

# meditec



## In den Fängen mikrofluidischer Systeme

Um zuverlässige diagnostische Ergebnisse zu erhalten sind immer kleinere Probenmengen nötig. Mit den Proben schrumpft auch das Messequipment. Wie Prozessintegration und Automatisierung die Hardwarekosten ohne Einschnitte bei Qualität und Schnelligkeit senken können, zeigt ein auf Lab-on-a-Chip-Technik basierendes mobiles Analyselabor, welches Mikroorganismen detektiert.



Der Trend in der Diagnostik zu immer kleineren Probenmengen ist unübersehbar. Die Hersteller von Messtechnik, Mikrofluidik und Pumptechniken treiben die Miniaturisierung ihrer Geräte weiter voran und erschließen darüber neue Einsatzfelder. Das mobile Labor kostet wegen des geringen apparativen Aufwands weniger als eine klassische Laboranalyse und verbraucht weniger Material. Laut VDE-Innovationsmonitor gehen von den Mikro- und Nanotechnologien die größten Innovationsimpulse für viele medizintechnische Anwendungen aus.

Die mikrofluidische Integration von Laborprozessen ist nach Einschätzung vieler Fachleute auf dem Weg, zeitraubende Verfahrensschritte durch eine schnelle und automatisierte Vor-Ort-Analyse abzulösen. Voraussetzung sind jedoch kompakte, hochintegrierte Geräte, die leicht zu bedienen sind und eine Vielzahl von Parametern erfassen und zuverlässig auswerten können. Dabei kommt es für den Anwender vor allem darauf an, möglichst einfach und schnell Zugang zur Lab-on-a-Chip Technologie zu erhalten ohne das eigene Entwicklungsrisiko zu sehr zu strapazieren.

Mikrofluidische Systeme sind immer dann gefragt, wenn auf kleinstem Raum Flüssigkeiten transportiert, gemischt oder analysiert werden sollen, egal ob es sich um Biomoleküle in Wasser, Blutzellen oder Bakterien in Gewebeflüssigkeit handelt. Welches Potential in der Lab-on-a-Chip-Technik steckt, zeigt ein aktuelles Beispiel aus der Trinkwasseranalytik.

Die Aufgabe war brisant und kein alltäglicher Auftrag: Es ging darum, ein hochempfindliches, portables Analysegerät zur Überwachung von Trinkwasser zu entwickeln. Das Entwicklungskonsortium war hochkarätig besetzt und setzte sich zusammen aus Forschungsinstituten, Molekularbiologen, Softwarespezialisten und Mechatronikexperten. Im Mittelpunkt des Online-Monitorings von Trinkwasser steht die Früherkennung von pathogener Verunreinigung ohne großen personellen und logistischen Aufwand.

Hintergrund sind Überlegungen der EU-Kommission, die besorgt ist darüber, dass die Trinkwasserversorgung während politischer oder sportlicher Großereignisse zum Ziel von bioterroristischen Angriffen werden könnte. Eine sichere und vor allem schnelle Entdeckung solcher Attacken ist bis dato schwierig. Das Analysegerät soll mit Hilfe von Lab-on-a-Chip-Technik eine quasi-kontinuierliche Überwachung des Trinkwasserstroms direkt an den gefährdeten Versorgungsknoten ermöglichen. Ein erster Prototyp hat bereits gezeigt, daß mikrofluidische Systeme die Erwartungen erfüllen können.



Mit im Projekt sind Entwicklungsingenieure der in Kirchseeon bei München ansässigen Provenion. Deren medizintechnische Expertise reicht von Mechatronik und System Engineering, über Filter- und Extraktionsmethoden, Fluid Handling und Mikrofluidik bis hin zu integrierten Verfahrenstechniken der DNA-Hybridisierung und zur Signalaufbereitung und –verarbeitung auf Silizium- und Polymersubstraten. „Ein gänzlich ungeklärter Teilaspekt war die Gewinnung der Trinkwasserproben“, erinnert sich Projektleiter Christoph Zeis von Provenion, „denn niemand wusste, welche Wassermenge notwendig ist und wie sie aufbereitet sein muss, um sichere Ergebnisse auf einem mikrofluidischen Lab-on-a-Chip-System zu erhalten.“

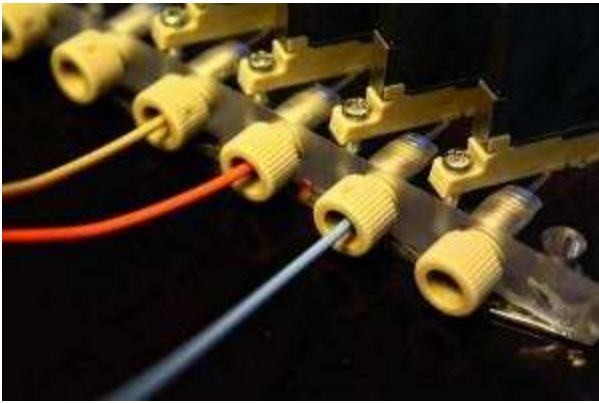
Neben der Festlegung des Gesamtlayouts der Geräte und der Komponentenspezifikationen wird schwerpunktmäßig an drei Entwicklungen gearbeitet, die das mikrofluidische Technikkonzept betreffen: Das Gerät zur Wasserprobennahme und -vorkonzentration, eine kostengünstige Alternative zu Mehrwege-Selektorventilen durch eine Ventilinsel für bis zu sechs Analyseventile, sowie ein Dispenser mit einer Mischeinheit für Kleinstmengen von zehn Mikrolitern, der eine automatische und berührungslose Dispensierung verschiedener Reagenzien in den Detektorchip ermöglicht.

Um aussagekräftige und wiederholgenaue Messergebnisse zu erhalten, legten die Entwickler als erstes die benötigte Wasserprobenmenge je Analyse fest und verringerten anschließend durch trickreiche Maßnahmen die Probemenge auf ein vertretbares Minimum. Vor allem die Zusammenfassung von Zell-Lyse und DNA-Isolation in einem simultanen Prozessschritt, sowie die Entwicklung der 2-stufigen Anlage zur Vorkonzentration der Trinkwasserproben verringerte das Volumen der erforderlichen Wasserprobe um mehrere Dekaden, wobei mit Faktor 40 die 2-stufige Vorkonzentrationsanlage den größten Beitrag erbrachte.



Dieses bei Provenion unter der Bezeichnung Inline-Separator entwickelte Gerät verwendet je Filtrationsstufe ein Hohlfaser-Ultrafiltrationsmodul, in welchem die Konzentration sämtlicher Wasserinhaltsstoffe, darunter auch Bakterien, Viren und andere Keime, deutlich erhöht wird, im Resultat nach Firmenangaben um den Faktor 1600. In absoluten Zahlen ausgedrückt werden also in nur zwei mal 25 Minuten die Inhaltsstoffe von mindestens 32 Litern Wasser auf etwa 20 Milliliter komprimiert. Verwendet wird hierbei die Technik der Tangentialfiltration (Cross-Flow- oder Querstrom-Filtration), da nur hierdurch ein verstopfungsfreier Dauerbetrieb der Anlage möglich ist und zudem die Ausbeute deutlich höher und zuverlässiger ist als bei einer herkömmlichen Dead-End-Filtration.

Als wesentlich kostengünstiger gegenüber herkömmlichen Verfahren erweist sich die Prozessintegration des thermischen und chemischen Aufschließens der Zellen – die sogenannte Zell-Lyse – in direkter Kombination mit der gleichzeitig einsetzenden Isolierung von DNA-Molekülen. Die Umwandlung in einen fließenden Prozess verringert die gesamte Prozesszeit und führt trotz geringerer Probenvolumen zu einer erhöhten DNA-Ausbeute. „Durch die Prozessintegration erhöhen wir die Detektionswahrscheinlichkeit, benötigen aber gleichzeitig weniger Hardware und reduzieren dadurch die Kosten“, sagt Zeis.



Der mikrofluidische Teil der Probenanalyse führt das freigewordene und per Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfältigte DNA-Material dem Detektorchip zu. Dieser funktioniert nach dem Prinzip der Chemolumineszenz. Sobald ein spezifisches DNA-Molekül an den auf der Chipoberfläche verankerten Fängermolekülen andockt, kommt es zu einer Lichtreaktion. Hierfür erforderlich ist die Verabreichung verschiedener weiterer Reagenzien in den Detektorchip in sehr kleinen Mengen von etwa zehn Mikrolitern. Ermöglicht wird dies durch einen automatischen Dispenser, welcher durch die berührungslose Probenübergabe Verunreinigungen verhindert. Zusätzlich verfügt der Dispenser über eine Mischkammer. Die ist wichtig, da je zwei der Reagenzien unmittelbar vor Abgabe gemischt werden – die Mischung ist nämlich nicht langzeitstabil.

*Andreas Beuthner*