Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 119, 467–473 (2006)

© 2006 Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG
ISSN 0005-9366

Korrespondierender Autor:
ulrich.methner@fli.bund.de

Eingegangen: 08. 03. 2006
Angenommen: 25. 08. 2006

[1] Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesinstitut für Tiergesundheit, Bereich Jena,
[2] Tierarztpraxis Böhland, Deersheim

Zum Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungsformen und Schlussfolgerungen für die Bekämpfung

Occurence of salmonellae in laying hens in different housing systems and conclusion for the control

Ulrich Methner[1], Roland Diller[1], Renate Reiche[1], Karin Böhland[2]

Zusammenfassung

Aufgrund der nach wie vor besonderen Bedeutung des von Konsumeiern ausgehenden Risikos für *Salmonella*-Infektionen des Menschen und der gegenwärtig erfolgenden Verschiebung der Haltung von Legehennen von der konventionellen Käfighaltung zu alternativen Systemen sollte im Rahmen der durchgeführten Studie untersucht werden, ob die *Salmonella*-Besiedelung bei Legehennen durch die Haltungsform beeinflusst wird. Dabei wurden folgende Haltungssysteme berücksichtigt: Bio-Freilandhaltung, Bodenhaltung mit Auslauf, Bodenhaltung ohne Auslauf, Käfighaltung. Insgesamt wurden 453 Sammelkotproben als Einzel- oder Wiederholungsuntersuchung von 329 Herden unterschiedlicher Haltungssysteme zur Konsumeier-Produktion aus drei Bundesländern kulturell bakteriologisch untersucht und in der Auswertung berücksichtigt.
Der Anteil der Legehennen-Herden, die mindestens zu einem Untersuchungszeitpunkt einen positiven *Salmonella*-Befund aufwiesen, betrug insgesamt 32,2 %. Die Aufschlüsselung der *Salmonella*-Befunde nach den einzelnen Haltungssystemen ergab, dass der Anteil *Salmonella*-positiver Herden in der konventionellen Käfighaltung höher war (46,3 %) als in den alternativen Haltungsformen (32,9 % Bio-Freilandhaltung, 21,9 % Bodenhaltung mit Auslauf, 23,4 % Bodenhaltung ohne Auslauf). Die Ergebnisse der Studie belegen eindeutig, dass *Salmonella* Enteritidis (vorwiegend Phagentyp 4, andere Phagentypen selten) insgesamt mit einem Anteil von 78 % die größte Bedeutung bei Legehennen besitzt. Andere Serovaren (außer *Salmonella* Enteritidis und Subspezies I Rauhform) hatten insgesamt einen Anteil von 14 %, wobei jedoch keine andere einzelne Serovar dominierte.
Da *Salmonella* Enteritidis die größte Bedeutung bei Legehennen besitzt, sollte im Rahmen der Immunisierungsprogramme im Aufzuchtbereich auch gegen diese Serovar homolog immunisiert werden. Aufgrund der hohen *Salmonella*-Nachweisraten bei Legehennen in allen untersuchten Haltungsformen sind detaillierte Kenntnisse über die Epidemiologie von Salmonellen in den infizierten Herden erforderlich, um effektive Bekämpfungsverfahren zu etablieren. Von besonderem Interesse ist dabei die Frage, ob die *Salmonella*-Nachweise bei Legehennen das Ergebnis einer Vermehrung bereits vorhandener Salmonellen bei den Tieren ist oder ob es sich um einen neuen *Salmonella*-Eintrag in die Herde handelt.

Schlüsselwörter: *Salmonella*, Legehennen, Haltungssysteme, Immunisierung, Bekämpfung

Summary

As eggs represent now as ever the most important source for *Salmonella* infection in human beings and because of the currently occurring shift in housing conditions for laying hens from conventional cages to alternative systems it was studied whether the *Salmonella* prevalence in layers is influenced by the housing system. Following systems were considered: organic farming with free range management systems, floor management systems with free range, floor management systems without free range, conventional cages. 453 pooled faecal samples as single or double examination per herd from 329 flocks in different housing systems for table egg production from three Federal Länder were examined bacteriologically.

U.S. Copyright Clearance Center
Code Statement:
0005-9366/2006/11911-467 $15.00/0

The share of layer flocks which were *Salmonella* positive at least once independently of the housing system amounted to 32.2 %. Analysis of the *Salmonella* findings in the single housing systems revealed that the share of *Salmonella* positive flocks was higher in conventional cage systems (46.3 %) than in alternative housing systems (32.9 % in organic farming with free range management systems, 21.9 % in floor management systems with free range, 23.4 % in floor management systems without free range). The results of the study clearly show that *Salmonella* Enteritidis (mostly phage type 4, other phage types rarely) presents with a share of 78 % the dominant serovar in laying hens. The total number of all other serovars (apart from *Salmonella* Enteritidis and subspecies I rough) reached a share of ca. 14 %, however, no other single serovar was dominant.
As *Salmonella* Enteritidis is the predominant serovar in laying hens it is strongly recommended to use *Salmonella* Enteritidis vaccines for immunisation programmes of chickens during the rearing period. Because of the high prevalence of *Salmonella* organisms in the different housing systems, detailed information on the epidemiology of *Salmonella* in laying hens are needed to introduce effective control measures. Of particular interest is the question whether the *Salmonella* findings in laying flocks are the result of multiplication of already existing *Salmonella* organisms in the animals or whether the bacteria are introduced only during the laying period.

Keywords: *Salmonella*, laying hens, housing systems, immunisation, control

Einleitung

Salmonella-Infektionen des Geflügels sind die bedeutendste Ursache für *Salmonella*-Infektionen des Menschen. Trotz des nachgewiesenen Rückgangs der Gesamtzahl der registrierten *Salmonella*-Fälle in den letzten Jahren (Alpers und Jansen, 2004) werden nach wie vor ca. 60 % aller gemeldeten *Salmonella*-Infektionen des Menschen durch *Salmonella* Enteritidis (fast ausschließlich von Eiern, Eiprodukten und Geflügelfleisch stammend) hervorgerufen.

Aufgrund der am 19. Oktober 2001 vom Bundesrat als Umsetzung der Richtlinie 1999/74/EG zur Hennenhaltung verabschiedeten „Ersten Verordnung zur Änderung der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung" vollzieht sich gegenwärtig bei Legehennen eine Verschiebung von der konventionellen Käfighaltung zu alternativen Haltungsformen. Alternative Legehennenhaltung wird in Deutschland derzeit in Form von Boden-, Volieren- und Freilandhaltung betrieben. Hinzu kommt die Käfighaltung, die sowohl konventionell als auch mit „ausgestalteten Käfigen" durchgeführt werden kann. Im Jahre 2004 wurden in Deutschland 77,5 % aller Legehennen in konventionellen Käfigen, 11,6 % in Bodenhaltung und 10,9 % in Freilandhaltung gehalten (ZMP-Jahresbericht 2005). Aufgrund dieser Größenordnungen und der Tatsache, dass die Umstellung zu alternativen Haltungssystemen erst vor wenigen Jahren begann, stehen Untersuchungsergebnisse zum Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungsformen nicht in repräsentativem Umfang zur Verfügung. Daher sollte in einer Studie untersucht werden, ob die Prävalenz von Salmonellen bei Legehennen durch die Haltungsform beeinflusst wird. Derartige Untersuchungen können wichtige Informationen zu epidemiologischen Besonderheiten bestimmter Haltungsformen liefern und eine Grundlage für Prophylaxe- und Bekämpfungsprogramme bilden.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial

Sammelkotproben von Legehennenherden aus verschiedenen Betrieben unterschiedlicher Haltungssysteme aus drei Bundesländern (Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern) wurden über einen Zeitraum von 2 Jahren (2003–2004) auf das Vorhandensein von Salmonellen bakteriologisch untersucht. Ein Betrieb ist eine Einrichtung für die Haltung von Legehennen zur Konsumeier-Produktion, eine Herde ist eine epidemiologische Einheit, die sich auf dem Grundstück eines Betriebes befindet und in einem Gebäude gehalten wird. Die Sammelkotproben (ca. 200–250 g) wurden in Abhängigkeit von der Haltungsform von zahlreichen Punkten der Kotbänder, Schieber, Gruben bzw. dem Stallboden genommen. Dabei wurden die Bio-Freilandhaltung, die Bodenhaltung mit Auslauf, die Bodenhaltung ohne Auslauf und die Käfighaltung berücksichtigt. Die Größe der untersuchten Herden betrug in der Bio-Freilandhaltung 4500 bis 7000 Tiere, in der Bodenhaltung mit Auslauf 8000 bis 12 000 Tiere, in Bodenhaltung ohne Auslauf 5000 bis 8000 Legehennen und in der Käfighaltung 10 000 bis maximal 24 000 Tiere. In allen Haltungsformen wurde ca. je eine Hälfte der Herden einmal und die andere Hälfte zweimal zu unterschiedlichen Zeitpunkten bakteriologisch untersucht.

Bakteriologische Untersuchung

Von den gewonnenen Sammelkotproben wurden nach Durchmischung im Labor je 25 g in 225 ml gepuffertem Peptonwasser eingewogen und 18–24 Stunden bei 37 °C inkubiert. Die selektive Anreicherung erfolgte in Rappaport-Vassiliadis-Bouillon (Oxoid, Wesel, Deutschland) über 18–24 Stunden bei 42 °C und in Tetrathionat-Brillantgrün-Galle-Bouillon (Merck, Darmstadt, Deutschland) über 18–24 Stunden bei 37 °C. Die Anreicherungslösungen wurden jeweils auf Xylose-Lysin-Desoxycho-

lat-Agar und Rambach-Agar sowie z. T. zusätzlich auch auf XLT-4-Agar (Merck, Darmstadt, Deutschland) ausgestrichen und über 18–24 Stunden bei 37 °C inkubiert. Je zwei *Salmonella*-verdächtige Kolonien wurden mit omnivalentem *Salmonella*-Antiserum (SIFIN, Berlin, Deutschland) agglutiniert. Von den *Salmonella*-positiven Isolaten erfolgte im Nationalen Referenzlabor für Salmonellen beim BfR die Bestimmung der Serovar. Bei *Salmonella* Enteritidis wurde auch der Phagentyp bestimmt.

Immunisierung gegen *Salmonella*-Infektionen

Die Halter aller in die Untersuchung einbezogenen Legehennen-Herden wurden befragt, ob die Tiere entsprechend der Hühner-Salmonellen-Verordnung (2001) während der Aufzucht gegen Salmonellen immunisiert wurden. Es stellte sich heraus, dass der Verpflichtung zur Impfung bis auf sehr wenige Herden, bei denen der Halter keine Angaben machen konnte, vollständig nachgekommen wurde. Dazu wurden sowohl *Salmonella*-Typhimurium- als auch *Salmonella*-Enteritidis-Lebendimpfstoffe eingesetzt. Es konnte aufgrund ungenauer oder fehlender Angaben jedoch nicht ermittelt werden, in welchen Herden tatsächlich welcher Impfstoff eingesetzt wurde und auch der Anteil der Herden, die entweder mit einem *Salmonella*-Typhimurium oder einem *Salmonella*-Enteritidis-Lebendimpfstoff immunisiert wurden, konnte nicht festgestellt werden.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit Hilfe der SPSS®-Software (SPSSInc., 444 N Michigan Avenue, Chicago, Illinois 60611, USA). Zur Prüfung der Werte auf signifikante Unterschiede wurde der Test nach Fisher eingesetzt. Als Signifikanzgrenze galt eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ($p \leq 0{,}05$).

TABELLE 1: *Salmonella-Nachweise bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungssystemen.*

Haltungsform	Anzahl (n)			Anteil %
	Proben	Herden	Herden mit ≥ 1 positiven Befund	positive Herden
Bio-Freilandhaltung	124	88	29	32,9
Bodenhaltung mit Auslauf	120	82	18	21,9 *
Bodenhaltung ohne Auslauf	91	64	15	23,4 *
Käfighaltung	118	95	44	46,3
gesamt	453	329	106	32,2

* signifikant geringer als Käfighaltung ($p < 0{,}05$).

Ergebnisse

Salmonella-Nachweise bei Legehennen in verschiedenen Haltungssystemen

Insgesamt wurden 453 Sammelkotproben als Einzel- oder einmalige Wiederholungsuntersuchung von 329 Herden unterschiedlicher Haltungssysteme zur Konsumeier-Produktion auf das Vorhandensein von Salmonellen untersucht (Tab. 1). Ohne Differenzierung der einzelnen Haltungsformen für Legehennen wurden in 32,2 % aller untersuchten Herden mindestens zu einem Untersuchungszeitpunkt Salmonellen nachgewiesen. Es ist ersichtlich, dass der Anteil der Herden mit *Salmonella*-Befunden in alternativen Haltungssystemen mit 22 % bis 33 % geringer war als bei Herden in konventioneller Käfighaltung (46 %). Dabei waren die Unterschiede zwischen der Bodenhaltung mit bzw. ohne Auslauf und der Käfighaltung statistisch signifikant ($p < 0{,}05$). Bei der Bio-Freilandhaltung war der Anteil positiver Herden größer als in der Bodenhaltung, diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

TABELLE 2: *Salmonella-Serovaren bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungssystemen (n=Anzahl Salmonella-Isolate je Haltungsform/ Anteil %).*

	Salmonella-Isolate (n / %)				
	Enteritidis PT 4	Enteritidis PT 6	Subsp I	Typhimurium Rauh	andere Serovaren
Bio-Freilandhaltung (n = 41)	34/ 82,9	–	3/ 7,3	–	4/ 9,8
Bodenhaltung mit Auslauf (n = 25)	20/ 80,0	–	2/ 8,0	–	3/ 12,0
Bodenhaltung ohne Auslauf (n = 17)	10/ 58,8	–	1/ 5,9	4/ 23,6	2/ 11,7
Käfighaltung (n = 62)	41/ 66,2	8/ 12,9 49/ 79,1	5/ 8,0	–	8/ 12,9
Gesamt (n = 145)	105/ 72,4	8/ 5,5 113/ 77,9	11/ 7,6	4/ 2,8	17/ 11,7

andere Serovaren zusammengefasst: *Salmonella* Tennessee (n = 3), Infantis (n = 5), Paratyphi B d-Tartrat+ (n = 1), Mbandaka (n = 2), Braenderup (n = 3), Havana (n = 3).

TABELLE 3: *Verteilung der Salmonella-positiven Herden in Abhängigkeit vom Alter der Legehennen.*

Alter Lebenswochen	Bio-Freilandhaltung			Boden mit Auslauf			Boden ohne Auslauf			Käfighaltung			gesamt		
	Anzahl Proben	Anzahl pos. Herden	Anteil pos. %	Anzahl Proben	Anzahl pos. Herden	Anteil pos. %	Anzahl Proben	Anzahl pos. Herden	Anteil pos. %	Anzahl Proben	Anzahl pos. Herden	Anteil pos. %	Anzahl Proben	Anzahl pos. Herden	Anteil pos. %
21–25	13	1	7,7	6	–	–	7	1	14,3	13	5	38,5	39	7	17,9
26–30	15	2	13,3	8	2	25,0	13	1	7,7	9	5	55,5	45	10	22,2
31–35	10	3	30,0	15	3	20,0	6	–	–	14	6	42,8	45	12	26,7
36–40	21	7	33,3	24	5	20,8	9	1	11,1	7	4	57,1	61	17	27,8
41–45	15	7	46,6	10	–	–	8	3	37,5	8	4	50,0	41	14	34,1
46–50	14	4	28,6	15	5	33,3	10	2	20,0	12	6	50,0	51	17	33,3
51–55	12	8	66,7	13	3	23,1	10	3	30,0	21	10	47,6	56	24	42,8
56–60	11	4	36,4	21	6	28,6	10	2	20,0	10	8	80,0	52	20	38,5
61–65	7	2	28,6	3	1	33,3	11	3	27,3	11	6	54,5	32	12	37,5
66–70	6	3	33,3	5	–	–	7	1	14,3	13	8	61,5	31	12	38,7
gesamt		41			25			17			62			145	

Salmonella-Serovaren bei Legehennen in verschiedenen Haltungssystemen

Die Verteilung der isolierten *Salmonella*-Serovaren bei Legehennen zeigt, dass *Salmonella* Enteritidis in allen Haltungssystemen mit einem Anteil von 59 % (Bodenhaltung ohne Auslauf) bis 83 % (Bio-Freilandhaltung) die dominierende Serovar darstellte (Tab. 2). Dabei trat der Phagentyp 4 dieser Serovar am häufigsten auf, Phagentyp 6 wurde nur in der konventionellen Käfighaltung nachgewiesen. *Salmonella* Typhimurium konnte nur in der Bodenhaltung ohne Auslauf isoliert werden, ihr Anteil an allen Isolaten betrug nur 3 %. Die Subspecies I Rauhform wurde in allen Haltungssystemen mit einem Anteil zwischen 6 % und 8 % nachgewiesen. Andere Serovaren, z. B. *Salmonella* Tennessee (n = 3), Infantis (n = 5), Paratyphi B d-Tartrat+ (n = 1), Mbandaka (n = 2), Braenderup (n = 3), Havana (n = 3) wurden in jedem Haltungssystem, jedoch jede für sich nur selten isoliert. Ein vermehrtes Auftreten dieser zusammengefassten Gruppe von Serovaren in alternativen Haltungssystemen wurde nicht festgestellt.

Verteilung der _Salmonella_-Befunde in Abhängigkeit vom Alter der Legehennen

Da in allen Haltungsformen je eine Hälfte der Herden einmal und die andere Hälfte zweimal zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Legeperiode bakteriologisch untersucht wurde, konnten auch Herden ermittelt werden, bei denen an zwei Untersuchungszeitpunkten Salmonellen nachgewiesen wurden. Unter Berücksichtigung aller positiven *Salmonella*-Befunde in den Herden sollte, im Vergleich zur Tabelle 1, in der eine positive Herde unabhängig von der Anzahl der positiven Befunde nur einmal als positiv bewertet wurde, die Verteilung der *Salmonella*-positiven-Herden in Abhängigkeit vom Alter der Legehennen erfasst werden. Daher ist die Gesamtzahl der positiven Herden in Tabelle 1 geringer (n = 106) als in Tabelle 3 (n = 145). Es zeigte sich, dass der Anteil positiver Herden am Beginn der Legeperiode in allen Haltungssystemen am geringsten war, mit steigendem Alter in unterschiedlichem Umfang anstieg und ab der Mitte der Legeperiode ein konstantes Niveau erreichte bzw. zum Ende der Legeperiode leicht rückläufig war (Tab. 3). Obwohl zwischen den einzelnen Haltungssystemen Unterschiede bestanden, kann der Anstieg der positiven Herden während der Legeperiode von der 21. bis zur 50. Lebenswoche bei Zusammenfassung der Ergebnisse aller Haltungsformen statistisch gesichert werden ($p < 0{,}05$).

Diskussion

Mit der am 19. Oktober 2001 vom Bundesrat als Umsetzung der Richtlinie 1999/74/EG zur Hennenhaltung verabschiedeten „Ersten Verordnung zur Änderung der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung" vollzieht sich gegenwärtig bei Legehennen eine Verschiebung von der konventionellen Käfighaltung zu alternativen Haltungsformen (Boden-, Volieren- und Freilandhaltung). Mit diesem Übergang sollen die Bedingungen für das Wohlbefinden von Legehennen verbessert werden (RL 1999 /74/EG), so dass wichtige Verhaltenselemente der Tiere wie Nestbau- und Eiablageverhalten, Aufbäumen, Laufen, Fliegen, Scharren und Sandbaden ermöglicht werden (Schwabenbauer, 1999). Die gegenwärtig weltweite Verbreitung der Käfighaltung, in den einzelnen Mitgliedstaaten der EU werden ca. 70 % und 85 % aller Legehennen in Käfigen gehalten, ist auf einige Vorteile dieser Haltungsform zurückzuführen. Dazu gehört die Trennung der Tiere von ihren Ausscheidungen, die stabile Rangordnung in den kleinen Gruppen, das geringe Risiko des Auftretens von Federpicken und Kannibalismus und die insgesamt geringen Mortalitätsraten (Schwabenbauer, 1999). Besonders die bei der Käfighaltung im Vergleich zu alternativen Haltungssystemen vorhandene Trennung der Tiere von ihren Ausscheidungen wird als Vorteil zur Verhinderung des Befalls mit Endoparasiten aber auch anderen Krankheitserregern betrachtet. Daher ist nicht auszuschließen, dass es in alternativen Haltungssystemen durch den intensiveren Kontakt mit verschiedenen Erregern (Böhland, 1999; Voss, 1999; Hafez et al., 1999; Pöppel und Aldehoff, 2001) auch bei *Salmonella*-Infektionen zu veränderten epidemiologischen Abläufen im Vergleich zur Käfighaltung kommen kann. Gegenwärtig stehen jedoch Untersuchungsergebnisse zum Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungsformen sowohl national als auch international nicht in repräsentativem Umfang zur Verfügung, da die Umstellung zu alternativen Haltungssystemen erst vor wenigen Jahren begann. Darüber hinaus bestehen erhebliche Unterschiede in der Anzahl der Legehennen, die in den verschiedenen Systemen gehalten werden. Im Jahre 2004 waren in Deutschland 77,5 % aller Legehennen in konventionellen Käfigen und 22,5 % in alternativen Aufstallungssystemen (ZMP-Jahresbericht 2005) untergebracht.

Die Ergebnisse unserer Studie, bei der Sammelkotproben von Legehennenherden aus Betrieben mit unterschiedlichen Haltungssystemen aus einer Region untersucht wurden, zeigen, dass der Anteil der Herden, die mindestens zu einem Untersuchungszeitpunkt einen positiven *Salmonella*-Befund aufwiesen, unabhängig von der Haltungsform mit 32,2 % sehr hoch war. Damit war die Prävalenz höher als die in Deutschland im Rahmen einer Pilotstudie zum Vorkommen von *Salmonella* spp. bei Legehennen festgestellte Prävalenz von 29 % (BfR, 2005). Die differenzierte Betrachtung der Haltungsformen in unseren Untersuchungen ergab, dass der Anteil der Betriebe mit *Salmonella*-Befunden in alternativen Haltungssystemen mit 22 % bis 33 % erheblich geringer war als in Betrieben mit konventioneller Käfighaltung (46 %). Im Rahmen der in Deutschland durchgeführten Pilotstudie zum Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen wurde auch hier in der Käfighaltung der höchste Anteil positiver Herden (33 %) nachgewiesen, ebenfalls gefolgt von der Bio-Freilandhaltung (26 %) und den Bodenhaltungssystemen mit (23,4 %) und ohne (23,8 %) Auslauf (BfR, 2005). Trotz der bestehenden Unterschiede in den prozentualen Anteilen positiver Herden in den einzelnen Haltungssystemen zwischen den Studien kann davon ausgegangen werden, dass die in unseren Untersuchungen ermittelten Ergebnisse in der Höhe der Prävalenzen sowohl insgesamt als auch in den verschiedenen Haltungssystemen die Situation in Deutschland widerspiegeln. In einer älteren Studie (Geue und Schlüter, 1998) wurde das Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen in 3 Betrieben mit Bodenhaltung und fünf Betrieben mit Käfighaltung über einen Zeitraum von 18 Monaten untersucht. Dabei wurden Salmonellen unterschiedlicher Serovaren in allen Betrieben zu einem

Prozentsatz von über 33 % nachgewiesen, bei Betrieben mit Bodenhaltung war der Anteil positiver Proben jedoch signifikant höher als in Betrieben mit Käfighaltung.

In unserer Studie war die Serovar *Salmonella* Enteritidis mit einem Anteil von ca. 78 % unabhängig von der Haltungsform die absolut dominierende Serovar. Bei der in Deutschland durchgeführten Pilotstudie zum Salmonellenvorkommen bei Legehennen war *Salmonella* Enteritidis mit einem Anteil von 69 % etwas geringer (BfR, 2005), aber ebenfalls die mit Abstand vorherrschende Serovar. Die Lysotypie der *Salmonella*-Enteritidis-Isolate in unserer Untersuchung ergab, dass in der Bio-Freilandhaltung und der Bodenhaltung mit bzw. ohne Auslauf ausschließlich der Phagentyp 4 auftrat während in der Käfighaltung neben dem ebenfalls dominierendem Phagentyp 4 auch der Phagentyp 6 nachgewiesen werden konnte. Die besondere Bedeutung des Phagentyps 4 von *Salmonella* Enteritidis wurde auch in der deutschlandweit durchgeführten Pilotstudie gezeigt, in der 68 % aller isolierten *Salmonella*-Enteritidis-Isolate zu diesem Phagentyp gehörten. Von zahlreichen anderen Phagentypen (außer Phagentyp 8 mit 13 %) wurde jeweils nur eine sehr geringe Anzahl nachgewiesen (BfR, 2005). Demzufolge besitzt *Salmonella* Enteritidis (insbesondere Phagentyp 4) in der Legehennenpopulation in der Bundesrepublik Deutschland nach wie vor die überragende Bedeutung. Damit wird indirekt auch die seit vielen Jahren beobachtete besondere Rolle von *Salmonella*-Enteritidis-kontaminierten Konsumeiern als wichtigste Ursache für *Salmonella*-Infektionen des Menschen bestätigt (Steinbach und Hartung, 1999). Trotz des nachgewiesenen Rückgangs der Gesamtzahl der registrierten *Salmonella*-Fälle in den letzten Jahren verursacht diese Serovar nach wie vor mit einem Anteil von mehr als 60 % die Mehrzahl der gemeldeten humanen Infektionen (Alpers und Jansen, 2004). *Salmonella* Typhimurium, ebenfalls eine Serovar mit großer zoonotischer Bedeutung, wurde in unserer Studie insgesamt nur in 4 Fällen und ausschließlich in der Bodenhaltung ohne Auslauf nachgewiesen. In der deutschlandweiten Prävalenzstudie betrug ihr Anteil ebenfalls nur 5 % (BfR, 2005). Demzufolge sind *Salmonella*-Typhimurium-Infektionen des Menschen im Vergleich zu *Salmonella* Enteritidis nur zu einem sehr geringen Anteil auf kontaminierte Konsumeier zurückzuführen. Die Subspecies I Rauhform sowie weitere andere Serovaren wurden in unserer Studie in allen Haltungssystemen mit einem Anteil zwischen 6 % bis 8 % bzw. 10 % bis 12 % nachgewiesen. In der bundesweiten Prävalenzstudie betrug der Anteil der Subspecies I Rauhform insgesamt 16 %, zahlreiche andere Serovaren wurden ebenfalls nur sehr selten nachgewiesen (BfR, 2005).

In Dänemark war die *Salmonella*-Prävalenz bei Legehennen in den letzten Jahren (1998 bis 2002) in der konventionellen Käfighaltung insgesamt höher (5,5 %) als in den anderen Haltungssystemen wie Bodenhaltung, Bio-Bodenhaltung, Freilandhaltung und Kleinsthaltungen (2,0 % bis 3,1 %). Die dominierende Serovar war auch hier *Salmonella* Enteritidis (Anonymus, 2003). Für Großbritannien sind bisher ebenfalls nur wenige Daten zum Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungsformen verfügbar (VLA, 2004). Dies ist insbesondere auch auf den geringen Anteil alternativer Haltungsformen bei Legehennen zurückzuführen. Aus den vorliegenden Daten geht jedoch eindeutig hervor, dass die Käfighaltung die höchsten Befundraten aufweist und dass *Salmonella* Enteritidis die vorherrschende Serovar in allen Haltungssystemen ist.

Die höheren *Salmonella*-Nachweisraten bei Legehennen in Käfighaltungen im Vergleich zu alternativen Haltungssystemen könnte auf das Alter der entsprechenden Anlagen zurückzuführen sein. Es besteht die Möglichkeit, dass mit zunehmender Nutzungsdauer eine *Salmonella*-Anreicherung (Umgebung, Schadnager, Stalleinrichtungen) erfolgt, die dann, insbesondere bei unzureichender Reinigung und Desinfektion (Davies und Breslin, 2003b) eine permanente Infektionsquelle auch für nachfolgende Durchgänge darstellt. Da traditionelle Käfiganlagen in den meisten Fällen bereits eine wesentlich längere Nutzungsdauer aufweisen als die erst seit wenigen Jahren genutzten Alternativsysteme kann die erfolgte Anreicherung besonders mit *Salmonella* Enteritidis zu den höheren Befunden in den Käfigsystemen geführt haben. Demzufolge ist auch nicht auszuschließen, dass sich die gegenwärtige *Salmonella*-Situation bei Legehennen in den nächsten Jahren ändert, da der Anteil alternativer Haltungssysteme und deren Nutzungsdauer deutlich zunehmen wird.

Die besondere Bedeutung des *Salmonella*-Status der Betriebe zum Zeitpunkt der Einstallung der Tiere wurde auch durch die in unserer Studie erfasste Verteilung der *Salmonella*-Befunde in Abhängigkeit vom Alter der Legehennen nachgewiesen. Es konnte gezeigt werden, dass der Anteil positiver Befunde am Beginn der Legeperiode in allen Haltungssystemen am geringsten ist, mit steigendem Alter in unterschiedlichem Umfang zunimmt und ab der Mitte der Legeperiode ein konstantes Niveau erreicht bzw. zum Ende der Legeperiode leicht rückläufig ist. Aufgrund dieser Ergebnisse kann vermutet werden, dass der Anteil der positiven Herden vom Zeitpunkt der Umstallung von der Aufzucht- in die Legephase bis zum Ende der Legeperiode in allen Haltungsformen zunimmt. Demzufolge müssen im Legebereich, vermutlich unabhängig von der Haltungsform, Bedingungen vorliegen, die eine Ausbreitung der Salmonellen ermöglichen. Dabei ergibt sich die Frage, ob die *Salmonella*-Nachweise bei Legehennen das Ergebnis einer Vermehrung bereits vorhandener Salmonellen in den Tieren ist (Carrier) oder ob es sich um einen neuen *Salmonella*-Eintrag in die aus der Aufzucht umgestallte Herde handelt, der entweder auf eine persisitierende *Salmonella*-Kontamination in den Legebetrieben nach z. B. ungenügender Reinigung und Desinfektion oder auf einen tatsächlichen Neueintrag in die Herde bzw. Ställe durch z. B. Personal oder Futtermittel zurückzuführen ist. Diese Fragen können nur nach weiterführenden Untersuchungen beantwortet werden. Unabhängig davon ist ein auf die unterschiedlichen Haltungssysteme abgestimmtes Hygienemanagement mit konsequent durchzuführenden Reinigungs- und Desinfektionsverfahren erforderlich, um das Infektionsrisiko durch persistierende *Salmonella*-Kontaminationen in den Betrieben zu senken.

Aufgrund der von uns und anderen Untersuchern (Davies und Breslin, 2003 a,b; Geue und Schlüter, 1998; BfR, 2005; VLA, 2004; Anonymus, 2003) nachgewiesenen Dominanz von *Salmonella* Enteritidis in allen Haltungssystemen muss es speziell für diese Serovar eine gemeinsame primäre Eintragsquelle in die Legehennenpopulation geben, die unabhängig von spezifischen Haltungssystemen oder regionalen Besonderheiten vorhan-

den ist. Eine primäre Eintragsquelle, die über Haltungsformen und Regionen hinaus identisch ist, könnten neben anderen Faktoren insbesondere infizierte Tiere sein. Nach einem Ersteintrag in die Legehennenbetriebe kann es dann zu einer Erregerpersistenz in den Betrieben kommen, die auch ohne weitere Neueinträge längere Zeit bestehen bleiben kann (Davies et al., 1997; Van de Giessen et al, 1997; Davies and Breslin, 2003b; Davies et al., 2003).

Neben den für eine effektive Bekämpfung von Salmonellen wichtigen veterinärhygienischen Aspekten in allen Produktionsstufen (Meyer et al., 1993; Methner, 2001; Davies und Breslin, 2005) können aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen auch Schlussfolgerungen für die in Deutschland durchzuführende Immunisierung aller Legehennenküken gegen *Salmonella*-Infektionen (Hühner-Salmonellen-Verordnung, 2001) gezogen werden. Da *Salmonella* Enteritidis bei Legehennen in allen Haltungsformen die dominierende Serovar ist, sollte in der Aufzuchtphase in jedem Fall homolog gegen diese Serovar immunisiert werden, da die homologe Wirksamkeit der *Salmonella*-Lebendimpfstoffe die heterologe Wirksamkeit zwischen Stämmen unterschiedlicher Serovaren nachweisbar übertrifft (Methner et al., 1995; Curtiss und Hassan, 1996; Springer und Selbitz, 1996; Parker et al., 2001; Schröder et al., 2004). Gegen *Salmonella* Typhimurium sollte nur immunisiert werden, wenn diese Serovar im Legehennenbereich nachgewiesen wird, das wird jedoch nach den vorliegenden Ergebnissen nur in Ausnahmefällen zutreffen. Aufgrund der hohen *Salmonella*-Nachweisraten bei Legehennen und der bereits in der frühen Aufzuchtphase der Tiere erfolgenden Immunisierung mit *Salmonella*-Lebendimpfstoffen allein oder als Kombination von *Salmonella*-Lebend-und Inaktivatimpfstoffen ergeben sich Fragen zur Dauer der dadurch erzielten Immunität. Obwohl belegt ist, dass eine *Salmonella*-Immunisierung insbesondere unter experimentellen aber auch unter Feldbedingungen zu einer quantitativ beträchtlich verringerten und zeitlich verkürzten intestinalen Besiedelung sowie zu einer reduzierten Invasion in innere Organe durch *Salmonella*-Wildstämme führt (Cooper et al., 1993; Methner et al., 1994; Curtiss und Hassan, 1996; Springer et al., 2000; Feberwee et al., 2001; Methner et al., 2001), wurden bisher nur wenige experimentelle Untersuchungen zur Immunitätsdauer (Hahn, 1999; Springer et al., 2002) durchgeführt. Weitere Forschungsarbeiten zur Verbesserung bestehender *Salmonella*-Immunisierungsprogramme beim Geflügel erscheinen aufgrund der hohen *Salmonella*-Prävalenzen bei Legehennen erforderlich (EFSA, 2004).

Ein oftmals vernachlässigter Punkt bei der Durchführung von Immunisierungen mit *Salmonella*-Lebendimpfstoffen über das Trinkwasser sind praktische Aspekte der Applikation (Methner et al., 2002). Um den Erfolg der oralen Immunisierung zu gewährleisten, ist es unbedingt erforderlich, dass alle Küken der Herde die erforderliche Impfdosis auch tatsächlich aufnehmen. Keine oder eine zu geringe Wasseraufnahme durch die einzelnen Tiere in den ersten Lebensstunden, eine ungenügende Impfstammkonzentration im Tränkwasser, die Beeinträchtigung der Überlebensfähigkeit des Impfstammes durch Reste von Desinfektionsmitteln bei Neueinstallung, die Applikation bakteriostatisch oder bakterizid wirkender Substanzen zur Behandlung von Bruteiern, Küken oder über das Futter sind Faktoren, die die Wirksamkeit der Immunisierung mit *Salmonella*-Lebendimpfstoffen wesentlich reduzieren können (Iburg, 2003). Da eine Wirksamkeitsprüfung der Immunisierung von Legehennenküken mit *Salmonella*-Lebendimpfstoffen durch die Untersuchung von Antikörpern aufgrund der fehlenden bzw. äußerst geringen Antikörperbildung bei den Tieren und der nicht auszuschließenden und nicht abzugrenzenden Antikörperbildung nach einer *Salmonella*-Wildstamminfektion nicht möglich ist, besteht unter Praxisbedingungen nur die Möglichkeit, das Vorhandensein oder die Ausscheidung des *Salmonella*-Impfstammes in den ersten Wochen nach der Applikation nachzuweisen. Eine in den ersten Lebenswochen bestehende Persistenz des Impfstammes ist die Voraussetzung und somit auch Indikator für die Induktion der immunologischen Reaktion (Methner et al., 2002).

Da es für Legehennenbestände insbesondere in den unterschiedlichen Haltungssystemen kein allgemeingültiges Standard-Infektionsmuster geben kann, muss nach der Feststellung von Salmonellen eine Bestandsanalyse zur Identifizierung der spezifischen Eintragsquellen und der Ursachen für die Ausbreitung bzw. Persistenz der Salmonellen durchgeführt werden. Aufgrund dieser Analyse können die besonderen Schwerpunkte der *Salmonella*-Epidemiologie im entsprechenden Bestand erkannt und kontrolliert werden.

Danksagung

Das Projekt wurde durch die Tierseuchenkasse Sachsen-Anhalt gefördert. Wir bedanken uns bei Frau S. Keiling und Frau B. Kreutzer (FLI, Standort Jena) für die Durchführung der technischen Arbeiten und beim Nationalen Referenzlabor für Salmonellen beim BfR (Leiter: Dr. R. Helmuth) für die Typisierung der *Salmonella*-Isolate.

Literatur

Alpers, K., J. Jansen (2004): Infektionen mit Salmonellen beim Menschen. In: Hartung, M. Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2003. BfR, 04/2004.

Anonymus (2003): Annual report on zoonoses in Denmark 2002. Ministry of Food, Agriculture and Fisheries.

BfR (2005): Pilotstudie zum Vorkommen von *Salmonella* spp. bei Herden von Legehennen in Deutschland. Bericht zur Umsetzung der Entscheidung 22004/665/EG unter Berücksichtigung der Vorgaben in Kapitel 6 der technischen Spezifikation (Sanco/34/2004 rev. 3).

Böhland, K. (1999): Aktuelle Geflügelkrankheiten im Zusammenhang mit alternativen Haltungssystemen: Praxiserfahrungen. 57. Fachgespräch der DVG-FG Geflügel und der Deutschen Gruppe der WVPA, Hannover, 4.–5. November 1999.

Bolder, N. (2005): Animal Sciences Group, Wageningen UR, The Netherlands.

Cooper, G. L., L. M. Venables, R. A. Nicholas, G. A. Cullen, C. E. Hormaeche (1993): Further studies of the application of live *Salmonella* enteritidis aroA vaccines in chickens. Vet. Rec. **133**, 31–36.

Curtiss III, R., J. O. Hassan (1996): Nonrecombinant and recombinant *Salmonella* vaccines for poultry. Vet. Immun. Immunopathol. **54**, 365–372.

Davies, R. H., M. Breslin (2003a): Effects of vaccination and other preventive methods for *Salmonella* Enteritidis on commercial laying chicken farms. Vet. Rec. **153**, 673–677.

Davies, R. H., M. Breslin (2003b): Persistence of *Salmonella enteritidis* phage type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. Environ. Microbiol. **5**, 79–84.

Davies, R. H., E. Liebana, M. Breslin (2003): Investigation of the distribution and control of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis PT6 in layer breeding and egg production. Avian Pathol. **32**, 225–235.

Davies, R. H., M. Breslin (2005): Observations on *Salmonella* contamination of eggs from infected commercial laying flocks where vaccination for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis had been used. Avian Pathol. **33**, 133–144.

Davies, R. H., R. A. J. Nicholas, I. M. Mc Laren, J. D. Corkish, D. G. Lanning, C. Wray (1997): Bacteriological and serological investigation of persistent *Salmonella enteritidis* infection in an integrated poultry organisation. Vet. Microbiol. **58**, 277–293.

EFSA (2004): The use of vaccines for the control of *Salmonella* in poultry. The EFSA Journal, **114**, 1–74, www.efsa.eu.int

Feberwee, A., T. S. deVries, E. G. Hartman, J. J. deWit, A. R. W. Elbers, W. A. deJong (2001): Vaccination against *Salmonella enteritidis* in Dutch commercial layer flocks with a vaccine based on a live *Salmonella gallinarum* 9R strain: Evaluation of efficacy, safety, and performance of serologic *Salmonella* tests. Avian Diseases **45**, 83–91.

Geue, L., H. Schlüter (1998): A Salmonella monitoring programme in egg production farms in Germany. J. Vet. Med. B **45**, 95–103.

Hafez, H. M., A. Mazaheri, C. Prusas, K. Böhland, M. Pöppel, D. Schulze (1999): Aktuelle Geflügelkrankheiten im Zusammenhang mit alternativen Haltungssystemen: Praxiserfahrungen. 57. Fachgespräch der DVG-FG Geflügel und der Deutschen Gruppe der WVPA, Hannover, 4.–5. November 1999.

Hahn, I. (1999): Ein Beitrag für den Verbraucherchutz: TAD *Salmonella* vac® E – ein neuer Lebendimpfstoff für Hühner gegen *Salmonella* Enteritidis. Lohmann Information 3/99, 1–4.

Hühner-Salmonellen Verordnung (2001): Verordnung zum Schutz gegen bestimmte Salmonelleninfektionen beim Haushuhn in der Fassung vom 11. April 2001 (BGBl. I, S. 544).

Iburg, M. (2003): Technische Hinweise zur Trinkwasserapplikation von *Salmonella*-Lebendimpfstoffen bei Geflügel. Lohmann Information, 1/2003, 27–31.

Methner, U. (2001): Bekämpfung von Salmonellen in der Geflügelfleisch- und Eiproduktion. Fleischwirtschaft **81**, 85–88.

Methner, U., A. Berndt, G. Steinbach (2001): Combination of competitive exclusion and immunization using an attenuated live *Salmonella* vaccine strain in chickens. Avian Diseases **45** (3), 631–638.

Methner, U., S. Keiling, B. Kreutzer, P. Schweinitz (2002): Wird die Wirksamkeit der Immunisierung von Küken mit *Salmonella*-Lebendimpfstoffen durch maternale Antikörper beeinflusst? Dtsch. tierärztl. Wschr. **109**, 149–153.

Methner, U., H. Koch, H. Meyer (1995): Modell zur experimentellen Wirksamkeitsprüfung von Bekämpfungsmaßnahmen gegen Salmonellainfektionen beim Huhn. Dtsch. tierärztl. Wschr. **102**, 225–228.

Methner, U., G. Steinbach, H. Meyer (1994): Untersuchungen zur Wirksamkeit einer *Salmonella*-Immunisierung von Broilerelterntieren auf die *Salmonella*-Besiedelung dieser Tiere und deren Nachkommen nach experimenteller oraler Testinfektion. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **107**, 192–198.

Meyer, H., H. Koch, U. Methner, G. Steinbach (1993): Vaccines in salmonellosis control in animals. Zbl. Bakt., **278**, 407–415.

Parker, C., K. Asokan, J. Guard-Petter (2001): Egg contamination by *Salmonella* serovar Enteritidis following vaccination with delta-aroA *Salmonella* serovar Typhimurium. FEMS Microbiol. Letters **195**, 73–78.

Pöppel, M., P. Aldehoff (2001): Rotlauf und Pockeninfektionen bei Legehennen in der Freilandhaltung. 8. Weiterbildungsveranstaltung für Diagnostik und Betreuung von Wirtschaftsgeflügel, Stendal, 28.02.–01.03.2001.

RL 1999/74/EG: Richtlinie 1999/74/EG des Rates vom 19. Juli 1999 zur Festlegung von Mindestanforderungen zum Schutz von Legehennen.

Schröder, I., M. Iburg, D. E. Rebeski (2004): Anwendung von TAD Salmonella vac®T und TAD Salmonella vac®E in der Geflügelpraxis unter besonderer Berücksichtigung der Impfstoffapplikation und -kontrolle. Lohmann Information, 4/ 2004, 31–34.

Schwabenbauer, K. (1999): Legehennenhaltung der Zukunft – der Vorschlag der Kommission für eine Richtlinie des Rates über Mindestanforderungen zum Schutz von Legehennen in verschiedenen Haltungssystemen. Dtsch. tierärztl. Wschr. **106**, 157–160.

Springer, S., J. Lehmann, Th. Lindner, J. Thielebein, G. Alber, H.-J. Selbitz (2000): Ein neuer *Salmonella*-Enteritidis-Lebendimpfstoff für Hühner – experimenteller Nachweis der Sicherheit und Wirksamkeit. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **113**, 246–252.

Springer, S., J. Lehmann, Th. Lindner, J. Thielebein, G. Alber, H.-J. Selbitz (2002): A new live *Salmonella* Enteritidis vaccine for chicken-experimental evidence of its safety and efficacy. Salmonella and Salmonellosis, Ploufragan, France, 29–31 May 2002, 609–610.

Springer, S., H.-J. Selbitz (1996): Can a live *Salmonella* Typhimurium vaccine be used against *Salmonella* Enteritidis in chickens? World Poultry **5**, 39.

Steinbach, G., M. Hartung (1999): Versuch einer Schätzung des Anteils menschlicher Salmonellaerkrankungen, die auf vom Schwein stammende Salmonellen zurückzuführen sind. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **112**, 296–300.

Van de Giessen, A. W., M. J. Nauta, S. H. W. Notermans, A. M. Henken (1997): Surveillance and intervention strategies for salmonella in poultry: a modelling approach. Salmonella and Salmonellosis, Ploufragan, France, 20–22 May 1997, 613–620.

Voss, M. (1999): Krankheitsprophylaxe und Verbraucherschutz unter besonderer Berücksichtigung der alternativen Haltungsformen. Lohmann Information 3/99, 13–16.

VLA (2004): Salmonella in Livestock Production in Great Britain: 2004 Report. www.defra.gov.uk

ZMP-Jahresbericht (2005): Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle für Erzeugnisse der Land,- Forst- und Ernährungswirtschaft GmbH, Rochusstr. 2, 53123 Bonn.

Korrespondierender Autor:
Dr. U. Methner, Friedrich-Loeffler-Institut
Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Naumburger Str. 96 a, D-07743 Jena
Fax: +49 3641 804 228
E-Mail: ulrich.methner@fli.bund.de