

Dansk Resumé

På grund af en øget offentlig bekymring vedrørende fødevaresikkerhed og kvalitet, har fødevareindustrien et presserende behov for hurtige og pålidelige detektions-teknologier til forurening. Konventionelle patogene detektionsmetoder er tidskrævende, omkostningsfuld og kræver uddannede laboratorie medarbejdere, og er derfor også uegnede til praktisk arbejde udenfor laboratoriet. Mikrofluide bio-analytiske systemer kan effektivt tilgå denne udfordring gennem automatisk og hurtig patogene detektion i lab-on-a-chip (LOC) opstillinger. Denne afhandling fokuserer på udviklingen af en flowcytometri baseret integreret mikrofluid sensing platform bestående af et berigelses og et detektions modul. For at etablere bakteriel opformering i LOC opstillingen, blev både konventionelle i-rør og mikrofluid on-chip metoder undersøgt, og herefter forbundet med et optisk detektionssystem.

Til dette formål er der først og fremmest blevet udviklet et model system til immunomagnetisk separation (IMS) af bakterier som en celle berigelse teknik. Metoden indbefattede: forberedelse af paramagnetiske partikler forbundet med specifikke antistoffer, berigelse gennem IMS og endelig flowcytometrisk detektion af opsnappe bakterier efter levedygtigheds farvning. Adskillige poly-og monoklonale antistoffer blev undersøgt, med det formål at skabe effektive immunomagnetiske kluger (IMBs). Det mest egnede antistof blev valgt ved at anvende en enzymbundet immunsorbentassay (ELISA) og flowcytometri-analyser. De væsentligste parametre for IMB forberedelse, magnetisk separation og flowcytometrisk undersøgelser blev optimeret, hvor carboxyfluorescein-diacetat (CFDA) blev anvendt for at evaluere levedygtigheden af cellen. I den mest optimerede tilstand, viste den udviklede metode 98% indfangningseffektivitet mod specifik antigen *Salmonella typhimurium* og meget lav (<5%) binding med ikke tilsigtede bakterie stammer.

Dernæst blev IMS implementeret i det mikrofluide miljø hvor en magneto-mikrofluid opstilling blev udviklet til at opnå dette. Den magnetiske del var en kombination af to elektromagneter, der blev kontrolleret af en DC-DC-konverter og en magnetisk del. En disponibel PDMS chip fabrikeret ved brug af standard fotolitografi blev brugt til både immuno-opsamling og separations trin. Det resulterende alternerende magnetfelt, der dannes af elektromagneterne, guidede de funktionaliserede paramagnetiske kugler i en sinusformet kurve inde i mikro kanalen og dermed øgede sandsynligheden for vekselvirkning mellem reaktionspartnerne. Den optimale kanal

geometri, flow hastighed, vekslende magnetfelt frekvens og kugle størrelse blev fastsat. Det var muligt at opnå en opsamlings virkningsgrad på ca. 68% ved anvendelsen af en kanalbredde på 100 μm , med en flow hastighed på ca. 0,8 mm/s (flow hastighed 0,5 pl/min). Det var muligt at opnå en detektionsgrænse på ca. 10^3 cells/mL.

Endelig er et design til en integreret mikrofluid opstilling blevet foreslået, hvor der kan udføres tre forskellige laboratorie funktioner, nemlig mikrobiel berigelse og separation via IMS og optisk detektion gennem flowcytometri i en enkelt disponibel PDMS chip. Det foreslåede lab-on-a-chip mikrofluid system bør tillade en at isolere, koncentrere og derefter opdage patogener i fødevarer, foder eller drikkevarer industrien i realtid og har potentiale til at give betydelige fordele i forhold til konventionelle systemer.