

DNA-Aggregations-Display zur Prüfung der Dry-Penetration an OP-Textilien

IGF 21187 N

Mehrweg-Operationstextilien (OP-Textilien) haben gegenwärtig in Deutschland einen geringen Marktanteil, trotz ihrer Überlegenheit hinsichtlich Qualität und Tragekomfort gegenüber Einweg-OP-Textilien. Die Wettbewerbsfähigkeit von Mehrweg-OP-Textilien wird u.a. durch hohe Aufwendungen für Prüfungen zur Bestätigung der permanenten Einhaltungen der in EN 13795 genannten Kriterien für die Gebrauchstauglichkeit dieser Medizinprodukte belastet.

Die vorgeschriebenen Prüfungen beinhalten unter anderem die Testung der Barrierewirkung gegenüber Keimpenetration im trockenen Zustand (Dry Penetration) entsprechend ISO 22612. Die normative Prüfmethode sieht den Einsatz von *Bacillus atrophaeus* Sporen vor. Penetrierte Bakteriensporen werden hierbei durch klassische Kultivierungsverfahren nachgewiesen, was eine Prüfdauer von mindestens 4 Tagen bedingt. Die Prüfung kann darüber hinaus nur von spezialisierten mikrobiologischen Laboren durchgeführt werden, was einen entsprechenden Zeit- und Kostenaufwand verursacht.

Ziel des Projekts war die Entwicklung eines einfachen, innerbetrieblich anwendbaren Schnelltests zur Prüfung der Dry Penetration äquivalent zur Prüfung nach ISO 22612. Dazu wurden die normativ eingesetzten Prüfmikroorganismen durch Surrogatpartikel aus Polyamin mit vergleichbarem Durchmesser substituiert, penetrierte Surrogatpartikel sollten mit einem mehrfach einsetzbaren DNA-Aggregations-Display detektiert werden. Wenn Surrogatpartikel auf das Display übertragen werden, lösen sich diese in dem darauf befindlichen wässrigen Medium auf. Die positive Ladung der Polyamine bewirkt eine Aggregation der negativ geladenen DNA-Moleküle sowie der daran gekoppelten Aggregations-induzierten Emissions (AIE)-Fluorophore. Die Aggregation der DNA führt somit zur Bildung eines Fluoreszenzsignals (turn-on).

Als ein für Surrogatpartikel geeignetes polykationisches Amin erwies sich Spermin. Die durch das Prüftextil penetrierten Partikel sollten auf einem sogenannten Oleogel (hydrophobes Trägermaterial) aufgefangen und auf das DNA-Aggregations-Display transferiert werden. Für die Entwicklung eines Trägermaterials wurden verschiedene Oleogele hergestellt und verglichen.

DNA-aggregation-display for testing dry penetration on surgical textiles

IGF 21187 N

Reusable surgical textiles (OR textiles) currently have a small market share in Germany, despite their superiority in terms of quality and wearing comfort compared to disposable OR textiles. The competitiveness of reusable surgical textiles is burdened, among other things, by high expenses for tests to confirm permanent compliance with the criteria for the fitness for use of these medical devices specified in EN 13795.

The prescribed tests include, among others, the testing of the barrier properties against germ penetration in the dry state (dry penetration) according to ISO 22612.

The normative test method provides for the use of *Bacillus atrophaeus* spores. Penetrated bacterial spores are detected by classical cultivation methods, which requires a test duration of at least 4 days. Furthermore, the testing can only be carried out by specialised microbiological laboratories, which causes a corresponding expenditure of time and money.

The aim of the project was to develop a simple, in-house applicable rapid test for testing dry penetration equivalent to the test according to ISO 22612. For this purpose, the normatively used test microorganisms were substituted by surrogate particles made of polyamine with a comparable diameter; penetrated surrogate particles were to be detected with a DNA-aggregation-display that can be used several times. When surrogate particles are transferred to the display, they dissolve in the aqueous medium on top. The positive charge of the polyamines causes aggregation of the negatively charged DNA molecules and the aggregation-induced emission (AIE)-fluorophores coupled to them. The aggregation of the DNA thus leads to the formation of a fluorescence signal (turn-on).

Spermine proved to be a suitable polycationic amine for surrogate particles. The particles penetrated by the test textile were to be collected on a so-called oleogel (hydrophobic carrier material) and transferred to the DNA aggregation display. For the development of a carrier material, different oleogels were produced and compared.

Fortsetzung auf Seite 2

To be continued on page 2

Fortsetzung:

IGF 21187 N

Oleogele basierend auf Paraffinöl und -wachs erwiesen sich als geeignete Träger zum Auffangen und zum Transfer der Surrogatpartikel. Zur Entwicklung des DNA-Aggregations-Displays wurde zunächst eine geeignete Methode zur Kopplung von DNA auf Glasoberflächen identifiziert und in weiteren Versuchen mit Fluorophor-markierter, einzelsträngiger DNA optimiert. Die für das Display benötigte lange, doppelsträngige DNA konnte mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) synthetisiert werden. Als geeigneter AIE-Fluorophor erwies sich TPE-Benzaldehyd (4-(1,2,2-Triphenylethenyl)benzaldehyd), welches kovalent an Spermin gekoppelt wurde und bei Aggregation der DNA ein deutliches on/off-Verhalten der emittierten Fluoreszenz zeigte.

Die durch Polyamin ausgelöste Aggregation immobilisierter und mit 6-Carboxyfluorescein funktionalisierter DNA konnte fluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen werden. Unter Einsatz von AIE-funktionalisierter DNA ließ sich noch keine für einen Nachweis mit dem Auge benötigte Fluoreszenzintensität generieren. Nach Steigerung der Fluoreszenzintensität erlaubt die räumlich begrenzte Bildung von Fluoreszenzsignalen auf dem DNA-Aggregations-Display die Quantifizierung der penetrierten Partikel mittels Auge oder automatisiert mittels Kamera und Bildauswertungsverfahren.

Der Entwicklung von einfachen und von den Aufbereitungsbetrieben betriebsintern durchführbaren Schnelltests kommt eine hohe Bedeutung bei der Qualitätssicherung und der Reduktion der Kosten für die Qualitätssicherung zu. Betriebsintern durchführbare und preisgünstige Schnelltests erlauben es textilen Dienstleistungsunternehmen, zusätzliche Prüfungen auch jenseits der in Auftrag gegebenen normativen Prüfungen durchzuführen oder kurzfristig zu prüfen, ob ein aufbereitetes Textil mit optisch auffälligen Veränderungen noch den Gebrauchsanforderungen entspricht, da solche Veränderungen nicht zwangsläufig mit einem Verlust der geforderten Funktionalität korrelieren. Somit kann durch Schnelltests eine zeitnahe Prüfung erfolgen, ob das entsprechende Textil aussortiert werden muss oder in Verkehr gehalten werden kann.

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

Continued:

IGF 21187 N

Oleogels based on paraffin oil and wax proved to be suitable carriers for capturing and transferring the surrogate particles. To develop the DNA aggregation display, a suitable method for coupling DNA on glass surfaces was first identified and optimised in further experiments with fluorophore-labelled, single-stranded DNA. The long, double-stranded DNA required for the display could be synthesised using polymerase chain reaction (PCR). A suitable AIE fluorophore proved to be TPE-benzaldehyde (4-(1,2,2-triphenylethenyl)benzaldehyde), which was covalently coupled to spermine and showed a clear on/off behaviour of the emitted fluorescence when the DNA was aggregated.

The aggregation of immobilised DNA functionalised with 6-carboxyfluorescein triggered by polyamine could be detected by fluorescence microscopy. Using AIE-functionalised DNA, it was not yet possible to generate the fluorescence intensity required for detection by eye. After increasing the fluorescence intensity, the spatially limited formation of fluorescence signals on the DNA-aggregation-display allows the quantification of the penetrated particles by eye or automated by means of camera and image analysis methods.

The development of simple rapid tests that can be performed in-house by the reprocessing plants is of great importance for quality assurance and the reduction of quality assurance costs. In-house, low-cost rapid tests allow textile service providers to carry out additional tests beyond the normative tests ordered or to check at short notice whether a processed textile with visually conspicuous changes still meets the requirements for use, since such changes cannot necessarily be correlated with a loss of the required functionality.

In this way, rapid tests can be used to determine in a timely manner whether the textile in question must be sorted out or can be kept in circulation.

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

Das IGF-Projekt 21187 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 21187 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 due to a decision of the German Parliament.