
Zuwendungsempfänger: Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut Funktioneller Grenzflächen (IFG)	Förderkennzeichen: 01KI2208
--	---------------------------------------

Vorhabenbezeichnung: (Thema)

Verbundprojekt **HOTMATS: Targeted removal of ARGs and facultative pathogenic bacteria (FPB) in wastewater from AMR hotspots using modular advanced treatment solutions**

Berichtersteller: Prof. Dr. Thomas Schwartz

Laufzeit des Vorhabens:

April 2022 - März 2025 und inklusive kostenneutraler Verlängerung bis Dezember 2025

I Kurzbericht

Antibiotika haben in den letzten Jahren aufgrund des Auftretens resistenter Krankheitserreger, die zu multiresistenten Bakterien führten, allmählich an Wirksamkeit verloren. Antibiotikaresistenzen (AMR) sind zu einem ernsthaften Problem geworden, das die weltweite Gesundheit im 21. Jahrhundert bedroht. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) erkennt AMR als eine hohe Priorität auf der globalen Agenda an und veröffentlichte daher 2017 ein Dokument mit einer Liste von Bakterienarten. Diese wurden je nach Schwere ihrer Bedrohung in drei Kategorien eingeteilt: mittel, hoch und kritisch. ESKAPE-Erreger (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* und *E. coli*), die gegen drei oder mehr Antibiotikaklassen resistent sind, stellen eine nicht zu unterschätzende Gefahr dar, da sie die Hauptursachen für schwere, lebensbedrohliche Infektionen sind. So alarmierend dies auch ist, tragen diese Infektionen erheblich zur globalen Morbiditäts- und Mortalitätsrate bei. Um dies zu veranschaulichen: Schätzungen zufolge verursachen sie jährlich rund 25.000 Todesfälle innerhalb der Europäischen Union.

Abwasseraufbereitungsanlagen (WWTPs) gelten als wichtige Kontrollpunkte, um die Ausbreitung von AMR-Kontaminanten einzudämmen, die aus Quellen wie Krankenhäusern, Pflegeheimen, Schlachthöfen und landwirtschaftlichen Gebieten stammen. Trotz ihrer zentralen Rolle reichen herkömmliche WWTPs oft nicht aus, um antibiotikaresistente Bakterien (ARB) und ihre Antibiotikaresistenzgene (ARGs) zu eliminieren. Anstatt die Gefahr zu neutralisieren, können diese Kläranlagen letztendlich als kontinuierliche Quellen für die Ausbreitung von AMR in natürliche Wassersysteme dienen. Um diesem Mangel zu begegnen, hat sich die Aufmerksamkeit auf dezentrale und modulare Behandlungssysteme verlagert. Diese Anlagen werden zunehmend als wertvolle Instrumente zur Stärkung der Desinfektionsprotokolle an der Quelle angesehen. Zu den neuen Technologien gehören fortschrittliche Desinfektionsmethoden wie Ozonisierung, UV-Bestrahlung, erweiterte Oxidationsprozesse (AOPs), Membranfiltration und antimikrobielles Blaulicht (aBL). Jede dieser Methoden hat sich in unterschiedlichem Maße bei der Neutralisierung von ARB und ARGs bewährt. aBL gehört zu den Technologien, die sich als umweltfreundliche Technologie hervorheben, da sie keine giftigen Rückstände produziert, relativ wenig Energie verbraucht und gleichzeitig eine breitbandige antimikrobielle Wirkung hat. Diese Forschung wurde für zwei verschiedene aBL-Verfahren durchgeführt, nämlich ein statisches Bestrahlungsverfahren und einen Durchfluss-Photoreaktor. Darüber hinaus wurden drei verschiedene Experimente im Zusammenhang mit aBL

durchgeführt: (i) aBL allein, (ii) aBL in Kombination mit Porphyrin (10^{-6} M TMPyP), and (iii) aBL in Kombination mit oxidativen Agentien (1 mM H_2O_2).

Abwasseraufbereitungsanlagen (AWA) gelten als wichtige Kontrollpunkte, um die Ausbreitung von AMR-Kontaminanten einzudämmen, die aus Quellen wie Krankenhäusern, Pflegeheimen, Schlachthöfen und landwirtschaftlichen Gebieten stammen. Trotz ihrer zentralen Rolle reichen herkömmliche AWA oft nicht aus, wenn es darum geht, ihre Desinfektionskapazitäten im Wellenlängenbereich von 400 bis 480 nm zu entfalten, die sich gegen eine Vielzahl fakultativ pathogener Keime als wirksam erwiesen haben. Der weithin akzeptierte Mechanismus, der der antimikrobiellen Wirkung von aBL zugrunde liegt, umfasst die Photoanregung endogener Chromophore wie Porphyrine und Flavine, was zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) führt. Diese ROS sind für die Eliminierung von ARB und ARGs verantwortlich. Auf dieser Grundlage untersuchte dieses HOTMATS Vorhaben die Prävalenz und Häufigkeit von vier fakultativ pathogenen Bakterien (FPB) (*Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* und *Escherichia coli*) sowie von 10 ARGs unterschiedlicher Kategorien der Verbreitung.

Um die Wirksamkeit fortschrittlicher Abwasserentkeimungstechnologien umfassend zu bewerten, wurden in dieser Studie kulturbasierte und molekularbiologische Verfahren, darunter die quantitative PCR (qPCR), kombiniert. Kulturbasierte Methoden ermöglichten den Nachweis lebensfähiger Bakterien nach der Behandlung, während die qPCR eine präzisere Quantifizierung von ARGs und FPB ermöglichte. Der Vergleich zwischen den Ergebnissen der KBE-Zählung und der qPCR zeigte die Grenzen einer ausschließlichen Verwendung von Kultivierungsmethoden auf, insbesondere bei Mikroorganismen in einem lebensfähigen, aber nicht kultivierbaren Zustand (VBNC). Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung eines integrativen Ansatzes, der sowohl kulturbasierte als auch kulturunabhängige Methoden umfasst. Im Vorhaben wurden Abwasserproben, die an AMR-Hotspots entnommen wurden, entweder allein oder in Kombination mit 10^{-6} M TMPyP oder 1 mM H_2O_2 mit aBL behandelt. Nach der Behandlung wurde die Häufigkeit von FPB und ausgewählten ARGs unter Verwendung beider methodischer Ansätze bewertet. Diese Analyse lieferte wichtige Erkenntnisse über die Ausbreitung von AMR in der Umwelt und die Wirksamkeit der angewandten Desinfektionsstrategien.

Neben der Wirksamkeitsbewertung untersuchte die Studie auch die zellulären Mechanismen, die aBL-basierten Behandlungen zugrunde liegen. aBL in Kombination mit TMPyP zeigte im Vergleich zu anderen untersuchten aBL-Behandlungen eine überlegene Desinfektionsleistung, was vor allem auf die verstärkte Bildung intrazellulärer reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) zurückzuführen ist. Um die Reaktion von Bakterien auf oxidativen Stress besser zu verstehen, wurde eine Transkriptomanalyse durchgeführt. Diese Ergebnisse unterstreichen nicht nur das Potenzial von aBL, insbesondere in Kombination mit porphyrinbasierten Photosensibilisatoren oder Oxidationsmitteln, sondern heben auch dessen Eignung als nachhaltiges Instrument für die dezentrale Abwasserentkeimung hervor. Wichtig ist, dass diese Studie sowohl die unmittelbaren Auswirkungen solcher Technologien als auch ihre langfristigen Auswirkungen auf die Bekämpfung von AMR beleuchtet.

II Eingehende Darstellung

2.1 Aufgabenstellung des KIT

Das Hauptziel des Projekts HOTMATS ist es, modulare, fortschrittliche Methoden für eine effektive und dezentrale Abwasserbehandlung an ausgewählten Punktquellen der AMR-Entstehung und Verbreitung zu entwickeln und letztlich auch auf Effizienz der Reduktion von fakultativ pathogenen Bakterien (FPB) der ESKAPE Gruppe (siehe WHO Definition) und klinisch relevante Antibiotikaresistenzgene (ARGs) zu bewerten. Zu den wichtigsten Hygienisierungsverfahren der zu bewertenden Technologien, die vom KIT analysiert werden, gehören die antimikrobielle Blaulicht (aBL) – Bestrahlung in Kombination mit Photoverstärkern (PV) wie Porphyrin-Moleküle (TMPyP) und H₂O₂. In Kooperation mit dem Projektpartner NIVA in Oslo (Norwegen) werden auch Membranfiltration (MF), Ozonierung/ Oxidation (O₃/AOP) und UV-C-Bestrahlung auf mögliche Kombination mit aBL zur optimierten Reduktionsleistung für unerwünschte bakterielle Kontaminationen an Hotspots des Auftretens untersucht.

Der Ansatz zielt darauf ab, wichtige Verbreitungs- und Übertragungswege von anthropogenen und veterinärmedizinischen ARB/FPB in die Umwelt über das Abwassernetz und städtische Kläranlagen wirksam zu unterbrechen. Diese Maßnahmen entsprechen den Empfehlungen des One-Health-Prinzips und den Empfehlungen der WHO. Das Hauptziel der Intervention besteht darin, das AMR-Potenzial in Abwässern durch die gezielte Beseitigung von anthropogenen oder von Tieren stammenden ARB/FPB in der Nähe der Einleitungsstellen deutlich zu verringern, um das öffentliche Abwassernetz stromabwärts von städtischen Kläranlagen zu entlasten. Darüber hinaus liegt ein besonderer Schwerpunkt auf der On-Side-Behandlung von Einleitungen von Tieren, z. B. in Schlachthöfen. Dieses Thema zielt auch auf die globale öffentliche Gesundheit und die Umweltgesundheit ab und wird auch in einigen der UN-Ziele für nachhaltige Entwicklung und im One-Health-Aktionsplan der EU zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen angesprochen. Daher entspricht unser Projekt der Empfehlung, alle Bereiche der Aufforderungsthemen zu behandeln, d. h. Human-, Veterinär- und Umweltgesundheit.

2.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand an den angeknüpft wurde

Herkömmliche Abwasserbehandlungsstrategien können ARB/ARGs in der Regel nicht wirksam entfernen, was die Entwicklung neuartiger und effizienter Sanierungsmaßnahmen erforderlich macht (Mandal, 2024; Wang und Chen, 2022). Von den derzeit untersuchten Möglichkeiten wurden die erweiterte Oxidationsprozesse (AOPs) für die Beseitigung von ARB und ARGs umfassend untersucht (Alexander et al., 2016; Ferro et al., 2017), doch ihre breitere Anwendung wird durch hohe Kosten, einen hohen Energiebedarf und die Bildung potenziell schädlicher Nebenprodukte behindert (Han et al., 2024). aBL hat sich als vielversprechende, ökologisch nachhaltige Alternative zu herkömmlichen UV-basierten Verfahren herausgestellt. Im Vergleich zu Mitteldruck-UV-Lampen sind LED-basierte aBL-Systeme im Bereich von 405 nm wesentlich effizienter (Martín-Sómer et al., 2023) und erzielen bei gleichem Energieeinsatz eine etwa 20-mal höhere Strahlungsleistung, während unerwünschte Nebenreaktionen vermieden werden. Ihr quecksilberfreies, modulares Design ermöglicht zudem einen sicheren, skalierbaren Einsatz an kritischen Hotspots in der Abwasserbehandlung und erleichtert die Nachrüstung bestehender Infrastrukturen. Da Abwässer immer noch Spuren von Schadstoffen und multiresistente Bakterien enthalten können, bietet die Erweiterung der Hygienisierung mit LED-basierter aBL eine ökologisch nachhaltige Option zum Schutz der öffentlichen Gesundheit und der Umwelt (Mandal, 2024).

Mechanistisch wirkt aBL durch Stimulierung nativer bakterieller Chromophore, die mit Hilfe von LED-Lampentechnologie mit Blaulicht bestrahlt werden. In der Folge tragen die gebildeten ROS, darunter Hydroxylradikale (OH^{*}), Superoxidanionen (O₂^{*-}), ¹O₂ und H₂O₂, zur bakteriziden Wirkung bei (Feuerstein et al., 2005; Wang et al., 2019). Diese ROS verursachen oxidative Schäden an DNA, Proteinen und Membranen, was letztendlich zum Absterben der Mikroorganismen führt.

ROS werden unter aBL über zwei unterschiedliche photochemische Wege erzeugt: Der Typ-I-Mechanismus beinhaltet die Elektronenübertragung zur Erzeugung von H₂O₂, OH^{*} und O₂^{*-}. Beim Typ-II-Mechanismus führt die Energieübertragung auf molekularen Sauerstoff hauptsächlich zu ¹O₂ (Dąbrowski, 2017; Baptista et al., 2021). Exogene Photosensibilisatoren (PS) wie Porphyrine können hinzugefügt werden, um die ROS-Produktion und damit die Effizienz von aBL zu steigern (Cong et al., 2023; Bulit et al., 2014). Unter aeroben Bedingungen diffundiert molekularer Sauerstoff frei durch biologische Membranen und ist an der intrazellulären ROS-Bildung beteiligt. Um in solchen oxidativen Umgebungen zu überleben, haben Bakterien ausgeklügelte Stressreaktionssysteme entwickelt. ROS spielen zwar eine zentrale Rolle bei der Inaktivierung von Mikroorganismen, können aber auch zur Entwicklung von Antibiotikaresistenzen beitragen, indem sie DNA-Schäden und Mutagenese während der DNA-Reparatur induzieren, die durch die Aktivierung des recA-Gens vermittelt wird (Taylor et al., 2024; Qi et al., 2023). Als Reaktion auf solchen oxidativen Stress verfügen Bakterien über eine konstitutive Expression einer Reihe von antioxidativen Enzymen, die ROS abfangen und oxidative Schäden reparieren. Darüber hinaus wird die Synthese der meisten dieser Enzyme durch intrazelluläre ROS induziert, was zu einem dynamischen und induzierbaren Schutzsystem führt.

Phase I Breitbandiges Blaulicht Inaktivierung von Schlachthofabwässern im statischen aBL-Photoreaktor

Die Häufigkeit von verschiedenen fakultativ pathogenen Bakterien (FPB) der ESKAPE-Gruppe (Prioritätenliste der WHO) und Antibiotikaresistenzgenen (ARGs) mit unterschiedlicher Priorität für die Humanmedizin wurde in Abwässern von Geflügel- und Schweineschlachthöfen mit Hilfe molekularbiologischer Verfahren quantifiziert. Es wurde festgestellt, dass Rohabwasser aus Geflügel- und Schweineschlachthöfen mit fakultativ pathogenen Bakterien, aber auch mit verschiedenen Kategorien klinisch relevanter ARGs, darunter ARGs gegen die Gruppe der Reserveantibiotika, kontaminiert war. Die Konzentration der verschiedenen Zielgene nahm nach konventionellen biologischen oder erweiterten oxidativen Abwasserbehandlungen vor Ort ab, wurden jedoch nicht vollständig beseitigt. Daher wurde das antimikrobielle BlauLight (aBL) in Kombination mit einem Porphyrin-Photoverstärker mit ESKAPE-Bakterien und realen Schlachthofabwässern (Geflügel, Schweine) untersucht. Das eingesetzte breitbandige LED-basierte Blaulicht (420–480 nm) führte zu Gruppen von empfindlichen, intermediären und nicht empfindlichen ESKAPE-Bakterien. Die abtötende Wirkung von aBL wurde bei den nicht empfindlichen Bakterien *Klebsiella pneumoniae* und *Enterococcus faecium* durch die Zugabe von Porphyrinen in Konzentrationen von 10⁻⁶ M verstärkt. Verdünntes Rohabwasser aus Schlachthöfen wurde mit breitbandigem aBL in Kombination mit Porphyrin behandelt. Hier verstärkte das Vorhandensein des Photosverstärkers die biozide Wirkung von aBL.

Der KIT-Partner hat für den mikrobiologischen und vor allem molekularbiologischen Nachweis über qPCR ein Methodenkompendium erstellt und im August 2022 allen Projektpartner (NIVA/Norwegen, Universität Accra/Ghana und Universität Nairobi/Kenya) zur Verfügung gestellt.

Phase II: Distinktes antimikrobielles Blaulicht (405 nm, 420 nm, 460 nm) in Kombination mit mit Photoverstärkern inaktiviert Bakterien (FPB) und Resistenzgene (ARGs) in einem Durchfluss-aBL-Photoreaktor

Die Wirksamkeit der Bestrahlung mit antimikrobiellem Blaulicht (aBL) zur Eliminierung von klinisch bedeutsamen Antibiotikaresistenzgenen (ARGs) und taxonomischen Markergenen der WHO-Prioritätsgruppe der ESKAPE-Bakterien aus dem Abwasser von Kläranlagen (WWTP) wurde untersucht. Die Experimente wurden mit einem LED-gesteuerten Durchfluss-Photoreaktor durchgeführt, der bei Wellenlängen von jeweiligen 405 nm, 420 nm und 460 nm betrieben wurde. Die Bestrahlung mit aBL allein reichte nicht aus, um ESKAPE-Bakterien und klinisch relevante ARGs wirksam zu inaktivieren oder zu eliminieren. Die Zugabe des porphyrinbasierten Photoverstärkers TMPyP (10^{-6} M) oder des Oxidationsmittels H_2O_2 (1 mM) führte zu einer verstärkten Reduktion der fakultativ pathogenen Bakterien (FPB), ihrer taxonomischen Genmarker und der Ziel-ARGs um mehrere \log_{10} -Einheiten. Die zusätzlichen Effekte von TMPyP und H_2O_2 waren jedoch nur in Verbindung mit einer aBL-Bestrahlung erkennbar, da sie ohne diese unwirksam waren.

Phase III: Zelluläre Einblicke in reaktive oxidative Spezies (ROS) und bakterielle Stressreaktionen, die durch antimikrobielles blaues Licht (aBL) zur Inaktivierung antibiotikaresistenter Bakterien (ARB) in Abwasser induziert werden

Die für aBL zugrunde liegenden zellulären Mechanismen blieben bisher für Abwasserbakterien unerforscht. Hier schließen wir diese Lücke, indem wir selektive ROS-Fänger-Assays mit einem Transkriptionsprofiling auf oxidativen Stress reagierenden Gene kombinieren und so mechanistische Einblicke in die Inaktivierung von fakultativ pathogenen Bakterien (FPB) und Antibiotikaresistenzgenen (ARGs) unter aBL-Behandlungen gewinnen.

Ein multiresistenter *Pseudomonas aeruginosa*- und ein vanA-positiver *Enterococcus faecium*-Referenzstamm wurden mit aBL allein und mit aBL in Kombination mit TMPyP behandelt. Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen der Kultivierung und der quantitativen PCR (qPCR) zeigten das Vorhandensein von lebensfähigen, aber nicht kultivierbaren (VBNC) Zellen im Fall von *P. aeruginosa*, was die Notwendigkeit unterstreicht, beide Ansätze zu kombinieren, um die Inaktivierung durch aBL zuverlässig zu bewerten. Unter allen Behandlungen erwies sich aBL in Kombination mit subletalen TMPyP-Konzentrationen (10^{-6} M) als am wirksamsten, wobei die Analyse reaktiver oxidativer Spezies (ROS) Singulett-Sauerstoff (1O_2) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) als die primären reaktiven Spezies identifizierte, die für die Inaktivierung der Bakterien verantwortlich sind. Die Analyse der Stress-responsiven Genexpression unter drei Behandlungsbedingungen (aBL allein, aBL + H_2O_2 (1 mM), aBL + TMPyP (10^{-6} M)) zeigte eine Hochregulation von *sodA* (>2,4-fach), *recA* (>2,5-fach), *oxyR* (>3,1-fach) und *tolC* (>4,2-fach), insbesondere unter aBL + TMPyP-Behandlung, was auf starke oxidative Stressreaktionen hindeutet. Im Gegensatz dazu deutet die Herunterregulierung von *ompF* auf eine deutliche Veränderung in der Membranstruktur hin, die zur Inaktivierung beiträgt.

2.3 Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Verteilt über den gesamten Projektverlauf wurde Abwasserproben bzw. vorher extrahierte DNA nach Membranfiltration, Ozonierung, UV-C Bestrahlung aus Kliniken, oder kommunalen Kläranlagen in Oslo vorbehandelt und nach Karlsruhe an das KIT gebracht. Vor Ort am KIT wurden dann die Analysen zur Quantifizierung von fakultativ pathogenen Bakterien aus der ESKAPE-Gruppe und Resistenzgene unterschiedlicher Kategorien mittel qPCR durchgeführt.

2.3

Der wissenschaftliche Mitarbeiter Herr M.Sc. Carsten U. Schwermer von NIVA/Norwegen ist im Februar 2023 an das KIT in Karlsruhe für mehrere Tage gekommen, um beim Aufbau und Inbetriebnahme des aBL-Durchfluss-Photoreaktors mitzuarbeiten. Im August 2023 besuchte Projektpartner Carsten Schwermer von NIVA, Norwegen, das KIT für eine Woche. Der Reaktor ist mit

drei LED-Lampentypen mit jeweils unterschiedlichen Wellenlängen (405 nm, 420 nm und 460 nm) ausgestattet.

Im Zuge eines Besuchs von Mitarbeitern war die wissenschaftlich Mitarbeiterin Frau M.Sc.Lady Adamako von der Universität Accra in Ghana, als Kooperationspartner in HOTMATS Projekt am KIT in Karlsruhe, um gezielt den Umgang mit dem aBL-Durchflußreaktor sowie die Methode der qPCR-Analyse zu erlernen oder zu optimieren. Im Anschluss an den Gastbesuch im Juli/August 2024 wurde der aBL-Durchflußreaktor nach Ghana an die Ubivwersität Accra verschifft, um dort die geplanten Experimente zur Inktivierung von Abwasserkontaminationen mit ARB durchzuführen.

2.4 Konstruktion und Aufbau der verwendeten aBL Photoreaktoren

A) Statischer aBL-Photoreaktoren

Die statischen aBL-Photoreaktoren wurden im Rahmen des Projekts genutzt, um antimikrobielles Blaulicht teilweise verstärkt durch Photoverstärkermolekülen auf Referenzbakterien , aber auch auf natürlich vorkommende Abwasserpopulationen aus **Geflügel- und Schweine-Schlachthöfen** zu untersuchen. Es wurden dadurch schon Betriebsbedingungen für die statischen aBL Photoreaktoren in Phase I und Phase III des Projektablauf festgelegt.

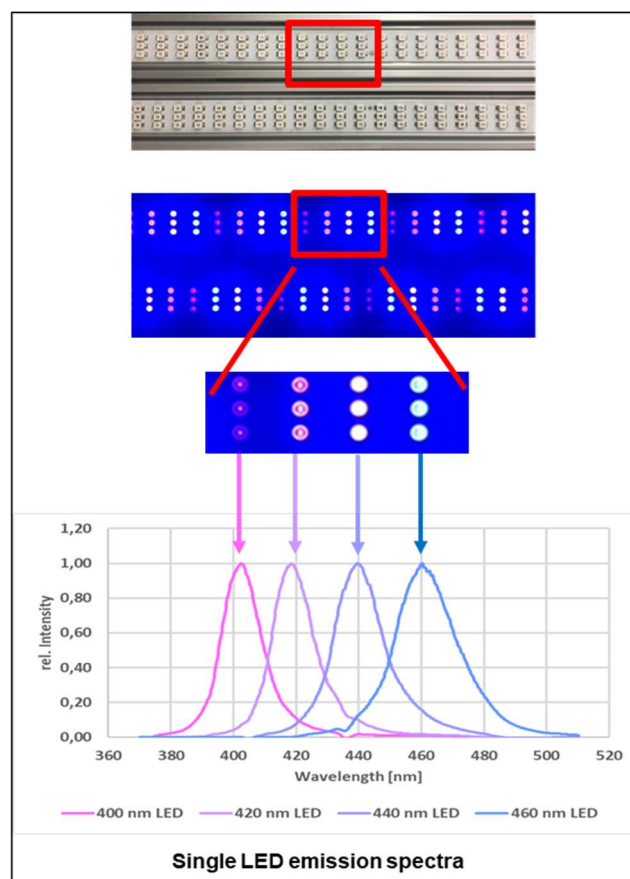


Abbildung 1: Breitbandiges, normalisiertes Gesamtemissionsspektrum der LED-Leiste; normalisierte Emissionsspektren der einzelnen LED-Typen auf der LED-Leiste. Eine qualitative Charakterisierung des emittierten Spektrums wurde mit einem Spektrometer (FLAME-S-XR1-ES, OceanInsight, Ostfildern, Deutschland) durchgeführt.

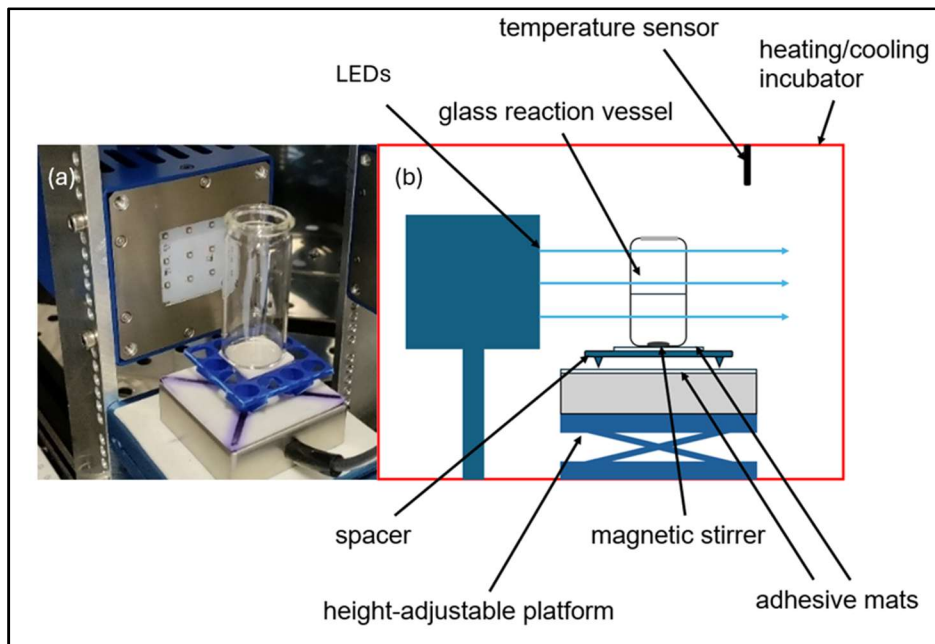


Abbildung 2: (a) Photographie des experimentellen Aufbaus des statischen aBL Photoreaktors. (b) Schematische Darstellung des Photoeaktors mit 6x420 nm LED-Strahlern, einer Glas Reaktionskammer, Abstandshaltern (spacer), Magnetrührer, Höhenregulatorplattform und zwei Adhäsionsmatten. Alle Komponenten befinden sich innerhalb eines Heiz- bzw. Kühlkubators, der mit einem Temperatursensor ausgestattet ist. (Aus Cong et al 2025b).

B) Kontinuierlicher Durchfluss aBL-Photoreaktor

Für den experimentellen Ansatz, bei dem der Durchfluss aBL-Photoreaktor zum Einsatz kam, wurde kein breitbandiges Blaulicht LED-Spektrum, sondern distinkte LED-Lampen definierter Wellenlängen eingesetzt. Diese Versuchsreihe entspricht der Phase II des HOTMATS Vorhabenablaufs. Zweimal wöchentlich wurden systematisch Abwasserproben aus der **Kläranlage auf dem nördlichen KIT-Campus (3300 internationale Personen)** entnommen. Diese Anlage verarbeitet täglich etwa 450 m³ kommunales Abwasser durch eine Kombination aus physikalisch-chemischen und biologischen Behandlungsmethoden. Zu diesen Methoden gehören Adsorption, Fällung, Flockung und Oxidation. Anschließend wird das konventionell behandelte Abwasser direkt in den Rhein eingeleitet. An jedem Kampagnentag wurden 4 Liter Abwasser aus der Kläranlage gesammelt. Anschließend wurde das gesammelte Abwasser mit einem Peristaltikpumpensystem (1 L/min) in den Bioreaktor gepumpt. Über einen Zeitraum von vier Stunden wurden die Proben bestrahlt, wobei in regelmäßigen Abständen (nach 1 Stunde, 2 Stunden und 4 Stunden) 700 mL der behandelten Proben entnommen wurden, um den Behandlungsprozess zu überwachen und die Wirksamkeit der Bestrahlung zu bewerten. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 3 dargestellt.

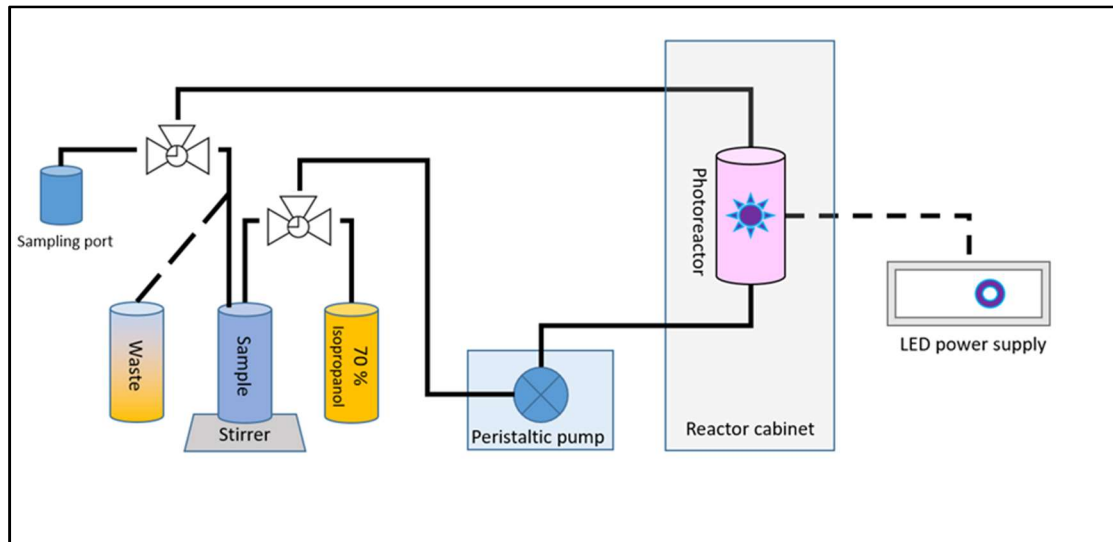


Abbildung 3. Der Versuchsaufbau für den im Probenbestrahlungsprozess verwendeten Durchfluss-aBL-Reaktor umfasst einen Probenbehälter, eine Peristaltikpumpe, einen Reaktorschrank und eine LED-Stromversorgung. Zusätzlich wird ein Abfallbehälter zur Lagerung des behandelten Abwassers verwendet, während 70 %iges Isopropanol zur Desinfektion des Aufbaus eingesetzt wird. Anschließend wird der Abfall gemäß den Sicherheitsvorschriften ordnungsgemäß entsorgt (aus Cong et al 2025a).

Abbildung 4 zeigt die Dauer der Bestrahlung im Bereich der Reaktionskammer (blau hervorgehoben), die sich über 26 Sekunden erstreckt. Das Gesamtvolumen der Kammer, das der Bestrahlung ausgesetzt ist, beträgt 0,43 Liter. Im Inneren des Zylinders befindet sich eine LED-Montagebasis mit vier Flächen, auf denen die LEDs angebracht sind. Diese Basis ist so konzipiert, dass sie 12 LEDs aufnehmen kann, die auf jeder ihrer Flächen in einer Reihe angeordnet sind. Die LED-Konfiguration liefert spezifische Lichtintensitäten für aBL-Behandlungen bei verschiedenen Wellenlängen: 460 nm weisen eine Intensität von 2758 W/m² auf, 420 nm sind auf 3282 W/m² eingestellt und 405 nm erreichen 3486 W/m².

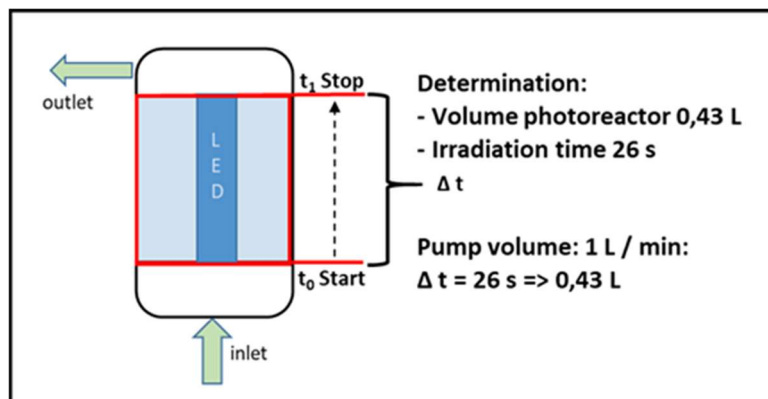


Abbildung 4: Das schematische Diagramm des Reaktors zeigt ein Gesamtvolumen von 0,43 L und eine Bestrahlungszeit von 26 Sekunden für das Abwasser, das den Bestrahlungsbereich durchläuft. Dies wird mit einer Durchflussrate von 1 L/min erreicht (aus Cong et al., 2025a).

3 Ergebnisse

3.1 Inaktivierung der ESKAPE Referenzbakterien durch aBL Bestrahlung ohne Photoverstärker

Um das Prinzip der aBL zu bestätigen, dass verschiedene Bakterienarten unterschiedliche endogene Photosensibilisatoren enthalten, die ihre Empfindlichkeit beeinflussen, wurde ein statischer aBL-Photoreaktor verwendet. Referenzstämme aus der ESKAPE-Gruppe wurden einem Breitband-aBL ausgesetzt, und die Inaktivierung der Bakterien wurde anhand der Koloniebildenden Einheiten (KBE/mL) bewertet. Wie in Abbildung 5 dargestellt, variierte die Inaktivierungsdynamik im Laufe der Zeit zwischen den verschiedenen Arten. Bemerkenswert ist, dass nach 6 Stunden Bestrahlung erhebliche taxonspezifische Unterschiede deutlich werden. *E. faecium* und *K. pneumoniae* blieben weitgehend unbeeinträchtigt, wobei die KBE-Zahlen kaum von den unbehandelten Kontrollen abwichen. Im Gegensatz dazu kam es bei *A. baumannii*, *P. aeruginosa* und *S. aureus* zu einer starken Inaktivierung, wobei jede dieser Arten eine Reduktion von mehr als 7 \log_{10} -Einheiten aufwies. *E. coli* zeigte eine mittlere Empfindlichkeit mit Reduktionen von mehr als 5 \log_{10} -Einheiten. Aufgrund dieser Beobachtungen lassen sich die ESKAPE-Stämme in drei Kategorien einteilen: (1) hochsensibel (*S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*), (2) mäßig sensibel (*E. coli*) und (3) weniger sensibel oder resistent (*E. faecium*, *K. pneumoniae*).

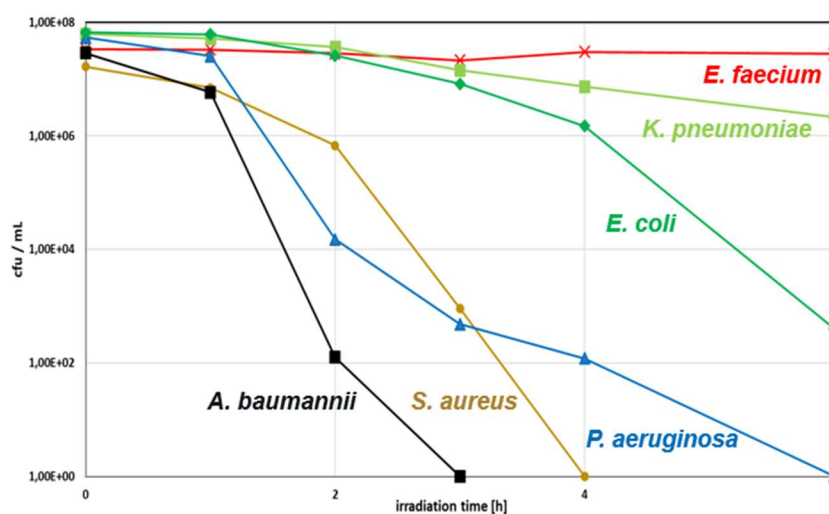


Abbildung 5: \log_{10} -Reduktionsrate fakultativ pathogener Bakterien nach unterschiedlicher Bestrahlungsdauer mit breitbandigem Blaulicht (380–500 nm). Die Reduktionsraten wurden durch Kultivierung serieller Verdünnungen jedes Referenzbakteriums zu verschiedenen Zeitpunkten (0 bis 6 Stunden) berechnet.

3.2 Anwendung eines statischen aBL-Photoreaktors zur Behandlung von Abwasser aus AMR-Hotspots: Effizienzsteigerung mit TMPyP

Um die Wirksamkeit der Kombination von aBL mit einem zusätzlichen Photosensibilisator gegen komplexe Bakteriengemeinschaften zu bewerten, wurde echtes Rohabwasser aus einem AMR-Hotspot (einem Geflügelschlachthof) als Testmedium verwendet. Zunächst wurde nur aBL angewendet, was zu einer minimalen Inaktivierung der Bakterien führte. Anschließend wurde aBL mit zwei verschiedenen Konzentrationen des Photoverstärkers TMPyP (10^{-7} M und 10^{-6} M) kombiniert. Bei einer Konzentration von 10^{-7} M verbesserte TMPyP die Wirksamkeit der Behandlung im Vergleich zu

aBL allein. In Kombination mit aBL-Bestrahlung senkte diese Konzentration die Bakterienbelastung des verdünnten Abwassers innerhalb von 4 Stunden auf nicht nachweisbare Werte. Noch bemerkenswerter war, dass eine Erhöhung von TMPyP auf 10^{-6} M zu einer vollständigen Inaktivierung der Bakterien innerhalb von nur 30 Minuten nach der Behandlung führte (Abbildung 6). Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung kombinatorischer Strategien bei der Bekämpfung mikrobieller Verunreinigungen in Abwässern. Es ist auch erwähnenswert, dass diese Ergebnisse aus einem statischen Laboraufbau stammen. Ob solche synergistischen Methoden effektiv auf größere Durchflusssysteme übertragen werden können, wird im Folgenden untersucht.

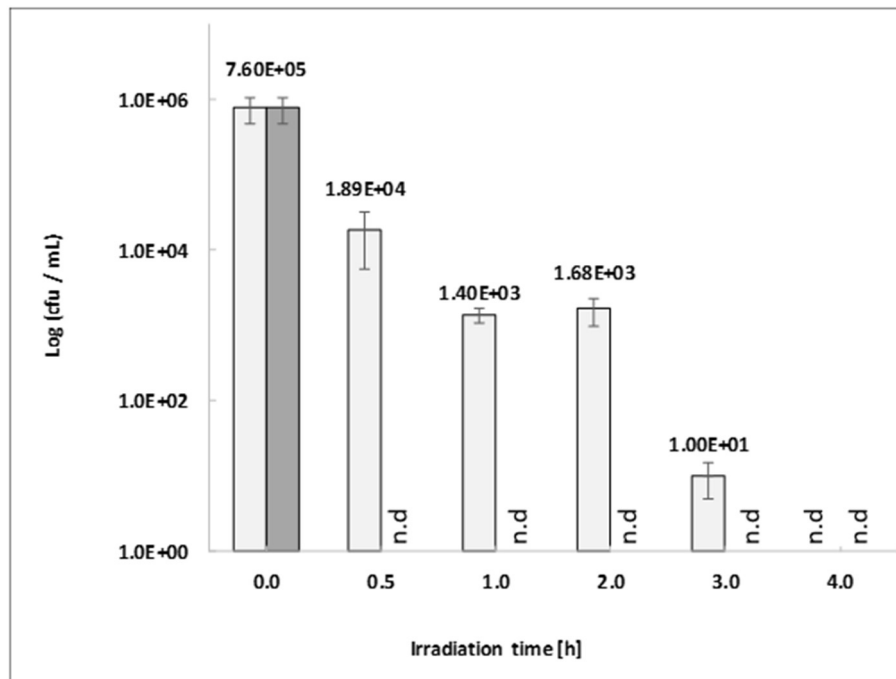


Abbildung 6: Mit aBL (543 W/m^2) behandeltes Rohabwasser aus einem Schlachthof, zusätzlich mit $1,0 \times 10^{-6}$ M (dunkler Balken) oder $1,0 \times 10^{-7}$ M TMPyP (heller Balken) für 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 und 4,0 Stunden. Die anfängliche Zellzahl, die auf LB-Medium aus derselben ursprünglichen Abwassersprobe kultiviert wurde. n.d.: nicht nachweisbar (aus Cong et al., 2023).

3.3 Anwendung des verbesserten Durchfluss-aBL-Photoreaktors zur Reduktionswirksamkeit von FPB und ARGs mittels qPCR

Zur Bewertung der Entfernung von ARGs wurde ein verbesserter Durchfluss-Photoreaktor mit LED-Wellenlängen von 405, 420 und 460 nm verwendet, wobei eine definierte Bestrahlungszeit von 26 Minuten zugrunde gelegt wurde. Zur Bewertung der Entfernungseffizienz von FPB und ARGs wurde qPCR eingesetzt (Abbildung 7). Die Kombination von aBL mit TMPyP reduzierte die Häufigkeit des 16S-rRNA-Gens (universeller bakterieller Marker) deutlich, was auf eine starke bakterizide Wirkung hindeutet. Bemerkenswert ist, dass diese Behandlung auch die größte Reduktion des int11-Gens (HGT-Genmarker) erzielte, wobei die Kopienzahl um etwa $4 \log_{10}$ Einheiten abnahm. Eine artspezifische Analyse zeigte, dass die aBL-Bestrahlung allein die Genkopien von Enterokokken um $2,5 \log_{10}$ Einheiten reduzierte, jedoch nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf *P. aeruginosa*, *A. baumannii* und *E. coli* hatte. In Kombination mit TMPyP verbesserten sich die Reduktionen auf $3,3 \log_{10}$ (Enterokokken), $1,2 \log_{10}$ (*P. aeruginosa*), $1,8 \log_{10}$ (*A. baumannii*) und $2,4 \log_{10}$ (*E. coli*). Diese qPCR-Ergebnisse stimmen weitgehend mit den durch Kultivierungsmethoden erzielten Ergebnissen überein.

Die quantitative ARG-Analyse ergab zwei Kategorien. Gruppe 1 (z. B. *ermB*, *tetM*) war mäßig empfindlich gegenüber aBL (1,5 log₁₀-Reduktion) und zeigte eine Verbesserung mit H₂O₂ (2 log₁₀) und TMPyP (3 log₁₀). Das Sulfonamid-Resistenzgen (*su1*) war zwar gegenüber aBL allein resistent, zeigte jedoch eine Abnahme um 4,2 log₁₀ mit TMPyP und um 2,1 log₁₀ mit H₂O₂. Im Gegensatz dazu blieb das β-Laktamase-Gen *bla*TEM von allen Behandlungen weitgehend unbeeinträchtigt. Die β-Lactamase-ARGs der Gruppe 2 (*bla*CTX-M, *bla*OXA-48, *bla*CMY-2) zeigten nur eine minimale Reaktion auf aBL allein. Bemerkenswert ist, dass das *mcr-1*-Gen gegenüber beiden Kombinationen hochgradig empfindlich war, was ihre Relevanz für die Bekämpfung der Colistinresistenz unterstreicht. Umgekehrt zeigte *bla*VIM keine Reaktion auf eine aBL-Behandlung. Letztendlich lautete die zugrunde liegende Hypothese, dass die Entfernungseffizienz von den Gen-Trägern der jeweiligen ARGs abhing.

Für die qPCR basierte Nachweis- und Quantifikationssystem wurde folgende in Tabelle 1 gelisteten Zielgene für ESKAPE-Bakterien und Antibiotikaresistenzgen ausgewählt, die schon in vorangegangenen Forschungsvorhaben des KIT auf Spezifität und Nachweisgrenzen evaluiert wurden.

Tabelle 1: Ausgewählte und evaluierte qPCR Nachweissysteme für Antibiotikaresistenzgenen und Fakultativ pathogene Bakterien un ihre klinische Relevanz (aus Cong et.(al2025a)

Antibiotic resistance genes	Antibiotic classes concerned
<i>ermB</i>	Macrolide antibiotic, Erythromycin
<i>int1</i>	Integron Type 1 mobile genetic element (MGE)
<i>tetM</i>	Tetracycline antibiotic
<i>bla_{TEM}</i>	Penicilline antibiotic
<i>sul1</i>	Sulfonamide antibiotic
<i>bla_{CTX-M}</i>	Cephalosporin of 2. generation
<i>bla_{CTX-M-32}</i>	Cephalosporin of 2. generation
<i>bla_{Oxa-48}</i>	Carbapeneme β-Lactame antibiotics
<i>bla_{CMY-2}</i>	Cephalosporin of 2. generation
<i>bla_{VIM}</i>	Carbapeneme, Imipenem (reserve antibiotic)
<i>vanA</i>	Glykopeptide, Vancomycin (reserve antibiotic)
<i>mecA</i>	Penicilline, Methicillin resistance (multi-resistance in <i>S. aureus</i>)
<i>mcr-1</i>	Cyclic peptide antibiotic, Colistin (reserve antibiotic)
<i>bla_{NDM}</i>	Resistance against multiple β-Lactame antibiotics, Carbapeneme
Facultative pathogenic bacteria	Clinical relevance
<i>Enterococci</i> spp. (23S rDNA)	14,3 % of clinical infections
<i>Enterococcus. faecalis</i> (<i>dll</i> gene)	6,9 % of clinical infections
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (<i>ecfX</i> gene)	5,8 % of clinical infections
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>gltA</i> gene)	4,5 % of clinical infections
<i>Acinetobacter baumannii</i> (<i>secE</i> gene)	5 % of clinical infections
<i>Escherichia coli</i> (<i>yccT</i> gene)	16,6 % of clinical infections

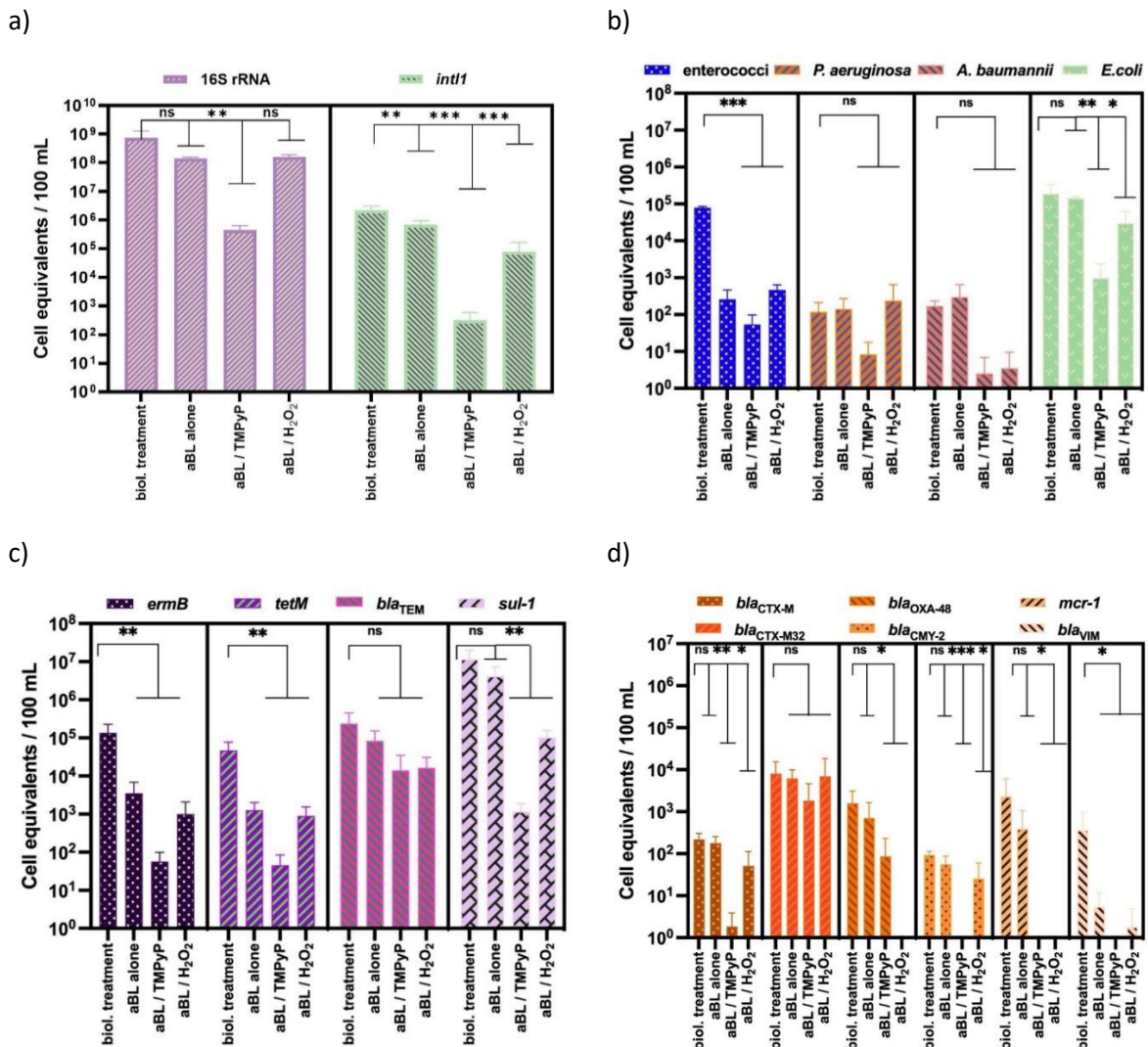


Abbildung 7: Zelläquivalente pro 100 mL FPB und ARGs bei aBL-Bestrahlung für 4 Stunden (entspricht einer Bestrahlung von 26 Minuten) unter Verwendung von aBL allein bei 420 nm, aBL + TMPyP (10^{-6} M) und aBL + H₂O₂ (1 mM). Die Ergebnisse sind in vier Gruppen unterteilt: (a) 16S rRNA und *int1*, (b) FPB, einschließlich Enterokokken, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* und *Escherichia coli*, (c) häufig nachgewiesene ARGs, einschließlich *ermB*, *tetM*, *bla*_{TEM} und *sul1*, (d) mittelhäufig nachgewiesene ARGs, einschließlich *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CTX-M32}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{CMY-2}, *mcr-1* und *bla*_{VIM}. Die Werte sind Durchschnittswerte aus $n = 3$ Tests unter jeder Bedingung. Die statistische Signifikanz der Unterschiede in den Behandlungseffekten ist durch Sternchen gekennzeichnet. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (aus Cong et al, 2025a)

3.4 aBL Bestrahlung induziert DNA Schäden

ROS (Reaktive Oxydative Spezies) können Guaninbasen in der DNA oxidieren und oxidierte Derivate wie 8-Hydroxy-Desoxyguanosin (8-OHdG) bilden. Es ist zwar bekannt, dass ROS die DNA schädigen können, doch inwieweit aBL solche Läsionen induziert, ist noch unklar. Ziel dieser Studie war es, festzustellen, ob aBL-vermittelte Bestrahlung direkt DNA-Läsionen induziert. Unter Verwendung der qPCR-basierten LORD-Q-Methode (Long-run real-time PCR-based damage quantification) wurden DNA-Läsionen pro 10-kb-Segment in Bakterienproben vor und nach aBL-Exposition quantifiziert, sowohl allein als auch in Kombination mit TMPyP oder H₂O₂. Die LORD-Q-Methode ermöglicht die empfindliche Erkennung und Quantifizierung von DNA-Schäden durch den Vergleich der Amplifikationseffizienz zwischen langen und kurzen PCR-Zielen der 16S rDNA. Wie in Abbildung 8

dargestellt, führte die Kombination von aBL mit TMPyP zu den höchsten beobachteten DNA-Schäden, etwa 13 Läsionen pro 10 kb, was die Schlussfolgerung stützt, dass aBL-Behandlungen, in der Lage sind, DNA-Läsionen in Bakterienzellen zu induzieren

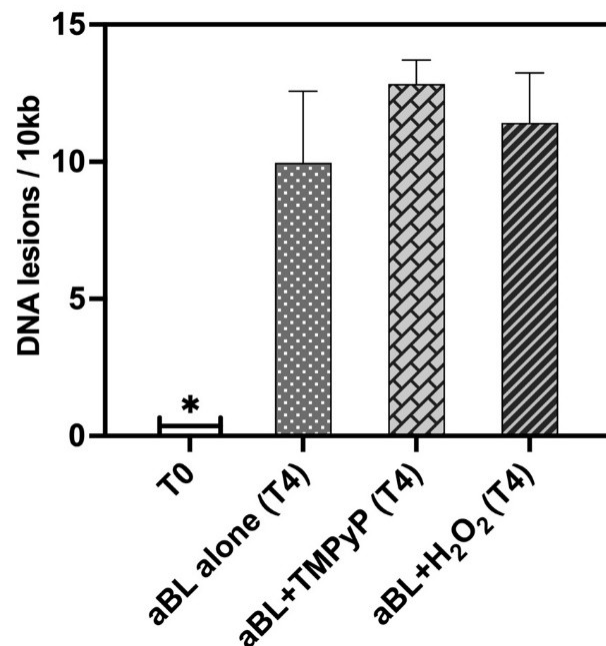
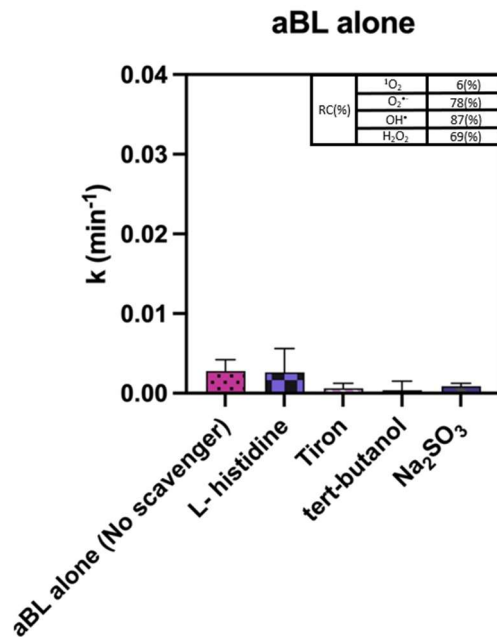


Abbildung 8: DNA-Läsionen pro 10 kb DNA in den genomischen DNA-Bakterienpopulationen nach alleiniger aBL-Bestrahlung oder in Kombination mit TMPyP oder H₂O₂. Die Säulen zeigen die Durchschnittswerte von n=2 Läsionsmessungen nach 4-stündiger aBL-Bestrahlung (entspricht einer effektiven Bestrahlungsdauer von 26 Minuten). Die aBL-Behandlungen wurden mit 420-nm-LED-Lampen durchgeführt. Die statistische Signifikanz ist durch Sternchen gekennzeichnet. T0 bezeichnet die unbehandelte Kontrollprobe, während T4 die Probe bezeichnet, die einer 4-stündigen aBL-Behandlung unterzogen wurde.

3.5 Zelluläre und transkriptionelle Mechanisms nach aBL Bestrahlung

Um die Rolle spezifischer ROS bei der Inaktivierung von Bakterien zu untersuchen, wurden vier Radikalfänger (tert-Butanol, Tiron, L-Histidin, Na₂SO₃) verwendet, um ROS-Spezies in Bakterien selektiv zu neutralisieren (d. h. OH[•], O₂^{•-}, ¹O₂ bzw. H₂O₂). Diese Methode erleichterte die Bewertung der Beteiligung von ROS in verschiedenen Behandlungsprotokollen. Zur Analyse der Abbaukinetik bakterieller Genziele unter verschiedenen aBL-Behandlungsbedingungen mit oder ohne Zugabe von ROS-Fängern wurde ein pseudo-erstordentliches kinetisches Modell angewendet. Das Modell verglich 16S-rRNA-Genäquivalente aus der Anfangskonzentration (C0) mit denen nach 240 Minuten (Ct). Die Ergebnisse zeigten, dass das Vorhandensein von TMPyP der wichtigste Faktor ist, der das Gleichgewicht zugunsten der ROS-Spezies ¹O₂ und H₂O₂ verschiebt, die für eine effiziente Inaktivierung von Bakterien relevant sind. Die berechneten relativen Beiträge (RC) jedes ROS in aBL + TMPyP waren wie folgt (siehe Abbildung 6): ¹O₂ (78 %) > H₂O₂ (68 %) > O₂^{•-} (17 %) > OH[•] (9 %) (Abbildung 9).

A)



B)

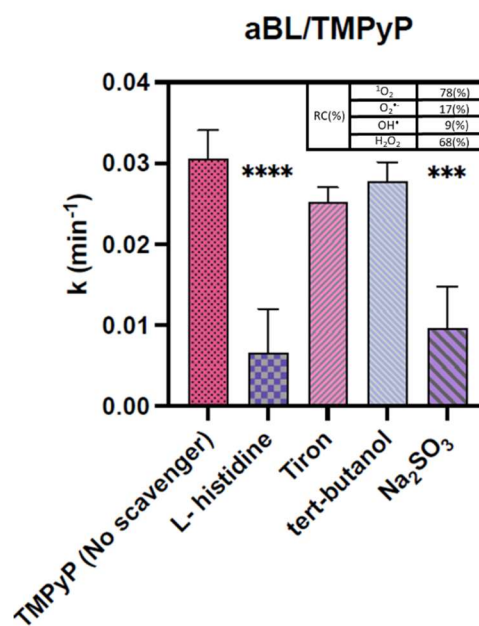


Abbildung 9: Vergleichende Analyse der Abbaukinetik (k/min) von Bakterienzellen unter (A) aBL allein und (B) aBL+TMPyP in Anwesenheit und Abwesenheit spezifischer ROS-Fänger. Jede Behandlung wurde mit vier Radikalfängern bewertet: L-Histidin (gegen $^1\text{O}_2$), Tiron ($\text{O}_2^{\cdot-}$), tert-Butanol (OH^{\cdot}) und Na_2SO_3 (H_2O_2). Die Balken stellen die mittleren Abbaukonstanten (k) \pm Standardabweichung ($n=3$) dar, und die statistische Signifikanz ist als $p \leq 0,0001$ (****), $p \leq 0,001$ (***) angegeben. Die Einsätze zeigen die berechneten relativen Beiträge (RC%) jedes ROS zur Inaktivierung der Bakterien für die jeweilige Behandlung.

Es wurde bestätigt, dass aBL-bezogene Behandlungen sowohl Bakterienzellen als auch genetisches Material wirksam schädigen. Dies wurde durch eine Transkriptomanalyse bestätigt, die eine Anpassung der Bakterien an ROS-induzierten Stress zeigte, gekennzeichnet durch die Hochregulation von Genen, die auf oxidativen Stress reagieren, wie *oxyR*, *sodA*, *recA* und *tolC*, sowie die Herunterregulation von *ompF*. Dieses Genexpressionsprofil deutet auf eine physiologische Verschiebung hin, die auf die Bewältigung von oxidativem Stress abzielt und möglicherweise die Membranpermeabilität verändert und die DNA-Reparaturmechanismen verbessert.

4 Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, innovative Methoden zur Eindämmung von ARB und ARGs zu entwickeln, insbesondere in AMR-Hotspots, in denen herkömmliche Verfahren nicht ausreichen. Zu diesem Zweck wurde aBL, verstärkt durch Photoverstärkern, evaluiert. Ein statischer aBL-Reaktor zeigte unterschiedliche Empfindlichkeiten der Bakterien, sodass diese in hochsensible, sensible und resistente Gruppen eingeteilt werden konnten. Die Zugabe des porphyrinbasierten Photoverstärkers TMPyP (10^{-6} M) verbesserte die Inaktivierung der Bakterien und Gene erheblich, insbesondere in Abwässern aus Schlachthöfen, was das Potenzial kombinierter Behandlungen unterstreicht.

Ein verbessertes aBL-System mit kontinuierlichem Durchfluss, das bei 405, 420 und 460 nm arbeitet, wurde hinsichtlich seiner Wirksamkeit gegen FPB und ARGs weiter untersucht. Die empfindlichsten FPBs waren Enterokokken, was auf eine größere Empfindlichkeit von Gram-positiven Bakterien gegenüber aBL im Vergleich zu Gram-negativen Bakterien hindeutet. Es wurden bis zu 4–5 \log_{10} -

Reduktionseinheiten bei mikrobiellen und genetischen Markern erreicht, wobei ARGs wie *ermB*, *tetM*, *sul1* und *blaVIM* einen deutlichen Rückgang zeigten. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Wirksamkeit von aBL sowohl vom Bakterientyp als auch von den spezifisch vorhandenen ARGs abhängt.

Die Analyse der zellulären Mechanismen bestätigte, dass ROS, insbesondere $^1\text{O}_2$ und H_2O_2 , die durch aBL in Kombination mit TMPyP erzeugt werden, für die taxonomische Inaktivierung und Genbeschädigung entscheidend sind. Die DNA-Schädigung wurde zusätzlich mit dem LORD-Q-Assay überprüft, was die Schlussfolgerung stützt, dass Behandlungen auf aBL-Basis sowohl Zellschäden als auch genetische Veränderungen hervorrufen. Die Transkriptomanalyse ergab oxidative Stressreaktionen, darunter eine Hochregulation von *oxyR*, *sodA*, *recA*, *tolC* und eine Herunterregulation von *ompF*, was auf eine physiologische Anpassung hindeutet. Insgesamt untermauert diese Forschung das Potenzial von verbessertem aBL als innovative dezentrale Behandlungsstrategie. Zukünftige Studien sollten sich auf die Langzeitüberwachung konzentrieren, um die ökologischen Auswirkungen und das Risiko eines erneuten Auftretens von Resistenzen (regrowth) im AMR-bezogenen Abwassermanagement zu bewerten.

Literatur

- Alexander, J., Knopp, G., Dötsch, A., Wieland, A., & Schwartz, T. (2016). Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts. *Science of the Total Environment*, 559, 103-11.
- Baptista, M. S., Cadet, J., Greer, A., & Thomas, A. H. (2021). Photosensitization reactions of biomolecules: definition, targets and mechanisms. *Photochemistry and Photobiology*, 97(6), 1456-1483.
- Bulit, F., Grad, I., Manoil, D., Simon, S., Wataha, J. C., Filieri, A., ... & Bouillaguet, S. (2014). Antimicrobial activity and cytotoxicity of 3 photosensitizers activated with blue light. *Journal of endodontics*, 40(3), 427-431.
- Cong, X., Krolla, P., Khan, U. Z., Savin, M., & Schwartz, T. (2023). Antibiotic resistances from slaughterhouse effluents and enhanced antimicrobial blue light technology for wastewater decontamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(50), 109315-109330.
- Cong X., Schwermer C.U., Krolla P., Schwartz T. (2025a) Inactivating facultative pathogen bacteria and antibiotic resistance genes in wastewater using blue light irradiation combined with a photosensitizer and hydrogen peroxide. *Science of the Total Environment* 974 179208
- Cong, X., Hillert, J., Krolla, P., & Schwartz, T. (2025b). Cellular insights into reactive oxidative species (ROS) and bacterial stress responses induced by antimicrobial blue light (aBL) for inactivating antibiotic resistant bacteria (ARB) in wastewater. *Science of The Total Environment*, 1005, 180878.
- Dąbrowski, J. M. (2017). Reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms of their generation and potentiation. In *Advances in inorganic chemistry* (Vol. 70, pp. 343-394). Academic Press.
- Ferro, G., Guarino, F., Cicatelli, A., & Rizzo, L. (2017). β -lactams resistance gene quantification in an antibiotic resistant *Escherichia coli* water suspension treated by advanced oxidation with UV/ H_2O_2 . *Journal of Hazardous Materials*, 323, 426-433.
- Feuerstein, O., Ginsburg, I., Dayan, E., Veler, D., & Weiss, E. I. (2005). Mechanism of visible light phototoxicity on *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *Photochemistry and Photobiology*, 81(5), 1186-1189.
- Han, J., Li, W., Yang, Y., Zhang, X., Bao, S., Zhang, X., ... & Leung, K. M. Y. (2024). UV-based advanced oxidation processes for antibiotic resistance control: Efficiency, influencing factors, and energy consumption. *Engineering*, 37, 27-39.

-
- Mandal, T. K. (2024). Nanomaterial-Enhanced Hybrid Disinfection: A Solution to Combat Multidrug-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes in Wastewater. *Nanomaterials*, 14(22), 1847.
- Martín-Sómer, M., Pablos, C., Adán, C., van Grieken, R., & Marugán, J. (2023). A review on LED technology in water photodisinfection. *Science of the Total Environment*, 885, 163963.
- Qi, W., Jonker, M. J., de Leeuw, W., Brul, S., & Ter Kuile, B. H. (2023). Reactive oxygen species accelerate de novo acquisition of antibiotic resistance in *E. coli*. *Isience*, 26(12).
- Taylor, J. C., Gu Liu, C., Chang, J. D., Thompson, B. E., & Maresso, A. W. (2024). Gene discovery from microbial gene libraries I: protection against reactive oxygen species-driven DNA damage. *Microbiology Spectrum*, 12(11), e00365-24.
- Wang, J., & Chen, X. (2022). Removal of antibiotic resistance genes (ARGs) in various wastewater treatment processes: An overview. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(4), 571-630.
- Wang, Y., Ferrer-Espada, R., Baglo, Y., Gu, Y., & Dai, T. (2019). Antimicrobial blue light inactivation of *Neisseria gonorrhoeae*: roles of wavelength, endogenous photosensitizer, oxygen, and reactive oxygen species. *Lasers in surgery and medicine*, 51(9), 815-823.

Publikationen in ISI-referrierten Fachzeitschriften,

- Cong, X., Krolla, P., Khan, U. Z., Savin, M., & Schwartz, T. (2023).** Antibiotic resistances from slaughterhouse effluents and enhanced antimicrobial blue light technology for wastewater decontamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(50), 109315-109330.
- Cong X., Schwermer C.U., Krolla P., Schwartz T. (2025a)** Inactivating facultative pathogen bacteria and antibiotic resistance genes in wastewater using blue light irradiation combined with a photosensitizer and hydrogen peroxide. *Science of the Total Environment* 974 179208
- Cong, X., Hillert, J., Krolla, P., & Schwartz, T. (2025b).** Cellular insights into reactive oxidative species (ROS) and bacterial stress responses induced by antimicrobial blue light (aBL) for inactivating antibiotic resistant bacteria (ARB) in wastewater. *Science of The Total Environment*, 1005, 180878.

Vorträge bei Konferenzen und Workshops

Im November 2024 hat Herr Prof. Dr. Thomas Schwartz das Projekt HOTMATS bei einem **JPI AMR Young Carriere Workshop in Berlin** vorgestellt und neben Ergebnisse zur aBL-Inaktivierung, auf Probleme und Schwierigkeiten bei der Durchführung des HOTMATS Projekts hingewiesen. Diese zeigten sich bei der Zollabfertigung der aBL Anlage mit unvorhergesehenen Zollgebühren von 6.000 €, Verzögerungen bei Probenversand bzw. Probenverlust etc.

Vortragspräsentation durch die Projektbearbeiterin am KIT, Frau Xiaoyu Cong erfolgte im September 2024 bei der **SETAC Konferenz** in Giesen und sollte auch auf der **EDAR7 in Kanada** erfolgen. Leider wurde Frau Cong als Chinesin kein Visum für die Einreise in Kanada erstellt, so dass der bereits angenommene Vortrag abgesagt werden musste.

Eine weitere Präsentation zu dem Thema aBL Behandlung von Abwässern zur Reduktion/Elimination von fakultativ pathogenen Bakterien und Antibiotikaresistenzen wurde auf der **Spurenstoffe und Krankheitserreger (SUK) Konferenz 2023** in Frankfurt/Main durch Prof. Dr. Thomas Schwartz vorgestellt.

Anlässlich der **Wasser 2025 Konferent der GdCh 2025** hat Prof. Dr. Thomas Schwartz das HOTMATS Vorhaben zur aBL Desinfektion in Münster vorgestellt.