



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117500532 A

(43) 申请公布日 2024. 02. 02

(21) 申请号 202280043303.4

(22) 申请日 2022.05.24

(30) 优先权数据

63/211,018 2021.06.16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.12.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2022/054856 2022.05.24

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2022/263950 EN 2022.12.22

(71) 申请人 3M创新有限公司

地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 弗朗索瓦·阿希穆

G·马可·博马里托

蒂莫西·A·科曼

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

专利代理师 梁晓广 李金刚

(51) Int.Cl.

A61L 2/26 (2006.01)

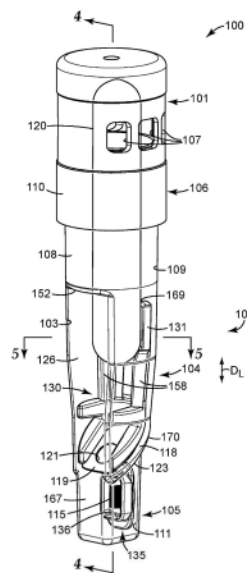
权利要求书2页 说明书36页 附图6页

## (54) 发明名称

具有调整的抗性特性的生物指示器

## (57) 摘要

本发明提供了一种生物灭菌指示器 (BI)。该 BI 可以包括壳体和设置在该壳体中的容器。该 BI 还可包括第一室和第二室, 其中安置有生物活性源。该 BI 还可以包括基底, 该基底设置在该壳体中在该第一室与该第二室之间。该基底可被设置为与该第一室和该第二室流体连通, 并且该基底还可被设置为使得该基底不直接接触该生物活性源。该基底可包括具有孔口的疏水性无孔膜。该基底和该孔口的尺寸被设计为控制第一隔室与第二隔室之间的流体流动。该基底可在该第一隔室与该第二隔室之间基本上围绕该壳体的整个内周边延伸。



1. 一种生物灭菌指示器,所述生物灭菌指示器包括:

壳体;

容器,所述容器包含液体,并且尺寸被设计为设置在所述壳体内,所述容器的至少一部分是易碎的,所述容器具有第一状态和第二状态,在所述第一状态时,所述容器是完好的并且所述液体不与所述壳体的内部流体连通,在所述第二状态时,所述容器为破碎的并且所述液体与所述壳体的内部流体连通;

在所述壳体中的第一隔室,当所述容器处于所述第一状态时,所述容器设置在所述第一隔室中;

在所述壳体中的第二隔室,当所述容器处于所述第一状态时,所述容器和所述液体不设置在所述第二隔室中,所述第二隔室含有生物活性源,当所述容器处于所述第一状态时,所述生物活性源不与所述液体流体连通,并且当所述容器处于所述第二状态时,所述生物活性源与所述液体流体连通;

基底,所述基底被安置在所述壳体中,位于所述第一隔室与所述第二隔室之间,所述基底还被设置为使得所述基底不直接接触所述生物活性源;

其中所述基底包括具有孔口的疏水性无孔膜;

其中所述基底和所述孔口的尺寸被设计为控制所述第一隔室与所述第二隔室之间的流体流动;并且

其中所述基底在所述第一隔室与所述第二隔室之间基本上围绕所述壳体的整个内周边延伸。

2. 根据权利要求1所述的生物灭菌指示器,其中所述孔口具有至少约 $1.2\text{mm}^2$ 的面积。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的生物灭菌指示器,其中所述基底附接至基底支撑件,其中所述基底或所述基底支撑件基本上围绕整个内表面延伸。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,所述生物灭菌指示器还包括打破件,所述打破件位于所述壳体中,并且被构造为当所述容器完好时保持所述容器,并且用于使所述容器破碎。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述第二隔室包括要检查以确定灭菌过程的致死率的空间,并且其中所述基底设置在要检查的所述空间之外。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述基底至少部分地限定所述第一隔室和所述第二隔室。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述基底被设置为当所述容器处于所述第二状态时限制可检测产物从所述第二隔室向所述第一隔室扩散。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述基底被设置为当所述容器处于所述第一状态时控制向所述生物活性源递送灭菌剂的速率。

9. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,所述生物灭菌指示器还包括:

第一流体路径,所述第一流体路径被设置为使所述第一隔室与所述第二隔室流体联接,所述第一流体路径被设置为当所述容器处于所述第一状态时,允许灭菌剂从所述第一隔室移动至所述第二隔室中,并且当所述容器处于所述第二状态时,允许所述液体从所述第一隔室移动至所述第二隔室中;和

第二流体路径,所述第二流体路径被设置为使所述第二隔室与所述生物灭菌指示器的

另一个隔室流体联接,所述第二流体路径被设置为当所述灭菌剂或所述液体从所述第一隔室向所述第二隔室移动时,允许被替换的气体移动离开所述第二隔室。

10. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述生物活性源容纳在源载体中,并且其中所述基底不与所述生物活性源和所述源载体中的至少一者直接接触。

11. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中当所述容器处于所述第一状态时,所述基底不直接接触所述容器。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,所述生物灭菌指示器还包括被设置成将所述第一隔室与所述第二隔室分开的壁,其中所述基底被设置为邻近所述壁。

13. 根据权利要求4至12中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述打破件位于所述壳体的所述第一隔室中。

14. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,所述生物灭菌指示器还包括被设置成将所述第一隔室与所述第二隔室分开的壁,其中所述基底被设置在所述打破件与所述壁之间。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述打破件被设置成当所述容器处于所述第一状态时保持所述容器在壳体中基本上一致的位置中完好。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述打破件被设置成当所述容器处于所述第一状态时,在维持基本上恒定的灭菌剂路径的位置中保持所述容器完好。

17. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述打破件适于允许所述容器在所述壳体中在第一位置与第二位置之间移动,在所述第一位置,所述容器处于所述第一状态,在所述第二位置,所述容器处于所述第二状态。

18. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中当所述容器处于所述第一状态时,所述基底设置在所述容器与所述生物活性源之间。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中当所述容器处于所述第二状态时,所述基底设置在所述液体中。

20. 根据权利要求19所述的生物灭菌指示器,其中所述壁和所述基底相对于所述生物灭菌指示器的纵向方向以非零度和非直角的角度取向。

21. 根据前述权利要求中任一项所述的生物灭菌指示器,其中所述孔口沿着所述内周边的一部分延伸。

## 具有调整的抗性特性的生物指示器

### 技术领域

[0001] 本发明总体涉及灭菌指示器,并且具体涉及生物灭菌指示器。

### 背景技术

[0002] 在许多产业如健康护理产业中,以及在其他产业应用中,可能有必要监测用来对诸如医疗装置、仪器以及其他一次性和非一次性制品的装备进行灭菌过程的有效性。在这些情况下,灭菌通常被定义为完全破坏诸如微生物(包括诸如病毒和孢子的结构)的所有能存活生物活性源的过程。作为标准操作,医院备有灭菌指示器,该指示器与一批制品放在一起以测试灭菌过程的致死率。已经使用了生物灭菌指示器和化学灭菌指示器。

[0003] 一种标准类型的生物灭菌指示器包括已知量的测试微生物,例如嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*) (以前称为嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*))或萎缩芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus*) (以前称为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*))孢子,这些测试微生物抵抗特定灭菌过程的能力可比其他污染生物体大许多倍。在指示器受到灭菌过程后,生物活性源(例如,孢子)可在营养培养基中温育,以确定是否有任何生物活性源在灭菌过程后存活,并且源代谢和/或生长表明灭菌过程不足以破坏所有生物活性源。

[0004] 医院灭菌器中的延长周期是具有比通常使用的周期更长的暴露时间的周期。这些长的灭菌周期由医疗装置制造商在其使用说明中指定。例如,132°C动态空气移除周期中的4分钟蒸汽暴露时间通常用于对许多医疗装置进行灭菌。医疗装置的一些制造商推荐“延长的周期”,该延长的周期包括在132°C动态空气移除周期中的10分钟蒸汽暴露时间以对其装置进行灭菌。这些医疗装置(诸如剪刀和矫形外科仪器)偶尔具有复杂的设计,但通常具有更大的质量,含有带内腔的部件,或具有抑制蒸汽接触所有表面的表面。

[0005] 传统的生物指示器并不总是具有足够的抗性以用于监测延长的周期。目前,设计用于监测延长的周期的所有灭菌过程挑战装置包括由最终用户将生物制品放入设备中,从而为灭菌过程增加更多可变性。需要可用于监测延长的灭菌周期的更好的整装配套式生物指示器。

### 发明内容

[0006] 现在已知的是,可在生物灭菌指示器中设置包括孔口的无孔疏水性基底以在生物指示器中形成两个隔室-一个隔室含有液体检测介质的可打开(例如,易碎)容器,并且另一个隔室含有可检测的生物活性源。现在还已知的是,在生物灭菌指示器中采用此类基底可导致生物活性源比具有由其它材料制成的基底的生物灭菌指示器对灭菌过程(例如,使用蒸汽或过氧化物灭菌剂的过程)更具抗性(例如,具有更高的D值)。有利地,增加的抗性使得本公开的生物灭菌指示器对于监测延长的周期更有用,该延长的周期通常使得待灭菌的物品在灭菌条件下暴露更长时间。此外,本公开的生物灭菌指示器的无孔疏水性基底有利地在灭菌之前提供湿气屏障,导致保持它们增加的抗性性质。

[0007] 本发明的一些方面提供一种生物灭菌指示器。生物灭菌指示器可包括壳体和容器,该容器包含液体,并且尺寸被设计成能够设置在壳体中。容器的至少一部分可为易碎的,并且容器可具有第一状态和第二状态,在第一状态下,容器是完好的并且液体不与壳体的内部流体连通,在第二状态下,容器是碎裂的并且液体与壳体的内部流体连通。生物灭菌指示器还可以包括壳体中的第一隔室和壳体中的第二隔室,当容器处于第一状态时容器设置在壳体中的第一隔室中,当容器处于第一状态时容器和液体不会设置在壳体中的第二隔室中。第二隔室可以含有生物活性源,当容器处于第一状态时生物活性源不与液体流体连通,而当容器处于第二状态时生物活性源与液体流体连通。生物灭菌指示器还可以包括安置在壳体中,位于第一隔室与第二隔室之间的基底。基底可被设置为与第一隔室和第二隔室流体连通,并且基底还可被设置为使得基底不直接接触生物活性源。基底可包括具有孔口的疏水性无孔膜。基底和孔口的尺寸被设计为控制第一隔室与第二隔室之间的流体流动。基底可在第一隔室与第二隔室之间基本上围绕壳体的整个内周边延伸。

[0008] 在上述实施方案中的任一个实施方案中,基底可附接至基底支撑件,其中基底或基底支撑件基本上围绕整个内表面延伸。在上述实施方案的任一个实施方案中,基底可至少部分地限定第一隔室和第二隔室。在上述实施方案的任一个实施方案中,生物灭菌指示器还可以包括第一流体路径和第二流体路径,该第一流体路径被设置为使第一隔室与第二隔室流体联接,第一流体路径被设置为,当容器处于第一状态时允许灭菌剂从第一隔室移动到第二隔室中,并且当容器处于第二状态时允许液体从第一隔室移动到第二隔室中;该第二流体路径被设置为使生物灭菌指示器的第二隔室与另一个隔室流体联接,第二流体路径被设置为当灭菌剂或液体从第一隔室向第二隔室移动时,允许被替换的气体移动离开第二隔室。在上述实施方案中的任一个实施方案中,孔口可沿内周边的一部分延伸。

[0009] 参考具体实施方式和附图,本公开的其他特征和方面将变得显而易见。

## 附图说明

[0010] 图1为根据本公开的生物灭菌指示器的前透视图,该生物灭菌指示器包括根据本公开的一个实施方案的无孔疏水性基底,该生物灭菌指示器包括壳体,该壳体包括第一部分和第二部分。

[0011] 图2为图1的生物灭菌指示器的后透视图。

[0012] 图3为图1至图2的生物灭菌指示器的前分解图。

[0013] 图4为沿图1的线4-4截取的图1至图3的生物灭菌指示器的侧剖视图,该生物灭菌指示器以第一状态示出,并且该生物灭菌指示器的壳体的第二部分以第一位置示出。

[0014] 图5为沿图1的线5-5截取的图1至图4的生物灭菌指示器的顶剖视图。

[0015] 图6为图1至图5的生物灭菌指示器的侧剖视图,生物灭菌指示器以第二状态示出,并且生物灭菌指示器的壳体的第二部分以第二位置示出。

[0016] 图7为图1至图6的生物灭菌指示器的顶剖视图,其中为清楚起见移除了一些部分。

## 具体实施方式

[0017] 在详细解释本公开的任何实施方案之前,应当理解,本发明在其应用中不限于下文说明中所提及或下文附图中所示出的构造细节和部件布置方式。本发明能够具有其他实

施方案,并且能够以各种方式实践或实施。而且,应当理解,本文使用的措辞和术语是用于说明目的而不应视为限制性的。本文中“包括”、“包含”或“具有”以及其变型的使用意指涵盖其后所列举的项目及其等同形式以及附加的项目。除非另有说明或限制,否则术语“支撑”和“联接”及其变体被广泛使用,并且包括直接和间接支撑和联接。此外,“连接”和“联接”不限于物理或机械连接或联接。应当理解,在不偏离本公开范围的情况下,可采用其他实施方案并且可进行结构变化或逻辑变化。此外,诸如“前”、“后”、“顶”、“底”等术语仅用于描述彼此相关的元件,而决不意味着叙述设备的特定方位,以指示或暗示设备的必要或所需方位,或指定在使用中如何使用、安装、显示或定位本文描述的本发明。

[0018] 本发明总体涉及灭菌指示器,具体涉及生物灭菌指示器。生物灭菌指示器有时也称为“生物无菌指示器”,或简称为“生物指示器”。本公开的生物灭菌指示器的实施方案是整装配套式的,并且可以用于确定灭菌过程的致死率。本公开总体涉及生物灭菌指示器的构造,其允许至少下列中的一者或多者:在灭菌期间容纳与生物活性源分离的液体(例如,水性混合物),并且允许在灭菌之后组合液体和生物活性源;有利于灭菌剂移动至生物灭菌指示器中容纳生物活性源的位置(例如,封闭端);在灭菌期间将含有液体的易碎容器(例如安瓿,诸如玻璃安瓿)保持在与生物灭菌指示器中的生物活性源分开的位置;在生物灭菌指示器激活(如通过使容器破碎)期间从易碎容器释放液体;在激活期间控制和/或促进液体移动至生物灭菌指示器中容纳生物活性源的位置;提供基本上恒定的灭菌剂路径;收集和/或保持破碎容器的一些部分(如,抑制破碎部分移动至生物活性源附近);使生物活性源和/或信号或可检测产物远离生物灭菌指示器的源位置或检测区域的扩散最小化(例如,以加强检测);以及整体控制和/或帮助流体在生物灭菌指示器内流动(如,通过使用基底和一个或多个内部排放口)。

[0019] 加压蒸汽或其他通用灭菌剂可用于对在保健环境中所用的装备及补给品进行灭菌。可以用小型整装配套式指示器,诸如生物灭菌指示器检验灭菌过程的效果。这些指示器可以是生物性的并且可包含生物活性源。

[0020] 在灭菌工序后用于培育生物活性源(例如,孢子)的营养培养基可存在于整个灭菌工序中,但其不得为生物活性源所触及除非有此需要。例如,易碎的小袋或容器(例如,安瓿,诸如玻璃安瓿)可与生物活性源分开容纳“板上”的培养基,并且可使该容器破碎以在需要时(例如,在灭菌过程后)使生物活性源与培养基彼此流体连通。有利于微生物生长的营养物质和营养培养基是本领域已知的,并可见于例如佛罗里达州博卡拉顿(Boca Raton, Fla.)的CRC出版社出版的Ronald Atlas的《微生物培养基手册》(Handbook of Microbiological Media)。Matner等人(美国专利号5,073,488,该专利全文以引用方式并入本文中)描述了一种用于培养和检测生物灭菌指示器中的细菌孢子的营养培养基,该营养培养基可用于本公开的生物灭菌指示器中。

[0021] 通常,要对生物活性源(例如,微生物)加以选择,以用于抵抗特定灭菌过程的生物灭菌指示器中。本发明的生物灭菌指示器包括一个或多个已知生物活性源(例如,微生物菌种)的活菌数量或培养物。此类生物活性源可以是微生物孢子的形式。生物灭菌指示器中的测试源或者经成功的灭菌周期被杀灭,或者如果灭菌周期出于某种原因不足够则存活下来。有时至少部分地使用细菌孢子而不是生物体的营养体型,因为已知营养体细菌相对容易地被灭菌过程杀灭。孢子还可具有优秀的存储特性并且能够将其休眠状态留存多年。因

此,在一些实施方案中,标准化孢子菌株的种菌的灭菌可提供在灭菌室中所有微生物已经发生失活的高可信度。

[0022] 仅作为举例而言,本公开将生物灭菌指示器中使用的一个或多个生物活性源描述为“孢子”;然而,应当理解,在生物灭菌指示器的具体实施方案中使用的源类型(例如,孢子)被选择为对所考虑的具体灭菌过程具有高度抗性。因此,本发明的不同实施方案可使用不同的生物活性源,这取决于特定实施方案有意采用的灭菌过程。为简单起见,术语“孢子”在本公开中通篇使用,但应当理解,在本公开的生物灭菌指示器中也可使用其他生物活性源,诸如微生物(例如,细菌、真菌、病毒等)、孢子(例如,细菌、真菌等)、酶、酶活性的底物、ATP、微生物代谢物或它们的组合。

[0023] 短语“生物活性”通常是指任何具体的催化过程或与生物细胞相关的过程的组。生物活性的非限制性示例包括分解酶活动(如,碳水化合物发酵途径)、合成代谢酶活动(如,核酸、氨基酸或蛋白合成)、偶联反应(如,代谢途径)、生物分子介导的氧化还原反应(如,电子传递体系)和生物荧光反应。“预定”生物活性意指该方法针对特定的生物过程(例如酶反应)或生物过程的组(例如生化途径)的检测。本领域的普通技术人员应当理解,某些预定的生物活性可与特定类型的细胞(例如,癌细胞或微生物)或病理过程相关。

[0024] 相似地,应当理解,本公开使用的包括术语“孢子”的短语,诸如“孢子载体”、“孢子贮存室”、“孢子区域”、“孢子生长隔室”等,仅为了简单起见而使用,但此类部件、元件或短语同样适用于其他生物活性源,并不旨在仅仅指孢子。例如,上述短语还可以称为“源载体”、“源区域”、“源贮存室”、“源生长隔室”等。

[0025] 将孢子和培养基集合在一起的过程可称为生物灭菌指示器的“激活”。即,术语“激活”及其变型在相对于生物灭菌指示器使用时,可以通常是指使生物活性源(例如,孢子)与液体或培养基(例如,所关注的孢子的营养培养基)流体连通。例如,当含有培养基的生物灭菌指示器内的易碎容器至少部分地破碎、穿孔、刺穿、压碎、断裂等,使得培养基已被放置为与生物活性源流体连通时,该生物灭菌指示器可被描述为已被“激活”。换句话说,当生物活性源已暴露于先前与生物活性源分开容纳的培养基时,生物灭菌指示器已被激活。

[0026] 一些现有的灭菌指示器,特别是生物灭菌指示器包括壳体和包含液体(例如,营养培养基)的容器,壳体限定其中的单个室,并且多种部件设置在其中,例如适于将生物活性源设置在生物灭菌指示器中的所需位置(如,封闭端)的源载体(例如,孢子条)。然而,本公开总体涉及具有在壳体内形成的不止一个隔室的生物灭菌指示器,使得容器和生物活性源特别是在灭菌期间可被彼此分开地容纳在生物灭菌指示器的单独区域。虽然本公开的生物灭菌指示器可以包括不止一个隔室并用于将容器和生物活性源分开,但本公开的生物灭菌指示器被设计为使得部件之间的此类分离不会不利地影响生物灭菌指示器的其他功能。例如,本发明的生物灭菌指示器还可以有利于(1)在灭菌过程中使灭菌剂移动至生物活性源,和/或(2)在需要时(例如,灭菌之后和生物灭菌指示器激活期间)使液体移动至与生物活性源接触。

[0027] 在一些实施方案中,可以通过利用一个或多个内部排放口或排放通道促进液体流经生物灭菌指示器和/或在其内部流动。此类内部排放口可以由在生物灭菌指示器内形成的流体路径提供。术语“排放口”、“内部排放口”、“排放通道”或其变型可以通常是指此类流体路径:其被设置为当另一种流体(例如,液体、气体或它们的组合)移动到生物灭菌指示器

的一个区域(例如,隔室、贮存室、空间、部分等)时,允许该区域中存在的气体被替换。具体地讲,此类短语通常是指内部流体路径,其允许将生物灭菌指示器内的一个区域排放到生物灭菌指示器内的另一个区域(例如,当生物灭菌指示器与外界隔离时),以有利于流体移动至生物灭菌指示器的所需区域。此外,生物灭菌指示器内的此类排放特别是在要移动的流体体积大于较小区域的体积时,可以有利于使流体从生物灭菌指示器的较大区域移动至较小区域(例如,封闭端)。

[0028] 在一些实施例中,即使没有使用物质力,或任何外力,例如离心、摇动、轻拍等,此类内部排放也可以有利于流体在生物灭菌指示器内或贯穿生物灭菌指示器流动。在一些实施方案中,本公开的生物灭菌指示器可以包括被设置为使第一隔室与第二隔室流体联接的第一流体路径以及被设置为使第二隔室与生物灭菌指示器内的另一个隔室(例如,第一隔室)流体联接的第二流体路径。第一流体路径通常可用于使灭菌剂(即,灭菌期间)和/或液体(即,激活期间)从第一隔室移动至第二隔室,第二流体路径通常可用作第二隔室的排放口,以允许气体从第二隔室逸出并有利于使灭菌剂和/或液体移动到第二隔室。在此类实施方案中,第一隔室可用于容纳含有液体的容器,第二隔室可用于容纳生物活性源。

[0029] 在生物灭菌指示器经受灭菌周期之后,灭菌装载物(例如,包括需要灭菌的物品和生物灭菌指示器)可从灭菌器移除。使生物灭菌指示器进行过程的第一步骤中的一个步骤可包括激活生物灭菌指示器。在一些实施例中,激活可包括关闭生物灭菌指示器,其可包括将生物灭菌指示器的一部分(例如,顶盖)相对于生物灭菌指示器的另一部分(例如,管件、基座、管状体等)移动。在一些实施方案中,生物灭菌指示器的内部在灭菌期间可保持与环境流体连通,但是在灭菌后与环境隔离。例如,在一些实施方案中,生物灭菌指示器的顶盖可在灭菌期间在第一位置连接到生物灭菌指示器的管件,该第一位置保持生物灭菌指示器的内部和环境之间流体连通。在灭菌后,可将顶盖进一步按压到管件上(例如,按压至第二位置,在该第二位置,生物灭菌指示器的内部不再与环境流体连通)以保持无菌并减少用于支持孢子的代谢活动和/或生长(如果仍然能活)的培养基(例如,液体)的蒸发率。培养基可在灭菌期间被包含并在灭菌之后释放到生物灭菌指示器的内部。例如,可以在灭菌期间将培养基与孢子分开容纳在易碎容器中,在灭菌后的激活步骤期间(例如,响应于使顶盖相对于生物灭菌指示器的管件或基部移动)易碎容器可以至少部分地破碎,从而使培养基与孢子流体连通,以确保孢子的适当营养。

[0030] 在本发明的一些实施方案中,关闭生物灭菌指示器(例如,相对于另一部分移动一部分以密封内部)可包括或引起包含有培养基的易碎容器的碎裂,使得关闭生物灭菌指示器引起生物灭菌指示器的激活。本公开的生物灭菌指示器可用于多种灭菌过程,包括但不限于暴露于蒸汽(例如,加压蒸汽)、干热、气体或液体试剂(例如,环氧乙烷、过氧化氢、过乙酸、臭氧或它们的组合)、辐射或者它们的组合。在灭菌过程中的至少一些过程中,在过程中包括或者可能遇到高温,例如50°C、100°C、121°C、132°C、134°C等。此外,可能遇到高压和/或真空,例如15psi ( $1 \times 10^5$ Pa)。

[0031] 如上所述,根据使用的灭菌过程选择特定系统中使用的生物活性源。例如,对于蒸汽灭菌过程,可以使用嗜热脂肪地芽孢杆菌或嗜热脂肪芽孢杆菌或它们的孢子。在另一示例中,对于环氧乙烷灭菌过程,可以使用萎缩芽孢杆菌(以前称为枯草芽孢杆菌)或它们的孢子。在一些实施方案中,抗灭菌过程的孢子可以包括(但不限于)如下项中的至少一者:嗜

热脂肪地芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、萎缩芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)、凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*)、产孢梭菌 (*Clostridium sporogenes*)、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 或它们的组合。

[0032] 可适用于本公开的生物灭菌指示器的酶和底物在美国专利号5,073,488 (Matner 等人)、美国专利号5,418,167 (Matner 等人) 和美国专利号5,223,401 (Foltz 等人) 中鉴定, 该专利的全部公开内容以引用方式并入本文中。

[0033] 合适的酶包括水解酶类和/或衍生自产孢子微生物, 诸如嗜热脂肪芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的酶类。可用于本公开的生物灭菌指示器的来自产孢子微生物的酶类可包括 $\beta$ -D-葡萄糖苷酶、 $\alpha$ -D-葡萄糖苷酶、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、丁酸酯酶、辛酸酯酶、脂肪酶、肉豆蔻酸酯酶、亮氨酸氨基肽酶、缬氨酸氨基肽酶、胰凝乳蛋白酶、磷酸水解酶、 $\alpha$ -D-半乳糖苷酶、 $\beta$ -D-半乳糖苷酶、酪氨酸氨基肽酶、苯丙氨酸氨基肽酶、 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶、 $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶、N-乙酰基- $\beta$ -氨基葡萄糖苷酶、 $\beta$ -D-纤维二糖糖苷酶、丙氨酸氨基肽酶、脯氨酸氨基肽酶和脂肪酸酯酶。

[0034] 生物灭菌指示器的一些实施方案可以包括与酶反应形成可检测产物的显色和/或荧光酶底物 (纽约跨学科出版社 (Interscience Publishers, New York) 1969年出版、D. Block主编的M. Roth的《生物化学分析方法》(Methods of Biochemical Analysis) 第17卷第89页, 其以引用方式并入本文中; 纽约学术出版社 (Academic Press, New York) 1962年出版的S. Udenfriend的《生物学和医学中的荧光分析》(Fluorescence Assay in Biology and Medicine), 第312页; 以及纽约学术出版社1957年出版、S. P. Colawick和N. O. Kaplan主编的D. J. R. Lawrence的《酶学荧光技术、酶学方法》(Fluorescence Techniques for the Enzymologist, Methods in Enzymology) 第4卷, 第174页)。这些底物根据它们产生视觉上可检测的信号或产物的方式可分为两类。第一组中的底物与酶反应形成本身发色或发荧光的酶改性产物。第二组中的底物形成酶改性产物, 该产物必须进一步与附加的一种或多种化合物反应, 以形成可生成颜色或荧光信号的可检测产物。

[0035] 因此, 短语“可检测产物”可指能够通过下文所述的任何检测方法或过程而检测到的任何分子、化合物、物质、底物等, 或它们的组合。例如, 此类可检测产物可以是生物活性源生存能力的标志, 并且此类产物的检测通常可表明灭菌过程的失败或不足。

[0036] 在一些实施方案中, 活性酶源可以是 (1) 源自适当微生物的纯化分离酶; (2) 具有固有酶或通过基因工程添加酶的微生物; 和/或 (3) 在孢子形成或生长期间已添加酶的微生物, 使得酶与微生物结合或相连, 例如在孢子形成期间添加到孢子并且结合在孢子中的酶。在一些实施方案中, 可用作酶源的微生物包括孢子状态或营养体状态的细菌或真菌。在一些实施方案中, 酶源包括芽孢杆菌 (*Bacillus*)、梭菌 (*Clostridium*)、脉孢菌 (*Neurospora*)、假丝酵母 (*Candida*) 或者这些物种的微生物的组合。

[0037]  $\alpha$ -D-葡萄糖苷酶已在嗜热脂肪芽孢杆菌的孢子中鉴定到, 该嗜热脂肪芽孢杆菌诸如可从马里兰州洛克维尔 (Rockville, Md) 的美国模式培养物保藏所 (American Type Culture Collection) 以“ATCC 8005”和“ATCC 7953”市售获得的那些。 $\beta$ -D-葡萄糖苷酶已在枯草芽孢杆菌 (例如可以以“ATCC 9372”从美国模式培养物保藏所市售获得) 中发现。

[0038] 在采用分离的酶的情况下, 或者在用作酶源的微生物不比天然污染物更耐灭菌条件的情况下, 可使另一常用来监测灭菌条件的微生物随该酶源一起经受灭菌周期。在这种

情况中,本发明的方法可包括将灭菌周期后残留的任何活微生物与含水营养培养基一起温育以确认灭菌效果的步骤。

[0039] 一般地,监测灭菌过程的有效性可包括将本发明的生物灭菌指示器放在灭菌器中。在一些实施方案中,灭菌器包括灭菌室,灭菌室的大小可被设计为容纳多个待灭菌的制品,并且装备有从室中排出空气和/或其他气体的装置和用于向室添加灭菌剂的装置。本发明的生物灭菌指示器可被设置在灭菌器中最难以进行灭菌的区域中(例如,排出口的上方)。另选地,当本发明的生物灭菌指示器设置于灭菌室中时,该生物灭菌指示器可被设置在待灭菌的制品附近(或通常接近该制品)。此外,生物灭菌指示器可被设置在可用于灭菌器中的灭菌过程挑战装置中。

[0040] 灭菌过程还可以包括将待灭菌的制品和生物灭菌指示器暴露于灭菌剂。在一些实施方案中,可在将灭菌室中存在的任何空气或其他气体的至少一部分排出灭菌室后,将灭菌剂添加到灭菌室中。另选地,也可在不排放室的情况下将灭菌剂加入室中。一系列的排放步骤可以用来确保灭菌剂到达灭菌室中所有需要区域并且接触所有待灭菌的制品,包括生物灭菌指示器。一般地,在将生物灭菌指示器经受灭菌周期后,可将液体(如生长培养基、可与固体生长培养基混合的水等,或者它们的组合)传至孢子。如上所述,将液体引入孢子的步骤可以称为“激活步骤”。如果孢子在灭菌周期中存活,则液体将有利于孢子的代谢活性和/或生长,并且可以研究这种活性和/或生长。如果观察到生长,则通常认定灭菌周期是无效的。图1至图7示出了根据本公开的一个实施方案的生物灭菌指示器100。生物灭菌指示器的其他合适的实施方案在以下专利中有所描述:名称为“生物灭菌指示器及其使用方法(Biological Sterilization Indicator and Method of Using Same)的PCT专利公开号W02011/011189”;名称为“生物灭菌指示器系统和方法(Biological Sterilization Indicator System and Method)的美国专利公开号2013/0217107”;名称为“生物灭菌指示器系统和方法(Biological Sterilization Indicator System and Method)”的美国专利号9,145,573;以及名称为“生物灭菌指示器及其使用方法(Biological Sterilization Indicator and Method of Using Same)”的美国专利号8,840,837号;这些中的每个全文以引用方式并入本文。生物灭菌指示器100可包括壳体102,该壳体可包括第一部分104和第二部分106(例如顶盖),该第一部分和该第二部分适于联接在一起以提供整装配套式生物灭菌指示器。在一些实施方案中,第一部分104和第二部分106可由相同的材料形成,并且在一些实施方案中,第一部分104和第二部分106可由不同的材料形成。壳体102可限定生物灭菌指示器100的贮存室103,在该贮存室中可置其他部件并且在灭菌过程期间可向其中导入灭菌剂。

[0041] 壳体102可由至少一个不透液体的壁限定,该不透液体的壁诸如第一部分104的壁108和/或第二部分106的壁110。应理解,在不背离本公开的实质和范围的前提下,也可采用一件式一体壳体102,或者第一部分104和第二部分106可采用其他形状、尺寸或相对结构。壳体102(例如,壁108和壁110)的合适材料可包括但不限于玻璃、金属(例如,箔)、聚合物(例如,聚碳酸酯(PC)、聚丙烯(PP)、聚亚苯基(PPE)、聚乙烯、聚苯乙烯(PS)、聚酯(例如,聚对苯二甲酸乙二酯(PET))、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA或丙烯酸)、丙烯腈丁二烯苯乙烯(ABS)、环状烯烃聚合物(COP)、环状烯烃共聚物(COC)、聚砜(PSU)、聚醚砜(PES)、聚醚酰亚胺(PEI)、聚对苯二甲酸丁二酯(PBT)、陶瓷、瓷器或者它们的组合。

[0042] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可包括易碎容器120,该易碎容器含有液体(例如,水性混合物)122并且其尺寸被设定成可被接纳于生物灭菌指示器100内,例如在壳体102的至少一部分内(例如,至少在壳体102的第一部分104内)。易碎容器120可由多种材料形成,该材料包括但不限于金属(例如,箔)、聚合物(例如,以上关于壳体102所列的聚合物中的任一种聚合物)、玻璃(例如玻璃安瓿)中的一种或多种以及它们的组合。在一些实施方案中,容器120的仅一部分是易碎的,例如,容器120可包括易碎部分或覆盖件(例如,易碎屏障、膜、隔膜等)。易碎容器120可具有第一状态和第二状态,在该第一状态,易碎容器是完好的并且液体122被包含在其中,在该第二状态,容器120的至少一部分是破碎的。在容器120的第二状态中,例如当容器120设置在生物灭菌指示器100中时,液体122可与生物灭菌指示器100的贮存室103流体连通。

[0043] 如在所示出实施方案中所示,容器120可保持在生物灭菌指示器100内的适当位置和/或通过插件130破碎,这在下文中将更详细地描述。

[0044] 壳体102的第一部分104可适于容纳生物灭菌指示器100的大部分部件,并且可称为“管件”、“管状体”、“基座”等。壳体102可包括贮存室103,该贮存室可由壳体102的第一部分104和第二部分106中的一者或两者限定。生物灭菌指示器100还可包括被设置为与贮存室103流体连通的孢子或其他生物活性源115(或孢子座位)。如图1至图3所示,壳体102的第二部分106可包括一个或多个孔口107,以提供壳体102的内部(例如,贮存室103)与环境之间的流体连通。例如,一个或多个孔口107可在灭菌过程期间提供孢子115与环境之间的流体连通,并且可充当进入生物灭菌指示器100的入口并充当灭菌剂路径164的入口(下文有更详细的描述)。在一些实施方案中,壳体102的第二部分106可联接到壳体102的第一部分104的第一(例如开口)端101,并且孢子115可设置在壳体102的第一部分104中与第一端101相对的第二(例如封闭)端105处。

[0045] 在一些实施方案中,屏障或过滤器(例如无菌屏障;未示出)可被设置在灭菌剂路径164中(例如在孔口107所形成的入口处)以抑制污染性的或外来的生物体、物体或材料进入生物灭菌指示器100。这种屏障可包括气体可透过的但微生物不可透过的材料,且可通过多种联接方式联接到壳体102,该联接方式包括但不限于粘合剂、热密封、声波焊接等。另选地,屏障可经由联接到壳体102的第一部分104的支撑结构(诸如第二部分106)来联接到灭菌剂路径164(例如以按扣配合式接合、螺旋配合式接合、压力配合式接合或者它们的组合的方式联接)。在暴露于灭菌剂期间,灭菌剂可穿过屏障进入灭菌剂路径164并与孢子115接触。

[0046] 在一些实施方案中,如所示出的实施方案中所示,壳体102可包括下部部分114和上部部分116,该下部部分和上部部分任选地可至少部分地由内壁(或部分壁)118、突架、隔板、凸缘等分开,其中可形成围绕壳体的整个内表面(或基本上围绕整个内周边)在下部部分114与上部部分116之间延伸的开口117,该开口提供下部部分114与上部部分116之间的流体连通。在一些实施方案中,“基本上围绕”内周边意指至少55%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%。在一些实施方案中,“基本上围绕”内周边意指最多60%、最多70%、最多75%、最多80%、最多85%、最多90%、最多95%、最多98%、最多99%或最多100%。在一些实施方案中,“基本上围绕”内周边意指周边的约55%-100%、周边的约75%-100%、周边的约90%-100%或周边的约95%-

100%。

[0047] 在一些实施方案中,壳体102的第一部分104的下部部分114(有时简称为“下部部分114”或“壳体102的下部部分114”)可适于容纳孢子115或孢子座位。在一些实施方案中,下部部分114可称为壳体102的“检测部分”或“检测区域”,因为可检查下部部分114的至少一部分以确认孢子生长的迹象。此外,在一些实施方案中,壳体102的第一部分104的上部部分116(为简单起见,有时称为“上部部分116”或“壳体102的上部部分116”)可适于容纳易碎容器120的至少一部分,特别是在激活前。

[0048] 在一些实施方案中,贮存室103的至少部分地被壳体102的上部部分116限定的部分可以称为第一隔室(或贮存室、区、区域或空间)109,贮存室103的至少部分地被壳体102的下部部分114限定的部分可以称为第二隔室(或贮存室、区、区域或空间)111。在一些实施方案中,第二隔室111可以称为“孢子生长隔室”或“检测隔室”,并可以包括要检查孢子活力以确认灭菌过程功效的空间。

[0049] 第一隔室109和第二隔室111可被设置成彼此流体连通,以使得灭菌剂和液体122能够从(即通过)第一隔室109移动到第二隔室111。在一些实施方案中,第一隔室109与第二隔室111之间的流体连接程度(例如,连接第一隔室109和第二隔室111的开口(诸如开口117)的大小)可在激活步骤(即液体122从容器120释放出来)之后增加、与激活步骤同时增加和/或响应于激活步骤而增加。在一些实施方案中,对第一隔室109(例如,上部部分116中)与第二隔室111移动(例如,下部部分114中)之间的流体连通(或流体连接的程度)的控制可由插件130的至少一部分提供。

[0050] 在灭菌期间和容器120处于第一未破碎状态时,容器120可被设置和保持在第一隔室109中。当容器120处于第一状态时,孢子115可被容纳在第二隔室111中并与环境流体连通。第一隔室109和第二隔室111可被构造为使得容器120不存在于第二隔室111中,并且特别是当容器120处于其第一未破碎状态时,该容器不存在于该第二隔室中。当容器120破碎并且液体122被释放到壳体102的内部时,灭菌剂可以在灭菌期间(例如,经由第一隔室109)移动到第二隔室111中,并且液体122可以在激活期间(例如,从第一隔室109)移动到第二隔室111中。

[0051] 因此,当容器120处于第一状态时,第一隔室109和第二隔室111可彼此流体连通并且与环境流体连通(例如,在灭菌期间)。例如,第一隔室109和第二隔室111可经由一个或多个孔口107与环境流体连通。在一些实施方案中,第一隔室109和第二隔室111可以如下方式与环境流体连通:使得在灭菌剂进入生物灭菌指示器100时第一隔室109设置在第二隔室111的上游。即,第一隔室109可设置在灭菌剂入口(例如,一个或多个孔口107)与第二隔室111之间,并且灭菌剂入口可设置在第一隔室109的相对侧,而不是第二隔室111的相对侧。

[0052] 如图4和图6所示,在一些实施方案中,特别是当容器120处于第一状态时,第一隔室109可被第一部分104和第二部分106中的一者或两者限定。此外,在一些实施方案中,第一隔室109可以包括第一端112,该第一端设置为邻近壳体102的第一部分104的开口端101,邻近壳体102的第二部分106,和/或至少部分地被第二部分106限定。第一隔室109还可以包括第二端113,该第二端设置为邻近第二隔室111并与其流体连通,并且设置为朝向壳体102的封闭端105。第一隔室109的第一端112可由壳体102的第一部分104和/或第二部分106限定。

[0053] 还如图4和图6所示,在一些实施方案中,第二隔室111可以包括第一端124和第二端125,该第一端设置为邻近第一隔室109并与其流体连通,且设置为朝向壳体102的开口端101,该第二端至少部分地被壳体102的封闭端105限定,包括或设置为邻近该封闭端。

[0054] 换句话讲,如图4和图6所示,生物灭菌指示器100可以包括纵向方向Dv,并且在一些实施方案中,第一隔室109可以纵向地设置在第二隔室111上方。在一些实施方案中,第二隔室111可以至少部分地被生物灭菌指示器100的封闭端105限定,可以包括或设置为邻近该封闭端。此外,在一些实施方案中,第二隔室111可小于(如按体积和/或横截面积计)第一隔室109和容器120中液体122的体积中的至少一者,该液体在生物灭菌指示器100激活时将被释放。因此,在此类实施方案中,第二隔室111可表现出气锁效应,其中存在于第二隔室111中的气体(例如,空气)可抑制向第二隔室111中的流体移动。在一些实施方案中,如在下文中更详细地描述,允许第二隔室111排气到生物灭菌指示器100的另一部分的流体路径可有利于流体流入第二隔室111中。

[0055] 在一些实施方案中,壁118(有时称为“分隔壁”)可以是成角度的或倾斜的,例如相对于壳体102的纵向方向DL(例如,其中纵向方向DL沿着壳体102的长度延伸)以非零度和非直角的角度取向。壁118这样成角度或倾斜可有利于在灭菌之后和在容器120已破裂以释放液体122后液体122从上部部分116移动到下部部分114。

[0056] 如图1至图3所示,在一些实施方案中,壁118可至少部分地通过壳体102的内部尺寸变化形成。例如,如所示,壁118可通过横截面积从第一隔室109中的第一纵向位置到第二隔室111中的第二纵向位置减小而形成。此外,仅作为举例而言,壳体102的内部横截面形状可在第一隔室109至第二隔室111的过渡部变化,从第一隔室109中的基本上圆形(例如,具有构成小于50%的周边的扁平侧面)到第二隔室111中的基本上平行立面体(例如,基本上方形)。

[0057] 此外,在一些实施方案中,也可通过壳体102的外部尺寸的变化至少部分地形成壁118。如图1至图3中所示,在一些实施方案中,壳体102包括梯部(或突架、悬突部、过渡部等)123,其始终与壁118成角度(如果壁118是有角度的),并且其包括壳体102的外部形状和尺寸的变化。然而,应当理解,在一些实施方案中,即使壳体102的内部尺寸发生变化以生成具有不同于第一隔室109的横截面形状或尺寸的第二隔室111,壳体102的外部形状和维度未必变化或始终随着内部形状和/或尺寸的变化而变化。例如,在一些实施方案中,梯部123可相对于纵向方向DL基本垂直地取向。

[0058] 在一些实施方案中,贮存器103的体积为至少约0.5毫升(mL),在一些实施方案中,至少约1mL,而在一些实施方案中,至少约1.5mL。在一些实施方案中,贮存室103的体积不大于约5mL,在一些实施方案中,不大于约3mL,并且在一些实施方案中,不大于约2mL。

[0059] 在一些实施方案中,易碎容器120的体积为至少约0.25mL,在一些实施方案中,至少约0.5mL,并且在一些实施方案中,至少约1mL。在一些实施方案中,易碎容器120的体积为不大于约5mL,在一些实施方案中,不大于约3mL,并且在一些实施方案中,不大于约2mL。

[0060] 在一些实施方案中,易碎容器120中所包含的液体122的体积为至少约50微升,在一些实施方案中,至少约75微升,并且在一些实施方案中,至少约100微升。在一些实施方案中,易碎容器120中所包含的液体122的体积不大于约5mL,在一些实施方案中,不大于约3mL,并且在一些实施方案中,不大于约2mL。

[0061] 在一些实施方案中,第一隔室109(即,由壳体102的第一部分104的上部部分116形成)的体积为至少约500微升(或立方毫米),在一些实施方案中,至少约1000微升,在一些实施方案中,至少约2000微升,并且在一些实施方案中,至少约2500微升。在一些实施方案中,第一隔室109的体积不大于约5000微升,在一些实施方案中,不大于约4000微升,并且在一些实施方案中,不大于约3000微升。在一些实施方案中,第一隔室109的体积为约2790微升或2800微升。

[0062] 在一些实施方案中,第二隔室111(即,由壳体102的第一部分104的下部部分114形成)的体积为至少约5微升,在一些实施方案中,至少约20微升,并且在一些实施方案中,至少约35微升。在一些实施方案中,第二隔室111的体积不大于约250微升,在一些实施方案中,不大于约200微升,在一些实施方案中,不大于约175微升,并且在一些实施方案中,不大于约100微升。在一些实施方案中,第二隔室111的体积为约208微升或210微升。

[0063] 在一些实施方案中,第二隔室111的体积为第一隔室109的体积的至少约5%,并且在一些实施方案中,为至少约7%。在一些实施方案中,第二隔室111的体积不大于第一隔室109的体积的约20%,在一些实施方案中,不大于约15%,在一些实施方案中,不大于约12%,并且在一些实施方案中,不大于约10%。在一些实施方案中,第二隔室111的体积为第一隔室109的体积的约7.5%。

[0064] 在一些实施方案中,第二隔室111的体积不大于容器120中所含的液体122的体积的约60%,在一些实施方案中,不大于约50%,并且在一些实施方案中,不大于约25%。在一些实施方案中,将第二隔室111的体积设计为显著小于容器120中所含的液体122的体积可确保额外的液体体积可补偿意外的蒸发。在一些实施方案中,第一隔室109(即,由壳体102的第一部分104的上部部分116形成)在第一隔室109与第二隔室111之间的过渡部或在邻近第二隔室111的位置的横截面积(或平均横截面积)为至少约 $25\text{mm}^2$ ,在一些实施方案中,至少约 $30\text{mm}^2$ ,并且在一些实施方案中,至少约 $40\text{mm}^2$ 。

[0065] 在一些实施方案中,第一隔室109在第一隔室109与第二隔室111的过渡部或在邻近第二隔室111的位置的横截面积不大于约 $100\text{mm}^2$ ,在一些实施方案中,不大于约 $75\text{mm}^2$ ,并且在一些实施方案中,不大于约 $50\text{mm}^2$ 。

[0066] 在一些实施方案中,第二隔室111(即,由壳体102的第一部分104的下部部分114形成)在第一隔室109与第二隔室111的过渡部或在邻近第一隔室109的位置的横截面积为至少约 $5\text{mm}^2$ ,在一些实施方案中,至少约 $10\text{mm}^2$ ,并且在一些实施方案中,至少约 $15\text{mm}^2$ 。在一些实施方案中,第二隔室111的横截面积(或平均横截面积)不大于约 $30\text{mm}^2$ ,在一些实施方案中,不大于约 $25\text{mm}^2$ ,在一些实施方案中,不大于约 $20\text{mm}^2$ 。

[0067] 在一些实施方案中,第二隔室111在第一隔室109与第二隔室111的过渡部的横截面积可不大于第一隔室109在过渡部的横截面积的约60%,在一些实施方案中,不大于约50%,在一些实施方案中,不大于约40%,并且在一些实施方案中,不大于约30%。

[0068] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可包括设置在第一隔室109与第二隔室111之间的基底119。基底119与第一隔室109和第二隔室111两者流体连通。基底119还被设置成使得基底119不与生物活性源直接接触。在一些实施方案中(未示出),基底119可在第一隔室109与第二隔室111之间附接(例如,经由粘合剂、声波焊接等)到上部部分116的壁108和/或下部部分114的壁110。

[0069] 在一些实施方案中,如图1至图4和图6所示,基底119的尺寸可被设计为邻近壁118设置,并且特别是搁置在壁118顶上。基底119设置在生物灭菌指示器100的上部部分116(即第一隔室109)与下部部分114(即第二隔室111)之间,并且在一些实施方案中,可以至少部分地限定第一隔室109和第二隔室111。在一些实施方案中,基底119在第一隔室109与第二隔室111之间基本上围绕壳体的整个内周边延伸(例如,至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、或至少约99%并且最多约90%、95%、98%、99%或100%)。

[0070] 如此,在一些实施方案中,基底119可设置在容器120与孢子115之间。此外,基底119可被设置成使得分析信号(例如,荧光)向第二隔室111外扩散最小化。在一些实施方案中,根据基底119的材料组成,基底119还可从溶液吸收可抑制从生物灭菌指示器100准确读取信号的染料、指示试剂或其他物质(即,“抑制剂”)。如图1至图4、图6和图7所示,基底119包括一个或多个孔口121,该孔口可被构造成控制(即,有利于和/或限制,这取决于数量、大小、形状和/或位置)流体在生物灭菌指示器100的第一隔室109与第二隔室111之间的移动,并且特别是,在容器120破碎时,其可以有利于液体122向孢子115移动。仅作为举例而言,当孔口121设置在基底119中心的前部(或“前侧”)时可观察到特定的益处或优点,如所示。在图1至图7所示的实施方案中,生物灭菌指示器100或其中的部件的“前面”通常可被描述为朝向扁平面126。通常,生物灭菌指示器100的“前面”可以指生物灭菌指示器100的将被读取设备检查的部分。

[0071] 此外,仅作为举例而言,孔口121示为环形或圆形;然而,其它横截面孔口形状(例如,圆形、椭圆形、方形、三角形、矩形、六边形)也是可能的并且在本公开的范围之内。孔口121的尺寸被设计为允许流体(例如,蒸汽灭菌剂、液体生长和/或检测介质)通过,并且优选地,在容器被破坏(例如,破裂)之后不允许容器120的较大碎片通过。在一些实施方案中,孔口121的面积为至少约 $1.2\text{mm}^2$ 、至少约 $1.4\text{mm}^2$ 、至少约 $1.6\text{mm}^2$ 、至少约 $1.8\text{mm}^2$ 、至少约 $2\text{mm}^2$ 或至少约 $2.2\text{mm}^2$ 。在一些实施方案中,孔口121的面积为最多约 $8\text{mm}^2$ 、最多约 $7\text{mm}^2$ 、最多约 $6\text{mm}^2$ 、最多约 $5\text{mm}^2$ 、最多约 $4\text{mm}^2$ 或最多约 $3\text{mm}^2$ 。

[0072] 此外,仅作为举例而言,并如图3所示,基底119被成形为基本上填充在第一隔室109与第二隔室111之间的过渡部的第一隔室横截面积。然而,也可以采用基底119的其他形状,并且可适于容纳壳体102、第一隔室109、第二隔室111、壁118或生物灭菌指示器100的另一部件。

[0073] 预期在一些实施方案(未示出)中,基底包括设置在基底周边处的凹陷,并且生物灭菌指示器中的孔口形成在凹陷与壳体的邻近壁之间的间隙。在这些实施方案中,由基底中的凹陷和壳体的壁形成的孔口的尺寸被设计为允许流体(例如,蒸汽灭菌剂、液体生长和/或检测介质)通过,并且优选地,在容器被破坏(例如,破裂)之后不允许容器120的较大碎片通过。

[0074] 如上所述,第二隔室111可以包括要检查的空间。可测定此类空间的孢子活力以确定灭菌工序的致死率或有效性。在一些实施方案中,要检查的空间可以是第二隔室111的全部或一部分。在一些实施方案中,可将基底119设置在要检查的空间之外,这能够将空间内可能干扰检查过程的结构数量减至最低。例如,在一些实施方案中,基底119可设置为使得基底119不与孢子115、孢子载体135和孢子贮存室136中的至少一者直接接触。在一些实施方案中,基底119可设置为使得基底119未设置在检测系统(例如,光学检测系统,诸如荧光

激发源和发射检测器)与孢子115、孢子载体135和孢子贮存器136中的至少一者之间。当容器120处于第一状态和/或第二状态时,但特别是当容器120处于第二状态时,基底119可以具有上述位置。

[0075] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100中的基底位置会影响孢子生存能力快速检测系统(例如,荧光检测)与较慢(例如,过夜或24小时)检测系统(例如,能够响应于孢子生长而呈现颜色变化(例如,在24小时内)的pH指示剂)之间的相关性。此类相关性相对于其他底物位置和不具有底物的生物灭菌指示器而言具有改善。

[0076] 此外,可将基底119设置在生物灭菌指示器100中,使得容器120处于第一状态时,基底119不直接接触容器120。例如,在一些实施方案中,可将基底119设置在第一隔室109中(例如,邻近第一隔室109的底端(例如,第二端113)),但即使在此类实施方案中,也可将基底119设置为使得基底119不接触容器120。例如,如图1至图2和图4至图6所示,在一些实施方案中,当容器120处于第一状态时,可将插件130设置在容器120与基底119之间,使得插件130将容器120保持在第一状态。可将插件130或它的一部分设置为邻近基底119。例如,如所示出的实施方案中所示,可将基底119设置在(例如,夹在)插件130与壁118之间。因此,在一些实施方案中,可将基底119设置在插件130与第二隔室111之间。在一些实施方案中,当容器120处于第二状态时,容器120的破碎部分或碎片可以与基底119接触,但在一些实施方案中,容器120的破碎部分不与基底119接触。在一些实施方案中,基底119可附接(例如,使用粘合剂)到基底支撑件,诸如例如,插件130。

[0077] 如上所述,在一些实施方案中,基底119可被设置和构造成用于控制或影响生物灭菌指示器100中的流体流动,并且特别是,用于控制第一隔室109与第二隔室111之间的流体流动。例如,在一些实施方案中,基底119可被构造成(例如,将某些材料的大小、形状、取向和/或构造设计为)控制向第二隔室111(和向孢子115)递送灭菌剂的速率,从而能够控制“存活率和杀灭率”,因此控制孢子115的D值。不受理论的约束,据信本公开的生物灭菌指示器中的灭菌剂递送速率低于在第一隔室109与第二隔室111之间不存在基底119的情况下的灭菌剂递送速率。即,在一些实施方案中,基底119能够通过选择性地保护孢子115来控制杀伤率。在一些实施方案中,基底119(与其中的孔口一起)可以用作用于控制生物灭菌指示器100中的流体流动,特别是用于控制灭菌剂递送的“阀门”。此外,在一些实施方案中,例如,如果孢子115经过灭菌过程仍存活,则基底119可以具有增强或调节孢子115产生的响应的特性。

[0078] 此外,在一些实施方案中,基底119与孔口121一起可被构造成(例如,将某些材料的大小、形状、取向和/或构造设计为)控制可检测产物向要检查空间外扩散的速率。在一些实施方案中,可检测产物可以包括指示孢子生存能力的信号(例如,荧光信号),而在一些实施方案中,可检测产物可以是孢子115本身。控制可检测产物向要检查空间外的扩散可特别适用于液体122的体积大于第二隔室111的空间(或要检查的空间)的实施方案,因为当容器120处于第二破碎状态时,此类实施方案中的液体112会在生物灭菌指示器100中漫延至高于第二隔室111(或要检查的空间)的水平。在此类实施方案中,可检测产物可在液体122的整个空间内自由移动(即,移动至要检查空间外部的空间),除非存在一些用于控制此类扩散的屏障或装置,诸如基底119。例如,在一些实施方案中,可将基底119设置在刚好在要检查空间上方的位置(即,低于液体122的液位),以抑制可检测产物移动到设置在基底119上

方的液体122的部分。

[0079] 在一些实施方案中,通过提供灭菌剂和/或可检测产物的物理屏障或阻塞,基底119可控制灭菌剂递送速率(例如,进入第二隔室111)和/或可检测产物的扩散速率(例如,离开第二隔室111)。此类物理屏障可还用于在容器120处于第二破裂状态时收集容器120的破碎部分,以抑制破裂部分向要检查空间内的移动,其中破裂部分可封阻、折射、反射或以其他方式干扰检测过程(例如,光学检测过程)。

[0080] 多种不同来源的铬和荧光酶底物可用于检测预定生物活性的方法中,并且适合作为根据本公开的第一或第二指示试剂。其中包括多种荧光4-甲基伞形酮酰衍生物(可水解成4-甲基伞形酮);7-酰胺基-4-甲基-香豆素的衍生物,例如如英国专利号1,547,747和欧洲专利号0,000,063中所公开,这些中的每个全文以引用方式并入本文;荧光素二乙酸盐衍生物;以及荧光胺。

[0081] 例如,第一指示试剂可以包括具有第一吸收光谱的试剂,因此,它吸收电磁光谱的紫外和/或可见波长的光。

[0082] 在一些实施方案中,第一指示试剂可以是指示染料(例如,pH指示染料、氧化还原染料)。用于检测任何指定生物活性的具体指示染料将根据本领域已知的标准进行选择,包括,例如,与要检测的生物活性的相容性(例如,优选地无抑制性)、溶解度以及检测系统(如,视觉和/或自动检测系统)。指示染料可以是适于检测生物活性的pH指示剂。可以根据本领域已知的标准选择指示染料,例如,pH范围、与生物活性的相容性以及溶解度。

[0083] 在一些实施方案中,可以使用pH指示剂的盐形式,例如,以增大pH指示剂在水性混合物中的溶解度。合适pH指示剂染料的非限制性示例包括例如百里酚蓝、金莲橙00、甲基黄、甲基橙、溴酚蓝、溴甲酚绿、甲基红、溴百里酚蓝、酚红、中性红、酚酞、百里酚酞、茜素黄、金莲橙0、硝基胺、三硝基苯甲酸、百里酚蓝、溴酚蓝、四溴苯酚蓝、溴甲酚绿、溴甲酚紫、甲基红、溴百里酚蓝、酚红、刚果红和甲酚红。在一些实施方案中,指示染料可以是适于检测生物活性的氧化-还原指示剂(也称为氧化还原指示剂)。氧化-还原氧化-还原指示染料的非限制性示例包括:2,2'-联吡啶(钌络合物)、硝基邻二氮杂菲(铁络合物)、N-苯基邻氨基苯甲酸、1,10-邻二氮杂菲(铁络合物)、N-乙氧基菊橙、2,2'-联吡啶(铁络合物)、5,6-二甲基邻二氮杂菲(铁络合物)、邻联茴香胺、二苯胺磺酸钠、二苯基联苯胺、二苯胺、紫罗碱、2,6-二溴苯酚酞酚钠、2,6-二氯苯酚酞酚钠、邻甲酚酞酚钠、硫堇(同义:亚甲蓝、靛蓝四磺酸、靛蓝三磺酸、靛蓝二磺酸、靛蓝一磺酸、酚藏花红、番红花红T,以及中性红)。

[0084] 在一些实施方案中,第一指示试剂可以是磺酰类pH指示剂(例如,溴甲酚紫)。磺酰类pH指示剂(例如,溴甲酚紫)可以约0.03g/l的浓度存在于水性混合物中。在一些实施方案中,基底可被构造为大致为平面的条(例如,约3mm×约10mm的条)。

[0085] 第二指示试剂,例如,可转化成第二生物衍生物。第二生物衍生物包含具有第二吸收光谱的试剂。此外,第二生物衍生物具有特有的第二发射光谱(例如,荧光发射光谱)。在一些实施方案中,第二生物衍生物具有特有的第二吸收光谱,其包括电磁能量光谱的紫外线部分的波长。第二生物衍生物的第二发射光谱可以包括电磁能量光谱的可见光部分中的波长。

[0086] 适合用作第二指示试剂的化合物包括荧光化合物(例如,荧光酶底物)。荧光酶底物包括4-甲基伞形酮酰衍生物、7-酰胺基-4-甲基香豆素衍生物和双乙酰荧光素衍生物。合

适的4-甲基伞形酮衍生物包括,例如:4-甲基伞形酮-2-乙酰氨基-4,6-O-亚苄基,2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷;乙酸-4-甲基伞形酮酯;4-甲基伞形酮基-N-乙酰基- $\beta$ -D-氨基半乳糖苷;4-甲基伞形酮基-N-乙酰基- $\alpha$ -D-氨基葡萄糖苷;4-甲基伞形酮基-N-乙酰基- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷;2'-(4-甲基伞形酮酰基) $\alpha$ -D-N-乙酰神经氨酸;4-甲基伞形酮基 $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖苷;4-甲基伞形酮基 $\alpha$ -L-阿拉伯糖苷;丁酸-4-甲基伞形酮酯;4-甲基伞形酮基13-D-纤维二糖苷;甲基伞形酮基- $\beta$ -D-N,N'-二乙酰基壳二糖苷反油酸4-甲基伞形酮酯;4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-岩藻糖苷;4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -L-岩藻糖苷;4-甲基伞形酮基- $\beta$ -L-岩藻糖苷;4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -D-半乳糖苷;4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-半乳糖苷;4-甲基伞形酮基 $\alpha$ -D-葡萄糖苷;4-甲基伞形酮基 $\beta$ -D-葡萄糖苷;4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-葡萄糖苷酸;4-甲基伞形酮酯-对胍基苯甲酸;庚酸-4-甲基伞形酮酯;4-甲基伞形酮基 $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷;4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-吡喃甘露糖苷;油酸-4-甲基伞形酮酯;棕榈酸-4-甲基伞形酮酯;磷酸-4-甲基伞形酮酯;丙酸-4-甲基伞形酮酯;硬脂酸-4-甲基伞形酮酯;硫酸-4-甲基伞形酮酯;4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-N,N',N''-三乙酰壳三糖糖苷;4-甲基伞形酮基2,3,5-三-邻-苯甲酰基- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖苷;肉桂酸4-甲基伞形酮基-对-三甲基铵、4-甲基伞形酮基 $\beta$ -D-木糖苷。

[0087] 合适的7-酰胺基-4-甲基香豆素衍生物包括,例如:L-丙氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素;L-脯氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素;L-酪氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素;L-亮氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素;L-苯丙氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素;和7-戊二酰苯丙氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素。

[0088] 7-酰氨基-4-甲基香豆素的合适的肽衍生物包括,例如:N-t-BOC-Ile-Glu-Gly-Arg 7-酰胺基-4-甲基香豆素;N-t-BOC-Leu-Ser-Thr-Arg 7-酰氨基-4-甲基香豆素;N-CBZ-Phe-Arg 7-酰氨基-4-甲基-香豆素;Pro-Phe-Arg 7-酰氨基-4-甲基香豆素;N-t-BOC-Val-Pro-Arg 7-酰氨基-4-甲基香豆素;和N-戊二酰-Gly-Arg 7-酰氨基-4-甲基香豆素。

[0089] 合适的二乙酰基荧光素衍生物包括例如二乙酸荧光素、荧光素二-( $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷)和二月桂酸荧光素。

[0090] 其中待检测的生物活性物为例如得自嗜热脂肪地芽孢杆菌的 $\alpha$ -D-葡萄糖苷酶、胰凝乳蛋白酶或脂肪酸酯酶,优选地荧光酶底物分别为4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -D-葡萄糖苷、7-戊二酰苯丙氨酸-7-酰胺基-4-甲基香豆素或庚酸4-甲基伞形酮酯。其中待检测的生物活性物为例如衍生自枯草芽孢杆菌的 $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖酶,优选的荧光酶底物为4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷。其中待检测的生物活性物为例如衍生枯草芽孢杆菌的 $\beta$ -D-葡萄糖苷酶,优选地荧光酶底物为4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

[0091] 为了检测包含酶的生物活性物,操作者应了解要检测的酶活性以及将与酶反应以生成可通过其荧光、颜色等检测到的产物的酶底物(参见纽约Interscience出版社1969年出版、D.Glock主编的M.Roth的《生物化学分析方法》(Methods of Biochemical Analysis)第7卷,其全文以引用方式并入本文中)。要使用的合适的酶底物将取决于要检测的生物活性。

[0092] 本发明的方法可以包括具有第一吸收光谱的第一指示试剂和通过生物活性转变成具有第二发射光谱的第二生物衍生物的第二指示试剂,其中第一吸收光谱至少部分地与第二发射光谱重叠。因此,当液体混合物中存在第一指示试剂和第二生物衍生物时,第一指示试剂可以吸收第二指示试剂发射的光的至少一部分,从而削弱了检测第二生物衍生物的

能力。

[0093] 溴甲酚紫和4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-葡萄糖苷的组合分别代表根据本公开的合适的第一指示试剂和第二指示试剂的示例。例如,该组合可用于检测第一生物活性,诸如碳水化合物发酵成酸最终产物,以及第二生物活性,诸如 $\beta$ -D-葡萄糖苷酶活性。例如,这些活性可指示在生物灭菌指示器暴露于灭菌过程之后存在或不存在的活的孢子。例如,溴甲酚紫可以约0.03g/L的浓度用于水性混合物中。4-甲基伞形酮基- $\beta$ -D-葡萄糖苷可例如以约0.05g/L至约0.5g/L(例如,约0.05g/L、约0.06g/L、约0.07g/L、约0.08g/L、约0.09g/L、约0.1g/L、约0.15g/L、约0.2g/L、约0.25g/L、约0.3g/L、约0.35g/L、约0.4g/L、约0.45g/L、约0.5g/L)的浓度用于水性混合物中。

[0094] 因此,根据本发明,第一指示试剂可以妨碍第二指示试剂的生物衍生物的另外可检测量的检测。本领域的普通技术人员通过进行以下简单实验可以证明任何建议的第一和第二指示试剂之间的光谱干扰。

[0095] 首先,操作人员要准备所推荐的第二指示试剂的预期生物衍生物的较稀的、但可检测荧光的水溶液。例如,如果第二指示试剂为4-甲基伞形酮酰化合物,则预期生物衍生物为4MU。该溶液可以包含,例如,约0.05微克/毫升至0.2微克/毫升4MU。然后,操作者加入有效量的建议第一指示试剂。例如,如果BCP为所推荐的第一指示试剂,则它的添加浓度可以为在用于检测发酵微生物的微生物生长培养基中的使用浓度(如,0.04毫克/毫升)。通过对有和没有BCP的4MU溶液的荧光进行比较,可以确定第一指示试剂(在该示例中,为BCP)是否会妨碍第二指示试剂(在这种情况下,为4MU)的生物衍生物的检测。然后操作者可以测试减少加入4MU溶液中的BCP量是否能改善相对较低浓度的4MU的检测。用第一和第二指示试剂的任何组合可以容易地进行此类实验。实施例9示出了该工序的示例。

[0096] 此外,在一些实施方案中(例如,其中壁118是倾斜的并且基底119设置为邻近壁118的实施方案中),基底119可为成角度的或倾斜的,例如,相对于壳体102的纵向方向DL以非零度和非直角的角度取向。基底119这样成角度或倾斜可以有利于在灭菌之后且在容器120已破裂以释放液体122后,液体122从第一隔室109向第二隔室111移动。

[0097] 在一些实施方案中,基底119可由疏水性体材料形成。在一些实施方案中,基底119由疏水性膜形成。合适的基底材料的示例包括由聚乙烯和聚丙烯制成的无孔膜,前提条件是无孔膜不由非织造织物组成。合适的基底119材料具有大于90°的水接触角。

[0098] 可以采用基底119的方法和系统的示例还在名称为“检测生物活性的方法(Method of Detecting a Biological Activity)”的美国专利公开号2013/0210048和名称为“检测生物活性的方法”的美国专利号8,802,392中有所描述,这些中的每个全文以引用方式并入本文。

[0099] 在一些实施方案中,基底119的至少一部分和/或其中的开口(孔口)可提供第一隔室109(例如,在上部部分116中)与第二隔室111(例如,在下部部分114中)之间的流体连通,和/或可控制第一隔室109与第二隔室111之间的流体连通(例如,通过控制第一隔室109与第二隔室111之间的流体连接程度)。

[0100] 生物灭菌指示器100可包括第一流体路径160,该第一流体路径可被设置成使第一隔室109与第二隔室111流体联接,并且可允许灭菌剂(例如在灭菌期间,当容器120处于第一未破碎状态时)和/或液体122(例如在灭菌之后和在激活期间,当容器120处于第二破碎

状态时) 到达孢子115。在所示出的实施方案中,第一流体路径160通常可由基底119限定,例如,形成于其中的孔口121。因此,第一流体路径160在所示出的实施方案中用图4和图7中的箭头大致表示。

[0101] 生物灭菌指示器100还可以包括任选第二流体路径162,该第二流体路径被设置为使第二隔室111与另一个隔室或生物灭菌指示器100的一部分(诸如第一隔室109)流体联接。例如,当灭菌剂和/或液体122移动到第二隔室111中时,第二流体路径162还可被设置为允许此前存在于第二隔室111中的气体被替换并离开第二隔室111。因此,在下文中将更详细地描述的第二流体路径162(与孔口121间隔开)可用作生物灭菌指示器100中的内部排放口。

[0102] 在一些实施方案中,基底119可在第一隔室109与第二隔室111之间提供物理屏障或阻断,这可允许以下中至少一者:控制将灭菌剂递送到第二隔室111中的灭菌剂递送速率/杀伤速率;控制孢子115和/或可检测产物向第二隔室111外扩散;控制当容器120处于第二破碎状态时液体122至第二隔室111(以及至孢子115)的递送速率;或它们的组合。

[0103] 因为,在一些实施方案中,基底119可提供物理屏障以在激活期间将液体122递送至第二隔室111(即,当容器120处于第二状态时)。可控制基底119中的孔口121和/或基底119的角度以影响所需的液体递送速率。在一些实施方案中,与孔口121间隔开的第二流体路径162可提供针对截留在第二隔室111中的任何气体或空气的排放口,以有利于在需要时使液体122移动透过或穿过基底119并进入第二隔室111中。

[0104] 此外或另选地,壳体102可被构造(例如由适当的材料形成和/或构造为具有微结构化的凹槽或其他物理表面改性)成有利于在需要时使液体122移动至第二隔室111。

[0105] 在一些实施方案中,液体122可包括用于孢子的营养培养基,诸如将促进存活孢子萌发的萌发培养基。在一些实施方案中,液体122可以包括水(或另一种溶剂),其可与营养物质组合以形成营养培养基。合适的营养物质可包括促进存活孢子的萌发和/或生长所必需的营养物质,且可以以干燥形式(例如粉末形式、片剂形式、胶囊形片剂形式、胶囊形式、膜或涂层、包埋在小珠或其他载体中、另一合适的形状或构造或者它们的组合)提供在贮存室103中,例如在生物灭菌指示器100的靠近孢子115的区域中。

[0106] 营养培养基通常可被选择以引起孢子(如果是活的)发芽和初始生长。营养培养基可包括一种或多种糖,包括但不限于葡萄糖、果糖、纤维二糖等,或它们的组合。营养培养基还可包括盐,包括但不限于氯化钾、氯化钙等,或者它们的组合。

[0107] 在一些实施方案中,营养物质还可包括至少一种氨基酸,包括但不限于甲硫氨酸、苯丙氨酸和色氨酸中的至少一者。

[0108] 在一些实施方案中,营养培养基可包含指示分子或试剂,例如具有随孢子的萌发或生长而变化的光学性质的指示分子。合适的指示分子或试剂可包括但不限于pH指示分子(例如,实施例所示的溴甲酚紫(BCP)、溴甲酚绿(BCG)、氯酚红(CPR)、溴百里酚蓝(8TB)、溴酚蓝(BPB)、其他磺酰类染料、甲基红或它们的组合)、酶底物(例如,4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -D-葡萄糖苷)、DNA结合染料、RNA结合染料、其他合适的指示分子,或它们的组合。在一些实施方案中,溴甲酚紫和4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -D-葡萄糖苷的组合代表可一起采用的一对指示试剂的示例。例如,该组合可用于检测第一生物活性,诸如碳水化合物发酵成酸最终产物,以及第二生物活性,诸如 $\alpha$ -D-葡萄糖苷酶活性。例如,这些活性可指示在生物灭菌指示器暴露于

灭菌过程之后存在或不存在的孢子。溴甲酚紫可以约0.03g/L的浓度使用,例如,用于水性混合物。4-甲基伞形酮基- $\alpha$ -D-葡萄糖苷在例如水性混合物中的使用浓度可以为,例如,约0.05g/L至约0.5g/L(例如,约0.05g/L、约0.06g/L、约0.07g/L、约0.08g/L、约0.09g/L、约0.1g/L、约0.15g/L、约0.2g/L、约0.25g/L、约0.3g/L、约0.35g/L、约0.4g/L、约0.45g/L、约0.5g/L)。

[0109] 如图1至图7所示,生物灭菌指示器100还可包括插件130。在一些实施方案中,插件130可适于保持或承载容器120,使得120在灭菌过程中完好地保持在与孢子115分开的某个位置。即,在一些实施方案中,插件130可包括(或者充当)容器120的载体132(参见图3),特别是在容器120在激活步骤(即液体122从容器120中释放出来并被引入到孢子115的步骤,此在灭菌过程之后发生)中被破裂之前。在一些实施方案中,插件130还可适于让容器120能够在壳体102中至少一定程度地移动,例如相对于壳体102纵向地移动。下文详细描述了所示出的实施方案的插件130。其他合适的插件和载体的示例描述于美国专利号8,980,622中。

[0110] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可以包括孢子载体135,如图1至图4和图6所示。然而,在一些实施方案中,可改进插件130以包括适于容纳孢子115的部分。例如,在一些实施方案中,插件130和孢子载体135可整体地形成一个插件,该插件包括适于在需要时保持和最后施容器120破裂的第一部分,以及适于在灭菌期间(即破碎之前)将孢子115容纳在生物灭菌指示器100中与容器120分开的区域中的第二部分。

[0111] 如图1至4和图6所示,孢子载体135可以包括孢子贮存室136(其还可以称为凹部、凹坑、孔、凹口等),在该孢子贮存室中,孢子115可以直接设置在该孢子贮存室中,或在载体材料上设置在该孢子贮存室中。在采用被设置成在液体122从容器120中释放出来时与该液体进行混合的营养培养基的实施方案中,营养培养基可设置在孢子贮存室136附近或当中,并且当水从容器120中释放出来时营养培养基可与水进行混合(例如,溶于水中)。仅作为举例而言,在以干燥形式提供营养培养基的实施方案中,该干燥形式可存在于贮存室103内、孢子贮存室136内、孢子的载体材料上或者它们的组合。在一些实施方案中,可以采用液体和干燥营养培养基的混合。

[0112] 在一些实施方案中,孢子贮存室136的体积为至少约1微升,在一些实施方案中,为至少约5微升,且在一些实施方案中,为至少约10微升。在一些实施方案中,孢子贮存器136的体积不大于约250微升,在一些实施方案中,不大于约175微升,且在一些实施方案中,不大于约100微升。

[0113] 如图4和6所示,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可以包括可联接到壳体102的壁108或与该壁整体地形成的肋或凸起165,该肋或凸起可被设置为将孢子载体135维持在壳体102中的所需位置和/或例如相对于读取设备12的检测系统(例如,光学检测系统)维持所需的角或取向。

[0114] 如图1至图4和图6中所示,壳体102的第二部分106可适于联接到第一部分104。例如,如图所示,第二部分106可适于联接到壳体102的第一部分104的上部部分116(例如,第一端101)。在一些实施方案中,如图1至图4中所示,第二部分106可以是顶盖的形式,其尺寸被设计为接纳壳体102的第一部分104的至少一部分。

[0115] 如图1至图2和图4至5所示,在灭菌期间和激活之前,第二部分106可相对于第一部

分104位于第一“未激活”位置148,并且容器120可处于第一完好状态。如图6所示,壳体102的第二部分106可相对于第一部分104移动至第二“激活”位置150(例如,第二部分106被完全压下的位置),并且容器120可处于第二破碎状态。例如,在灭菌之后,生物灭菌指示器100可通过将第二部分106从第一位置148移动至第二位置150(即,移动足够的量)而激活,使得容器120破碎并且从容器120释放液体122,允许液体122与孢子115流体连通。可以在将生物灭菌指示器100设置在读取设备的孔中之前,将生物灭菌指示器100设置在孔中之后或在将生物灭菌指示器100设置在孔中时(即,生物灭菌指示器100可滑动到读取65设备的合适位置处,并且可以继续压迫第二部分106,直到它位于第二位置150,例如,在该位置时,孔的底部为第二部分106向其第二位置150移动提供足够的抗性)来激活生物灭菌指示器100。第二位置150可比第一位置148更靠近生物灭菌指示器100的第一部分104的封闭端105。

[0116] 如所示出的实施方案所示,在一些实施方案中,壳体102的第一部分104可包括梯部、悬突部或扁平至圆形的过渡部152。示出的梯部152在第二部分106位于其第一位置148时是暴露的,并且在第二部分106位于其第二位置150时是被掩盖或覆盖的。因此,可以检查梯部152以确定第二部分106是位于第一位置148(即,生物灭菌指示器100未激活)还是第二位置150(即,生物灭菌指示器100被激活)。使用生物灭菌指示器100的此类特征来确定生物灭菌指示器100的状态(例如确认生物灭菌指示器100是否已激活)在美国公开号2013/0217107中有更加详细地描述。仅以举例的方式示出了梯部152的纵向位置;然而,应当理解,梯部152可改为位于不同的纵向位置(例如,更靠近生物灭菌指示器100的封闭端105),或者,在一些实施方案中,从圆形部分向扁平面的过渡部可以是逐渐的、渐缩的或倾斜的。

[0117] 在壳体102的第一部分104与第二部分106之间可采用多种联接手段,以允许第一部分104和第二部分106可移除地彼此联接,该手段包括但不限于重力(例如一个部件可被设置在另一部件或其配合部分的顶上)、螺纹、压装配合式接合(有时也称“摩擦配合式接合”或“干涉配合式接合”)、按扣配合式接合、磁铁、粘合剂、热密封、其他合适的可移除的联接手段以及它们的组合。在一些实施方案中,生物灭菌指示器100不需要重新打开,第一部分104和第二部分106不需要可移除地彼此联接,而是可永久性或半永久性彼此联接。这些永久性或半永久性结合手段可以包括(但不限于)粘合剂、缝线、缝钉、螺钉、钉子、铆钉、平头钉、卷边、焊接(例如声波(例如超声波)焊接)、任何热粘结技术(例如,向被结合在一起部件中的一个或两个施加热量和/或压力)、按扣配合式接合、压装配合式接合、热密封、其他合适的永久性或半永久性结合手段以及它们的组合。本领域的普通技术人员将会知道,某些永久性或半永久性联接手段也适于被拆除,反之亦然,并且仅仅是以举例方式按这种方式进行分类。

[0118] 如图4和图6所示,第二部分106在相对于第一部分104的第一纵向位置148与相对于第一部分104的第二纵向位置150之间能够移动;然而,应理解,生物灭菌指示器100可改为不同地进行构造,使得第一位置148和第二位置150相对于壳体102的第一部分104和第二部分106中一者或两者而言不必是纵向位置。

[0119] 第二部分106还可包括密封件156(例如,突起部、凸起、翼部、凸缘、O形环等或者它们的组合),该密封件可设置成接触第一部分104的第一端101,特别是第一部分104的开口上端157,以在第二部分106移动到第二位置150并且液体122从容器120释放出来后(即,当容器120处于第二破碎状态时)封闭或密封(例如,气密地密封)生物灭菌指示器100。即,孢

子115可在容器120处于第二状态时与环境密封隔离。密封件156可呈多种形式,在图4和6中以举例的方式显示为形成内环或腔体,该内环或腔体与第二部分106的壁110的尺寸一起被设计为使其能接纳壳体102的第一部分104的上端157以密封生物灭菌指示器100。

[0120] 在一些实施方案中,密封件156和上端157中的一者或两者还可包括分别被构造成可接合上端157和密封件156中的另一者的结构(例如,凸起),以使壳体102的第二部分106联接到壳体102的第一部分104。

[0121] 此外,在一些实施方案中,壳体102的第二部分106可联接到壳体102的第一部分104,以在激活后密封生物灭菌指示器100而使其与环境隔离。这种密封可抑制液体122从容器120释放后被污染、蒸发或溢出,以及/或者可抑制生物灭菌指示器100的内部受污染。

[0122] 密封件156可被构造为在生物灭菌指示器100的纵向方向DL上具有适应不同程度或等级的封闭的长度。即,在一些实施方案中,壳体102的第二部分106的“第二位置”150可以是任何位置,在该位置,密封件156的至少一部分接合壳体102的第一部分104的一部分(例如,上端157),使得生物灭菌指示器100的内部被密封而与环境隔离。可对应地构造生物灭菌指示器100和生物灭菌指示器系统10,使得在读取设备12检测到第二部分106已移至第二位置150时用户获知密封件156被接合。

[0123] 现在将对插件130进行更详细的描述。如图1至图2和图4所示,在灭菌期间和在激活之前,第二部分106可相对于第一部分104处于第一位置148。在第一位置148,容器120可被完好保持在与下部部分114、第二隔室111或孢子115分开的位置,并且液体122可被包含在容器120内。

[0124] 如图6所示,在灭菌之后,生物灭菌指示器100可被激活以从容器120释放出液体122,从而使液体122移动到第二隔室111。即,壳体102的第二部分106可相对于第一部分104移动到第二位置150。当第二部分106从第一位置148移动至第二位置150时,壳体102的第二部分106的密封件156可接合第一部分104的上端157以将生物灭菌指示器100的贮存室103密封而使其与环境隔离。在此类实施方案中,第二部分106可以在第二位置150可逆地接合第一部分104,并且在一些实施方案中,第二部分106可以不可逆地接合第一部分104。然而,应当理解,用于第一部分104和第二部分106的结构和联接方式在所示出的实施方案中仅以举例的方式示出,并且可改为在壳体102的第一部分104与第二部分106之间采用任何以上描述的联接方式。

[0125] 插件130可适于保持或承载容器120,使得容器120在灭菌期间完好地保持在与孢子115分开的某个位置。即,如上所述,在一些实施方案中,插件130可包括(或者充当)容器120的载体132,特别是在容器120在激活步骤(即其中液体122从容器120中释放出来并被引入孢子115的步骤,通常出现在灭菌过程之后)中被破裂之前。

[0126] 此外,插件130可适于将容器120完好地保持在壳体102的某个位置,该位置维持容器120与壳体102之间和/或容器120与壳体102中的任何其他部件或结构(例如,插件130的至少一部分,诸如载体132等)之间的至少最小间距(例如,间距的最小横截面积),例如以在生物灭菌指示器100中维持基本上恒定的灭菌剂路径164。在一些实施方案中,插件130可适于将容器120保持在壳体102中基本上一致的位置。

[0127] 在一些实施方案中,如图3所示,壳体102的至少一部分可包括锥形部分146,其中壳体102(例如壁108和/或其内表面)通常在壳体102的纵向方向DL渐缩。因此,壳体102中的

横截面积通常会沿着纵向方向DL减少。

[0128] 在一些情况中,如不提供维持容器120周围(例如,容器120与周围结构之间)的至少最小间距的方式,则有可能容器120会变成在壳体102中(例如,在锥形部分146中)被设置成导致它阻挡或阻断灭菌剂路径164。但是,本公开的生物灭菌指示器100被设计为能抑制发生这种情况。例如,在所示出的实施方案中,插件130(特别是载体132)可被构造成将容器120保持在壳体102的锥形部分146之外,使得在激活之前在生物灭菌指示器100的任何取向在容器120周围都维持至少最小的横截面积。例如,在图1至图5中所示的实施方案中,尽管生物灭菌指示器100被翻倒过来,容器120可能倒落而与插件130脱离接触,但在任何取向,直到生物灭菌指示器100被激活之前容器120都不会移动成更靠近锥形部分146或孢子115。此外,直到激活之前,可维持容器120与壳体102和/或插件130之间的最小间距(特别是此间距的横截面积),以提供例如在容器120周围、穿过第一流体路径160并进入第二隔室111的基本上恒定的灭菌剂路径164。

[0129] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100的各部件其相对大小和位置可被构造成使得在激活之前,容器120被完好保持在生物灭菌指示器100中基本上一致的位置。这种构造可提供基本上恒定的灭菌剂路径164,并可将容器120维持在某个位置,在该位置,容器120即使在生物灭菌指示器100激活之前会在其中移动的话,也不能够显著移动。在一些实施方案中,插件130的至少一部分适于允许容器120在第一(纵向方向)位置与第二(纵向方向)位置之间相对于壳体102例如纵向地在壳体102中移动,在第一(纵向方向)位置,容器120是完好的,在第二(纵向方向)位置,容器120的至少一部分是破碎的。仅作为举例而言,插件130可包括一个或多个突起部或臂158(仅以举例方式显示了在容器120周围间隔开的两个突起部158),这两个突起部适于在激活之前保持并支承容器120,并适于在激活期间(例如当第二部分106相对于壳体102的第一部分104移动时)允许容器120在壳体102中移动。突起部158也可适于(例如,成形和/或设置成)可在生物灭菌指示器激活时以所需方式使容器120破碎。因此,插件130有时可用于在激活前使容器120保持完好,并可以在激活期间打破容器120。因此,插件130或它的一部分有时可以称为“载体”(例如,载体132)和/或“打破件”。

[0130] 仅作为举例而言,突起部158在图1和图3至图7中被显示为联接到适于邻接分隔壁118的基座或支撑件127。例如,基座127的尺寸可被设计为可被接纳于贮存室103中,并且其尺寸被设计为可置于分隔壁118的顶部上、邻接分隔壁或者以其他方式结合或联接到分隔壁。与生物灭菌指示器100的内部结构的此类联接可以在需要时提供打破容器120的必要阻力和力。然而,在一些实施方案中,插件130不包括基座127,并且突起部158可联接到壳体102或形成该壳体的一部分。在一些实施方案中,插件130与壳体102整体地形成或由该壳体提供。

[0131] 如图所示,插件130还可以包括侧壁131,该侧壁连接突起部158并成形为容纳壳体102的内表面和/或容器120的外表面。此类侧壁131可为突起部158提供支撑和刚度,以有助于以一致的方式可靠地打破容器120。侧壁131也可被成形为或尺寸被设计为可在激活期间当其在壳体102中移动时以所需方式导向容器120,例如以便通过所需方式接触突起部158以可靠地将容器120破碎。侧壁131和/或壳体102的壁108(或其内表面)也可被成形为将生物灭菌指示器100的第二流体通道162的至少一部分限定在例如插件130的外表面与壳体

102的内表面之间。例如,在一些实施方案中,如图1至2、图5和图7所示,插件130的侧壁131可以包括被构造形成第二流体路径162的至少一部分的通道(或凹槽、凹口等)169。第二流体路径162可以充当生物灭菌指示器100内的“内部排放口”或“排放通道”,其允许气体(例如,被替换的气体,诸如原先滞留在第二隔室111(例如,生物灭菌指示器100的封闭端105附近)中的空气)逸出生物灭菌指示器100的第二隔室111。在一些实施方案中,第二流体路径162可以在激活期间为存在于第二隔室111中的气体提供逸出或内部排放口,以有利于液体122在从容器120中被释放出来时从第一隔室109移动到第二隔室111中。此外,或另选地,在一些实施方案中,第二流体路径162可以在灭菌期间为存在于第二隔室111中的气体提供逸出或内部排放口,以有利于灭菌剂移动到生物灭菌指示器100的第二隔室111中并移动至孢子115,从而使灭菌剂更有效地渗透到第二隔室111中。

[0132] 仅作为举例而言,如图2和图7所示,第二流体路径162可至少部分地被插件130的一部分(例如,通道169)和壳体102的壁108中(例如,壁108的内表面中)形成的通道(或凹槽、凹口等)163两者限定。然而,应当理解,在一些实施方案中,第二流体路径162可完全由壳体102形成或由生物灭菌指示器100的其他部件的多种组合形成,使得第二流体路径162提供生物灭菌指示器100的第二隔室111与另一个内部部分或区域之间的流体连接。例如,第二流体路径162不一定由壳体102和插件130两者形成,而是可以由这些部件中的一者或其他部件形成。此外,如图2和图7所示,限定第二流体路径162的至少一部分的通道163被模制在壳体102的外表面和内表面中,使得通道163在壳体102的内部和外部都可见。

[0133] 然而,壳体102的外表面不一定包括此类形状,相反,在一些实施方案中,壳体102的外表面可以保持基本上相同或不变,而壳体102的内表面(例如,壳体102的壁108)可以包括通道163。

[0134] 此外,在一些实施方案中,插件130和壳体102都不包括各自的通道169或通道163,相反,插件130和壳体102的形状和尺寸被设计为使得插件130与壳体102之间具有与第二隔室111流体连通的空间或间隙,并且此类空间或间隙用作第二流体路径162。

[0135] 还如图4和图6所示,在一些实施方案中,第一流体路径160和/或任选第二流体路径162可以至少部分地被壁118、基底119、插件130和壳体102中的一者或多者限定。此外,第一流体路径160和第二流体路径162中的至少一者可至少部分地被孢子载体135或其一部分限定。

[0136] 在一些实施方案中,当容器120处于第一未破碎状态时,生物灭菌指示器100可包括按如下顺序布置的如下部件:生物灭菌指示器100的壳体102的封闭端105、第二隔室111、基底119、插件130、第一隔室109、容器120、壳体102的开口端101(或壳体102的第二部分106)。

[0137] 如所图示的实施方案所示,第二流体路径162可允许第二隔室111中的流体排放至生物灭菌指示器100的另一个部分,诸如第一隔室109。在一些实施方案中,第二流体路径162可以在第一流体路径160进入第二隔室111的位置上方(例如,垂直上方)的位置处离开第二隔室111,特别是在第二流体路径162将第二隔室111中的流体排放回第一隔室109的实施方案中。换句话讲,在一些实施方案中,第二流体路径162可从第二隔室111延伸至生物灭菌指示器100中高于第一流体路径160进入第二隔室111的位置(如下文所述的第一水平L1或第二水平L2)的位置(如下文所述的第四水平L4)。此外,在一些实施方案中,第二流体路

径162进入第一隔室109的位置可位于第一流体路径160进入第二隔室111的位置上方(例如,垂直上方)。

[0138] 在一些实施方案中,第一流体路径160可被设置成将第二隔室111与生物灭菌指示器100的近侧部分(例如,第一隔室109中靠近或邻近第二隔室111设置的一部分,例如位于第一水平L1和/或第二水平L2)流体联接,并且第二流体路径162可被设置成将第二隔室111与生物灭菌指示器100的远侧部分(即,第一隔室109中远离第二隔室111设置的一部分,如位于下文所述的第三水平L3,和/或第四水平L4)流体联接。因此,第二流体路径162进入第一隔室109的位置可比第一流体路径160进入第二隔室111的位置更远离第二隔室111设置。

[0139] 更具体地讲并仅作为举例而言,参照图4和图6,在一些实施方案中,流体可以从多个位置处进入第二隔室111,诸如大致位于插件130、基底119、壳体102和/或第二隔室111前面的第一水平、高度或位置(例如,纵向位置)L1处,以及位于大约基底119中的孔口121的水平处的第二水平、高度或位置(例如,纵向位置)L2处。如上所述,应当理解,第一隔室109与第二隔室111之间允许流体移动到第二隔室111中的各种开口和空间可以统称为第一流体路径160。还如图4所示,在一些实施方案中,气体(例如,被替换的气体)可以在大致位于插件130/基底119、壳体102和/或第二隔室111后面的第三水平、高度或位置(例如,纵向位置)L3处经由第二流体路径162离开第二隔室111(即,当流体经由第一流体路径160移动到第二隔室111中时)。

[0140] 在图4和图6中所示的生物灭菌指示器100的垂直向上方向,第三水平L3位于第一水平L1和第二水平L2处或两者的上方。此外,在一些实施方案中,在生物灭菌指示器100操作时(例如,在灭菌期间和/或激活期间居于读取设备的孔中时),第三水平L3仍可以位于第一水平L1和第二水平L2处或两者的上方。即,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可以在操作时倾斜(例如,朝向图4或图6的左手侧,朝向图4或图6的右手侧,进入图4或图6的页面,和/或离开图4或图6的页面)。第一水平L1、第二水平L2和第三水平L3仅以举例的方式示出;然而,应当理解,第一流体路径160进入第二隔室111的精确位置和/或第二流体路径162离开第二隔室111的精确位置可以与图4和6中所示的位置不同。

[0141] 如图4和图6所示,第二流体路径162至少部分地被插件130的通道169和/或壳体102的通道163限定,在以下论述中通常将其简单地称为“通道”,可以将其解释为是指所示出的实施方案的通道163和/或通道169的至少一部分。在所示出的实施方案中,通道具有入口和出口,可将入口描述为位于第二隔室111中的任何点处,或第三水平L3处,出口通常设置在第四水平、高度或位置(例如,纵向位置)L4处。如图4和图6所示,例如,生物灭菌指示器100操作时,通道的出口位置(即,第四水平L4)通常位于第一流体路径160与第二隔室111连接的位置(即,第一水平L1和/或第二水平L2)上方。

[0142] 换句话说,可将第一流体路径160设置为使第一隔室109的第二(下)端113与第二隔室111的第一(上)端124流体联接。另一方面,可将第二流体路径162设置为使第二隔室111(例如,第二隔室111的第一(上)端124)与第一隔室109的上部部分(例如,第一(上)端112)流体联接。

[0143] 此外,在一些实施方案中,可将第二流体路径162(或通道)与第二隔室111连接的位置或水平描述为位于当容器120处于第二破碎状态时第二隔室111中最后充满液体122的位置处。

[0144] 在一些实施方案中,当容器120处于第二破碎状态,并且第二隔室111至少部分地充满液体122时,液体122可以具有水平、高度或位置(例如,纵向位置)L,并且第二流体路径162可以在低于水平L的位置与高于水平L的位置之间延伸。因此,当第二隔室111在容器处于第二状态时充满液体122的时候,第二隔室111可以通过第二流体路径162进行连续排放。

[0145] 在一些实施方案中,第一流体路径160可充当第一隔室109与第二隔室111之间的主要或首要流体连通路程,并且第二流体路径162可用作第一隔室109与第二隔室111之间的辅助或次要流体连通路程(例如,当第二流体路径162从第一隔室109离开,而不是从生物灭菌指示器100的另一部分离开时)。在此类实施方案中,第二流体路径162的总空间、体积和/或面积可显著小于第一流体路径160。在一些实施方案中,第一流体路径160和第二流体路径162的至少一部分可被描述为彼此基本上隔离或基本上平行和不相交。在一些实施方案中,第一流体路径160和第二流体路径162可以在第一隔室109与第二隔室111之间各自基本上纵向地(例如,基本上平行于纵向方向DL)延伸。

[0146] 即,一般来讲,生物灭菌指示器100(包括(1)第一流体路径,诸如被构造用于容纳从第一隔室109到第二隔室111的至少大部分流体移动的第一流体路径160;和(2)第二流体路径,诸如被构造用于从第二隔室111排放气体的第二流体路径162的)将优于以下生物灭菌指示器100,即包括仅一个内隔室或仅一个连接第一隔室109和第二隔室111的流体路径,使得气体将不得不由流体进入第二隔室111的相同流体路径离开第二隔室111。通过构造第一流体路径160和第二流体路径162(如所示出的实施方案中所示),在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可至少部分地消除由于尝试将灭菌剂和/或液体122移动到第二隔室111中而可能发生的任何气锁效应。此外,在一些实施方案中,第二流体路径162可允许在生物灭菌指示器100保持相同取向(例如,基本上垂直向上的取向,如图1至图2、图4和图6所示)的情况下激活生物灭菌指示器100,并允许液体122因重力作用而移动到第二隔室111中,而无需使生物灭菌指示器100被翻倒过来,或者重新取向就能使液体122移动到第二隔室111中。

[0147] 继续参照插件130,插件130的突起部158被描述为是相对刚性和保持的。即,在一些实施方案中,突起部158在壳体120中移动时可能不适于显著弯曲、扭曲、变形或以其他方式顺从容器102。相反,在一些实施方案中,如图1至图4和图6所示,突起部158可以各自被构造具有上端159,可将容器120设置在该上端的顶上并在激活前使该容器保持完好。如图1至图2和图4中所示,在一些实施方案中,突起部158可被设置为例如当采用椭圆形或胶囊形状的容器120时,使容器120在其圆角端破碎。

[0148] 使突起部158形成载体132的至少一部分的一个潜在优点是,当容器120被破碎时,容器120的底部可以是无限制的,使得液体122可相对容易和可靠地从容器120释放并向孢子115移动。

[0149] 在此类实施方案中,例如当采用椭圆形或胶囊形状的容器120时,插件130可用于在与容器120的扁平侧面基本上垂直的方向使容器120破碎。在此类实施方案中,可实现沿着容器120的侧面使其破碎,同时在容器120的下端周围维持一些开放空间30,以有利于在容器120破碎时使液体122从容器120移动到孢子115附近。

[0150] 如上所述,突起部158可适于例如响应于壳体102的第二部分106相对于壳体102的第一部分104移动(例如,从第一位置148移动到第二位置150),随着容器120相对于壳体102

移动(例如,沿纵向方向DL移动)而使容器120破碎。

[0151] 在一些实施方案中,突起部158可包括一个或多个边缘(例如,锥形边缘)或尖端或者以其他方式被构造为使挤压力集中以增加在邻近突起部158的区域中对容器120的压力,且有利于更容易地并在一个或多个所需区域中使容器120破碎。在一些实施方案中,这种力的集中可减少使第二部分106相对于第一部分104移动并使容器120(或其一部分)破碎所需的总作用力或力。

[0152] 如图1至图4和图6所示,突起部158与插件130的基座127整体地形成;然而,应当理解,突起部158可改为与壳体102的壁108整体地形成。此外,在一些实施方案中,突起部158可联接到壳体102,或者突起部158和基座127可由单独的插件提供。在此类实施方案中,突起部158可各自为单独的插件,或者多个突起部158可由一个或多个插件提供。此外,插件130可被构造成邻接壁118,以抑制插件130的第一部分移动到孢子115附近(例如,壳体102的下部部分114)。

[0153] 此外,在一些实施方案中,如图1至图4和图6所示,突起部158可沿着纵向方向DD延伸一段距离,并且可定制突起部158的长度和/或厚度(例如其可沿着长度变化)以控制容器120在壳体102中的所需位置和以所需的方式破碎。突起部158的构造在图1至图7中仅以举例的方式示出。

[0154] 一般而言,每个突起部158仅以举例的方式示出为厚度沿纵向方向DL朝向孢子115增加(例如,朝着容器120或壳体102的中央向内增加)。这种构造可递减随着容器120移动朝向孢子115而对于容器120可用的横截面积,该移动例如是响应第二部分106移动到第二位置150而发生。

[0155] 此外,生物灭菌指示器100在图1至图7中仅以举例的方式被显示为包括两个突起部158和侧壁131,但应当理解,可采用一个突起部158或者在结构上可能的情况下采用尽可能多的突起部,以及其他构造。此外,突起部158的形状和尺寸可根据需要来设计,这取决于壳体102的形状和尺寸、容器120的形状和尺寸、插件130的形状和尺寸和/或使容器120破碎所需的方式和位置。

[0156] 如上所述,在一些实施方案中,壳体102的至少一部分可以是锥形的(参见,如图3中的锥形部分146)。因此,壳体102中的横截面积通常会沿着纵向方向DL减少。然而,应当理解,壳体102的内部尺寸通常可沿着纵向方向DL在锥形部分中减少,而壳体102的外部尺寸则不变。在一些实施方案中,壳体102的外部尺寸可沿着其长度方向是相同的,尽管壳体102的内部部分沿着其长度方向渐缩。在一些实施方案中,该一个或多个突起部158独自可沿着纵向方向Dv改变厚度(即朝向容器120,例如沿径向方向),使得随着在激活期间容器120在壳体102中移动,对于容器120可用的横截面积通常减少,尽管壳体102的尺寸不改变(例如,尽管壳体102不包括任何锥形部分146,无论在内部还是在外部)。

[0157] 如图1至图7中所示,每个突起部158的上端159包括圆形的、弧形的或弓形的表面,这可有利于容器120从第一位置148移动到如下位置,在该第一位置,容器120至少部分地居于突起部158的上端159之上:即在该位置,容器120被至少部分地迫使进入各突起部158之间(或壳体102的壁108与一个或多个突起部158之间)的较小横截面积区域中。此外,圆形上端159可抑制容器120的过早破裂,而这可抑制生物灭菌指示器100的过早激活(即液体122的过早释放)。

[0158] 在一些实施方案中,如图3所示,插件130的大小和形状可被设计为允许将容器120保持在突起部158上方并在邻近一个或多个突起部158的朝内表面的任何部分的区域之外,以抑制生物灭菌指示器100意外或过早激活。此类构造还可防止因震动或材料膨胀(例如,由于灭菌过程期间暴露于热所致)而发生的意外破裂。载体132(其可至少部分地由突起部158的上端159形成)可被构造用于容纳容器120的底部部分,而突起部158可被设置成在容器120被设置在壳体102中时在容器120底部附近的位置使该容器破碎。此类构造可使得容器120可以在其底部附近被破裂,并且可有利于液体122从容器120的排出,而这可提高液体122对孢子115的可利用率,并且可提高液体122释放出来与孢子115(例如,与孢子贮存室136)形成流体连通的可靠性。然而,这种构造仅以举例的方式示出,应当理解,突起部158可被构造并设置成可按任何所需方式使容器120破碎。

[0159] 本公开的一些实施方案以相对低的力实现易碎容器120的最佳且安全的破裂,同时增强液体122向生物灭菌指示器100的孢子区域(例如,壳体102的第二隔室111)的转移和/或提高在生物灭菌指示器100的孢子区域中液体122的容量。此外,本公开的一些实施方案能够通过操作迫使液体到达生物灭菌指示器100的特定区域,诸如生物灭菌指示器100的检测隔室(例如,第二隔室111)。

[0160] 在图1至图7所示的实施方案中,插件130被示出为包括两个在容器120周围和/或侧壁131周围大约等距间隔的突起部158。然而,在一些实施方案中,侧壁131可包括一个从侧壁131径向向内延伸的实体(例如,基本上环形或半环形)突起部158。此外,在一些实施方案中,侧壁131可围绕壳体102的内表面进一步延伸到图示之外的地方。但是,采用一个或多个较窄(例如在角维度上)的突起部158,诸如图1至图7中所示的那些突起部,可提供围绕容器120的基本上恒定或基本上畅通无阻的灭菌剂路径164。

[0161] 无论插件130是包括一个或多个突起部158还是侧壁131,插件130均可被构造成可将容器120保持在壳体102中的一致位置,从而在灭菌期间提供基本上恒定的灭菌剂通道164。例如,插件130可将容器120保持在基本上一致的位置,而不是让容器120能够在激活之前(例如,在灭菌期间)在壳体102中移动或转动(例如,径向地和/或纵向地),这可给灭菌剂留出在容器120的外表面与壳体102的内表面之间的基本上一致和相对无阻挡的路径,发生意外堵塞的机会极少或不存在。

[0162] 如所示出的实施方案所示,插件130还可以包括一个或多个突起部161,该突起部被设置为基本上水平或垂直于生物灭菌指示器的纵向方向DL(例如,当插件130设置在生物灭菌指示器中时)。突起部161可称为“第二突起部”或“水平突起部”,而用于保持和/或打破容器120的突起部158可称为“第一突起部”或“垂直突起部”。第二突起部161不像基座127那样被向下调角度。因此,第二突起部161可用于多种目的。例如,第二突起部161可在使容器120破碎的力下稳定插件130(例如,有助于将插件130保持在生物灭菌指示器100的壳体102中的所需位置)。此外,第二突起部161可用于在容器120被破碎后保留和/或收集容器的破碎部分,以抑制此类部分移动到生物灭菌指示器中的孢子的附近,这样的移动可能对孢子生长和/或孢子生长的检测造成不良影响。可采用第二突起部161的其他形状和构造,该形状和构造仍然允许流体向下移动到孢子115,而同时抑制固体向下移动至孢子115。

[0163] 在一些实施方案中,插件130(例如,基座127)可适于以下中之一者或多者:有利于或允许流体移动(例如,液体122移动)至壳体102的第二隔室111(即,下部部分)114)中;使

破碎容器120的小部分或部分(例如固体)向壳体102的第二隔室111的移动最小化,即,收集和/或保留破碎容器120的部分;使孢子115的扩散最小化,和/或从壳体102的第二隔室111发出信号。例如,在一些实施方案中,基座127可被构造成充当滤栅或过滤器。在一些实施方案中,通过荧光指示剂/分子(例如荧光团)或其他标志物来确定孢子生长。

[0164] 在一些实施方案中,如果在激活之后生物灭菌指示器100中的液位在孢子115的位置的上方,则这种分子或标志物或者孢子115本身可移动或扩散离开孢子贮存室136或者移动或扩散到该孢子贮存室之外,并潜在地移动或扩散到壳体102的第二隔室111之外。因此,生物灭菌指示器100的部分(例如,插件130)可被构造用于抑制多个指示剂、分子和/或标志物向生物灭菌指示器100的第二隔室111外的不需要的扩散。在一些实施方案中,如上所述,基底119也可抑制此类不需要的扩散。

[0165] 在图1至图4中所示的实施方案中,插件130的基座127通常为U形或马蹄形且包括中央孔口177(参见图2),该孔口有利于灭菌期间灭菌剂向孢子115的移动和激活过程中液体122向孢子115的移动。基座127的马蹄形状可增加壳体102的上部部分116(即,第一隔室109)与下部分114(即,第二隔室111)之间的开口;然而,这个形状仅以举例的方式示出,也可采用其他的形状。

[0166] 在一些实施方案中,插件130可被描述为包括一个或多个向下延伸的突起部127,该突起部适于邻接或以其他方式联接到壁118或生物灭菌指示器100的另一个内部结构,以向插件130提供基座或支撑件来抑制在激活之前插件130和容器120相对于壳体102移动,和/或提供抗性或力来有助于在激活期间打破容器120。因此,在一些实施方案中,基座127也可称为“第三突起部”127。

[0167] 如所示出的实施方案所示,在一些实施方案中,插件130可被构造成完全位于生物灭菌指示器100的第一隔室109中,使得插件130不会延伸到第二隔室111内,否则会潜在地干扰检查或检测过程。此外,插件130可被构造成可抑制生物灭菌指示器100的其他部分(例如,破碎容器120)移动至第二隔室111中。所示出的实施方案的插件130通常是围绕中央纵向方向对称线对称的,使得具有两个相同的第一突起部158、两个相同的第二突起部161和两个相同的第三突起部127。然而,插件130并不需要包括任何对称线,且第一突起部158无需彼此相同,第二突起部161无需彼此相同,并且第三突起部127也无需彼此相同。插件130和多个突起部158、突起部161和突起部127的大小和位置能够被设计为用于控制灭菌剂路径164,例如定制生物灭菌指示器100的杀伤/存活率,抑制容器120意外破碎,有利于容器120在壳体120中移动,配合或接合壳体102和/或控制容器120的破裂。

[0168] 仅作为举例而言,所示出的插件130被示为是包括至少用于以下装置的一体装置:用于在激活之前保持容器120、在激活期间使容器120破碎;允许容器120在壳体102中移动;提供基本上恒定的灭菌剂路径164,在激活后收集和/或保留破碎容器120的部分(或至少部分地抑制破碎容器120的部分移动至壳体102的第二隔室111中);和/或在激活后将孢子115和/或信号从壳体102的第二隔室111向第一隔室109的扩散最小化。然而,应当理解,在一些实施方案中,插件130可包括多个部分,该部分可能不是单个一体装置的一部分,并且该部分中的每一个部分都可适于完成上述功能中的一者或多者。

[0169] 插件130被称为“插件”,是因为在所示出的实施方案中,执行上述功能的装置是可插入到壳体102的贮存室103(特别是,第一隔室109)中的装置。然而,应当理解,插件130相

反可由壳体102本身或者生物灭菌指示器100的另一部件来提供,并且不一定需要可插入壳体102中。出于简便起见,在本公开通篇中将描述到术语“插件”,但应当理解,该术语并不意在具有限制性,并且应当理解,可使用其他能执行上述功能中的一者或多者的等同结构来代替可插入的插件130或者与可插入的插件组合使用。此外,在所示出的实施方案中,插件130既可插入壳体102中也可从该壳体移除,特别是插入壳体102的第一部分104(和第一隔室109)中以及从其中移除。然而,应当理解,尽管插件130可插入壳体102中,但插件130无需从壳体102移除,而是可以在将插件130设置在所需位置后抑制插件130从壳体102移除的方式固定地联接到壳体102。

[0170] 在一些实施方案中,壳体102的至少一部分(例如壳体102的下部部分114)可对某个电磁辐射波长或者波长范围透明(例如,当采用可见光光学检测方法时对可见光透明),这可有利的于孢子生长的检测。即,在一些实施方案中,如图3、图4和图6中所示,壳体102的至少一部分可以包括或形成检测窗167。

[0171] 此外,在一些实施方案中,如图3所示,壳体102的至少一部分(例如,下部部分114)可包括一个或多个平坦壁168。这种平坦壁168可有利于孢子生长的检测(例如光学检测)。此外,如所示和如上所述,壳体102的第一部分104的壁108可包括一个或多个阶梯或锥形区域,诸如梯部152、梯部123以及锥形壁或梯部170。锥形壁170可用于减小壳体102的下部部分或检测部分114的总厚度和大小,使得除内部尺寸减小外,壳体102的外部尺寸也减小。生物灭菌指示器100的下部部分114的大小和/或厚度的此类减小可以有利于检测。此外,具有一个或多个特征,诸如梯部和/或锥形壁123、梯部和/或锥形壁152、梯部和/或锥形壁170,可允许生物灭菌指示器100以唯一一个取向联接到读数器或检测装置,使得生物灭菌指示器100相对于读取设备被“锁定”,这可以使用户误差最小化并提高检测过程的可靠性。在一些实施方案中,生物灭菌指示器100的一个或多个部分可相对于读取设备锁定。

[0172] 本公开的生物灭菌指示器通常在灭菌期间保持液体122和孢子115分开但又相对紧密邻近(例如,在整装配套式生物灭菌指示器100内),使得液体122和孢子115在暴露于灭菌过程后可容易地组合。可在检测过程期间温育液体122和孢子115(例如,读取设备可温育生物灭菌指示器100),或者可在检测过程之前温育生物灭菌指示器100。

[0173] 在一些实施方案中,当将孢子与液体122一起温育时,可使用室温以上的温育温度。例如,在一些实施方案中,温育温度至少为约37℃,在一些实施方案中,温育温度至少为约50℃,(例如,56℃),并且在一些实施方案中,至少为约60℃。在一些实施方案中,温育温度不大于约60℃,在一些实施方案中,不大于约50℃,并且在一些实施方案中,不大于约40℃。

[0174] 检测过程可适于检测孢子115(例如,从孢子贮存室136内)或围绕孢子115的液体122的可检测变化。即,检测过程可适于检测多种特性,包括但不限于电磁辐射(例如,在紫外、可见光和/或红外波段)、荧光、发光、光散射、电子性质(电导、阻抗等或者它们的组合)、浊度、吸收、拉曼光谱、椭圆光度法等或者它们的组合。对这些特性的检测可通过荧光计、分光光度计、比色计等或者它们的组合中的一种或多种来进行。在一些实施方案中,诸如在测量荧光、可见光等的实施方案中,通过以特定的波长进行检测来测量可检测变化。

[0175] 由于作为孢子活力的标志的生化反应,孢子和/或液体122可适于(例如,被标记成)产生一个或多个上述特性。因此,无可检测变化(例如,与基线或背景读数相比)可表示

有效的灭菌过程,而可检测变化则可表示无效的灭菌过程。在一些实施方案中,可检测变化可包括上述特性中的一种或多种特性的变化率(例如,增加的荧光、降低的浊度等)。

[0176] 在一些实施方案中,孢子活力可通过利用酶活性来确定。如在Matner等人的名称为“确定灭菌周期的功效的快速方法及快速读取生物指示器(Rapid Method for Determining Efficacy of a Sterilization Cycle and Rapid Read-out Biological Indicator)”的美国专利号5,073,488(其以引用方式并入本文)中所述的,对于特定类型的孢子可进行酶的鉴定,在该特定类型的孢子中,酶具有特别有用的特性,可利用该特别有用的特性来确定灭菌过程的功效。此类特性可以包括以下特性:(1)当经受足以将 $1 \times 10^6$ 个测试微生物的总数减少大约6个对数单位(即,减少至大约为零,如缺乏测试微生物生长时所测量)的灭菌条件时,酶具有与通过与酶底物系统反应所测量的“背景”相等的残留活性;和(2)当经受仅仅足以将 $1 \times 10^6$ 个测试微生物的总数减少至少1个对数单位但小于6个对数单位的灭菌条件时,酶具有的酶活性大于通过与酶底物系统反应所测量的“背景”。酶底物系统可包括底物或底物的混合物,底物受到酶的作用而产生可检测的酶改性产物,这由可检测变化明示。

[0177] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可以以单侧模式进行测试,其中生物灭菌指示器100仅包括一个设置成例如靠近孢子115的检测窗(例如图3的检测窗167)。然而,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可包括超过一个检测窗(例如,由壳体102的下部部分114的两个平行壁168的全部或部分所形成的窗),使得生物灭菌指示器100可经由超过一个检测窗进行分析。在采用多个检测窗的实施方案中,检测窗可并排设置(类似于单侧模式),或者检测窗可相对于彼此成角度(例如90度、180度等)取向。

[0178] 一般地,孢子115被设置在与贮存室103流体连通的孢子贮存室136内。在一些实施方案中,孢子贮存室136形成贮存室103的一部分(例如,第二隔室111的一部分)。如图4所示,贮存室103在灭菌期间与环境流体连通(例如,经由孔口107),以允许灭菌剂在灭菌过程期间进入贮存室103来对孢子115进行灭菌。容器120可被构造为在灭菌期间容纳液体122,以抑制液体122在灭菌期间与孢子115、贮存室103和灭菌剂流体连通。

[0179] 现在将更详细地描述孢子115和/或孢子贮存室136的各种细节。

[0180] 在一些实施方案中,孢子115可被直接设置在壳体102的下部部分114中,或者孢子115可被设置在孢子贮存器(诸如孢子贮存器136中(例如,由孢子载体135提供))中。无论孢子115直接设置在壳体102的下部部分114还是在孢子贮存室中,孢子115都可以以多种方式提供。在一些实施方案中,孢子115可在孢子悬浮液中,该孢子悬浮液可被设置在生物灭菌指示器100中的所需位置并被干燥。在一些实施方案中,孢子115可提供在载体材料(例如,聚合物膜或非织造材料,未显示)上,该载体材料可被设置和/或紧固在生物灭菌指示器100中的所需位置。一些实施方案可包括以干燥形式提供的孢子115和在载体材料上提供的孢子115的组合。

[0181] 在一些实施方案中,载体材料可被设置成支撑孢子115和/或帮助将孢子115维持在所需座位。这种载体材料可包括多种材料,包括但不限于纸张、聚合物(例如以上关于壳体102所列的聚合物的任一种聚合物)、粘合剂(例如丙烯酸酯、天然或合成橡胶、硅树脂、硅树脂聚脲、异氰酸酯、环氧树脂或者它们的组合)、织造布、非织造布、微孔材料(例如微孔聚合物材料)、反射材料(例如金属箔)、玻璃、瓷、陶、凝胶形成材料(例如瓜尔豆胶)或者它们

的组合。此外,或另选地,这种载体材料可包括或被联接到亲水涂层,以有利于使液体122与孢子115密切接触(例如,当所采用的液体122为水性液体时)。此外,或另选地,这种亲水涂层可施加到任何设置成使液体122和孢子115流体联接的流体通道。在一些实施方案中,除了亲水涂层,或者代替亲水涂层,可将疏水涂层施加到壳体102的其他部分(壳体102的下部部分114)和/或孢子贮存室136,使得液体122优先移动到与孢子115接触。

[0182] 生物灭菌指示器100的一些实施方案不包括孢子载体135。相反,孢子贮存室136由壳体102的下部部分114本身提供,孢子115可被设置在下部部分114中、被吸附在下部部分114的内表面或壁上或它们的组合。在一些实施方案中,孢子115可提供在载体材料上,该载体材料被设置在壳体102的下部部分114中。

[0183] 在一些实施方案中,孢子115可被设置在一个孢子座位中或者在多个孢子座位中,所有座位都可被设置在贮存室103中、壳体102的下部部分114中和/或孢子贮存室136中。在一些实施方案中,具有多个孢子座位可最大程度地使孢子暴露于灭菌剂和暴露于液体122,可改进制造过程(例如,通过将每个孢子座位放置在生物灭菌指示器100内的凹部,可有利于孢子的放置),且可改进检测特性(例如,因为处于一个大的孢子座位的中间的孢子可能不那么容易检测)。在采用多个孢子座位的实施方案中,每个孢子座位都可以包括单独的、已知数量的孢子,以及/或者每个孢子座位都可以包括不同的孢子,使得可以测试多种孢子类型。通过采用多种类型的孢子,生物灭菌指示器100可以用于各种灭菌过程,并且针对特定的灭菌过程可以分析特定的孢子座位,或者多种类型的孢子可以用来进一步测试灭菌过程的有效性或可信度。

[0184] 此外,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可包括多个孢子贮存器136,且每个孢子贮存器136可包括一个或多个孢子115座位。在采用多个孢子贮存室136的一些实施方案中,多个孢子贮存室136可被设置成与贮存室103流体连通。

[0185] 在一些实施方案中,孢子115可用适于装在孢子115和/或孢子贮存室136中或之上的覆盖件(未示出)覆盖。这种覆盖件可有助于在制造、灭菌和/或使用期间将孢子维持在生物灭菌指示器100的所需区域内。如果采用覆盖件的话,其可由基本上不会干扰检测过程和/或至少部分地能透过目标电磁辐射波长的材料形成。此外,取决于覆盖件的材料构成,在一些实施方案中,覆盖件可有利于沿着孢子115芯吸液体122(例如营养培养基)。在一些实施方案中,覆盖件还可含有有利于流体流入孢子贮存室136中(或流至孢子115)的特征,诸如毛细管通道、亲水性微孔纤维或隔膜等,或者它们的组合。此外,在一些实施方案中,覆盖件可以隔离信号,或增强信号,这可以有助于检测。无论孢子115被设置在孢子贮存室136内还是直接设置在壳体102的下部部分114中,都可以采用这种覆盖件。此外,这种盖可在采用多个孢子座位的实施方案中采用。覆盖件可以包括各种材料,包括(但不限于)纸张、聚合物(例如,以上针对壳体102所列的聚合物中的任一种聚合物)、粘合剂(例如,丙烯酸酯、天然或合成橡胶、硅树脂、硅树脂聚脲、异氰酸酯、环氧树脂,或者它们的组合)、织造布、非织造布、微孔材料(例如,微孔聚合物材料)、玻璃、瓷、陶、凝胶形成材料(例如,瓜耳胶),或者它们的组合。

[0186] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可包括改性的内表面,诸如反射表面、白色表面、黑色表面、或适合于优化表面光学性质的其他表面改性。反射表面(例如,由金属箔提供)可被设置成可将分析或检测装置发送到孢子贮存室136的信号朝向分析装置反

射和/或将孢子贮存室136内生成的任何信号朝向分析装置反射。因此,反射表面可用于改进来自生物灭菌指示器100的信号(例如,改进信号的强度)。这种反射表面可由壳体102的内表面、联接到壳体102的内表面的材料、孢子贮存室136的内表面、联接到孢子贮存室136的内表面的材料等来提供。或反射表面可形成孢子载体材料的一部分或联接到孢子载体材料;或它们的组合。

[0187] 类似地,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可包括白色和/或黑色表面,该表面设置为增强和/或降低从分析装置发送到孢子贮存室136中的特定信号,以及/或者设置为增强和/或降低孢子贮存室136内生成的特定信号。仅作为举例而言,白色表面可用于增强信号,并且黑色表面可用于减少信号(例如,噪声)。

[0188] 在一些实施方案中,孢子115可设置在官能化表面上,以促进孢子115在期望的表面上保持化。例如,此类官能化表面可由壳体102的内表面、孢子贮存室136的内表面来提供,可形成孢子载体材料的一部分或联接到孢子载体材料等,或者它们的组合。

[0189] 在一些实施方案中,孢子115被设置(例如,通过涂覆或另一施加方法施加)在微结构化表面或微复制型表面上(例如,诸如在Halverson等人的PCT公开号W0 2007/070310、Hanschen等人的美国公开号US2003/0235677和Graham等人的PCT公开号W0 2004/000569中所公开的那些微结构化表面,所有这些专利均以引用方式并入本文)。例如,这种微结构化表面可由壳体102的内表面提供,可由孢子贮存室136的内表面提供,可形成孢子基底的一部分或联接到孢子载体材料等,或者它们的组合。在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可包括凝胶形成材料,该凝胶形成材料设置成在液体122从容器120中释放出来时与孢子115和液体122组合。例如,凝胶形成材料可被设置在孢子115附近(例如在孢子贮存室136中)、在壳体102的下部部分114中,可形成孢子基材的一部分或者联接到孢子载体材料,等等,或者它们的组合。当液体122与孢子接触时,这种凝胶形成材料可以形成包含孢子和营养物质的凝胶(例如,水凝胶)或基质。凝胶形成材料(例如,瓜耳胶)可特别有用,因为它具有在水化时形成凝胶的能力,可有助于使信号(例如,荧光)定域化,可将孢子115锚固就位,可帮助使来自孢子贮存器136的孢子115和/或信号的扩散最小化,和/或可增强检测。

[0190] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100还可以包括吸收剂或芯吸材料。例如,芯吸材料可被设置在孢子115附近(例如,在孢子贮存室136中),可形成孢子基底的一部分或联接到孢子载体材料等,或者它们的组合。这种芯吸材料可包括多孔的芯吸垫、浸泡垫等,或者它们的组合,以有利于使液体122与孢子紧密接触。

[0191] 在一些实施方案中,易碎容器120可被构造成有利于以所需方式使易碎容器120破碎。例如,在一些实施方案中,易碎容器120的下部部分可由较薄和/或较弱的材料形成,使得下部部分比易碎容器120的另一部分优先破碎。此外,在一些实施方案中,易碎容器120可包括多个设置成有利于以所需方式使易碎容器120破碎的特征,包括但不限于薄的和/或弱化的区域、刻线、穿孔等,或者它们的组合。

[0192] 易碎容器120可具有第一封闭状态和第二开放状态,在第一封闭状态中,液体122被包含在易碎容器120内,并且在第二开放状态中,易碎容器120发生破碎,并且液体122被释放而进入贮存室103和/或孢子贮存室136中,并与孢子115流体连通。

[0193] 在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可以手动方式进行激活(例如,可将第二部分106移动到第二位置150)。在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可被读取设备激活

(例如,当生物灭菌指示器100设置在读取设备中时)。

[0194] 在一些实施方案中,例如,通过在将生物灭菌指示器100设置在读取设备的孔中之前将生物灭菌指示器100设置在该装置中,可以用独立于此类读取设备的装置(例如,激活装置)激活生物灭菌指示器100。在一些实施方案中,生物灭菌指示器100可由读取设备、独立于读取设备的装置和手动激活中的两者或更多者的组合来激活。

[0195] 生物灭菌指示器100和另一装置(诸如读取设备)中的一者或两者可进一步被构造成抑制易碎容器120的过早或意外破碎。例如,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100、激活装置或读取设备可包括锁或锁定机构,该锁或锁定机构被设置成抑制壳体102的第二部分106在有需要之前移动到第二位置150中。在此类实施方案中,在该锁移动、移除或解锁之前,生物灭菌指示器100不能被激活。此之,或另选地,在一些实施方案中,生物灭菌指示器100、激活装置和/或读取设备可包括被设置成抑制在激活之后壳体102的第二部分106从第二位置150移动回到第一位置148中的锁或锁定机构。

[0196] 在一些实施方案中,如所示出的实施方案所示,壳体的至少一部分可以是扁平的(例如平行壁168),且可以相对于孢子贮存室136基本上是平坦的,而且平行壁168中的一者或两者或者它们的部分(例如检测窗167)的大小可被设计为使得壁168(或检测窗167)的至少一个维度基本上匹配孢子贮存室136和/或孢子115座位的至少一个维度。换句话说,壁168或其一部分(例如,检测窗167)可包括与孢子贮存室136和/或孢子115座位的横截面积基本上相同大小的横截面积。壁168/检测窗167和孢子贮存室136和/或孢子115座位之间的这种大小匹配可使在检测或分析过程中检测到的信号最大化。另选地,或此外,壁168或检测窗167的大小可被设计为匹配贮存室103(例如,至少一个维度或横截面积的大小可被设计为匹配)。各检测区域之间的这种大小匹配可改进孢子分析和检测。

[0197] 对于图1至图7中所示的生物灭菌指示器100,至少该生物灭菌指示器100的设置孢子115的部分是相对薄的(即“z维度”最小化),使得从孢子到壁168(或检测窗167)的光学路径最小化和/或干扰性物质在液体122(或营养培养基)中的任何效应最小化。在使用时,可将生物灭菌指示器100与一批要灭菌的物品放在一起进行灭菌过程。在灭菌期间,灭菌剂主要经由灭菌剂路径164与贮存室103(即,第一隔室109和第二隔室111)、孢子贮存室136和孢子115流体连通,使得灭菌剂可到达孢子以产生经灭菌的孢子。如上所述,第一流体路径160和第二流体路径162的合作可以有利于灭菌剂向第二隔室111中,特别是,向生物灭菌指示器100的封闭端105中移动。此外,在灭菌期间,易碎容器120处于封闭状态,其至少部分地被插件130的载体132保持完好。当易碎容器120处于封闭状态时,液体122不受灭菌剂破坏并且不与贮存室103(特别是,至少部分地由壳体102的下部部分114形成的第二贮存室111)、孢子贮存室136、孢子115或灭菌剂通道164流体连通。灭菌还可包括在容器120处于第一状态时将灭菌剂经由第一流体路径160从第一隔室109移动至第二隔室111,并将被替换的气体(例如,截留的空气)经由第二流体路径162移动到第二隔室111之外以响应或有利于将灭菌剂从第一隔室109移动至第二隔室111。在灭菌之后,可使用生物灭菌指示器100来测定灭菌过程的有效性。如果壳体102的第二部分106先前锁定在第一位置148,则其可被解锁并且从第一位置148(参见图3)移动至第二位置150(参见图4)以使生物灭菌指示器100被激活。第二部分106的这种移动可造成易碎容器120在壳体102中例如沿着纵向方向DL从各突起部158的上端159上方的位置移动到各突起部158的内部当中的某个位置,这可造成易碎容器

120破碎。使易碎容器120破碎,可使易碎容器120从其封闭状态变成其开放状态并使液体122释放到贮存室103中并使其与孢子贮存室136和孢子115流体连通。液体122可包括孢子的营养培养基(例如,萌发培养基),或者液体122可接触干燥形式(例如,粉末形式或片剂形式)的营养培养基以形成营养培养基,使得形成包括经灭菌的孢子和营养培养基的混合物。然后可在检测或分析过程之前或检测或分析过程中温育该混合物,并可检查生物灭菌指示器100以确认孢子生长的迹象。

[0198] 激活还可包括在容器120处于第二状态时将液体122经由第一流体路径160从第一隔室109移动至第二隔室111,并将被替换的气体(例如,截留的空气)经由第二流体路径162移动至第二隔室111之外以响应或有利于将液体122经由第一流体路径160从第一隔室109移动至第二隔室111。

[0199] 为检测孢子115中的可检测变化,可在液体122和孢子115组合后立即分析生物灭菌指示器100以获得基线读数。之后,能够检测任何偏离基线读数的可检测变化。生物灭菌指示器100可连续地或间断地进行监测和测量。在一些实施方案中,可以在测量可检测变化之前执行温育步骤的一部分或全部。在一些实施方案中,温育可在一个温度下(例如,在37°C、在50°C至60°C等下)进行,而可检测变化的测量可在不同的温度下(例如,在室温、25°C或37°C下)进行。生物灭菌指示器100的读出时间(即用来确定灭菌过程的有效性的时间)可以在一些实施方案中少于8小时,在一些实施方案中,少于1小时,在一些实施方案中,少于30分钟,在一些实施方案中,少于15分钟,在一些实施方案中,少于5分钟,并且在一些实施方案中,少于1分钟。

[0200] 尽管以上描述涉及具有类似于美国专利号9,322,046中描述的设计的生物灭菌指示器,但是考虑到本公开,预期可以修改具有其它设计的生物灭菌指示器(例如,美国专利号5,223,401和6,623,955中描述的那些生物灭菌指示器;该专利全文通过引用并入本文),以在生物活性源与易碎安瓿之间插入本公开的疏水性基底,从而实现本发明。

[0201] 上面描述的和附图中所示出的实施方案仅通过示例的方式给出,并且不旨在限制本公开的概念和原理。这样,本领域普通技术人员将理解,在不脱离本公开的精神和范围的情况下,元件及其配置和布置的各种改变是可能的。在以下权利要求中阐述了本公开的各种特征和方面。

[0202] 实施例

[0203] 实施例1.具有包括孔口的无孔疏水性基底的生物灭菌指示器的构造。生物指示器由从明尼苏达州圣保罗3M公司(3M Company (St. Paul, MN))获得的3M™ ATTEST™超快速读出生物指示器1492V中使用的部分构成,不同之处如下:将市售生物指示器中使用的带电荷的尼龙基底移除并用类似大小和卵形的聚丙烯膜条(0.25mm厚)替换。每个聚丙烯基底具有圆形孔口(3mm直径),该圆形孔口设置在与市售生物指示器的带电荷尼龙的基底中的孔口相同的位置。在用聚丙烯基底替换尼龙基底之后,组装生物指示器以在其它方面与市售生物指示器相同。小心避免将微生物污染物引入组装的生物指示器中。

[0204] 比较例1:具有包括孔口的非织造疏水性基底的生物灭菌指示器的构造。生物指示器由如实施例1中所述的部分构造,不同之处在于,替换基底使用由90%聚丙烯(FIBERVISIONS T-133/HY-Entangle 1.7dtex聚丙烯纤维(佐治亚州德卢斯的纤维视觉公司(FiberVisions Corp., Duluth, GA)))和10% LENZING VISCOSE 1.7dtex(39mm切断长

度,明亮的原始白色人造丝纤维(纽约州纽约市的兰精纤维公司(Lenzing Fibers,New York,NY)))制成的梳理非织造织物构造,梳理纤维描述于PCT公开号W0214/189716A1中,该专利全文以引用方式并入本文。非织造基底具有0.35mm的厚度并且被切割成大约9mm长和7.5mm宽的卵形形状。如图1所示,圆形孔口位于基底的一端附近。

[0205] 比较例2.具有包括孔口的非织造亲水性基底的生物灭菌指示器的构造。生物指示器由如实施例1中所述的零件构造,不同之处在于,替换基底使用来自3M™ ATTEST™超快速读出生物指示器1492V(明尼苏达州圣保罗的3M公司)的(0.23mm厚)非织造尼龙基底构造。

[0206] 实施例2.使用生物灭菌指示器来监测蒸汽灭菌过程。蒸汽灭菌过程(“周期”)在121°C动态空气移除(DAR)中使用蒸汽阻力计(型号101;纽约罗彻斯特的H&W技术公司(H&W Technology;Rochester,NY)中进行。生物指示器根据实施例1、比较例1或比较例2制备。如表1所述,蒸汽暴露时间的长度在过程中有变化。对于每个单独的过程,将每种类型的十个生物指示器置于阻力计中。该周期后,通过压碎含有检测介质的安瓿来激活生物指示器,并使用3M™ Attest™自动读数器(490H)监测荧光24分钟。然后将生物指示器在60°C下温育7天,并通过观察pH指示剂是否已从紫色变为黄色来视觉评估孢子萌发/生长。结果呈现于表1中。显示100%荧光和/或生长阳性的生物指示器组指示“存活”周期。显示小于100%生长阳性但大于0%生长阳性的生物指示器组指示“部分存活”周期。显示0%荧光阳性的生物指示器组指示“完全杀灭”周期。对于每种类型的生物指示器计算的所得D值呈现于表2中。

[0207] 表1

[0208] 暴露于动态空气移除(DAR)蒸汽灭菌过程不同时间长度的生物指示器中的孢子的存活率

生物指示器类型	蒸汽暴露时间 (分钟)	荧光阳性 (%)	生长阳性 (%)
实施例 1	10	100	100
比较例 1		90	70
比较例 2		100	100
实施例 1	11	100	100
比较例 1		50	20
比较例 2		100	100
实施例 1	12	100	100
比较例 1		40	0
比较例 2		100	70
实施例 1	13	100	100
比较例 1		0	0
比较例 2		70	20
实施例 1	14	0	0
比较例 1		0	0
比较例 2		70	0
实施例 1	15	0	0
比较例 1		0	0
比较例 2		0	0

[0210] 表2

[0211] 暴露于动态空气移除(DAR)蒸汽灭菌过程的生物指示器的D值使用在表1中报告的数据计算D值。

	生物指示器类型	D 值 (分钟)
[0212]	实施例 1	1.94
	比较例 1	1.49
	比较例 2	1.78

[0213] 令人惊讶地,即使在具有不同基底材料的每个生物灭菌指示器中的孔口具有相同的大小和形状,来自实施例1的生物灭菌指示器也具有最高的D值(即,对DAR蒸汽灭菌过程最具抗性)。

[0214] 实施例3.使用生物灭菌指示器来监测过氧化氢灭菌过程。在PSD阻力计(明尼苏达州明尼阿波利斯的斯坦朗讯科学灭菌溶液公司(Sterilucent,Scientific Sterilizing Solution,Minneapolis,Minnesota))中进行过氧化氢灭菌过程(“周期”)。生物指示器根据实施例1、比较例1或比较例2制备。如表3所述,过氧化物暴露时间的长度在过程中有变化。对于每个单独的过程,将每种类型的十(10)个生物指示器置于阻力计中。该周期后,通过压碎含有检测介质的安瓿来激活生物指示器,并使用3M™ Attest™自动读数器490H(明尼苏达州圣保罗的3M公司)监测荧光24分钟。然后将生物指示器在60°C下温育7天,并通过观察pH指示剂是否已从紫色变为黄色来视觉评估孢子萌发/生长。结果呈现于表3中。显示100%荧光和/或生长阳性的生物指示器组指示“存活”周期。显示小于100%生长阳性但大于0%生长阳性的生物指示器组指示“部分存活”周期。显示0%荧光阳性的生物指示器组指示“完全杀灭”周期。对于每种类型的生物指示器计算的所得D值呈现于表4中。

[0215] 表3

[0216] 暴露于过氧化氢灭菌过程不同时间长度的生物指示器中的孢子的存活率

生物指示器类型	过氧化物暴露时间 (秒)	荧光阳性 (%)	生长阳性 (%)
实施例 1	10	100	100
比较例 1		100	100
比较例 2		100	100
实施例 1	25	100	100
比较例 1		100	90
比较例 2		100	100
实施例 1	35	100	100
比较例 1		100	30
比较例 2		100	80
实施例 1	60	100	100
比较例 1		20	10
比较例 2		100	80
实施例 1	120	100	100
比较例 1		0	0
比较例 2		100	60
实施例 1	135	100	90
比较例 1		N/A	N/A
比较例 2		N/A	N/A
实施例 1	150	80	50
比较例 1		N/A	N/A
比较例 2		N/A	N/A
实施例 1	165	30	20
比较例 1		N/A	N/A
比较例 2		N/A	N/A
实施例 1	180	0	0
比较例 1		N/A	N/A
比较例 2		N/A	N/A

[0218] 表4

[0219] 暴露于过氧化氢灭菌过程的生物指示器的D值使用在表3中报告的数据计算D值。

生物指示器类型	D 值 (分钟)
实施例 1	0.23
比较例 1	0.09
比较例 2	0.34

[0221] 如在使用121°C DAR蒸汽灭菌过程(实施例3)的测试中所观察到的,当暴露于过氧化氢灭菌过程时,包含疏水性膜基底的生物灭菌指示器具有最高的D值(即,与其他生物灭菌指示器相比最具抗性)。

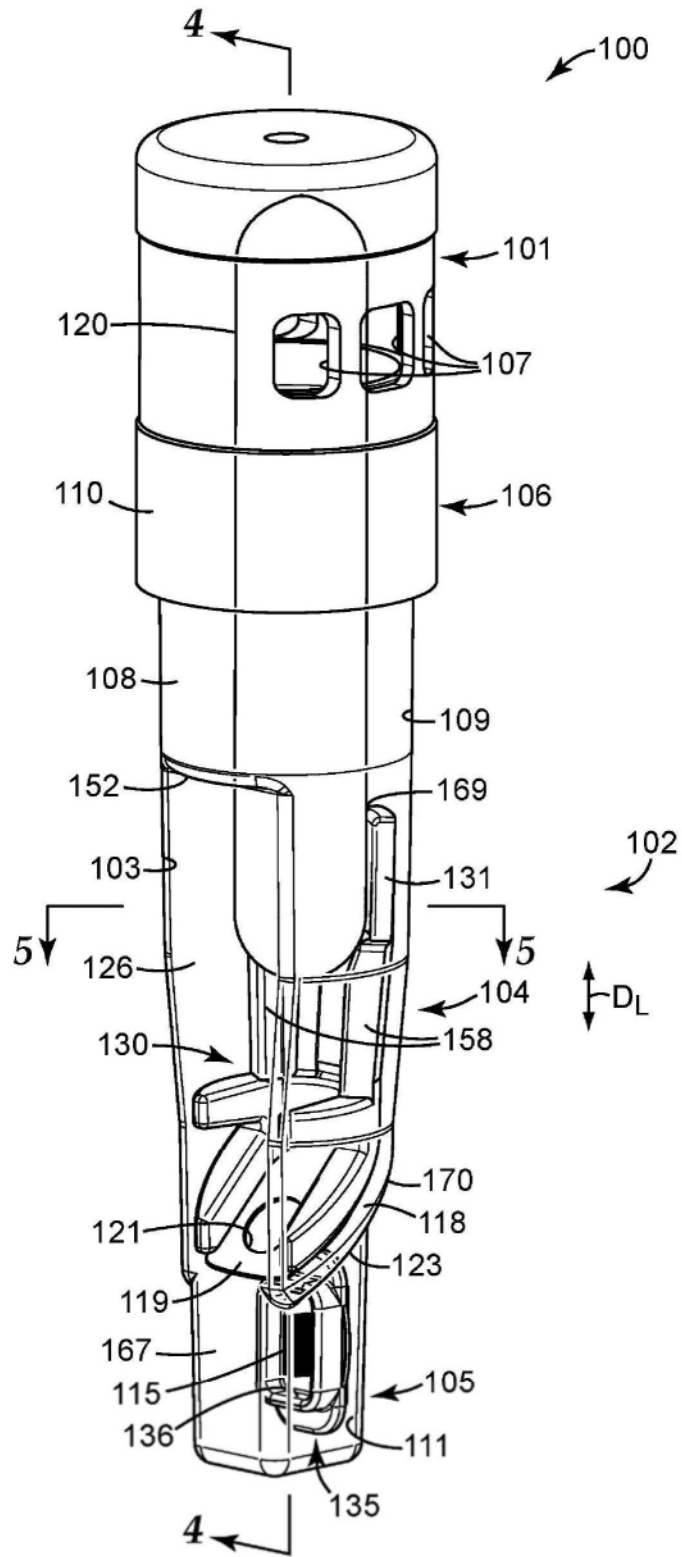


图1

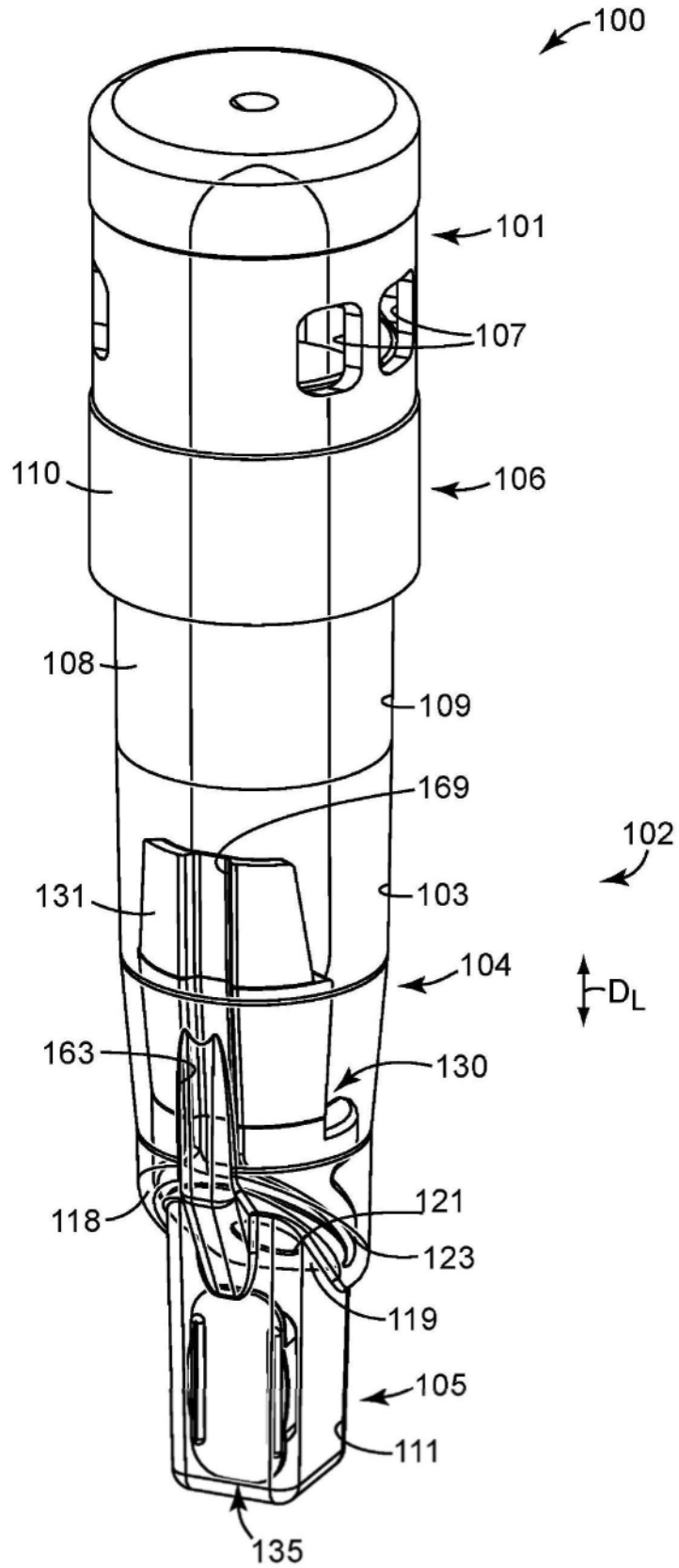


图2

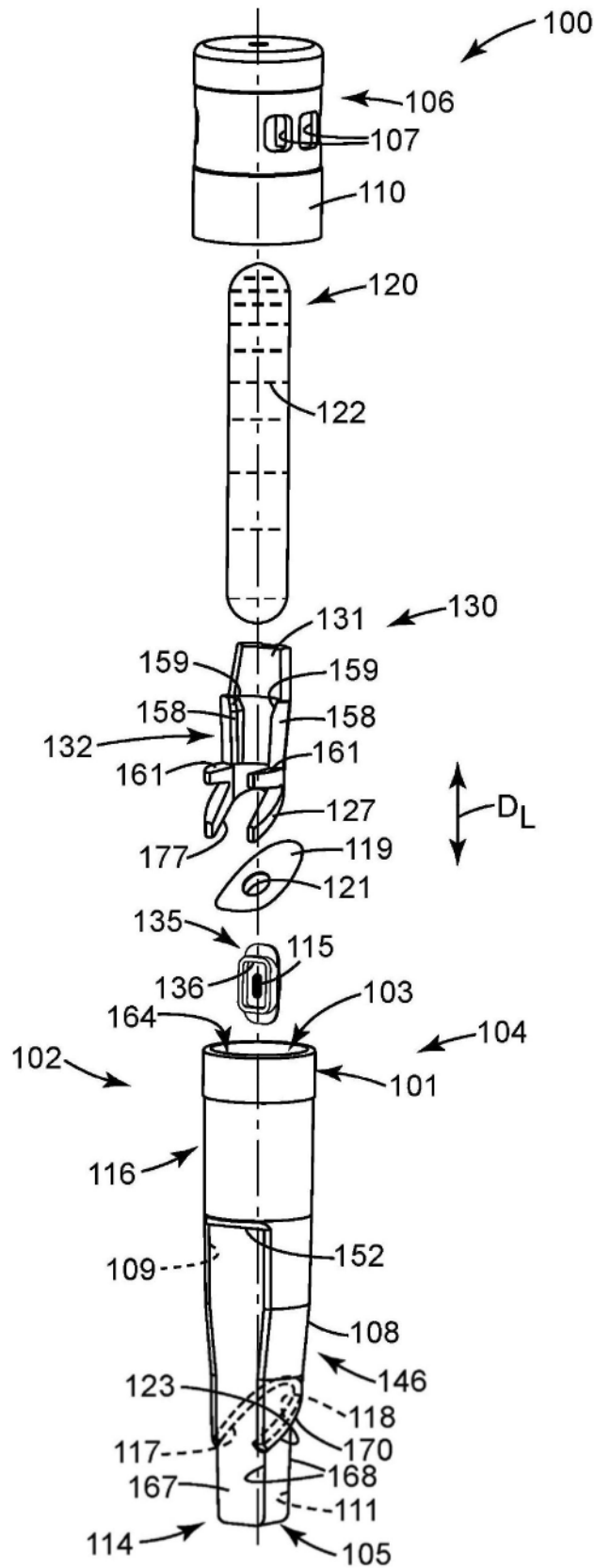


图3

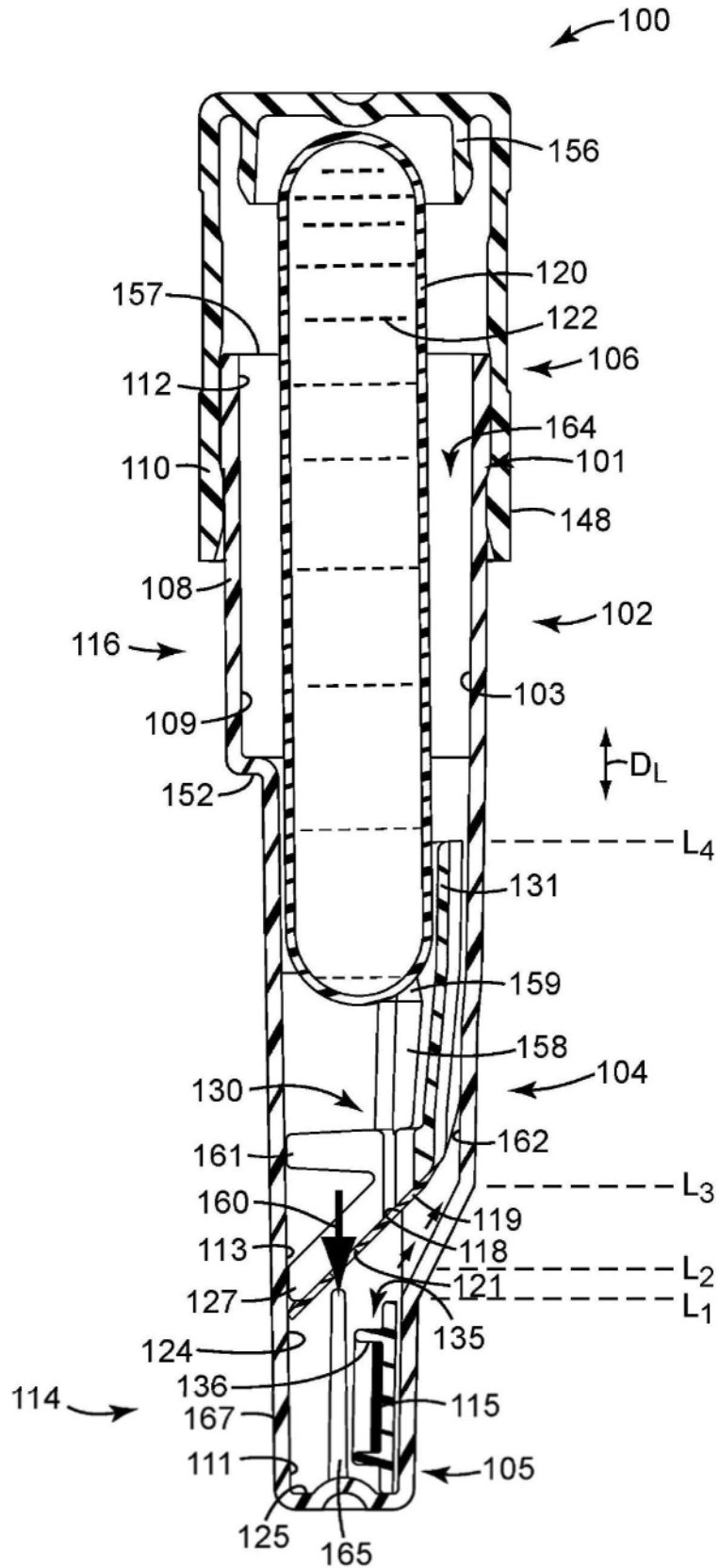


图4

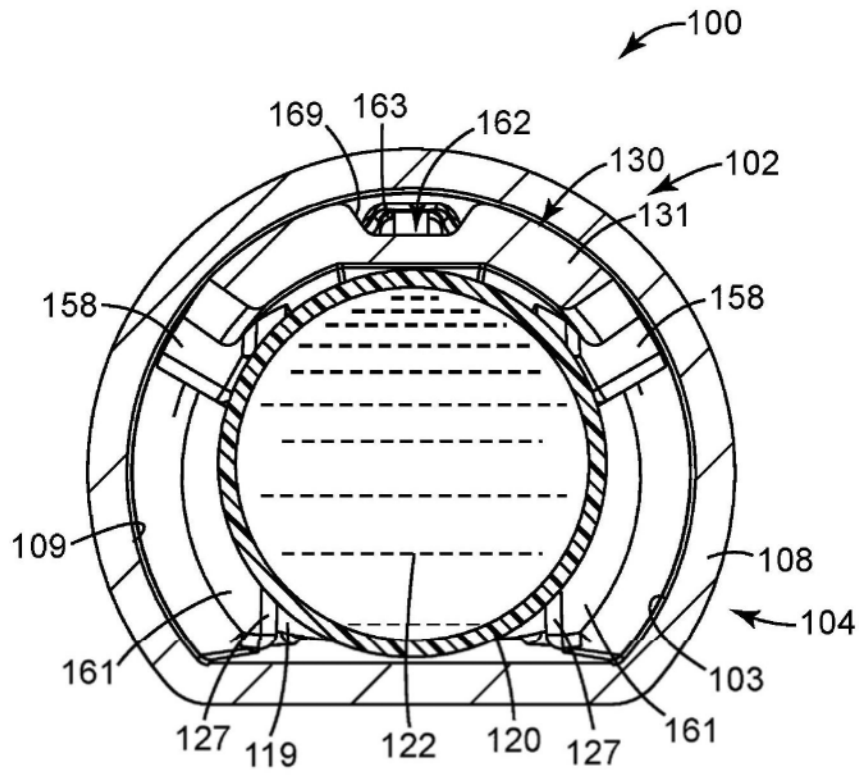


图5

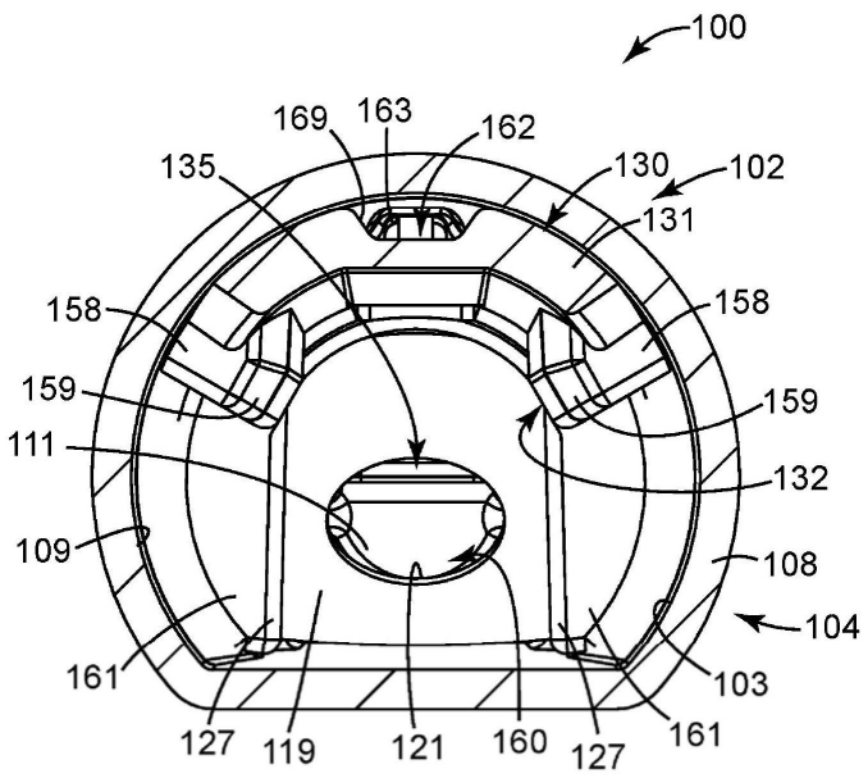


图7

