfstamm wurde daraufhin zur Expression des konservierten AI-Virus Antigens M2e erfolgreich umgerüstet. Hierbei wurden verschiedene Expressionssysteme eingesetzt und diese in Vakzinierungsexperimenten untersucht, um das wirksamste System für die Expression des M2e-Antigens ausfindig zu machen. Die oberflächige Expression des konservierten AI-Virus Antigens M2e zeigte sich am wirksamsten. Wurden Küken mit dieser *Salmonella*-Impfstammvariante immunisiert, konnte in diesen Antikörper gegen das Impfantigen festgestellt werden.

In nachfolgenden Schritten wurde die M2e-spezifische Immunogenität der exprimierenden Impfstammvariante gezielt verbessert. Die Stabilität des plasmidbasierten Expressionssystems konnte im Vergleich zur ersten Impfstammvariante wesentlich erhöht werden, so dass in den vakzinieren Küken viel mehr M2e-exprimierende *Salmonellen* überleben. Darüber hinaus wurde die Zusammensetzung des

bisherigen M2e-Antigens insofern verändert, dass dieses nunmehr aus mehreren Kopien des M2e-Antigens besteht und als chimäres Protein von dem Impfstamm produziert wird. Insgesamt wird von diesen Änderungen eine wesentliche Verbesserung der M2e-spezifischen Immunantwort erwartet, die in die Herstellung weiterer Varianten mit konservierten AI-Antigenen einfließen sollen.

Im Vorhaben konnte die erfolgreiche Vakzination von Küken mit dem konservierten AI-Virus Antigen M2e durch einen *Salmonella*-Impfstamm erstmals gezeigt werden. Die vakzinierten Küken bilden M2e-spezifische Antikörper. Die protektive Wirkung einer weiterentwickelten M2e-exprimierenden Impfstammvariante wird in Kürze untersucht. Darüber hinaus werden weitere *Salmonella*-Impfstammvarianten mit anderen konservierten AI-Virus Antigenen hergestellt und deren Schutzwirkung in Hühnern abgeklärt. Mit Hilfe der erzielten Daten soll ein neuartiges Impfantigen entwickelt werden, das mehrere konservierte Antigenstrukturen vom AI-Virus umfasst und, vermittelt durch einen immunogenen *Salmonella*-Impfstamm, eine Schutzwirkung in vakzinierten Tieren auslöst.

„Entwicklung innovativer Therapieverfahren für die Behandlung von Infektionen mit Influenzaviren“

„*Development of innovative therapies for the treatment of infections with influenza viruses*“

**FKZ**

28-1-32.005-06

**Laufzeit**

15.03.2007 – 15.03.2010

**Projektnehmer/Institution**

ViroLogik GmbH

**Ansprechpartner**

Prof. Dr. Schubert

**Kooperationspartner**

Friedrich-Loeffler-Institut

**Kurzfassung der Ergebnisse**

Im Rahmen des Forschungsvorhabens „Entwicklung innovativer Therapieverfahren für die Behandlung von Infektionen mit Influenzaviren“ wird der antivirale Effekt von Proteasom-inhibitoren (PIs) auf die Replikation von Influenza A Viren (IAV) untersucht und näher charakterisiert. In Zellkulturexperimenten wurde hierzu vor allem der bereits für onkologische Indikationen zugelassene PI Velcade™ (Bortezomib, PS-341) verwendet.

Erste Ergebnisse zeigen, dass Velcade™ eine antivirale Wirkung auf verschiedene IAV-Stämme ausübt, darunter auch ein hoch pathogenes H5N1 Isolat.

Unsere anfängliche Vermutung, dass die antivirale Wirkung auf einer Hemmung des Transkriptionsfaktors NF-κB beruht, hat sich nicht bestätigt. Die Behandlung von Zellen mit Velcade™ führte zu einer Aktivierung des Transkriptionsfaktors und nachfolgend zu einer erhöhten Transkription von NF-κB-abhängigen und durch Interferon induzierten Genen. Diese

Ergebnisse lassen vermuten, dass PIs durch die Induktion einer IFN-abhängigen, antiviralen Immunantwort die Zelle in einen antiviralen Zustand überführt. Diese Hypothese konnten durch Experimente in IFN-defizienten Zellen untermauert werden, in denen die Behandlung mit Velcade™ keine Hemmung der viralen Replikation zur Folge hatte.

Die Untersuchung einer neuartigen, von uns entwickelten Klasse PIs zeigte im Tier- und Zellkulturmodell klare positive Resultate bezüglich der Anwendbarkeit unserer Entwicklungssubstanz bei IAV-Infektionen. Nach Vernebelung der Substanz zeigte sich eine deutliche antivirale Wirkung bei sehr guter Verträglichkeit. Der Abfall des Virustiters um log-Stufen wurde sowohl für aviäre (H7N7), als auch humane IAV-Stämme (H1N1) beobachtet. Dieser deutliche antivirale Effekt der Substanz konnte in infizierten Lungenepithelzellen bestätigt werden, wo die virale Replikation ebenfalls um log-Stufen sank. Wirksame Konzentrationen unserer Substanz bewirkten keine unspezifischen toxischen Effekte.

## Innovatives Barriersystem gegen aviäre Influenza für die Freilandhaltung

### *Barrier system for avian influenza in free-range poultry farming*

#### **FKZ**

28-1-32.004-06

#### **Laufzeit**

1. 12. 2007 – 31. 08. 2010

#### **Projektnehmer/Institution**

Martin-Luther-Universität, Halle (MLU),  
Institut für Medizinische Mikrobiologie

#### **Kooperationspartner**

Bayerische Landesanstalt für  
Landwirtschaft, (LfL)

Technische Universität München (TUM),  
Lehrstuhl für Tierhygiene

Institut für Biologische Sicherheits-  
forschung GmbH, Halle (IBS)

#### **Ansprechpartner**

Kekulé, A.

Haidn, B.

Bauer, J.

#### **Kurzportrait**

Im Zusammenhang mit dem Auftreten der hoch pathogenen aviären Influenza wurde 2005 in einigen europäischen Ländern die Stallpflicht für Geflügel angeordnet. Ziel dieser Maßnahme ist es, die Übertragung der Krankheit von Wildtieren auf das Nutzgeflügel zu unterbinden. Auf den ersten Blick scheint dies eine einfache und zielführende Lösung zu sein. Für die Freilandhaltung von Geflügel stellen sich jedoch aus betriebstechnischen, rechtlichen, ökonomischen und tierethischen Gründen erhebliche Probleme.

Im vorliegenden Projekt soll ein Barriersystem für die Freilandhaltung entwickelt werden, das den Eintrag von aviären Influenzaviren in Bestände von Nutzgeflügel weitestgehend verhindert. Das Barriersystem soll Kontakte mit Wildtieren und deren Ausscheidungen

vermeiden, ohne dass auf die Freilandhaltung verzichtet werden muss.

Zu diesem Zweck wurden Freiland-Volieren für Hühner entwickelt, die den Kontakt zu Wildtieren, insbesondere Vögeln und Bodenräuber, verhindern. Die Volieren sind seitlich durch Metallnetze sowie einen Untergrabschutz und einen Elektrozaun gesichert. Nach oben ist der Auslauf durch ein Kunststoffnetz abgeschlossen. Nachts und bei Kälte sind die Hühner in einem Stall untergebracht, der ebenfalls gegen das Eindringen von Wildtieren abgesichert ist.

Die Barriersysteme werden derzeit an verschiedenen Standorten in Deutschland auf ihre Schutzwirkung überprüft und weiter entwickelt. Durch integrierte Personenschleusen wird das Risiko einer anthropogenen Einschleppung von Infektionserregern minimiert. Parallel dazu laufen Untersuchungen zur Prüfung von Konstruktionen, Einzäunungen und Abdeckungen und verschiedener Materialien. Weiterhin werden wirtschaftliche und betriebliche Aspekte untersucht wie Praktikabilität von Auf- und Abbau und Bewertung von Investitionen und laufenden Kosten.

Zur Prüfung der Schutzfunktion wurden zehn Versuchseinheiten, die jeweils aus einer Voliere mit Stall und dem entsprechenden Kontrollareal bestehen, an verschiedenen Standorten in Deutschland errichtet. Alle Versuchseinheiten werden in regelmäßigen Abständen über mindestens ein Jahr hinweg beprobt.

Fünf Versuchseinheiten dienen zur vergleichenden Erfassung des Eintrages organischer Matrix aviären Ursprungs. Hierzu wurden die Flächen mit Kunstrasen ausgelegt, der mit Geflügelattrappen bestückt ist. Der Eintrag von organischem Material aviären Ursprungs wird durch den quantitativen Nachweis eines „vogelspezifischen“ Gens (mitochondriales Cytochrom B) erfasst. Die Methode erwies sich als zuverlässig. Die Proben von 37 Vogelarten führten zu positiven Ergebnissen, die Untersu-

chung von Proben anderer Tierarten (n=23; u. a. Reptilien) verlief negativ. Zusätzlich wird ein Nukleinsäurenachweis von Influenza-A-Virus mittels real-time RT-PCR durchgeführt.

In den weiteren fünf Einheiten werden Sentinelherden zu je 25 Hühnern gehalten (SPF-Tiere, geimpft gegen Newcastle-Krankheit). Die Tiere werden laufend bakteriologisch und virologisch (Nachweis von Antikörpern und viralen Nukleinsäuren) untersucht. Hierbei dienen bei Hühnern häufig vorkommende, unter Wildtieren endemische Virusinfektionen (u.a. Influenza-A, Paramyxoviren) als Indikatoren für stattgehabte Kontakte der Versuchsherden zu Wildtieren. Ein selteneres Auftreten dieser „Markerviren“ bei den Versuchstieren im Barrieregehege im Vergleich zum Kontrollgehege wäre ein Hinweis für die Wirksamkeit der Barriere. Im bisher ausgewerteten Untersuchungszeitraum von drei Monaten konnten in den Blutproben noch keine Antikörper gegen die ausgewählten Markerviren nachgewiesen werden. In den Kloakentupferproben wurden für Geflügel typische Bakterienarten (z.B. *C. jejuni*, *E. coli*, *Enterococcus spp.*) gefunden.

Die Daten der geschützten bzw. ungeschützten Areale werden vergleichend analysiert und statistisch ausgewertet, um den beabsichtigten Schutzeffekt zu objektivieren.

Entwicklung eines diagnostischen Systems zur Entdeckung von West-Nile Virus Infektionen und Entwicklung eines gentechnischen Impfstoffes gegen diese Infektion.

*Development of a diagnostic system and a vaccine for West Nile Virus infections*

**FKZ**

28-1-32.003-06

**Laufzeit**

01.01.2007 – 31.12.2009

**Projektnehmer/Institution**

Fraunhofer Institut IZI

**Ansprechpartner**

Dr. Sebastian Ulbert

**Kooperationspartner**

Universität Leipzig  
Institut für Virologie, Veterinärmedizin  
Prof. Herrmann Müller

**Kurzfassung der Ergebnisse**

Das West-Nil-Virus (WNV) ist ein bekannter Krankheitserreger beim Menschen und bei vielen Tierarten, v.a. Pferden und verschiedenen Vogelspezies. Meist verursacht es grippeähnliche Symptome, aber in einigen wenigen Fällen kann es auch zu Myelitiden und Enzephalitiden mit Todesfolge kommen. Bis jetzt wurde das Virus in Deutschland noch nicht detektiert, obwohl viele angrenzende Länder betroffen oder sogar endemisch sind. Durch das rasante Ausbreiten von WNV in den USA mit hundert Todesfällen bei Menschen und aktuellen WNV-Nachweisen in Frankreich, Italien und Ungarn ist eine Erforschung des Virus sowie die Entwicklung von Impfstoffen und Diagnostika geboten. Durch das vermehrte Auftreten neuer bzw. bis vor kurzem in Deutschland und Europa nicht vorkommender Viren, wird auch der Epidemiologie des WNV immer mehr Aufmerksamkeit geschenkt.

In kürzlich vom Robert-Koch-Institut (RKI) veröffentlichten Studien, wurde das Vorkommen von WNV-spezifischen Antikörpern in Weissstörchen nachgewiesen. Das Virus selbst wurde allerdings nicht detektiert.

In unserer Studie wurde ein vom RKI entwickeltes, sehr sensitives und für alle Linien des WNV spezifisches real-time RT-PCR-Protokoll etabliert, um Tupferproben, die im Rahmen des aviären Influenza-Wildvogelmonitorings in verschiedenen Regionen Deutschlands gesammelt wurden, zu untersuchen. Eine vom Feldvirus zu unterscheidende Positivkontrolle wurde generiert und die PCR mit Hilfe einer Studie in Athens (Georgia, USA) für Tupferproben validiert. Diese Studie, bei der Tupferproben von vorher positiv auf WNV getesteten Vögeln untersucht wurden bewies, dass die PCR zuverlässig positive Oropharyngeal- und Kloakaltupfer detektiert.

Bisher wurden mit dieser PCR ca. 2000 Proben von 63 verschiedenen Vogelarten meist toter Vögel aus unterschiedlichsten Regionen Deutschlands untersucht. Alle Ergebnisse waren negativ. Demnach konnte WNV in Deutschland bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht nachgewiesen werden.

In einem weiteren Projektteil wird ein Impfstoff entwickelt, der zunächst Pferde vor einer WNV Infektion schützen soll und dann auch auf andere Säugetiere ausdehnbar ist. Hierbei werden die Technik der DNA-Vakzinierung und Protein-Impfungen angewandt. Nukleinsäuren, welche für strukturelle Proteine von WNV codieren, wurden in speziell für DNA-Vakzinen entwickelte und optimierte Plasmide eingebaut. Die daraus resultierenden Impfvektoren wurden in vitro und in vivo auf Antigenexpression und Immunogenität hin untersucht. Ein vielversprechendes Impfplasmid konnte entwickelt werden, welches zur Zeit in Protektionsstudien eingesetzt wird. Darüber hinaus wurden neuartige Nanopartikel zum Einbringen von Impfplasmiden in Zellen eta-

bliert. Diese bestehen aus einem kationischen Polymer und aus körpereigenen Proteinen. Die Nanopartikel führen zu einer hohen Transfektionsrate in vitro bei äußerst geringer Toxizität. Zur Zeit werden sie auf Funktionalität in vivo untersucht.

Desweiteren soll ein diagnostischer Biomarker für eine Infektion mit WNV etabliert werden.

Dies geschieht zum einen über spezifische Nachweise bestimmter Nukleinsäuren, zum anderen über serologische Tests mit rekombinanten Antigenen. Dabei bedienen wir uns eines neuen Verfahrens zur Proteinexpression und -Reinigung, welches auf einer tandem-affinity-Strategie beruht.

Einsatz von Bakteriophagen zur quantitativen Senkung der *Campylobacter*-Belastung von Masthähnchen („CAMPYQUANT)

*Application of bacteriophages for quantitative reduction of Campylobacter in broiler chickens*

**FKZ**

28-1-61.001-07

**Laufzeit**

01.02.2008 – 31.01.2011

**Projektnehmer/Institution**

Bundesinstitut für Risikobewertung

**Ansprechpartner**

Dr. Stefan Hertwig

Prof. Dr. Thomas Alter

**Kooperationspartner**

Congen Biotechnologie GmbH

Dr. Matthias Kuhn

**Kurzfassung der Ergebnisse**

Infektionen mit thermophilen *Campylobacter* (*C.*)-Spezies (insbesondere *C. jejuni*) sind eine der häufigsten Ursachen für bakteriell bedingte Magen-Darm-Erkrankungen beim Menschen. Im Jahr 2005 übertrafen die in Deutschland gemeldeten humanen *Campylobacter*-Infektionen (64.590) erstmalig die Zahl der durch Salmonellen hervorgerufenen Erkrankungen.

Thermophile *Campylobacter*-Spezies sind in der Umwelt weit verbreitet. Besonders hohe Zahlen findet man im Darm warmblütiger Tiere, wo die Bakterien jedoch nur selten klinische Symptome hervorrufen. Als eine der Hauptursachen für *Campylobacter*-Infektionen beim Menschen wird die Aufnahme dieser Bakterien über Lebensmittel tierischer Herkunft betrachtet. Infektionsquellen sind hier vor allem unzureichend erhitztes oder rekontaminiertes Geflügelfleisch und Geflügelfleischprodukte. Die Geflügelbestände sind hochgradig mit *Campylobacter* kolonisiert. Diese Gegebenheiten machen es dringend erforderlich, geeig-

nete Strategien zur Prävention und Kontrolle von *Campylobacter* in der Lebensmittelkette zu entwickeln. Neben anderen Maßnahmen stellt der Einsatz von Bakteriophagen (Phagen) ein vielversprechendes Mittel dar, die *Campylobacter*-Belastung im Tier und in Lebensmitteln quantitativ zu senken. Phagen sind Viren, die ausschließlich Bakterien befallen. Sie besitzen ein begrenztes Wirtsspektrum und infizieren in den meisten Fällen nur Stämme einer Spezies. Berechnungen gehen davon aus, dass es auf der Erde zehnmal so viele ( $10^{31}$ ) Phagen gibt als Bakterien. Deshalb nimmt der Mensch auch jeden Tag viele Phagen mit der Nahrung auf.

*Campylobacter*-spezifische Phagen wurden früher häufig zur Typisierung der Bakterien verwendet. Für die Bekämpfung von *Campylobacter* wurden insbesondere in England Phagen mit einem breiteren Wirtsspektrum isoliert. Interessanterweise zeigten fast alle bis jetzt isolierten *Campylobacter*-Phagen eine ähnliche Morphologie und konnten entsprechend ihrer Genomgrößen in drei Gruppen eingeteilt werden. Genauere molekulargenetische Daten oder DNA-Sequenzen von *Campylobacter*-Phagen wurden bis jetzt nicht publiziert.

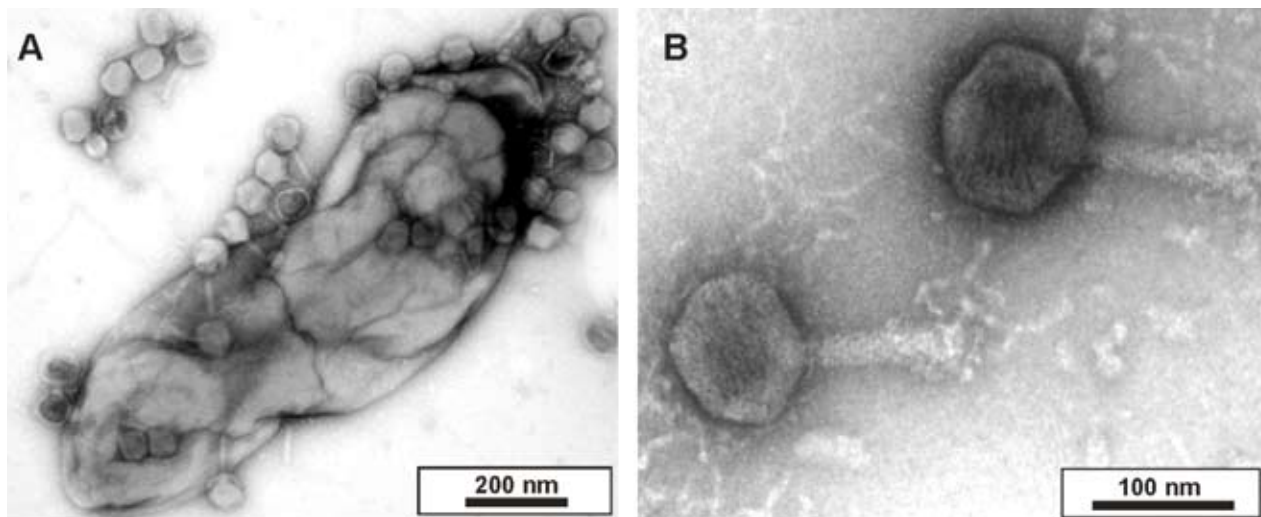
Aus England und den Niederlanden liegen jedoch bereits Studien vor, bei denen Hühnern zur Keimzahlreduktion von *Campylobacter* Phagen verabreicht wurden. Die Versuche ergaben, dass die Gabe von Phagen die Kolonisierung der Hühner mit *Campylobacter* zwar nicht verhindern konnte, dass es aber stets zu einer Reduzierung der Keimzahl kam. Resistenzen gegenüber den verabreichten Phagen traten nur sehr begrenzt auf. Neben Studien am lebenden Tier wurden auch erfolgreich Versuche unternommen, die Keimzahl von *Campylobacter* auf der Haut von Hühnerfleischprodukten zu senken.

Da in Deutschland bis jetzt leider keine Daten über Phagen von *Campylobacter* und ihrer Verwendung zur Bekämpfung dieser Bakterien vorliegen, soll im Projekt „Campyquant“ das Potential von *Campylobacter*-Phagen zur Keimzahlreduktion untersucht werden. Da-

rüber hinaus soll eine Methode zur exakten Bestimmung der Zahl an Bakterien und Phagen entwickelt werden.

Zunächst wurde damit begonnen, *Campylobacter*-spezifische Phagen aus Hühner- und Umweltproben zu isolieren. Hierbei zeigte sich, dass *Campylobacter*-positive Proben deutlich häufiger (bis zu 50 %) Phagen enthalten. Allerdings mussten wir feststellen, dass Proben der gleichen regionalen und zeitlichen Herkunft oft sehr ähnliche oder identische Phagen enthielten. Der Nachweis hierfür wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchungen sowie der Bestimmung der Wirtsspektren und der Restriktionsmuster der isolierten Phagen erbracht. Morphologisch gehören alle von uns isolierten Phagen der Familie *Myoviridae* an (Abb. 1). Sie infizieren ausschließlich *C. jejuni*, wobei jeweils nur eine begrenzte Zahl unterschiedlicher Stämme von den Phagen lysiert werden. Um erste Erkenntnisse über das Genom von *Campylobacter*-Phagen zu erhalten, haben wir von einem unserer Phagen (CP81, Abb. 1B) die gesamte Nukleotidsequenz (132.454 bp) bestimmt. Die bioinformatische Auswertung des Genomes zeigte, dass der Phage CP81 zur Gruppe der T4-ähnlichen Phagen gehört, wobei die engste Verwandtschaft zu Phagen mariner Bakterien (*Prochlorococcus*, *Synechococcus*) besteht.

In den folgenden Arbeiten sollen zunächst weitere *Campylobacter*-Phagen isoliert und charakterisiert werden. Mit Hilfe neuer Phagen soll das Spektrum an sensitiven *Campylobacter*-Stämmen erweitert werden. Es werden dann einzelne Phagen ausgewählt, mit denen kinetische Untersuchungen zur Phagenvermehrung durchgeführt werden. Am Ende des Projektes sollen Infektionsversuche mit Hühnern vorgenommen werden, um zu überprüfen, ob sich die laborexperimentellen Ergebnisse im Tier bestätigen lassen.



**Abb. 1:** Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von *Campylobacter*-Phagen. (A) *Campylobacter*-Zelle, die von Bakteriophagen infiziert wird. (B) Phage CP81 (Negativkontrastierung mit Uranylacetat).



# Innovationen im Bereich Tiergesundheit

Insektizidbehandelte Netze zur Bekämpfung von tiermedizinisch bedeutenden Vektorensuchen

*Insecticide-treated nets for controlling vector-borne diseases of veterinary relevance*

**FKZ**

28-1-33.017-07

**Laufzeit**

01.03.2008 – 28.02.2011

**Projektnehmer/Institution**

Freie Universität Berlin,  
Fachbereich Veterinärmedizin

Institut für Parasitologie und  
Tropenveterinärmedizin

**Ansprechpartner**

PD Dr. Peter-Henning Clausen

**Kooperationspartner**

Freie Universität Berlin

Humboldt-Universität zu Berlin

Rökona Textilwerk GmbH

Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.

**Einleitung**

Seit dem erstmaligen Auftreten der Blauzungenkrankheit in Deutschland im August 2006, einer verlustreichen durch Gnuten übertragenen Virusinfektion der Wiederkäuer, gibt es Bemühungen zur Kontrolle dieser Krankheit. Behandlungen gefährdeter Tiere mit Insektiziden ergeben keinen ausreichenden Schutz; Massenimpfungen schützen nur vor serotypspezifischen Varianten des Erregers. Im Rahmen eines Verbundvorhabens sollen insektizidbehandelte Netzzäune zum Schutz wertvoller Zuchttiere und zur Bekämpfung der Vektoren erprobt und weiterentwickelt

werden. Vorherige Erfahrungen mit dieser Methode resultierten in deutlichen Reduktionen verschiedener Vektoren (Insekten). Behandelte Netze werden im Feld und im Labor untersucht. In Zusammenarbeit mit Verbund- und anderen Kooperationspartnern wird weiterhin eine Bewertung der Auswirkung insektizidhaltiger Netze auf das Wohlbefinden und die Produktivität der Tiere sowie auf die Umwelt, einschließlich Nicht-Zielinsekten vorgenommen.

**Material & Methoden**

Die mit Insektizid behandelten Netze wurden im Jahre 2008 sowohl im Feld als auch im Labor getestet. Bei den Feldversuchen wurde einerseits auf zwei Milchviehbetrieben im Bundesland Brandenburg je ein Stall durch ein mit Deltamethrin ausgerüstetes Polyesternetz der Maschenweite 2 x 2 mm geschützt (Fenster und Tore). Andererseits wurden Kälbergruppen in „Iglus“ mit einem Lambda-Cyhalothrin-haltigen Polyesternetz der Maschenweite 1,6 x 1,7 mm umzäunt. Dabei wurde eine Versuchseinheit mit 5 Kälbern vollständig (mit Dach), eine weitere 2 m hoch vernetzt. Ebenso wie bei den Milchviehanlagen gab es auch eine ungeschützte Kontrolleinheit, welche sich auf dem gleichen Gelände befand. Die Insektenfänge erfolgten mittels Biogents Sentinel UV-Lichtfallen®. Zur Überprüfung der biologischen Wirksamkeit des Netzes wurden vor der Ausbringung und dann im vierwöchigen Abstand Netzproben auf den Betrieben entnommen. Im Labor wurden die Untersuchungen mit Hilfe der Testinsekten *Musca domestica* und *Culicoides nubeculosus* durchgeführt (bio-assay). Die Testung von *M. domestica* erfolgte in der Fly-Box®. Diese Box war mit der entsprechenden Netzprobe ausgekleidet. Nach einer 10-sekündigen Exposition wurden die Paralyseraten in bestimmten Zeitabständen erhoben. Ein ähnliches Verfahren kam bei der Testung mit

*C. nubeculosus* zum Einsatz. Für die Beurteilung der biologischen Wirksamkeit der Netze wurde der T-50-Wert (Zeitpunkt, zu dem 50% der Testinsekten paralysiert sind) bestimmt.

### **Ergebnisse**

Die auf den Betrieben verwendeten Netze zeigten im bio-assay eine gute biologische Wirksamkeit über einen Zeitraum von 5 Monaten. Zum Ende der Untersuchungen ließ sich auf Grund von Verschmutzungen des Netzes bei beiden Testinsekten ein Anstieg des T-50 und damit ein scheinbarer Wirkungsverlust nachweisen. In weiterführenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung der Wirkstoffkonzentration und die Verwendung von emulgiertem Deltamethrin (im Gegensatz zu einer verkapselten Formulierung des gleichen Wirkstoffs) zu einem schnelleren Wirkungseintritt bei beiden Testspezies führte. Bei der Wirksamkeitsprüfung verschiedener Insektizide (Lambda-Cyhalothrin, Deltamethrin) zeigte der Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin den schnellsten Wirkungseintritt und damit die größte biozide Wirksamkeit.

Auf den Milchviehanlagen ergab der Schutz durch Netze am Interventionsstall keine nachhaltige Reduktion der Fliegen- und Gnitzenzahlen. Auch gab es bei den Kühen im Interventionsstall nicht weniger Abwehrbewegungen als bei den Kühen im Kontrollstall. Ebenso konnte kein Einfluss der Vernetzung auf die Milchleistung festgestellt werden. Bei den geschützten Kälbereinheiten waren Unterschiede sowohl in den vollständig als auch teilweise vernetzten Einheiten zu verzeichnen, die auf eine Reduktion von Fliegen und Gnitzen hinwiesen. Die in den geschützten Einheiten gehaltenen Kälber zeigten signifikant weniger Abwehrbewegungen.

Die Intervention hatte keinen Einfluss auf den Deltamethringehalt im Tränkewasser oder in den untersuchten Sammelmilchproben. Unter den Netzen entnommene Bodenproben wiesen nur sehr geringe Belastungen mit Deltamethrin auf. Auffällig waren die relativ

hohen Belastungen von Kotproben auf einem Kontrollbetrieb, die möglicherweise zeitlich korreliert mit einer topikalen Applikation von Deltamethrin der Tiere (nicht versuchsbedingt) zurückzuführen ist.

### **Vorläufige Schlussfolgerungen**

Verantwortlich für die noch nicht befriedigende Wirkung der Netze im Feld in 2008 erscheinen eine nachgewiesene Resistenz bzw. Toleranz der Fliegenpopulationen auf den Milchviehanlagen gegenüber dem Pyrethroid Deltamethrin, die Zunahme der Verschmutzung der Netze zum Saisonende und die daraus resultierende Maskierung des Wirkstoffes sowie die für Gnitzen wohl zu große Maschenweite. Die Untersuchungen in 2009 sollen zu einer weiteren Optimierung der Netze in Hinsicht auf Maschenweite und Insektizidgehalt führen. Darüber hinaus wird vor dem Hintergrund der ermittelten hohen Toleranz von Fliegen gegenüber Deltamethrin ein zusätzlicher insektizidfreier Ansatz mit einer innovativen Fangkonstruktion für Insekten in die Untersuchungen eingeschlossen. Erhebungen zur Akzeptanz bei Zielgruppen und die Vermarktung eines Netzprototyps im Rahmen einer „Public-Private-Partnership“ sind für das kommende Jahr vorgesehen.

## Entwicklung eines Impfstoffes zur Prophylaxe der Chlamydiose des Rindes

### *Development of a vaccine for prophylaxis of chlamydiosis in cattle*

#### **FKZ**

28-1-34.001-07

#### **Laufzeit**

04.03.2008 – 28.02.2010

#### **Projektnehmer/Institution**

IDT Biologika GmbH

#### **Ansprechpartner**

Prof. Dr. H.-J. Selbitz

Frau A. Rüdiger

Dr. B. Hundt

#### **Kooperationspartner**

Friedrich-Loeffler-Institut

Institut für molekulare Pathogenese

#### **Kurzfassung der Ergebnisse**

Eine Häufung von unspezifischen Symptomen in Rinderbeständen, wie vermehrtes Auftreten von Aborten, Fruchtbarkeitsstörungen, erhöhte Zellzahlen in der Milch, Augen- oder Gelenkentzündungen, können Hinweise auf eine Erkrankung sein, die durch Bakterien der Familie Chlamydiaceae hervorgerufen werden. Bei der Chlamydiose des Rindes kommen die Bakterienarten *Chlamydophila (C.) abortus*, *C. pecorum* und *C. psittaci* als Erreger vor. Die Erreger sind unbewegliche, gramnegative Bakterien, die sich obligat- intrazellulär vermehren und als potenziell humanpathogen einzustufen sind. Bei Untersuchungen von 100 zufällig ausgewählten milchviehhaltenden Betrieben Nordrhein-Westfalens konnte auf Betriebsebene eine Prävalenz von 61% ermittelt werden (Sauerwein, 2008).

Im Jahr 2008 wurde in der IDT Biologika GmbH mit den Arbeiten zur Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Chlamydiose des Rindes begonnen. Ein Impfstoff gegen diese Erkrankung des Rindes ist in Deutschland nach wie vor nicht verfügbar. Bestandsspezifische Impfstoffe

können auf Grund des hohen Arbeitsaufwands sowohl bei der Anzüchtung der Erregerstämme als auch der Antigenproduktion in bebrüteten Hühnereiern oder auf Zellkulturen für geringe Tierzahlen je Bestand nicht effizient hergestellt werden.

Die Entwicklung eines Tierimpfstoffes ist eng mit einer Vielzahl von Gesetzen und Richtlinien verbunden. Sie ist in folgende Phasen einzuteilen: Entwicklung eines großtechnischen Herstellungsverfahrens unter Berücksichtigung der Qualität der Ausgangsstoffe, der Verwendung eines Seed- Lot- Systems, der Entwicklung der Prüfmethode und der Prüfung der Stabilität des Impfstoffes; Prüfung der Verträglichkeit und Prüfung der Wirksamkeit.

Die Entwicklung des inaktivierten Impfstoffes gegen die Chlamydiose des Rindes in der IDT Biologika GmbH soll auf Basis der MUMS (Minor Uses Minor Species)- Richtlinien der EMEA erfolgen.

#### **Entwicklung des Herstellungsverfahrens**

Vor der Entwicklung des Herstellungsverfahrens wurde in Zusammenarbeit mit dem FLI Jena untersucht, welche Erregerart unter Praxisbedingungen epidemiologisch eine große Rolle spielt. Unter Einbeziehung dieser Ergebnisse wurde die Stammauswahl für den Impfstoff getroffen. Das Herstellungsverfahren wurde entwickelt und wird gegenwärtig optimiert. Es ist unter Technikumsbedingungen bis zum 25 L Maßstab stabil und effizient umsetzbar. Die Überführung in die Routine-Produktion sowie die Herstellung von Validierungschargen stehen noch aus. Alle Ausgangsstoffe sind zur Herstellung des Impfstoffes unter GMP-Bedingungen freigegeben. Die Kultivierung erfolgt auf der adhärenz Zellkultur der permanenten BGM- Zelle unter Nutzung eines Minimalmediums. Die notwendigen Seed Lots der Zelle sind hergestellt und geprüft. Die Master Seed des Antigens *C. pecorum* konnte ebenfalls hergestellt werden und wird gegenwärtig noch geprüft.

Die Entwicklung der Prüfmethode ist noch nicht abgeschlossen. Es werden Arbeiten zur Entwicklung eines Batch Potency Tests als Endproduktprüfung zur Chargenfreigabe durchgeführt. Gleichzeitig wird an der Validierung der Methode zum Nachweis des Antigengehaltes mit Hilfe der qPCR sowie am Inaktivierungsnachweis gearbeitet.

Nach Abschluss der Methodenentwicklung und ihrer Validierung können die Validierungschargen hergestellt werden.

Seit 2007 werden durch den TGD Nordrhein-Westfalen (TGD NRW) auf Basis einer Ausnahmegenehmigung in der IDT Biologika GmbH hergestellte Versuchsmuster in den dortigen Rinderbeständen eingesetzt. Diese Muster konnten schon in orientierende Untersuchungen zur Stabilität einbezogen werden. Erste Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine zweijährige Stabilität des Impfstoffes nachgewiesen werden kann.

#### **Prüfung der Verträglichkeit und der Wirksamkeit des Impfstoffes**

Seit 2008 erfolgt der Einsatz der Muster ebenfalls über den TGD NRW jedoch mit Betreuung der IDT Biologika GmbH. Parallel begann die IDT Biologika mit der Suche nach eindeutig Chlamydien-positiven Rinderbeständen zum gezielten Nachweis der Verträglichkeit und Wirksamkeit des Impfstoffes in Form von kontrollierten Feldversuchen unter eigener Kontrolle. Im April 2009 konnten wir mit einem orientierenden Vorversuch mit ca. 200 Tieren in einem Bestand in Sachsen-Anhalt beginnen.

Erste Ergebnisse liegen vor. Diese bestätigen die gute Verträglichkeit des Impfstoffes. Es trat zu keinem Untersuchungszeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Körperinnentemperaturen der Gruppen auf.

Zur Überprüfung der Wirksamkeit wird die klinische Situation zwischen den zwei Gruppen verglichen. Die Festlegung der Wirksamkeit-

parameter ist, begründet durch die Klinik der Erkrankung, nicht einfach. Es werden folgende Parameter betrachtet: Aborte und Totgeburten, Günstzeit und die Anzahl der Besamungen für das Einzeltier am Ende des Versuches, Zellzahlen in der Milch der laktierenden Kühe und die Milchmenge in kg aus regelmäßigen Milchleistungsprüfungsberichten. Die Beobachtungsphase des Versuches ist geplant, bis die Kühe nach Abkalbung und erneuter Belegung als tragend eingestuft werden können und das erste Drittel der neuen Laktation beendet haben, was einem Zeitraum von weit über einem Jahr entspricht.

Der Wirksamkeitsnachweis für die Zulassung ist an den Validierungschargen zu erbringen.

#### **Ausblick**

Die Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Chlamydiose des Rindes weist einige Besonderheiten im Vergleich zu anderen bakteriellen Impfstoffentwicklungen auf. Zu ihnen gehören das Wachstum in einer Zellkultur, die Schwierigkeit der Festlegung der Wirksamkeitskriterien und die lange Dauer von Feldversuchen zur Untersuchung der Wirksamkeit.

„Frühdiagnostik von Infektionen mit *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) bei Rindern“

„*Early diagnosis of infection with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) in cattle“

**FKZ**

28-1-32.006-06

**Laufzeit**

01.04.2007 – 30.06.2010

**Projektnehmer/Institution**

Justus-Liebig-Universität Gießen,  
Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde des Fachbereiches  
Veterinärmedizin sowie  
Klinik für Wiederkäuer und Schweine  
(Innere Medizin und Chirurgie) und  
Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere

**Ansprechpartner**

Prof. Dr. med. vet. Klaus Doll  
Prof. Dr. med. vet. Rolf Bauerfeind  
Prof. Dr. M. Bülte

**Kooperationspartner**

Friedrich-Loeffler-Institut,  
Institut für molekulare Pathogenese  
PD Dr. med. vet. Christian Menge  
TransMIT GmbH Gießen und Marburg

**Kurzfassung der Ergebnisse**

MAP ist das ätiologische Agens der Paratuberkulose der Wiederkäuer, einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung, die weltweit verbreitet und unheilbar ist. Aufgrund der vergleichbaren pathomorphologischen Veränderung der beim Menschen als Morbus Crohn (MC) bezeichneten chronisch entzündlichen Darmerkrankung wurde bereits zu Beginn des vorigen Jahrhunderts der Verdacht geäußert, dass Mykobakterien auch bei dieser Erkrankung eine Rolle spielen.

Im Rahmen der Entwicklung und Validierung von Nachweisverfahren für eine frühzeitige Diagnostik einer MAP-Infektion bei Kälbern wurden drei Longitudinalstudien (L1-L3) an Kälbern sowie verschiedene Kohortenstudien an Rindern und Kälbern vorgesehen. Die Rekrutierung der ersten sechs Versuchskälber (L1; negative Kontrollgruppe) gelang, nachdem sich vier von 16 Milchviehbetrieben serologisch, mikrobiologisch-kulturell und molekularbiologisch als MAP-unverdächtig einstufen ließen. Diese Betriebe dienten – nach erneuter Kontrolle – gleichermaßen für die Rekrutierung der Milchkälber für die L2- und die L3-Studie (Infektionsgruppen).

Sämtliche Kälber dieser beiden Gruppen konnten mit einer definierten Menge des hinsichtlich Identität, Vermehrungsfähigkeit und Reinheit überprüften Infektionsstammes MAP-K10 (BAA-968) erfolgreich infiziert werden. Bei allen Kälbern konnte zu dem jeweils in der Versuchsplanung festgelegten Zeitpunkt entsprechendes Probenmaterial (Lymphknotenbiopate, Kotproben, Blutproben) zur Untersuchung entnommen werden.

Sämtliche, bis zum jetzigen Zeitpunkt erfolgten Operationen zur Entnahme von Lymphknotenbiopaten verliefen ohne intra- und postoperative Komplikationen. Die Untersuchungen der L1- ebenso wie der L2-Gruppe sind überwiegend abgeschlossen. Alle Kälber der Kontrollgruppe erwiesen sich mit allen Verfahren (Anzucht, Real time-PCR, ELISA) als MAP-negativ. Von den sechs Kälbern der L2-Studie erwiesen sich alle mit der Real time-PCR und in der kulturellen Anzucht bei der Untersuchung von Biopateproben ab dem 90. Tag *post infectionem* als positiv.

Zum Nachweis MAP-spezifischer Immunglobuline wurde ein von Eda et al. (2005) beschriebenes, auf der Durchflusszytometrie (DFZM) basierendes Verfahren weiter entwickelt und geprüft. Die von uns etablierte DFZM-Methode erzielte die besten Resultate, wenn die Serumproben mit *M. phlei* präadsorbiert, IgG<sub>1</sub> gemes-

sen und die Messwerte über die Messdaten der MAA-Ansätze normalisiert wurden. Betrachtet man die Kotuntersuchung als Goldstandard, so wies die DFZM-Methode an adulten Rindern bei einer Spezifität von 100% eine Sensitivität von 83% auf, während der kommerziell verfügbare Pourquier-ELISA bei gleicher Spezifität nur zu 61% sensitiv war. Die infizierten Kälber der L2-Studie reagierten bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt (9. bzw. 12. Lebensmonat) in diesem Test sowie im ELISA allerdings stets negativ. Aufgrund der höheren Sensitivität bei gleichbleibend hoher Spezifität kann die neue DFZM-Methode dennoch geeignet sein, die serologische MAP-Diagnostik zumindest bei adulten Rindern zu verbessern.

Zur Erfassung einer MAP-spezifischen zellulären Immunreaktion wurden verschiedene antigenstimulierte T-Zellpopulationen aus Blutproben mit der DFZM analysiert. MAP-spezifische T-Zellen waren am besten zu erkennen, wenn die  $\gamma$ -IFN-Menge in CD4+ Zellen oder die CD25-Expression auf CD4+/CD45RO+ Zellen als Indikatoren genutzt wurden. Während alle Kälber der L1-Studie (Kontrolltiere) in diesen Tests negativ reagierten, überschritten die Werte aller infizierten Kälber der L2-Studie den Cutoff frühestens ab der 8. und spätestens ab der 20. Woche *post infectionem*. Im Vergleich zur DFZM-basierten Methodik lieferte der modifizierte Bovigam®-Test häufiger falsche oder nicht auswertbare Ergebnisse. Sollte sich die DFZM-basierte T-Zellen-Analyse im Feld bewähren, könnte sie zu einem wichtigen Instrument der MAP-Frühdiagnostik werden.

## Entwicklung eines Rotlaufimpfstoffes für Geflügel

### *Development of a vaccine against Erysipelas in Poultry*

#### **FKZ**

28-1-34.003-07

#### **Laufzeit**

01.09.2008 – 30.08.2010

#### **Projektnehmer/Institution**

Lohmann Tierzucht GmbH

#### **Ansprechpartner**

Dr. Hans C. Philipp

Dr. Christa Ewers

#### **Kooperationspartner**

Freie Universität Berlin

Fachbereich Veterinärmedizin

Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen

#### **Kurzfassung der Ergebnisse**

Mit der sukzessiven Zunahme alternativer Haltungssysteme in der Geflügelindustrie, die mit dem Verbot der herkömmlichen Käfighaltung ab dem 1. Januar 2012 (Richtlinie 1999/74/EG) ihren Höhepunkt finden wird, sehen wir uns mit neuen bzw. wieder aufkeimenden infektionsmedizinischen Problemen konfrontiert. Ohne die positiven Auswirkungen derartiger Haltungssysteme in Abrede stellen zu wollen, sind die Tiere zukünftig auch höheren hygienischen Belastungen und einem dauerhaften Infektionsdruck ausgesetzt. Dies ist u.a. an einem signifikanten Anstieg von Rotlaufkrankungen beim Geflügel in den letzten Jahren festzumachen. Da die Bekämpfung dieser durch *Erysipelothrix rhusiopathiae* verursachten Infektionskrankheit insbesondere bei Legehennen erhebliche Therapielücken und Prophylaxenotstände aufweist, wurde das vorliegende Projekt initiiert.

Das Ziel des Projektes, die Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Rotlaufkrankung beim Geflügel, setzt voraus, dass fundierte Kenntnisse über die Epidemiologie des bakteriellen

Erregers vorliegen. Daher wurde am Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen (IMT) zunächst eine Stammsammlung angelegt, die derzeit 123 *E. rhusiopathiae*-Isolate, die im Wesentlichen von Dr. Hans Philipp akquiriert wurden, umfasst. Diese phänotypisch identifizierten Stämme wurden über einen Zeitraum von 10 Jahren vor allem von an Rotlauf erkranktem bzw. verendetem Geflügel isoliert. Ein Großteil der Isolate stammt aus Deutschland, weitere Stämme wurden in Österreich, Schweden sowie Dänemark isoliert. Mittels Multiplex-PCR wurde die Spezies-Zugehörigkeit der phänotypisch identifizierten Isolate bestimmt, wobei 121 Isolate der pathogenen Spezies *E. rhusiopathiae* und zwei der nicht pathogenen Spezies *E. tonsillarum* zugeordnet werden konnten. Des Weiteren wurde eine Multiplex-PCR etabliert, die folgende virulenzassoziierte Gene gleichzeitig nachweist: *spaA* (Oberflächenprotein), *ewlA* (Adhäsion-Homolog), *nanH* (Neuraminidase) sowie ein Kapselgen. Alle vier genannten Gene ließen sich in den *E. rhusiopathiae*-Stämmen, jedoch nicht in einem *E. innopinata*-Referenzstamm nachweisen, was nicht nur die pathogenetische Bedeutung dieser Faktoren, sondern auch die Homogenität innerhalb der Gruppe der pathogenen Isolate widerspiegelt. In den *E. tonsillarum*-Isolaten konnte lediglich *ewlA* detektiert werden. Diese Multiplex-PCR soll vor dem Hintergrund des bereits in Teilen annotierten Genoms eines *E. rhusiopathiae*-Stammes um weitere virulenzassoziierte Gene erweitert und als diagnostische PCR sowie zur epidemiologischen Typisierung der *Erysipelothrix*-Stämme genutzt werden.

Um nähere Einblicke in das Verwandtschaftsverhältnis der bakteriellen Spezies zu erhalten wurden sämtliche Isolate mit den Restriktionsendonukleasen *SmaI* und *ApaI* verdaut und anschließend in der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) untersucht. Die Auswertung mithilfe des Computerprogramms BioNumerics ergab folgendes: zum einen konnten Stämme identifiziert werden, die eine 100%-ige Übereinstimmung zeigten und somit Klone darstellen. Zum anderen ließen sich die Stämme in zwei Cluster mit einer Ähnlichkeit von ca. 60% einordnen.

Dies spricht zunächst für eine hohe Diversität der geflügelpathogenen *E. rhusiopathiae*-Isolate. Die Anwendung distinkterer Typisierungsverfahren (z.B. Multilokus-Sequenztypisierung), die bereits für andere Infektionserreger, wie *E. coli*, Salmonella u.a. etabliert sind, wird eine Abbildung der tatsächlichen phylogenetischen Verwandtschaft zeitlich und geographisch weit auseinander liegender Isolate ermöglichen sowie einen Vergleich mit den PFGE-Daten erlauben. Zum jetzigen Zeitpunkt bieten jedoch beide Untersuchungsergebnisse, sowohl die Virulenztypisierung als auch die PFGE, die Grundlage für die Auswahl geeigneter Kandidaten für die tierexperimentellen Versuche.

Ein weiteres Ziel unserer Arbeit ist die Typisierung des Oberflächenproteins Spa (surface protective antigen), das v.a. bei Isolaten vom Schwein als hoch immunogen beschrieben wird. Mittels PCR wurde das ca. 1.900 bp große *spa*-Gen der geflügelpathogenen Isolate amplifiziert und anschließend zur Identifizierung der drei bekannten Molekül-Klassen SpaA, SpaB und SpaC restringiert (*HhaI*). In allen *E. rhusiopathiae*-Isolaten konnte lediglich *spaA* nachgewiesen werden, Restriktionsmuster und Sequenzanalyse des *spaA* von bislang 58 Isolaten erlaubten den Nachweis verschiedener Varianten dieses Gens, die sich in bis zu 40 bp voneinander unterscheiden. Die Sequenzdaten werden derzeit für phylogenetische Untersuchungen genutzt und bilden ebenso die Basis für die Auswahl von Impfstoffkandidaten.

Im Hinblick auf die Entwicklung einer Subunit-Vakzine als Alternative zur Ganzzellvakzine wird darüber hinaus die immunogene Wirkung des SpaA-Proteins überprüft. Zu diesem Zweck wurden *spaA*-Gen-Varianten in Expressionsvektoren kloniert und in den *E. coli* K-12-Stamm BL21 $\lambda$ 3 transformiert (*E. coli* BL21 [*pGEX-6P-1:spaA*]). Derzeit wird die Expression des Oberflächenproteins überprüft. Perspektivisch wird in Immunisierungsversuchen die Protektivität von SpaA getestet.

Der Arbeitsschwerpunkt des Projektteilnehmers Lohmann Tierzucht GmbH (LTZ) liegt

neben der weiteren Charakterisierung der Stämme (Serotypisierung) in der Optimierung eines Herstellungsverfahrens für Rotlauf-Impfstoffe sowie in der Etablierung Antikörper-basierter Testsysteme, die zur Überprüfung der Wirksamkeit potentieller Impfstoffe angewendet werden sollen. Entsprechende Arbeiten wurden parallel zu o. g. molekularbiologischen Arbeiten durchgeführt.

Durch die vollständige Inbetriebnahme einer Fermentationsanlage ist die parallele Fermentation von zwei Ansätzen mit einer Ausbeute von bis zu 109 KBE/ml möglich. Durch Optimierung der Anzuchtbedingungen (O<sub>2</sub>-Zufuhr, pH-Wert, etc.) ist in Zukunft eine noch höhere Ausbeute zu erwarten. Die durch Fermentation vermehrten *E. rhusiopathiae*-Isolate wurden mittels Formalin inaktiviert und anschließend als Wasser-in-Öl-Emulsion formuliert. Die Verträglichkeit der inaktivierten Impfstoffe konnte nach einem standardisierten Immunisierungsschema an je fünf Junghennen sehr gut gezeigt werden. Die entsprechenden Seren wurden bereits im Agargel-Präzipitationstest (AGPT) sowie mittels ELISA untersucht bzw. stehen für weitere Arbeiten im Rahmen des Projektes in größeren Mengen zur Verfügung.

Zur Wirksamkeitsprüfung des avisierten Impfstoffes wurde entsprechend der Methode nach Cussler et al. (2001) Antigen aus einem geflügelpathogenen *E. rhusiopathiae*-Isolat gewonnen und zur Etablierung eines ELISA-Systems verwendet (Antigen-coating). Nach Untersuchung von bislang ca. 500 Serumproben mithilfe des entwickelten ELISA erwies sich dieses Antikörperbasierte Testsystem als sensitiv und spezifisch. Weitere Untersuchungen zur Validierung des ELISA sind in Vorbereitung, insbesondere sollen in diesem Zusammenhang die Seren experimentell infizierter Tiere eingesetzt werden. Die im Rahmen des Projektes geplanten tierexperimentellen Versuche, die im Wesentlichen dem Nachweis der Protektivität neu entwickelter Impfstoffe dienen, werden noch in diesem Jahr beginnen.

„Implementierung verbesserter Betriebsweisen in der Imkerpraxis zur allgemeinen Krankheitsprävention als nachhaltiger Schutz vor Bienenvölkerverlusten“

„Reliable bee management systems to help to reduce colony losses – an approach that is based on knowledge transfer“

#### FKZ

28-1-33.015-07

#### Laufzeit

01.02.2008 – 31.01.2011

#### Projektnehmer/Institution

Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES),  
Institut für Bienenkunde Celle

#### Ansprechpartner

Dr. Otto Boecking

#### Kooperationspartner

Ruhr-Universität Bochum,  
AG Verhaltensbiologie und Didaktik der Biologie  
Prof. Dr. Wolfgang Kirchner (Projektleiter)  
Dr. Pia Aumeier (Projektbearbeitung)  
Universität Hohenheim,  
Landesanstalt für Bienenkunde  
Dr. Peter Rosenkranz (Projektleiter)  
Dr. Gerhard Liebig (Projektbearbeitung)

#### **Bienenvölkerverlustzahlen müssen reduziert werden**

Bienenvölkerverluste bestimmen in den zurückliegenden Jahren die Imkerpraxis in Deutschland, in der EU, in den USA und in vielen anderen Ländern der Welt.

Negative Folgewirkungen ergeben sich u.a. aus der flächendeckenden Bestäubungsfunktion der Honigbienen im weiten Bereich des landwirtschaftlichen Obst- und Kulturpflanzenanbaus und der Funktion der Bienen für



den Erhalt der Biodiversität von Naturpflanzen. Das Ausmaß solcher Schäden wird deutlich, wenn man berücksichtigt, dass die Honigbienen bei volkswirtschaftlicher Betrachtung als Wirtschaftstiere in der Rangierung den Rindern und Schweinen auf Platz 3 folgen. Eine Leistung, die sich aus den Geldwerten der Bienenprodukte und der Bestäubungsleistung ergibt. Ebenso wirkt sich dieses Negativ-Szenario, das die Imkerpraxis derzeit in Deutschland begleitet, sicherlich auf die ohnehin schwierige Rekrutierung des Imkernachwuchses aus.

Als Gründe für wiederkehrende überdurchschnittliche Bienenvölkerverluste werden verschiedene, sich gegenseitig eventuell begünstigende Faktoren („Multifaktoren-Modell“), diskutiert. Neben der Schädigung der Bienenvölker durch die Varroose (Varroa-Milbe) als das primäre Problem stehen dabei unzureichend angepasste und ungenügend konsequent umgesetzte imkerliche Betriebsweisen mit an erster Stelle, wenn die potentiellen anderen Einflussgrößen gewichtet werden. Beide genannten Faktoren sind im Vergleich zu anderen möglichen Einflussgrößen auf das Bienenvolk aber letztlich auch die (!) entscheidenden Ansatzpunkte, die es dem Imker überhaupt ermöglichen selber aktiv eingreifen zu können, um Völkerverluste zu vermeiden.

Diesem Problem widmen sich die Kooperationspartner der Universitäten Bochum und Hohenheim und dem LAVES Bieneninstitut Celle.

Als Gesamtziel des Vorhabens soll Unterstützung geleistet werden, um verbesserte imkerliche Betriebsweisen mit integrierter Varroa-Bekämpfung in der breiten Imkerschaft etablieren zu helfen. So kann die Imkerpraxis in Deutschland zukünftig nachhaltig vor Völkerverlusten geschützt werden.

### **Imkerliche Betriebsweisen werden optimiert und mit Unterstützung von Akteuren aus der imkerlichen Praxis in die Zielgruppe hineingetragen**

Die praktische Zusammenarbeit mit Multiplikatoren (aus der Freizeit- und Berufsimkerschaft) soll, unter Nutzung des „Leuchtturm-Prinzips“, die Akzeptanz und Nachahmungswahrscheinlichkeit durch andere Imker erhöhen. Ein konsequenter Know-how-Transfer in der imkerlichen Beratung findet schon während der Projektlaufphase durch die beteiligten drei Bieneninstitute unter Einbindung von Akteuren aus der Imkerschaft statt. Die Zahl der ImkerInnen, die ins Projekt eingebunden werden, wächst von Projektjahr zu Projektjahr an, bis schließlich 90 von ihnen später ihr Wissen in die Praxis tragen sollen. Erstmals werden an drei unterschiedlichen Standorten in Deutschland zwei bestehende imkerliche Betriebsweisen, die „moderne Hohenheimer Betriebsweise“ und das „Celler-Rotationsverfahren“ auch vergleichend wissenschaftlich fundiert untersucht. Zudem loten die in ins Projekt integrierten Imker und Imkerinnen, aus Sicht der Praxis Verbesserungspotentiale für diese Betriebsweisen an ihren eigenen Bienenvölkern aus.

### **Erste Ergebnisse aus dem laufenden Projekt weisen Optimierungspotentiale für die Praxis aus**

Auf der Basis der so genannten „Liebefelder-Schätzmethode“ wird die Entwicklung der Bienenvölker bei Durchführung der beiden Betriebsweisen über drei Jahre an jeweils 108 Völkern an den drei Instituten detailliert verfolgt.

Erste Ergebnisse aus dem laufenden Projekt weisen Optimierungspotentiale für die Praxis aus. Mit Hilfe der regelmäßigen Erfassung der Bienenbrut bzw. der Anzahl erwachsener Arbeitsbienen und Drohnen lässt sich nicht nur deren Entwicklung über den Zeitraum eines Wirtschaftsjahres abbilden. Es lassen sich auch deren Entwicklung unter den imkerlichen Haltungsbedingungen aufzeigen. Deutliche und kurzfristige „große Sprünge“ in den Entwick-

lungskurven der Völker weisen beispielsweise auf imkerliche Eingriffe hin, die sich

- 1.) nachteilig auf das Entwicklungsgeschehen der Bienenvölker,
  - 2.) auf die potentielle Ertragsleistung und
  - 3.) auf den notwendigen Aspekt der erfolgreichen Varroa-Reduzierung auswirken.
- Hier sind vor allem Ansatzpunkte für Optimierungen zu suchen.

Nach einem Jahr intensiver Untersuchungen zeigt sich, dass Aspekte der Jungvolk-Erstellung und die Varroabekämpfung teilweise optimiert werden können. Zudem zeigen sich wissenschaftlich interessante offene Fragen wie es beispielsweise zur Regulierung der Einwinterungsstärke eines Bienenvolkes kommt. Hieraus leiten sich Umsetzungsfragen für die Praxis ab.

Mittlerweile sind über 60 Imker und Imkerinnen aus drei unterschiedlichen Regionen in Deutschland in das Projekt integriert. Auch die eingebundenen Imker weisen schon nach ein- bzw. zweijähriger Testphase auf Schwächen bei den Betriebsweisen hin, die sie in der weiteren Projektjahren zu optimieren suchen

„EvA - Entwicklung von Anti-Nosemose-Wirkstoffen über ein 2-Stufen-Testsystem“

„*Development of drugs against nose-mosis of bees via a two-step screening system*“

**FKZ**

28-1-34.007-07

**Laufzeit**

01.04.2008 – 30.09.2011

**Projektnehmer/Institution**

Länderinstitut für Bienenkunde (LIB)

**Ansprechpartner**

PD Dr. rer. nat. Elke Genersch

Fr. Marion Amenda, LIB (s.o.)

**Kooperationspartner**

Ruhr-Universität Bochum

Fakultät für Biologie

Prof. Dr. Wolfgang H. Kirchner und

Dr. Pia Aumeier

EMC microcollections GmbH

Prof. Dr. Karl-Heinz Wiesmüller und

Dr. Ute Wank

CIP-Chemisches Institut Pforzheim GmbH

Dr. Hans Eberhardt

**Kurzfassung der Ergebnisse**

Ziel des Innovationsprojekts EvA ist die Entwicklung von Wirkstoffen gegen den Erreger der Nosemose bei Bienen, *Nosema spec.*, über ein 2-Stufen-Testsystem. Die erste Stufe dieses Testsystems (*in vitro*-Test) wird aus einem Zellkulturassay bestehen, der sich für ein Screening von potentiellen Wirkstoffen gegen die Nosemose mit mittlerem bis hohem Durchsatz eignet. Die zweite Stufe des Testsystems (*in vivo*-Test) ist ein Infektionsassay mit adulten Bienen, in dem die in der ersten Stufe als aussichtsreich identifizierten Substanzen direkt am infizierten Tier getestet werden.

Bei der Entwicklung der Wirkstoffe wurden zunächst über ein *in vivo*-Pilotscreening 25 Verbindungen auf ihre Anti-Nosemose-Aktivität getestet. Als Kontrollsubstanz diente das Antibiotikum Fumagillin, dessen gute Wirksamkeit gegen *Nosema spec.* bekannt ist, welches aber wegen seiner Toxizität für Tier und Mensch nicht mehr zugelassen ist. In diesem Pilotscreen wurden bereits erste Substanzen identifiziert, die sogar eine gegenüber der Kontrollsubstanz verbesserte Wirksamkeit gegen *Nosema spec.* zeigten. Einer dieser Wirkstoff-Kandidaten wurde bereits auf seine Bienenverträglichkeit geprüft und zeigte auch hier sehr gute Ergebnisse. Auf der Basis der wirksamen Verbindungen wurde ein Strukturmodell abgeleitet. Im Sinne einer Leitstrukturoptimierung wurden 25 potentiell aktive Substanzen mit modifizierter Grundstruktur hergestellt und in einem weiteren Pilotscreen untersucht. Für die Herstellung dieser Substanzklasse wurde ein robustes skalierbares Syntheseverfahren etabliert.

Für die Entwicklung des *in vitro*-Screening-Systems auf Zellkulturbasis wurden bisher 12 Insektenzelllinien aus Lepidopteren, Dipteren und Hymenopteren erfolgreich in Kultur genommen und charakterisiert. Außerdem wurde die Isolierung und Kultivierung von Primärzellen aus dem Darm und dem Gehirn von Bienenpuppen etabliert. Eine Voraussetzung für die erfolgreiche Infektion kultivierter Zellen ist die *in vitro*-Sporenceimung von *Nosema spec.*, die nicht trivial ist, inzwischen aber auch erfolgreich etabliert werden konnte. Damit sind die Voraussetzungen für die Etablierung des *in vitro*-Screening-Systems geschaffen, um in der zweiten Phase über ein *random in vitro*-Screening mit mittlerem Durchsatz weitere aussichtsreiche synthetische Verbindungen zu identifizieren, die dann über den *in vivo*-Test validiert werden können. Derzeit wird hierfür eine Kollektion von weiteren 2000 potentiell nose maziden Verbindungen vorbereitet.

# Innovationen im Bereich Tierhaltung und Tierschutz

Möglichkeiten der In ovo-Geschlechtsbestimmung beim Haushuhn (*Gallus gallus f. dom.*) als Alternative zur routinemäßigen Tötung männlicher Eintagsküken aus Legehennenlinien

*Possibilities of an In ovo-gender determination in the chicken (Gallus gallus f. dom.) as an alternative to the routinely culling of male day-old chicks from layer strains*

## FKZ

28-1-33.010-07

## Laufzeit

01. 04. 2008 – 30. 06. 2011

## Projektnehmer/Institution

Universität Leipzig  
Klinik für Vögel und Reptilien

## Ansprechpartner

Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns  
Thomas Bartels

## Kooperationspartner

Fraunhofer-Institut für Zerstörungsfreie Prüfverfahren

Friedrich-Schiller-Universität Jena,  
Institut für Physikalische Chemie

Technischen Universität Dresden,  
Abt. Klinisches Sensoring und Monitoring,  
Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus

Arxes Information Design Berlin GmbH

Lohmann Tierzucht GmbH

## Kurzportrait

Bei keiner anderen Nutztierart hat die Spezialisierung in der Nutzungsausrichtung in den letzten Jahrzehnten einen ähnlich hohen Grad erreicht wie beim Haushuhn. Auf rasche Gewichtszunahmen selektierte Mastlinien stehen hier hoch spezialisierten Legelinien gegenüber. Allerdings schlüpfen bei der Zucht von Legehennen nicht nur die erwünschten Hennen, sondern auch etwa ebenso viele männliche Küken aus den Eiern. Negative Korrelationen zwischen Legeleistung und Muskelmasseansatz machen deren Nutzung jedoch unrentabel. Zurzeit werden daher allein in Deutschland jährlich ca. 40 Millionen männliche Nachkommen unmittelbar nach dem Schlupf anhand geschlechtsspezifischer Merkmale aussortiert und anschließend getötet.

Die Vermeidung der routinemäßigen Tötung männlicher Eintagsküken im Rahmen der Legehennenzucht ist angesichts der Aufwertung des Tierschutzes zum Staatsziel von erheblicher gesellschaftspolitischer Tragweite. Im Rahmen des Verbundprojektes werden daher zurzeit neue Ansätze für eine Geschlechtsdiagnostik am unbebrüteten Ei entwickelt.

Die Keimscheibe eines frisch gelegten, befruchteten Hühnereies besteht aus ca. 40.000 Blastodermzellen, anhand derer bereits mit geeigneten Methoden eine Geschlechtsdiagnose vorgenommen werden kann. Der im Rahmen der Studie gewählte biophotonische Forschungsansatz beruht dabei im Wesentlichen auf dem Einsatz von Licht als Analyseinstrument.

Für eine Geschlechtsbestimmung anhand von Blastodermzellen muss zunächst die genaue Position der Keimscheibe bestimmt werden. Die Eischale stellt hierbei ein bislang unüberwundenes Hindernis dar. Aus diesem Grund sind zurzeit noch mehrere aufeinander abgestimmte,

minimal-invasive Schritte erforderlich. Zunächst wird mittels Lasertriangulation der höchste Punkt des horizontal gelagerten Eies ermittelt. Anschließend erfolgt die Perforation der Kalkschale, gefolgt von einer genauen Positionsbestimmung der Keimscheibe im Hühnerei als Grundlage für eine spektroskopische Geschlechtsbestimmung.

Die für den Einsatz optischer bzw. schwingungsspektroskopischer Verfahren benötigte Öffnung in der Eischale wird berührungsfrei durch den Einsatz geeigneter Laser erzeugt. Durch eine zirkuläre Bewegung des fokussierten Laserstrahls kann eine kreisrunde Sollbruchstelle geschaffen werden, sodass ein leicht entfernbarer Deckel entsteht. Wie erste Brutversuche belegen, kann der hierdurch induzierte Wärmeeintrag durch Optimierung der Laserparameter soweit minimiert werden, dass es zu keiner negativen Beeinflussung des Eiinneren und damit des Embryos kommt.

Eine exakte Positionsbestimmung der Keimscheibe erfolgt durch die Optische Kohärenztomographie (OCT). Als OCT wird ein nicht-invasives Bildgebungsverfahren bezeichnet, das die Topographie von Oberflächen und Strukturen in streuenden Medien sichtbar macht. Genutzt wird dabei nahinfrarote Strahlung aus dem Bereich des sogenannten optischen Fensters von biologischem Gewebe ( $\lambda = 600\text{-}1300\text{ nm}$ ). Ergebnisse aus Voruntersuchungen belegen, dass eine Darstellung der Keimscheibe mittels OCT nach Öffnung der Kalkschale ohne Schwierigkeiten gelingt. Eine Untersuchung durch die Kalkschale hindurch ist allerdings weder mit sichtbarem noch mit infrarotem Licht möglich. Erfolg versprechend ist daher die Anwendung der OCT nach dem Schlüssellochprinzip, das heißt, durch eine kleine zylindrische Öffnung (ca. 1 mm) in der Kalkschale.

Das eigentliche „Sexen“ der Bruteier soll durch ein schwingungsspektroskopisches Analyseverfahren, die UV-Resonanz-Raman (UVR)-Spektroskopie vorgenommen werden. Bei einer Ramanspektroskopischen Messung wird Licht einer definierten Wellenlänge auf das Untersuchungsobjekt eingestrahlt und das Spektrum

des gestreuten Lichtes analysiert. Die im Vergleich zum eingestrahlichten Licht aufgetretenen Verschiebungen in der Frequenz des Lichtes erlauben anschließend Rückschlüsse auf Schwingungen von funktionellen Molekülgruppen, die für die nähere Charakterisierung einer Substanz genutzt werden können. Da die Moleküle der Zellinhaltsstoffe charakteristische Raman-Spektren (sog. „Raman-Fingerabdrücke“) aufweisen, lassen sich gesuchte Substanzen mit Hilfe von statistischen Auswerteverfahren anhand ihrer Schwingungsbanden identifizieren. In Vorversuchen gelang es bereits, mittels UVR-Spektroskopie spektrale Merkmale von Zellmaterial männlicher und weiblicher Haushühner zu identifizieren, die eine sichere Geschlechtsbestimmung erlauben. Gegenwärtig wird daran gearbeitet, das Verfahren auch für eine Geschlechtsbestimmung anhand von Blastodermzellen unbebrüteter Hühnereier nutzbar zu machen. Als Referenz dienen bereits etablierte molekulargenetische Testverfahren, die eine sichere Geschlechtsdiagnose gewährleisten.

Basierend auf diesen Ergebnissen werden zurzeit weiterführende Untersuchungen durchgeführt, die zusätzliche Erkenntnisse über die Einsatzmöglichkeiten optischer und schwingungsspektroskopischer Analysemethoden, beispielsweise der Infrarot-Spektroskopie, im Rahmen der Geschlechtsdiagnose am unbebrüteten Hühnerei liefern sollen. Dabei müssen letztendlich auch mögliche Effekte der einzelnen Untersuchungsschritte auf die Schlupfrate entsprechend behandelter Bruteier, die Entwicklung hieraus erbrüteter Küken sowie auf die Gesundheit und Legeleistung der Hennen abgeklärt werden. Ziel der Untersuchungen soll letztendlich ein praxisreifes Analyseverfahren sein, das eine zuverlässige Geschlechtsbestimmung am unbebrüteten Ei erlaubt, nach Möglichkeit aber keine negativen Auswirkungen auf den Bruterfolg sowie auf die Gesundheit und das Leistungsvermögen der Legehennen hat.

„Nutzung männlicher Legehybriden als Stubenküken“

„Utilization of laying-type cockerels as coquelets“

**FKZ**

28-1-33.008-07

**Laufzeit**

1.04.2008 – 28.02.2011

**Projektnehmer/Institution**

Max-Rubner-Institut  
Bundesforschungsinstitut für Ernährung  
und Lebensmittel (MRI)

**Ansprechpartner**

Fr. Dr. Gisela Hahn

Fr. Mirjam Koenig (MRI)

Hr. Dr. Klaus Damme (LfL)

Hr. Dr. Matthias Schmutz (LTZ),

**Kooperationspartner**

Bayerische Landesanstalt für  
Landwirtschaft (LfL)

Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum  
für Geflügel

Lohmann Tierzucht GmbH (LTZ)

**Kurzfassung der Ergebnisse**

Diese Untersuchung steht im Zusammenhang mit der Entwicklung von Verfahren, die die Tiergerechtigkeit im Bereich der Vermehrung von Legehennen verbessern sollen. Hierbei werden durchgehend ethisch vertretbare Produktionsverfahren entwickelt und wirtschaftlich optimiert. Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, Alternativen zur derzeitigen Praxis der Tötung frisch geschlüpfter männlicher Legehybriden (2007 in Deutschland: 42,5 Mio.) zu finden. Im Rahmen mehrerer Mastdurchgänge werden die Wirtschaftlichkeit, verschiedene Managementfaktoren und vor allem die Produkteigenschaften untersucht. Hierbei werden zunächst Basisdaten unter anderem zur Mastleistung und Schlachtkör-

perzusammensetzung erhoben, um die geeigneten Legehybrid-Herkünfte zu ermitteln. In den Versuch wurden die mittelschweren Braunleger Lohmann Brown (LB) und Hy-Line Brown (Hy-Line) sowie die leichten Weißleger Lohmann Selected Leghorn (LSL) und Dekalb White (Dekalb) mit einbezogen. Als Kontrollgruppe diente die Mastlinie Ross 308 (Ross). Die Tiere wurden in Bodenhaltung mit einem Standardmastfutter *ad libitum* gemästet. Das festgelegte Zielgewicht von ungefähr 650 g erreichten die Broiler (Ross) nach 19 Tagen, die Braunleger LB und Hy-Line nach 47 Tagen und die Weißleger LSL und Dekalb nach 49 Tagen. Die Untersuchungen zur Mastleistung zeigen, dass es sinnvoll ist, die Mast der Legehybriden im Bereich des Zielgewichtes zu beenden. Die Legehybriden verzeichneten bezüglich der Zuwachsraten (g Zuwachs/Woche) einen kontinuierlichen Anstieg bis zum 42. Tag, wobei die mittelschweren Braunleger LB und Hy-Line tendenziell höhere Zuwachsraten erreichten als die Weißleger LSL und Dekalb. Ab dem 42. Tag brachen bei allen Legehybrid-Herkünften die Zuwachsraten deutlich ein. Die Futtermittelverwertung betrug bei den Braunlegern LB und Hy-Line durchschnittlich 1:2,3, bei den Weißlegern LSL und Dekalb 1:2,7. Die Broiler erreichten Werte von 1:1,2. Eine künftig modifizierte und damit optimierte Fütterungstechnik lässt eine Verbesserung in der Futtermittelverwertung der Legehybriden erwarten.

Die Schlachtkörpergewichte betrugen bei den Broilern 445 g und bei den Legeherkünften durchschnittlich 430 g.

Die Gewichte der wertvollen Teilstücke (Brust, Oberkeule, Unterkeule) waren bei den Broilern mit 284 g etwas höher als bei den Legehybriden, die durchschnittliche Werte von 262 g erreichten. Das Fleischgewicht lag ebenfalls bei den Broilern mit 197 g am höchsten, bei den Legehybriden mit durchschnittlich 175 g (LB, Hy-Line und LSL) und 166 g (Dekalb) niedriger.

Zusammengefasst lassen die ersten Untersuchungsergebnisse darauf schließen, dass bei dem Produkt Stubenküken (aus männlichen Legehybridherkünften) die Aspekte der Fleischqualität und der Verbraucherakzeptanz besonders stark zu gewichten sind, um es als hochwertige Spezialität am Markt absetzen zu können und damit seinen wirtschaftlichen Erfolg zu gewährleisten.

Diese Untersuchung ist eine erste Bestandsaufnahme. In die Zukunft gerichtet soll dieses Projekt dazu beitragen, die ernstzunehmende ethische Problematik der Tötung von Eintagsküken mit der Entwicklung eines wirtschaftlich rentablen und qualitativ hochwertigen Produkts aufzugreifen.

## „Weiterentwicklung der Kleingruppenhaltung für Legehennen“

*“Further developments on small group systems for laying hens“*

### **FKZ**

28-1-36.001-06

### **Laufzeit**

01.01.2008 – 30.04.2012

### **Projektnehmer/Institution**

Friedrich-Loeffler-Institut,  
Institut für Tierschutz und Tierhaltung

### **Ansprechpartner**

Dr. Lars Schrader

Dr. Britta Scholz

### **Kooperationspartner**

Stiftung Tierärztliche Hochschule  
Hannover, Klinik für Geflügel sowie  
Institut für Tierzucht und Vererbungs-  
forschung und

Institut für Tierhygiene, Tierschutz und  
Nutztierethologie und

Institut für Biometrie, Epidemiologie und  
Informationsverarbeitung, Lehr- und  
Forschungsgut Ruthe

Johann Heinrich von Thünen-Institut,  
Institut für Agrartechnologie und  
Biosystemtechnik sowie Institut für  
Betriebswirtschaft

Universität Hohenheim,  
Institut für Tierhaltung und Tierzüchtung

Ludwig-Maximilians-Universität München,  
Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde  
und Tierhygiene

Bayerische Landesanstalt für Landwirt-  
schaft, Institut für Tierhaltung und  
Tierschutz

Big Dutchman International GmbH,  
Specht Ten Elsen GmbH & Co. KG,  
Salmat International GmbH

### Kurzfassung der Ergebnisse

Das Ziel dieses Projektes ist die Weiterentwicklung und Optimierung von Kleingruppenhaltungen für Legehennen im Hinblick auf Tiergesundheit, Möglichkeiten zur Ausübung art eigener Verhaltensweisen, Produktbeschaffenheit, Umwelteinträge und Wirtschaftlichkeit unter den kontrollierten Bedingungen von Versuchsstationen. Aufgrund des Verbotes der konventionellen Käfighaltung ab Januar 2009 in Deutschland ist eine Umstellung auf alternative Haltungsformen erforderlich.

Verschiedene Modelle der in Deutschland zugelassenen Kleingruppenhaltung (2. VO zur Änderung der TierSchNutzV, 2006) wurden zu Beginn des Projektes auf 5 verschiedenen Versuchsstationen installiert und werden über 3 Legedurchgänge hinweg in enger Zusammenarbeit zwischen Herstellern und Forschungseinrichtungen schrittweise in ihrer Ausstattung modifiziert und optimiert.

Ausgehend von den jeweiligen Beobachtungen und Ergebnissen werden nach jedem Legedurchgang Verbesserungsoptionen diskutiert und, sofern technisch realisierbar, für den Folgedurchgang umgesetzt. Im Rahmen der Untersuchungen zum Hennenverhalten werden insbesondere Daten zur Nutzung von Sitzstangen mit verschiedener Anordnung sowie zur Nutzung des Einstreubereiches bei Variation von Einstreuhäufigkeit und Größe des Einstreubereiches erhoben. Mit Hinblick auf die Tiergesundheit werden Gefieder- und Brustbeinzustand, Hautverletzungen, Fußballengesundheit, Ektoparasitenbefall und Knochenfestigkeiten der Hennen beurteilt sowie pathologisch-anatomische Untersuchungen in Bezug auf Organveränderungen durchgeführt.

Ergänzend erfolgen serologische Untersuchungen zur Bestimmung des Immunstatus der Hennen, um mögliche Infektionen der Hennen ausschließen zu können. Weitere Schwerpunkte bilden Untersuchungen zur Hygiene wie Emissionsmessungen im Stall (Feinstaub,

Endotoxin- und Keimbelastung sowie CO<sub>2</sub>- und Ammoniakkonzentrationen) und die Erhebung des Salmonellenstatus.

In Ergänzung zu den genannten Untersuchungen werden produktionsrelevante Kennzahlen zur Erfassung der Wirtschaftlichkeit (inklusive Arbeitswirtschaft) erhoben. Die gesammelten Daten aller Versuchsstationen werden einheitlich in eine gemeinsame Datenbank eingegeben, so dass übergreifende Auswertungen durchgeführt werden können. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegen erste, vorläufige Ergebnisse zu einigen der genannten Aspekte aus dem ersten Legedurchgang vor.

Hinsichtlich der Untersuchungen zum Tierverhalten wurden die Sitzstangen von durchschnittlich 5 Hennen im Tagesverlauf genutzt, während der Anteil in der Dunkelphase auf durchschnittlich 15 Tiere anstieg (2 Versuchsstationen, keine Differenzierung nach Kleingruppenmodell, Gruppengrößen zwischen 33 und 60 Tieren). Für den 2. Legedurchgang wurde bei einem Teil der Kleingruppenhaltungen eine Modifikation der Sitzstangenpositionen vorgenommen, um die Sitzstangennutzung möglicherweise attraktiver zu gestalten. Staubbadeaktivitäten in den Einstreubereichen konnten bei einmaliger Beschickung mit Substrat bei durchschnittlich ca. 0,28 Hennen zu den jeweiligen Beobachtungszeitpunkten beobachtet werden (Hellphase, 2 Versuchsstationen).

Für den Folgedurchgang wird eine viermalige Befüllung des Staubbades mit Substrat getestet, um den Hennen zusätzliche Anreize zur Ausübung dieses Verhaltens zu bieten. Bei allen Herden wurden solide Knochenfestigkeiten der Flügel- und Beinknochen festgestellt, wobei Veränderungen der Brustbeine häufiger auftraten (durchschnittlich ca. 50 % der Hennen gegen Ende der Legeperiode betroffen), was sich durch die im aktuellen Durchgang veränderte Sitzstangenanordnung ggf. weiter verbessern lässt. Die in den Ställen gemessenen Werte zum



Endotoxingehalt sowie zum Feinstaub zeigten im Vergleich zu Untersuchungsergebnissen aus alternativen Haltungssystemen (Boden- und Volierenhaltung) bis zu 6- bis 8-fach geringere Werte.

Ähnliche Ergebnisse wurden für die im Stall gemessenen Ammoniakkonzentrationen ermittelt, welche klar die maximal zulässigen Grenzwerte unterschritten. Eine Kontamination der Haltungssysteme mit Salmonellen wurde auf keiner Versuchsstation festgestellt. Bei den Untersuchungen zur Immunologie wurden keine Unterschiede in der Antikörperentwicklung gegen ausgesuchte Erreger zwischen den Versuchsstationen festgestellt. Weiterhin gab es keine Hinweise auf den Eintrag einer Feldinfektion. Bei gleichem Impfmanagement wurden jedoch teilweise unterschiedliche Antikörperantworten bei den verwendeten Legelinien LB und LSL beobachtet.

Als problematisch erwies sich im 1. Legedurchgang eine durch Kannibalismus bedingte, außergewöhnlich hohe Mortalitätsrate der Hennen, die in einzelnen Haltungseinheiten bis zu 50 % der Tiere betrug. Ursachen wurden in erster Linie auf das Stallmanagement und hier insbesondere auf die Lichtintensität im Stall zurückgeführt. Die nicht-schnabelkupierte Hennen wurden bei einer vom Europarat im Jahr 1995 empfohlenen, jedoch praxisunüblichen Lichtintensität gehalten. Für den gegenwärtigen 2. Legedurchgang werden ebenfalls nicht-schnabelkupierte Tiere zweier Legelinien verwendet, jedoch orientiert sich die Lichtintensität an Erfahrungswerten aus Praxisbetrieben, so dass in diesem Durchgang deutlich geringere Mortalitätsraten erwartet werden. Darüber hinaus könnte sich auch ein starker Befall der Tiere mit der roten Vogelmilbe negativ ausgewirkt haben, der bereits während der Aufzucht auffällig wurde.

Zusammenfassend zeichnet sich anhand der vorläufigen Ergebnisse aus dem 1. Legedurchgang ab, dass sich die Kleingruppenhaltung insbesondere hinsichtlich der geringeren Emis-

sions-, Staub-, Keim- und Endotoxinbelastung, die zu einer Verringerung der gesundheitlichen Risiken von Mensch und Tier und einer Reduzierung von Umwelteinträgen führt, positiv auswirkt. Weiterhin sind die Tiere nur geringen Risiken für Feldinfektionen ausgesetzt. Ebenfalls erwies sich eine solide Knochenfestigkeit (Bein- und Flügelknochen) als sehr positiv, da diese das Risiko für Frakturen senkt.

Nach wie vor besteht jedoch Weiterentwicklungsbedarf, um beispielsweise die Möglichkeit zur Ausübung art eigener Verhaltensweisen (Staubbadeverhalten, Sitzstangennutzung) attraktiver zu gestalten oder Brustbeinprobleme zu reduzieren. Durch Veränderungen in der Ausstattung der Systeme werden diese Punkte schrittweise aufgegriffen. Darüber hinaus sind weitere Untersuchungen bezogen auf Modifikationen im Stallmanagement (insbesondere veränderte Lichtintensität, Häufigkeit der Befüllung des Staubbades, Reduktion von versuchsbedingten Störfaktoren, etc.) erforderlich, um das Risiko für Verluste durch Kannibalismus soweit wie möglich zu minimieren.

Entwicklung einer zentralen Online-Analyse- und Steuerungseinheit zur Milchgewinnung „OASE“

*Developing of a central online-analyzing and steering unit for milk production „OASE“*

**FKZ**

28-1-33.004.07

**Laufzeit**

01.02.2008 – 31.01.2011

**Projektnehmer/Institution**

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam Bornim e.V.

**Ansprechpartner**

Dr. Sandra Rose-Meierhöfer

**Kooperationspartner**

Siliconform GmbH

**Projektziele**

In der Milchviehhaltung wurde in den letzten Jahren die Produktionseffizienz deutlich gesteigert. Die Fortschritte in der Melktechnik haben zur Arbeitszeitverminderung beim Melken geführt, aber weniger stark zur Verbesserung der Eutergesundheit. Der Eutergesundheitsstatus vieler Milchviehherden ist bis heute nicht zufriedenstellend. Da Euterkrankheiten beim Landwirt hohe Kosten verursachen, besteht hier Handlungsbedarf.

Das breite Spektrum an Einflussgrößen, welche den Milchentzug beeinflussen, erschwert die Entwicklung einer verbesserten Melktechnik. Die Vakuumverhältnisse in unmittelbarer Sitzennähe beeinflussen den Milchentzug und die Eutergesundheit in erheblichem Ausmaß. Das Projekt „OASE“ ermöglicht eine umfassende wissenschaftliche Untersuchung des neu entwickelten Melksystems MultiLactor®. Die beiden Hauptziele des Projektes sind:

- 1.) Entwicklung einer zentralen Online-Analyse und Steuerungseinheit für Vakuum und Pulsation
- 2.) Vergleich des MultiLactors® mit einem

konventionellen Melksystem hinsichtlich der physiologischen Wirkung auf Milchkühe

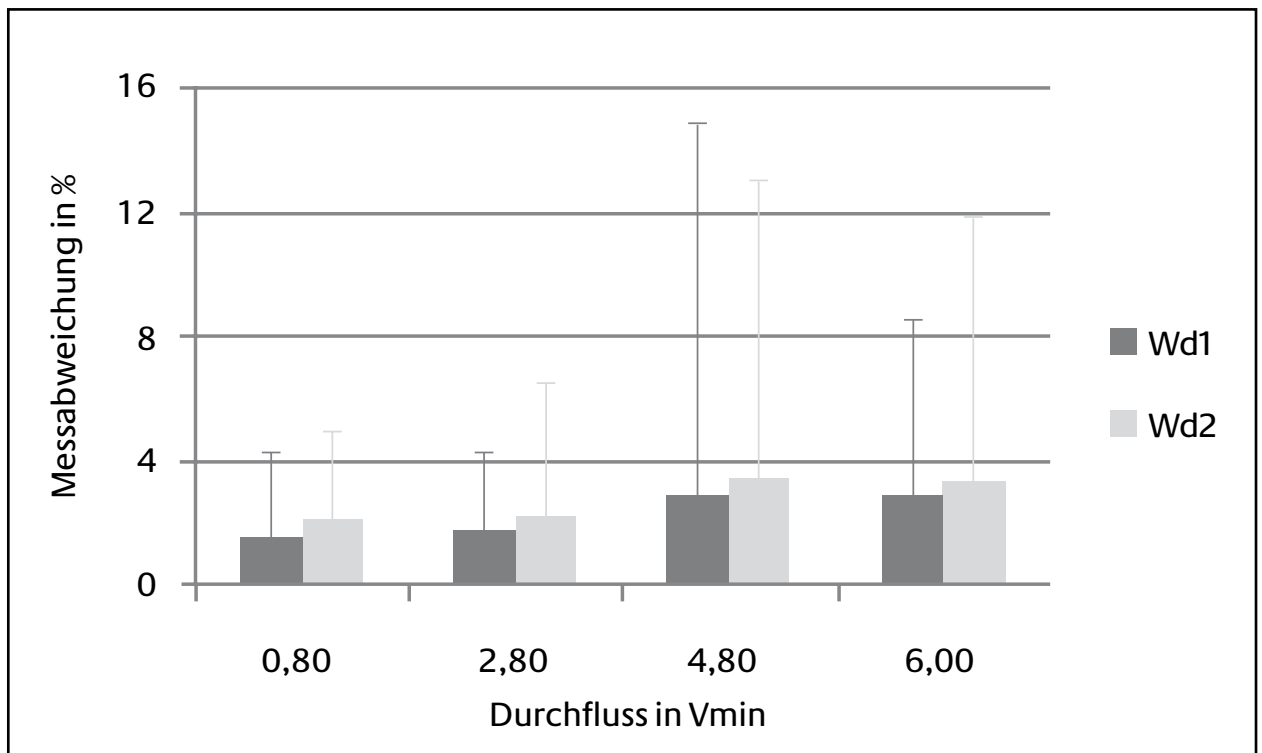
Die beiden wichtigsten Teilbereiche des Projekts werden nachfolgend als „Sensor- und Steuerungsentwicklung“ und „Praxisversuch“ bezeichnet.

**Sensor- und Steuerungsentwicklung**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es eine technische Lösung für den dauerhaften zitzennahen Einbau eines Drucksensors in ein Melksystem zu entwickeln, um langfristig die tierindividuelle zitzennahe Vakuumsteuerung zu ermöglichen. In Zusammenarbeit mit dem Sensorhersteller Firma Keller Ges. für Druckmesstechnik mbH wurde eine Metallhülse als Halterung für einen Keller- Drucksensor entworfen, welche eine exakte Vakuummessung ermöglichen soll. Die Sensorausgänge sind mit einem handelsüblichen Analog-/ Digitalwandler gekoppelt. Dieser ist mit einem Messcomputer verbunden, welcher über die notwendige Software zur Messwerterfassung verfügt. Die Metallhülsen wurden für verschiedene Schlauchdurchmesser gebaut und können an jeder beliebigen Stelle in den Milchschauch eingesetzt werden. Die Fläche der Membran, unter welcher sich die Messmechanik der Sensoren befindet ist relativ groß und liegt direkt im Strom des Milch-Luftgemisches.

Bei einer Messreihe zur Messgenauigkeit des eingesetzten Sensors zeigte sich, dass ein Einbau mit Testhülse möglich ist, da die Mittelwerte der Messabweichung maximal bei 3,5% des Melkvakuums lagen (Abb.1). Damit ist die Grundlage zur Entwicklung einer Vakuumsteuerung mit Testhülse als Signalgeber geschaffen. Ob dieses System bei Weiterentwicklung zur Vakuumsteuerung geeignet ist, hängt maßgeblich davon ab, ob sich die Vakuumverhältnisse in unmittelbarer Sitzennähe stark von denen am Melkbecherende unterscheiden.

Einbauort und Einbauwinkel für die Drucksensoren der Steuerung festzulegen, ist daher



**Prozentuale Messabweichung beim Vergleich zweier Drucksensoren bei Messreihe A bei verschiedenen Durchflussraten.**

eine der wichtigsten Aufgaben dieses Projektbereichs. Hierfür wurden Vakuummessungen durchgeführt, bei denen die Messstellenzuordnung variiert wurde. Der Messunterschied zwischen dem Vakuum an der Zitzen Spitze, gemessen mit Messgerät MT52 und am Melkbecherende, gemessen mit Keller-Sensoren beträgt im Mittel 3,5% bezogen auf den Durchschnittsvakuumwert an dieser Messstelle, gemessen mit dem Messgerät MT52. In Zahlen ausgedrückt, beträgt der Durchschnittsmessunterschied 0,9 kPa, der Durchschnittsvakuumwert liegt bei 25,5 kPa und das Anlagenvakuum beträgt 35,0 kPa. Der maximale interne Messfehler bei den verwendeten Drucksensoren wird mit 1,0-1,5% vom Hersteller angegeben. Damit ist das Ergebnis bisher noch nicht zufriedenstellend. Die Fähigkeit der Sensoren den Zustand am Zitzenende zu erfassen, hängt wesentlich vom Ort der Messung und von der Art des Einbaus in die Vakuumleitung ab (z.B. Winkel zum Milchfluss im Schlauch).

#### **Projektteil Praxisversuch**

Zur Untersuchung des Einflusses der Melktechnik auf das Tier wird seit Mai 2009 ein Praxisversuch durchgeführt. Dabei werden je 30 Tiere mit konventioneller bzw. mit viertelindividuellem Melksystem MultiLactor® gemolken. Wöchentlich erfolgen die Erfassung der Milchflusskurven und die Analyse des Eutergesundheitsstatus und der Milchinhaltsstoffe. Inwieweit eine Verbesserung des Eutergesundheitsstatus erreicht werden konnte, kann zum jetzigen Versuchszeitpunkt noch nicht festgestellt werden. Die Umstellung der Tiere von konventionell auf Viertelindividuell erfolgte problemlos und während der Adaptionszeit konnten keine Verschlechterungen in der Eutergesundheit festgestellt werden. Erste Untersuchungen zur Ergonomie und Befragungen der Melker haben ergeben, dass das System positive Auswirkungen auf den Menschen zu haben scheint.

Entwicklung und Bewertung eines automatischen optischen Sensorsystems zur Körperkonditionsüberwachung bei Milchkühen

*Development and evaluation of an automatic optical sensor system for monitoring the body condition of dairy cows*

**FKZ**

28-1-53.T05-07

**Laufzeit**

01.03.08 – 14.10.11

**Projektnehmer/Institution**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Landtechnik und Tierhaltung

**Ansprechpartner**

Dr. Jan Harms

**Kooperationspartner**

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU), Institut für Tierzucht und Tierhaltung

GEA WestfaliaSurge GmbH

**Kurzportrait**

Schwerpunkte im "Precision Dairy Farming" sind derzeit das automatische Melken, die individuelle Tieridentifikation, die Kraftfutter-Zuteilung sowie die Mastitis- und Brunstüberwachung. Im Bereich des Fütterungsmanagements bestehen jedoch noch Defizite.

Milchkühe sollten besonders im geburtsnahen Zeitraum optimal mit Energie versorgt sein, da jede hochleistende Milchkuh nach der Abkalbung eine Phase negativer Energiebilanz durchläuft. In dieser Phase mobilisiert die Milchkuh körpereigene Energiereserven, um das Missverhältnis zwischen Energieaufnahme über das Futter und Energieabgabe über die Milch auszugleichen. Durch diese unausgeglichene Stoffwechselsituation ist die Kuh besonders anfällig für Krankheiten und die Milchleistung kann beeinträchtigt sein. Ziel

ist daher eine optimale Kondition der Kühe zum Zeitpunkt des Trockenstellens und der Kalbung.

Um die Körperenergiereserven von Milchkühen beurteilen zu können, werden in der Praxis u.a. die Lebendmasse-Wägung, die Rückenfettdickenmessung (RFD) mit Ultraschallgeräten oder das visuelle Body Condition Scoring (BCS) eingesetzt. Die Aussagekraft der Lebendmasse-Wägung ist auf Grund der veränderlichen Füllungszustände des Verdauungsapparates, wechselnder Organmassen sowie durch das sich ändernde Gewicht der Konzeptionsprodukte kritisch zu sehen. Dieses Verfahren erlaubt somit keine objektive Aussage darüber, ob Energie mobilisiert oder eingelagert wurde.

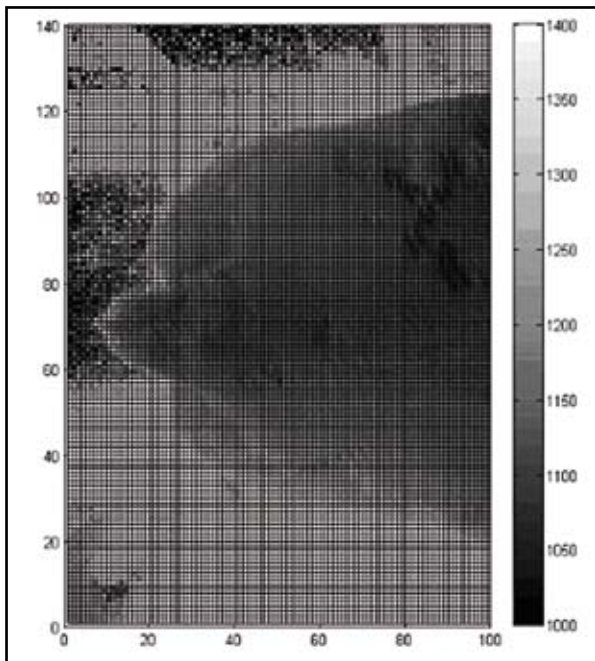
Die Messung der Rückenfettdicke mittels Ultraschall ist im Allgemeinen objektiv und quantitativ unterscheidbar, wodurch Messwerte zwischen verschiedenen Betrieben und Rassen vergleichbar sind. Allerdings ist die RFD-Methode sehr arbeitsintensiv und von der Gerätetechnik abhängig. Die visuelle BCS-Methode hingegen kann je nach Beurteiler stark variieren. Zudem müssen die gewonnenen Daten meist manuell ins Herdenmanagement übertragen werden.

Im Rahmen dieses Projektes soll daher ein dreidimensionales Sensorsystem entwickelt werden, welches die Körperkondition der Milchkuh im Laktationsverlauf automatisch bewertet. Dazu werden auf zwei Versuchsbetrieben Tierdaten der Rassen Fleckvieh und Schwarzbunte erhoben (Tiergewicht, BCS, RFD, Futteraufnahme, Milchleistung, Milchinhaltsstoffe sowie abgeleitete Energiebilanz).

Als optisches Sensorsystem wird eine handelsübliche Echtzeit-3D-Kamera eingesetzt. Diese relativ neue Technologie enthält einen Detektor mit einer integrierten Lichtquelle. Der sonst bei 3D-Aufnahmen übliche Rechenaufwand wird minimiert und die Pixelinformation mit xyz-Koordinaten wird in Echtzeit ausgegeben.

Die derzeit im Projekt verwendeten 3D-Kameras haben eine Bildauflösung von bis zu 175x144 Pixel bei einer Genauigkeit in Z-Richtung von ca. 5 mm bei 7,5 m maximaler Messentfernung.

Im September 2008 wurde an der LfL eine 3D-Kamera am Ausgang des Automatischen Melksystems installiert. Auf dem Versuchsbetrieb der CAU werden seit Januar 2009 Kuhprofile am Austrieb nach dem Melkkarussell aufgezeichnet. Zusätzlich zu den Aufnahmen von sich bewegenden Kühen werden an der LfL seit Oktober 2009 Tiere in einem Anbindestall aufgenommen (Abb.1).



### 3D-Aufnahme des Schwanzansatzes

Kombiniert mit den ermittelten Tierdaten sollen aus den dreidimensionalen Sensorinformationen geeignete Algorithmen abgeleitet und auf das Sensorsystem übertragen werden. Anschließend soll das Komplettsystem im praktischen Betrieb getestet und der Nutzen für das Herdenmanagement bewertet werden.

**Agro-SAW-IDENT - Entwicklung und Erprobung eines Verfahrens zur elektronischen Tierkennzeichnung auf der Grundlage der SAW-Technologie zur Erhöhung der Identifikationsicherheit**

*Agro-SAW-IDENT - Development and testing of a technique for electronic animal identification (EID) based on SAW technology to increase assurance of identification*

#### FKZ

28-1-53.T08-07

#### Laufzeit

01.02.2008 – 31.01.2011

#### Projektnehmer/Institution

SAW COMPONENTS Dresden GmbH

#### Ansprechpartner

Wolfram Berger

#### Kooperationspartner

RSSI GmbH

Schneider Elektronik GmbH & Co. KG

Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie – Abt. 9, Tierische Erzeugung

#### Kurzportrait

Die Identifikation von Nutztierbeständen und Haustieren mit optischen und/oder elektronischen Mitteln ist bereits seit vielen Jahren Stand der Technik und überwiegend zur Anwendung vorgeschrieben. Die elektronische Tierkennzeichnung (ETK) ist dabei die Schlüsseltechnologie auf dem Weg zur Präzisionstierhaltung und den neuen Qualitätsstandards in der Lebensmittelerzeugung. Mit der Nutzung der ETK für die Prozesssteuerung als auch für administrative Aufgaben kann der Landwirtschaftliche Vorteile erwarten.

Die präferierte ETK-Technik ist in den Standards ISO 11 784 und ISO 11 785 aus dem Jahre 1996 festgeschrieben, welche die Funkübertragung, die Funk-Frequenz und die Codestruktur der

Erkennungssignale regeln. Der Funkbetrieb erfolgt im Niederfrequenz-Bereich (LF) bei 125 kHz bzw. 134 kHz.

Nach vielen Jahren der Verfügbarkeit der LF-Technik hält sich ihr Einsatz in der landwirtschaftlichen Praxis immer noch in Grenzen. Gründe hierfür sind in den technisch begrenzten Leistungsmerkmalen für die Lesereichweite und die Signalübertragungsgeschwindigkeit zu benennen. So sind im praktischen Einsatz der LF-Technik die Tiere zu vereinzeln und möglichst kurzzeitig zu fixieren, um bei einer maximalen Readerentfernung von 80 cm eine hinreichende Erkennungsrate zu erzielen.

Im vorzustellenden Projekt werden Forschungs- und Entwicklungsarbeiten auf dem Gebiet der elektronischen Einzeltierkennzeichnung in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung durchgeführt, die folgende Hauptziele haben:

- passive Transponder mit dem Coderaum für die internationale Lebenskennzeichnung,
- hohe Lesereichweite,
- Erkennung der Tiere in Bewegung ohne Fixierung oder Vereinzeln,

so dass ein elektronischer Transponder allen Identifikationsanforderungen gerecht wird, die sich aus der Administration und der Prozesssteuerung ergeben.

Die SAW-Technik (Surface Acoustic Wave), eine Standardtechnik zur Herstellung von elektronischen Bauelementen mit frequenzbestimmenden Eigenschaften eröffnet auch die Möglichkeit, geeignete elektronisch lesbare Codestrukturen für die Tierkennzeichnung zu realisieren. SAW-Transponder haben bereits in Industrieanwendungen ihre Überlegenheit hinsichtlich Lesereichweite bei sich schnell bewegenden Objekten unter Beweis gestellt.

Die am Projekt teilnehmenden mittelständischen Industriepartner verfügen über die Kompetenz auf dem Gebiet der Entwicklung und Herstellung von SAW-Bauelementen, von

spezieller Funk-Abfrage-Technik sowie der Softwareentwicklung und Systemintegration. Die fachliche Begleitung und Erprobung der neuen Tieridentifikation erfolgt durch das Sächsische Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie.

Seit Projektstart im Februar 2008 wurden im Rahmen von Agro-SAW-IDENT Ohrmarken für Rinder, Lesegeräte und Software entwickelt und in ersten Versuchsreihen am Tier und im Praxiseinsatz erprobt. Neben der Lesereichweite und der Erkennungsrate sich bewegender Objekte wurden auch Merkmale der Applikation, des Handlings, der Tierverträglichkeit und der Verlustrate erhoben.

Über das technische Konzept, den erreichten Stand der Projektbearbeitung, die ersten Ergebnisse an Rindern im Stall und die Vorbereitung der Feldversuche wird der Verfasser im Rahmen des Vortrages am 26.11.2009 berichten.

Bereits zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist festzustellen, dass mit Agro-SAW-IDENT auch unter den rauen Umgebungsbedingungen einer Stallhaltung signifikant größere Lesereichweiten bei sich bewegenden Tieren erzielt werden können, als bei der LF-Technik. Ebenso ist die SAW-Technik robust gegenüber elektromagnetischen Störungen durch Stalltechnik und Ausrüstung.

Die Projektpartner erwarten, zum Ende der Projektlaufzeit eine Systemlösung zur elektronischen Tierkennzeichnung mit SAW-Transpondern vorweisen zu können, deren Anwendung

- für Tierhalter eine zuverlässige und wirtschaftliche Alternative darstellt,
- den Haltungsanforderungen der Tiere entspricht,
- administrative Anforderungen erfüllt und
- den international erarbeiteten Empfehlungen des IDEA-Projektes weitgehend gerecht wird.

**„Innovatives Aufruf-Fütterungssystem für tier- und produktionsgerechte Sauenhaltung“**

*An innovative call-feeding system for an animal- and production-friendly keeping of group housed sows.*

**FKZ**

28-1-33.001-07

**Laufzeit**

01.03.2008 – 31.05.2011

**Projektnehmer/Institution**

FBN Dummerstorf, Forschungsbereich Verhaltensphysiologie

**Ansprechpartner**

Prof. Dr. Gerhard Manteuffel

**Kooperationspartner**

Mannebeck PigTek Schüttorf

FLI, Institut für Tierschutz und Tierhaltung

**Kurzportrait**

Die Zielsetzung des Verbundprojekts basiert auf Ergebnissen von Grundlagenuntersuchungen am Forschungsbereich Verhaltensphysiologie des Forschungsinstituts für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN). Dabei wurden Gruppen von acht Jungschweinen mit vier experimentellen Aufruffütterungsständen versorgt und mit Tieren bei konventioneller Trogfütterung verglichen. Die Tiere lernten, einen individuellen akustischen Aufruf zu erkennen und daraufhin den aufrufenden Fütterungsstand aufzusuchen. Nicht gerufene Tiere, für die der Ton keine Bedeutung hatte, weil er niemals mit Futtergabe assoziiert wurde, führten weiterhin ihr jeweiliges Verhalten ungestört aus. Folgen der bis zu 30 mal täglich pro Tier stattfindenden Aufruffütterung waren u.a. eine Reduktion des auf Gruppenmitglieder gerichteten Verhaltens.

Als Ableitung daraus wird im Verbundprojekt der Prototyp eines neuartigen Fütterungssystems für trächtige Sauen entwickelt und unter praxisähnlichen Bedingungen getestet. Verbunden mit einem angepassten Management beabsichtigen wir mit dieser technologischen

Maßnahme Verbesserungen in Bezug auf Tiergerechtheit und –gesundheit in der Sauenhaltung zu erzielen. Die Tiere sollen lernen, einen individuellen akustischen Aufruf zu erkennen und daraufhin den Fütterungsstand aufzusuchen. Es werden alle Individuen einer Gruppe von ca. 40 gleichzeitig im Wartebereich gehaltenen trächtigen Sauen einzeln zum Futterstand gerufen. Bei einer Gesamtfütterungszeit von 15 Stunden und einer individuellen Fresszeit von 9 Minuten pro Aufruf sind bis zu drei Aufrufe pro Tag und Tier möglich. Die individuellen Aufrufe erfolgen zufällig, aber innerhalb eines definierbaren beschränkten Zeitfensters. Dadurch wird gewährleistet, dass die Tiere anhaltend aufmerksam bleiben und gleichzeitig nicht durch zu große Wartezeiten frustriert werden.

Die zu erwarteten Verbesserungen der Tiergerechtheit liegen zum einen in der Vermeidung von Rangauseinandersetzungen vor der Futterstation, weil jeweils nur das aufgerufene Tier zum Füttern kommt. Zum anderen ermöglicht die Aufruffütterung den Tieren eine Kontrollmöglichkeit über einen wesentlichen Aspekt ihrer Haltungsumwelt, da die Fütterung für die Tiere durch den Aufruf vorhersagbar wird und sie zudem sicher sein können, dass sie beim Aufsuchen der Futterstation auch Futter erhalten. Durch die Steuerung wird zusätzlich gewährleistet, dass jedes Tier genügend Futter erhält. Weiterhin wird die sensorische Aufmerksamkeit der Tiere gefördert, was sich vorteilhaft auch auf die Abferkelphase auswirken könnte.

Das Projekt wird in enger Kooperation des Industriepartners PigTec-Mannebeck mit den unterschiedlich ausgerüsteten und spezialisierten Wissenschaftspartnern – Verhaltensphysiologie am FBN und Institut für Tierschutz und Tierhaltung des FLI - durchgeführt. Dabei stellte das Industrieunternehmen beiden Forschungspartnern moderne Abruffütterungsstände inklusive ihrer Kontrollsoftware zur Verfügung und ermöglicht den Zugang zu dem Netzwerk ISOagriNet sowie den benötigten Schnittstellen-Tools.

In der Verhaltensphysiologie (Arbeitsgruppe Tier-Technik-Interaktion) des FBN in Dummerstorf wurde ein kompatibles Steuerungsprogramm für die neuartige Aufruffütterung entwickelt und mit kleinen Sauengruppen getestet. Das erstellte Linux-Programm wurde anschließend auf Rechner im Sauenstall des Instituts für Tierschutz und Tierhaltung in Mecklenhorst transferiert und mit den vorhandenen Stationen verbunden. Diese wurden zusätzlich mit Lautsprechern zum Abspielen der sauindividuellen Rufsignale ausgestattet. Weil infolge des zirkulären Zu- und Abgangs von Einzeltieren (zur Abferkelung, bzw. von der Besamung) die Großgruppe dynamisch ist, können nicht alle Tiere gleichzeitig auf die Aufruffütterung trainiert werden. Neuzugänge kommen daher zunächst in eine homogene Trainingsgruppe, bis die Einzeltiere ihren individuellen Aufruf erkennen. Anschließend gehen sie in die Großgruppe, in der sich bereits trainierte Tiere befinden. In der Anfangsphase des Projekts sind dort noch einige Tiere, die in Kürze abferkeln. Diese werden noch im Abrufmodus gefüttert, weshalb das Steuerungsprogramm beide Fütterungsmodalitäten individuell vorsehen muss. Im Rahmen und im Verlauf dieses Prozesses werden am Institut für Tierschutz und Tierhaltung die optimalen Managementprozeduren für die Aufruffütterung entwickelt.

Neben Verhaltensbeobachtungen werden Parameter der Tiergesundheit sowie Leistungsmerkmale sowohl in einem Kontroll- als auch in zwei Versuchsdurchgängen erhoben. Bisher konnte gezeigt werden, dass gesunde Sauen kein Problem haben, die Aufrufe individuell zu erlernen und mit der Fütterung zu assoziieren. Problematisch gestaltet sich allerdings in der Anfangsphase noch der Übergang, wenn von Abruf auf Aufruffütterung umgestellt wird, da die Tiere hier zusätzlich lernen müssen, dass eine vormals bewährte Verhaltensadaptation, das Warten vor der Station, nicht mehr belohnt wird. Im weiteren Verlauf ist das Management entsprechend weiterzuentwickeln, wobei diese Erfahrungen auch in die erforderlichen Prozeduren der Steuerungssoftware und der Datenbankverwaltung (Sauenplaner) zu integrieren sind.

Kontinuierliche Erfassung, Aufbereitung und Weiterleitung von Daten zum Mikroklima in Straßenfahrzeugen für lange Transporte von Rindern und Schweinen

*Continuous monitoring, processing and transmitting of data concerning the microclimate in road vehicles for long transports of cattle and pigs using sensor systems for practical conditions*

**FKZ**

28-1-53.T01-07

**Laufzeit**

01.11.2007 – 31.10.2009

**Projektnehmer/Institution**

FLI, Institut für Tierschutz und Tierhaltung

**Ansprechpartner**

Michael Marahrens

**Kooperationspartner**

TiHo, Institut für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie

**Kurzfassung der Ergebnisse**

Ziel dieser Untersuchung ist die technische Umsetzung der Vorgaben der Verordnung (EG) 1/2005 zum Mikroklima auf Transportfahrzeugen für Rinder und Schweine einschließlich der Erprobung unter Praxisbedingungen im Sommer und Winter.

Im Projekt sollen Bauart, Mindestanzahl und Lokalisation der Temperatursensoren in den Ladebuchten erfasst werden und Handlungsanweisungen für Transportplanung und -durchführung erstellt werden.

Anhand der wissenschaftlichen Begleitung von jeweils 14 kommerziellen langen Straßentransporten werden die mikroklimatischen Bedingungen in Rinder- und Schweinetransportern in Abhängigkeit vom Außenklima untersucht und die Auswirkung auf die Tiere eingeschätzt.

Im Tierbereich sind je nach Ladeetage und Position der Bucht auf der Etage (vorn/hinten)



unterschiedliche Bereiche extremer klimatischer Bedingungen zu erwarten, die wiederum in Abhängigkeit von der Fahrtaktivität des LKW variieren können. Die Verordnung (EG) Nr. 1/2005 fordert die Definition dieser Bereiche „extremer Klimabedingungen“, in denen die Sensoren zur Erfassung der Temperaturen anzubringen sind.

Zur Charakterisierung des Mikroklimas in den einzelnen Bereichen des Transportfahrzeuges erfolgt eine umfangreiche Datenerhebung, um eine Aussage zur benötigten Anzahl und Lokalisation der Temperatursensoren im Transportfahrzeug machen zu können. Entsprechend den Strömungsverhältnissen im Fahrzeuginnern befindet sich der Bereich niedriger Temperaturen (relevant in der Wintersaison) eher im hinteren Abschnitt des Fahrzeuges, während der Bereich höchster Temperaturen eher in vorderen Abschnitten zu erwarten ist. Es müssen deshalb die Untersuchungen im Sommer und im Winter durchgeführt werden.

An 16 Positionen im Rindertransporter (Messkanäle auf 2 Ladedecks) und an 24 Positionen im Schweinetransporter (12 Messkanäle auf 3 Ladedecks) werden Temperatur, relative Luftfeuchte und Luftbewegung gemessen. Pro Deck sind jeweils 4 Messkanäle quer zur Fahrtrichtung in regelmäßigen Abständen (vorn, vorderer Abschnitt, hinterer Abschnitt, hinten) zwischen Buchtenabtrennung und Decke installiert. In den Messkanälen sind die Sensoren jeweils in der Mitte des Fahrzeuges und an der rechten Außenseite des Messkanals installiert. Zur Absicherung einer gleichen Luftverteilung auf beiden Seiten des Fahrzeuginnern befinden sich in einigen Messkanälen Sensoren auch auf der linken Seite.

Zur Beurteilung des Außenklimas werden Temperatur und relative Luftfeuchte an zwei Messorten außerhalb des LKW erfasst. Da auch Fahrtgeschwindigkeit, Windgeschwindigkeit und Windrichtung einen Einfluss auf die Lüftungsverhältnisse im Fahrzeug haben,

werden auch diese Parameter aufgezeichnet (letztere nur im Stand). Die Laufzeit der Ventilatoren und der Öffnungszustand der Lüftungsklappen werden dokumentiert. Darüber hinaus werden gezielt Parameter, die für die Thermoregulation der Tiere in den Fahrzeugen eine Bedeutung haben, wie die Vorwärts- und Seitenbeschleunigungen und Vibrationen (physische Belastung der Tiere) des Fahrzeuges dreidimensional an drei Messstellen vorn unten und oben sowie hinten unten am Fahrzeug aufgezeichnet. Ein Strahlungssensor auf dem Dach des LKW liefert Aussagen zu Umfang und Dauer der Sonneneinstrahlung. Alle Messwerte werden im Minutentakt erhoben, elektronisch gespeichert und für die statistische Auswertung aufbereitet.

Am Tier werden Herzfrequenz (HF, Polar Electro Oy, Kempele, Finnland) und die Körpertemperatur (Rind: Pillbox98® - Logger, Fa. Driesen + Kern, Bad Bramstedt; Schwein: I-Buttons®, Maxim, Dallas, USA) kontinuierlich während des gesamten Transportes im Minutenintervall aufgezeichnet. Anhand von Videoaufzeichnungen einer Infrarotkamera in den 4 Buchten, in denen die Versuchstiere untergebracht sind (vorn oben, hinten oben, vorn unten und hinten unten), erfolgt eine Beurteilung des Liegeverhaltens der Tiere. Eine weitere Kamera befindet sich im Fahrerhaus des LKW zur Beobachtung der Straßenverhältnisse im jeweiligen Transportabschnitt. Zur Untersuchung der stoffwechselrelevanten Thermoregulation erfolgen Blutentnahmen 12 Stunden vor, unmittelbar vor, unmittelbar nach und 12 Stunden nach dem Transport: Glukose,  $\beta$ -Hydroxybutyrat und freie Fettsäuren geben einen Aufschluss über den Energiestoffwechsel der Rinder, während bei Schweinen neben Glukose auch Laktat untersucht wird. Laktat, Kreatinkinase, LDH und Cortisol geben Aufschluss über physische und psychische Belastung. Natrium-, Magnesium-, und Kaliumionenkonzentration, Hämatokrit und Gesamtprotein dienen der Untersuchung des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes. Der Wasserverbrauch der Tiere wird

mit Durchflussmessern in der Tränkeanlage kontinuierlich aufgezeichnet.

Bisher wurden im Rahmen des Projektes 12 kommerzielle Ferntransporte begleitet bzw. durchgeführt. Im Winter 2008/09 sind 4 Rindertransporte mit dem Ziel Ukraine und ein Schweinetransport auf einem Rundkurs in Deutschland untersucht worden. Im Sommer 2009 wurden 2 Rindertransporte mit den Zielen Südfrankreich und Kroatien und 5 Schweinetransporte nach Ungarn begleitet. Im Winter 2009/2010 und im Sommer 2010 sollen die noch ausstehenden Transporte durchgeführt und untersucht werden.

Die Datenaufbereitung und die statistische Analyse erfolgt mit Hilfe einer Datenbank in Zusammenarbeit mit dem Institut für Epidemiologie des Friedrich-Loeffler-Institutes in Wusterhausen. Es wird erwartet, dass mit den gewonnenen Erkenntnissen kritische Punkte zum Mikroklima im Tiertransportgeschehen benannt werden und Modelle zum Einfluss der klimatischen Außenverhältnisse auf die thermischen Bedingungen im Fahrzeuginnen entwickelt werden können, mit denen Rückschlüsse auf die thermische Belastung der Tiere im Transportgeschehen gezogen werden können. Daraus kann ein Pflichtenheft für die Vorausplanung von tierschutzgerechten Tiertransporten in warme oder kalte Klimagebiete erstellt werden.

# Innovationen im Bereich Fleischwirtschaft

„Objektive Bewertung der Qualität von Frisch- und Tiefkühlfleisch mittels Hochfrequenztechnologie“

*„Selected results of a research project on objective assessment of the quality of fresh and frozen meat employing high frequency electromagnetic wave measurements. Detection of water binding additives in poultry, assessment of the storage time of frozen pork belly, freshness testing of poultry, discrimination between fresh once and twice frozen pork chop“*

## **FKZ**

28-1-61.003-07

## **Laufzeit**

01.02.2008 – 31.01.2011

## **Projektnehmer/Institution**

Sequid GmbH

## **Ansprechpartner**

Boris Oberheitmann

## **Kooperationspartner**

Max-Rubner Institut

Schwarz Cranz GmbH & Co KG

Deutsche See GmbH

B.&C. Tönnies Fleischwerk GmbH & Co KG

Institut Dr. Erdmann GmbH

## **Kurzportrait**

Das Projekt hat das Ziel, die Einsatzmöglichkeiten der SEQUID® Hochfrequenzmesstechnologie im Bereich der Qualitätsbewertung von Fleisch zu ergründen.

Im Einzelnen werden die Ergebnisse von Experimenten zu folgenden Fragestellungen dargestellt:

- 1.) Nachweis von Wasser bindenden Zusätzen in Geflügelfleisch
- 2.) Abschätzung der Tiefkühlagerzeit von Schweinebauch
- 3.) Frischebewertung von Geflügelfleisch
- 4.) Unterscheidung von frischem, einmal und zweimal aufgetautem Schweinekotelett

## **Nachweis von Wasser bindenden Zusätzen in Geflügelfleisch**

Geflügelfleisch, das mit einem Nadelinjektor mit Salz oder handelsüblichen Phosphaten behandelt wurde, zeigte andere dielektrische Eigenschaften als Unbehandeltes. Die Anzahl der Proben, die mit der Methode korrekt als behandelt bzw. unbehandelt klassifiziert wurde, liegt bei Salz- bzw. Phosphatbehandlung zwischen 80 und 100%.

Dies konnte in unabhängigen Experimenten bei den Projektpartnern Tönnies und MRI gezeigt werden.

## **Abschätzung der Tiefkühlagerzeit von Schweinebauch**

Die Tiefkühlagerzeit von Schweinebauch wurde bei verschiedenen Temperaturen (-12, -18 und -25°C) untersucht. Die Lagerdauer konnte innerhalb der ersten 130 Tage mit einer Genauigkeit von 15-17 Tagen bestimmt werden.

## **Frisebewertung von Geflügelfleisch**

Geflügelfleisch, das über 20 Tage gekühlt gelagert wurde, konnte mit der SEQUID® Technologie mit einer Genauigkeit von 2 Tagen bestimmt werden. Das Ergebnis zeigte einen linearen Korrelationskoeffizient von 89,6% zwischen der tatsächlichen Lagerdauer und der

aufgrund der Messung abzuleitenden Lagerdauer.

#### **Unterscheidung von frischem, einmal und zweimal aufgetautem Schweinekotelette**

Schweinekoteletts, frisch, einmal aufgetaut und zweimal aufgetaut ließen sich aufgrund ihrer dielektrischen Eigenschaften mit der Hauptkomponentenanalyse von einander unterscheiden.

Die ersten Ergebnisse zeigen eine prinzipielle Eignung der Technologie, um die unterschiedlichen Qualitäten zu ermitteln. Im weiteren Projektverlauf werden Hard- und Softwarekomponenten verbessert, um störende Einflüsse zu eliminieren. Verschiedene Sondendesigns wurden getestet.

AIDA-Allianzen für Informations- und Dienstleistungsagenturen zur horizontalen Bündelung von Koordinierungsaufgaben im Qualitäts-, Gesundheits- und Risikomanagement der Fleischwirtschaft

*AIDA - Alliances for a horizontal coordination of information and service agencies concerning quality, health and risk management tasks within the meat economy*

#### **FKZ**

28-1-61.012-07

#### **Laufzeit**

01.10.2008 – 30.09.2010

#### **Projektnehmer/Institution**

Grenzüberschreitende Integrierte Qualitätssicherung e.V. (GIQS e.V.)

#### **Ansprechpartner**

Prof. Dr. Brigitte Petersen

Dr. Adriane Mack

#### **Kooperationspartner**

Rheinische Friedrich-Wilhelms  
Universität Bonn,  
Institut für Tierwissenschaften, Abteilung  
Präventives Gesundheitsmanagement

Georg-August Universität Göttingen,  
Department für Agrarökonomie und rurale  
Entwicklung

Gruppe West

Erzeugergemeinschaft für Qualitätsferkel  
im Raum Osnabrück eG

Raiffeisen Viehvermarktung Werne  
GmbH & Co. KG

Erzeugergemeinschaft für Qualitätsvieh  
Hümmling e.G.

Raiffeisen-Vievermarktung Ganderkesee-  
Wildeshausen eG

Erzeugergemeinschaft für Qualitätsvieh im Oldenburger Münsterland EG

Gruppe Süd

NVG-bovex GmbH

Viehzentrale Südwest GmbH

Mitteldeutsche Schlachtvieherzeugergemeinschaft w.V.

Gruppe Nord

Vermarktungsgemeinschaft für Zucht- und Nutztvieh ZNVG eG

Stader Saatzucht eG

Erzeugergemeinschaft für Qualitätstiere Syke-Bassum eG

Viehvermarktung Walsrode-Rethem eG

Initiator: Deutscher Raiffeisenverband e.V.

### Kurzportrait

Ziel des Verbundprojektes AIDA ist die Stärkung der Wettbewerbsfähigkeit einer zweistufigen tierischen Veredelungswirtschaft durch technische und organisatorische Innovationen in der Aufbau- und Ablauforganisation überbetrieblicher Qualitäts-, Gesundheits- und Risikomanagementsysteme von genossenschaftlich organisierten Viehvermarktern. Zwölf der bedeutendsten Viehverwertungsgenossenschaften und Erzeugergemeinschaften aus Deutschland (größtenteils KMU) haben sich mit den Universitäten Bonn und Göttingen zusammen geschlossen, um gemeinsam Innovationen für die Erweiterung des Dienstleistungsangebotes im Qualitäts- und Risikomanagement zu entwickeln. Tierhaltende Betriebe erhalten über überbetriebliche Kommunikationssysteme und Beratungsdienstleistungen Informationen für fehlervermeidende und kostensenkende Aufgaben. Viehverwertungsgenossenschaften (VVG) und Erzeugergemeinschaften (EZG) erweitern damit ihr traditionelles Dienstleistungsangebot, um künftig die Rolle von Netzwerkintegratoren im Lieferantenmanagement Fleisch erzeugender Ketten zu übernehmen. Die Entwicklung und

Erprobung technischer und organisatorischer Lösungen erfolgt parallel in drei geographisch und organisatorisch voneinander getrennten Gruppen von Projektpartnern mit der Konzentration auf jeweils eine Schwerpunktaufgabe.

### Gruppe Süd

Die Gruppe Süd wird wissenschaftlich begleitet durch das Department für Agrarökonomie und rurale Entwicklung der Universität Göttingen und besteht aus drei Unternehmen der genossenschaftlichen Viehvermarktung. Sie konzentriert sich auf die Profilbereiche vernetzte Logistik und Kundenbeziehungsmanagement [Customer Relationship Management (CRM)]. Durch den Einsatz einer vernetzten Softwarelösung sollen Verbesserungen beim Vermarktungsprozess entstehen. Ziel ist es, die Vermarktungskosten von Nutz- und Schlachttieren zu reduzieren, insbesondere vor dem Hintergrund der in Süddeutschland klein strukturierten Betriebe, sehr differenzierten Nutz- und Schlachttierqualitäten sowie ausgeprägten Mengenschwankungen. Im Bereich Logistik wird dies realisiert durch den Einsatz eines Mengenverwaltungsmoduls, einer Dispositionssoftware und von Telematik. Die Mengenverwaltung stellt ein dem Dispositionsprogramm vorgeschaltetes Modul dar. In diesem Modul soll die Planung der Vermarktung elektronisch unterstützt werden. Aufgrund der Rechnungs-/Abrechnungsdaten aus SAP werden für jeden Betrieb Prognosen erstellt. Diese Prognosen dienen als Grundlage für Vermarktungsvorschläge. Die Dispositionssoftware ermöglicht der Gruppe Süd eine Optimierung der Tourenplanung und die direkte Kommunikation mit den Fahrzeugen. Gleichzeitig laufen hier alle wichtigen Informationen aus der Mengenverwaltung (Aufträge) und den Telematikgeräten (Ortung, Tourverläufe und elektronisch erfasste Auftragsdaten) zusammen. Basierend auf einer Status-quo-Befragung zum Customer Relationship Management (CRM) von Anfang 2008 erarbeiten die Wissenschaftler der Universität Göttingen eine Typologie der Viehhandelskunden, die eine an die individuellen Be-

dürfnisse der Mitglieder angepasste, proaktive Weiterentwicklung des Dienstleistungsprofils in den Bereichen Qualitätssicherung und Gesundheitsmanagement ermöglicht. Die von der Gruppe Süd implementierte CRM- und Logistiksoftware trägt in diesem Zusammenhang nicht nur zur Reduzierung der Vermarktungskosten bei, sondern ist auch ein wichtiges Instrument zur Generierung von aktuellem Wissen über die Kunden und deren Anforderungen.

### **Gruppe West**

In der Gruppe West arbeiten fünf Unternehmen unter wissenschaftlicher Begleitung des Departments für Agrarökonomie und rurale Entwicklung der Universität Göttingen an der Einführung und Anpassung einer einheitlichen und integrierten IT-Systemplattform zur Unterstützung von für genossenschaftliche Viehvermarkter typischen Geschäftsprozessen. Die Plattform dient als Basis, um später überbetriebliche Geschäftsprozesse, ein gemeinsames EDV-gestütztes Benchmarking sowie Marketing- und Kundenbindungsstrategien koordinieren zu können. Hierzu wurde ein gemeinsames Pflichtenheft erstellt und für die Erprobungsphase geeignete Hardwarekomponenten installiert. Parallel zu den erforderlichen Systemschulungen wurden Kundendaten angepasst und ein einheitlicher Kontenrahmen im Hinblick auf das spätere gemeinsame Benchmarking entworfen. Für die Verwaltung der Mitgliedschaften wurde ein neues Konzept erarbeitet und nach ausführlicher Testphase als neues Modul „Genossenschaftsverwaltung“ in die Warenwirtschaftssysteme der Projektpartner implementiert. Die Prozesse der Viehanmeldung, Vermarktungsmengenplanung und Transportdisposition werden mit Erstellung von Begleitdokumenten in einem System zusammengeführt und als neues Modul, dem sogenannten „Disposition-Monitor“ entwickelt. Diese Innovation steht am Ende der Testphase und wird in Kürze an die individuellen Anforderungen der Projektpartner angepasst. Ein von der Uni Göttingen erstelltes Kennzahlensystem zum Benchmar-

king wird über die gesamte Projektlaufzeit weiterentwickelt und angepasst. In der Endphase des Projektes werden die Marketing- und Kundenbindungskonzepte konkretisiert. In ersten Workshops wurden zunächst die bereits eingesetzten Marketinginstrumente der Projektpartner verglichen und bewertet. Basierend auf den Ergebnissen der Status-quo-Befragung von Anfang 2008 und weiteren aktuellen Marktanalysen durch die Uni-Göttingen werden die bestehenden Marketingaktivitäten optimiert und weitere gemeinsame Maßnahmen definiert. Derzeit wird geprüft, inwieweit mit den neuen Leistungsbereichen, wie auch der überbetrieblichen Vermarktungssoftware die Kundenzufriedenheit verbessert und sich die Wechselbereitschaft der Mitglieder senken lässt. Darüber hinaus zeichnen sich stufenübergreifende Koordinationsaufgaben ab, für die innovative Geschäftsmodelle konzipiert werden.

### **Gruppe Nord**

Vier Erzeugergemeinschaften arbeiten zusammen mit der Abteilung Präventives Gesundheitsmanagement der Universität Bonn an einem Konzept für ein vernetztes Gesundheitsmanagement an den Nahtstellen Zucht bis Mast. Darauf aufbauend planen sie Qualitätsmanagementmodelle für EZG und VVG zur Unterstützung überbetrieblicher Tiergesundheitsmanagementaufgaben. In Erprobung ist derzeit eine internetbasierte Datenbank, in der Befund- und Betriebsdaten abgespeichert und zu entscheidungs-relevanten Informationen für eine nutzerspezifische Auswertung bereit gestellt werden. Im Vordergrund mehrerer Versuchsreihen in Pilotbetrieben steht, den Ablauf eines Audit- und Zertifizierungsverfahrens hinsichtlich des Gesundheitsstatus von tierhaltenden Betrieben und Tiergruppen zu testen. Die Untersuchungsparameter und -frequenzen sowie Analysemethoden werden im Projekt variiert, um Eckdaten für den Umfang und den Ablauf risikoorientierter Stuserhebungen und Kosten-Nutzen-Betrachtungen zu erhalten. In die Bewertung aufgenommen wird, in

wieweit die Statusermittlung in Verbindung mit der Statuskommunikation langfristig das Handelsrisiko minimieren und das Image insbesondere deutscher Ferkel verbessern kann. Die Projektgruppe nutzt ein von der Universität Bonn entwickeltes Planungsmodell (ABE-Modell), um, unterstützt von fünf Templates und vier Softwaretools, ein kundenorientiertes Dienstleistungsprofil im überbetrieblichen Gesundheitsmanagement zu erarbeiten.

Das übergeordnete Ziel des Verbundprojektes AIDA ist die Stärkung der beteiligten VVG und EZG in ihrer Brückenfunktion zwischen Primärproduktion und den Verarbeitungsstufen. Die hier gemeinsam entwickelten innovativen, technischen und organisatorischen Lösungskonzepte versetzen die Handelsorganisationen in die Lage, die Rolle von Netzwerkintegratoren zu übernehmen und sich zu Informations- und Dienstleistungsagenturen zusammen zu schließen.

„Verbesserung von Qualitäts- und Risikomanagementsystemen mit Hilfe einer Informationsplattform für die Vieh- und Fleischwirtschaft zur Reduzierung von Eintragsquellen in die fleischerzeugende Produktionskette“

*Improvement of quality and risk management systems with an internet based information platform for the livestock and meat industry to reduce negative impacts in the meat processing supply chain*

**FKZ**

28-1-61.007-07

**Laufzeit**

20.06.2008 – 19.06.2011

**Projektnehmer/Institution**

Fleischprüfing Bayern e.V.

**Ansprechpartner**

Hr. Schoberth

Hr. Kagerer

**Kurzportrait**

Der Fleischprüfing Bayern e.V. entwickelt im Rahmen des Projektes eine EDV-Systematik deren Ziel es ist den Datenaustausch zwischen allen Marktpartnern im Bereich der Vieh- und Fleischerzeugung zu verbessern.

Aufgabe dieses Projektes ist es, über eine internetgestützte Informationsplattform den Beteiligten der Vieh- und Fleischwirtschaft gebündelt und einheitlich wichtige Produkt-, Prozess- und Qualitätsdaten, die das Produkt Vieh oder Fleisch betreffen, schnell in aufbereiteter Form umfassend zur Verfügung zu stellen, um mögliche Eintragsquellen in die fleischerzeugende Produktionskette sicher zu erkennen und abzustellen.

Über ein Netzwerk von landwirtschaftlichen Erzeugern, Anlieferern, verarbeitenden Betrieben, Institutionen zur Qualitätssicherung, Forschung und Vermarktung sowie assoziierten

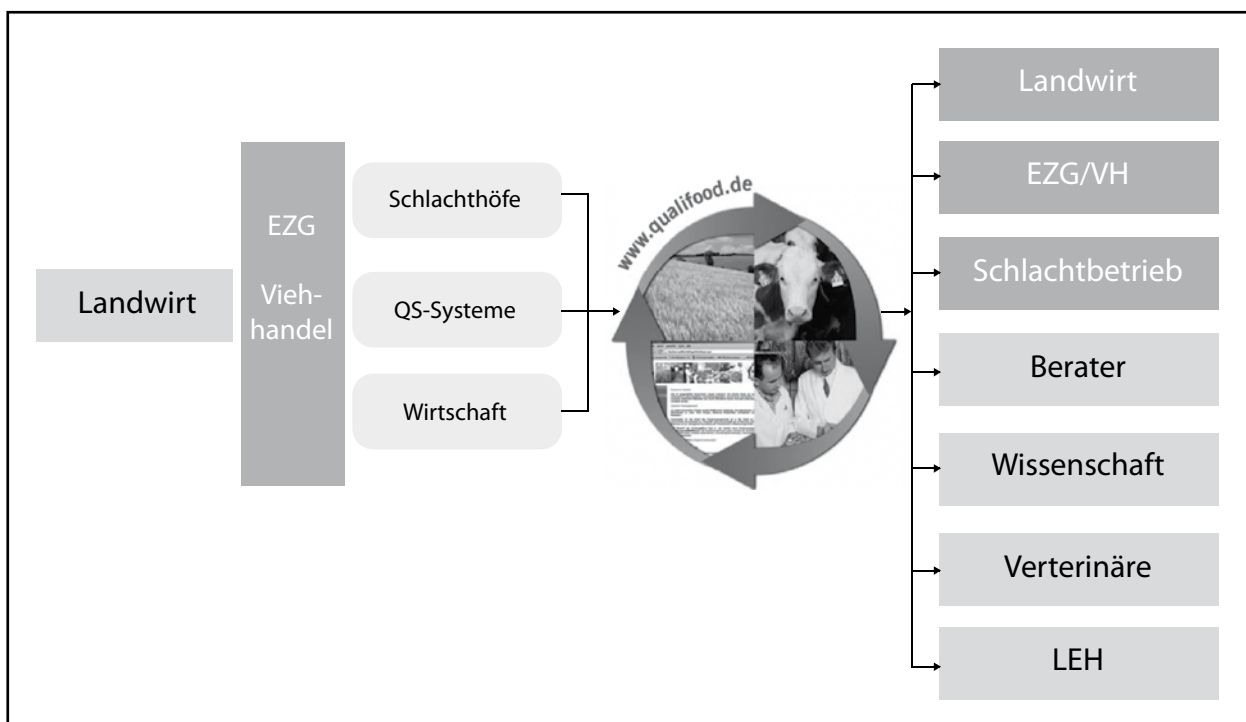
Industrien und Dienstleistern in der fleischerzeugenden Wertschöpfungskette sollen durch eine Verbesserung der Qualitäts- und Risikomanagementsysteme auf Basis gesammelter Produktionsdaten und Erkenntnissen aus dem Erzeugungsprozess Wettbewerbsvorteile für alle Partner erreicht werden.

Diese Informationsplattform wird modular aufgebaut. Sie besteht aus einer Basisplattform in der die relevanten Schlacht- und Qualitätsdaten erfasst und für zu entwickelnde weitere Module gespeichert, archiviert und aufbereitet werden. Diese Module erfüllen vorwiegend den Zweck die Daten aus der Basisplattform zu übernehmen und für entsprechende Anwendungsapplikationen bereitzustellen. Als Module werden hier bis zum Projektende Mitte 2011 ein Beratungsmodul, ein Modul zum Hygienemanagement und ein Modul Auditmanagement entwickelt.

Die stufenübergreifende Dokumentation und Bereitstellung von qualitäts- und sicherheitsrelevanten Daten entlang der Wertschöpfungskette ist die Voraussetzung für die Erfüllung der Sorgfaltspflicht in Bezug auf die generelle

Produktsicherheit und Herkunftssicherung. Dieses Online-Managementsystem soll auf effiziente und effektive Weise diese Informationen für die Land- und Fleischwirtschaft koordinieren. Dabei werden alle relevanten Daten autorisiert über eine ganzheitliche Infoplattform den entsprechenden Nutzergruppen bereitgestellt.

Die gleichzeitige Integration in ein zentrales System ist für die Ketteninformationen sowohl für Qualitätsprogramme als auch für die Umsetzung des EU-Hygienepaketes von fundamentaler Bedeutung. Außerdem werden durch die zusammengeführte Bereitstellung der unterschiedlichen Module und Parameter Synergieeffekte geschaffen. Zukünftig kann durch die Nutzung des Managementsystems ein Großteil der Informationen in Bezug auf die Lebensmittelsicherheit zur Lebensmittelkette in elektronischer Form bereitgestellt werden. Die Daten stehen schnellstmöglich und direkt zur Verfügung und können unmittelbar für Entscheidungen und zur Prozesssteuerung herangezogen werden. Für den Landwirt ist es wichtig, frühzeitig derartige Informationen zu erhalten, um die richtigen betrieblichen Entscheidungen treffen zu können.





Die Beteiligten wie z.B. Landwirte, Beratungsorganisationen, Viehhandel, Erzeugergemeinschaften, Schlacht-/ Zerlegebetriebe speisen individuelle Informationen durch die Produktion und Anlieferung von Schlachttieren an den Schnittstellen in eine zentrale Datenbank ein und erhalten wiederum in aufbereiteter und gebündelter Form Daten zur Qualitätssicherung, Rückverfolgbarkeit und Produktionsverbesserung zur Verfügung gestellt.

Als Beispiel lassen sich hier Veterinärdaten von Schlachttierkörpern nennen, die im Rahmen des Schlachtprozesses gewonnen werden und auf Risikopotentiale und Verbesserungsansätze in der landwirtschaftlichen Produktion in Form der Tierhaltung bzw. baulicher Gegebenheiten hinweisen können. Organe, die im Rahmen der Fleischhygieneuntersuchung verworfen werden, sind sowohl für den Schlachtbetrieb als auch für den Landwirt zunehmend ein wirtschaftlicher Faktor, sollten sie als genusuntauglich eingestuft werden. Eine erhöhte Quote an verworfenen Organen gibt Hinweise auf zu verbessernde Produktionsbedingungen (z.B. Lungen  $\leftrightarrow$  Lüftung). Bei Erreichen von kritischen Schwellenwerten im Bereich der Schlacht-, Qualitäts- oder Hygienedaten, die in der fleischerzeugenden Kette entstehen, erfolgt zunächst eine Warnmeldung an die Beteiligten. Bei Überschreitung von Maximalwerten wird eine automatische Information generiert, die einer Beratungsorganisation als Auslöser für eine Maßnahme aus dem Infomanagementsystem übermittelt wird.

Durch die Datenvernetzung über eine Informationsplattform können zukünftig diese Daten dem Landwirt, seiner Beratungsorganisation oder wissenschaftlichen Stellen zur Analyse und Produktionsverbesserung automatisiert und schneller weitergeleitet werden. Diese Informationen geben dem Landwirt die Möglichkeit potentielle Eintragsquellen zu analysieren und abzustellen. Auf diese Weise können die entsprechenden Maßnahmen schnell eingeleitet werden, die zu einer Produktivitätsstei-

gerung führen (z.B. höhere Tageszunahmen, reduzierter Medikamenteneinsatz). Neben den wirtschaftlichen Vorteilen, die aus einem solchen System resultieren, wird auch ein Beitrag zum Tier- und Verbraucherschutz geleistet, da beispielsweise der Arzneimitteleinsatz vermindert werden kann.





## Impressum

### **Herausgeberin**

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung  
Anstalt des öffentlichen Rechts  
Deichmanns Aue 29, 53179 Bonn  
Telefon: +49 (0)228 99 6845-0  
Telefax: +49 (0)228 6845-3444  
Internet: [www.ble.de](http://www.ble.de)  
E-Mail: [info@ble.de](mailto:info@ble.de)

### **Gestaltung**

Pressestelle

### **Bildnachweis**

[photocase.com](http://photocase.com)  
BLE

### **Druck**

MKL Druck GmbH & Co. KG, Ostbevern/W