

HydroChip2

Rolle-zu-Rolle hergestelltes „Lab-on-Foil“ System mit funktionellen Hydrogelen für die On-Chip Detektion von Pathogenen

Programm / Ausschreibung	Produktion der Zukunft, Produktion der Zukunft, 36. AS PdZ - Nationale Projekte 2020	Status	laufend
Projektstart	01.08.2021	Projektende	31.07.2025
Zeitraum	2021 - 2025	Projektlaufzeit	48 Monate
Keywords	R2R, Mikrofluidik, Biosensor, Pathogene, POC, Hydrogele, Ionische Flüssigkeiten		

Projektbeschreibung

Die Detektion von Nukleinsäuren ermöglicht eine gezielte Identifikation von einer Vielzahl an Pathogenen (Bakterien, Pilze und Viren). Besonders wichtig ist dies bei der Behandlung von Bakterieninfektionen, wie Parodontitis, Racheninfektionen und bakterieller Vaginose. Hier sind eine Vielzahl unterschiedlicher Bakterien für das jeweilige Krankheitsbild verantwortlich und in den meisten Fällen ist es nötig die Medikation auf den jeweiligen Keim abzustimmen. Besteht die Gefahr einer chronischen Erkrankung, ist auch das Überwachen des Therapiefortschritts aus medizinischer Sicht sinnvoll.

Derzeit werden zwar eine Reihe an Diagnosesystemen auf dem Markt angeboten, jedoch verhindert eine komplexe Handhabung, eine lange Analysezeit und ein hoher Anschaffungspreis den flächendeckenden Einsatz dieser Systeme. Dies führt meist zu vorzeitigem, nicht notwendigem, oder falsch gewähltem Verschreiben von Antibiotika. Bleibt die Wirkung des Medikaments aus, wird ein weiterer Arztbesuch nötig, bei dem dann auf die - sofern vorhandenen - Laborergebnisse zurückgegriffen, und eine zweite abgestimmte Medikation verschrieben wird.

In dem Projekt HydroChip nehmen wir uns dieser Probleme an und arbeiten an der Realisierung von folienbasierten Schnelltestsystemen für die Detektion von Leitkeimen der Parodontitis. Um die Ausgangssituation und die Markttauglichkeit dieser Schnelltestsysteme zu erhöhen, sind folgende Schritte geplant: 1.) Verringerung der Komplexität der Handhabung durch die Einführung funktioneller Hydrogele mittels Rolle-zu-Rolle (R2R) kompatiblen Mikrosporten, 2.) Verringerung der Herstellungskosten durch einen R2R gefertigten mikrofluidischen Chip und 3.) Verbesserung der RNA Detektion durch Verwendung optischer und elektrochemischer Methoden unter Einführung von 3D-strukturierten Nanoelektroden.

In Punkt 1.) wird im Projekt ein neuer, innovativer Weg beschritten, um Reagenzien im R2R-Prozess in die Mikrofluidik einzubringen. Damit sollen Hydrogelreservoirs für a) die Durchführung einer neuartigen Bakterienlyse basierend auf ionischen Flüssigkeiten und b) die Durchführung der Bakterienidentifikation mittels Detektion ribosomaler RNA (rRNA) realisiert werden.

Besonders komplexe Analyseschritte lassen sich so direkt auf dem Detektionschip durchführen, wobei die Integration der Bakterienlyse einen der wichtigsten Entwicklungsschritte darstellt. Dafür wird in diesem Projekt die Anwendbarkeit von ionischen Flüssigkeiten für die Lyse der Parodontitis-Keime in kurzen Zeiträumen (<5min) und bei niedrigen Temperaturen (RT bis 60°C) untersucht.

Für 2.), die R2R basierte Herstellung des mikrofluidischen Chips, wird auf einen UV-NIL Prozess gesetzt, der es erlaubt, hohe

Stückzahlen kostengünstig zu fertigen. Die in Schritt 3.) angestrebte Verbesserung der rRNA Detektion wird für den Anwendungsfall Parodontitis entwickelt, bei der eine Bakterienbestimmung ohne Amplifikation für 10⁴ cfu/ml bereits gezeigt werden konnte. Um die Detektion noch weiter zu verbessern und eine höhere Keimzahlsensitivität zu erreichen, werden verschiedene Detektionsprinzipien, wie Elektrochemolumineszenz und neuartige elektrochemische Methoden untersucht. Die Resultate aus den drei geplanten Arbeitsschritten liefern neue Produktions- und Detektionstechnologien, die nicht nur für Parodontitis Anwendung interessant sind, sondern für eine Vielzahl diagnostischer Systeme wesentliche Verbesserungen bringen. Es können somit zwei Hauptmärkte bedient werden: In Vitro Diagnostik und Point-of-Care Systeme. Die daraus resultierenden neuen diagnostischen Möglichkeiten für eine rasche und patientennahe Pathogendetektion haben das große Potential, die Patientengesundheit wesentlich zu verbessern.

Abstract

The detection of nucleic acids enables the identification of various pathogens (bacteria, fungi, and viruses). This is important for the treatment of bacterial infections, such as periodontal disease, throat infections and bacterial vaginosis. For the respective clinical picture of these diseases, a large variety of different bacteria can be responsible, and in most cases it is necessary to adjust the medication to the respective germ. If there is a risk of chronic illness, monitoring the progress of therapy is also useful from a medical point of view.

Although different diagnostic systems are currently available on the market, complex handling, long analysis times and high acquisition and running costs prevent the widespread use of these systems. In case of bacteria infection treatment, this leads to premature, unnecessary or incorrect prescribing of antibiotics. If the medication does not alleviate the disease, a further visit of the doctors' office is necessary, in which the laboratory results - if available - are used and a second medication is prescribed.

In the HydroChip project this unmet need is addressed with a foil based rapid test system for the detection of periodontal pathogens. In order to improve the performance and the marketability of these rapid test systems, the following steps are planned: 1) Reduction of the handling complexity through the introduction of functional hydrogels using roll-to-roll (R2R) compatible microspotting techniques, 2) Reduction of costs through R2R manufactured microfluidic Chips and 3) Improvement of the RNA detection by using optical and electrochemical methods by introducing 3D structured nanoelectrodes.

In 1) the project focus lies on an innovative way to introduce reagents into microfluidics with a R2R compatible process. For this purpose, hydrogel reservoirs will be established for the following processes a) realization of a new type of bacterial lysis based on ionic liquids and b) realization of bacterial identification by means of detection of ribosomal RNA (rRNA).

The complex detection can therefore be carried out directly on the microfluidic chip, whereby the integration of bacterial lysis is one of the most important development steps. In this project, the applicability of ionic liquids for the lysis of periodontal bacteria in short periods of time ($\leq 5\text{min}$) and at low temperatures (RT to 60 ° C) will be investigated.

For 2), the R2R-based production of the microfluidic chip, a UV-NIL process is used, which allows the cost-effective production of large quantities. The improvement of rRNA detection aimed in step 3) is developed for the periodontitis application, in which a bacterial determination without nucleic acid amplification for 10⁴ cfu/ml has already been shown. In order to improve the detection even further and to achieve a higher sensitivity, various detection principles such as electrochemiluminescence and novel electrochemical methods will be investigated.

The results from the three planned work steps lead to new production and detection technologies, which are not only applicable for periodontitis, but bring essential improvements for various diagnostic systems. Two major markets can be accessed: In Vitro Diagnostics and Point-of-Care systems. The resulting novel diagnostic possibilities for a rapid and patient-

side pathogen detection has the great potential to improve patients' health significantly.

Projektkoordinator

- AIT Austrian Institute of Technology GmbH

Projektpartner

- bionic surface technologies GmbH
- Technische Universität Wien
- Genspeed Biotech GmbH
- JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH