

# Forschungsbericht

Nr. 164

Erweitertes Untersuchungsspektrum der Matrix  
Fleischsaft zur Beurteilung des Gesundheitsstatus von  
Schlachtschweinen vor dem Hintergrund der  
risikoorientierten Schlacht tieruntersuchung

Verfasser:

Dr. Susanne Plattes

Dipl.-Ing. agr. Thorsten Klauke

staatl. gepr. Lebensmittelchemiker Jochen Fischer

Dr. Detert Brinkmann

Prof. Dr. Mattias Wüst

Prof. Dr. Brigitte Petersen

**Institut für Tierwissenschaften**  
**Präventives Gesundheitsmanagement**

**Herausgeber:** Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meckenheimer Allee 172 15, 53115 Bonn  
Tel.: 0228 – 73 2285; Fax.: 0228 – 73 1776  
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen  
Bonn, August 2011

ISSN 1610-2460

**Projektleitung:** Prof. Dr. Brigitte Petersen

**Projektbearbeiter:** Dipl.-Ing. agr. Thorsten Klauke  
Dr. agr. Detert Brinkmann  
Dr. med. vet. Susanne Plattes

Institut für Tierwissenschaften  
Abteilung Präventives Gesundheitsmanagement  
Katzenburgweg 7-9  
53115 Bonn

Prof. Dr. Mattias Wüst  
staatl. gepr. Lebensmittelchemiker Jochen Fischer

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften  
Abteilung Bioanalytik  
Endenicher Allee 11-13  
53115 Bonn

**Zitiervorschlag:**

PLATTES, S., KLAUKE, T., FISCHER, J., BRINKMANN, D., WÜST, M. UND B. PETERSEN (2011): Erweitertes Untersuchungsspektrum der Matrix Fleischsaft zur Beurteilung des Gesundheitsstatus von Schlachtschweinen vor dem Hintergrund der risikoorientierten Schlachtieruntersuchung. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, 164, 38 Seiten.

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Problemstellung/Wissensstand .....	2
1.2 Zielsetzung.....	8
2. Material und Methoden.....	9
2.1 Tiermaterial .....	9
2.2 Fleischsaftprobenentnahme .....	10
2.3 Prüfparameter .....	10
2.4 Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) zur Analyse von Indol und Skatol.....	11
2.5 sam <sup>®</sup> 5 Biosensor.....	12
2.6 Statistische Auswertung .....	13
3. Ergebnisse und Diskussion .....	14
3.1 Qualitätsparameter.....	14
3.2 Lebensmittelsicherheitsrelevante Parameter .....	16
3.3 Tiergesundheitsrelevante Parameter.....	17
3.4 Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio .....	19
3.5 Eignung des Biosensors sam <sup>®</sup> 5 zur online Bestimmung der Hp-Konzentration.....	20
3.6 Bewertung des Informationsgehaltes verschiedener Prüfstrategien.....	20
4. Zusammenfassung.....	25
5. Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis.....	26
6. Literaturverzeichnis .....	27
7. Anhang.....	32
8. Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten .....	34
9. Mitteilung über evtl. schützenswerte Nutzungsrechte .....	34
10. Liste über Veröffentlichungen .....	35
11. Liste über Vorträge.....	35
12. Liste über Pressemitteilungen .....	35
13. Liste über Posterpräsentationen, Vorführungen und Demonstrationen .....	35
14. Kurzfassung in Deutsch und Englisch .....	36

## Tabelle und Abbildungen

### Abbildungen

Abb. 1: Modell für die Qualitätskommunikation .....	2
Abb. 2: Schematischer Aufbau des eingesetzten sam <sup>®</sup> 5 Biosensors .....	5
Abb. 3: Ebergeruchsstoffe: Androstenon (1), Skatol (2) und Indol (3) .....	6
Abb. 4: Modell „gestörter Informationskanal“ mod. SHANNON (1949) .....	8
Abb. 5: Fleischprobenentnahme aus dem Zwerchfellpfeiler (QS GmbH).....	10
Abb. 6: Schematischer Versuchsablauf der Fleischsaftanalytik mittels SIVA .....	11
Abb. 7: Schematische Darstellung der Oberflächenstruktur des Biorezeptors .....	13
Abb. 8: Regressionsgeraden für die Kalibration von Skatol und Indol in Fleischsaft.....	15
Abb. 9: Regressionsgeraden der Gehalte von Skatol und Indol in Fleischsaft und Nackenspeck.....	16
Abb. 10: Lebensmittelsicherheitsrelevante Parameter (Anteil positiv getesteter Tiere).....	17
Abb. 11: Tiergesundheitsrelevante Parameter (Anteil positiv getesteter Tiere) .....	18
Abb. 12: Vergleich der Haptoglobinkonzentrationen (in µg/ml) im Fleischsaft der Versuchstiere der Betriebe A und B.....	18
Abb. 13: Gegenüberstellung ermittelter Hp-Konzentrationen mittels ELISA und Biosensor .....	20
Abb. 14: Darstellung des Tests als binärer, diskreter, gestörter Informationskanal nach Shannon (1949) am Beispiel T <sub>3</sub> .....	22
Abb. 15: Zeitgewinn für die Entscheidungsfindung durch Messung mittels Biosensor .....	26

### Tabellen

Tab. 1: Auswahl einiger Parameter mit potentielltem Nachweis im Fleischsaft .....	3
Tab. 2: Merkmale der Mastbetriebe A und B.....	9
Tab. 3: Zusammenstellung der aus dem Fleischsaft analysierten Prüfparameter .....	10
Tab. 4: Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio (Haptoglobinkonzentration versus Tiergesundheits- sowie Lebensmittelsicherheitsrelevante Parameter) .....	19
Tab. 5: Häufigkeiten der Prüfergebnisse und Risiken in einer Entscheidungsmatrix.....	21
Tab. 6: Beschreibung der Prüfverfahren zur Überprüfung des Shannon-Modells zur Vorhersage möglicher Risiken bezüglich der Lebensmittelsicherheit.....	22
Tab. 7: Zusammenfassung der Bewertungsparameter für Tests zur Vorhersage von Risiken .....	24

### Anhang:

Tab. A1: Mastleistung.....	32
Tab. A2: Schlachtleistung .....	32
Tab. A3: Geruchsparameter .....	33

## 1. Einleitung

Die konventionelle Landwirtschaft muss die Balance zwischen marktorientierter Erzeugung, qualitativ hochwertigen Produkten und nachhaltiger Produktion halten. Auch die Bedürfnisse der Tiere werden immer stärker berücksichtigt, wozu auch die Kritik von Tierschützern und Verbrauchern an den Haltungsbedingungen beigetragen hat. Ökologie und Ökonomie müssen sich nicht widersprechen: Tiere, die sich wohl fühlen, bringen gute Leistungen (ELFRICH & ROESICKE 2010).

Eine transparente Produktion sowie die Forderungen informierter und interessierter Verbraucher führen zu veränderten Anforderungen, insbesondere bezüglich Lebensmittelsicherheit und hoher Qualitätsstandards. Um diesen Anforderungen gerecht werden zu können, stützen sich moderne landwirtschaftliche Unternehmer bereits seit Beginn des zweiten Jahrtausends auf Datenverarbeitungstechniken um ihren Betrieb zu managen. Neben dem Management gewinnen IT-gestützte Systeme zunehmend auch im Rahmen der Prävention an Bedeutung. Verfügbare technische Lösungen sind allerdings bislang nicht oder nur vereinzelt an Prüfsituationen der Agrar- und Ernährungswirtschaft angepasst und Bewertungsmethoden für den Informationsgehalt von Prüfungen beziehen sich vornehmlich auf einzelbetriebliche Entscheidungssituationen.

Im Rahmen der Modernisierung der Schlachtier- und Fleischuntersuchung und der Umsetzung der Vorschriften des EU-Hygienepaketes ist es unerlässlich, a-priori-Informationen zum Gesundheitszustand der zur Schlachtung vorgesehenen Tiere zu erhalten.

Die Einführung der „Risikoorientierten Fleischuntersuchung“ stellt die gesamte Fleischwirtschaft und die amtlichen Überwachungsbehörden vor folgende Herausforderungen:

- Durchführung von Risikoanalysen zur generellen Bewertung von Gefahren für die Lebensmittelsicherheit und erweiterte Verfahren für die amtliche Überwachung;
- Einführung von Vor- und Rückmeldesysteme zur Weitergabe von Lebensmittelketteninformationen (**Abb. 1**);
- Schaffung von Entscheidungshilfen im Rahmen der risikoorientierten Schlachtier- und Fleischuntersuchung.

Vor diesem Hintergrund gewinnen Prüfsysteme und Bewertungsmethoden zunehmend an Bedeutung. Allerdings sind die aktuell verfügbaren Prüfsysteme überwiegend offline orientiert und es konnten bislang erst sehr wenige Online-Prüfungen implementiert werden. Im vorliegenden Forschungsprojekt sollte daher das Untersuchungsspektrum der Matrix Fleischsaft zur Beurteilung des Gesundheitsstatus von Schlachtschweinen erweitert werden.

## 1.1 Problemstellung/Wissensstand

Seit Beginn des Jahres 2006 ist der amtliche Tierarzt verpflichtet im Rahmen der risikoorientierten Fleischuntersuchung, relevante Lebensmittelketteninformationen zu jeder angemeldeten Lieferpartie Schlachtschweine vor deren Anlieferung am Schlachthof zu bewerten. Von dieser Bewertung hängt ab, auf welche Art und Weise (visuell, traditionell oder gezielt erweitert) die amtliche Fleischuntersuchung durchgeführt wird. Wenn mit dieser risikoorientierten, unter Umständen rein visuellen Fleischuntersuchung derselbe, wenn nicht ein höherer Sicherheitsstandard für den Verbraucher erzielt werden soll, müssen auf den verschiedenen Ebenen der Schweinefleisch produzierenden Kette Vorleistungen erbracht werden: (1) in der Primärproduktion, (2) am Schlachthof und (3) bei der amtlichen Fleischuntersuchung (PÖCKER et al. 2003).

Produktbegleitende Informationen im Sinne einer „Quality forward chain“ sind dabei solche die durch online Messverfahren gewonnen werden können und somit zur Unterstützung von Entscheidungsprozessen beitragen können. Dagegen werden retrospektive Informationen (Quality backward chain) vornehmlich durch offline Messverfahren generiert und dienen entsprechend der Lieferantenbewertung (Abb. 1).



**Abb. 1:** Modell für die Qualitätskommunikation

Eine bereits routinemäßig genutzte Quelle für Vorinformationen zu Schlachttieren ist der sog. „Salmonellenstatus“. Die Qualität und Sicherheit (QS) GmbH implementierte für alle im QS-System angemeldeten Schlachtbetriebe das Salmonellenmonitoring basierend auf der EU VO Nr. 2160/2003 „Zoonoserichtlinie“, die bereits 2007 mit in Kraft treten der Schweine-Salmonellen-Verordnung auch in nationales Recht überführt wurde. Der Schlachtbetrieb führt im Auftrag des Landwirts die Beprobung durch, stellt die Probenbegleitdaten in eine zentrale Salmonellendatenbank ein und gibt die Proben zur Untersuchung an ein QS-anerkanntes Labor. Das Salmonellenmonitoring dient zum einen der Identifikation der Schweinemastbetriebe, die Schweine mit einem erhöhten Eintragsrisiko von Salmonellen in die Fleischproduktionskette

halten, und zum anderen der Einleitung von Maßnahmen zur Reduzierung der Salmonellenbelastung in den Schlachtbetrieben.

Der im Rahmen dieses Salmonellenmonitorings gewonnene Fleischsaft eignet sich auch zur Bestimmung einer Reihe weiterer Parameter. **Tabelle 1** fasst jene Literaturquellen zusammen, bei denen eine Auswahl relevanter Nachweisverfahren für Parameter bezogen auf die Matrix Fleischsaft beschrieben wurde.

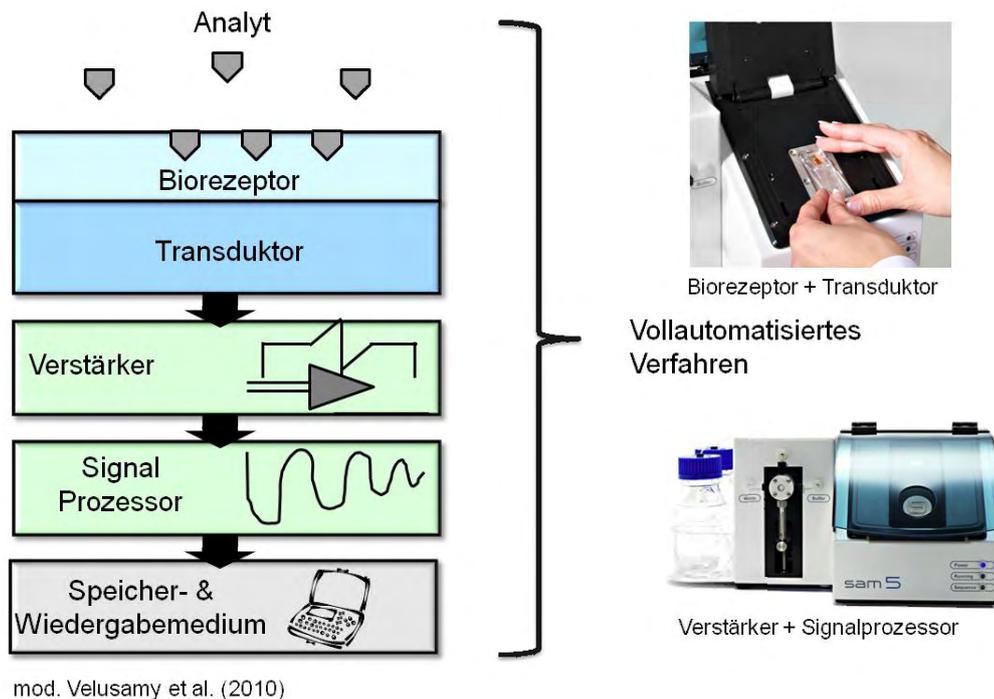
**Tab. 1:** Auswahl einiger Parameter mit potentielltem Nachweis im Fleischsaft

Parameter	Eigenschaft	Nachweisverfahren	Literatur
Haptoglobin	Akute Phase Protein, Entzündungsmarker, Screeningparameter zur Einschätzung des allgemeinen Gesundheitszustands von Schweinen und zur Aufdeckung subklinischer Erkrankungen sowie immunologischem Stress durch ein mangelhaftes hygienisches Umfeld bestätigt werden.	ELISA (AG-Nachweis)	HISS et al., 2003
PRRSV	Atemwegs- und Reproduktionstrakterkrankung beim Schwein, hoher Durchseuchungsgrad	ELISA (AK-Nachweis)	MORTENSEN et al., 2001
<i>Sarcoptes scabiei var suis</i>	Ektoparasit, Erreger der Räude	ELISA (AK-Nachweis)	VERCRUYSSSE et al., 2006
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Erreger der humanen Yersiniose Infektionsquelle für die humane Yersiniose spielt rohes oder nicht vollständig durcherhitztes Schweinefleisch (Hackfleisch und Rohwürste)	recomBlot (Westernblot assay) (AK-Nachweis)	ARNOLD et al. 2004
<i>Trichinella spiralis</i>	Erreger der Trichinellose, international nach wie vor als die gefährlichste, durch den Verzehr rohen Fleisches verursachte parasitäre Erkrankung des Menschen angesehen, Trichinellose des Menschen ist eine überwachungspflichtige Zoonose	E/S- ELISA (AK-Nachweis)	WINKEL-MAYER & PAULSEN 2005, BfR 2007
Hemmstoffe	Tierarzneimittel als Injektionspräparat oder Futtermittelzusatz verabreicht sind eine bestimmte Zeit lang als Rückstände im Muskel nachweisbar, Aufnahme dieser Rückstände beim Fleischverzehr → wachsende Besorgnis über eventuelle gesundheitliche Schädwirkungen / Zunahme antibiotikaresistenter Bakterien, EU-Gesetzgebung schreibt für verschiedene Fleischprodukte höchstzulässige Rückstandsgrenzwerte vor (EG-Verordnung 2377/90 sowie dazugehörige Änderungsverordnung 1191/98)	Mikrobiologisches Verfahren: (Testkeim: <i>Bacillus cereus</i> ) Schnelltest (z.Bsp. Premi®Test von DSM)	DSM 2006

Die in **Tabelle 1** benannten immunologischen Methoden, ELISA und Western Blot, werden zur Konzentrationsbestimmung der ausgewählten Analyten eingesetzt. Diese Methoden sind oft sehr kosten- und zeitaufwändig (CHO & PARK 2006, LAN et al. 2008). Nach der Einsendung in ein zertifiziertes Labor, müssen die Proben in einer Vielzahl von einzelnen Arbeitsschritten, für die Analysen aufbereitet werden. Durch die häufig manuell auszuführenden Zwischenschritte, sind die Methoden anfällig für Fehler. Um diese Fehler zu entdecken, werden Kontrollmessungen und Doppelbestimmungen durchgeführt, die wiederum die Kosten und den Zeitaufwand erhöhen.

Prüfergebnisse im Sinne der „Quality Forward Chain“ müssen jedoch zeitnah bereitgestellt werden, um für Entscheidungsprozesse im Rahmen der laufenden Produktion genutzt werden zu können. Mit dem Ziel, Konzentrationsbestimmungen bzw. Erregernachweise aus dem Fleischsaft zeitnah zu generieren, wird in jüngster Zeit der Einsatz von sogenannten Biosensoren diskutiert und erprobt. Biosensoren sind in sich geschlossene integrierte Systeme, die eine spezifische quantitative oder semi-quantitative analytische Information liefern. Sie bestehen aus einem biologischen Erkennungselement (biochemischer Rezeptor) und einem Transducer (konvertiert nichtelektrische in elektrische Energie), welche sich in direktem räumlichen Kontakt befinden (IUPAC 1996).

Ein auf akustischen Oberflächenwellen basierender Biosensor konnte im Rahmen der Forschungsaktivitäten der AG Präventives Gesundheitsmanagement für die Messung des Akute Phase Proteins Haptoglobin adaptiert werden. Haptoglobin wurde aufgrund seiner Größe, Struktur und der Verfügbarkeit spezifischer Antikörper für die exemplarische Erprobung der neuen Analyseverfahren gewählt. Die folgende **Abb. 2** zeigt den schematischen Aufbau des erprobten Biosensors. In enger Zusammenarbeit mit der Firma SAW instruments (Bad Godesberg) konnte deren bereits in der Praxis bewährter Biosensor sam<sup>®</sup>5 für diese Fragestellung angepasst werden (PERPEET et al. 2006, SCHLENSOG et al. 2004, KLAUKE et al. 2011).

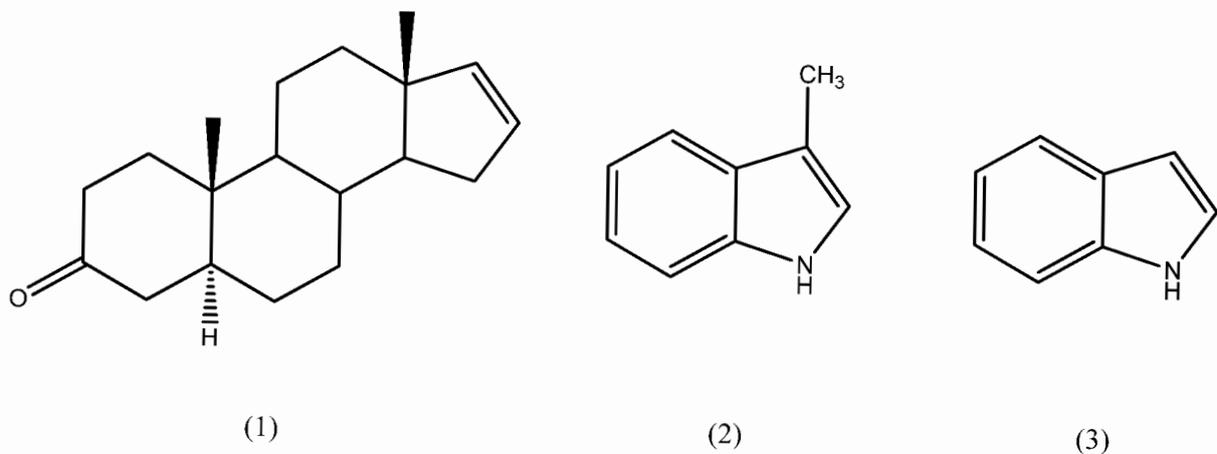


**Abb. 2:** Schematischer Aufbau des eingesetzten sam<sup>®</sup> 5 Biosensors

Neben den bereits angeführten Verbraucherschutz- und Tiergesundheitsrelevanten Parametern, spielen für Entscheidungssituationen aber auch klassische Qualitätsparameter eine bedeutende Rolle. Neben den Klassifizierungsdaten (z.Bsp. Magerfleischanteil, Schlachtgewicht, Anteil Teilstücke, pH-Wert etc.) besteht auch hier das Bestreben objektivierbare direkte oder indirekte Indikatoren bestimmen zu können, die eine Aussage über die Qualität des erzeugten Fleisches erlauben. Vor dem Hintergrund der aktuellen Entwicklungen bezüglich der potentiellen Mast von Ebern aufgrund des Verzichts auf Kastration erscheinen auch Geruchsparameter als Qualitätsindikatoren sinnvoll.

Die Kastration von Ebern ist seit Jahrzehnten in vielen europäischen Ländern die Methode der Wahl, um das Auftreten von Ebergeruch in Schweinefleisch zu verhindern (PUPPE et al. 2005). Der chirurgische Akt der Kastration kann gemäß der EU Richtlinie 2001/93/EG bis zum siebten Tag nach der Geburt der Ferkel vom Landwirt selbst und ohne Narkose durchgeführt werden. Da diese Praxis den Ferkeln erwiesenermaßen erhebliche Schmerzen zufügt, setzen sich vor allem Tierschutzorganisationen für ein Verbot der Kastration bzw. für eine Kastration unter Betäubung ein (TAYLOR et al., 2001, PUPPE et al., 2005, LEIDIG et al., 2009). Aufgrund des wachsenden Drucks von Seiten der Tierschutzlobby geht der aktuelle Trend in der Schweinemast daher - derzeit auf freiwilliger Basis - weg von der Kastration hin zur Jungebermast (DÜSSELDORFER ERKLÄRUNG ZUR FERKELKASTRATION 2010). Neben dem positiven Effekt auf das Wohlbefinden der Tiere, bietet die kastrationsfreie Jungebermast aber auch

wirtschaftliche Vorteile. So konnte gezeigt werden, dass unkastrierte Eber eine bessere Futtermittelverwertung, ein schnelleres Wachstum und einen höheren Magerfleischanteil aufweisen (BABOL & SQUIRES 1995, CLAUS et al. 2003). Einziger, aber nicht unerheblicher Nachteil der Ebermast ist jedoch die Tatsache, dass etwa 10% der Schlachtkörper beim Erhitzen ein vom Verbraucher als äußerst unangenehm empfundenes Fehlgeruch, den sogenannten Ebergeruch aufweisen (CHEN et al. 2007). Dieses Fehlgeruch wird vom Verbraucher häufig mit den Geruchsattributen „urinartig“, „nach altem Schweiß“, „fäkalisch“ oder „nach Stall“ beschrieben (OHLOFF et al. 1983, SINK 1967, BONNEAU et al. 2000). Ausgelöst wird der Ebergeruch vor allem durch das Eberpheromon Androstenon ( $5\alpha$ -Androst-16-en-3-on, 1) und die heterocyclischen aromatischen Amine Skatol (2) und Indol (3) (**Abb. 3**).



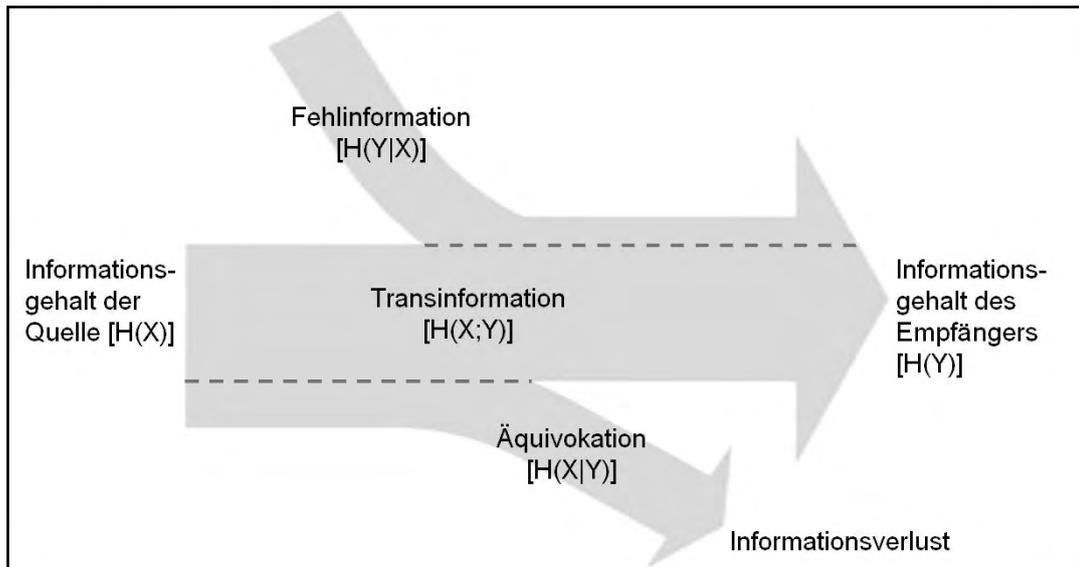
**Abb. 3:** Ebergeruchsstoffe: Androstenon (1), Skatol (2) und Indol (3)

Androstenon, das einen urinartigen, schweißigen Geruch besitzt, wird in den Hoden der Eber synthetisiert, von dort in die Blutbahn abgegeben und aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften im Fettgewebe der Tiere eingelagert (PATTERSON 1968, BROOKS & PEARSON 1986). Skatol und Indol liefern die fäkalischen Komponenten am Ebergeruch (CLAUS et al. 1994). Anders als das Pheromon Androstenon werden die Amine Skatol und Indol nicht durch das Schwein selbst gebildet, sondern entstehen als mikrobielle Abbauprodukte der Aminosäure Tryptophan im Darm der Schweine (CLAUS et al. 1993, DESLANDES et al. 2001). Nach Resorption über die Darmschleimhaut und Zirkulation in der Blutbahn werden auch diese beiden Verbindungen aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften im Fett der Tiere akkumuliert. Neben der Anreicherung der beiden Amine über die Blutbahn wurde ferner eine zweite Theorie beschrieben: die Resorption und Akkumulation von Skatol und Indol über die Haut und oder die Lungen der Tiere, sofern sich diese bei mangelnder Stallhygiene für längere Zeit im eigenen Faeces aufhielten (HANSEN et al. 2010).

Um die hohe Akzeptanz der Verbraucher gegenüber Schweinefleisch zu erhalten, hat die Fleischindustrie ein großes Interesse an präzisen Analysemethoden, die es ermöglichen, geruchsauffällige Schlachtkörper frühzeitig zu erkennen und auszusortieren. Zahlreiche Analyseverfahren wurden bis dato entwickelt, um die o.g. Ebergeruchsstoffe in den Schlachthälften zu detektieren. Dabei wurden in der Literatur sowohl immunochemische Methoden (ELISA, RIA) (ANDRESEN 1975, CLAUS et al. 2008) als auch chromatographische Methoden (GC-MS, HPLC-FD, LC-MS/MS) (THOMPSON & PEARSON 1977, DEHNHARD et al. 1993, VERHEYDEN et al. 2007) publiziert. Die Quantifizierung der Ebergeruchsstoffe wurde dabei überwiegend im Nackenspeck und in wenigen Fällen auch aus dem Blut der Tiere (CHEN et al. 2010) vorgenommen. Da die Analytik von fetthaltigen Matrices häufig von nachteiligen Matrixeffekten (VERHEYDEN et al. 2007), wie unvollständige Probenextraktion oder Signalsuppression, begleitet wird, wurde an der Universität Bonn (IEL Abt. Bioanalytik) eine neue, präzise Methode auf Basis der sogenannten Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) entwickelt. Diese Technik, bei der stabilisotopenmarkierte interne Standards zum Einsatz kommen, ist in der Lage die o.g. nachteiligen Matrixeffekte zu eliminieren (SCHIEBERLE, 1995, CERVINO et al. 2008, CHETSCHIK et al. 2010). Die für diese Technik benötigten deuterium-markierten internen Standards  $d_3$ -Androstenon,  $d_3$ -Skatol und  $d_6$ -Indol wurden im eigenen Laboratorium synthetisiert (FISCHER et al. 2011a) und erfolgreich in einer SIVA-HS-SPME-GC-MS-Analytik zur simultanen Quantifizierung dieser Ebergeruchsstoffe in Nackenfett etabliert (FISCHER et al. 2011b).

Die beschriebenen Prüfparameter stellen Informationen innerhalb der Fleischerzeugenden Kette dar, deren Bewertung hinsichtlich des potentiellen Informationsgewinns vor dem Hintergrund des präventiven Gesundheitsmanagements notwendig ist. Mit der rasanten Entwicklung der Kommunikationstechniken im 20sten Jahrhundert hielt der Begriff der Information auch Einzug in die Wissenschaft. Der amerikanische Mathematiker und Nachrichtentechniker Claude E. Shannon begründete 1948 ein Maß für die Information, wodurch etwas messbar wurde, was zuvor als unmessbar galt (POMPE, 2005). Shannons Theorie (SHANNON 1948) ist allgemein genug, um interdisziplinär angewandt und genutzt werden zu können, da sie eine Theorie der Nachricht an sich darstellt und keine Theorie des Nachrichtenmittels ist (POMPE, 2005).

**Abbildung 4** illustriert das Modell des gestörten Informationskanals modifiziert nach (SHANNON 1949). Vereinfacht geht dieses Modell davon aus, dass der Informationsgehalt einer „Nachricht“ zum einen durch Fehlinformation und zum andern durch Verlust von Information (Äquivokation) modifiziert wird und sich entsprechend der Informationsgehalt von Quelle und Empfänger unterscheidet.



**Abb. 4:** Modell „gestörter Informationskanal“ mod. SHANNON (1949)

Nach ELLEBRECHT (2008) generieren Informationssysteme in der Regel schnell erweiterte Informationen für sich wiederholende Entscheidungssituationen und bieten damit einen konkreten Mehrwert für eine Entscheidungsfindung. Nach PETERSEN (1985) können bei einer risikoorientierten Entscheidung durch mathematische Umwandlungen numerischer Nutzenfunktionen im Idealfall aus einer endlich großen Anzahl von Handlungsalternativen die nützlichsten herausgefiltert und die Konsequenzen der Entscheidung ermittelt werden (ELLEBRECHT 2008). Da die Quantifizierung des Informationsgewinns bspw. von Vorsorgeuntersuchungen bei Entscheidungen im Gesundheitsmanagement eine zentrale Voraussetzung darstellt, verwendeten PETERSEN (1985) und STROTMANN (1989) das SHANNON-Modell (Abb. 4), da es einen Ansatz zur Bewertung des Informationsgewinns bietet.

## 1.2 Zielsetzung

Ziel des Forschungsvorhabens ist die Entwicklung und Erprobung neuer, in den Schlachtprozess integrierter, risikoorientierter Prüfstrategien. Vor dem Hintergrund der risikoorientierten Schlachttieruntersuchung wird ein besonderes Augenmerk auf die Erweiterung des Untersuchungsspektrums der Matrix Fleischsaft zur Beurteilung des Gesundheitsstatus von Schlachtschweinen gelegt. Darüber hinaus soll eine Bewertung des Informationsgewinns durch die Kombination unterschiedlicher Prüfparameter sowie die Schätzung von Aufwand und Nutzen erweiterter Prüfmaßnahmen im Rahmen überbetrieblicher Qualitätssicherungssysteme erfolgen.

Durch die Einbindung des Forschungsvorhabens in ein interdisziplinäres Netzwerk, war es zusätzlich möglich im Rahmen des Forschungsvorhabens zwei Testverfahren zu entwickeln: die

Adaptation der Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) zum Nachweis von Androstenon, Indol und Skatol sowie die Adaptation des auf akustischen Oberflächenwellen basierenden sam<sup>®</sup>5-Biosensors für die Konzentrationsbestimmung des Akute Phase Proteins Hp. Somit war es auch Ziel der Arbeit zu überprüfen, ob die neu entwickelte Analysenmethode SIVA dazu geeignet ist Androstenon, Skatol und Indol im Fleischsaft zu quantifizieren und ob es eine Korrelation zwischen den Konzentrationen der Analyten im Fleischsaft und im Fett gibt. Weiterhin sollte der Einsatz des Biosensors in einem „online“-Prüfverfahren wurde für eine exemplarische Anwendung erprobt werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Tiermaterial

Für die Untersuchungen standen insgesamt Daten von 1184 Schlachtschweinen aus zwei Mastbetrieben A und B zur Verfügung. In die Auswertungen flossen 625 Tiere ein, von denen neben den Schlachtdaten auch Gesundheitsdaten (vgl. 2.2 Methode) zur Verfügung standen. Die folgende **Tabelle 2** stellt die wesentlichen Merkmale der beiden Mastbetriebe gegenüber.

**Tab. 2:** Merkmale der Mastbetriebe A und B

	<b>Mäster A</b>	<b>Mäster B</b>
Abteilgröße	71-110	71-110
Belegung	Rein-Raus	Rein-Raus
Aufstallung	1 x Teilspalten 1 x Vollspalten	Vollspalten
Fütterungsregime	Eigenmischung (2-phasig)	Alleinfutter (3-phasig)
Entwurmung	Nein	Ja
Reinigung/Desinfektion	regelmäßig R & D	regelmäßig R & D
Anzahl Tiere im Versuch	42	65
Rasse	PIC x Pi	DAN x DuPi
Datenumfang (insg.)	Schlachtdaten: n=879 Tiergesundheitsdaten: n=370	Schlachtdaten: n=305 Tiergesundheitsdaten: n=255

Die Schlachtschweine wurden mit Erreichen der Schlachtreife in einem konventionellen Schlachthof geschlachtet. Die Daten der Schlachtier- und Fleischuntersuchung, der Organbefundung sowie die Schlachtleistungsdaten von insgesamt 107 Tieren (Betrieb A: 42 Tiere, Betrieb B: 65 Tiere) konnten durch weitere Prüfparameter ergänzt werden (vgl. 2.2 Methoden), sodass die Ergebnisse sich im Folgenden vornehmlich auf diese Tiere beziehen.

## 2.2 Fleischsaftprobenentnahme

Auf dem Schlachthof erfolgte die Entnahme von Schlachtblut und die Fleischprobenentnahme aus dem Zwerchfellpfeiler der Schlachtschweine: Eine etwa walnussgroße Muskelfleischprobe wird in einem Fleischsafröhrchen zunächst eingefroren, anschließend aufgetaut und der entstehende Fleischsaft wird aufgefangen (Abb. 5).

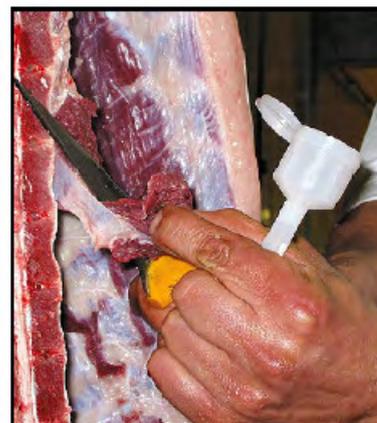


Abb. 5: Fleischprobenentnahme aus dem Zwerchfellpfeiler (QS GmbH)

## 2.3 Prüfparameter

Zur Erweiterung der Untersuchungsmatrix Fleischsaft wurden neben den Qualitätsparametern, auch Prüfparameter der Lebensmittelsicherheit und Tiergesundheit ausgewählt. **Tabelle 3** sind die untersuchten Prüfparameter mit Nachweismethoden und entsprechendem Untersuchungsort/Labor zusammengestellt.

Tab. 3: Zusammenstellung der aus dem Fleischsaft analysierten Prüfparameter

Prüfparameter	Nachweismethode	Labor	Literatur
<b>Qualitätsparameter</b>			
Indol	Stabilisotopenverdünnungsanalyse <sup>1</sup>	AG Prof. Wüst, IEL Uni Bonn	Fischer et al. 2011 a/b
Skatol			
<b>Lebensmittelsicherheitsparameter</b>			
<i>Salmonella ssp.</i>	ELISA	synlab.vet GmbH	
<i>Trichinella spir.</i>	ELISA		
<i>Yersinia enter.</i>	ELISA		
Hemmstoffe	Mikrobiologisches Verfahren: (Testkeim: Bacillus cereus)		
<b>Tiergesundheitsparameter</b>			
PRRSV	ELISA	synlab.vet GmbH	
<i>Sarcoptes scab.</i>	ELISA		
Haptoglobin	ELISA (RIDASCREEN®Haptoglobin der Firma R-Biopharm)	QHP Life Science GmbH - Bönen	HISS et al. 2003
	sam <sup>®5</sup> Biosensor <sup>2</sup>	SAW instruments, Bad Godesberg	Klauke et al. 2011

<sup>1,2</sup>Die Testentwicklungen zur Bestimmung dieser Parameter erfolgten teilweise oder vollständig im Rahmen dieses Projektes.

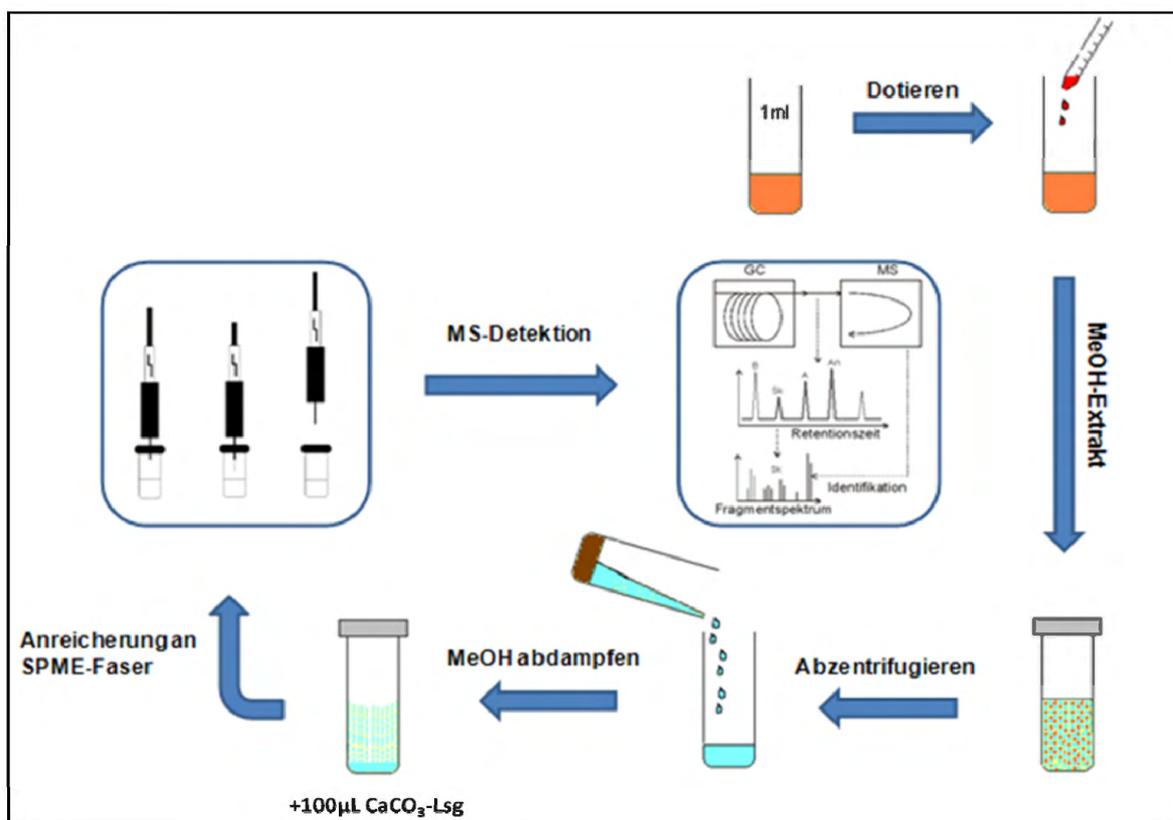
Wie bereits in der Einleitung erläutert konnten neben den klassischen Konzentrationsbestimmungen (vornehmlich ELISA) durch SYNLAB und QHP (**Tab. 3**) im Rahmen des Forschungsvorhabens zwei Testverfahren etabliert werden, die die Bestimmung der entsprechenden Prüfparameter aus dem Fleischsaft überhaupt erst (Indol/Skatol → Stabilisotopenverdünnungsanalyse) oder zeitnah im Sinne einer online Messung (Haptoglobin → sam<sup>®</sup> 5-Biosensor) ermöglichen:

#### 2.4 Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) zur Bestimmung von Indol und Skatol

Die AG von Prof. Wüst (IEL Uni Bonn) unter Leitung von Jochen Fischer konnte die Stabilisotopenverdünnungsanalyse für die Parameter Androstenon, Indol und Skatol etablieren.

**Abbildung 6** skizziert schematisch den Untersuchungsablauf in der Matrix Fleischsaft.

Für die Kalibration der Messmethode wurde für jeden der Analyten eine 6-Punkt Kalibration (jeweils als Doppelbestimmung) in analytfreiem Fleischsaft durchgeführt. Für die Analyten Skatol und Indol wurde ein Konzentrationsbereich von 0,5 ng/mL bis 7,0 ng/mL abgedeckt, für den Analyten Androstenon ein Konzentrationsbereich von 1,0 ng/mL bis 15 ng/mL. Die Konzentration des internen Standards wurde in jeder Konzentrationsstufe konstant gehalten und betrug 2,5 ng/mL für  $d_3$ -Skatol und  $d_6$ -Indol und 5 ng/mL für  $d_3$ -Androstenon.



**Abb. 6:** Schematischer Versuchsablauf der Fleischsaftanalytik mittels SIVA

Zur Herstellung der Standards wurde je 1 mL Fleischsaft in ein Zentrifugenröhrchen pipettiert und mit der entsprechenden Menge an Analyt und internem Standard versetzt. Nach gründlichem Mixen (30 sec, 2 x) erfolgte die Zugabe von 3 mL Methanol und das erneute gründliche Mixen der Probe (30 sec, 2 x). Die durch das Methanol denaturierten Proteine wurden anschließend mittels Zentrifuge (RT, 6500 rpm, 10 min) abgetrennt, der methanolische Überstand in ein 10 mL Headspacevial dekantiert und mittels Luftstrom bei 45°C auf ca. 1 ml eingeeengt. Danach wurden 100 µl einer gesättigten CaCO<sub>3</sub>-Lösung zugesetzt und das Vial luftdicht verschlossen. Die Messung der so erhaltenen Proben erfolgte mittels Autosampler per HS-SPME-GC-MS-Analytik (**Abb. 6**).

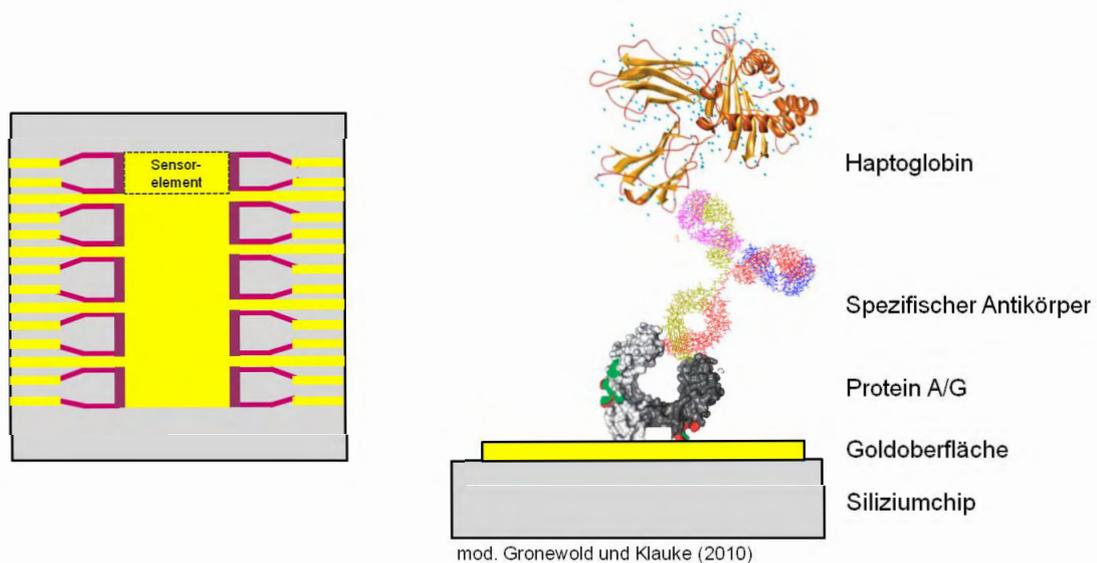
Zur Überprüfung, ob es eine positive Korrelation zwischen den Fleischsaftgehalten und den dazugehörigen Fettgehalten gibt, wurden 9 Kotelettproben von männlichen unkastrierten Schweinen vermessen. Die Konzentrationsbestimmung von Androstenon, Skatol und Indol im Fett erfolgte mittels SIVA-HS-SPME-GC-MS aus dem Fettrand des Koteletts. Für die Fleischsaftanalytik wurde 20 g Magerfleisch in einem speziellen Fleischsaft Röhrchen eingefroren und der beim Auftauen im Kühlschrank (7°C) innerhalb von 24 h anfallende Tropfsaft anschließend vermessen. Dazu wurde erneut je 1 mL Fleischsaft in ein Plastikzentrifugenröhrchen gegeben und mit je 2,5 ng *d*<sub>3</sub>-Skatol und *d*<sub>6</sub>-Indol und 5 ng *d*<sub>3</sub>-Androstenon versetzt. Die weitere Probenaufarbeitung erfolgte analog zur oben beschriebenen Probenaufarbeitung der Standards.

Die entsprechenden Regressions- sowie Korrelationsgraphen werden im Ergebnisteil dargestellt.

## 2.5 sam<sup>®</sup>5 Biosensor

Das chipbasierte sam<sup>®</sup>5 System (SAW instruments, Bad Godesberg) bedient sich der firmeneigenen, geschützten Technologie der Messung mittels akustischer Oberflächenwellen. Diese Technologie ermöglicht eine direkte Messung von Veränderungen der Phase ( $\varphi$ ) oder der Amplitude ( $A$ ) einer erzeugten longitudinalen Welle. Diese Veränderungen können als Funktion der an die Chipoberfläche gebundenen Moleküle interpretiert werden. Die Bindung starrer Moleküle an die Oberfläche führt dabei zu einer reinen Phasenverschiebung, die proportional zur Dichte der gebundenen Moleküle ist, wohingegen die Bindung von Molekülen aus einer flüssigen Matrix zu einer Phasenverschiebung führt, die durch eine Dämpfung der Welle (Verringerung der Amplitude) begleitet wird. (PERPEET et al. 2006). Durch dieses Verfahren wird dem Analytiker ermöglicht die Masse der gebundenen Moleküle und mögliche viskoelastische Effekte getrennt voneinander zu bewerten.

Der eingesetzte **Chip** basiert auf einem piezoelektrischen Siliziumkristall, auf dessen Oberfläche ein dünner Goldbelag aufgebracht wurde. Jeder Chip besteht aus fünf Sensorelementen. Bei der gewählten Versuchseinstellung wurden drei Sensorelemente zur Detektion von Haptoglobin aufbereitet und die verbleibenden zwei Elemente wurden zur Kontrolle der unspezifischen Bindungen genutzt. Auf der Goldoberfläche wurde in allen Fällen Protein A/G fixiert, an die der spezifische Antikörper für Schweinehaptoglobin gebunden werden konnte. Die Ausrichtung der Antikörper ergab sich dabei über die Bindung des Fc-Fragmentes an das Protein (Abb. 7). Die so vorbereiteten Chips wurden im sam<sup>®</sup>5 Biosensor mit der Matrix bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 40 µl/min geflutet (KLAUKE et al. 2011).



**Abb. 7:** Schematische Darstellung der Oberflächenstruktur des Biorezeptors

## 2.6 Statistische Auswertung

Die Statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Software-Programme Microsoft Office Excel 2007, SPSS 17 und Win Episcope 2.0. Besonders das mit Hilfe von Win Episcope berechnete Quotenverhältnis (OD: Odds Ratio) wurde für entsprechende Fragestellungen angewandt. Das Quotenverhältnis wird häufig in der Epidemiologie und Medizin verwendet, um zu berechnen, wie stark ein vermuteter Risikofaktor (hier eine erhöhte Haptoglobinkonzentration >140 µg/ml) mit einer bestimmten Erkrankung zusammenhängt. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgt entsprechend des Zahlenwertes:

- OR = 1 es besteht keine Abhängigkeit zwischen den untersuchten Parametern
- OR > 1 es besteht eine positive Abhängigkeit zwischen den untersuchten Parametern
- OR < 1 es besteht eine negative Abhängigkeit zwischen den untersuchten Parametern

Die **Quantifizierung des Informationsgewinns** durch die eingesetzten Prüfparameter bzw. Prüfstrategien wurde in Anlehnung an das SHANNON-Modell (vgl. 1 Einleitung, **Abb. 4**) vorgenommen, wobei die Gütekennzahlen „Transinformation“ und „Testkapazität“ hierbei als einheitliche und universal anwendbare Orientierungsgrößen dienen, die eine Beurteilung und Rangierung unterschiedlicher Informationsquellen (z. B. Daten aus Softwareprogrammen oder Testresultate) ermöglichen (ELLEBRECHT 2008). Dabei fließt die vorhandene Prävalenz (1) eines Risikos, also die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Reklamation in die Berechnung mit ein:

$$(1) \quad P(B) = \frac{B}{B + \bar{B}}$$

Der Erwartungswert für eine richtig übertragene Information (Transinformation (2) [bit]) wird wie folgt berechnet:

$$(2) \quad I_{B,T} = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m P(B_i, T_j) \times \log_2 \frac{P(B_i, T_j)}{P(B_i) \times P(T_j)}$$

Unter der Testkapazität (3) [bit] versteht man die Prüfung des maximal übertragbaren Informationsgehaltes:

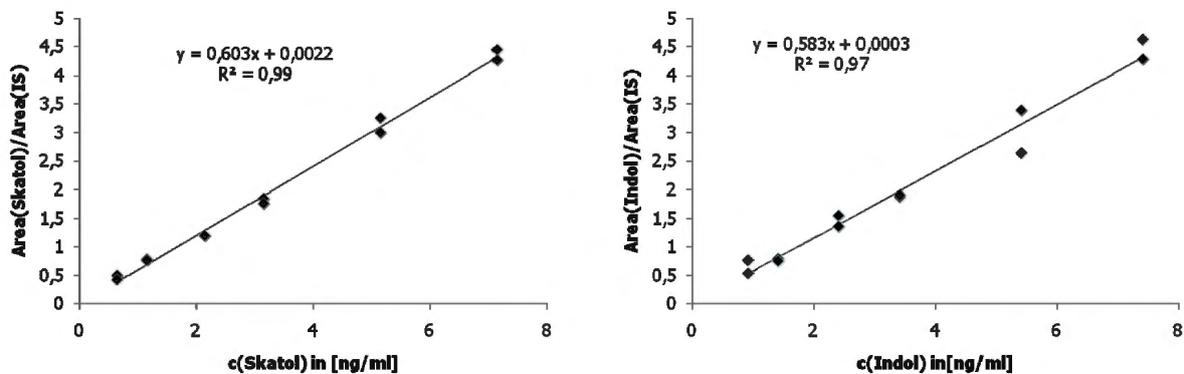
$$(3) \quad C = \frac{-\beta H(\alpha) + \alpha H(\beta)}{\beta - \alpha} + \log_2 \left[ 1 + 2^{\frac{H(\alpha) - H(\beta)}{\beta - \alpha}} \right]$$

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Qualitätsparameter

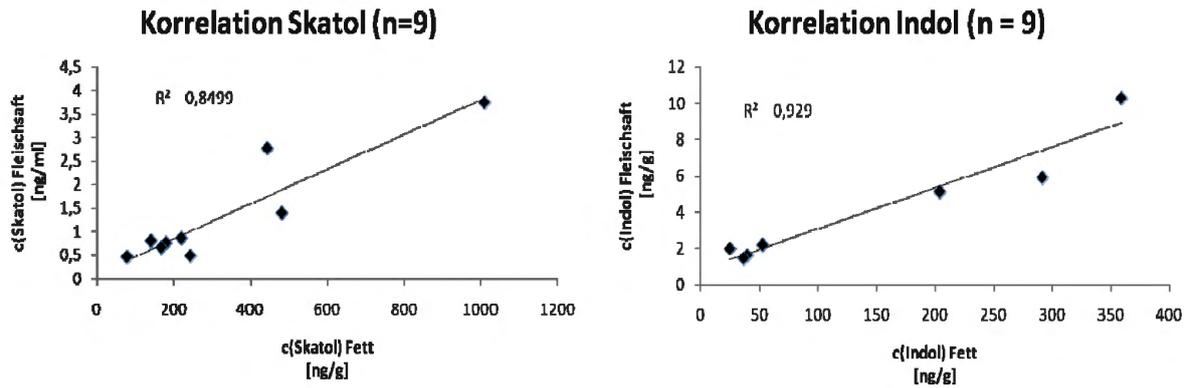
Mit einem durchschnittlichen Alter von 191,9 Tagen und einem Lebendgewicht von 117,4 kg im Mittel wurden die Mastschweine der beiden Betriebe A und B der Schlachtung zugeführt. Die Mastleistung ist entsprechend als gut zu bezeichnen. Auch die mit Hilfe der AutoFOM ermittelten Schlachtleistungsdaten entsprechen den durchschnittlichen AutoFOM-Bewertungen von Schlachtschweinen. Die Ergebnisse der Mast- und Schlachtleistung sind tabellarisch im Anhang zusammengestellt (**Tab. A1** und **A2**), wobei zwischen den Betrieben keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten. Lediglich die Inzidenz der Schlachtkörperbefunde mit 7,7 % in Betrieb B deutet auf Probleme im Bereich der Tiergesundheit hin.

Der Bestimmung der Qualitätsparameter **Indol** und **Skatol** mit Hilfe der neu etablierten Messmethode ging zunächst die Kalibration der Messung voraus. Anhand der durchgeführten Kalibrationen konnte gezeigt werden, dass für die Ebergeruchsstoffe Skatol und Indol ein guter linearer Zusammenhang (Bestimmtheitsmaß  $R^2$ : 0,99 und 0,97) zwischen der Konzentration des jeweiligen Stoffes und den zugehörigen Peakflächenverhältnissen (Analyt/interner Standard) in einem Konzentrationsbereich von 0,5 ng/mL-7ng/mL besteht (**Abb. 8**). Die Regressionsgerade des Ebergeruchsstoff Androstenon in der Matrix Fleischsaft zeigte im Bereich von 1,0 ng/mL-15 ng/mL hingegen eine etwas geringere Linearität, wie der Korrelationskoeffizient von 0,95 andeutet (Graphik nicht abgebildet). Da bisher keine Daten zu Konzentrationen der untersuchten Komponenten im Fleischsaft zu Verfügung standen, wurden in der Literatur veröffentlichte Gehalte im Blutserum als Anhaltspunkte verwendet (CHEN et al. 2010, FISCHER et al. 2011).



**Abb. 8:** Regressionsgeraden für die Kalibration von Skatol und Indol in Fleischsaft

Die bei der Untersuchung der Realproben (Kotelett) ermittelten Ergebnisse der Fett- und der Fleischsaftmessungen wurden bezüglich ihrer Korrelation ausgewertet. Androstenon war im Fleischsaft der Realproben nicht nachweisbar. Die Korrelationsgraphiken (x-Achse: Fett, y-Achse: Fleischsaft) von Skatol und Indol zeigten hoch-positive Korrelationen die in einem Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ ) von 0,84 und 0,92 deutlich werden (**Abb. 9**). Somit bietet sich durch die neue Analytik die Möglichkeit, zwei weitere Qualitätsparameter aus der Matrix Fleischsaft zu gewinnen, die für das Qualitätsmanagement in der Lebensmittelkette sinnvoll eingesetzt werden können.



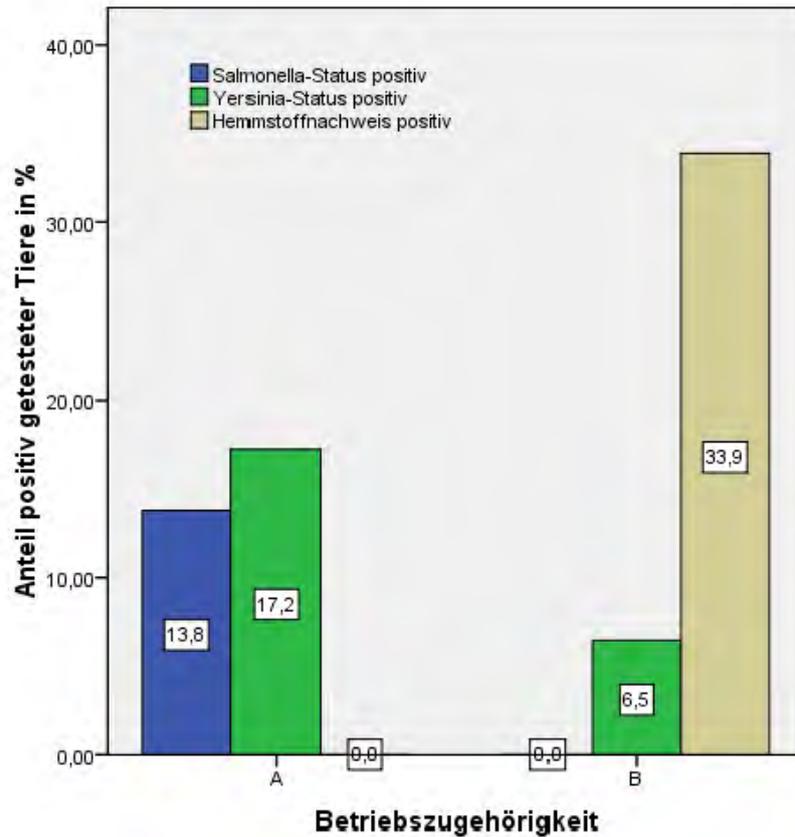
**Abb. 9:** Regressionsgeraden der Gehalte von Skatol und Indol in Fleischsaft und Nackenspeck

Da die Skatol- und Indolgehalte der Schweine bspw. durch gezielte Fütterung (KJOS et al, 2010, ØVERLAND et al. 2011) signifikant reduziert werden können, besteht bei der Feststellung von erhöhten Skatolgehalten in einem Bestand die Möglichkeit, dies als Rückinformation an den Landwirt weiterzuleiten, damit dieser seine Fütterung umstellt oder überprüft. So kann z.B. durch die Fütterung von Inulin-haltigem Futter (KJOS et al. 2010) oder durch die Fütterung leicht verdaulicher Kohlenhydrate (ØVERLAND et al. 2011) der Skatolgehalt nachweislich reduziert werden. Darüber hinaus kann ein erhöhter Skatolgehalt auch auf eine mangelnde Stallhygiene hindeuten (HANSEN et al. 2010). Auch hier kann ein Hinweis an den Landwirt zu einer zukünftig gesteigerten Qualität führen.

Neben den Rückinformationen an den Landwirt, können die Skatol- und Indolgehalte aber auch einen Hinweis auf eine mögliche Geruchsbelastung des Fleisches geben. Auf diese Weise könnten auffällige Schlachthälften identifiziert werden und bspw. nicht als Frischfleisch an den Verbraucher abgegeben werden.

### 3.2 Lebensmittelsicherheitsrelevante Parameter

Betrachtet man den Anteil der Schlachtschweine bei denen der Nachweis Lebensmittelsicherheitsrelevanter Parameter positiv war in Abhängigkeit von der Betriebszugehörigkeit, so fällt auf, dass in Betrieb B keine Salmonellenantikörper nachgewiesen werden konnten, wohingegen der Hemmstoffnachweis in 33,9 % der Tiere positiv war (**Abb. 10**). Dabei ist allerdings zu beachten, dass in keinem Fall der gesetzliche Grenzwert überschritten wurde.



**Abb. 10:** Lebensmittelsicherheitsrelevante Parameter (Anteil positiv getesteter Tiere)

### 3.3 Tiergesundheitsrelevante Parameter

Während in Betrieb A in keinem der Tiere PRRS nachgewiesen werden konnte zeigt sich ein recht hoher Durchseuchungsgrad von 64,5 % in Betrieb B, bei dessen Schweinen ebenso bei einem größeren Anteil der Antikörpernachweis für *Sarcoptes* verdächtig bzw. positiv ausfiel (**Abb. 11**). Der Nachweis von *Trichinella* fiel in allen untersuchten Proben negativ aus.

Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme - insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die mittlere Konzentration des Akute Phase Proteins Haptoglobin (Hp) bei den Tieren des Betriebs B (118,2 µg/ml) gegenüber denen des Betriebs A (71,4 µg/ml) (**Abb. 12**) signifikant erhöht ist ( $p=0,007$ ) - , dass der Gesundheitsstatus in Betrieb B Mängel aufweist.

Das Potential des unspezifischen Parameters Hp wird hier deutlich: obwohl die Hp-Konzentrationen aller Schweine durchschnittlich unterhalb des cut off von 140 µg/ml also „unauffällig“, ist ein direkter bewertender Vergleich der beiden Betriebe möglich.

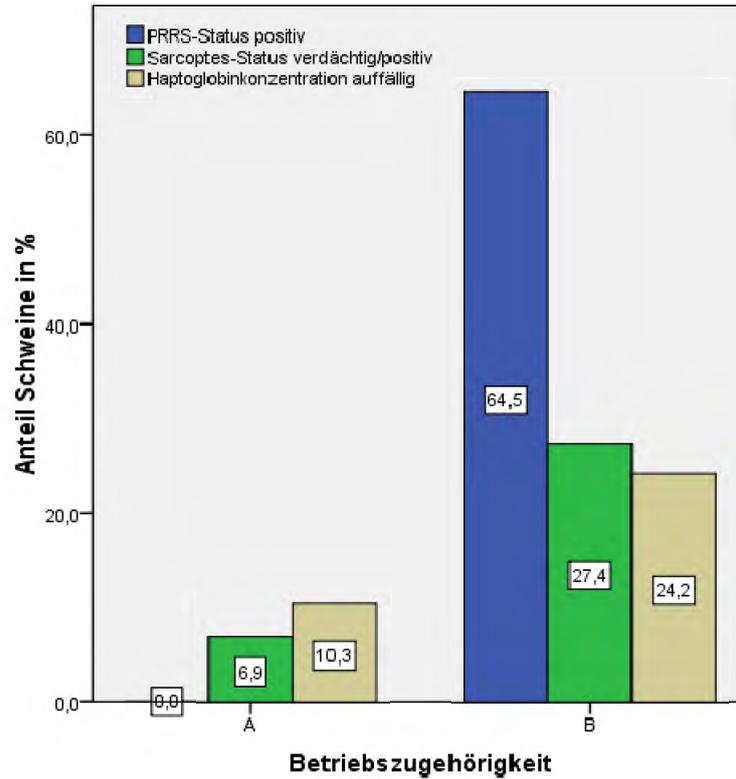


Abb. 11: Tiergesundheitsrelevante Parameter (Anteil positiv getesteter Tiere)

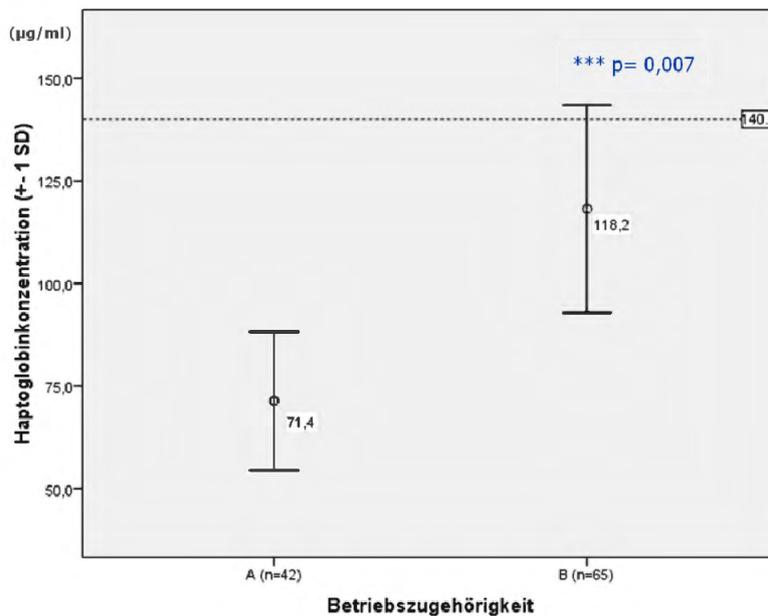


Abb. 12: Vergleich der Haptoglobinkonzentrationen (in µg/ml) im Fleischsaft der Versuchstiere der Betriebe A und B

### 3.4 Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio

Basierend auf den gefundenen Ergebnissen sowie der einschlägigen Literatur (KNURA et al. 2000, KNURA-DESZCZKA 2000, GYMNICH, 2001, GYMNICH & PETERSEN 2002, PETERSEN et al. 2002, MURATA et al. 2003, PETERSEN et al. 2004, PIÑEIRO et al. 2009a, PIÑEIRO et al. 2009b), erfolgte die Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio in Bezug auf einen erhöhten Hp-Wert ( $> 140 \mu\text{g/ml}$ ). Die Ergebnisse sind in **Tabelle 4** zusammengefasst.

**Tab. 4:** Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio (Haptoglobinkonzentration versus Tiergesundheits- sowie Lebensmittelsicherheitsrelevante Parameter)

Parameter	Haptoglobin		OR (Win Episcope)	P-Wert (nach Fischer)
	<140 $\mu\text{g/ml}$ (unauffällig)	$\geq 140 \mu\text{g/ml}$ (verdächtig)		
<i>Salmonella</i> pos.	2	2	4,6	n.s.
<i>Salmonella</i> neg.	71	16		
<i>Yersinia</i> pos.	4	5	6,6*	0,013
<i>Yersinia</i> neg.	69	13		
Hemmstoffe pos.	4	17	0,9	n.s.
Hemmstoffe neg.	14	56		
PRRS pos.	28	12	3,2*	0,037
PRRS neg.	45	6		
Sarcoptes pos.	15	1	0,2	n.s.
Sarcoptes neg.	58	17		
Schlachtbefund ja	2	4	9,2*	0,016
nein	83	18		

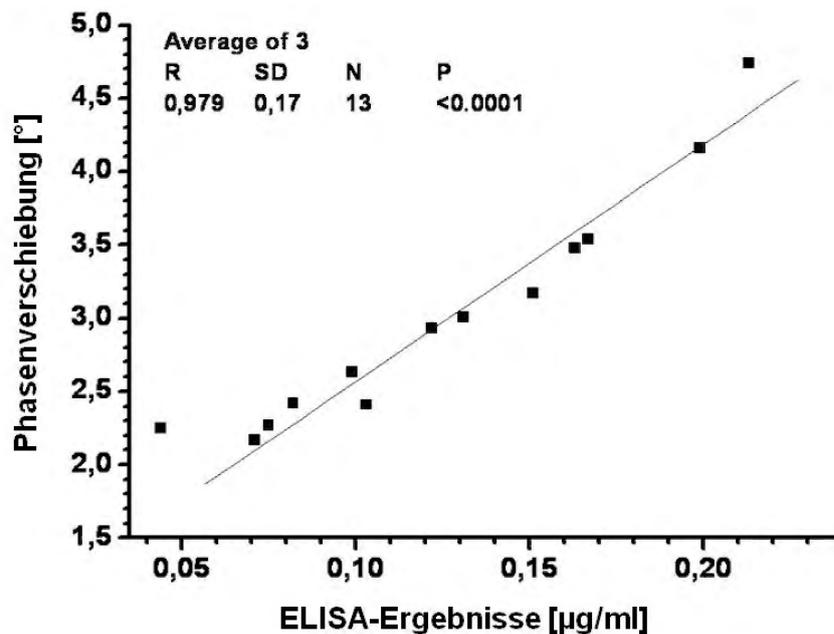
\* = signifikant unter einem Konfidenzintervall von 95%      n.s. = nicht signifikant

Die Ergebnisse der Berechnung mit Win Episcope 2.0 zeigen für *Salmonella*, *Yersinia*, PRRS und die Schlachtbefunde einen positiven Zusammenhang mit verdächtigen Haptoglobinkonzentrationen, wobei die Odds Ratios außer für *Salmonella* versus Hp signifikant unter einem Konfidenzintervall von 95 % sind.

Zwischen dem Vorhandensein von *Sarcoptes* und Haptoglobin zeigt sich tendenziell eine negative Abhängigkeit; ein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Hemmstoffen im Fleisch und der Haptoglobinkonzentration erscheint dagegen nicht zu bestehen, wobei die geringen Fallzahlen eine abschließende Wertung nicht zulassen.

### 3.5 Eignung des Biosensors sam<sup>®</sup>5 zur online Bestimmung der Hp-Konzentration

Der im Rahmen des Forschungsvorhabens an die Messung von Haptoglobin adaptierte Biosensor sam<sup>®</sup>5 wurde genutzt, um einen Teil der Fleischsaftproben hinsichtlich Ihrer Konzentration zu messen und somit die Vergleichbarkeit der Messmethoden zu untersuchen. Der Vergleich der Ergebnisse aus der herkömmlichen ELISA-Messung mit den ermittelten Phasenverschiebungen zeigt eine hohe Übereinstimmung (**Abb. 13**). Eine signifikante Korrelation ( $p < 0,0001$ ) von 0,979 konnte berechnet werden.



**Abb. 13:** Gegenüberstellung ermittelter Hp-Konzentrationen mittels ELISA und Biosensor

Der sam<sup>®</sup>5 ist zur Konzentrationsbestimmung von Haptoglobin aus dem Fleischsaft geeignet. Die Messungen waren reproduzierbar und können zeitnah durchgeführt werden. Der Biosensor hat ein großes Potential für online-Messungen im Rahmen der Quality Forward Chain.

### 3.6 Bewertung des Informationsgehaltes verschiedener Prüfstrategien

Um den Informationsgehalt verschiedener Prüfstrategien feststellen und vergleichen zu können, muss dieser zunächst bewertet werden. Hierfür wurde im vorliegenden Projekt das Shannon-Modell herangezogen. Zur Evaluierung der Einsatzfähigkeit des Shannon-Modells wurde zunächst folgende Hypothese aufgestellt:

„Alle Schlachtkörper bei denen ein positives Prüfergebnis (T) vorliegt, werden ein erhöhtes Risiko (B) für Reklamationen im Frischfleischverkauf aufweisen.“

Hypothese:	$H_0 \triangleq T = B$
daraus folgt:	$H_1 \triangleq \bar{T} = \bar{B}$

Es wurde also davon ausgegangen, dass bei einem positiven Testergebnis ein erhöhtes Risiko für den Kunden vorliegt und bei einem negativen Testergebnis keine Risiken für die Verarbeitung zu SB-Ware zu erwarten waren.

Von den zur Verfügung stehenden Schlachtschweinen konnten 91 in die Auswertung einbezogen werden. Hier lag bei 31 Tieren ein erhöhtes Risiko gemäß den definierten Parametern vor. Die Prüfergebnisse sind in **Tabelle 5** als Vierfeldertafel für die Prüfscenarien dargestellt.

**Tab. 5:** Häufigkeiten der Prüfergebnisse und Risiken in einer Entscheidungsmatrix

Name		B	$\bar{B}$
		richtig positiv	falsch positiv
T <sub>0</sub>	nur visuell	1	5
T <sub>1</sub>	Ketteninformation + 1 Parameter Biosensor	20	23
T <sub>2</sub>	2 Parameter Biosensor	25	10
T <sub>3</sub>	3 Parameter Biosensor	27	8
		falsch negativ	richtig negativ
$\bar{T}_0$	nur visuell	30	55
$\bar{T}_1$	Ketteninformation + 1 Parameter Biosensor	11	37
$\bar{T}_2$	2 Parameter Biosensor	6	50
$\bar{T}_3$	3 Parameter Biosensor	4	52

T = Prüfergebniss „positiv“

B = Risiko vorhanden

$\bar{T}$  = Prüfergebniss „negativ“

$\bar{B}$  = Risiko nicht vorhanden



Aufgrund der gegebenen Prävalenz (vgl. Kapitel 2, Formel (1)) von 34% für das Auftreten eines Befundes, können die Informationsgehalte für B und  $\bar{B}$  sowie T und  $\bar{T}$  errechnet werden. Der Informationsgehalt der Quelle  $H(X)$  gibt die Entropien für B und  $\bar{B}$  wieder und beträgt hier 0,93 bit. Die Entropien der Wahrscheinlichkeiten für T und  $\bar{T}$  ermöglichen die Berechnung des Informationsgehaltes des Empfängers  $H(Y)$ . Es ergeben sich 0,96 bit. Der Informationsgehalt des Empfängers ist also größer als der Informationsgehalt der Quelle. Dies ist durch die hinzukommende „Fehlinformation“ zu erklären. Die Totalinformation  $H(X,Y)$  ist die Summe der Entropien, die sich aus den Eingangswahrscheinlichkeiten für B und  $\bar{B}$  multipliziert mit den möglichen Übergangswahrscheinlichkeiten ergeben. Die Totalinformation für die vorgestellte Prüfung liegt bei 1,48 bit.

Durch die Beziehungen dieser Werte ergeben sich die Fehlinformation  $H(Y|X)$ , hier 0,55 bit, und die Äquivokation  $H(X|Y)$ , die in diesem Fall gleich 0,52 bit ist. Die Fehlinformation quantifiziert die Information, die bei der Übertragung in einem Kanal zum Informationsgehalt der Quelle hinzukommt. Die Äquivokation quantifiziert den Teil, der bei der Übertragung verloren geht (Abb. 4). Die Transinformation gibt den Teil der Eingangsinformation an, welcher unbeeinflusst von Fehlinformation und Äquivokation beim Empfänger ankommt (vgl. Kapitel 2, Formel (2)). Die Transinformation der Prüfstrategie  $T_3$  beträgt 0,41 bit. Die Formel zur Berechnung der Transinformation kann hier wie folgt vereinfacht dargestellt werden:

$$H(X;Y) = H(X) - H(X|Y) = 0,93 \text{ bit} - 0,52 \text{ bit} = 0,41 \text{ bit (vgl. Abb. 4)}$$

Durch die Berechnung der maximalen Kanalkapazität (vgl. Kapitel 2, Formel (3)), lässt sich der maximal übertragbare Informationsgehalt mit etwa 0,73 bit bestimmen.

$$C = \frac{-0,13 \times 0,17 + 0,87 \times 0,38}{0,13 - 0,87} + \log_2 \left[ 1 + 2 \frac{0,17 - 0,38}{0,13 - 0,87} \right] = 0,73 \text{ bit}$$

Die optimale Prävalenz, d.h. die Prävalenz bei der das Potential der Prüfstrategie maximal genutzt werden kann, beträgt für den vorgestellten Test ( $T_3$ ) 0,57 (57%). In Situationen, in denen gehäuft Risiken für die Qualität und Sicherheit von Produkten aus bestimmten Herkunftsbetrieben auftreten, liefert die Prüfstrategie einen größeren Informationsgewinn zur Sortierung von Chargen, als dies im vorliegenden Lernkollektiv der Fall war.

**Tab. 7:** Zusammenfassung der Bewertungsparameter für Tests zur Vorhersage von Risiken

Test	Name	Vorhandene Prävalenz eines Risikos	Transinformation [bit]	Testkapazität [bit]
T <sub>0</sub>	nur visuell	0,34	0,04	0,13
T <sub>1</sub>	Vorinformation + 1 Parameter Biosensor	0,34	0,05	0,55
T <sub>2</sub>	2 Parameter Biosensor	0,34	0,29	0,67
T <sub>3</sub>	3 Parameter Biosensor	0,34	0,41	0,73

In **Tabelle 7** werden die Parameter Transinformation [ $I_{(B,T)}$ ] und Kanalkapazität [ $C$ ], die hier als Testkapazität bezeichnet wird, für die Vorhersage von Risiken für die Lebensmittelsicherheit dargestellt. Zur Berechnung der vorhersagenden Information wurden Hp-Konzentrationen, Tageszunahmen, Organveränderungen, Hemmstoffe, Salmonellen- und PRRS-Antikörper in verschiedenen Kombinationen genutzt.

Die in dieser Studie definierten Risiken für ein Endprodukt, die Prüfungen auf Antikörper gegen Erreger mit zoonotischem Charakter und Hemmstoffe, können nicht verlässlich durch die heutige Online-Prüfung, die visuelle Fleischbeschau, bewertet werden. Mit der hier vorgeschlagenen Prüfstrategie T<sub>1</sub>, die auf Vorinformationen aus der landwirtschaftlichen Produktion durch Einsatz von Biosensoren im Gesundheitsmanagement basiert, wächst der Informationsgehalt zur Abschätzung von Risiken. Weiter erhöht ist der Informationsgehalt, wenn man immunologische Methoden in die Befundbetrachtung einbezieht. Die erhebliche Steigerung der Information durch die Einbeziehung des unspezifischen Parameters Hp in die Prüfstrategie zeigt deutlich das Potential dieses Parameters. Die Prüfstrategie T<sub>3</sub> führt mit 0,41 bit zum größten Informationsgewinn im Vergleich zu den übrigen Prüfstrategien.

Es konnte somit bestätigt werden, dass die Transinformation als Rangierungsgröße genutzt werden kann, um Prüfstrategien miteinander im Sinne einer Entscheidungshilfe zu vergleichen. Die große Differenz zwischen der Transinformation und der Testkapazität zeigen deutlich, dass die Möglichkeiten der vorgestellten Tests im Lernkollektiv nicht ausgeschöpft wurden. Hierin ist ein weiterer Vorteil des Bewertungsmodells zu sehen. Die Testkapazität als Kenngröße erlaubt es, ein Prüfverfahren mit besonderen Stärken und Schwächen hinsichtlich der Entdeckungswahrscheinlichkeit von Risiken in weiteren Verarbeitungsprozessen zu erkennen.

So könnten bspw. durch die Kombination verschiedener Prüfparameter auf einem Chip, zur Messung mittels Biosensor, die Informationsgehalte der Prüfstrategie signifikant erhöht werden. Um eine Optimierung der Parameterkombinationen zu erreichen, sind zukünftig weitere Prüfstrategien nach dem vorgestellten Verfahren zu bewerten.

#### 4. Zusammenfassung

Im Rahmen des vorliegenden Forschungsprojektes wurde untersucht, wie sich das Untersuchungsspektrum der Matrix Fleischsaft durch Qualitäts-, Lebensmittelsicherheits- und Tiergesundheitsrelevante Prüfparameter erweitert lässt. Darüber hinaus erfolgte die Bewertung des potentiellen Informationsgewinns durch die Kombination unterschiedlicher Prüfparameter. Hierzu sind umfangreiche Untersuchungen in zwei Pilotbetrieben mit unterschiedlichem Hygienestatus durchgeführt worden. Die Mast- und Schlachtleistung der untersuchten Tiere entsprachen den durchschnittlichen Bewertungen von Schlachtschweinen, wobei zwischen den Betrieben keine signifikanten Unterschiede bestanden. Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik lassen darauf schließen, dass der Gesundheitsstatus in Betrieb B schlechter ist als in Betrieb A. Eine Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio (OR) ergab signifikante ( $p < 0,05$ ) positive Abhängigkeiten zwischen Hp und *Yersinia* ( $OR=6,6$ ), Hp und PRRS ( $OR=3,2$ ) sowie Hp und Schlachtbefunden ( $OR=9,2$ ).

Die Einbindung des Forschungsvorhabens in ein interdisziplinäres Netzwerk, ermöglichte es, das Konzept für die Integration von zwei neuen Testverfahren in eine erweiterte Prüfstrategie des Salmonellenmonitorings zu entwickeln. In Zusammenarbeit mit der AG Bioanalytik des IEL der Universität Bonn (Prof. Wüst) wurde das Verfahren der Stabilisotopenverdünnungsanalyse für die Qualitätsparameter Indol und Skatol angepasst. Gemeinsam mit SAW instruments (Bad Godesberg) erfolgte die Adaptation des auf akustischen Oberflächenwellen basierenden sam<sup>®</sup>5-Biosensors für die Konzentrationsbestimmung des Akute Phase Proteins Hp.

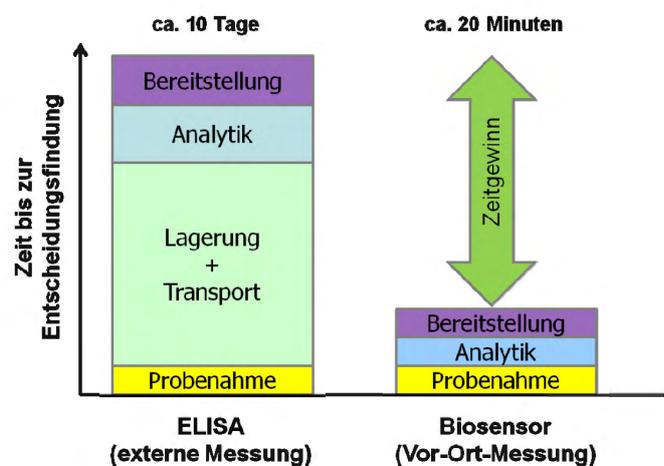
Die untersuchten Prüfstrategien zu Fragestellungen der Lebensmittelsicherheit und Produktqualität konnten abschließend mit Hilfe der Informationsmodelle von Shannon (1949) bewertet werden. Durch die exemplarische Verbindung von spezifischen und unspezifischen Parametern konnte der Informationsgehalt nachweislich gesteigert werden. Für mehrere ausgewählte Prüfstrategien im Rahmen von Lieferantenbewertungen und Entscheidungen im Hinblick auf die Sortierung von Schlachthälften aufgrund von Lebensmittelsicherheitsrisiken oder Risiken für Geruchsabweichungen und damit die Produktqualität sind nach dem Shannon Ansatz Rangierungskennzahlen wie z.B. die Transinformation oder die Testkapazität berechnet worden. Im Vergleich zur visuellen Untersuchung, kann die Transinformation um das 10-fache und die Testkapazität um das 5-fache durch Verwendung eines 3-Parameter Biosensors erhöht werden.

## 5. Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis

Schlussfolgernd lässt sich festhalten, dass der im Rahmen des Salmonellenmonitorings anfallende Fleischsaft zur Analyse zusätzlicher Parameter (Qualität, Verbraucherschutz, Tiergesundheit) geeignet ist und insbesondere eine Parameterkombination von spezifischen und unspezifischen Kriterien wertvolle Zusatzinformationen liefert.

Eine **Bewertung der Prüfstrategien** zu Fragestellungen der Lebensmittelsicherheit und Produktqualität ist anhand des vorgestellten **Informationsmodells von Shannon** (1949) möglich. Es wurde exemplarisch verdeutlicht, dass auf der methodisch-theoretischen Grundlage Auswahl, Optimierung, Anwendung und Wertung von Prüfstrategien objektivierbar werden.

Die Studie zeigt, dass die Einsatzfelder für **Biosensoren** in der Fleisch erzeugenden Kette sehr vielfältig sind. Mit der Entwicklung von Biosensoren stehen neue Möglichkeiten zur Etablierung von insbesondere produktionsbegleitenden Online-Prüfungen zur Verfügung. Somit können Prüfmöglichkeiten geschaffen werden, die direkt der Unterstützung von Entscheidungen im Qualitätsmanagement dienen. **Abbildung 15** visualisiert schematisch den Zeitgewinn durch die Vor-Ort-Messung mittels Biosensor.



**Abb. 15:** Zeitgewinn für die Entscheidungsfindung durch Messung mittels Biosensor

Die Adaptation der **Stabilisotopenverdünnungsanalyse** SIVA an die qualitätsrelevanten Geruchsparameter Indol und Skatol hat das Potential als objektive Messmethode zum Nachweis von qualitätsminderndem Ebergeruch.

## 6. Literaturverzeichnis

„Fett“ gekennzeichnete Autoren sind Mitglieder der Arbeitsgruppen „Präventives Gesundheitsmanagement“ und „Bioanalytik“.

- ANDRESEN, O. (1975): A Radioimmunoassay for 5 $\alpha$ -Androst-16-en-3-one in porcine adipose tissue. *Eur. J. Endocrinol.* 1975, 79, 619-624. DOI: 10.1530/acta.0.0790619.
- ARNOLD, T., H. NEUBAUER, K. NIKOLAOU, U. RÖSLER, A. HENSEL (2004): Identification of *Yersinia enterocolitica* in Minced Meat: A Comparative Analysis of API 20E, *Yersinia* Identification Kit and a 16S rRNA-based PCR Method *Journal of Veterinary Medicine Series B Volume 51 Issue 1, Pages 23-27*
- BABOL, J. & E.J. SQUIRES (1995): Quality of meat from entire male pigs. *Food Res. Int.* 1995, 28, 201-212. DOI: 10.1016/0963-9969(95)93528-3.
- BFR- BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (2007): Trichinellose – Erkennung, Behandlung und Verhütung. Online in Internet: URL: [http://www.bfr.bund.de/cm/350/trichinellose\\_erkennung\\_behandlung\\_und\\_verhuetung.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/350/trichinellose_erkennung_behandlung_und_verhuetung.pdf) . Stand Juli 2007. [05.07.2011].
- BONNEAU, M., KEMPSTER, A.J., CLAUS, R., CLAUDI-MAGNUSSEN, C. DIESTRE, A., TORNBORG, E., WALSTRA, P., CHEVILLON, P., WEILER, U. & G. L. COOK (2000): An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: I. Presentation of the programme and measurement of boar taint compounds with different analytical procedures. *Meat Sci.* 2000, 54, 251-259. DOI: 10.1016/S0309-1740(99)00102-3.
- BROOKS, R.I. & A.M. PEARSON (1986): Steroid hormone pathways in the pig, with special emphasis on boar odour: a review. *J. Anim. Sci.* 62, 632-645.
- CERVINO, C., ASAM, S., KNOPP, D., RYCHLIK, M. & R. NIESSNER (2008): Use of Isotope-Labeled Aflatoxins for LC-MS/MS Stable Isotope Dilution Analysis of Foods *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 1873-1879. DOI: 10.1021/jf073231z.
- CHEN, G., REN, L., YANG, S.M., QIU, J., KAMAL-ELDIN, A. & K. LUNDSTRÖM (2010): Determination of androstenone levels in porcine plasma by LC-S/MS. *Food Chem.* 2010, DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.03.083.
- CHEN, G., ZAMARATSKAIA, G., ANDERSSON, H. & K. LUNDSTROM (2007): Effects of raw potato starch and live weight on fat and plasma skatole, indole and androstenone levels measured by different methods in entire male pigs. *Food Chem.* 2007, 101, 439-448. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.11.054.
- CHETSCHIK, I., GRANVOGL, M. & P. SCHIEBERLE (2010): Quantitation of Key Peanut Aroma Compounds in Raw Peanuts and Pan-Roasted Peanut Meal. Aroma Reconstitution and Comparison with Commercial Peanut Products. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 11018-11026. DOI: 10.1021/jf1026636.
- CHO, H.S. & N.Y. PARK (2006): Serodiagnostic comparison between two methods, ELISA and Surface Plasmon Resonance for the detection of antibodies of classical swine fever. *J. Vet. Med. Sci.* 68(12), 1327-1329.
- CLAUS, R., DEHNHARD, M., HERZOG, A., BERNAL-BARRAGAN, H. & T. GIMÉNEZ (1993): Parallel measurements of indole and skatole (3-methylindole) in feces and blood plasma of pigs by HPLC. *Livest. Prod. Sci.* 1993, 34, 115-126. DOI: 10.1016/0301-6226(93)90040-O.

- CLAUS, R., LACORN, M. & C. OSTERTAG (2008): An improved microtitre enzyme immunoassay to measure the boar taint steroid  $5\alpha$ -androst-16-en-3-one in blood plasma of pigs. *Meat Sci.* 2008, *80*, 934-938. DOI: 10.1016/j.meatsci.2008.04.019.
- CLAUS, R., LÖSEL, D., LACORN, M., MENTSCHHEL, J. & H. SCHENKEL (2003): Effects of butyrate on apoptosis in the pig colon and its consequences for skatole formation and tissue accumulation. *J. Anim. Sci.* 2003, *81*, 239-248. .
- CLAUS, R., WEILER, U. & A. HERZOG (1994): Physiological aspects of androstenone and skatole formation in the boar—A review with experimental data. *Meat Sci.* 1994, *38*, 289-305. DOI: 10.1016/0309-1740(94)90118-X.
- DEHNHARD, M., CLAUS, R., HILLENBRAND, M. & A. HERZOG (1993): High-performance liquid chromatographic method for the determination of 3-methylindole (skatole) and indole in adipose tissue of pigs. *J. Chromatogr. B* 1993, *616*, 205-209. DOI: 10.1016/0378-4347(93)80387-J.
- DESLANDES, B. GARIEPY, C. & A. HOUDE (2001): Review of microbiological and biochemical effects of skatole on animal production. *Livest. Prod. Sci.* 2001, *71*, 193-200. DOI: 10.1016/S0301-6226(01)00189-0.
- DSM (2006): Breitspektrum-Schnelltest für den Nachweis antimikrobieller Substanzen im Fleisch. Produktinformation. Online in Internet: URL: [http://www.dsm.com/en\\_US/downloads/PremiTest\\_ScreeningtestmeatDuits\\_DNP.pdf](http://www.dsm.com/en_US/downloads/PremiTest_ScreeningtestmeatDuits_DNP.pdf) 17.03.2006. [05.07.2011]
- DÜSSELDORFER ERKLÄRUNG ZUR FERKELKASTRATION. [http://www.zds-bonn.de/duesseldorfererklaerung\\_zur\\_ferkelkastration.html](http://www.zds-bonn.de/duesseldorfererklaerung_zur_ferkelkastration.html) 2010.
- ELFRICH, A. & E. ROESICKE (2010): Von Notzeiten zum Überfluss, aid, Stand: 13.12.2010. Online in Internet: URL: [http://www.was-wir-essen.de/erzeugung/geschichte\\_veraenderung\\_landwirtschaft.php](http://www.was-wir-essen.de/erzeugung/geschichte_veraenderung_landwirtschaft.php) [05.07.2011]
- ELLEBRECHT, A. (2008): Nutzenbetrachtung internetbasierter Informationssysteme im einzel- und überbetrieblichen Gesundheitsmanagement. Diss., Agr., Universität Bonn.
- FISCHER, J., ELSINGHORST, P.W. & WÜST, M.** (2011a): Synthesis of deuterium-labeled d3-androstenone and d3-skatole for boar taint analysis. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2011, *54*, in press.
- FISCHER, J., ELSINGHORST, P. W., BÜCKING, M., THOLEN, E., PETERSEN, B. & M. WÜST** (2011b): Development of a candidate reference method for the simultaneous quantitation of the boar taint compounds androstenone,  $3\alpha$ -androstenol,  $3\beta$ -androstenol, skatole and indole in pig fat by means of SIDA-HS-SPME-GC/MS. *Anal. Chem., Just Accepted Manuscript*. DOI: 10.1021/ac201465q
- GYMNICH, S. & B. PETERSEN** (2002): Erprobung von Screening Tests im Gesundheitsmanagement von Ferkelaufzuchtbetrieben mit der Zielsetzung der Reduktion des Medikamenteneinsatzes in der Umstellungsphase. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, 96, 42 Seiten
- GYMNICH, S.** (2001): Haptoglobin als Screeningparameter im Gesundheitsmanagement von Ferkelaufzuchtbetrieben. Diss. Agr., Bonn
- HANSEN, L.L., LARSEN, A.E., JENSEN, B.B., HANSEN-MØLLER, J. & P. BARTON-GADE (2010): Influence of stocking rate and faeces deposition in the pen at different

- temperatures on skatole concentration (boar taint) in subcutaneous fat *Anim. Prod.* 2010, 59, 99-110. DOI: 10.1017/S0003356100007546.
- HISS, S., HENNIES, M., **GYMNICH, S., PETERSEN, B.** & H. SAUERWEIN (2003): Haptoglobin in pigs: Development and validation of an enzyme immunoassay for various body fluids and establishment of physiological reference values. *Acta veterinaria scandinavia*, Suppl. 98, 208- 209, 2003
- IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (1996): A definition of biosensors. *Electrochemical biosensors: proposed definitions and classification*. *Biosens. Bioelectron.* 11 (4), i
- KJOS, N.P., ØVERLAND, M., FAUSKE, A.K. & H. SØRUM (2010): Feeding chicory inulin to entire male pigs during the last period before slaughter reduces skatole in digesta and backfat *Livestock Science* 2010, 134, 143-145. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.06.120.
- KLAUKE, T.N., GRONEWOLD, T.M.A., PERPEET, M., IBALD, R., BRINKMANN, D., PLATTES, S., PETERSEN, B.** (2011): Measurement of porcine haptoglobin in meat juice using surface acoustic wave biosensor technology, *Vet. Immunol. Immunop.*, (under review)
- KNURA, S., LIPPERHEIDE, C., PETERSEN, B.** & M. WENDT (2000): Impact of hygienic environment on haptoglobin concentration in pigs. In: *Proceedings of the Xth International Congress on Animal Hygiene, Maastricht, 02.-06.07.2000*, Tielen, M.J.M. und Voets, M. Th., eds, Vol. 1
- KNURA-DESZCZKA, S.** (2000): Bewertung von Haptoglobin als Parameter zur Einschätzung des Gesundheitsstatus von Mastschweinen. *Diss. Med. vet.*, Hannover
- LAN, Y.B., WANG, S.Z., YIN, Y.G., HOFFMANN, W.C. & X.Z. ZHENG (2008): Using a Surface Plasmon Resonance Biosensor for Rapid Detection of *Salmonella Typhimurium* in Chicken Carcass. *J. Bionic Eng.* 5, 239–246.
- LEIDIG, M., HERTRAMPF, B., FAILING, K., SCHUMANN, A. & G. REINER (2009): Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behavior. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2009**, 116, 174-178. DOI: 10.1016/j.applanim.2008.10.004.
- MORTENSEN, S., H. STRYHN, R. SØGAARD, A. BOKLUND, K.D.C. STÄRK, J. CHRISTENSEN AND P. WILLEBERG (2001): Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus *Preventive Veterinary Medicine*, Volume 53, Issues 1-2, 14 February 2002, Pages 83-101
- MURATA, H.; SHIMADA, N. & M. YOSHIOKA (2003): Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, 16, pp. 28 – 40.
- OHLOFF, G., MAURER, B., WINTER, B. & W. GIERSCH (1983): Structural and Configurational Dependence of the Sensory Process in Steroids. *Helv. Chim. Acta* **1983**, 66, 192-217. DOI: 10.1002/hlca.19830660121.
- PATTERSON, R.L.S. (1968): 5 $\alpha$ -androst-16-ene-3-one:—Compound responsible for taint in boar fat *J. Sci. Food Agric.* 1968, 19, 31-38. DOI: 10.1002/jsfa.2740190107.
- PERPEET, M., GLASS, S., GRONEWOLD, T., KIWITZ, A., MALAVÉ, A., STOYANOV, I., TEWES, M. & E. QUANDT (2006): SAW Sensor System for Marker-Free Molecular Interaction Analysis. *Anal. Lett.* 39, 1747–1757.

- PETERSEN H. H., DIDERIKSEN D., CHRISTIANSEN B. M. & J. P. NIELSEN (2002): Serum haptoglobin concentration as a marker of clinical signs in finishing pigs. *The Veterinary Record*, 151, pp. 85 – 89.
- PETERSEN, B.** (1985): Die Kontrolle von Leistung und Gesundheit in Ferkelerzeugerbetrieben mit Hilfe eines produktionsbegleitenden Informationssystems. Habil. Agr. Bonn, Verlag Orzekowsky, Bonn
- PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P. & P. M. H. HEEGAARD (2004): Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, 35, pp. 163 – 187.
- PIÑEIRO, C.; PIÑEIRO, M.; MOLARES, J.; ANDRES, M.; LORENZO, E.; POZO DEL, M.; ALAVA, M. A. & F. LAMPREAVE (2009a): Pig-MAP and haptoglobin concentration reference values in swine from commercial farms. *The Veterinary Journal*, 179, pp. 78 – 84.
- PIÑEIRO, M.; **GYMNICH, S.**; **KNURA, S.**; PIÑEIRO, C. & **B. PETERSEN** (2009b): Meat juice: An alternative matrix for assessing animal health by measuring acute phase proteins. Correlations of pig-MAP and haptoglobin concentrations in pig meat juice and plasma. *Research in Veterinary Science*, 87, pp. 273 – 276.
- PÖCKER, C.**, SCHULZE ALTHOFF, G., **PETERSEN, B.**, & T. BLAHA (2003): Neue Chancen nutzen – Ein Informations- und Entscheidungsmodell zur „modernisierten Fleischuntersuchung“. In: Tagungsband, 44. Tagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG), Garmisch Partenkirchen, 29.09. – 2.10.2003
- POMPE, B. (2005): Einführung in die Informationstheorie. 1-semesterige Vorlesung für Studenten der Physik. Institut für Physik der Universität Greifswald. Online in Internet: URL: <http://www2.physik.uni-greifswald.de/~pompe/SCRIPTS/inf.pdf> [25.07.2011]
- PUPPE, B., SCHÖN, P. C., TUCHSCHERER, A. & G. MANTEUFFEL (2005): Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: Complex and specific alterations of the vocal quality. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2005, 95, 67-78. DOI: 10.1016/j.applanim.2005.05.001.
- SCHIEBERLE, P. (1995): New developments in methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors. *Characterization of Food: Emerging Methods*; Elsevier Science, 1995; S. 403-431.
- SCHLENSOG, M.D., GRONWOLD, T.M.A., TEWES, M., FAMULOK, M. & E. QUANDT (2004): A Love-wave biosensor using nucleic acids as ligands. *Sensor Actuator* 101, 308–315.
- SHANNON, C. E. (1948): A mathematical theory of communication, *Bell System Technical Journal* 27, 379, 623.
- SHANNON, C.E., WEAVER, W. (1949): *The mathematical theory of communication*, University of Illinois Press, Chicago.
- SINK, J.D. (1967): Theoretical aspects of sex odor in swine. *Theor. Biol.* 1967, 17, 174-180. DOI: 10.1016/0022-5193(67)90027-6.
- STROTMANN, K. (1989): Modell zur Verarbeitung von Ergebnissen aus Gesundheitsvorsorge- und Trächtigkeitstests zu vorhersagenden Informationen als Entscheidungshilfen für den Sauenhalter, Habilitation Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn 1989.

- TAYLOR, A.A.; WEARY, D.M.; LESSARD, M. & L. BRAITHWAITE (2001): Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2001, 73, 35-43. DOI: 10.1016/S0168-1591(01)00123-X.
- THOMPSON, R.H. & A.M. PEARSON (1977): Quantitative determination of 5 $\alpha$ -androst-16-en-3-one by gas chromatography - mass spectrometry and its relationship to sex odor intensity of pork. *J. Agric. Food Chem.* 1977, 25, 1241-1245.
- VERCRUYSSSE, J., GEURDEN, T. & I. PEELAERS (2006): Development and Bayesian evaluation of an ELISA to detect specific antibodies to *Sarcoptes scabiei* var *suis* in the meat juice of pigs. Department of Virology, Parasitology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium
- VERHEYDEN, K., NOPPE, H., ALUWE, M., MILLET, S., VANDENBUSSCHE, J. & H. DE BRABANDER (2007): Development and validation of a method for simultaneous analysis of the boar taint compounds indole, skatole and androstenone in pig fat using liquid chromatography-multiple mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2007, 1174, 132-137. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.08.075.
- WINKELMAYER, R. & P. PAULSEN (2005): Trichinenuntersuchung beim Schwarzwild durch besonders ausgebildete Jäger – das Modell Niederösterreich. Helminthologische Fachgespräche, Juni 2005, Veterinärmed. Universität Wien, 9-15. Online in Internet: URL: <http://www.winkelmayer.at/Abstract.pdf> [05.07.2011]

## 7. Anhang

Tab. A1: Mastleistung

		Betrieb A n=42	Betrieb B n=65	Gesamt n=107
Alter [Tage]	x*	192,9	191,2	191,9
	s	9,5	6,6	7,9
	min	173,0	183,0	173,0
	max	201,4	196,4	201,4
Lebendgewicht [kg] (rechnerisch ermittelt, 80% Ausschlachtung)	x	116,4	118,0	117,4
	s	8,8	9,2	9,0
	min	101,3	94,4	94,4
	max	134,4	140,6	140,6
Tageszunahme (Geburt-Schlachtung) [g/Tag]	x	605	617	612
	s	49	48	48
	min	503	500	0,500
	max	704	724	724

Tab. A2: Schlachtleistung

		Betrieb A n=42	Betrieb B n=65	Gesamt n=107
Schlachtgewicht [kg]	x*	93,1	94,4	93,9
	s	7,6	7,4	7,2
	min	81,0	75,5	75,5
	max	107,5	112,5	112,5
MFL-Bauch [%]	x	53,2	52,2	52,6
	s	3,1	4,0	3,7
	min	44,5	37,5	37,5
	max	59,4	60,6	60,6
Schinken schier [kg]	x	17,66 (19,0%)	17,66 (18,7%)	17,66 (18,8%)
	s	1,57	1,6	1,6
	min	14,4	14,3	14,3
	max	20,5	21,2	21,2

		Betrieb A n=42	Betrieb B n=65	Gesamt n=107
Teller schier [kg]	x*	8,1 (8,1%)	8,2 (8,7%)	8,2 (8,7%)
	s	0,7	0,7	0,7
	min	6,5	6,6	6,5
	max	9,4	9,8	9,8
Lachs [kg]	x	6,8 (7,3%)	6,8 (7,2%)	6,8 (7,3%)
	s	0,6	0,6	0,6
	min	5,7	5,3	5,3
	max	8,3	8,35	8,4
Index-Punkte	x	91,5	90,8	91,0
	s	11,1	10,0	10,4
	min	67,0	64,1	64,1
	max	106,1	105,2	106,1
Befunde [%]	rel. Häufigkeit	2,3	7,7	5,6

**Tab. A3:** Geruchsparameter

		Betrieb A n=12	Betrieb B n=21	Gesamt n=33
Skatol [µg/ml]	Median	0,06	0,04	0,05
	s	0,04	0,09	0,08
	min	0,02	0,01	0,01
	max	0,14	0,44	0,44
	auffällig (n)	0	1	1
	sehr auffällig (n)	0	0	0
Indol [µg/ml]	Median	0,04	0,05	0,04
	s	0,02	0,05	0,04
	min	0,03	0,02	0,02
	max	0,11	0,24	0,24
	auffällig (n)	0	0	0
	sehr auffällig (n)	0	0	0

## 8. Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten

Im Rahmen des Forschungsvorhabens konnte gezeigt werden, dass sich der für die Salmonellenuntersuchungen gewonnene Fleischsaft von Schlachtschweinen gut für die Messung weiterer Prüfparameter eignet. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Zusatzinformationen, die man hierdurch erhält einen deutlichen Informationsgewinn vor dem Hintergrund der risikoorientierten Fleischuntersuchung darstellen. Allerdings sollten diese Ergebnisse anhand größerer Tierzahlen verifiziert werden. Dabei wäre es wünschenswert eine größere Breite insbesondere bezüglich Qualitätsabweichungen angelieferter Schlachtschweinepartien zu untersuchen. Darüber hinaus erscheint auch die Beschleunigung der Messungen durch die Nutzung anderer Matrices wie z.Bsp. Schlachtblut (hier entfällt der Einfrier- und Auftauprozess) sinnvoll. Die Optimierung von Prüfstrategien durch die Bewertung der Informationsgehalte verschiedener Parameter basierend auf den Modellen von Shannon stehen hierbei im Vordergrund.

Insbesondere durch die Etablierung bzw. Anpassung der bereits bestehenden Testverfahren (Stabilisotopenverdünnungsanalyse bzw. sam<sup>®</sup>5-Biosensor) ergeben sich weitere Fragestellungen, wodurch eine Optimierung dieser Messungen erreicht werden könnte. Für weitere laufende Projekte, wie bspw. FINQ.NRW, stellen die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen eine Grundlage für vertiefende Studien bezüglich der Erarbeitung neuer Teststrategien dar:

- Fettanalytik bezüglich Skatol und Indol sowie Androstenon, 3 $\alpha$ -Androstenol, und 3 $\beta$ -Androstenol
- Fleischsaftanalytik derselben Tiere aus Skatol und Indol → Korrelationsberechnung
- Anpassung, Testung und Validierung der Potentiale des beschriebenen Biosensors → Identifikation aussagekräftiger Profile
- Anpassung der Messtechnik an die Ansprüche im Produktionsprozess (z.B. Spritzwasserschutz)

## 9. Mitteilung über evtl. schützenswerte Nutzungsrechte

Die Testentwicklung bzw. Anpassung des sam<sup>®</sup>5-Biosensor zur Konzentrationsbestimmung von Hp erfolgte in enger Zusammenarbeit mit der Firma SAW instruments in Bad Godesberg. Die Nutzungsrechte liegen entsprechend in Händen der Firma SAW. Das Messverfahren ist patentrechtlich geschützt.

**10. Liste über Veröffentlichungen**

FISCHER, J., ELSINGHORST, P.W., WÜST, M. (2011):

Synthesis of deuterium-labeled d3-androstenone and d3-skatole for boar taint analysis. J. Label. Compd. Radiopharm. 2011, 54, in press.

FISCHER, J., ELSINGHORST, P. W., BÜCKING, M., THOLEN, E., PETERSEN, B. & M. WÜST (2011):

Development of a candidate reference method for the simultaneous quantitation of the boar taint compounds androstenone, 3 $\alpha$ -androstenol, 3 $\beta$ -androstenol, skatole and indole in pig fat by means of SIDA-HS-SPME-GC/MS. *Anal. Chem., Just Accepted Manuscript. DOI: 10.1021/ac201465q*

KLAUKE, T. N.; GRONWOLD, T. M. A.; PERPEET, M.; IBALD, R.; BRINKMANN, D.; PLATTES, S. AND B. PETERSEN (2011):

Measurement of porcine haptoglobin in meat juice using Surface Acoustic Wave (SAW) biosensor technology. *Vet. Imm.* (under review).

**11. Liste über Vorträge**

FISCHER, J. (2011):

Simultane Quantifizierung von Ebergeruchsstoffen mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse. Vortrag auf der Arbeitstagung der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Regionalverband Nordrhein-Westfalen. Wuppertal, 2011.

GRONWOLD T. M. A. UND T. N. KLAUKE (2010):

sam5 – sam<sup>®</sup>5 biosensor vs. ELISA detecting porcine haptoglobin. Vortrag auf dem MeKoTech-Netzwerktreffen, 28.10.2010, GIQS, Bonn.

KLAUKE, T. N. (2011):

Einsatzpotentiale von Biosensoren als Prüfmittel in überbetrieblichen QM-Systemen. Vortrag auf der GQW-Tagung 2011, Bonn

**12. Liste über Pressemitteilungen**

Entfällt

**13. Liste über Posterpräsentationen, Vorführungen und Demonstrationen**

FISCHER, J., WÜST, M. (2010): Analytik von Ebergeruchsstoffen mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse. Poster anlässlich des 39. Deutscher Lebensmittelchemikertag 2010 Stuttgart-Hohenheim, 20. - 22. September 2010.

## 14. Kurzfassung in Deutsch und Englisch

### **Erweitertes Untersuchungsspektrum der Matrix Fleischsaft zur Beurteilung des Gesundheitsstatus von Schlachtschweinen vor dem Hintergrund der risikoorientierten Schlacht tieruntersuchung.**

Im Rahmen des vorliegenden Forschungsprojektes wurde untersucht, wie sich das Untersuchungsspektrum der Matrix Fleischsaft durch Qualitäts-, Lebensmittelsicherheits- und Tiergesundheitsrelevante Prüfparameter erweitert lässt. Darüber hinaus erfolgte die Bewertung des potentiellen Informationsgewinns durch die Kombination unterschiedlicher Prüfparameter.

Hierzu sind umfangreiche Untersuchungen in zwei Pilotbetrieben mit unterschiedlichem Hygienestatus durchgeführt worden. Die Mastleistung war in beiden Betrieben gut und die mit Hilfe der AutoFOM ermittelten Schlachtleistungsdaten entsprachen den durchschnittlichen Bewertungen von Schlachtschweinen, wobei zwischen den Betrieben keine signifikanten Unterschiede bestanden. Bezüglich der Organbefundung weist die Inzidenz von 7,7% in Betrieb B auf Gesundheitsprobleme hin. Die Daten der Organbefundung sowie die Schlachtleistungsdaten von insgesamt 107 Tieren (Betrieb A: 42 Tiere, Betrieb B: 65 Tiere) wurden durch folgende Prüfparameter ergänzt: Indol und Skatol (Qualität), *Salmonella*, *Trichinella*, *Yersinia* und Hemmstoffe (Lebensmittelsicherheit) sowie *PRRSV*, *Sarcoptes* und Haptoglobin (Hp) (Tiergesundheit). Eine Risikoabschätzung mit Hilfe der Odds Ratio (OR) ergab signifikante ( $p < 0,05$ ) positive Abhängigkeiten zwischen Hp und *Yersinia* ( $OR = 6,6$ ), Hp und PRRS ( $OR = 3,2$ ) sowie Hp und Schlachtbefunden ( $OR = 9,2$ ).

Die Einbindung des Forschungsvorhabens in ein interdisziplinäres Netzwerk, ermöglichte es, das Konzept für die Integration von zwei neuen Testverfahren in eine erweiterte Prüfstrategie des Salmonellenmonitorings zu entwickeln. In Zusammenarbeit mit der AG Bioanalytik des IEL der Universität Bonn (Prof. Wüst) wurde das Verfahren der Stabilisotopenverdünnungsanalyse für die Qualitätsparameter Indol und Skatol angepasst. Es konnte ermittelt werden, dass deren Nutzung als Parameter für die Qualitätssicherung innerhalb der Produktionskette möglich ist, da Sie zum einen das als Qualitätsmerkmal Geruchs- und Geschmacksabweichung anzeigen können und zum anderen mit geeigneten Maßnahmen z. B. im Bereich der Fütterung oder Stallhygiene gemanagt werden können.

Gemeinsam mit SAW instruments (Bad Godesberg) erfolgte die Adaptation des auf akustischen Oberflächenwellen basierenden sam<sup>®</sup>5-Biosensors für die Konzentrationsbestimmung des Akute Phase Proteins Hp. Der Einsatz des Biosensors in einem „online“-Prüfverfahren wurde für eine exemplarische Anwendung erprobt.

Die untersuchten Prüfstrategien zu Fragestellungen der Lebensmittelsicherheit und Produktqualität konnten abschließend mit Hilfe der der Informationsmodelle von Shannon (1949) bewertet werden. Durch die exemplarische Verbindung von spezifischen und unspezifischen Parametern konnte der Informationsgehalt nachweislich gesteigert werden. Der dargestellte Informationsgewinn kann somit zum Treiber für innovative Prüfstrategien werden. Für mehrere ausgewählte Prüfstrategien im Rahmen von Lieferantenbewertungen und Entscheidungen im Hinblick auf die Sortierung von Schlachthälften aufgrund von Lebensmittelsicherheitsrisiken oder Risiken für Geruchsabweichungen und damit die Produktqualität sind nach dem Shannon Ansatz Rangierungskennzahlen wie z.B. die Transinformation oder die Testkapazität berechnet worden. Im Vergleich zur visuellen Untersuchung, kann die Transinformation um das 10-fache und die Testkapazität um das 5-fache durch Verwendung eines 3-Parameter Biosensors erhöht werden.

**Extended examination spectrum of meat juice to assess the health status of slaughter pigs in the frame of risk oriented meat inspection.**

Within this project the investigative spectrum of the matrix meat juice, obtained routinely in the frame of Salmonella monitoring by freezing and thawing, should be extended. Thus, development and testing of risk oriented test strategies, integrated into slaughter process will be followed by the assessment of information gain by combination of different parameters as well as the benefit cost analysis of extended test measures in the frame of quality assurance systems.

Therefore extended examinations in two two farms with different hygienic status were performed. Performance of the fattening pigs was good and the carcass performance (measured by AutoFOM) corresponded to expectation. No significant differences could be found between the two farms. Concerning animal health farm B is conspicuous because of an incidence of 7.7% of organic findings. Lesions at slaughter and carcass performance of 107 animals (farm A: 42, Farm B: 65) were supplemented by the following test parameters: Indole and Skatole (quality), *Salmonella*, *Trichinella*, *Yersinia* and residues (food security) as well as *PRRSV*, *Sarcoptes* and Haptoglobin (Hp) (animal health). Risk assessment Odds Ratio (OR) leads to significant ( $p < 0.05$ ) positive dependency between Hp and *Yersinia* ( $OR=6,6$ ), Hp and PRRS ( $OR=3,2$ ) as well as Hp and lesions at slaughter ( $OR=9,2$ ).

The integration of this project into an interdisciplinary network enabled the development of a concept for the integration of two new test methods into extended test strategies within the Salmonella monitoring. Together with the working group “Bioanalysis” of the IEL (University of

Bonn, Prof. Wüst) the “Stable Isotope dilution analysis” was adapted to the quality parameters Indole and Skatole. They show potential as quality relevant parameters within the production chain because they might indicate odour and taste deviations and could be managed by adequate measures like feeding or hygiene.

Together with SAW instruments (Bad Godesberg) the sam<sup>®</sup>5-biosensor – using Surface Acoustic Waves (SAW) technology for real-time measurements - could be adapted to the measurement of haptoglobin concentration in meat juice. The implementation of this biosensor as online-test was tested exemplarily.

An evaluation of the examined test strategies concerning food safety and product quality was performed using the information model of Shannon (1949). The exemplary combination of specific and unspecific parameters could increase the information content definitely. Thus, the demonstrated gain of information has the potential to facilitate innovative test strategies.

Using the Shannon approach, key data (e.g. transinformation or test capacity) for several selected test strategies in the frame of supplier assessment and decision making (sorting of slaughter halves because of food safety risks or risk of odour aberrations and thus product quality) could be calculated. Compared to the visual examination the transinformation might increase 10-fold and the test capacity might increase 5-fold by using a 3-parameter Biosensor.