

Schlussbericht – Teil I (Kurzbericht)

Titel des Verbundvorhabens:

Miniaturisiertes Elektroniksystem zur schnellen Detektion von Viren und Bakterien im Desinfektionsmittelspender

Teilprojekt: „Detektion und mikrobielle Datenbank“

Förderkennzeichen: 16ME0375

Akronym: *GeDeSens2^{Virus}*



Zuwendungsempfänger:

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Prof. Dr. Winfried Römer

Fakultät für Biologie

BIOSS - Zentrum für Biologische Signalstudien

Schänzlestraße 18

79104 Freiburg

Laufzeit des Vorhabens:

Ursprüngliche Bewilligung vom 01.06.2021 bis zum 31.05.2024, danach kostenneutrale Verlängerung bis 31.12.2024

I. Kurze Darstellung

Durch die Sars-CoV-2 Pandemie, aber auch durch kommende Grippewellen und zunehmende nosokomiale Infektionen wird unser Gesundheitssystem immer wieder vor große Herausforderungen gestellt. Beim gegenwärtigen Stand der Technik können Infektionen und Kontaminationen mit Krankheitserregern leider nur aufwendig und langwierig im Labor analysiert und identifiziert werden. Bei einer geeigneten Früherkennung könnten immense Summen an Geld gespart und viele Menschenleben gerettet werden. Besonders während der Sars-CoV-2 Pandemie haben wir die Erfahrung gemacht, dass Händehygiene eine zentrale Rolle bei der Infektionsprävention spielt.

Die Zielsetzung von *GeDeSens2^{Virus}* war, einen Händehygienspender zur Händedesinfektion um ein Frühwarnsystem zu erweitern, das virale und bakterielle Kontaminationen während eines sogenannten Händehygieneevents erkennt, um so die Verbreitung von Keimen zu detektieren und weitestgehend zu verringern.

Das geplante Spender-integrierte Frühwarnsystem basierte dabei auf einer mikrofluidischen Vorsortierung von Partikeln (z.B. Keime oder Hautzellen), optischen und spektroskopischen Detektionseinheiten, und der Klassifizierung der Krankheitserreger auf Basis von Algorithmen der Künstlichen Intelligenz (KI) mit dem Ziel, während eines Händehygieneevents Kontaminationen auf der Hand binnen Sekunden zu erkennen.

Das Konsortium bestand aus insgesamt sechs Partnern, der Ophardt Hygiene-Technik GmbH & Co. KG, der Universität Stuttgart (Institut für Technische Optik), Ibidi GmbH, ADDI-DATA GmbH, Sciospec Scientific Instruments GmbH und der Universität Freiburg (Synthetische Biologie von Signalprozessen). Die Verwertung der Ergebnisse innerhalb des Konsortiums wurde über einen Kooperationsvertrag geregelt, dem alle Parteien des Verbundvorhabens rechtskräftig zugestimmt haben. Während der Projektlaufzeit erfolgte eine intensive Zusammenarbeit zwischen den Verbundpartnern. Neben jährlichen Projekttreffen (z.B. in Freiburg, Issum und Stuttgart) bei denen der Projektverlauf diskutiert und abgestimmt wurde, erfolgten darüber hinaus regelmäßige Videokonferenzen zur Diskussion der Ergebnisse und zur weiteren Abstimmung des Gesamtvorhabens.

Das übergeordnete Ziel des Teilvorhabens „*Detektion und Mikrobielle Datenbank*“ der Universität Freiburg bestand darin, die biologischen und technischen Voraussetzungen zu schaffen, um im mobilen Früherkennungssystem Erreger-spezifische Daten zu generieren, damit eine Mustererkennung durchgeführt werden kann.

Zur verlässlichen Erprobung der verschiedenen Detektionstechniken wurden zuerst Stammlösungen der Krankheitserreger (bis zu 6 repräsentative Bakterien) mikrobiologisch charakterisiert und dann kontinuierlich Mischsuspensionen in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt. Nach intensiver Testung von verschiedenen Detektionsmethoden (Lichtmikroskopie und Impedanzspektroskopie) wurde nach Absprache mit dem Projektträger der Fokus auf die optische Charakterisierung der Keime gelegt. Im weiteren Projektverlauf wurde dabei das zur Detektion eingesetzte Labor-Lichtmikroskop bewußt durch ein kostengünstiges, selbstgebautes „Mini-Mikroskop“ (Ophardt, Universität Stuttgart) ersetzt und zusammen mit einer Peristaltikpumpe zum Probentransport hin zu einem mikrofluidischen Detektionschip in den Desinfektionsmittelspender integriert (zusammen mit Ophardt, ADDI-

DATA). Die Chipentwicklung (Design, Kanalbeschaffenheit) für Aufnahmen im Durchfluss erfolgte in enger Zusammenarbeit mit den Partnern Ibidi und Ophardt.

Durch Bildanalyse wurden Objekte in den Bildern identifiziert und über sogenannte Formbeschreibende Parameter (wie z.B Fläche, Umfang, Zirkularität, Seitenverhältnis) näher beschrieben. Der resultierende Datensatz wurde dann benutzt, um einen auf KI-basierenden Algorithmus (z.B. Random Forest Classifier) zu trainieren. Die anfängliche Bildanalyse war nicht voll automatisiert und erforderte eine manuelle Kuratierung der Objekte. Dabei wurden falsch identifizierte Objekte entfernt, was die Ergebnisse deutlich verbesserte.

Neben der Bild-Segmentierungsmethode wurde vor allem auch die Klassifizierung der ausgewählten Bakterienstämme mittels einer neuen Klassifizierungsarchitektur optimiert. Hierbei durchlaufen die Objekte eine zweistufige Zuordnung. Die Objekte werden zunächst auf einer ersten Analysestufe, welche jeweils einen spezifischen Klassifizierer für jeden einzelnen Bakterienstamm verwendet, analysiert und direkt zugeordnet, oder im Fall von zwei positiven Ergebnissen für unterschiedliche Stämme weiter in einer zweiten Analysestufe, der „Nicht-Eindeutig-Stufe“, analysiert. Bei keinem positiven Ergebnis gelten die Objekte als nicht klassifizierbar. Hiermit konnten bestimmte Bakterienstämme aus einer Mischung anhand ihrer Bildparameter präzise identifiziert werden. In einer Mischung mit fünffach angereicherter Konzentration von *P. aeruginosa* oder *S. aureus* konnte eine deutliche Mehrheit dieser Stämme durch die Analyse erkannt werden, was leider nicht für alle getesteten Bakterienstämme der Fall war; besonders *E. coli* wurde nicht verlässlich zugeordnet.

Wir hatten als zusätzliches Projektziel definiert, eine Kontamination der Hand mit einem konkreten Pathogen vom normalen Handmikrobiom zu unterscheiden. Dazu wurden Handabdrucke gesammelt und vermehrt, ein pathogenes Bakterium in einer bestimmten Konzentration hinzugefügt und die Mischungen analysiert. Die Ergebnisse zeigten eine relativ akkurate Erkennung und Zuordnung des pathogenen Bakterienstammes im Vergleich zum Handmikrobiom.

Um zu untersuchen, wie sich Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung von Bakterien nutzen lassen, um eine einzelne bakterielle Spezies in Mischungen zu identifizieren und zu quantifizieren, wurden verschiedene spektroskopische Methoden angewendet. Die Absorption der einzelnen Bakterienstämme sowie deren Mischungen wurde in drei Bereichen des elektromagnetischen Spektrums analysiert: sichtbares Licht (VIS), Nahinfrarot (NIR) und kurzwelliger Infrarotbereich (SWIR). Die Spektroskopie mit kostengünstigen und kompakten Geräten zeigte im sichtbaren und infraroten Bereich die Fähigkeit, Gram-positive und Gram-negative Bakterien zu unterscheiden, sowie *P. aeruginosa* in Mischungen selbst bei Anteilen unter 5 % zu detektieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Verbundprojekt *GeDeSens2^{Virus}* mit einem voll-funktionsfähigen Demonstrator zur Detektion von Keimen, mehreren wissenschaftlichen Veröffentlichungen und erfolgten Patentanmeldungen, sowie einer erfolgreich eingeworbenen Anschlussfinanzierung im Rahmen einer deutsch-französischen Ausschreibung (Akronym: LAIveBactDetect) erfolgreich abgeschlossen wurde.