

Quantum Dot basierte Elektrochemolumineszenz zum Multiplex-Schnellnachweis von hygienerelevanten Keimen und Gesamtkeimzahl

IGF 20681N

Ziel war ein quantitativer Schnellnachweis zur Bestimmung des hygienischen Zustands aufbereiteter Textilien bezüglich bewertungsrelevanter Infektionserreger und Gesamtkeimzahl auf Basis eines interferenzfreien Multiplex-fähigen Elektrochemolumineszenz (ECL)-Verfahrens. Quantum Dots (QD) mit z.B. blauer Emission können eingesetzt werden, um unspezifisch an alle Mikroorganismen zu binden. Mittels spektral unterschiedlicher, längerwellig emittierender QD (z.B. grüner bis roter Spektralbereich) können Art-spezifisch bis zu 20 bewertungsrelevante Infektionserreger (z.B. *S. aureus*, *Salmonella* sp., *E. coli*, *Listeria* sp., *Clostridium* sp.) markiert werden.

Die Bindungsspezifität an die jeweiligen Zielmikroorganismen lässt sich durch Kopplung der QD mit Antikörpern (Art-spezifischer Nachweis) und Lektinen (Gesamtkeimzahl) erzielen. Bei elektrischer Anregung der QD kommt es zur ECL-Emission der spektral unterschiedlich emittierenden QD, was sich für einen zeitgleichen Multiplex-Nachweis nutzen lässt. Die ECL-Emission lässt sich mittels empfindlicher Kamerasysteme erfassen. Im Gegensatz zur Fluoreszenz-basierten Detektionsverfahren werden ECL-Detektionsverfahren nicht durch optische Aufheller beeinflusst. Der Schnellnachweis kann zur Endproduktkontrolle von Textilien sowie in Kombination mit Biomonitoren zur Prozesskontrolle eingesetzt werden und ist auf harte Oberflächen (z.B. produktionsnahe Bereiche in Wäschereien, Oberflächen in Krankenhäusern, Lebensmittelindustrie etc.) übertragbar.

Zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl erwies sich eine Kombination aus mehreren Lektinen als geeignet. Für die spezifische Markierung von Keimen wurden exemplarisch Antikörper gegen *E. coli* und *S. aureus* ausgewählt, welche eine hohe Bindungsaffinität und -spezifität aufwiesen. Mittels chemischer Kopplungsmethoden wurden ausgewählte Antikörper und Lektine an

Quantum dot based electrochemiluminescence for rapid multiplex detection of hygiene-relevant germs and total germ count

IGF 20681N

The aim was a quantitative rapid test for the determination of the hygienic condition of processed textiles with regard to evaluation-relevant infectious agents and total bacterial count on the basis of a multiplex capable, interference-free electrochemiluminescence (ECL) method. Quantum Dots (QD) with e.g. blue emission can be used to non-specifically bind to all microorganisms.

By means of spectrally different, longer-wave emitting QD (e.g. green to red spectral range), up to 20 species-specific infectious agents (e.g. *S. aureus*, *Salmonella* sp., *E. coli*, *Listeria* sp., *Clostridium* sp.) can be labelled.

Binding specificity to the respective target microorganisms can be achieved by coupling the QD with antibodies (species-specific detection) and lectins (total germ count). Electrical excitation of the QD results in ECL-emission from the spectrally differently emitting QD, which can be used for simultaneous multiplex detection.

The ECL emission can be recorded using sensitive camera systems. In contrast to fluorescence-based detection methods, ECL-based detection methods are not influenced by optical brighteners. The rapid detection can be used for the final product control of textiles as well as in combination with biomonitors for process control and is transferable to hard surfaces (e.g. production-related areas in laundries, surfaces in hospitals, food industry etc.).

A combination of several lectins proved to be suitable for determining the total bacterial count.

For specific labeling of bacteria, antibodies against *E. coli* and *S. aureus* were selected, which showed a high binding affinity and specificity. Using chemical coupling methods, selected an-

Fortsetzung auf Seite 2

To be continued on page 2

Fortsetzung:

IGF 20681N

verschiedenfarbige Quantum Dots gekoppelt und nachfolgend zur Keimmarkierung verwendet. Lektine und Antikörper erlaubten eine zeitgleiche Markierung aller Keime und spezifischer, hygienerelevanter Keime. Eine vertikale Elektrophorese wurde zur Abtrennung nicht gebundener Quantum Dots eingesetzt, damit eine unspezifische ECL ausgeschlossen werden konnte.

Elektrochemolumineszenz konnte mit Quantum Dots und anderen ECL-fähigen Substanzen generiert werden. Dabei war es möglich, ECL-Signale in verschiedenen Farben (blau, grün und rot) zu generieren. Aufgrund der unzureichenden Stabilität bisher verfügbarer ITO-Elektroden war es nicht möglich, die markierten Bakterien auf einem Hydrogel mittels ECL großflächig zu visualisieren. Jedoch konnte demonstriert werden, dass ECL-Signale selbst in Anwesenheit von desinfizierenden Waschmitteln und Wirkstoffen stabil blieben. Daher sind ECL-basierte Nachweisreaktionen prinzipiell in hohem Maße geeignet, um Bakterien auf aufbereiteter Wäsche ohne Fluoreszenzanregung interferenzfrei detektieren zu können.

**Der Forschungsbericht ist auf Anfrage beim
wfk - Cleaning Technology Institute erhältlich.**

Continued:

IGF 20681N

antibodies and lectins were coupled to different colored quantum dots and then used for the detection of bacteria. Lectins and antibodies could be used for simultaneous detection of the total bacterial count and specific, hygiene-relevant germs. Vertical electrophoresis was used to remove unbound quantum dots to prevent non-specific ECL.

Electrochemiluminescence could be generated with Quantum Dots and other ECL-capable substances. It was possible to generate ECL signals in different colors (blue, green and red). Due to the insufficient stability of available ITO electrodes, it was not possible to visualize the marked bacteria over a large area on a hydrogel using ECL.

However, it was possible to demonstrate that ECL signals remained stable even in the presence of disinfectant detergents and active ingredients. Therefore, ECL-based detection reactions are highly suitable for interference-free detection of bacteria on processed laundry without using fluorescence excitation.

**The research report is available on request from the
wfk - Cleaning Technology Institute**

Das IGF-Projekt 20681 N der Forschungsvereinigung Forschungskuratorium Textil e.V., Reinhardtstraße 14-16, 10117 Berlin, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

The IGF-project 20681 N of the research association Forschungskuratorium Textil e.V., Reinhardtstr. 14-16, D-10177 Berlin, was supported via the AiF within the funding program „Industrielle Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF)“ by the Federal Ministry of Economic Affairs and Climate Action (BMWi) due to a decision of the German Parliament.