



**GV-SOLAS**

Gesellschaft für Versuchstierkunde  
Society for Laboratory Animal Science

# **Fachinformation**

**aus dem Ausschuss für Ernährung der  
Versuchstiere**

## **Hygienische Behandlungsverfahren für Futtermittel**

**Dampfsterilisation von Futter im Autoklaven**

**Stand Juni 2021**

**verfasst von:**

**Heike Wagner, Ina Hagelschuer**

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung .....	3
2.	Verfahrensschritte und Einflussfaktoren .....	3
2.1	Verfahrensschritte .....	3
2.2	Einflussfaktoren.....	6
3.	Einfluss der Dampfsterilisation auf die Futterqualität .....	9
3.1	Beeinflussung der physikalischen Eigenschaften .....	9
3.2	Beeinflussung der Futterinhaltsstoffe.....	10
3.3	Einfluss auf bakterielle Endotoxine .....	11
4.	Schlussfolgerung.....	11
5.	Literatur.....	15

## 1. Einleitung

Bei den Versuchstierfuttermitteln liegt der Schwerpunkt neben der bedarfsgerechten Ernährung auf Standardisierung, Reproduzierbarkeit und Minimierung unerwünschter Einflussfaktoren auf den Versuch. Hierzu gehört unter anderem die Einschleppung unerwünschter Keime in die Versuchstierhaltung.

Der ursprüngliche Keimgehalt des Futters wird im Laufe des Herstellungsprozesses, in Abhängigkeit vom Verfahren, durch Hitzeeinwirkung reduziert. Dieser Effekt ist beim Extrudieren, Reduktion um  $10^{-5}$  bis  $10^{-7}$  Keime, auf Grund höherer Temperaturen und eines höheren Drucks deutlich stärker als beim Pelletieren, Reduktion um  $10^{-2}$  bis  $10^{-3}$  Keime. Damit ist die Keimbelastung des fertigen Futters im Wesentlichen abhängig von der Ausgangs-keimbelastung der einzelnen Rohstoffe, und dem Schutz vor Rekontamination durch entsprechende Maßnahmen (Trocknung, Kühlung, Verpackung).

Keimarme oder zur Bestrahlung vorgesehene Futtermittel werden meistens in verschweißten Kunststoffsäcken abgepackt. Hierdurch wird eine erneute Verkeimung des Futters während Transport und Lagerung vermieden. Nach Desinfektion der Kunststoffverpackung können die Futtermittel sauber in die Tierhaltung eingebracht werden. Sauber heißt hier mit dem Keimgehalt, mit dem Sie die Herstellerfabrik verlassen haben. Zum Autoklavieren vorgesehene Futtermittel werden in perforierten Papiersäcken geliefert, damit der Dampf das Futter erreichen kann. Ziel des Autoklavierens ist die Anzahl der Keime auf null zu reduzieren.

Viele Tierhaltungseinrichtungen verfügen über Autoklaven, so dass die grundlegenden Voraussetzungen für die Dampfsterilisation von Futtermitteln gegeben sind und daher auch genutzt wird. Nachfolgend werden Verfahrensschritte und Einflussfaktoren für eine erfolgreiche Dampfsterilisation von Futtermitteln dargestellt. Sie sollen als Hilfestellung bei der Etablierung und Überwachung des Autoklaviervorganges vor Ort dienen.

## 2. Verfahrensschritte und Einflussfaktoren

Die in diesem Abschnitt verwendeten Begriffe und ihre Definitionen wurden aus Gründen einer einheitlichen Terminologie im Wesentlichen den einschlägigen DIN-Vorschriften für die Dampfsterilisation entnommen (Liste im Anhang).

### 2.1 Verfahrensschritte

Der zeitliche Ablauf des Sterilisationsverfahrens im Autoklaven lässt sich in folgende Verfahrensschritte einteilen (Abb.1).

#### Anheizzeit

Die Zeitspanne, die vom Beginn der Wärmezufuhr bis zum Erreichen der erforderlichen Sterilisier-temperatur (z.B.  $121^{\circ}\text{C}$ ) in der Autoklavenkammer benötigt wird. Sie setzt sich zusammen aus der Entlüftungs- und Steigezeit:

- Entlüftungszeit: Die Zeitspanne, während der die Luft aus der Autoklavenkammer abgesaugt und/oder verdrängt wird. Bei der Futtersterilisation werden mehrere

Vorvakua zur Entlüftung der Kammer und des Sterilisiergutes durchgeführt (fraktioniertes Vorvakuumverfahren).

- Steigezeit: Die Zeitspanne vom Ende der Entlüftungszeit bis zum Erreichen der Sterilisiertemperatur in der Autoklavenkammer.

### **Sterilisierzeit**

Die Sterilisierzeit setzt sich zusammen aus der Ausgleichs- und der Einwirkzeit.

- Ausgleichszeit: Die Zeitspanne, die erforderlich ist, vom Erreichen der Sterilisiertemperatur in der Autoklavenkammer (außerhalb des Sterilisiergutes) bis zum Erreichen der Sterilisiertemperatur an allen Stellen des zu sterilisierenden Gutes.
- Einwirkzeit: Dauer des Einwirkens der Sterilisiertemperatur an allen Stellen des Gutes (z. B. 121°C, 20 min. oder 134°C, 5 min.). Sie setzt sich wiederum aus der Abtötungszeit und dem Sicherheitszuschlag zusammen.
  - Abtötungszeit: Die Zeitspanne, die bei Anliegen der Sterilisiertemperatur zur Abtötung einer Population von Mikroorganismen einer bestimmten Resistenz erforderlich ist.
  - Sicherheitszuschlag: Die Zeitspanne, die der unterschiedlichen Kontamination und der unterschiedlichen Ausgleichszeit des Sterilisiergutes Rechnung tragen soll.

### **Druckentlastungszeit**

Die Zeitspanne, in der die Druckdifferenz zwischen dem Überdruck in der Autoklavenkammer und dem örtlichen Atmosphärendruck nach dem Sterilisieren ausgeglichen wird.

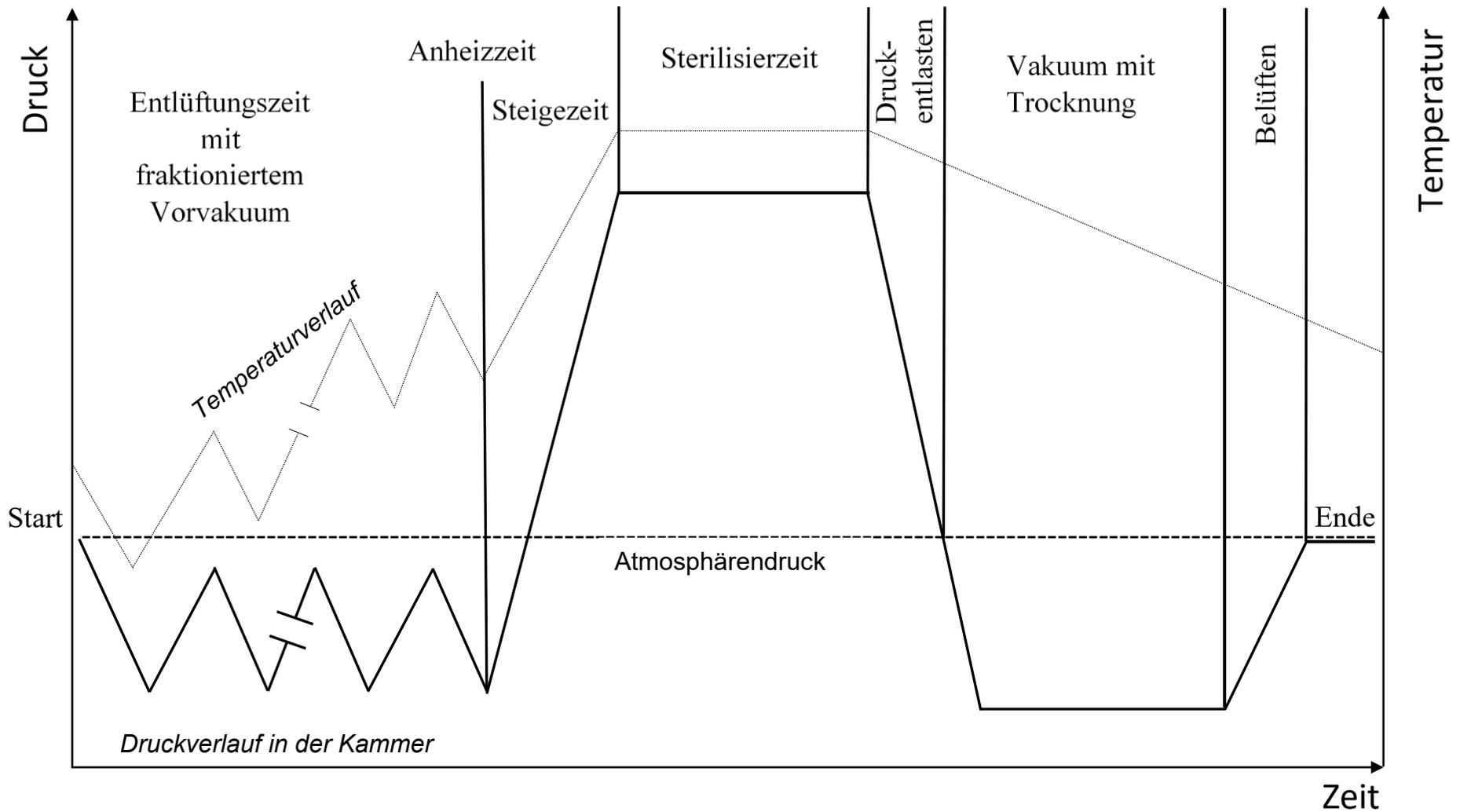
### **Trocknungszeit**

Die Zeitspanne, die zur Trocknung des Sterilisiergutes benötigt wird. Zur Entfernung der Feuchtigkeit wird bei der Futtersterilisation in dieser Phase ein Nachvakuum angelegt.

### **Belüftungszeit**

Die Zeitspanne, in der die Druckdifferenz zwischen dem Unterdruck in der Autoklavenkammer und dem örtlichen Atmosphärendruck nach dem Trocknen ausgeglichen wird.

**Abbildung 1:** Schematisch dargestellter Sterilisationszyklus eines Autoklavenprogramms mit fraktioniertem Vorvakuum und Vakuum mit Trocknung  
(modifiziert nach DIN EN 285)



## 2.2 Einflussfaktoren

Eine optimale Umsetzung der einzelnen Verfahrensschritte entscheidet darüber, ob tatsächlich eine Sterilisation (Abtötung aller vorhandenen lebenden und vermehrungsfähigen Mikroorganismen, einschließlich ihrer resistenten Dauerformen) oder nur eine Verminderung der Ausgangskeimzahl stattfindet.

Sowohl die haustechnischen Anlagen, die Autoklaven selbst und das Sterilisiergut haben einen Einfluss auf die Gestaltung der einzelnen Verfahrensschritte (GV-SOLAS 1988, Merkenschlager et al. 1975, Brandstetter 1997, Ruprecht 1997, Klausdeinken 1997, Scheer 1997, Hiller 1997, Madry 1997, Mossmann 1998, Huber 1988, Märki et al. 1989).

### 2.2.1 Faktoren, die vom Sterilisiergut abhängen

- Temperaturresistenz der Keime  
Die auf und im Futter vorhandenen Keimarten können von Charge zu Charge variieren, daher sollte bei der Erstellung des Programms von Keimen ausgegangen werden die schwer zu sterilisieren sind. Das wären Sporenbilder wie z.B.: *Bacillus stearothermophilus*.
- Anzahl vorhandener Keime  
Im Futter sind aerobe Keime zu erwarten. Es muss von einer aeroben Gesamtkeimzahl von bis zu  $1 \times 10^5$  Keimen pro g Futter ausgegangen werden.
- Luftgehalt im Sterilisiergut  
Je höher der Luftgehalt und je kleinporiger (poröser) das zu sterilisierende Gut (z. B. Futter) ist, desto aufwendiger und entscheidender ist dessen Entlüftung (siehe weiter unter Punkt 2.2.2) für das Erreichen des Sterilisationsergebnisses. Bei unverändertem Herstellungsverfahren und gleicher Futterrezeptur treten keine Schwankungen zwischen verschiedenen Chargen auf, die einen Einfluss auf das Sterilisationsergebnis haben dürften.
- Wird Futter im Sack autoklaviert, dann ist die Verwendung genadelter, reißfester Papiersäcke erforderlich. Die Papiersäcke sollten aus 2-3 Lagen Papier bestehen. Locker gefüllte Papiersäcke führen beim Auflegen auf einen Autoklavierwagen zu geringeren Schichtdicken und damit zu einer Reduzierung des Verklebungsgrads zwischen den Pellets, aber auch zu einer besseren Entlüftung und einer Verkürzung der Ausgleichszeit. In der Regel werden daher die Papiersäcke nur mit einem Befüllungsgrad von 70-80% des nicht-autoklavierbaren Futters befüllt.
- Futter kann auch lose autoklaviert werden. Hierfür muss es gleichmäßig auf Lochblechen oder Rosten verteilt werden. Die Schichtung darf nur so hoch sein das der Dampf an allen Stellen das Futter gleichmäßig erreicht. Kann sich der Dampf nicht gleichmäßig verteilen, so können teile des Futters nicht die gewünschte Sterilität erreichen.

### 2.2.2 Faktoren, die vom Autoklaven abhängen

- Größe der Autoklavenkammer und Ihre Beladung  
Die maximale Beladung, hängt von der Kammergröße und vor allem von der Leistung des Autoklaven ab. In jedem Fall müssen für jedes Sterilisiergut eine standardisierte Füllmenge

und Beladekonfiguration festgelegt werden. Die Futtersäcke dürfen nicht direkt übereinandergelegt werden, sondern einzeln auf Gitterrosten autoklaviert. Eine zweite Variante ist die offene Behandlung von Futter (ohne Sack) direkt auf Lochblechen mit geringer Schichtdicke ( $\leq 5$  cm).

- Steuerung der Sterilisiertemperatur - Referenzmessstelle

Die Steuerung der Sterilisiertemperatur ist über Thermofühler im Sterilisiergut selbst vorzunehmen oder an einem anderen Messpunkt, der der Stelle im Sterilisiergut entspricht, die den niedrigsten Temperaturwert aufweist bzw. eine nachweislich bekannte Beziehung zu diesem Wert hat (Referenzmessstelle). Diese Stelle ist durch Tests bei der erstmaligen Inbetriebnahme bzw. Validierung des Autoklaven experimentell zu ermitteln.

- Vorwärmen

Der Autoklavenkammermantel muss vor der Beladung mit Futter auf die erforderliche Betriebstemperatur vorgewärmt werden, um die Dauer bis zum Erreichen der Sterilisiertemperatur und damit die Gesamttemperaturbelastung des Futters nicht unnötig zu verlängern. In einem Einzelfall wird auch darüber berichtet, dass ein Vorwärmen des Futters in der Autoklavenkammer auf bis zu 85°C über mehrere Stunden zu einer weiteren Verkürzung der Gesamtprogrammdauer und einer positiven Beeinflussung der Konsistenz der Pellets führt (Märki et al. 1988). Hierbei gilt zu berücksichtigen, dass sich unter Umständen eine längere Temperaturbelastung des Futters auch nachteilig auf die Inhaltsstoffe auswirken könnte.

- Entlüftung

Die Entfernung der Luft aus der Autoklavenkammer und dem Sterilisiergut vor dem eigentlichen Sterilisationsprozess. Nur wenn die Luft vollständig aus dem Sterilisiergut entfernt wurde, ist eine ausreichende Dampfdurchdringung und damit eine Sterilisation möglich. Da es sich bei Futter um ein (sehr) poröses Sterilisiergut handelt, wird zur Entlüftung ein fraktioniertes Vorvakuumverfahren (FRVV) durchgeführt. Hierbei wird mehrfach wiederholt evakuiert, und zwar im Wechsel mit Einströmen von Dampf („Durchdämpfen“) auf einen Druck, der bei Futter noch unter Atmosphärendruck liegt. Wichtig ist die Anzahl und Tiefe der Vorvakua. Die Vorvakua sollten zunächst langsam aufgebaut werden, um ein großflächiges „Verbacken“ der Pellets miteinander zu verhindern. Mit zunehmendem Vakuum ist dann eine Steigerung allerdings sinnvoll, um den Autoklaviervorgang zu verkürzen. Wie in Tabelle 1 und 2 ersichtlich, variiert die Zahl der Vorvakua je nach Programm und Gerätetyp zwischen 2 und 5. Entscheidend für die Anzahl der Vorvakua ist der Verdünnungsgrad der Restluft, welcher durch das Verfahren (Tiefe der Vakua, Höhe des Drucks bei Dampfeinströmung) und die Technik (z.B. Leistung der Vakuumpumpe) kalkuliert wird.

- Sterilisiertemperatur

Die Temperatur, die während der Einwirkzeit im Sterilisiergut an allen Stellen gegeben sein muss. (Nähere Angaben über verwendete Einstellungen in Tabelle 1 und 2).

- Einwirkzeit

Ist die Dauer des Einwirkens der Sterilisiertemperatur an allen Stellen im Sterilisiergut. (Nähere Angaben über verwendete Einstellungen in Tabelle 1 und 2).

- Vakuum mit Trocknung (VMT)  
Die Kammer wird unter gleichzeitiger Wärmezuführung evakuiert. Dieser Verfahrensschritt dient der Entfernung (Verdampfung) der beim Sterilisationsvorgang eingebrachten Feuchtigkeit (Kondensat). Der Wassergehalt des Futters soll durch das Autoklavieren nicht verändert werden (gleiches Gewicht der Säcke vor und nach dem Autoklavieren!).
- Belüftung der Autoklavenkammer  
Der Ausgleich der Druckdifferenz zwischen dem Unterdruck in der Autoklavenkammer und dem örtlichen Atmosphärendruck nach der Trocknung erfolgt mit steril filtrierter Luft.

### 2.2.3 Faktoren, die von den haustechnischen Anlagen abhängen

- Dampfmenge  
Die hauseigene Dampfversorgung muss die für einen störungsfreien Ablauf des Sterilisationsprozesses im Autoklaven erforderliche Dampfmenge zur Verfügung stellen können, diese ist in den Herstellerangaben zu finden. Dabei sind auch weitere Verbraucher (mehrere Autoklaven, Käfigreinigungsanlagen etc.) mit dem entsprechenden Gleichzeitigkeitsfaktor, also der gleichzeitigen Nutzung, zu berücksichtigen.
- Dampfdruck  
Der Dampfdruck muss nicht nur den vom Hersteller geforderten Nenndruck erreichen, sondern auch eventuelle Dampfdruckschwankungen dürfen an der Anschlussstelle des Autoklaven +/- 10 % des Nenndruckes nicht übersteigen.
- Dampfqualität (Reinheitsgrad, nicht kondensierbare Gase)  
Der eingesetzte Reindampf gemäß DIN EN 285 darf keine Verunreinigungen (Verdampfungsrückstände, Salze), die den Sterilisationsprozess beeinträchtigen oder das zu sterilisierende Gut schädigen, enthalten. Der Anteil an nicht kondensierbaren Gasen (Luft, andere Gase) darf 3,5 % (V/V) nicht übersteigen, da diese Gase keinen sterilisierenden Effekt haben. Für die Sterilisation von Futter ist Sterilisierdampf erforderlich. Dieser wird in der Regel aus Heizdampf (zur allgemeinen Wärmeversorgung im Dampferzeuger bereitet) erzeugt, der mittels eines Dampffilters (mechanische Filterung  $\leq 10 \mu\text{m}$ ) unmittelbar vor dem Autoklaven gereinigt wird.  
Weiterhin ist zu beachten, dass kein Zusatz korrosionsverhütender Chemikalien (bei Schwarzdampf z.B. Trinatriumphosphat) zum Speisewasser des Kessels erfolgen darf, da Begleitstoffe im Wasserdampf auf das Futter übergehen und zu toxischen Belastungen der Tiere führen können.
- Feuchtigkeit des Dampfes (Sattdampf, überhitzter Dampf, Nassdampf)  
Für die Dampfsterilisation steht im Idealfall Sattdampf zur Verfügung. In der Praxis können Abweichungen zum überhitzten Dampf (zu „trocken“) oder zum Nassdampf (zu „feucht“) auftreten. Die zulässige Schwankungsbreite für die Feuchtigkeit von Heiz- und Sterilisierdampf ist in den einschlägigen DIN-Vorschriften geregelt. Zu berücksichtigen gilt hier vor allem, dass sich, in Abhängigkeit vom Abstand des Autoklaven zur letzten Reduziereinrichtung sowie zum letzten Kondensatableiter und in Abhängigkeit von der Isolierung, der Länge und der Führung der Dampfleitungen („Wassersack“-Bildung), Kondensat in der Dampfleitung sammeln kann, das mit dem Dampf mitgerissen wird

(Gefahr von „Wasserschlägen“) und zu einem zusätzlichen Feuchtigkeitseintrag in die Autoklavenkammer führt. Die Folge ist eine stärkere Verklebung der Pellets. Die größere Wassermenge muss während der Trocknungsphase auch wieder entfernt werden.

#### *2.2.4 Die Bezeichnung der verschiedenen Dampfqualitäten nach Ihrem Wassergehalt (Huber 2009)*

Sattdampf - „Trockener“, gesättigter Dampf. Dampf der in vollständig verdampfter Form, also ohne Flüssigkeitsanteile vorliegt, ist Sattdampf.

Überhitzter Dampf - Dampf, dessen Temperatur bei dem jeweils vorhandenen Druck höher ist, als es der Verdampfungskurve für Wasser entspricht. Überhitzter Dampf ist nicht gesättigt und damit „trockener“ als Sattdampf. Eine Kondensation tritt erst nach Abkühlung oder Feuchtigkeitsaufnahme ein. Da aber die keimabtötende Wirkung von Dampf gerade auf der Eigenschaft zur Kondensation und der dabei abgegebenen Wärmeenergie beruht, ist er für die Sterilisation nicht geeignet.

Nassdampf - Dampf, der gerade seinen Sättigungspunkt unterschritten hat und zu kondensieren beginnt. Das so entstehende Kondensat kann wiederum zu einem Feuchtigkeitseintrag in das zu sterilisierende Gut führen.

### **3. Einfluss der Dampfsterilisation auf die Futterqualität**

#### **3.1 Beeinflussung der physikalischen Eigenschaften**

Allgemeingültige quantitative Aussagen über den Grad der Verklebungen oder die Zunahme der Pellethärte sind nur tendenziell möglich, da diese sehr stark von der Futterzusammensetzung (Art und Anteil der verwendeten Rohstoffkomponenten) und den individuellen technischen Voraussetzungen (Autoklav, haustechnische Anlagen) abhängen.

##### *3.1.1 Verklebungsgrad der Pellets*

Durch die Behandlung mit Wasserdampf quellen die Pellets auf und verkleben zum Teil miteinander.

Die Oberfläche wird rau und rissig. Ein großflächiges Verbacken der Pellets miteinander kann durch Bestäuben der Pellets mit einem Silikatpuder beim Absacken weitestgehend vermieden werden. Restverklebungen können durch kräftiges Aufstoßen des Sacks unmittelbar nach dem Autoklavieren so weit aufgebrochen werden, dass bei einer Futterdarreichung über eine Futterraufe, wie bei Mäusen und Ratten häufig durchgeführt, keine Probleme bestehen. Für automatische Fütterungssysteme ist das Futter nicht oder nur bedingt geeignet (Merkenschlager et al. 1975, Brandstetter 1997, Ruprecht 1997, Klausdeinken 1997, Hiller 1974).

### 3.1.2 Pellethärte

Die Pellethärte wird durch die Dampfbehandlung erhöht. Gemessen in  $\text{kp/cm}^3$  nach Kahl beträgt die durchschnittliche Zunahme zwischen 6 und 11  $\text{kp/cm}^3$  (Klausdeinken 1997, Ford 1971, Knappen et al. 1971). Im Allgemeinen werden Pellethärten von bis zu ca. 24  $\text{kp/cm}^3$  nach Kahl toleriert. Es gilt aber zu berücksichtigen, dass einzelne Tierstämme oder frisch abgesetzte Tiere bereits mit Pellethärten von 20  $\text{kp/cm}^3$  nach Kahl Probleme bei der Futteraufnahme haben können. In diesem Fall sollte ein Futter mit einer geringeren Ausgangshärte der Pellets eingesetzt werden. Die Abriebverluste sinken mit zunehmender Pellethärte (Merkenschlager et al. 1975, Klausdeinken 1997, Hiller 1974).

### 3.2 Beeinflussung der Futterinhaltsstoffe

Futterinhaltsstoffe können durch die Dampfsterilisation nachteilig beeinflusst werden. Von Bedeutung sind hierbei vor allem Vitamine und Aminosäuren (Maillard-Reaktion; Merckenschlager et al. 1975, Brandstetter 1997, Klausdeinken 1997, Hiller 1997, Tobin et al. 2007, Udes et al. 1971, 1973, Udes 1974, Isler 1998). Besonders empfindlich gegenüber Hitze sind die Vitamine B1, A und B6.

Die Verluste liegen für Vitamin B1 im Bereich von 60 - 76 %, für Vitamin A bei 23 - 45 % und für Vitamin B6 bei bis zu 16 % (Brandstetter 1997, Klausdeinken 1997, Udes 1973, Isler 1998). Bei Futtermitteln für Meerschweinchen ist zu berücksichtigen, dass die Verluste für Vitamin C bei über 90 % liegen können (Märki et al. 1989). Bei den

Aminosäuren sind vor allem Lysin, Methionin, Cystin, Arginin und Histidin betroffen. Die Verluste variieren stark, wie in unterschiedlichen Publikationen beschrieben (Batterham et al. 1986, Merckenschlager et al. 1975, Brandstetter 1997, Klausdeinken 1997, Coelho M. Symposium 2002, Ford 1976, Waldemar et al. 2005). Die sehr schwankenden Angaben zu den Verlusten an Vitaminen und Aminosäuren zeigen, dass Unterschiede in der Autoklaventechnik, den haustechnischen Anlagen und auch in der Futterzusammensetzung eine wesentliche Rolle spielen. Auch der Zeitraum den das Futter der Hitze ausgesetzt ist, ist von essentieller Bedeutung. Es wird aber auch deutlich, dass bei einer exakten Abstimmung der Autoklaventechnik an die vorhandenen Rahmenbedingungen (verwendetes Futter, haustechnische Anlagen) gute Ergebnisse (nur geringe Verluste) erreicht werden können. Auftretende Verluste an Nährstoffen können über eine Auswahl von Rohstoffen mit entsprechend hohen Gehalten an den genannten Vitaminen und Aminosäuren oder durch gezielten Zusatz der Einzelsubstanzen („*fortified*“) ausgeglichen werden. Bei einem gezielten Zusatz von Einzelsubstanzen ist zu bedenken, dass, wie im Falle von Lysin und Methionin belegt (Klausdeinken 1997), diese empfindlicher auf die Erhitzung reagieren können als die in den Rohstoffen enthaltenen entsprechenden Komponenten. Innerhalb der Gruppe der Kohlenhydrate neigen Saccharose, Glukose, Fruktose und Laktose bei Hitzebehandlung zur Karamelisierung (Udes 1974). Bei der Rohstoffauswahl sollte deshalb auf einen niedrigen Gehalt dieser Zucker geachtet werden. Bei Fetten ist mit einer Oxidation vor allem mehrfach ungesättigter Fettsäuren zu rechnen (Merckenschlager et al. 1975). Auch dies ist bei der Rohstoffauswahl zu berücksichtigen. Nachteilige Auswirkungen durch veränderte Kohlenhydrate und Fette sind bei einer entsprechenden Rohstoffauswahl und guten Qualität der Rohstoffe nicht zu erwarten.

### 3.3 Einfluss auf bakterielle Endotoxine

Die Dampfsterilisation führt, wie auch die Bestrahlung, zu einer Abtötung, nicht aber Entfernung der Mikroorganismen. Daher kann die DNA auch nach einer erfolgreichen Bestrahlung oder Dampfsterilisation bei einer PCR Analyse nachgewiesen werden. Dies ist bei der Interpretation von Untersuchungen mittels PCR zu berücksichtigen.

Ebenso wie die DNA sind bakterielle Endotoxine weiterhin vorhanden und nicht zwingend durch die Hitzeeinwirkung während des Autoklavierens inaktiviert. Untersuchungen zeigen, dass bakterielle Endotoxine abgetöteter Gram-negativer Bakterien in sterilisiertem (sowohl autoklaviert als auch bestrahlt) Futter massive immunologische Reaktionen bei keimfrei gehaltenen Ratten und in geringerem Maße bei keimfrei gehaltenen Mäusen auslösen. Daraus folgt, dass bakterielle Endotoxine beim Autoklavieren von pelletiertem Mischfutter nicht zerstört werden, sondern biologisch wirksam bleiben. Der Kontaminationsgrad von Futter bzw. seiner Bestandteile mit Gram-negativen Bakterien vor dem Autoklavieren ist entscheidend für den Gehalt an bakteriellen Endotoxinen nach der Sterilisation. Diese Effekte sind bei spezifischen Fragestellungen zu berücksichtigen (Enss & Hedrich 1997).

## 4. Schlussfolgerung

Für eine erfolgreiche Dampfsterilisation von Futter ist die genaue Abstimmung des Autoklavierprogramms auf das jeweilige Gerät und die haustechnischen Anlagen entscheidend. Um möglichst kurze Programmzeiten und damit eine möglichst geringe Gesamttemperatur-belastung des Futters zu erzielen, sind die technischen Möglichkeiten des Autoklaven selbst (Anheizzeit, Effizienz der Entlüftung, Ausgleichszeit in Abhängigkeit von der Kammergröße etc.) sowie die Versorgung des Autoklaven mit den erforderlichen Medien durch die Haustechnik von besonderer Bedeutung. Hierbei spielen vor allem die zur Verfügung stehende Dampfmenge, der Dampfdruck, die Dampfqualität und die Feuchtigkeit des Dampfes eine große Rolle.

**Generell gilt: Jedes Gerät muss für die konkrete Anwendung individuell eingestellt werden und eine Erfolgskontrolle der Sterilisation durchgeführt** (Merkenschlager et al. 1975, Brandstetter 1997, Ruprecht 1997, Klausdeinken 1997, Scheer 1997, Mossmann 1998, Märki et al. 1998, Hedrich 1998).

In Abhängigkeit von Autoklaventechnik und Verfügbarkeit entsprechender Dampfmen gen kann das angestrebte Ziel mit verschiedenen Sterilisiertemperaturen und darauf abgestimmten Einwirkzeiten erreicht werden. Dies verdeutlichen die in Tabelle 1 und 2 aufgeführten Beispiele von unterschiedlichen Programmen, die 1998 und heute verwendet werden. In den unterschiedlichen technischen Gegebenheiten vor Ort dürfte vielfach der Grund liegen, warum das Thema: „Autoklavieren von Futtermitteln“, nach wie vor aktuell ist und vielleicht immer bleiben wird.

Daher ist vor der Etablierung des Einsatzes von autoklaviertem Futter zu empfehlen (Merkenschlager et al. 1975, Brandstetter 1997, Ruprecht 1997, Klausdeinken 1997, Scheer 1997):

1. Prüfung der Leistungsfähigkeit von anzuschaffenden bzw. eventuell vorhandenen Dampfsterilisatoren und haustechnischen Anlagen (Dampferzeugung).
2. Anpassung des Sterilisationsprogramms an die festgelegten bzw. vorgegebenen Rahmenbedingungen (Autoklaventyp, haustechnische Anlagen, eingesetztes Futter).
3. Durchführung von Testläufen mit Beurteilung der physikalischen Eigenschaften des Futters (Verklebungsgrad der Pellets, Härte der Pellets) und von Sterilitätstests und/oder einer Validierung.
4. Bestimmung einzelner temperaturempfindlicher Vitamine (z. B.: Vitamin B1, A und/oder B6) und Aminosäuren (z. B.: Lysin, Methionin, Cystin, Arginin und/oder Histidin) vor und nach dem Autoklavieren.
5. Abschließend kann bei Bedarf anhand von Fütterungstests mit jeweils für die Tierhaltung typischen Tierstämmen das komplette, standardisierte Behandlungsverfahren überprüft werden.

Tabelle 1: Beispiele für 1998 in verschiedenen Tierhaltungen eingesetzte Programme für die Dampfsterilisation von Futter (kein Anspruch auf Vollständigkeit) (GV-SOLAS 1.Auflage Dampfsterilisation von Futter im Autoklaven 1998)

Sterilisier- temp. (°C)	Einwirk- zeit (min.)	Vorwärmen des Futters im Autoklaven	Zahl der Vorvakua	Vakuum mit Trocknung (min.)	Gesamt- dauer ohne Vor- wärmen (min.)	Verpackungsart für das Autoklavieren	Chargen- menge (kg) Füllmenge pro Sack (kg)	Besondere Maßnahmen nach dem Autoklavieren	Grad der Ver- klebung	Verwendungszweck/ Sterilitätstest	Bezug
134	10	nein	4	nur kurzes Nach- vakuum	60	genadelter Papiersack in 2 Etagen auf Gitterrosten	120 kg 6 x 20 kg	kräftiges Aufschütteln sofort nach der Entnahme aus dem Autoklaven	gering	SPF Bioindikator Bacillus stearothermophilus	Ruprecht L.1997
121	20	nein	4	5	80	genadelter Papiersack in 2 Etagen auf Gitterrosten	150 kg 6 x 25 kg	kräftiges Aufschütteln sofort nach der Entnahme aus dem Autoklaven	gering	SPF Bioindikator Bacillus stearothermophilus	Brandstetter H.1997
120	10	ca. 30 min	2	5	50	genadelter Papiersack in 2 Etagen auf Lochblechen bzw. Rundrohrgittern	225 kg 15 x 15 kg oder 120 kg 8 x 15 kg	umschütten in Drahtkörbe	gering	SPF Bioindikator Bacillus stearothermophilus	Mossmann H. 1998
120	10	nein	3	10	51	im Drahtkorb und Beschickungszy- linder	5 kg	keine	gering	Isolator Bioindikator Bacillus stearothermophilus	Mossmann H.1998
130	6	ca. 12 St. bei 85°C	3	10	61	offen in Regalen auf gelochten Edelstahlschalen Schichthöhe 10 cm	750 kg 3 Regale mit je 250 kg	umschütten in Edelstahlbehälter aus Lochblech	keine bis wenige Verkleb- ungen	SPF Bioindikator Bacillus stearothermophilus	Märki U.1998; Hiller HH.1974
134	10	nein	3	ja	40-45	offen auf gelochten Edelstahlschalen (30 x 50 cm) Schichthöhe 5 cm ~2-3 kg je Schale	~90 kg Gestell mit 2 x 18 Schalen (Abstand ca. 5cm) a 2-3 kg	Die Schalen werden warm entleert; verklumpte Pellets werden durch Schlagen vereinzelte	gering	SPF Bioindikator Bacillus stearothermophilus	Hedrich HJ.1998

Tabelle 2: Beispiele für aktuell in verschiedenen Tierhaltungen, Ergebnis der Umfrage Januar 2021

Sterilisier- temp. (°C)	Einwirk- zeit (min.)	Vorwärmen des Futters im Autoklaven	Zahl der Vorvakua	Vakuum mit Trocknung (min.)	Gesamt- dauer ohne Vor- wärmen (min.)	Verpackungsart für das Autoklavieren	Chargen- menge (kg) Füllmenge pro Sack (kg)	Besondere Maßnahmen nach dem Autoklavieren	Grad der Ver- klebung	Verwendungszweck/ Sterilitätstest	Zufriedenhei t m. d. Ergebnis	Bezug
121	20	2	2	60	45	Futtersäcke aus Papier	180 10	Futtersäcke aufklopfen	50%	M / R Futter in jeder Charge	2,5	1
121	20	Temp. entsteht durch die Vorvakua, kein extra Vorwärmen	4	komplett ca. 22-25 min. davon Vakuum ca. 15-20 min.	90	Futtersack aus Papier	150-200 10	vorher: Löcher in die Säcke pieken; nachher aufklopfen der Futtersäcke	hoch	Z / H Futter Nager; Chargen Ausdruck, Indikator-Klebeband, regelmäßig Bioindikatoren	2	2
121,5	20	nein	5	x	120	Lose auf Lochblechen	210 15	langames Abkühlen direkt nach Chargenablauf durch öffnen	Stark, da keine Bepuder- ung	Kaninchen Futter Jährliche mittels Temperaturfühler in Kammer und Produkt zusätzlich Bioindikator	3	3
121C	20	2	3	10	60	Futtersack aus Papier	160 10	Futtersäcke aufschütteln	leicht- mittel	Z / H Futter ChargenAusdruck Quartal: Bioindikatoren	2	4
121	15	Vorgewärmt >90°C	3	10	55 - 60	Futtersack aus Papier	30-40 10	Futtersäcke aufschütteln	leicht- mittel	Z Futter Ratte	2	5

## 5. Literatur

- Batterham ES, Andersen LM, Lowe RF, Darnell RE. 1986. Nutritional value of lupin (*Lupinus albus*)-seed meal for growing pigs: availability of lysine, effect of autoclaving and net energy content. *Br J Nutr* 56:645-659.
- Brandstetter H. 1997. Erfahrungsbericht über das Autoklavieren von Futter, am Beispiel einer Diät für Mäuse und Ratten. *Detmold*. S. 48-60.
- Coelho M. Symposium 2002. Vitamin Stability in Premixes and Feeds - A Practical Approach in Ruminant Diets. *Proceedings 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*, pp 127-145.
- Enss ML, Hedrich HJ. 1997. Immunreaktionen keimfreier Labornager auf diätetische Endotoxine. *Detmold*. S. 22-33.
- Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS). 1988. Hygiene-Empfehlungen für Versuchstierbereiche. *Biberach a. d. Riss*. S. 77-84.
- Ford DJ. 1971. Effect of autoclaving and physical structure of diets on their utilization by mice. *Lab Anim* 11:235-239.
- Ford DJ. 1976. The effect of methods of sterilization on the nutritive value of protein in a commercial rat diet. *Br J Nutr* 35:267.
- Huber J. 2009. *Dampf zur Sterilisation und Desinfektion* 5 Aufl.
- Hedrich HJ. 1998. Persönliche Mitteilung. Zentrales Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover.
- Hiller HH. 1974. Gebräuchliche Verfahren zur Futtersterilisation, sowie physikalische Veränderungen des Futters durch die Sterilisation. *Tierlaboratorium* 1:116-126.
- Hiller HH. 1997. *Methoden der Futterbehandlung*. *Detmold*. S. 35-41.
- Huber J. 1988. *Dampf zur Sterilisation und Desinfektion*. *MMM Schriftenreihe Band 15*.
- Isler D. 1998. Persönliche Mitteilung. *Klibamühlen AG, CH-Kaiseraugst*.
- Knappen F, Schul KD, Wilk W, Korn O. 1971. Methoden und Ergebnisse zur Eignungsprüfung von Futterarten für die Haltung und Zucht von SPF-Ratten. *Arzneimittel-Forschung* 21:2046- 2058.
- Klausdeinken FJ. 1997. Einfluss des Autoklavierens auf Beschaffenheit und ernährungs-physiologische Merkmale von Labortierfutter. *Der Tierschutzbeauftragte*, 6. Jahrgang, 3:184-187.
- Madry M. 1997. Effekte der Futtermittelherstellung auf den mikrobiologischen Status. *Detmold*. S. 42-47.
- Märki U, Rossbach W, Leuenberger J. 1989. Consistency of laboratory animal food following incubation prior to autoclaving. *Lab Anim* 23:319-323.
- Märki U, Stünkel S, Leuenberger J. 1998. Persönliche Mitteilung. *BRL Biological Research Laboratories Ltd, CH-Füllinsdorf*.
- Merkenschlager M, Hiller HH, Udes H. 1975. Sterilisation von Versuchstierfutter durch Bestrahlung oder Erhitzung. *Tierlaboratorium* 121-153.
- Mossmann H. 1998. Persönliche Mitteilung. *MPI für Immunbiologie, Freiburg*.
- Ruprecht L. 1997. Erfahrungen mit dem Autoklavieren von Mäusefutter. *Detmold*. S. 62-65.
- Scheer M. 1997. Sterilisatoren für Versuchstierhaltungen. *Der Tierschutzbeauftragte* 6(3):188-191.

- Tobin G, Stevens KA, Russell R. (2007) The mouse in biomedical research. Nutrition Chapter 10 361ff
- Udes H. 1974. Chemische Veränderungen bei der Futtersterilisation und ihre biologische Wirkung. Tierlaboratorium: 127-141.
- Udes H, Hiller HH, Juhr C. 1971. Veränderung der Rohproteinquantität und -qualität einer Ratten- und Mäusediät durch verschiedene Sterilisationsverfahren. Z. Versuchstierk 13:160-166.
- Udes H, Hiller HH. 1973. Einfluss von Temperaturhöhe und Einwirkungszeit auf Nähr- und Wirkstoffgehalte von Versuchstierfutter bei der Dampfsterilisation. Berl MünchTierärztl Wochenschr 86(7):130-134.
- Waldemar M, Dabrowski Zdzisław E, Sikorski (2005) Toxins in Food. Chapter13
- Bomzon A. 2006. Are repeated doses of buprenorphine detrimental to postoperative recovery after laparotomy in rats? Comp Med 56(2):114-118.

Liste einschlägiger DIN-Vorschriften zur Dampfsterilisation (Stand Dez.2020) - (<https://www.din.de/de>)

DIN EN ISO 17665: Dampf-Sterilisatoren für medizinische Sterilisiergüter

DIN EN ISO 7932: Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren zur Zählung von präsumtivem *Bacillus cereus*

DIN EN 285: Sterilisation- Dampf-Sterilisatoren-Groß-Sterilisatoren

DIN 58949-3: Desinfektion - Dampf-Desinfektionsapparate - Teil 3: Prüfung auf Wirksamkeit

DIN 58 946: Dampf-Sterilisatoren - Teil 7: Bauliche Anforderungen bei Groß-Sterilisatoren

DIN 58 950: Dampf-Sterilisatoren für pharmazeutische Sterilisiergüter

DIN 58 951: Dampf-Sterilisatoren für Labor-Sterilisiergüter

### **Haftungsausschluss**

Die Nutzung und Verwendung der Veröffentlichungen (Fachinformationen, Stellungnahmen, Hefte, Empfehlungen, u. ä.) der Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS und die Umsetzung der darin enthaltenen Informationen und Inhalte erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko der jeweiligen Nutzer\*innen oder Verwender\*innen.

Die GV-SOLAS und auch die Autor\*innen können für etwaige Unfälle und Schäden jeder Art, die sich durch die Nutzung der Veröffentlichung ergeben, keine Haftung übernehmen.

Die GV-SOLAS übernimmt keine Haftung für Schäden jeglicher Art, die durch die Nutzung der Webseite und das Herunterladen der Vorlagen entstehen. Ebenfalls haftet die GV-SOLAS nicht für unmittelbare oder mittelbare Folgeschäden, Datenverlust, entgangenen Gewinn, System- oder Produktionsausfälle.

Haftungsansprüche gegen die GV-SOLAS und die Autor\*innen für Schäden materieller oder ideeller Art, die durch die Nutzung oder Nichtnutzung der Informationen bzw. durch die Nutzung fehlerhafter und/oder unvollständiger Informationen verursacht wurden, sind grundsätzlich ausgeschlossen.

Schadenersatzansprüche sind daher sowohl gegen die Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS wie auch gegen die Autor\*innen ausgeschlossen.

Die Werke inklusive aller Inhalte wurden unter größter wissenschaftlicher Sorgfalt erarbeitet. Gleichwohl übernehmen die GV-SOLAS und die Autor\*innen keinerlei Gewähr und keine Haftung für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen, ebenso nicht für Druckfehler.

Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandene Folgen von der GV-SOLAS und den Autor\*innen übernommen werden.

Für die Inhalte von den in diesen Veröffentlichungen abgedruckten Internetseiten sind überdies ausschließlich die Betreiber der jeweiligen Internetseiten verantwortlich.

Die GV-SOLAS und die Autor\*innen haben keinen Einfluss auf Gestaltung und Inhalte fremder Internetseiten und distanzieren sich daher von allen fremden Inhalten.