

Sachbericht

Fast Meat Control (FMC)-

**Entwicklung eines schnellen und kostengünstigen
Detektionssystems zum Nachweis der zoonotischen Erreger
Campylobacter und Salmonella in der Schlachtindustrie**

Teilprojekt

**Entwicklung eines μ GC-IMS mit in-line Anreicherung zum
Nachweis mikrobieller Erreger in der Schlachtindustrie**

IONgerm

Förderkennzeichen: 13N15796

Berichtszeitraum: 01.07.2022 - 30.06.2025

TEIL I

Kurzbericht

Das Ziel des Verbundprojektes „Fast Meat Control (FMC)“ war die Entwicklung schneller und kostengünstiger photonischer Nachweisverfahren für mikrobielle Metaboliten und Kommunikationsmoleküle (Autoinducer, AIs) von häufigen Geflügelkeimen wie *Campylobacter* und *Salmonella*. Es sollte der mikrobielle Eintrag in die Schlachtkette und die daraus resultierende Kontamination von Schlachtkörpern schnell und kosteneffizient identifizieren werden. Zur bedarfsgerechten Detektion verfolgte FMC zwei unterschiedliche Strategien: Die Entwicklung 1. eines mobilen, vor-Ort einsetzbaren Bioassays und 2. eines integrierten analytischen Ansatzes zur Routinekontrolle im Schlachtprozess.

Für die hier vorgesehene automatisierte Inline-Analytik wurde die Gaschromatographie-Ionenmobilitätsspektrometrie (GC-IMS) mit Plasma-Ionisierung als photonisches Verfahren zur Detektion bakterienspezifischer Substanzen in Spülflüssigkeiten eingesetzt, zur nahtlosen Integration in die Schlachthofumgebung. Ein GC-IMS-System wurde entwickelt, um Bakterien anhand ihrer charakteristischen Substanzmuster und Autoinducer nachzuweisen. Die Methodik wurde so konzipiert, dass sie mit magnetischen Vorkonzentrierungstechniken kombiniert werden kann. Die gesamte Verfahrenskette wird bei Wiesenhof, Deutschlands größtem Geflügelproduzenten, hinsichtlich Analysenzeit, Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit und Kosteneffizienz evaluiert. Die Forschungsergebnisse flossen direkt in die vor-industrielle Entwicklung eines GC-IMS-Systems ein, welches einen μ GC, Inline-Anreicherungsfunktionen, automatisierte Probenahme, alternative Ionisierungsquellen und eine integrierte Datenbank der Marker zur schnellen vor-Ort-Detektion mikrobieller Kontaminationen umfasst.

ION-AS leitete die Entwicklung und Erforschung dieses Analysensystems zur Identifizierung spezifischer Kontaminationsquellen auf Basis eines mobilen und modularen GC-IMS-Demonstrators, welcher flüchtige organische Verbindungen (VOCs) und von Mikroorganismen produzierte Autoinducer (AI) detektieren kann. AP2 konzentrierte sich auf die Charakterisierung keimspezifischer Metaboliten zur schnellen und präzisen Identifizierung bakterieller Kontaminationen. Dies beinhaltete eine Literaturrecherche, die zur Erstellung einer umfassenden Metabolitdatenbank für *Salmonella*, *Campylobacter* und *E. coli* führte. Auf Grund der inhärenten Komplexitäten im Umgang mit *Campylobacter* wurde stattdessen *E. coli* und *Salmonella* als Modellorganismus für die Methodenoptimierung verwendet.

Kalibrierkurven wurden für eine Reihe von Markersubstanzen erstellt, um die Empfindlichkeit des Geräts zu ermitteln, welche für die relevante Verbindungen im unteren ppbv-Bereich lag. Ein MEMS-basierter Anreicherungschip kann auf Grund der Modularität des Analysensystems jederzeit zur Verbesserung der Nachweisstärke eingesetzt werden. Ebenso ein MEMS-basierter μ GC zur Verbesserung der Selektivität und zur Reduzierung der Analysenzeit.

AP3 konzentrierte sich auf die Optimierung und praktische Anwendung des analytischen Systems hin zum modularen und mobilen GC-IMS-System, welches austauschbare Ionisationsquellen und sowie Vortrenn- und Anreicherungskomponenten erlaubt. Außerdem wurde ein automatisches Probenahmesystem entwickelt welches für hochauflösende Messungen von Bakterienkulturen über längere Zeiträume konzipiert wurde. Zusätzlich wurde eine Probenahmelanze entwickelt, um den Vor-Ort-Einsatz im Schlachthof zu ermöglichen.

In AP9 lag der Fokus auf der Komponentenintegration und auch weiterhin auf der Charakterisierung keimspezifischer Metabolitmuster. Messungen von *E. coli* und *Salmonella enteritidis* wurden mit der automatisierten Probenahmeinheit und einem mobilen GC-IMS-Gerät durchgeführt. Verschiedene Klassifizierungsalgorithmen, darunter die Lineare

Diskriminanzanalyse (LDA), k-Nächste-Nachbarn (kNN) und die Partielle Kleinste-Quadrate-Diskriminanzanalyse (PLSDA), wurden evaluiert, um Zielorganismen anhand ihrer charakteristischen Metabolit-Profile zu differenzieren.

Bei Langzeitmessungen von mit *Salmonella* beimpften Hähnchenproben in AP 10 wurde Indol detektiert, ein charakteristischer Marker für *E. coli*. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die Hähnchenproben zum Zeitpunkt des Kaufs bereits natürlich mit *E. coli* kontaminiert waren. Dies demonstriert die bemerkenswerte Fähigkeit des entwickelten Analysesystems, nicht nur inokulierte Mikroorganismen, sondern auch koexistierende, natürlich vorkommende bakterielle Kontaminanten zuverlässig zu identifizieren. Dies unterstreicht das Potenzial der GC-IMS-Methodik und der damit verbundenen Algorithmen für eine schnelle, präzise und umfassende mikrobielle Kontrolle entlang der gesamten Geflügelverarbeitungskette.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass erfolgreich ein modulares Analysensystem als Demonstrator entwickelt und erforscht werden konnte, welches zum Einen auf Grund der Performance in der Lage ist mit geeigneten Auswertalgorithmen Lebensmittelrelevante Keime spezifisch zu identifizieren. Die Modularität des Analysensystems erlaubt zum Anderen im Bedarfsfall:

- den einfachen Austausch von herkömmlichen GC-Säulen gegen schnelle μ GC-Säulen zur Verbesserung der Selektivität und Reduzierung der Analysenzeit,
- den ebenfalls einfachen Einsatz Chip-basierter in-line Anreicherung zur Verbesserung der Nachweisgrenzen sowie
- den Austausch radioaktiver Ionisationsquellen gegen photonische Plasma-Ionisationsquellen.

Das erfolgreiche Erreichen der in den einzelnen Arbeitspaketen definierten Projektziele bestätigt sowohl die Angemessenheit der Arbeiten als auch die dafür angesetzten Kosten. Der mit Abstand größte Posten im Projekt waren Personalmittel, was dem Charakter der personal- und zeitintensiven Entwicklungs-, Forschungs- und Validierungsarbeiten geschuldet ist. Da die Reisemittel auf Grund der Nachwirkungen der Corona-Pandemie nicht in voller Höhe ausgegeben wurden und die Materialkosten durch den Einsatz eigener Komponenten reduziert wurden, konnte mit zusätzlichen Personalmitteln auch zusätzliche, sinnvolle Versuche durchgeführt werden, insbesondere der Nachweis geimpfter und natürlicher Keimbelastungen direkt an Fleischproben in AP 10.

ION-GAS wird nach Abschluss des eigenen Teilprojektes die Arbeiten der Partner begleiten, welche im Rahmen kostenneutraler Verlängerungen noch weiter die Anreicherungs- und Kultivierungsverfahren erforschen. Insbesondere wird ION-GAS dabei auch die Demonstratoren zur Verfügung stellen und einsetzen, um entsprechende Messungen zur Validierung dieser Verfahren durchzuführen und zu bewerten. In diesem Rahmen wird ION-GAS auch die geplanten Publikationen der wissenschaftlichen Partner unterstützen.

Da es bei den kommerziell verfügbaren Verfahren zum Nachweis einer Keimbelastung nach unserem Kenntnisstand keine wesentlichen Fortschritte während des Projektzeitraumes gab, kann das hier erforschte Verfahren auf Grund seiner Selektivität und Nachweisstärke auch weiterhin als vielversprechende Alternative betrachtet werden. Allerdings muss vor einer Vermarktung insbesondere das untersuchte und in der Datenbank hinterlegte Bakterienspektrum auf möglichst viele für die Lebensmittelsicherheit relevante Keime erweitert werden.