

Entwicklung eines mikrobiologischen Kultivierungssystems mit integriertem Ausstrichelement unter Einsatz von RP-Technologien

'PiA' - Petrischale mit integriertem Ausstrichsystem



Entwicklung eines mikrobiologischen Kultivierungssystems mit integriertem Ausstrichelement unter Einsatz von RP-Technologien

'PiA' - Petrischale mit integriertem Ausstrichsystem



Die konventionelle Petrischale

Julius Richard Petri, 1887





- (1) Problemstellung und Ausgangssituation
- (2) Lösungsansatz
- (3) Technische und mikrobiologische Anforderungen
- (4) Konstruktion / Prototyping
- (5) Periphere Entwicklung (Nährboden)
- (6) Zusammenfassung



Begleitende Beurteilung des mikrobiologischen Status mittels Messung von Luftkeimen im Rahmen von Gebäudesanierungsmaßnahmen



vor Sanierung



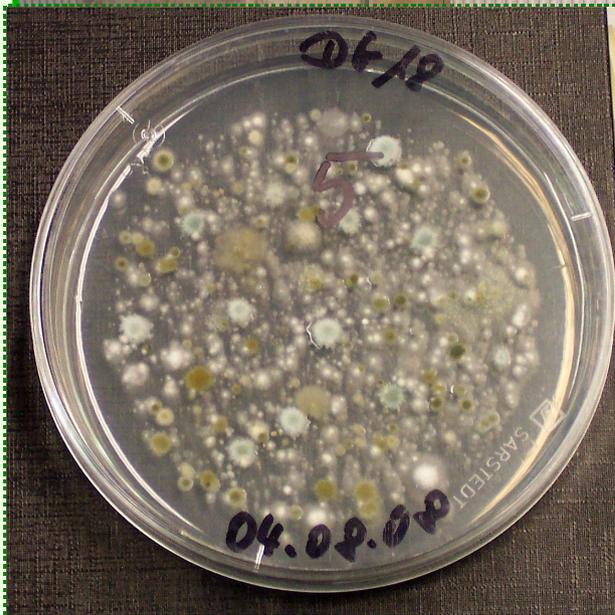
nach Sanierung



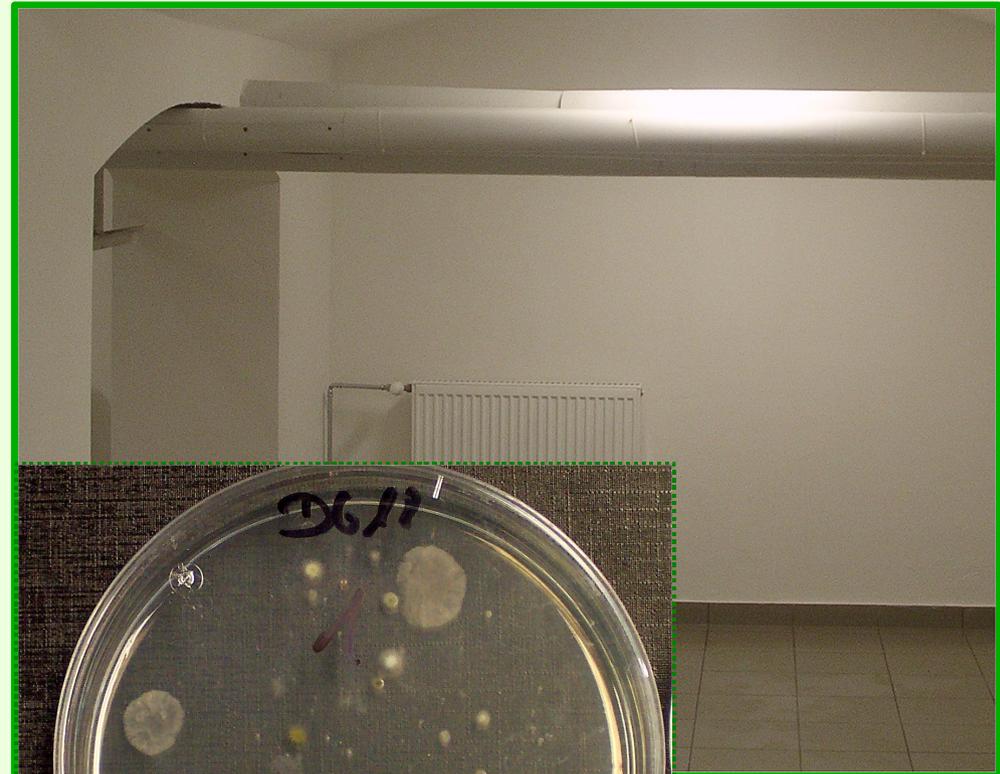
Begleitende Beurteilung des mikrobiologischen Status mittels Messung von Luftkeimen im Rahmen von Gebäudesanierungsmaßnahmen



vor Sanierung



10.530 KBE /m³
(außen: 6.840 KBE/m³)



nach Sanierung



1.360 KBE /m³
(außen: 2.800 KBE/m³)



Sammeln von Luftkeimen (gebräuchliche Verfahren)

1. Filtrations-Verfahren



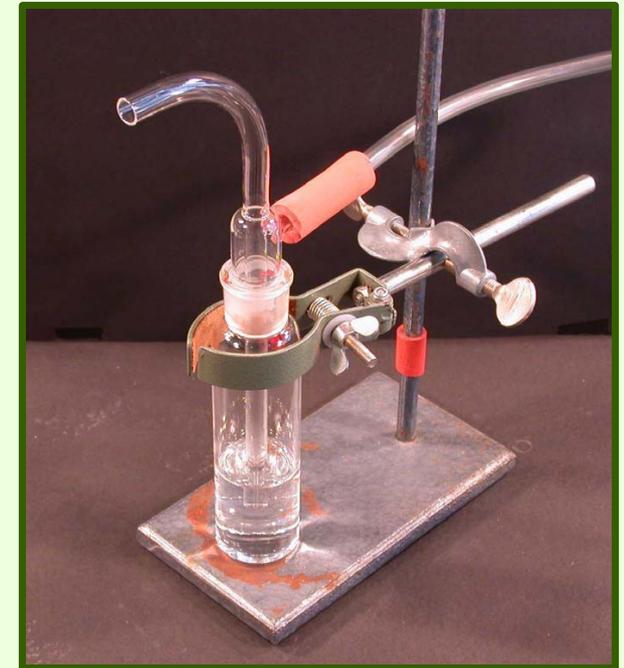
Verfahren: direkt (oder indirekt)
MB: 10^0 bis 10^4 KBE/m³
Probleme:
- Aggregate
- „Sammelstress“ (Austrocknung)
- hohe Konzentrationen

2. Impaktor-Verfahren



direkt
 10^0 bis 10^4 KBE/m³
- Aggregate
- Überlagerungen
- hohe Konzentrationen

3. Impingement-Verfahren



indirekt
 10^3 bis 10^8 KBE/m³
- Abscheideeffizienz
- Verdünnungsschritt
- niedrige Konzentrationen



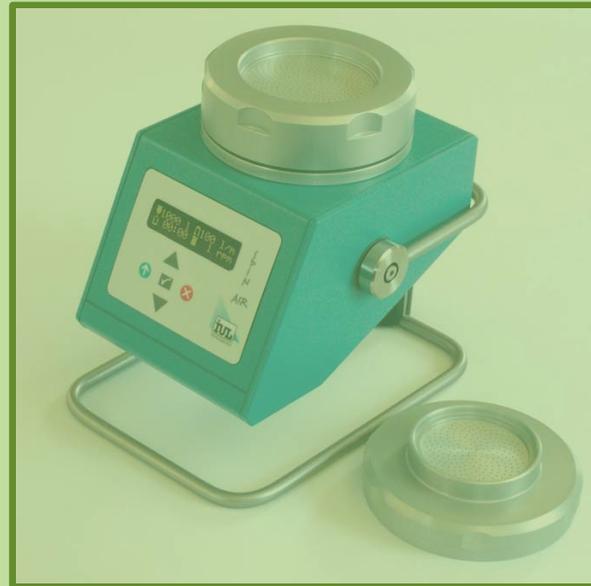
Sammeln von Luftkeimen (gebräuchliche Verfahren)

1. Filtrations-Verfahren



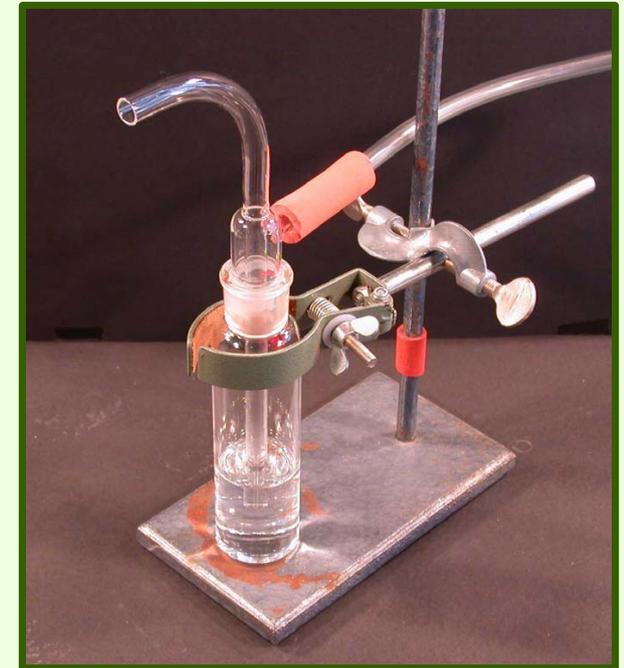
Verfahren: direkt (oder indirekt)
MB: 10^0 bis 10^4 KBE/m³
Probleme: - „Sammelstress“
(Austrocknung)
- hohe Konzentrationen

2. Impaktor-Verfahren



direkt
 10^0 bis 10^4 KBE/m³
- Aggregate
- Überlagerungen
- hohe Konzentrationen

3. Impingement-Verfahren

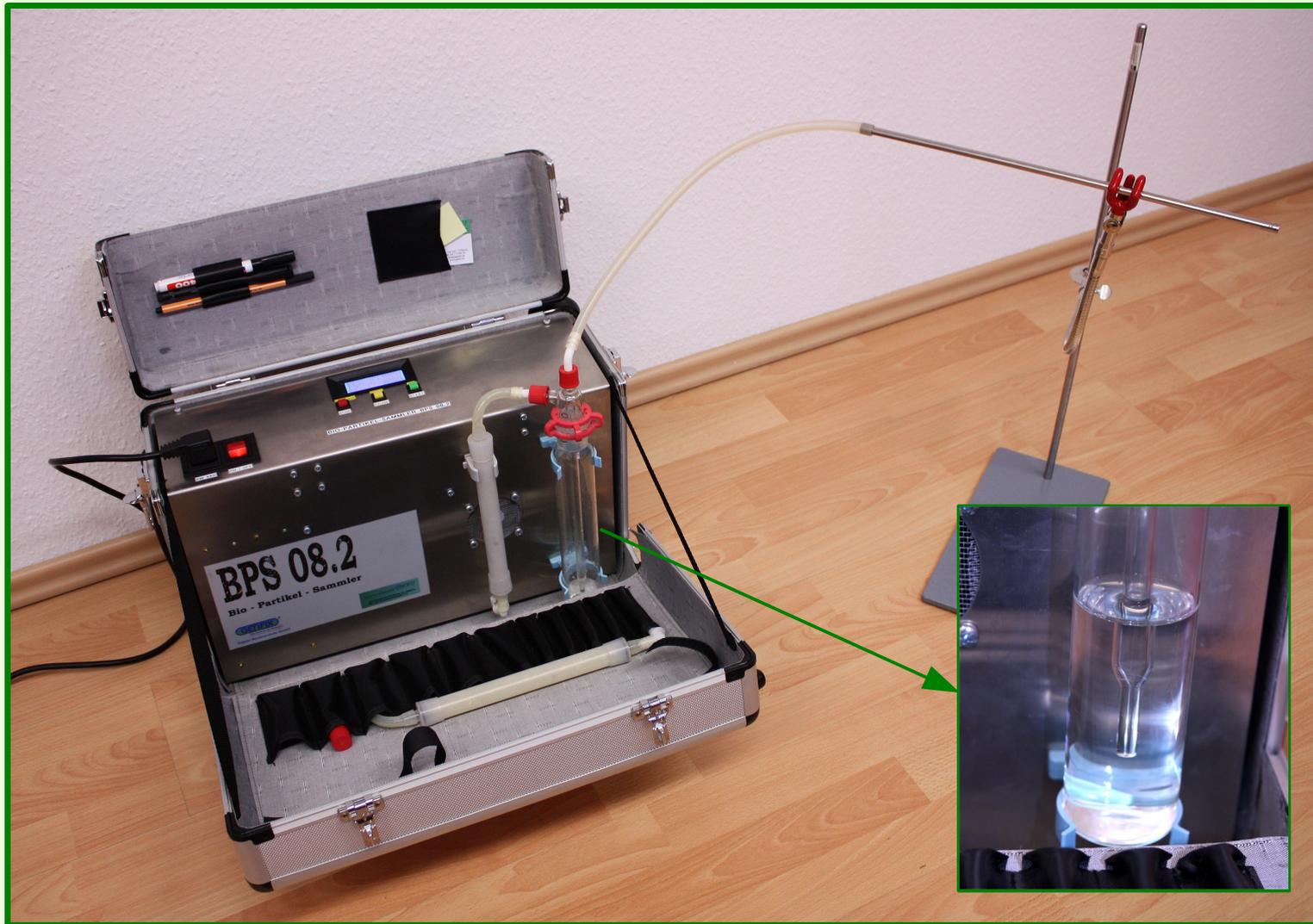


indirekt
 10^3 bis 10^8 KBE/m³
- Abscheideeffizienz
- Verdünnungsschritt
- niedrige Konzentrationen

Problemstellung - Luftkeime



Bio-Partikel-Sammler = automatisierter Luftprobennehmer nach dem Impingerverfahren





Sammeln von Luftkeimen (gebräuchliche Verfahren) / Probenaufarbeitung

1. Filtrations-Verfahren



direkte Filteraufnahme
mit Kulturplatte (adhäsiv)

2. Impaktor-Verfahren



einfache Entnahme der
Kulturplatte und Verschluss

3. Impingement-Verfahren



Applizierung eines Aliquotes auf
Kulturplatte und Ausstrich (Labor !)

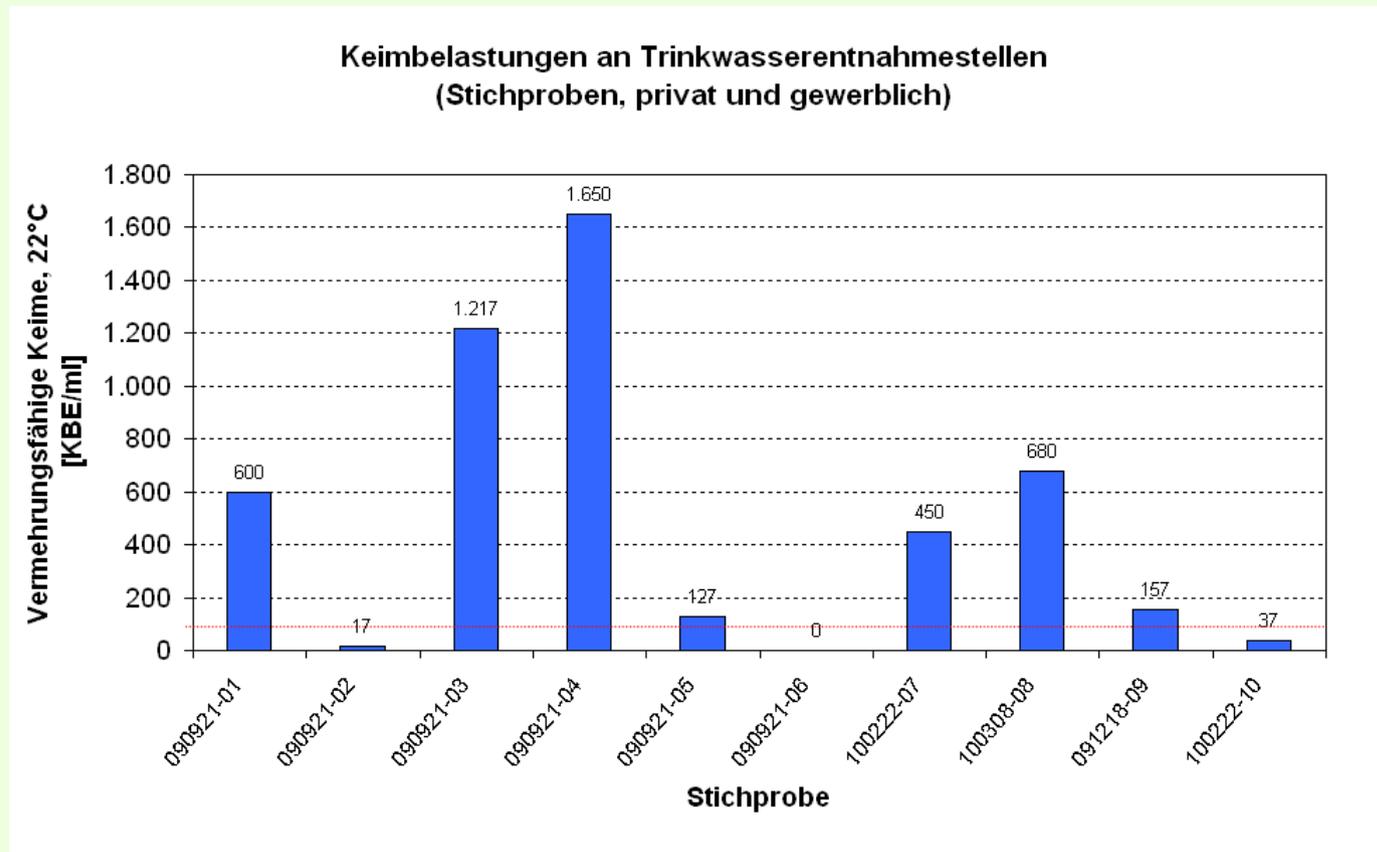


(Eigen-) Kontrolle des mikrobiologischen Status von Wasserproben vor Ort

- Brunnenwasser
- Trinkwasser an Entnahmestellen
- Oberflächenwasser

Bedarf ??

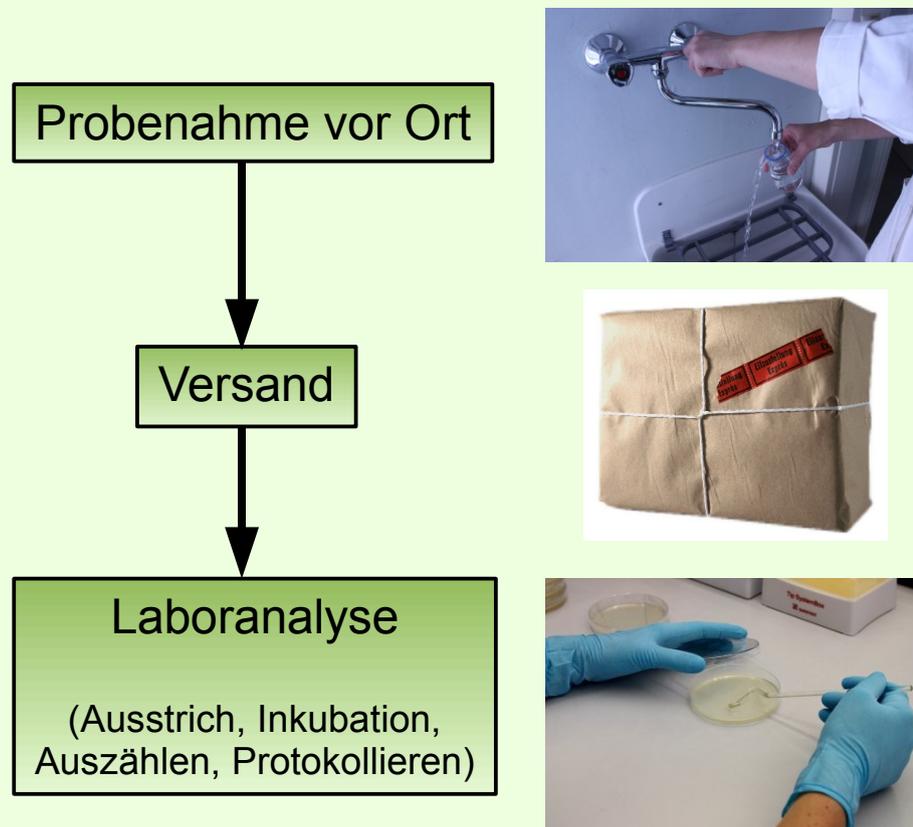
Erhöhte Keimbelastungen an Trinkwasserentnahmestellen sind i.d.R. auf veraltete bzw. vernachlässigte Gebäudeinstallationen, Armaturen, Vorfilter u.ä. zurückzuführen; die Abgabequalität ab Versorger unterliegt Kontrollen !





(Eigen-) Kontrolle des mikrobiologischen Status von Wasserproben vor Ort

Stand der Technik



Zeitaufwand (=Veränderungen),
Kostenaufwand



(Eigen-) Kontrolle des mikrobiologischen Status von Wasserproben vor Ort

Stand der Technik



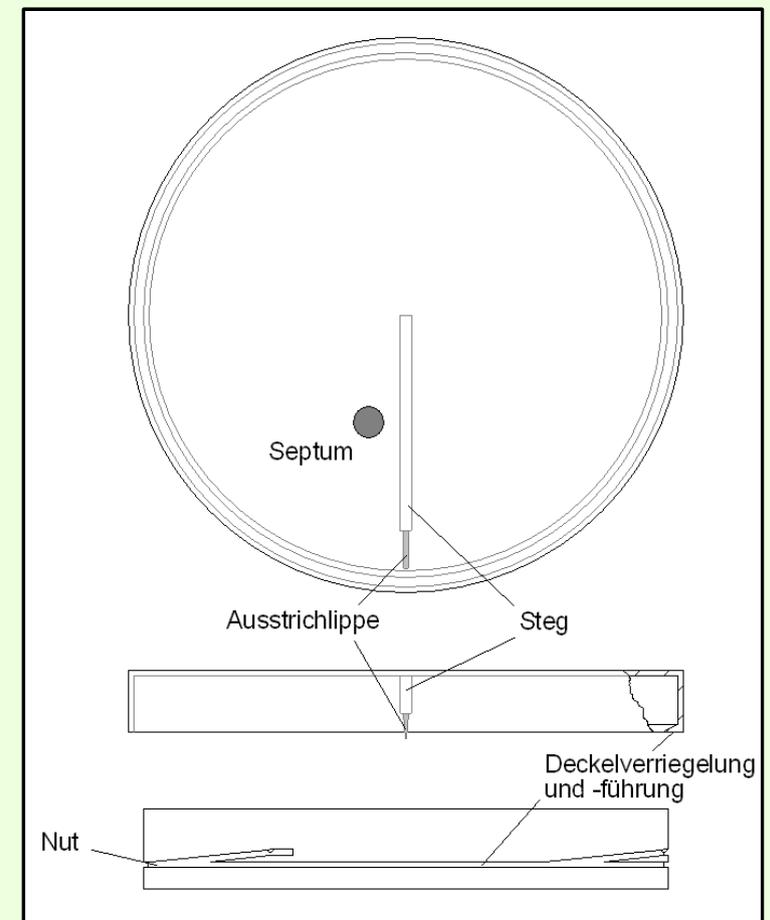
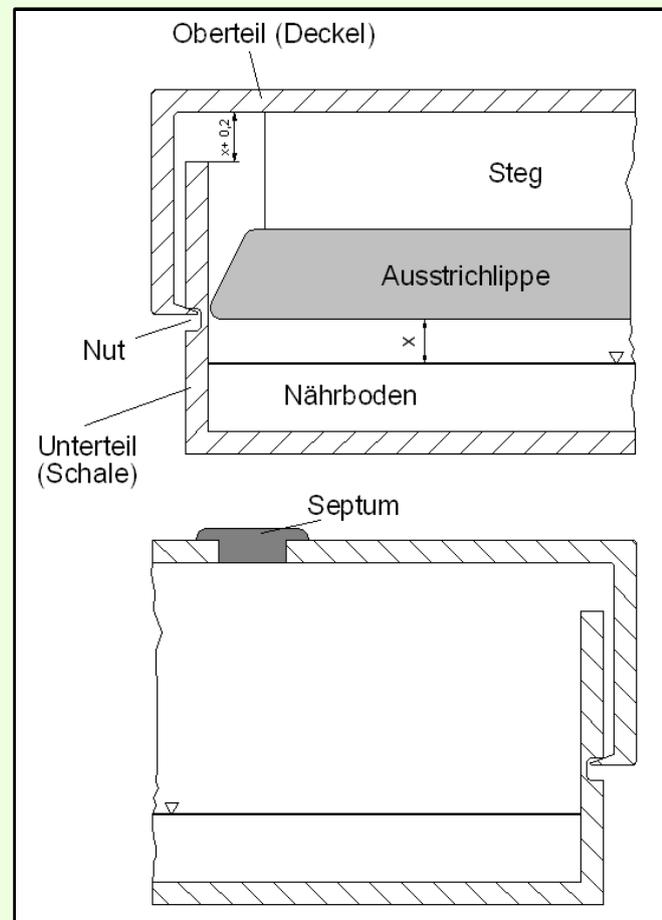
Zeitaufwand (=Veränderungen),
Kostenaufwand

halbquantitativ



Mikrobiologisches Einweg-Kultivierungssystem mit Nährboden zur Keimzahlbestimmung in flüssigen Proben, ausgestattet mit integrierten Vorrichtungen für Probenaufgabe und Probenausstrich zur Verwendung unter unsterilen Bedingungen im Feldeinsatz.

Studie 1 / GMBU





Funktionalität

- mehrteiliges System nach dem Prinzip der Petrischale (Schale+Nährboden / Deckel)
- geschlossen und aseptisch, nicht zu öffnen
- Gasaustausch ohne Gefahr von Fremdinfectionen (Deckelaufgabe)
- mit flüssigem und sich erhärtendem Nährboden befüllbar (maschinell)
- mechanisches Führungssystem zum Ausstrich
- Elastisches, flächenüberstreichendes Ausstrichelement
- „Parkstellung“ des Ausstrichelementes über der Nährbodenoberfläche (nicht berührend)
- Probenaufgabe lokal definiert über Septum
- definierte, vorbestimmte Absenkung der Lippe & gleichmäßig geführter Ausstrich
- Rückführung in „Parkstellung“ nach Ausstrich
- Geometrie: günstigerweise radialsymmetrisch
- Stapelbarkeit



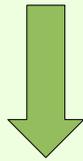
Materialfrage

- **Transparenz (Beobachten / Auszählen)**
- **(Strahlen-) Sterilisierbarkeit**
- **Thermische Stabilität bis mind. 80°C**
- **Chemische + biochemische Inertheit**
- **Mechanische Stabilität**
- **Ausstrichsystem: Flexibilität, Elastizität der Ausstrich-Lippe**
- **Septum: Elastizität**
- **Preis (Prämisse: Einwegartikel)**

Stand der Technik für Petrischalen: Glas, Polycarbonat, Polystyren

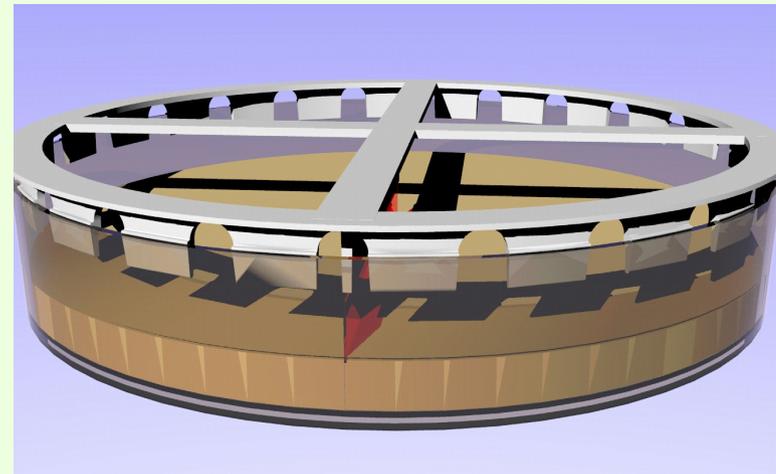


1. einfache, selbsterklärende und schnelle Handhabung durch den Anwender
2. leichtgänge Mechanik
3. exakte Absenkung der Ausstrichlippe (Toleranzen, Führungsrichtung)
4. vollständige und gleichmäßige Verteilung der Flüssigkeit
5. Bauteilverriegelung



Rekursive Entwicklungsphase
mit Rapid Prototyping erforderlich

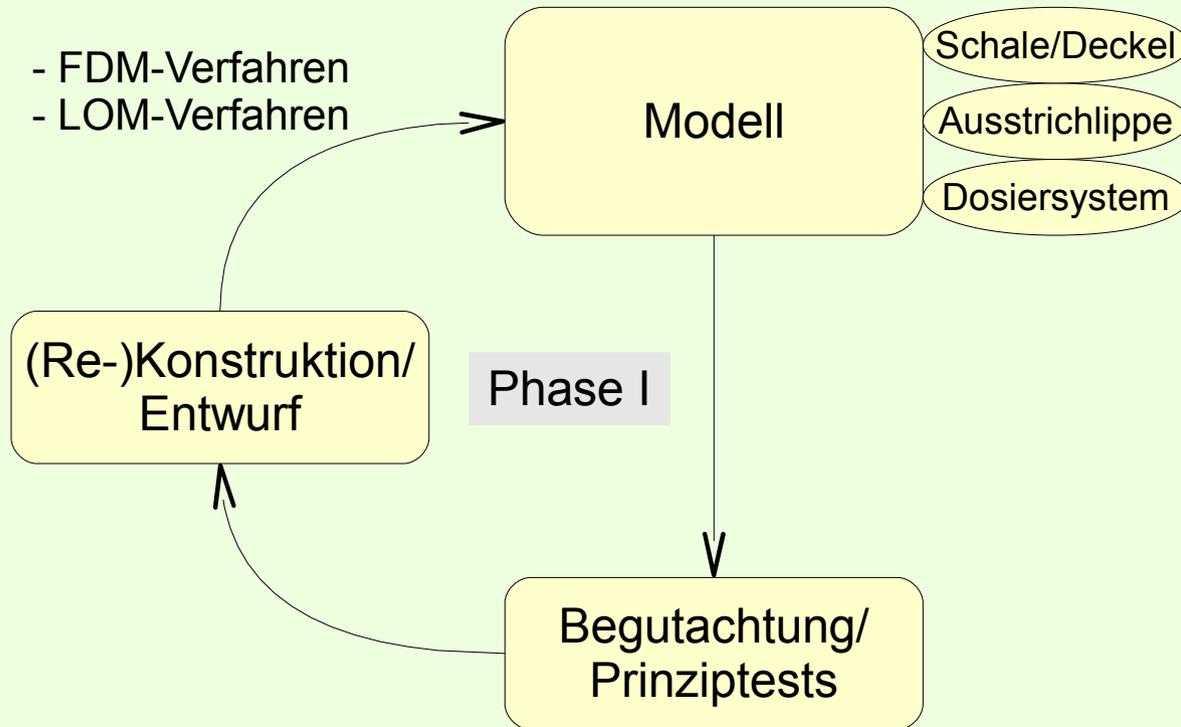
Studie / HOME

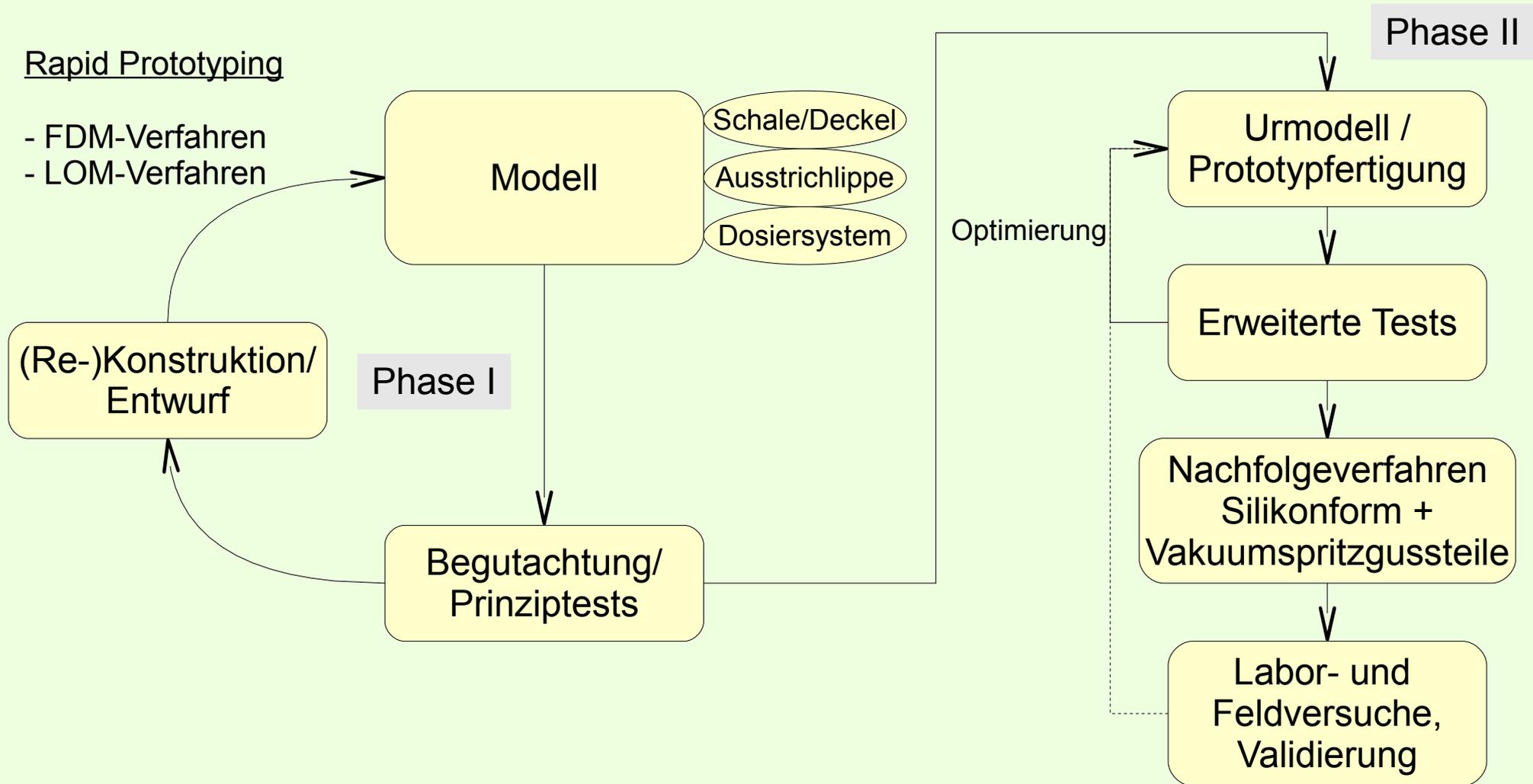




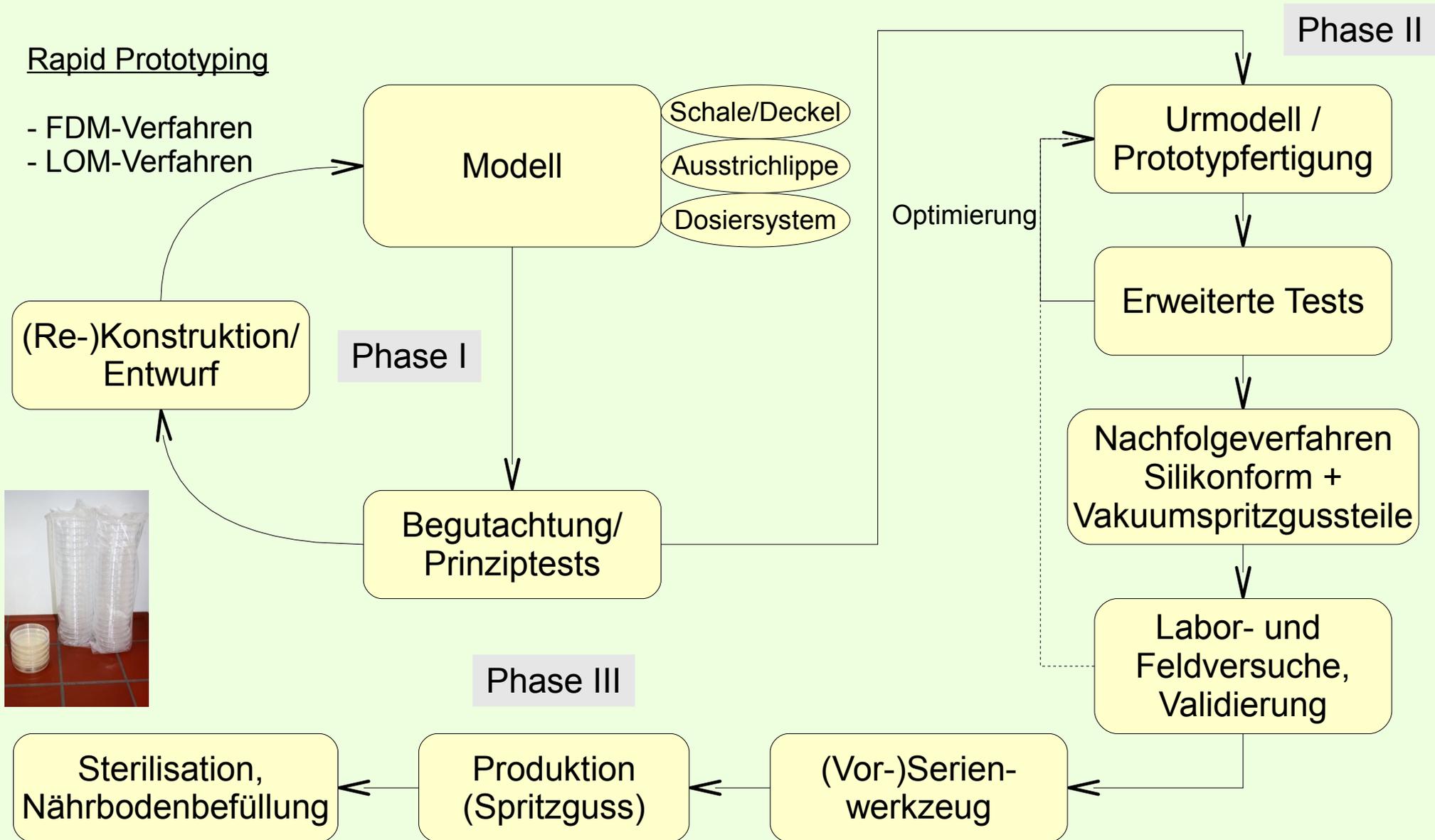
Rapid Prototyping

- FDM-Verfahren
- LOM-Verfahren



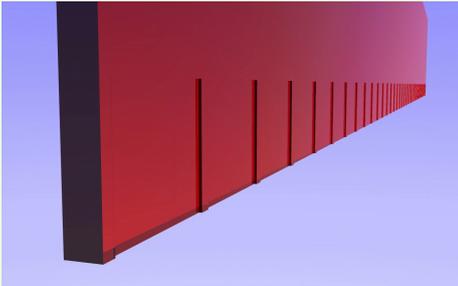


Produktentwicklungskonzept



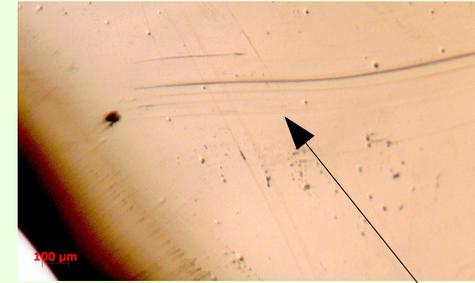


Austrichelement

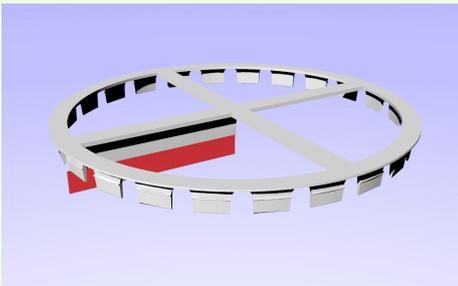


Modell 1 / HOME:

- relativ starr
- PET-Folie
- mit Laser eingearbeitete Taschen (1000x1000x20 μm)



Kratzspuren



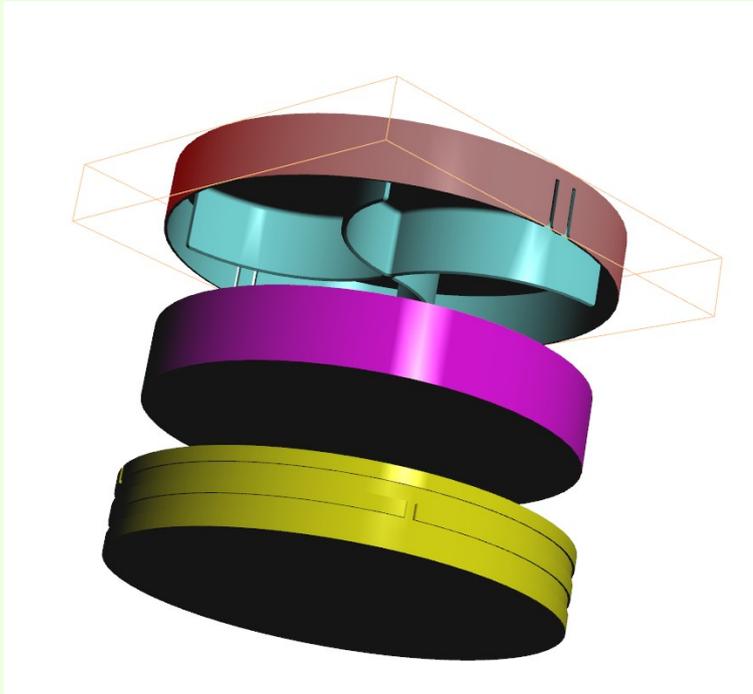
Modell 2 / HOME:

- flexible, weiche Lippe
- Silikon



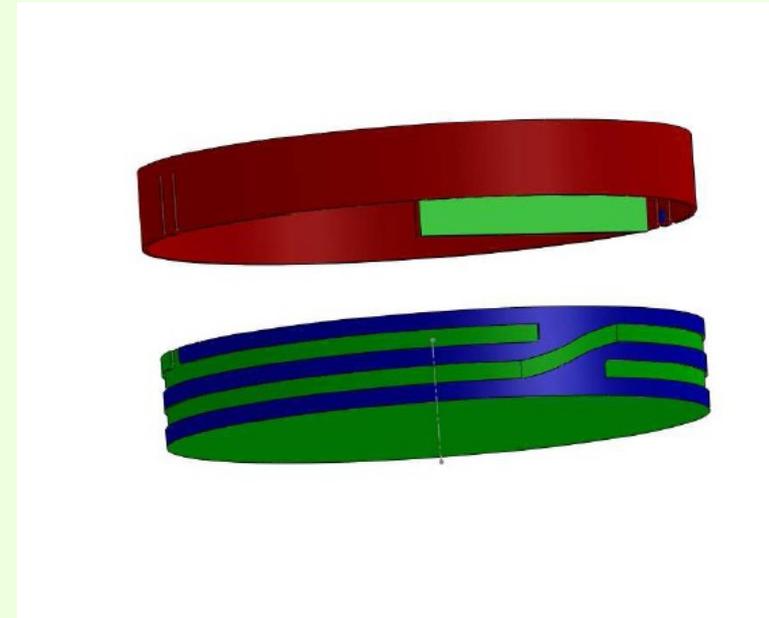


Schale – Deckel - System



Modell 1 / GK Kunststofftechnik:

- 3-teilig
- außenliegende Führungsnuten
- stufenförmiger Ebenenübergang
- 4-flügeliges Ausstrichsystem
(Lippe radial flexibel)

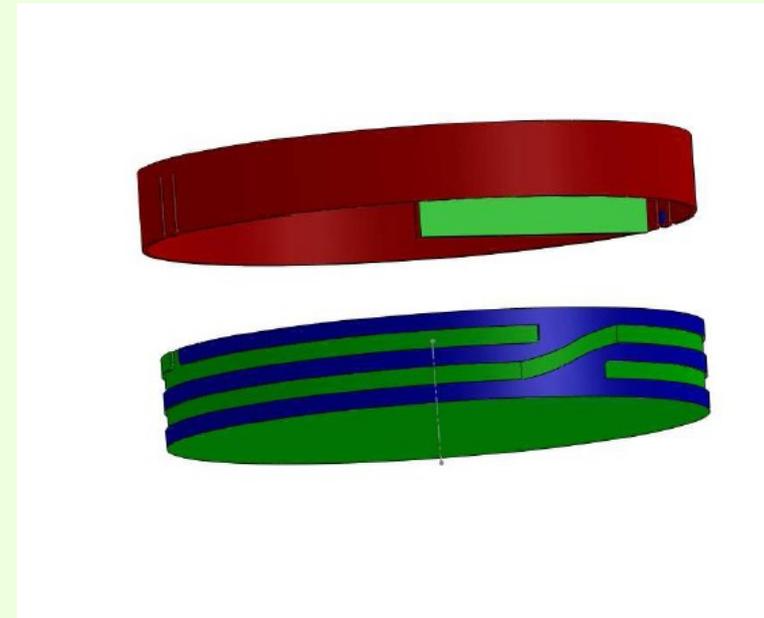


Modell 2 / GK Kunststofftechnik:

- 2-teilig
- außenliegende Führungsnuten
- geführter Ebenenübergang
- 1-flügeliges Ausstrichsystem
(Lippe axial flexibel)



Schale – Deckel - System



Modell 2 / GK Kunststofftechnik:

- 2-teilig
- außenliegende Führungsnuten
- geführter Ebenenübergang
- 1-flügeliges Ausstrichsystem (Lippe axial flexibel)



Nährbodenrezeptur

Besonderheiten für die schnelle Probenverarbeitung vor Ort:

a) der Probentropfen soll sich nach Auftropfen bereits möglichst schnell selbst verteilen und die Verteilungsmaßnahme des Ausstrichsystems unterstützen

→ gutes Benetzungsverhalten des Nährbodens

b) der verteilte Flüssigkeitsfilm muss schnell im Nährboden einziehen, jedoch für eine festgelegte „offene“ Zeitspanne verarbeitbar bleiben

→ definierte Flüssigkeitsresorption des Nährbodens

→ *spielt keine größere Rolle bei der konventionellen Verarbeitung im Labor* ←



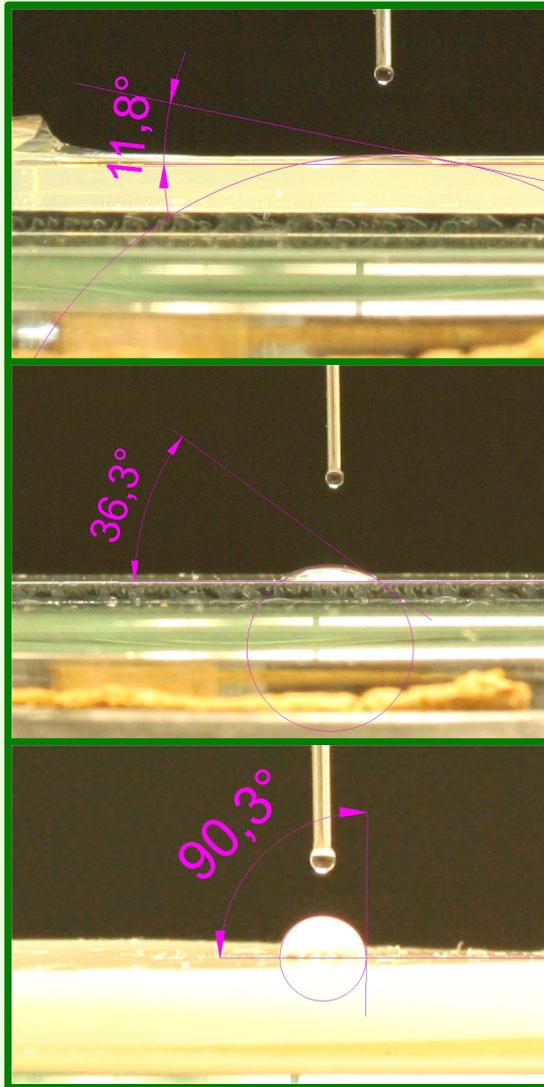
Nährbodenrezeptur

Einflussgrößen für die Flüssigkeitsbenetzung / -resorption von Festnährböden:

- Agarkonzentration
- Agarqualität (gel strength)
- Alter und Lagerungseigenschaften
- Zugabe von Glycerin
- Zugabe von Tensiden



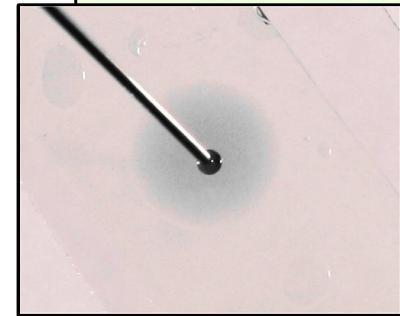
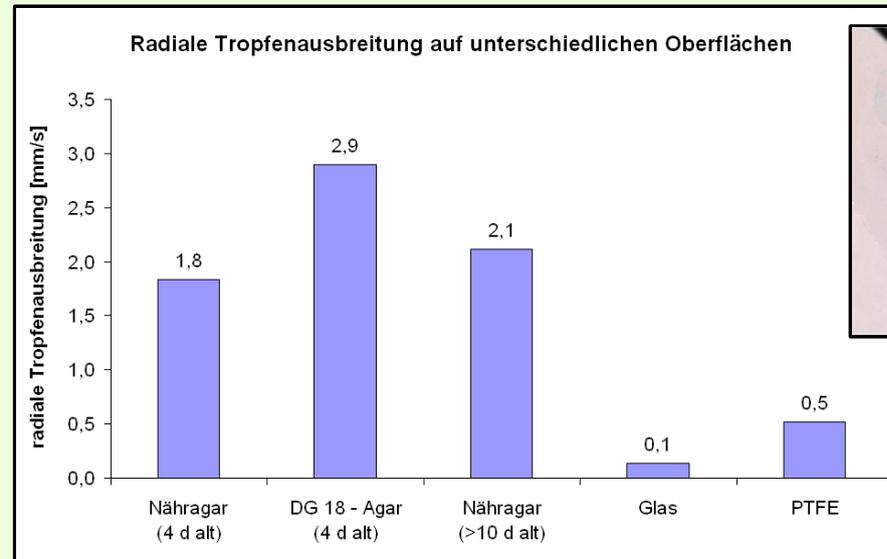
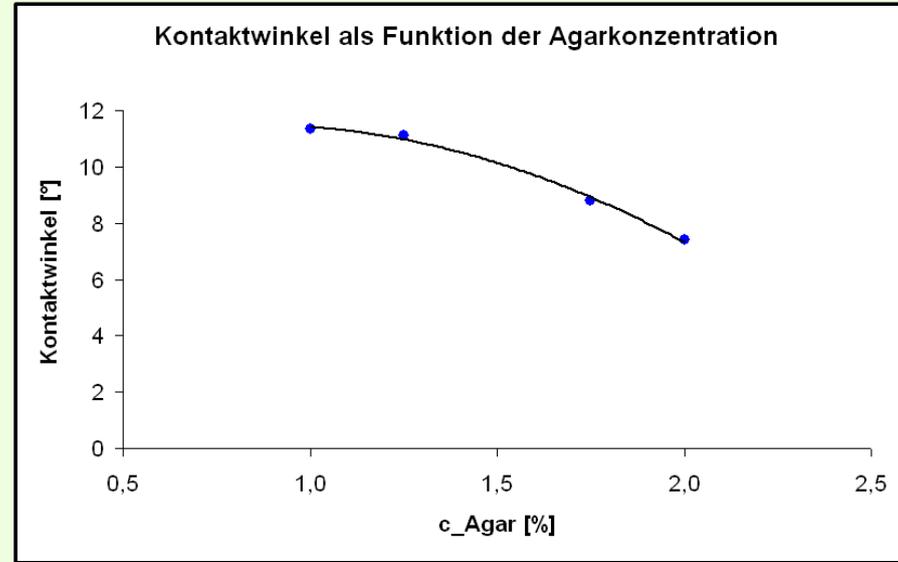
Nährbodenrezeptur / Benetzung / Kontaktwinkelmessungen



Nähragar

Glas

PTFE





Nährboden / Wasserresorption

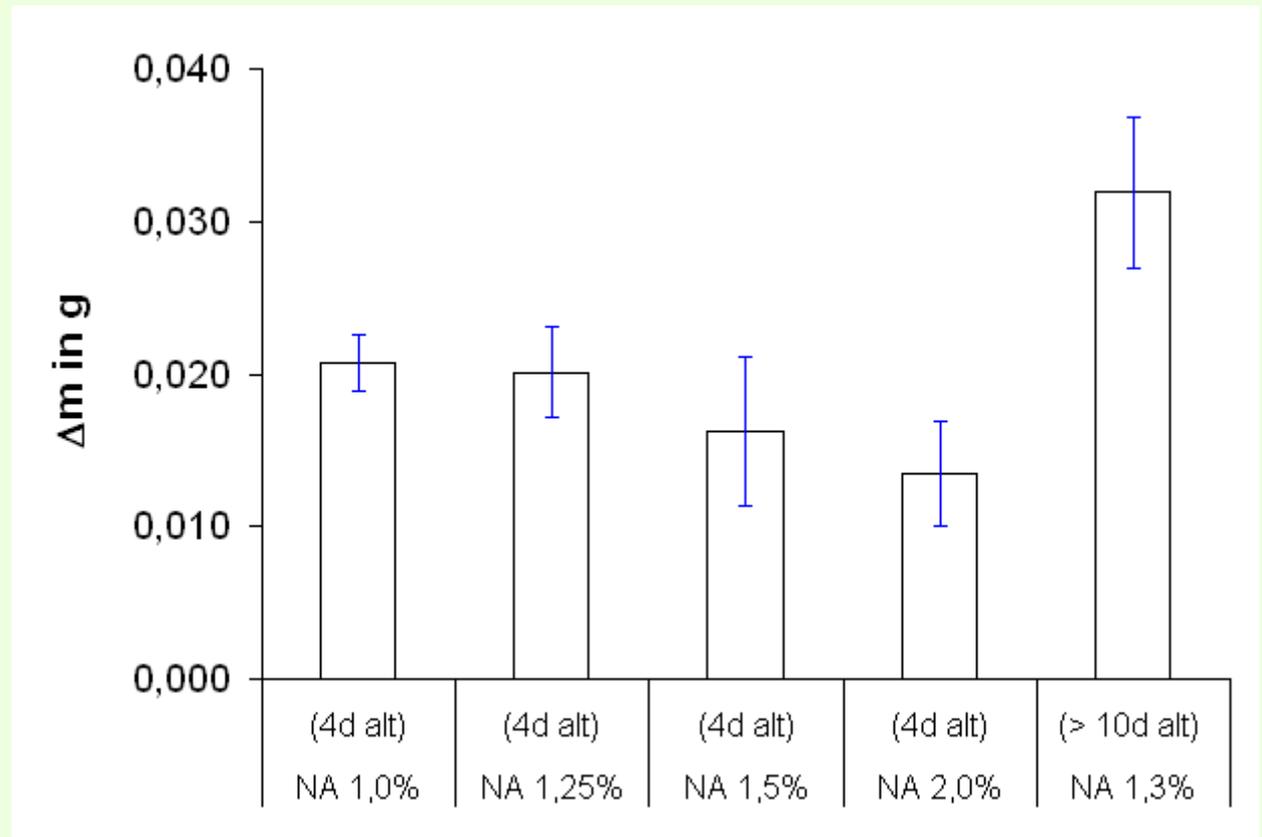
Prozedur mit automatischer Dosierburette:

- definiertes Agarstück, $d = 16 \text{ mm}$
- Ermittlung der Grundmasse
- Aufpipettieren von $50 \mu\text{l}$ Wasser
- 5 min. Wartezeit
- Absaugen von Restwasser
- Ermittlung der Endmasse
- $n = 5$

Ergebnis:

→ tendenziell weniger Wasseraufnahme mit zunehmendem Agaranteil

→ ausgetrockneter Agar nimmt mehr Wasser auf als frischer (Lagerungszeit/-art entscheidend)





- (1) Die Verarbeitung wässriger Proben zur Keimzahlbestimmung unter unsterilen Bedingungen am Probenahmeort durch mikrobiologisch ungeschulte Anwender erfordert ein einfach und definiert handhabbares, preiswertes Kultivierungssystem.
- (2) Ein entscheidender Punkt ist eine genaue und gleichmäßige Verteilung des flüssigen Probensegmentes auf der Nährbodenoberfläche.
- (3) Rapid Prototyping bildet ein gutes Werkzeug zur schnellen und rekursiven Konstruktion / Modellbildung im Vorfeld einer Abformung.
- (4) Angewandte Verfahren: FDM (Fused Deposition Modelling),
LOM (Laminated Object Manufacturing)
- (5) Neben der Fertigung der Kunststoffteile spielen die Eigenschaften des Nährbodens, wie die Benetzbarkeit und Flüssigkeitsaufnahme, eine entscheidende Rolle.
- (6) Untersuchungen zeigten z.B., dass mit zunehmender Agarkonzentration die Benetzbarkeit verbessert, die Resorptionseigenschaften aber verschlechtert werden.
- (7) Das Alter der Nährböden sowie die Agarqualitäten haben entscheidenden Einfluss.

→ *Bei positiver Produktentwicklung ergibt sich ein neuartiges low cost – Schnelltestkit für die gewerbliche und private Kontrolle des mikrobiellen Zustands von Flüssigproben* ←



Das Projekt wird über den Projektträger AiF durch das Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie im Rahmen des „Zentralen Innovationsprogramms Mittelstand“ (ZIM) als Forschungskoooperation gefördert.

(Förderkennzeichen: KF 2108607FR9)



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !