

Zusammenfassung zum Schlussbericht

Identifizierung geeigneter Surrogate für *Aspergillus*-Spezies zur mikrobiologischen Validierung UV-basierter Entkeimungsverfahren (Surrogat)

Im Jahr 2016 wurde *Aspergillus brasiliensis* DSM 1988, der bisher vom VDMA als Bioindikator für die mikrobiologische Validierung der Wirksamkeit von UV-basierten Entkeimungsverfahren empfohlen wird und zumindest europaweit anerkannt war und eingesetzt wurde, in den „Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA 460)“ von der Risikostufe 1 in Risikostufe 2 hochgestuft. Seitdem ist es nicht mehr erlaubt, mit diesem Schimmelpilz und seinen Sporen außerhalb von mikrobiologischen Laboren der Schutzstufe 2 zu arbeiten. Das Ziel dieses IGF-Projektes war es, geeignete Surrogate für *Aspergillus brasiliensis* DSM 1988 zu finden.

Im Rahmen des Vorhabens wurde eine umfassende Literaturrecherche sowie ein Resistenz-Screening durchgeführt mit dem Ziel, eine Auswahl potentiell geeigneter Kandidaten zu ermitteln. Es wurden Anzuchten ausgewählter Schimmelpilze und Bakterienstämme unter definierten Bedingungen hergestellt und zur Resistenzbestimmung Inaktivierungskinetiken unter Verwendung von UV-C-Strahlern (Niederdruck- und Mitteldruckstrahler) und einer Xenon-Blitzlampe erarbeitet. Dabei wurden insgesamt 16 verschiedene Pilz- und Bakterienstämme auf ihre Resistenz gegenüber Xenon-Blitzlicht und 18 Pilzstämme gegenüber dem UV-C Mitteldruckstrahler untersucht. Die Resistenzen der jeweiligen Mikroorganismen wurden anhand der dezimalen Reduktionsdosen (DRD-Werte) verglichen. Die mit Xenon-Blitzlicht durchgeführten Untersuchungen ergaben, dass die Stämme *Penicillium rubens* (früher *P. chrysogenum*) DSM 848 und DSM 844 sehr ähnliche Resistenzen wie *Aspergillus brasiliensis* DSM 1988 aufweisen.

Bei den Versuchsreihen mit dem Mitteldruckstrahler wurden die Stämme *Aspergillus carbonarius* DSM 872, *Alternaria alternata* DSM 12633, *Ulocladium consortiale* DSM 62014 als mögliche Surrogate identifiziert. Da alle anderen getesteten Stämme deutlich niedrigere DRD-Werte als *A. brasiliensis* DSM 1988 aufwiesen, wurden sie als Ersatzkeime ausgeschlossen. Allerdings zeigten die ausgewählten Surrogat-Stämme erheblich höhere Resistenzen gegenüber UV-Strahlung als *A. brasiliensis* DSM 1988. Für eine Anpassung der UV-Resistenz wurden verschiedene in der Literatur beschriebene Methoden getestet. Als zielführend erwies sich der Einsatz von DMSO (Dimethylsulfoxid) als Inhibitor der Melaninsynthese, was zu einer Verringerung der Resistenz von *Aspergillus carbonarius* DSM 872 gegenüber UV-Strahlung führte. Das DMSO wurde bei der Sporenanzucht dem Medium zugesetzt und anschließend die Sporenresistenz gegenüber UV-Strahlung ermittelt. Dabei zeigte sich, dass die Sporen mit steigender DMSO-Konzentration im Sporulationsmedium heller werden und die UV-Resistenz der

Sporen stark abnimmt. Der Vergleich der ermittelten Inaktivierungskinetiken von *A. carbonarius* DSM 872 mit verschiedenen DMSO-Konzentrationen und *A. brasiliensis* DSM 1988 ergab, dass die Verwendung einer DMSO-Konzentration von 0,8 mg/g im Sporulationsmedium zu sehr ähnlichen UV-Resistenzen führt.

Bei weiteren Untersuchungen mit Niederdruckstrahlern zeigte sich bei Konzentrationen zwischen 1,0 mg/g bis 1,4 mg/g DMSO im Sporulationsmedium von *A. carbonarius* DSM 872 eine gute Übereinstimmung mit den Inaktivierungskinetiken von *A. brasiliensis* DSM 1988. Darüber hinaus wurden im Projekt weitere praxisrelevante Aspekte wissenschaftlich untersucht und bewertet:

- Lagerfähigkeit der Surrogate in Suspension und als Bioindikatoren vor und nach den Entkeimungsprozessen
- Veränderung der Resistenz über der Lagerdauer
- Optimale Verkeimungsmethoden für Oberflächen
- Einfluss des Trägermaterials

So konnte zum Beispiel für *P. rubens* DSM 844 kein stabiles Verhalten in Bezug auf Resistenz bzw. Keimzahl bei den untersuchten Prüfbedingungen nachgewiesen werden. Im Rahmen der Untersuchungen zu den Lagerstabilitäten der Sporensuspensionen von *A. carbonarius* DSM 872 und *P. rubens* DSM 848 wurde nachgewiesen, dass die UV-Resistenzen der Sporensuspensionen bei einer 4 °C Lagerung in Ringerlösung über 4 Monate nahezu stabil bleiben.

Bei den Versuchen mit verschiedenen Trägermaterialien wies die Inaktivierung der Testorganismen bei identischen Bestrahlungsdosen auf Aluminium-Trägermaterialien deutlich höhere Reduktionsraten auf, als auf Glas- und Polypropylen. In den durchgeführten Studien hoben sich die folgenden Stämme durch ihre geeignete Resistenz, einfache Herstellung und Handhabung sowie ihr stabiles Lagerverhalten bei den verschiedenen Lagerbedingungen hervor:

- *Penicillium rubens* DSM 848 für Xenon-Blitzlicht
- *Aspergillus carbonarius* DSM 872 mit 0,8 mg/g Sporulationsmedium DMSO für UV-Mitteldruckstrahler
- *Aspergillus carbonarius* DSM 872 mit 1,0 mg/g bis 1,4 mg/g DMSO im Sporulationsmedium für UV-Niederdruckstrahler.

Diese Surrogate für *Aspergillus*-Spezies können künftig zur Wirksamkeitsprüfung UV-basierter Entkeimungsverfahren eingesetzt werden.

IVLV-Mitglieder können den vollständigen Projektabschlussbericht auf unserer Homepage herunterladen. Hierzu ist nur eine Anmeldung in der Rubrik [„Meine IVLV“](#) erforderlich. Nicht-Mitglieder können den Abschlussbericht bei der IVLV-Geschäftsstelle unter office@ivlv.org anfordern.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages



Das IGF-Vorhaben 20924 N der Forschungsvereinigung Industrievereinigung für Lebensmitteltechnologie und Verpackung e. V. – IVLV, Giggenhauser Str. 35, 85354 Freising, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) und –entwicklung vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestags gefördert.