

Schneller Nachweis von Mikroorganismen

ATP-Testgerät. Der Nachweis von ATP ist ein hochwirksames Instrument, um die Existenz von Mikroorganismen in verschiedensten Anwendungsbereichen zu überprüfen. Die Kunststoffkomponenten des Messgeräts müssen dabei hohe Anforderungen erfüllen.

**SABRINA JURGEIT
TOBIAS HOFMANN
DANIELA PFEUFFER**

Adenosin-Tri-Phosphat (ATP) ist der universelle Energieträger in lebenden Zellen. Die ATP-Moleküle stellen die Energie für sämtliche chemischen, osmotischen oder mechanischen Prozesse zur Verfügung. Der Nachweis von ATP stellt daher ein hochwirksames Instrument dar, um die Existenz von Keimen, Mikroben oder Pilzen in verschiedensten Anwendungsbereichen nachzuweisen.

Ein Messgerät zum Nachweis von ATP bietet die Darmstädter Merck KGaA unter dem Namen HY-LiTE an. Der Medizintechnikspezialist Riegler GmbH & Co. KG, Mühlthal bei Darmstadt, beliefert Merck mit den gesamten Kunststoffkomponenten für das komplexe System. Beide Partner arbeiten seit Jahrzehnten zusammen, das patentierte Messgerät wird unter strengsten Reinheitskriterien produziert.

Das 1946 gegründete Unternehmen Riegler positioniert sich seit über 25 Jahren als Medizintechnikzulieferer. Heute wird auf 6000 m² im Reinraumverfahren (Klasse 7 gemäß ISO 14644-1) gefertigt. Hergestellt werden vor allem Produkte für die Bereiche Diagnostik, Augenoptik und Verschlüsse für spezielle Anwendungen. Das Unternehmen beschäftigt rund 250 Mitarbeiter und produziert mit über 100 Spritzgießmaschinen. Für die Herstellung von Artikeln für die Medizintechnik

setzt Riegler eine Vielzahl automatisierter Füge- und Montagetechniken ein.

Seit 2005 gehört Riegler zur Wirthwein-Gruppe, Creglingen, die aktuell in weltweit 19 Unternehmen rund 3000 Mitarbeiter beschäftigt. Das Familienunternehmen arbeitet neben der Medizintechnik auch für die Geschäftsfelder Automotive, Bahn, Energie, Hausgeräte und Innenausbau. Diese Diversifikation ermöglicht den Austausch von Know-how und schafft eine hohe Flexibilität, beispielsweise beim Bau der Spritzgießwerkzeuge. Im Geschäftsbereich Medizintechnik werden im Kundenauftrag medizintechnische Bauteile und komplette Systeme entwickelt und gefertigt.

Einfache Anwendung der ATP-Testmethode

Mit dem System HY-LiTE lassen sich zwei unterschiedliche Testarten – Oberflächentest und Flüssigkeitstest – durchführen. Das System weist die Stoffwechsellaktivität von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen einschließlich anaerober und hochangepasster Mikroorganismen nach. Der Test kann ohne Laboreinrichtungen oder speziell ausgebildetes Personal durchgeführt werden. Daher ist er besonders anwenderfreundlich. Das System liefert innerhalb von zwei Minuten ein zuverlässiges Testergebnis.

Der ATP-Gehalt wird anhand einer Reaktion mit einer Luziferin/Luziferase-Mischung in einer Pufferlösung bestimmt. Anschließend erfolgt die Messung der emittierten Lichtmenge mit einem Luminometer. Die Lichtmenge gibt den Ver-

schmutzungsgrad an. Der Probenstift gehört zu einem System, das aus einem Tupfer zur Aufnahme der Probe und dem Luminator zum Ablesen des Testergebnisses besteht.

Funktionsweise des Messsystems

Der HY-LiTE Pen ist eine Testküvette mit gebrauchsfertig vorbereiteten Reagenzien (Bild 1). Da ATP eine weit verbreitete Substanz ist und die Probeaufnahme über die Rillen im Probenstift erfolgt, darf der Probenstift nicht mit den Fingern berührt oder anderweitig kontaminiert werden. Die Kunststoffkomponenten werden teilweise vorab durch einen externen Dienstleister im Gamma-Strahlverfahren sterilisiert, um eine Kontaminierung, beispielsweise durch die Produktion, zu vermeiden.

Zur Probenentnahme wird der Probenstift (Bild 2) in die zu testende Flüssigkeit getaucht. Durch Kapillarwirkung wird eine genau definierte Flüssigkeitsmenge in den Rillen aufgenommen. Der Pen wird auf einen festen Untergrund gesetzt und heruntergedrückt. Dabei gelangt die Probe in das Innere des Pens. Dort wird sie mit hochreinem Wasser verdünnt. Am unteren Ende des Pens befindet sich die mit einer Aluminiumfolie versiegelte Kapsel mit der gefriergetrockneten Luciferase. Durch eine Schraubbewegung schneidet der Probenstift die Aluminiumfolie auf, sodass sich die Luciferase mit der Probe vermischt. Im Luminometer wird die Lichtmenge der Probe gemessen. Der Probenbehälter muss



deshalb im Messbereich des Luminometers hochtransparent und hochglanzpoliert in optischer Qualität ausgeführt sein.

Anforderungen an das Material und den Herstellungsprozess

Da mit dem Pen Sauberkeit getestet wird, müssen alle Teile vollkommen automatisiert unter reinsten Bedingungen gefertigt und zusammengefügt werden. Die ATP-Gesamtsumme aller Teile darf nur ein Bruchteil der zu erwartenden Kontaminationen der zu testenden Flüssigkeiten betragen.

Die Kunststoffkomponenten werden mit Mehrfach-Werkzeugen auf Maschinen mit Zuhaltekräften von 250 bis 1000 kN im Spritzgießverfahren hergestellt. Für die beiden unterschiedlichen Testvarianten des HY-LiTE – Flüssigkeiten und Oberflächen – stellt Riegler insgesamt acht verschiedene Kunststoffkomponenten her. Sämtliche Werkzeuge zur Produktion in Reinräumen wurden im



Bild 1. Das Messgerät HY-LiTE als Oberflächen- test mit Probegefäß (links) und als Flüssigkeits- test mit Schutzkappe (rechts). Der Probenstift nimmt ein definiertes Probevolumen auf und überführt die Probe in die Küvette. Dort wird das Probenmaterial verdünnt, neutralisiert und gepuffert. In der Reagenzkammer wird dann mit einem Luziferin/Luziferase-Gemisch der ATP-Gehalt bestimmt

Hause Riegler selbst gebaut. Generell dürfen die Werkzeugkomponenten nicht geschmiert werden, da Schmiermittel einen Eigengehalt an ATP enthalten. Gleiteigenschaften und Notlaufeigenschaften werden durch spezielle Beschichtungen erreicht.

Die Wahl der passenden Kunststoffe stellte eine große Herausforderung dar. ATP wird im Kunststoffröhrchen mit einem Leuchtkäferenzym bestimmt, das ein schwaches Licht erzeugt. Kunststoffe, die dieses Licht absorbieren oder unter den Bedingungen im Messgerät selbst leuchten, können deshalb nicht verwendet werden. Erste Versuche zeigten, dass das Eigenleuchten der Materialien die Testergebnisse im Gerät negativ beeinflusst. Nachdem nahezu 40 verschiedene Kunststoffe geprüft wurden, stellte sich heraus, dass sich PE, PP und PBT am besten eignen. Eine weitere wichtige Anforderung ist, dass der Pen stets dicht bleiben muss. Dies gilt sowohl für die Lagerung und den Transport als auch für das Eindrücken des Kolbens und das Auslösen durch die Drehbewegung der Küvette.

Bei der Probenentnahme und Probenaufbereitung werden zwischen den einzelnen Kunststoffteilen Schiebe- und Drehbewegungen ausgeführt. Dabei muss sichergestellt werden, dass die Flüssigkeiten im Pen während dieser Bewegungen innerhalb der Behälter bleiben. Bei der Fertigung des Probenstifts wird deshalb eine Teilmontage angewendet. Dies bedeutet, dass im Anschluss an das Spritzgießen des Probestifts die Adapter über eine Trommel hinzugeführt und an den Stift montiert werden. Durch diese Technik wird eine Beschädigung der Stiftspitze während der Lagerung, des Transports und der Endmontage vermieden. Darüber hinaus ist gewährleistet, dass die Aluminiumfolie in der Reagenzkammer später sauber durchgeschnitten wird.

Anwendungsbeispiele

Der Pen wird seit vielen Jahren in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie eingesetzt. Ein weiteres Anwendungsbeispiel ist die Prüfung von Kerosintanks von Flugzeugen auf Mikroorganismen. In den Kerosinbehältern können sich Bakterien und Pilze von Kraftstoff und Kondenswasser ernähren. Die Mikroorganismen bergen hier zwei Risiken: Einerseits können sie einen Bio-Film erzeugen, der bei starker Vermehrung Brocken bilden und Kraftstoffleitungen oder Filter verstopfen kann. Zum anderen können Stoffwechselprodukte der Bakterien zu Korrosion



Bild 2. Der Probenstift ist mit einem Extraktant zur Freisetzung von ATP aus zellulärem Probenmaterial beschichtet

in den Tanks führen. Die einfache und schnelle Anwendung des Pens ermöglicht es dem Bodenpersonal, den Test kostengünstig in kurzen Intervallen durchzuführen, sodass sich die Sicherheit für Passagiere erhöht. ■

DIE AUTOREN

SABRINA JURGEIT, geb. 1990, ist als Vertriebsassistentin bei der Riegler GmbH & Co. KG, Mühlthal, tätig.

TOBIAS HOFMANN, geb. 1980, ist Projektleiter bei der Riegler GmbH & Co. KG.

DANIELA PFEUFFER, geb. 1981, ist Marketingreferentin bei der Wirthwein AG, Creglingen.

SUMMARY

RAPID DETECTION METHOD FOR IDENTIFYING MICROORGANISMS

ATP TEST DEVICE. Detecting ATP is a highly effective way of testing the presence of microorganisms in various fields of application. All plastic components of the concerning measuring instrument have to fulfil strict specifications.

Read the complete article in our magazine

Kunststoffe international and on

www.kunststoffe-international.com