



(10) 授权公告号 CN 110168070 B

(45) 授权公告日 2023. 03. 10

(21) 申请号 201780081026.5

(22) 申请日 2017.12.22

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110168070 A

(43) 申请公布日 2019.08.23

(30) 优先权数据  
62/439,671 2016.12.28 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.06.27

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2017/068213 2017.12.22

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/125805 EN 2018.07.05

(73) 专利权人 3M创新有限公司  
地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 A·J·扬 E·D·布鲁蒂内尔

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所  
11256  
专利代理师 李勇 袁元

(51) Int.Cl.  
C12Q 1/04 (2006.01)  
C12M 1/12 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 106103689 A, 2016.11.09  
CN 102363802 A, 2012.02.29  
US 4565783 A, 1986.01.21  
US 5089413 A, 1992.02.18

审查员 常子月

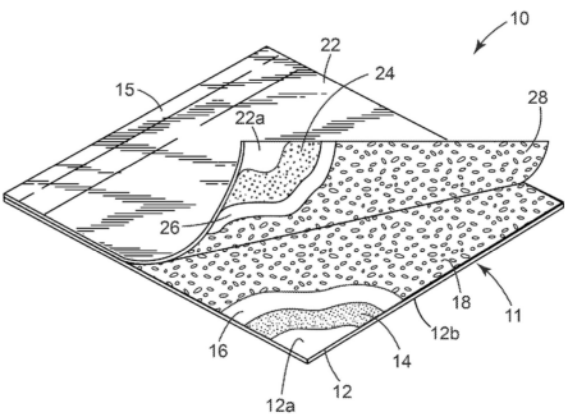
权利要求书3页 说明书22页 附图9页

(54) 发明名称

包含粘合剂掩盖的营养物质的微生物检测装置以及这些装置的使用方法

(57) 摘要

本发明提供了用于微生物的微生物检测装置,所述装置包括主体构件,所述主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材。所述装置还包括设置在所述第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物,粘附到所述第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物,和粘附到所述第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物。所述装置还包括附接到所述主体构件的覆盖片,其中所述覆盖片包括面向所述主体构件的第一主表面。本发明还提供了包括防水袋的装置。本发明另外提供了使用所述装置检测和清点样本中的至少一种微生物的方法。



1. 一种微生物检测装置,所述装置包括:

主体构件,所述主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材;

设置在所述第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合;

粘附到所述第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合,其中所述第一粘合剂组合包含压敏粘合剂,其包含丙烯酸烷基酯共聚物;

粘附到所述第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合;和

附接到所述主体构件的覆盖片,其中所述覆盖片包括面向所述主体构件中包括的基材的第一主表面的第一主表面,

其中所述第一粘合剂组合、所述第一微生物生长营养物质组合和所述冷水可溶性第一水凝胶形成组合各自以层的形式,并且其中所述第一粘合剂组合层位于所述第一微生物生长营养物质组合层和所述冷水可溶性第一水凝胶形成组合层之间。

2. 根据权利要求1所述的装置,还包括设置在所述覆盖片的所述第一主表面的一部分上的基本上干燥的第二微生物生长营养物质。

3. 根据权利要求2所述的装置,其中所述第二微生物生长营养物质组合包含第二微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。

4. 根据权利要求3所述的装置,还包括粘附到所述第二微生物生长营养物质组合物的第二粘合剂组合。

5. 根据权利要求1所述的装置,还包括设置在所述覆盖片的所述第一主表面的一部分上的第二粘合剂组合。

6. 根据权利要求4所述的装置,还包括粘附到所述第二粘合剂组合物的至少一种冷水可溶性胶凝剂。

7. 根据权利要求1所述的装置,其中所述第一粘合剂组合包含基于溶剂的粘合剂。

8. 根据权利要求1所述的装置,其中所述第一微生物生长营养物质组合包含第一微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。

9. 一种微生物检测装置,包括:

防水袋,所述防水袋包括:

具有内表面和外表面的第一壁部分;

具有内表面和外表面的第二壁部分;

设置在所述第一壁部分的所述内表面和所述第二壁部分的所述内表面之间的所述袋中的多孔膜式过滤器,所述膜式过滤器具有第一主表面和与所述第一主表面相对的第二主表面;

第一隔室,所述第一隔室部分地由所述第一壁部分的所述内表面限定,并且部分地由所述膜式过滤器的所述第一主表面限定;

提供将液体沉积到所述第一隔室中的通道的可密封样本端口;

第二隔室,所述第二隔室部分地由所述第二壁部分的所述内表面限定,并且部分地由所述膜式过滤器的所述第二主表面限定;

其中所述膜式过滤器允许水性液体从所述第一隔室通向所述第二隔室,并防止预定尺寸的颗粒从所述第一隔室通向所述第二隔室;

设置在所述第一隔室中的所述袋的一部分上的基本上干燥的微生物生长营养物质组

合物；

粘附到所述微生物生长营养物质组合物的粘合剂组合物，其中所述粘合剂组合物包含压敏粘合剂，其包含丙烯酸烷基酯共聚物；

粘附到所述粘合剂组合物的冷水可溶性水凝胶形成组合物；和

设置在所述第二隔室中的吸收垫，

其中所述粘合剂组合物、所述基本上干燥的微生物生长营养物质组合物和所述冷水可溶性水凝胶形成组合物各自以层的形式，并且其中所述粘合剂组合物层位于所述基本上干燥的微生物生长营养物质组合物层和所述冷水可溶性水凝胶形成组合物层之间。

10. 根据权利要求9所述的装置，其中所述装置的尺寸被设定为接收体积介于25mL和150mL之间的液体样本，包括端值。

11. 根据权利要求9或权利要求10所述的装置，其中所述微生物生长营养物质组合物包含微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。

12. 根据权利要求11所述的装置，其中所述微生物生长营养物质包括以下中的至少一种：肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。

13. 一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法，包括：

提供根据权利要求1所述的装置；

将所述第一层与所述第二层分离；

将预定体积的含有至少一种微生物的样本加入到所述第一水凝胶形成组合物上以形成经接种的装置；

使所述第一层与所述第二层重新接触；

温育所述经接种的装置；和

检测所述装置中的所述目标微生物菌落是否存在。

14. 一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法，包括：

提供根据权利要求9所述的装置；

将预定体积的水性样本放置在所述装置的所述第一隔室中；

密封所述样本端口；

温育所述装置；和

检测所述装置中的所述目标微生物菌落是否存在。

15. 一种微生物检测装置，所述装置包括：

主体构件，所述主体构件包括具有第一主表面的基材；

附接到所述主体构件的覆盖片，其中所述覆盖片包括面向所述主体构件的第一主表面；

设置在所述覆盖片的所述第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物；

粘附到所述第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物，其中所述第一粘合剂组合物包含压敏粘合剂，其包含丙烯酸烷基酯共聚物；和

粘附到所述第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物，

其中所述第一粘合剂组合物、所述基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物和所

述冷水可溶性第一水凝胶形成组合物各自以层的形式,并且其中所述第一粘合剂组合物层位于所述基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物层和所述冷水可溶性第一水凝胶形成组合物层之间。

16. 根据权利要求15所述的装置,还包括设置在所述基材的所述第一主表面上的隔片。

## 包含粘合剂掩盖的营养物质的微生物检测装置以及这些装置的使用方法

### 技术领域

[0001] 本公开涉及可用于微生物生长和检测的装置,该装置包括微生物生长营养物质。本公开还涉及使用这些装置检测或清点微生物的方法。

### 背景技术

[0002] 已经开发了多种培养装置。作为一个示例,明尼苏达州圣保罗市的3M公司(3M Company of St.Paul,Minnesota)(在下文中称为“3M”)已开发出培养装置。具体地,培养装置以商品名PETRIFILM板由3M出售。可利用培养装置以便于常常与食物污染相关联的微生物的快速生长和检测,这些微生物包括例如,好氧细菌、大肠杆菌、大肠菌群、肠道菌群、酵母、霉菌、金黄色葡萄球菌、李斯特菌属、弯曲菌属等。例如,PETRIFILM板或其它生长培养基的使用可简化食物样本的细菌测试。

[0003] 可使用培养装置来清点或鉴定细菌的存在,使得可进行校正措施(就食物测试而言)或者可进行正确的诊断(就医学用途而言)。在其它应用中,可使用培养装置使实验室样本中的微生物快速生长,例如,用于实验目的。

### 发明内容

[0004] 提供用于增殖或储存微生物的装置和方法。在第一方面,提供一种装置。更具体地,提供了一种包括主体构件的装置,该主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材。该装置还包括设置在第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物,粘附到第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物,和粘附到第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物。该装置还包括附接到主体构件的覆盖片,其中该覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。

[0005] 在第二方面,提供了另一种微生物检测装置。该微生物检测装置包括防水袋,该防水袋包括具有内表面和外表面的第一壁部分,具有内表面和外表面的第二壁部分,以及设置在第一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间的袋中的多孔膜式过滤器。膜式过滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面。防水袋还包括第一隔室和可密封样本端口,该第一隔室部分地由第一壁部分的内表面限定并且部分地由膜式过滤器的第一主表面限定,该样本端口提供将液体沉积到第一隔室中的通道。另外,防水袋包括第二隔室和设置在第二隔室中的吸收垫,该第二隔室部分地由第二壁部分的内表面限定并且部分地由膜式过滤器的第二主表面限定。膜式过滤器允许水性液体从第一隔室通向第二隔室,并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室通向第二隔室。防水袋还包括设置在第一隔室中的袋的一部分上的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物,粘附到微生物生长营养物质组合物的粘合剂组合物,以及粘附到粘合剂组合物的冷水可溶性水凝胶形成组合物。

[0006] 在第三方面,提供了一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括提供根据第一方面的装置,将第一层与第二层分离,以及将预定体积的含有至少一种微

生物的样本加入到第一水凝胶形成组合物上以形成经接种的装置。该方法还包括使第一层与第二层重新接触,温育经接种的装置,以及检测装置中的目标微生物菌落是否存在。

[0007] 在第四方面,提供了另一种用于检测和清点样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括提供根据第二方面的装置,将预定体积的水性样本放置在装置的第一隔室中,密封样本端口,温育装置,以及检测装置中的目标微生物菌落是否存在。

[0008] 这些装置和方法可简便且快速地检测微生物。

## 附图说明

[0009] 图1是微生物培养装置的示例性实施方案的局部剖视的顶部透视图。

[0010] 图2是微生物培养装置的另一个示例性实施方案的局部剖视的顶部透视图。

[0011] 图3是图1的装置的剖视图,该装置包括任选的隔片。

[0012] 图4是图2的装置的顶视图,示出了印在基材层上的网格图案。

[0013] 图5是根据本公开的另一个示例性装置的透视图。

[0014] 图6是图5的装置的另一个局部剖视的透视图。

[0015] 图7是图6的装置的沿线7—7截取的剖视图。

[0016] 图8是图6的装置的分解剖视图。

[0017] 图9是图5的装置的替代性实施方案的局部剖视的平面图,示出了粘合带和可剥离地粘附到该粘合带的剥离衬垫,它们形成可密封样本端口。

[0018] 图10是根据本公开的装置的替代性实施方案的平面图,其中该装置包括具有螺旋盖的可密封样本端口。

[0019] 图11是根据本公开的装置的另一个替代性实施方案的分解图。

[0020] 图12A是图11的装置的第一子组件。

[0021] 图12B是图11的装置的第二子组件。

[0022] 图13是图11的组装置装置的平面图。

[0023] 图14是图13的装置的沿线14—14截取的剖视图。

[0024] 图15是根据本公开的另一个示例性装置的局部剖视的顶部透视图。

[0025] 虽然可能未按比例绘制的以上附图示出了本公开的各种实施方案,但还可以设想其它实施方案,如在具体实施方式中所指出。

## 具体实施方式

[0026] 提供了繁殖或储存微生物的装置和方法。

[0027] 通过端点表述的任何数值范围旨在包括范围的端点、范围内的所有数以及所述范围内的任何较窄范围(例如,1至5包括1、1.5、2、2.75、3、3.8、4和5)。除非另外指明,否则本说明书和实施方案中所使用的表达量或成分、性质测量等的所有数字在所有情况下均应理解成由术语“约”来修饰。因此,除非有相反的说明,否则在上述说明书和所附实施方案列表所示出的数值参数可根据本领域的技术人员利用本公开的教导内容寻求获得的期望属性而变化。最低程度上说,并且在不试图将等同原则的应用限制到受权利要求书保护的实施方案的范围内的情况下,每个数值参数应至少根据所报告的数值的有效数位的数量并通过应用惯常的四舍五入法来解释。

[0028] 对于以下定义术语的术语表,除非在权利要求书或说明书中的别处提供不同的定义,否则整个申请应以这些定义为准。

[0029] 术语表

[0030] 在整个说明书和权利要求书中使用某些术语,虽然大部分为人们所熟知,但仍可能需要作出一些解释。应当理解,如本文所用:

[0031] 术语“一个”、“一种”和“该”可与“至少一个(种)”互换使用,意指一个(种)或多个(种)所述要素。

[0032] 术语“和/或”是指任一者或两者。例如,表达“A和/或B”意指A、B或A与B的组合。

[0033] “簇”是指一组团聚的和/或聚集的颗粒。

[0034] “团聚”是指初级粒子或聚集的粒子通常通过电荷或极性保持在一起的弱缔合。例如,团聚粒子在液体中分散时遇到的剪切力通常可将团聚粒子分解成更小的实体。术语“聚集的”和“聚集体”是指初级粒子通常通过(例如)残余化学处理、共价化学键或离子化学键键合在一起的强缔合。聚集体进一步分解成为更小的实体是很难实现的。

[0035] “冷水可溶性”是指在室温(即,约25℃)下在水中形成溶液的材料。

[0036] “疏水”是指在表面上表现出90°或更大水接触角的材料。

[0037] “不透明的”是指透光率为至多10%的基材。

[0038] “粉末”是指平均直径在0.1微米至400微米范围内的细分微粒材料。

[0039] “复水的培养基”是指用水性液体对冷水可溶性粉末进行复水所形成的溶液或凝胶。

[0040] 如本文所用,“微生物和水蒸汽基本上不可透过的”是指这样的覆盖片:该覆盖片防止在运输、储存和使用薄膜培养装置的过程中冷水可溶性粉末的下面层的不期望的污染和水合,并避免复水的培养基变干燥,使得复水的培养基适合支持微生物在温育期间的生长。

[0041] 如本文所用,“基本上不含水”指示水含量不大于约周围环境的水含量。

[0042] 如本文所用,“测试样本”是指从以下取得的组分或部分:食物产品、人或动物测试受试者、药物或化妆品、土壤、水、空气或其它环境源或从中可确定好氧和/或耐氧细菌的存在并任选地清点这些细菌的任何其它源。可使用本领域的技术人员已知的技术(包括例如倾倒、移液、擦拭、过滤和接触)从源中取得测试样本。此外,测试样本可经历各种本领域已知的样本制备过程,包括例如共混、匀质、均化、富集、选择性富集或稀释。

[0043] “透明的”是指透光率为至少90%的基材。

[0044] 提供了用于繁殖和/或储存微生物的装置,这些装置具有有利的特征,诸如控制装置中包含的营养物质的量。此外,营养物质在使用期间不直接暴露于样本,因此在将流体样本引入装置中时,保护这些营养物质免于被潜在地洗掉。

[0045] 在第一方面,提供一种装置。更具体地,提供了一种包括主体构件的装置,该主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材。该装置还包括设置在第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物,粘附到第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物,和粘附到第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物。该装置还包括附接到主体构件的覆盖片,其中该覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。在任何实施方案中,基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物可以层的形式设置

在第一主表面的一部分上,第一粘合剂组合物可以层的形式粘附到第一微生物生长营养物质组合物,冷水可溶性第一水凝胶形成组合物可以层的形式粘附到第一粘合剂组合物,其中第一粘合剂组合物层位于第一微生物生长营养物质组合物层和冷水可溶性第一水凝胶形成组合物层之间。

[0046] 图1示出了用于培养微生物的装置的示例性实施方案。装置10包括主体构件11,该主体构件11包括具有第一主表面12a(例如,上表面)和第二主表面12b(例如,下表面)的基材12。此外,装置10还包括附接到主体构件11的覆盖片22。覆盖片22包括面向主体构件11的第一主表面22a。

[0047] 基材12是防水的,并且任选地为自支承防水基材。在一些实施方案中,基材12是诸如聚酯、聚丙烯、有机硅或聚苯乙烯等材料的膜,该膜不吸收水或换句话讲不受水影响。已经发现厚度为约20微米至约250微米的聚酯膜和聚丙烯膜以及厚度为约380微米的聚苯乙烯膜中的每一种都适用于基材12。其它合适的基材包括具有聚乙烯涂层或其它防水涂层的纸材。合适的聚乙烯涂覆的纸质基材的示例是“Schoeller Type MIL”印像纸(可从纽约的舒乐普拉斯基公司(Schoeller Pulaski, New York)商购获得)。基材12可以是透明或不透明的,这取决于是否希望透过基材观察细菌菌落。在图4中所示的示例性实施方案中,基材12在第二主表面12b上印有正方形网格图案以便于对细菌菌落计数。

[0048] 第一主表面12a包括设置在第一主表面12a的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物14。该装置包括微生物生长营养物质组合物,它的涂覆重量为2毫克/平方英寸或更大( $\text{mg}/\text{in}^2$ )、5 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更大、10 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更大、12 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更大、或15 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更大;并且涂覆重量为50 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、45 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、40 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、35 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、30 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、24 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、22 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、20 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小、或18 $\text{mg}/\text{in}^2$ 或更小。用于将微生物生长营养物质组合物施用到基材上的一种合适的方法包括制备包含至少微生物生长营养物质组合物水性溶液或悬浮液,在基材表面上设置该溶液或悬浮液的涂层,以及使涂层干燥以形成基本上干燥的微生物生长营养物质组合物。本领域技术人员能够选择合适的涂覆方法,包括例如但不限于刮涂、凹面涂覆、幕涂、气刀刮涂、喷涂、模涂、拉杆涂覆或者幕涂或辊涂。任选地在高温(例如,在50°C至100°C的范围内)下或在环境条件下使涂层干燥。在一些实施方案中,微生物生长营养物质组合物含有75重量%或更多的微生物生长营养物质,或者80重量%或更多、或85重量%或更多、或90重量%或更多、或95重量%或更多的微生物生长营养物质。有利地,在某些实施方案中,与其中将微生物生长营养物质组合物粉末涂覆到粘合剂层和/或与大量冷水可溶性胶凝剂组合的装置相比,该装置中可包含更大量的微生物生长营养物质。

[0049] 将第一粘合剂组合物16粘附到第一微生物生长营养物质组合物14。第一粘合剂组合物16是(基本上)水不溶性的并且对微生物生长是非抑制性的。在一些实施方案中,第一粘合剂组合物16在润湿时是足够透明的以能够通过涂覆有粘合剂的膜观察细菌菌落。在一些实施方案中,第一粘合剂组合物16为压敏粘合剂。在一些其它实施方案中,还可使用热活化粘合剂,其中较低熔点物质涂覆到较高熔点物质上。诸如粘胶之类的水活化粘合剂也可能是有用的。

[0050] 已出乎意料地发现,尽管微生物生长营养物质组合物的材料(例如,水溶性的)和粘合剂组合物(例如,水不溶性的)之间缺乏相容性,但是足够量的营养物质能够穿过粘合



剂组合物层,以可用于装置中的微生物消耗。此外,由于被第一粘合剂组合物覆盖(例如,掩盖),营养物质不会暴露在膜的表面上,因此在将流体样本引入装置中时,保护这些营养物质免于被洗掉。这对于其中样本必须接触粉末层,然后穿过过滤器(诸如根据本公开的第二方面的装置)的应用,尤其重要。

[0051] 再次参见图1,装置10还包括粘附到第一粘合剂组合物16的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物18。所期望的是,暴露足够的表面积用于水合的水凝胶形成组合物18的均匀粉末层。通常,厚度范围为约5微米至约150微米的粘合剂组合物层16是合适的。如图所示,该装置还包括设置在覆盖片22的第一主表面22a的一部分上的基本上干燥的第二微生物生长营养物质24。在此类实施方案中,该装置通常还包括粘附到第二微生物生长营养物质组合物的第二粘合剂组合物26。在一些实施方案中,第二微生物生长营养物质组合物包含第二微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。在一些实施方案中,该装置还包括粘附到第二粘合剂组合物26的冷水可溶性第二水凝胶形成组合物28。所期望的是,暴露足够的表面积用于水合的水凝胶形成组合物28的均匀粉末层。在替代性实施方案中,该装置还包括设置在覆盖片22的第一主表面22a的一部分上的第二粘合剂组合物26。在一些实施方案中,第二粘合剂组合物还含有至少一种指示剂。

[0052] 参见图3,提供了图1的装置10的剖视图,加上该装置还包括设置在冷水可溶性第一水凝胶形成组合物18上的任选的隔片19。一般来讲,隔片19包括限定孔20的水不溶性基材,隔片19定位在基材片12和覆盖片22之间。通常,孔20限定样本接收区的外围边界。孔20可以是任何形状。孔20的可用形状的非限制性示例包括正方形、矩形、圆形、椭圆形、多边形、六边形和八边形。样本接收区(和孔20)的面积可根据例如待沉积到该区域中的样本(例如,水性液体)的体积来选择。在任一实施方案中,对于0.5-3毫升的样本,样本接收区的面积为约 $10\text{cm}^2$ 或约 $15\text{cm}^2$ 。在任一实施方案中,对于1-5毫升体积的样本,样本接收区的面积为约 $20\text{cm}^2$ 、约 $25\text{cm}^2$ 、约 $30\text{cm}^2$ 、约 $31\text{cm}^2$ 、或约 $25\text{cm}^2$ - $35\text{cm}^2$ 。

[0053] 合适的粘合剂在用水润湿时是透明的。如上所述,粘合剂组合物通常是水不溶性的。在某些实施方案中,粘合剂组合物包含基于溶剂的粘合剂。第一粘合剂组合物和第二粘合剂组合物(如果存在的话)通常为压敏粘合剂。例如,粘合剂可以是压敏粘合剂,诸如包含丙烯酸烷基酯单体和烷基酰胺单体的共聚物的水不溶性粘合剂。优选的是,这些共聚物中丙烯酸烷基酯单体与烷基酰胺单体的重量比为约90:10至99:1,更优选为94:6至98:2。丙烯酸烷基酯单体包含丙烯酸的低级烷基(C2至C10)酯单体,包括例如,丙烯酸异辛酯(IOA)、丙烯酸2-乙基己酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸乙酯、丙烯酸异戊酯以及它们的混合物,同时烷基酰胺单体可包括但不限于丙烯酰胺(ACM)、甲基丙烯酰胺、N-乙基吡咯烷酮(NVP)、N-乙基己内酰胺(NVCL)、N-乙基-2-哌啶、N-(单或二低级烷基(C2至C5)) (甲基)丙烯酰胺、N-甲基(甲基)丙烯酰胺、N,N-二甲基(甲基)丙烯酰胺或它们的混合物。合适的粘合剂还可包括美国专利4,565,783、5,089,413、5,681,712和5,232,838中描述的那些。在一些实施方案中,可使用有机硅压敏粘合剂,包括例如美国专利7,695,818和7,371,464中描述的那些。

[0054] 在本公开中,覆盖片22通常被选择为透明的以便于对微生物菌落进行计数,并且还通常被选择为对细菌是不可透过的并具有低湿气透过率(即,覆盖片22防止脱水培养基在装置的运输、储存和使用期间的不期望的污染,并提供支持微生物在温育期间生长的环境)。在一些实施方案中,覆盖片22具有与基材12相同的特性(例如,是防水的)。覆盖片22可

被选择用于提供所期望培养的微生物类型所需的氧气透过量。例如,一些聚酯膜具有低透氧度(每25微米厚度小于 $5\text{g}/645\text{cm}^2/24\text{小时}$ ),并适于培养厌氧细菌。另一方面,一些聚乙烯具有高透氧度(例如,每25微米厚度约 $500\text{g}/645\text{cm}^2/24\text{小时}$ ),并适于好氧生物体。覆盖片22的合适材料包括聚丙烯、聚酯、聚乙烯、聚苯乙烯或有机硅。在某些实施方案中,覆盖片22包括取向的聚丙烯,诸如双轴向取向的聚丙烯,在一些示例性实施方案中,该取向的聚丙烯具有约40微米的厚度。

[0055] 在任一实施方案中,覆盖片22可以没有任何涂层,或者可以例如在面向脱水培养基的表面上涂覆有压敏粘合剂层,以便于将覆盖装置密封在培养基上。此外,覆盖片22可任选地在面向第一冷水可溶性水凝胶形成组合物18的表面上涂覆有粘合剂组合物26和第二冷水可溶性水凝胶形成组合物28的层,这些组合物分别与第一粘合剂组合物16和第一冷水可溶性水凝胶形成组合物18相同或不同。覆盖片22上的涂层可覆盖整个表面,但优选覆盖至少部分表面,该部分旨在覆盖培养装置的生长区域。当期望为装置提供比可单独掺入第一冷水可溶性水凝胶形成组合物中的更多的胶凝剂时,此类经涂覆的覆盖片是特别优选的。

[0056] 参见图2,即用于培养微生物的装置的另一个示例性实施方案。基材12和设置在其上的层示出为与图1中所示的相同。在某些实施方案中,装置10包括粘附到覆盖片22的第一主表面22a的一部分的第二粘合剂组合物26。在一些实施方案中,该装置还包括粘附到第二粘合剂组合物26的冷水可溶性第二水凝胶形成组合物28。所期望的是,暴露足够的表面积用于水合的水凝胶形成组合物28的均匀粉末层。在一些实施方案中,第二粘合剂组合物还含有至少一种指示剂。

[0057] 在任一实施方案中,一个或多个粘合剂层各自是水不溶性的并且对微生物的生长是非抑制性的,并且在湿润时是足够透明的以能够通过粘合剂观察气泡或微生物菌落。在一些实施方案中,粘合剂层包含压敏粘合剂。例如,粘合剂可以是压敏粘合剂,诸如包含丙烯酸烷基酯单体的共聚物的水不溶性粘合剂。在某些实施方案中,粘合剂组合物包含基于溶剂的粘合剂。

[0058] 在某些实施方案中,冷水可溶性水凝胶形成组合物含有一种或多种有机冷水可溶性试剂,诸如藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、刺槐豆胶、黄原胶、聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷。可设想天然胶凝剂和/或合成胶凝剂的组合。优选的胶凝剂包括瓜尔胶、黄原胶和刺槐豆胶,这些胶凝剂可单独使用,或在任一实施方案中彼此组合使用。所期望的是,暴露足够的表面积用于水合的冷水可溶性水凝胶形成组合物的均匀单层。在任一实施方案中,第一和/或第二冷水可溶性水凝胶形成组合物包含胶凝剂的混合物。任选地,粉末状冷水可溶性水凝胶形成组合物还可包含诱导剂、指示剂或这些物质的组合。

[0059] 合适的微生物生长营养物质组合物通常包含例如但不限于一种或多种营养物质,包括肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。此外,用于支持本公开的装置中的微生物生长的营养物质、另外的胶凝剂以及它们的混合物的非限制性示例包括美国专利4,565,783、5,089,413、5,232,838、5,364,766、5,443,963、5,462,860、5,601,998、5,635,367和5,681,712中所述的那些,这些参考文献还包括指示剂(例如,检测试剂)和诱导剂的非限

制性示例。

[0060] 合适的指示剂可包括一种或多种指示剂,用于检测烷基酯酶活性、磷酸酶活性、糖苷酶活性、肽酶活性、pH变化或氧化还原变化。在任一实施方案中,在将组合物施加到基材片12和/或覆盖片22之前,可以将一种或多种指示剂溶解在有机溶剂(例如,甲醇)中并与粘合剂组合物(例如,第一粘合剂组合物14和/或第二粘合剂组合物24)共混。在任一实施方案中,第一冷水可溶性水凝胶形成组合物和/或第二冷水可溶性水凝胶形成组合物可包含一种或多种相同或不同的指示剂。

[0061] 任选地,多种指示剂可用于检测好氧细菌或耐氧细菌的存在。在任一实施方案中,合适的指示剂包括例如酶底物。在任一实施方案中,每种指示剂可包含报告基团(例如,荧光底物基团或生色底物基团),该基团允许检测指示剂和生物活性成分(即,与好氧细菌或耐氧细菌相关的酶活性成分)之间的反应。一种合适的指示剂是氯化三苯基四唑(TTC)。合适的氧化还原指示剂(例如,氯化三苯基四唑)包含报告基团(例如,生色底物和/或荧光底物基团),该报告基团被氧化或还原以形成可检测信号(例如,可检测的颜色变化或荧光变化)。举例来说,氯化三苯基四唑被细菌还原,形成具有可检测颜色的甲臍产物。在本公开的培养装置中检测可检测的报告基团(例如,甲臍)可指示好氧细菌或耐氧细菌是否可能存在。

[0062] 此外,在其中培养基包含溴甲酚紫作为pH指示剂的方法中,培养基将在约中性的pH下具有紫色或灰色外观。随着微生物在培养基中生长并发酵碳水化合物(例如,葡萄糖),在邻近生长的细菌菌落处溴甲酚紫指示剂将显示出黄色。例如,在其中培养基包含氯酚红作为pH指示剂的方法中,培养基将在约中性pH下具有红色或紫罗兰色外观。随着微生物在培养基中生长并发酵碳水化合物,在邻近生长的微生物菌落处氯酚红指示剂将显示出黄色。气泡,如果存在于生长隔室中并且与微生物菌落相关(例如,触摸菌落或在距菌落约1mm或更少的某一距离内),则可在视觉上和/或通过使用成像系统检测。气泡可与可见的菌落和/或可通过邻近微生物菌落的区域中的pH指示剂的颜色改变检测的酸区域相关。例如,气泡可包含由碳水化合物的厌氧发酵生成的二氧化碳。

[0063] 在另一个方面,提供了另一种装置。更具体地,提供了一种包括主体构件和附接到主体构件的覆盖片的装置,该主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材,其中该覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。该装置还包括设置在覆盖片的第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物,粘附到第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物,和粘附到第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物。优选地,该装置还包括设置在主体构件的第一主表面上的隔片。任选地,将一种或多种组合物(例如,第二冷水可溶性第一水凝胶形成组合物、第二粘合剂组合物和/或第二营养物质组合物)涂覆在基材上,但通常在基材上不设置涂层。

[0064] 更具体地,图15示出了用于培养微生物的装置的示例性实施方案。装置10包括主体构件11和附接到主体构件11的覆盖片22,该主体构件11包括具有第一主表面12a(例如,上表面)和第二主表面12b(例如,下表面)的基材12,其中覆盖片22包括面向主体构件11的第一主表面22a(例如,上表面)。装置10还包括设置在覆盖片22的第一主表面22a的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物24,粘附到第一微生物生长营养物质组合物24的第一粘合剂组合物26,和粘附到第一粘合剂组合物26的冷水可溶性第一水凝胶形

成组合物28。优选地,该装置还包括设置在基材12的第一主表面12a上的隔片19。在使用中,使用者将覆盖片22与基材12充分分离,以在由隔片19限定的孔20内加入一定量的含有至少一种微生物的样本,将覆盖片22放回与基材12接触以形成经接种的装置,并温育该经接种的装置。由孔20限定的基材12的第一主表面12a上的区域也可以称为样本接收区17。上文关于第一方面详细讨论的所有材料和组合物可用于此装置中。

[0065] 在第二方面,提供了另一种微生物检测装置。该微生物检测装置包括防水袋,该防水袋包括具有内表面和外表面的第一壁部分,具有内表面和外表面的第二壁部分,以及设置在第一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间的袋中的多孔膜式过滤器。膜式过滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面。防水袋还包括第一隔室和可密封样本端口,该第一隔室部分地由第一壁部分的内表面限定并且部分地由膜式过滤器的第一主表面限定,该样本端口提供将液体沉积到第一隔室中的通道。另外,防水袋包括第二隔室和设置在第二隔室中的吸收垫,该第二隔室部分地由第二壁部分的内表面限定并且部分地由膜式过滤器的第二主表面限定。膜式过滤器允许水性液体从第一隔室通向第二隔室,并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室通向第二隔室。防水袋还包括设置在第一隔室中的袋的一部分上的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物,粘附到微生物生长营养物质组合物的粘合剂组合物,以及粘附到粘合剂组合物的冷水可溶性水凝胶形成组合物。

[0066] 例如,微生物检测装置可包括:

[0067] 防水袋,该防水袋包括:

[0068] 具有内表面和外表面的第一壁部分;

[0069] 具有内表面和外表面的第二壁部分;

[0070] 设置在第一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间的袋中的多孔膜式过滤器,该膜式过滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面;

[0071] 第一隔室,该第一隔室部分地由第一壁部分的内表面限定,并且部分地由膜式过滤器的第一主表面限定;

[0072] 提供将液体沉积到第一隔室中的通道的可密封样本端口;

[0073] 第二隔室,该第二隔室部分地由第二壁部分的内表面限定,并且部分地由膜式过滤器的第二主表面限定;

[0074] 其中该膜式过滤器允许水性液体从第一隔室通向第二隔室,并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室通向第二隔室;

[0075] 设置在第一隔室中的袋的一部分上的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物;

[0076] 粘附到微生物生长营养物质组合物的粘合剂组合物;

[0077] 粘附到粘合剂组合物的冷水可溶性水凝胶形成组合物;和

[0078] 设置在第二隔室中的吸收垫。

[0079] 关于第二方面的微生物检测装置,图5至图8示出了根据本公开的至少一个实施方案的装置500的一个实施方案的各种视图。装置500包括由至少一个壁限定的防水袋55。至少一个壁包括第一壁部分510和第二壁部分520。第一壁部分510具有内表面512和外表面514。第二壁部分520具有内表面522和外表面524。设置在第一壁部分510的内表面512和第二壁部分520的内表面522之间的袋55中的是膜式过滤器540。膜式过滤器具有第一主表面542和与第一主表面相对的第二主表面544。

[0080] 尽管第一壁部分510和第二壁部分520可以是一体式袋或包的不同部分,但是在任一实施方案中,第一壁部分和第二壁部分可替代地可由连接在一起(例如,沿边缘热密封和/或粘合密封)的单独的聚合物膜片组成以形成袋,例如如图9所示并如本文所述。

[0081] 袋55被分成至少两个隔室(分别为第一隔室550和第二隔室552)。第一隔室550部分地由第一壁部分510的内表面512限定,并且还部分地由膜式过滤器540的第一主表面542限定。第一隔室550具有可密封样本端口560。在图5至图7所示的实施方案中,可密封样本端口560仅是沿着袋55的周边的一部分的开口561。本文讨论了用于闭合开口561的非限制性示例性装置。第二隔室552部分地由第二壁部分520的内表面522限定,并且部分地由膜式过滤器540的第二主表面544限定。

[0082] 第一隔室550被构造成用于接收待测试目标微生物的存在的一定体积的液体样本。第一隔室550可以接收的液体体积将受到装置的若干特征的影响,这些特征包括例如第一隔室的尺寸(例如,图7中所示的长度“L”和宽度“W”)和限定第一隔室的材料(例如,第一壁部分510和膜式过滤器540)的柔韧性。第二隔室552被构造成用于接收大约等于待测试的液体样本的体积的液体体积。因此,本公开的装置的袋的尺寸可被设定为容纳待测试样本的约两倍体积。

[0083] 在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试(即,构造成用于接收)至少约25毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约50毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约75毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约100毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约125毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约150毫升的液体样本。因此,在任一实施方案中,根据本公开的装置被构造成用于接收至少约25mL、至少约50mL、至少约75mL、至少约100mL、至少约125mL、至少约150mL液体样本(例如,水性液体样本)。因此,在任一实施方案中,该装置的第一隔室被构造成用于接收至少约25mL、至少约50mL、至少约75mL、至少约100mL、至少约125mL、至少约150mL液体样本(例如,水性液体样本)。

[0084] 袋55还包含设置在第一隔室550中的袋的一部分(例如,袋的第一壁部分510)上的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物。在一些实施方案中,微生物生长营养物质组合物包含微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。袋55另外包含粘附到微生物生长营养物质组合物的粘合剂组合物。在任一实施方案中,粘合剂组合物包含压敏粘合剂。如上文关于第一实施方案所讨论的,粘合剂组合物通常是水不溶性的。在某些实施方案中,粘合剂组合物包含基于溶剂的粘合剂。例如,粘合剂可以是压敏粘合剂,诸如包含丙烯酸烷基酯单体和烷基酰胺单体的共聚物的水不溶性粘合剂。

[0085] 在任一实施方案中,本公开的装置包括有效量的一种或多种干燥的营养物质(例如,被选择用于支持目标微生物生长的营养物质培养基)。微生物生长营养物质组合物通常包含至少一种选自由以下构成的组的营养物质:肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。

[0086] 与根据第一方面的装置类似,已出乎意料地发现,尽管微生物生长营养物质组合物的材料(例如,水溶性的)和粘合剂组合物(例如,水不溶性的)之间缺乏相容性,但是足够

量的营养物质能够穿过粘合剂组合物层,以可用于根据第二方面的装置中的微生物消耗。此外,由于被第一粘合剂组合物覆盖(例如,掩盖),营养物质不会暴露在膜的表面上,因此在将流体样本引入装置中时,保护这些营养物质免于被洗掉。这对于其中样本必须接触粉末层,然后穿过过滤器(诸如根据此第二方面的装置)的应用,尤其重要。

[0087] 此外,将干燥(即,基本上不含水)的冷水可溶性水凝胶形成组合物粘附到粘合剂组合物。例如,图6和7示出了作为干燥涂层532设置在粘合剂组合物层534上的冷水可溶性水凝胶形成组合物,该粘合剂组合物层粘附到设置在第一壁部分510的内表面512上的微生物营养物质组合物层530。此外,袋55具有设置在第二隔室552中的吸收垫580。在任一实施方案中,干燥涂层532可粘附到第一基材(例如,粘附到涂覆在基材上的粘合剂层),该第一基材粘附到袋55的第一壁部分510。这种任选的构造在图11中示出并在下文描述。

[0088] 冷水可溶性水凝胶形成组合物无论是粘附到袋的第一壁部分还是粘附到第一基材(第一基材又粘附到第一壁部分),由包含冷水可溶性水凝胶形成组合物的涂层限定的区域还限定了在样本沉积到第一隔室中之后培养并清点样本中的微生物的区域。因为该装置包括吸收样本中的大部分液体的吸收垫(下文所述),所以冷水可溶性水凝胶形成组合物仅由一部分液体样本水合。有利地,这些装置使用了比先前报道的薄膜培养装置出乎意料地更小的生长区域:样本体积的比率。例如,根据本公开的第二方面的装置被构造成用于接收100mL-150mL的液体样本并且具有约80cm<sup>2</sup>的生长区域(该区域包括冷水可溶性水凝胶形成组合物)。因此,150mL样本体积中的微生物遍布在相当于小于1cm<sup>2</sup>/mL样本的生长区域中。

[0089] 袋55(即,至少一个壁以及它的壁部分)由防水、可变形材料制成。在任一实施方案中,可变形材料可包括柔性的片状材料,诸如例如聚合物膜。在制造至少一个壁时使用的合适材料包括聚乙烯、聚丙烯、聚对苯二甲酸乙二酯、聚酰胺、聚氨酯、聚氯乙烯、聚丙烯酸酯、聚脲以及它们的组合。袋的至少一个壁可以相对较薄(例如,大约25微米厚)或相对较厚(例如,大约125微米厚),条件是至少一个壁的至少一部分(例如,与第一隔室550中的膜式过滤器540相对的第一壁部分510)在袋55接收液体样本(未示出)时会变形并且/或者至少一个壁的至少一部分(例如,接近本文所述的吸收垫的第二壁部分520)在至少一部分样本从第一隔室进入第二隔室时会变形。

[0090] 膜式过滤器540允许液体(水性液体,未示出)从第一隔室550通向第二隔室552,并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室通向第二隔室。因此,当怀疑含有目标微生物的水性液体样本被放入第一隔室550中时,第一部分水性液体穿过(例如,通过重力流动)膜式过滤器540进入第二隔室552,该水性液体在第二隔室552中被吸收垫580吸收。目标微生物被捕获在过滤器滤膜540上或过滤器滤膜540中,或者保留在保持在第一隔室550中的第二部分水性液体中。

[0091] 使用膜式过滤器捕获并保留微生物在本领域中是熟知的。因此,存在许多可用于根据本公开的装置的合适的膜式过滤器。合适的膜式过滤器的非限制性示例包括由以下制成的纤维膜式过滤器:尼龙、聚醚砜、聚四氟乙烯、或纤维素材料(例如,混合纤维素酯)、微孔塑料膜(例如,激光蚀刻的聚碳酸酯膜)和陶瓷膜式过滤器。

[0092] 膜式过滤器的孔隙率通常被选择成使得目标微生物不会一直从膜式过滤器的一侧通过孔到达另一侧,从而确保样本中基本上所有的目标微生物都被过滤器保留。典型的细菌长度为约0.5μm至5.0μm。某些较小的细菌,诸如支原体属物种,直径为大约0.3μm。酵母

细胞一般比细菌大。典型的酵母细胞直径为大约 $3\mu\text{m}$ - $4\mu\text{m}$ ，但一些直径大至约 $40\mu\text{m}$ 。霉菌可以单个细胞、孢子或菌丝存在。虽然通常比细菌大，但霉菌细胞的平均大小会因物种而变化。因此，可根据目标微生物选择具有合适孔径的膜式过滤器。例如，具有 $1.0\mu\text{m}$ 或更小、 $0.8\mu\text{m}$ 或更小、 $0.6\mu\text{m}$ 或更小、 $0.4\mu\text{m}$ 或更小、 $0.2\mu\text{m}$ 或更小、 $0.1\mu\text{m}$ 或更小、 $0.05\mu\text{m}$ 或更小、 $0.03\mu\text{m}$ 或更小、 $0.02\mu\text{m}$ 或更小或 $0.01\mu\text{m}$ 或更小的标称孔径的膜式过滤器可适用于捕集和检测目标细菌。对于捕集和检测目标酵母或霉菌微生物，具有 $12\mu\text{m}$ 或更小、 $8\mu\text{m}$ 或更小、 $5\mu\text{m}$ 或更小、 $3\mu\text{m}$ 或更小、 $2\mu\text{m}$ 或更小、 $1\mu\text{m}$ 或更小、 $0.8\mu\text{m}$ 或更小、 $0.6\mu\text{m}$ 或更小、 $0.4\mu\text{m}$ 或更小、 $0.2\mu\text{m}$ 或更小、或 $0.1\mu\text{m}$ 或更小的标称孔径的膜式过滤器可能是合适的。

[0093] 膜式过滤器可由合适的过滤介质手工制备，或可按照预切的尺寸和形状购买。膜式过滤器的尺寸和形状可根据样品体积和样品中颗粒材料的预期负荷进行选择。通常，较大表面积的膜式过滤器比较小表面积的膜式过滤器允许更高的过滤速率。膜式过滤器可与其它过滤介质(如预过滤器，以捕集样品中的较大碎片)或其它膜式过滤器联合使用。

[0094] 在任一实施方案中，膜式过滤器可以被支撑(例如，通过稀松布，未示出)，以在使用期间为膜提供物理稳定性。在任一实施方案中，支撑件可附接到膜式过滤器(例如，在第二主表面上)。在任一实施方案中，膜式过滤器可包含润湿剂(例如，非离子表面活性剂)，以便于液体样本快速且完全渗透整个膜式过滤器。优选地，润湿剂的量足以便于用水性液体润湿膜，但润湿剂的量在使用该装置时基本上不抑制目标微生物的生长。

[0095] 当将水性样本放入袋55的第一隔室550中时，干燥的冷水可溶性水凝胶形成组合物被水合并形成水凝胶。当水性液体的第一部分从第一隔室550移动通过膜式过滤器540到达第二隔室552时，水凝胶接触膜式过滤器540的第一表面，从而固定保留在膜式过滤器上或膜式过滤器中的任何微生物。

[0096] 适用于薄膜培养装置的冷水可溶性胶凝剂在本领域中是已知的，并且包括例如冷水可溶性天然和合成胶凝剂。天然胶凝剂(诸如藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、瓜尔胶、刺槐豆胶、黄原胶)与合成胶凝剂(诸如聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷)以及它们的混合物一般是合适的。可依据本公开的教导和美国专利4,565,783、5,089,413和5,232,838的公开内容选择适当的胶凝剂。其它优选的胶凝剂包括羟丙基甲基纤维素；这些胶凝剂可单独使用，或优选地与另一种胶凝剂(诸如前述胶凝剂中的一种)组合使用。

[0097] 在任一实施方案中，干燥的冷水可溶性水凝胶形成组合物可作为粘附到粘合剂层的干燥粉末设置在袋中，如本文所述。用于将干燥粉末涂覆到用于薄膜培养装置的柔性膜上的方法和粘合剂描述于例如美国专利4,565,783、5,089,413和5,232,838中。在任一实施方案中，粘合剂层(如果存在的话)可包含用于指示微生物生长的指示剂。例如，粘合剂可包含如美国专利5,409,838中所述的氯化三苯基四唑，该专利以引用方式全文并入本文中。

[0098] 在任一实施方案中，干燥的冷水可溶性水凝胶形成组合物可作为水性组合物沉积到袋的第一壁部分上并且随后干燥，如美国专利4,565,783、5,089,413和5,232,838中所述。任选地，在任一实施方案中，可将干燥的涂层粘附到涂覆在袋的第一壁部分上的粘合剂层。在任一实施方案中，粘合剂层还可包含用于指示微生物生长的指示剂，如上所述。

[0099] 在将液体样本沉积到袋中之前，吸收垫580优选地相对较薄(例如，小于或等于5mm厚、小于或等于4mm厚、小于或等于3mm厚、小于或等于2mm厚、小于或等于约1mm厚)并且被构造用于吸收等于它自身重量的许多倍(例如，它自身重量的至少100倍、它自身重量的至



少150倍、它自身重量的至少200倍、它自身重量的至少250倍、它自身重量的至少300倍、它自身重量的至少350倍、它自身重量的至少400倍、它自身重量的至少500倍)的量的去离子水。在任一实施方案中,吸收垫可包含多种材料,诸如例如,超吸收材料(例如,超吸收聚合物;本文中为“SAP”)和低吸收载体或非吸收载体(例如,纤维素纤维)。合适的吸收垫的非限制性示例是复合聚丙烯酸酯层压结构,该结构包括设置在两个纤维素片之间的超吸收聚合物颗粒料基底。在吸收垫的任一实施方案中,该垫可包含设置在气流成网非织造材料中的SAP颗粒料或与载体纤维共混成非织造材料的SAP纤维。

[0100] 任选地,在任一实施方案中(未示出),吸收垫可被连接到第二隔室中的袋的部件(例如,第二壁部分)。有利地,这可防止垫变形(例如,当它由于从第一隔室迁移的液体而膨胀时)到与膜式过滤器的大部分失去接触的程度。该垫可以通过粘合剂(例如,压敏粘合剂)、热焊接或本领域已知的其它合适的附接方式连接到袋。在任一实施方案中,吸收垫可被可剥离地连接到袋(例如,通过水溶性胶)。本实施方案将该垫保持在适当的位置以接收穿过膜式过滤器的液体,但是在该垫由于吸收大量液体而膨胀时允许垫的横向移动。

[0101] 重新参见附图,图9示出了根据本公开的装置501的可密封样本端口560的一个实施方案。装置501包括袋55,袋55具有第一壁部分510、第二壁部分520和由开口组成的可密封样本端口560,各自如本文所述。第一壁部分510的内表面512包括沿着靠近开口的内表面的边缘涂覆在内表面512上的粘合带516。粘附到粘合带516的是剥离衬垫518。在样本通过开口(样本端口560)沉积(例如,通过倾倒或移液)到第一隔室(图9中未示出)中之后,操作者移除剥离衬垫并使粘合带516与靠近开口的第二壁部分520的内表面522接触以便密封开口。任选地,当完成密封过程时,操作者可以从第一隔室550排出(从开口排出)一些或全部空气。

[0102] 图10示出了包括袋56的装置502的一个替代性实施方案,袋56包括具有开口561的可密封样本端口560。在本实施方案中,可密封样本端口560为螺旋盖开口,例如,液体测试样本可倾倒或移液到该螺旋盖开口中。另选地,在任一实施方案中,可密封样本端口560可为可刺穿的可弹性变形的隔膜,可通过该隔膜引入针或移液管尖端以将样本递送到第一隔室中。在将针或移液管从隔膜抽出之后,可弹性变形的隔膜重新密封端口。有利地,在这些实施方案中,可以最小化第一隔室中的空气引入。

[0103] 在另一个替代性实施方案(未示出)中,可密封样本端口可包括在第一壁部分和第二壁部分中的每一个上的互锁拉链部件(例如,类似于ZIPLON塑料储物袋)以及与互锁部件配合使用以打开或密封第一隔室的拉链部件。

[0104] 在另一个方面,本公开提供了一种组装大体积薄膜培养装置的方法。本公开的装置可完全由片状材料组装。有利地,这使得能够在组装多个装置时使用卷对卷处理。图11至图14示出了根据本公开的装置503的一个替代性实施方案的各种视图。

[0105] 图11示出了用于组装根据本公开的装置的一个实施方案的片状材料。可以将装置的每个部分切割成适当尺寸的片并随后组装到装置中,或者可以使用本领域已知的卷对卷处理使用受控深度的模切来切割成适当尺寸。

[0106] 在任一实施方案中,本公开的装置可以部分地组装成一个或多个子组件,该一个或多个子组件随后与其它部件组合以制成该装置。参见图11,装置503包括第一子组件I,第一子组件I包括第一部分A、第二部分B和第三部分C。组装的子组件I的另一个视图示于图



12A中。第一部分A由如本文所述的其上涂覆有粘合剂层574的第一壁部分510组成。第二部分B由如本文所述的剥离衬垫518组成。第三部分C由在一侧上涂覆有基本上干燥的微生物生长营养物质组合582的第一基材590组成。粘附到微生物生长营养物质组合582的是粘合剂层584。设置在粘合剂层584上的是涂层586,涂层586包含本文所述的干燥的冷水可溶性水凝胶形成组合。涂层586可作为干燥粉末或作为随后干燥至基本上不含水的状态的液体组合沉积到粘合剂层586上,如上文所述。第一基材590可包含类似于用于如上所述的袋壁的那些材料的片状材料。另选地,第一基材可包含非织造织物或纤维素材料(例如,纸材)。在任一实施方案中,纤维素材料可涂覆有基本上不抑制微生物生长的防水涂层。由涂层584在第三部分C上限定的区域也限定了组装装置中的生长和菌落清点区域。

[0107] 当组装子组件I时,剥离衬垫518沿着形成组装装置的开口的第一壁部分510的边缘(边缘511)可剥离地粘附到粘合剂层574。此外,第三部分C居中定位在部分A上方,其中涂层586背向粘合剂层574。然后使部分C与粘合剂574接触,以将部分C附连到部分A,同时暴露涂层586,如图12A所示。

[0108] 重新参见图11,第二子组件II包括第四部分D和第五部分E。第四部分D包括第二基材591。第二基材591形成包括孔592的框架。第二基材591在一侧上涂覆有粘合剂层593。第二基材591可包含类似于用于如上所述的袋壁的那些材料的片状材料(例如,柔性膜)。另选地,第二基材可包含非织造织物或纤维素材料(例如,纸材)。在任一实施方案中,纤维素材料可涂覆有基本上不抑制微生物生长的防水涂层。任选地,吸收垫可在第二隔室中连接到第二基材。

[0109] 第二子组件II还包括第五部分E(即,如本文所述的膜式过滤器540)。膜式过滤器540的尺寸被设定成使得它完全覆盖由孔592限定的区域。当组装子组件II时,膜式过滤器540粘附到粘合剂层593,使得它完全覆盖第二基材591的孔592,如图12B所示。在使用中,当液体通过膜式过滤器时,液体穿过孔从装置的第一隔室到达第二隔室。在任一实施方案中,孔592限定第一区域,并且涂层584限定第二区域。优选地,第二区域大于或等于第一区域。更优选地,第二区域的形状和尺寸被设定为与孔的区域完全重叠。

[0110] 任选地,当组装图11的装置503时,子组件I可连接到子组件II以形成子组件III。这可以通过将子组件II的后侧(即,不包括粘合剂层593的一侧)与子组件I的被粘合剂涂覆的一侧重叠接触来完成。另外,子组件II的孔592与子组件I对齐,使得它与子组件I的第三部分C重叠。

[0111] 为了完成装置503的构造,将第六部分F(即,如本文所述的吸收垫580)放置成与子组件III的膜式过滤器540重叠接触,并且将第七部分(即,如本文所述的第二壁部分520)放置成与第一部分A重叠接触,使得第七部分G在第一部分A的周边处粘合地连接到粘合剂层574的部分。图13示出了图11的组装装置503的平面图,并且图14示出了图11的组装装置503的剖视图。

[0112] 在任一实施方案中,本公开的装置还包含用于指示活微生物的存在的指示试剂。指示试剂设置在袋中。在任一实施方案中,指示试剂可作为干燥粉末或干燥的涂层设置在袋的第一隔室和/或第二隔室中。在任一实施方案中,指示试剂可设置在如本文所述的粘合剂层中。另选地或除此之外,指示试剂可以是(例如,与如本文所述的冷水可溶性水凝胶形成组合一起)涂覆到粘合剂层上的干燥试剂。

[0113] 在任一实施方案中,指示试剂可以是活微生物的一般指示剂(例如,氧化还原指示剂,诸如例如氯化三苯基四唑)或大类目标微生物(例如,总需氧微生物)的指示剂。另选地,指示试剂可以是与较小组的目标微生物反应的指示剂(例如,生色或荧光酶底物)。本领域的普通技术人员将认识到适合特定目标微生物的指示试剂。

[0114] 在根据本公开的装置的任一实施方案中,该装置还包括支架层(未示出),该支架层设置在膜式过滤器和吸收垫之间的第二隔室中。支架层为相对薄的(例如,约为0.1mm至2mm厚)片状材料。在任一实施方案中,支架层的形状和尺寸被设定为至少与膜式过滤器共延。在任一实施方案中,支架层的吸收显著小于吸收垫。在任一实施方案中,支架层的吸收性小于或等于膜式过滤器的吸收性。支架层可包括疏水材料(例如,未改性的聚丙烯)或基本上由疏水材料组成。

[0115] 支架层用于在初始阶段期间允许水性液体从膜式过滤器通向吸收层,其中沉积到第一隔室中的一半以上的水性液体进入第二隔室,同时限制营养物质从第一隔室扩散到第二隔室,同时温育该装置以便于微生物菌落生长。

[0116] 用作支架层的合适材料包括例如,包含聚丙烯的非织造织物;聚乙烯;聚对苯二甲酸乙二酯;聚对苯二甲酸乙二酯和纤维素的共混物;聚对苯二甲酸乙二酯和人造丝的共混物;以及它们的混合物。有利地,包括支架层的装置可以包括涂覆在袋的第一壁部分上的干燥营养物质,并且可以在水合的冷水可溶性胶凝剂中保留足够的营养物质,以支持水合营养物质凝胶中的目标微生物的生长。

[0117] 在第三方面,提供了一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括:提供根据第一方面的装置,将第一层与第二层分离,将预定体积的包含至少一种微生物的样本加入到第一水凝胶形成组合物上以形成经接种的装置,使第一层和第二层重新接触,温育经接种的装置,以及检测装置中的目标微生物菌落是否存在。以上针对第一方面详述的任一装置适用于第三方面的方法。

[0118] 例如,可具体参考图1和图3的装置来讨论本发明的装置用于检测和清点微生物的用途。在某些实施方案中,第二层22用作覆盖片并被拉回,然后将预定数量的水或水性测试样本置于主体构件11的第一层12上。通过粘合剂14粘附到第一层12的胶凝剂16的粒子被快速水合或溶解并形成凝胶。然后小心地在第一层12上方放回第二层22,以最小化气泡的截留。然后将装置温育预定的一段时间。经接种的装置通常包括温育最长约48小时,或最长约24小时,或甚至最长约14小时。在培养基中生长的任何细菌菌落都可透过透明覆盖膜来检测并任选地清点(例如,计数)。在一些实施方案中,可使用诸如自动菌落计数器等自动系统来计数微生物。

[0119] 在第四方面,提供检测和清点样本中的至少一种微生物的另一种方法。该方法包括提供根据第二方面的装置,将预定体积的水性样本放置在装置的第一隔室中,密封样本端口,温育装置,以及检测装置中的目标微生物菌落是否存在。以上针对第二方面详述的任一装置适用于第四方面的方法中。

[0120] 第四方面的方法包括将预定体积的水性样本放入本公开的任一实施方案的装置的第一隔室中的步骤。水性样本可以是待测试目标微生物的存在的任何可过滤的液体样本。该方法特别适用于怀疑含有相对较低浓度的目标微生物(例如,小于或等于10个微生物/毫升、小于或等于1个微生物/毫升、小于或等于0.1个微生物/毫升、小于或等于0.01个

微生物/毫升)的水样本。将预定体积的水性样本放入装置的第一隔室中包括将预定体积通过可密封样本端口放入装置中(例如,通过移液、倾倒、注射等)。

[0121] 该方法还包括密封样本端口的步骤。用于密封样本端口的程序将取决于该方法中使用的装置中存在的特定的可密封样本端口。例如,如果在该方法中使用图11至图13的装置503,则密封样本端口包括移除剥离衬垫518以暴露设置在第一壁部分510上的粘合剂,然后使第一壁部分上的粘合剂与第二壁部分接触以形成闭合袋的开口的防水密封件。

[0122] 例如,如果在该方法中使用图10的装置502,则密封样本端口包括将螺旋盖拧回到样本端口上,从而形成防水密封件。

[0123] 例如,如果在该方法中使用包括可弹性变形的可刺穿隔膜(未示出)的装置,则当用于将样本引入装置中的移液管或针头从隔膜中取出时,样本端口将自发地密封。

[0124] 在该方法的任一实施方案中,在形成防水密封件的过程之前和/或期间,可通过可密封样本端口将空气从袋中排出(例如,通过挤压手动排出)。

[0125] 该方法还包括在便于目标微生物的生长和检测的温度下将装置温育一段时间的步骤。本领域普通技术人员将认识到温育温度和时间段将取决于许多因素(例如,目标微生物、样本中存在的营养物质、装置中存在的营养物质、样本和/或装置中存在的抑制剂)并相应地调整温育时间和温度。

[0126] 该方法还包括检测装置中的目标微生物菌落是否存在的步骤。在任一实施方案中,检测装置中的目标微生物菌落是否存在可包括检测装置的第一隔室中的菌落(例如,视觉上检测或使用机器视觉检测)。在任一实施方案中,检测装置中的目标微生物菌落是否存在可包括检测与指示试剂相关联的变化。指示试剂可在目标微生物的菌落中和/或周围从第一状态(例如,基本上无色或非荧光的状态)变为第二状态(例如,着色的或荧光的状态)。在任一实施方案中,可清点菌落,并且任选地,可记录目标微生物的菌落数。在一些实施方案中,可使用诸如自动菌落计数器等自动系统来计数微生物。

[0127] 在任一实施方案中,样本端口密封之后,该方法还包括将装置的第一壁部分的外表面或装置的第二壁部分的外表面铺设到基本上垂直于重力的表面上。有利地,将装置的其第二壁部分的外表面铺设到基本上垂直于重力的表面上有利于样本液体通过重力流动通过膜式过滤器。此外,将装置的第二壁部分的外表面铺设到基本上垂直于重力的表面上有利于,在液体穿过膜式过滤器从第一隔室到达第二隔室时,粘附到第一壁部分的水合的冷水可溶性水凝胶形成组合物和膜式过滤器之间的接触。

[0128] 在任一实施方案中,该方法还包括使预定体积的至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、或至少98%从第一隔室穿过到达第二隔室。保留在第一隔室中的预定体积的部分基本上作为通过使冷水可溶性第一水凝胶形成组合物水合形成的凝胶的一部分存在。

[0129] 描述了为装置、套件、制备装置的方法或检测和清点微生物的方法的各种实施方案。

[0130] 实施方案1是一种微生物检测装置。该装置包括主体构件,该主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材。该装置还包括设置在第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物,粘附到第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物,和粘附到第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物。该装置还包括附接到主体构件的覆盖片,其中该覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。

[0131] 实施方案2为根据实施方案1所述的装置,该装置还包括设置在覆盖片的第一主表面的一部分上的基本上干燥的第二微生物生长营养物质。

[0132] 实施方案3为根据实施方案2所述的装置,其中该第二微生物生长营养物质组合物包含第二微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。

[0133] 实施方案4为根据实施方案3所述的装置,该装置还包括粘附到第二微生物生长营养物质组合物的第二粘合剂组合物。

[0134] 实施方案5为根据实施方案1所述的装置,该装置还包括设置在覆盖片的第一主表面的一部分上的第二粘合剂组合物。

[0135] 实施方案6为根据实施方案4或实施方案5所述的装置,该装置还包括粘附到第二粘合剂组合物的至少一种冷水可溶性胶凝剂。

[0136] 实施方案7为根据实施方案4至6中任一项所述的装置,其中第二粘合剂组合物包含至少一种指示剂。

[0137] 实施方案8为根据实施方案4至7中任一项所述的装置,其中第二粘合剂组合物包含压敏粘合剂。

[0138] 实施方案9为根据实施方案4至8中任一项所述的装置,其中第二粘合剂组合物包含基于溶剂的粘合剂。

[0139] 实施方案10为根据实施方案4至9中任一项所述的装置,其中第二粘合剂组合物包含丙烯酸烷基酯共聚物。

[0140] 实施方案11为根据实施方案1至10中任一项所述的装置,其中第一粘合剂组合物包含至少一种指示剂。

[0141] 实施方案12为根据实施方案1至10中任一项所述的装置,其中第一粘合剂组合物包含压敏粘合剂。

[0142] 实施方案13为根据实施方案1至12中任一项所述的装置,其中第一粘合剂组合物包含基于溶剂的粘合剂。

[0143] 实施方案14为根据实施方案1至13中任一项所述的装置,其中第一粘合剂组合物包含丙烯酸烷基酯共聚物。

[0144] 实施方案15为根据实施方案1至14中任一项所述的装置,其中该第一微生物生长营养物质组合物包含第一微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。

[0145] 实施方案16为根据实施方案15所述的装置,其中该装置包括涂覆重量为 $12\text{mg}/\text{in}^2$ 或更大的微生物生长营养物质。

[0146] 实施方案17为根据实施方案15或实施方案16所述的装置,其中第一微生物生长营养物质包括以下中的至少一种:肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。

[0147] 实施方案18为根据实施方案1至17中任一项所述的装置,其中冷水可溶性第一水凝胶形成组合物包含选自以下构成的组的冷水可溶性胶凝剂:藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、刺槐豆胶、黄原胶、聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷以及它们的组合。

[0148] 实施方案19是一种微生物检测装置。该微生物检测装置包括防水袋,该防水袋包括具有内表面和外表面的第一壁部分,具有内表面和外表面的第二壁部分,以及设置在第

一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间的袋中的多孔膜式过滤器。膜式过滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面。防水袋还包括第一隔室和可密封样本端口,该第一隔室部分地由第一壁部分的内表面限定并且部分地由膜式过滤器的第一主表面限定,该样本端口提供将液体沉积到第一隔室中的通道。另外,防水袋包括第二隔室和设置在第二隔室中的吸收垫,该第二隔室部分地由第二壁部分的内表面限定并且部分地由膜式过滤器的第二主表面限定。膜式过滤器允许水性液体从第一隔室通向第二隔室,并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室通向第二隔室。防水袋还包括设置在第一隔室中的袋的一部分上的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物,粘附到微生物生长营养物质组合物的粘合剂组合物,以及粘附到粘合剂组合物的冷水可溶性水凝胶形成组合物。

[0149] 实施方案20为根据实施方案19所述的装置,其中袋包括与第一隔室中的膜式过滤器相对设置的可变形第一壁部分,并且微生物生长营养物质组合物设置在第一壁部分上。

[0150] 实施方案21为根据实施方案19所述的装置,其中膜式过滤器被连接到框架,其中框架包括孔,液体穿过该孔从第一隔室进入膜式过滤器,其中孔限定第一区域,并且其中设置在袋上的微生物生长营养物质组合物限定大于或等于第一区域的第二区域。

[0151] 实施方案22为根据实施方案19至21中任一项所述的装置,其中该装置的尺寸被设定为接收体积在25mL和150mL之间的液体样本,包括端值。

[0152] 实施方案23为根据实施方案19至22中任一项所述的装置,其中粘合剂组合物包含至少一种指示剂。

[0153] 实施方案24为根据实施方案19至23中任一项所述的装置,其中粘合剂组合物包含压敏粘合剂。

[0154] 实施方案25为根据实施方案19至24中任一项所述的装置,其中粘合剂组合物包含基于溶剂的粘合剂。

[0155] 实施方案26为根据实施方案19至25中任一项所述的装置,其中粘合剂组合物包含丙烯酸烷基酯共聚物。

[0156] 实施方案27为根据实施方案19至26中任一项所述的装置,其中微生物生长营养物质组合物包含微生物生长营养物质和至少一种冷水可溶性胶凝剂。

[0157] 实施方案28为根据实施方案27所述的装置,其中该装置包括涂覆重量为 $12\text{mg}/\text{in}^2$ 或更大的微生物生长营养物质。

[0158] 实施方案29为根据实施方案27或实施方案28所述的装置,其中微生物生长营养物质组合物包含以下中的至少一种:肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。

[0159] 实施方案30为根据实施方案19至29中任一项所述的装置,其中冷水可溶性水凝胶形成组合物包含选自以下构成的组的冷水可溶性胶凝剂:藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、刺槐豆胶、黄原胶、聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷以及它们的组合。

[0160] 实施方案31为一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括提供根据实施方案1至18中任一项所述的装置,将第一层与第二层分离,以及将预定体积的含有至少一种微生物的样本加入到第一水凝胶形成组合物上以形成经接种的装置。该方法还包括使第一层与第二层重新接触,温育经接种的装置,以及检测装置中的目标微生物菌落是

否存在。

[0161] 实施方案32为一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括提供根据实施方案19至30中任一项所述的装置,将预定体积的水性样本放置在装置的第一隔室中,密封样本端口,温育装置,以及检测装置中的目标微生物菌落是否存在。

[0162] 实施方案33是一种微生物检测装置。该装置包括主体构件和附接到主体构件的覆盖片,该主体构件包括具有第一主表面的基材,其中该覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。该装置还包括设置在覆盖片的第一主表面的一部分上的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物,粘附到第一微生物生长营养物质组合物的第一粘合剂组合物,和粘附到第一粘合剂组合物的冷水可溶性第一水凝胶形成组合物。

[0163] 实施方案34为根据实施方案33所述的装置,该装置还包括设置在基材的第一主表面上的隔片。

#### [0164] 实施例

[0165] 下面的实施例对本发明的目的和有益效果作出更进一步的解释,但这些实施例中列举的具体材料和用量以及其它条件和细节不应解释为是对本发明不当的限制。这些实施例仅为了进行示意性的说明,并非旨在限制所附权利要求书的范围。

#### [0166] 材料

[0167] 除非另外指明,否则实施例以及本说明书其余部分中的所有份数、百分比、比例等均按重量计。除非另外指明,否则所有化学品均购自化学品供应商诸如密苏里州圣路易斯的西格玛奥德里奇化学公司(Sigma-Aldrich Chemical Company, St. Louis, MO)。

#### [0168] 表1.材料

	材料名称/描述	来源
[0170]	BACTO 胰酶大豆肉汤(TSB)	新泽西州富兰克林湖的BD公司(Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ)
	瓜尔胶(Meyprogat 150)	丹麦哥本哈根的丹尼斯克公司(Danisco, Copenhagen, Denmark)
	氯化2,3,5-三苯基四唑(TTC)	密苏里州圣路易斯的西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO)

#### [0171] 温育和接种

[0172] 表2中所列的细菌菌株可购自微生物学公司(MICROBIOLOGICS, Incorporated)(明尼苏达州圣克劳德(St. Cloud, MN)),并单独地在胰酶大豆肉汤(TSB)中在30℃下温育过夜。通过在TSB中连续稀释每种培养物样本来制备接种物。对于实施例1-2的装置,稀释培养物样本,以便产生约10-300个菌落形成单位(cfu)计数/1mL接种物的终浓度。对于实施例3的装置,稀释培养物样本,以便产生约10-300个菌落形成单位(cfu)计数/100mL接种物的终浓度。

#### [0173] 表2.细菌菌株

[0174]	大肠杆菌( <i>Escherichia coli</i> ) (ATCC 25922)
	金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)
	假单胞菌属物种( <i>Pseudomonas sp.</i> ) (ATCC 51821)
	肠道沙门氏菌( <i>Salmonella enterica</i> ) (ATCC 51812)

无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*) (ATCC 27956)

[0175] 实施例1.微生物检测装置的制备

[0176] 构造根据图1的装置的微生物检测装置(不同的是覆盖片22上没有营养物质涂层24)。对于每个装置,主体构件的基材是透明的双轴取向的聚丙烯(BOPP)膜(1.6密耳(0.04mm)厚并且在两侧进行电晕处理)。根据以下程序依次用微生物生长营养物质组合物、粘合剂组合物和瓜尔胶(例如,冷水可溶性第一水凝胶形成)组合物涂覆基材膜的一侧。

[0177] 通过剧烈混合(使用具有JIFFY型混合叶轮的空气驱动的顶置式混合器)30g胰酶大豆肉汤(TSB)和500mL纯净水[从MILLI-Q梯度水净化系统(型号#ZMQS6V00Y,马萨诸塞州比尔里卡的默克密理博公司(Merck Millipore Corporation,Billerica,MA))获得]直至TSB完全溶解,来制备微生物生长营养物质涂层组合物。所得溶液的pH为7.3(Mettler-Toledo FE20FiveEasy™ pH计,俄亥俄州哥伦布的梅特勒托利多公司(Mettler-Toledo LLC,Columbus,OH))。将瓜尔胶(10g)加入营养物质溶液中并继续剧烈搅拌约10分钟。将所得溶液以14密耳(0.35mm)的间隙设定刮涂到BOPP膜基材的一侧上。将被营养物质涂覆的基材在85℃的烘箱中干燥12分钟,以提供约 $360\text{mg}/24\text{in}^2$  ( $2.3\text{mg}/\text{cm}^2$ )的干燥涂覆重量。

[0178] 将如美国专利5,409,838的实施例4中所述(该专利以引用方式并入本文中)的含有TTC(氯化2,3,5-三苯基四唑)指示剂的丙烯酸异辛酯/丙烯酸(98/2重量比)压敏粘合剂(PSA)涂层制剂以2密耳(0.05mm)的间隙设定刮涂到暴露的营养物质涂层上。将所得的经涂覆的膜在65℃的烘箱中干燥6分钟,以提供具有约 $179\text{mg}/24\text{in}^2$  ( $1.15\text{mg}/\text{cm}^2$ )的干燥涂覆重量的PSA涂层。然后用瓜尔胶粉末涂覆基材的被粘合剂涂覆的一侧。均匀地施加粉末,并通过手动摇动膜随后用纸巾轻轻擦拭表面,将过量的粉末从粘合剂层移除。瓜尔胶的最终涂覆重量为约 $409\text{mg}/24\text{in}^2$  ( $2.6\text{mg}/\text{cm}^2$ )。将所得的被粉末涂覆的基材膜切成76mm宽×102mm长的部分,以形成装置的成品主体构件。

[0179] 该装置的覆盖片是透明的BOPP膜(1.6密耳(0.04mm)厚并且在两侧进行电晕处理),该膜的一侧涂覆有如美国专利5,409,838的实施例4所述的含有TTC的丙烯酸异辛酯/丙烯酸(98/2重量比)压敏粘合剂涂层制剂。随后用瓜尔胶粉末涂覆粘合剂层。均匀地施加粉末,并将过量的粉末从粘合剂层移除。切割经涂覆的覆盖片膜以匹配主体构件的尺寸,然后使用双面粘合剂带沿着主体构件的一个边缘(76mm边缘)附接(以铰链状方式)。对于每个装置,覆盖片和主体构件被取向为使得覆盖片的经涂覆的表面面向主体构件的经涂覆的表面。

[0180] 将选自表2的单一微生物样本接种到检测装置中。提起装置的覆盖片,并通过移液管将1mL接种物(即,如上所述的最终稀释液)加入主体构件的暴露的经涂覆的表面中。重新放上覆盖片,通过用3M PETRIFILM平板涂布器(3M公司(3M Company))施加向下的压力来均匀地涂布样本。将经接种的装置在30℃下温育48小时。在温育期结束时,通过目视检查对红色菌落进行计数。作为比较例,将可商购获得的PETRIFILM好氧计数(AC)板(3M公司)分别以与检测装置相同的方式接种、温育和计数。结果示于表3中。

[0181] 实施例2.微生物检测装置的制备

[0182] 构造根据图15的装置的微生物检测装置。对于每个装置,主体构件的基材是透明的双轴取向的聚丙烯(BOPP)膜(1.6密耳(0.04mm)厚并且在两侧进行电晕处理),将该膜切成76mm宽×102mm长的部分。通过将76mm宽×102mm长的聚乙烯膜隔片(威斯康辛州布卢默

的最佳塑料公司 (Optimum Plastics, Bloomer, W)) 粘合层压到基材的一侧来完成主体构件。隔片大约20密耳 (0.51毫米) 厚, 并含有位于隔片中心附近的直径6.0cm的圆形开口。该圆形开口限定了装置的样本接收区的周边。

[0183] 装置的覆盖片为透明的双轴取向的聚丙烯 (BOPP) 膜 (1.6密耳 (0.04mm) 厚并且在两侧进行电晕处理), 该膜根据以下程序在一侧上依次涂覆有微生物生长营养物质组合物、粘合剂组合物和瓜尔胶 (例如冷水可溶性第一水凝胶形成) 组合物。

[0184] 通过剧烈混合 (使用具有JIFFY型混合叶轮的空气驱动的顶置式混合器) 30g胰酶大豆肉汤 (TSB) 和500mL纯净水 [从MILLI-Q梯度水净化系统 (型号#ZMQS6V00Y, 马萨诸塞州比尔里卡的默克密理博公司 (Merck Millipore Corporation, Billerica, MA)) 获得] 直至 TSB完全溶解, 来制备微生物生长营养物质涂层组合物。所得溶液的pH为7.3 (Mettler-Toledo FE20FiveEasy™ pH计, 俄亥俄州哥伦布的梅特勒托利多公司)。将瓜尔胶 (10g) 加入营养物质溶液中并继续剧烈搅拌约10分钟。将所得溶液以14密耳 (0.35mm) 的间隙设定刮涂到BOPP覆盖片膜的一侧上。将被营养物质涂覆的膜在85℃的烘箱中干燥12分钟, 以提供约  $360\text{mg}/24\text{in}^2$  ( $2.3\text{mg}/\text{cm}^2$ ) 的干燥涂覆重量。

[0185] 将如美国专利5,409,838的实施例4中所述 (该专利以引用方式并入本文中) 的含有TTC (氯化2,3,5-三苯基四唑) 指示剂的丙烯酸异辛酯/丙烯酸 (98/2重量比) 压敏粘合剂 (PSA) 涂层制剂以2密耳 (0.05mm) 的间隙设定刮涂到暴露的营养物质涂层上。将所得的经涂覆的膜在65℃的烘箱中干燥6分钟, 以提供具有约  $179\text{mg}/24\text{in}^2$  ( $1.15\text{mg}/\text{cm}^2$ ) 的干燥涂覆重量的PSA涂层。然后用瓜尔胶粉末涂覆覆盖片膜的被粘合剂涂覆的一侧。均匀地施加粉末, 并通过手动摇动膜随后用纸巾轻轻擦拭表面, 将过量的粉末从粘合剂层移除。瓜尔胶的最终涂覆重量为约  $409\text{mg}/24\text{in}^2$  ( $2.6\text{mg}/\text{cm}^2$ )。

[0186] 然后切割经涂覆的覆盖片膜以匹配主体构件的尺寸。通过使用双面粘合剂带沿着隔片的一个边缘 (76mm边缘) 将覆盖片附接到主体构件 (以铰链状方式) 来组装成品装置。对于每个装置, 覆盖片和主体构件被取向为使得覆盖片的经涂覆的表面面向主体构件的隔片侧。

[0187] 将选自表2的单一微生物样本接种到检测装置中。提起装置的覆盖片, 并通过移液管将1mL接种物 (即, 如上所述的最终稀释液) 加入主体构件的暴露的经涂覆的表面中。重新放上覆盖片, 通过用3M PETRIFILM平板涂布器 (明尼苏达州圣保罗的3M公司 (3M Corporation, St. Paul, MN)) 施加向下的压力来均匀地涂布样本。将经接种的装置在30℃下温育48小时。在温育期结束时, 通过目视检查对红色菌落进行计数。结果示于表3中。

### [0188] 实施例3. 微生物检测装置的制备

[0189] 构造根据图11的微生物检测装置袋。第二壁部分由透明的BOPP膜 (1.6密耳 (0.04mm) 厚并且在两侧进行电晕处理) 的127mm×152.4mm的块组成。吸收垫是Gelok 30040-0305超吸收聚合物 (SAP) 层压体 (层压在薄纸层之间的300g/m<sup>2</sup>的聚丙烯酸钠颗粒料, 俄亥俄州邓布里奇的盖罗科工业 (Gelok Industries, Dunbridge, OH)) 的101.6mm×127mm的块。膜式过滤器是DuraPES® 450滤膜 (用于微滤的5.5密耳 (0.14mm) 厚的亲水性聚酯磺滤膜, 可购自3M公司) 的101.6mm×127mm的块。使用热熔融粘合剂 (#H4073A, 威斯康辛州密尔沃基的波士胶公司 (Bostik Company, Milwaukee, WI)) 将Fitesa-ADL2非织造材料的101.6mm×127mm的块粘合层压在SAP层压体和滤膜之间。将所得的层压体放置并居中位于



取向的第二壁部分的内表面上,使得吸收垫面向第二壁的内表面。在这种构造的取向上,沿着第二壁部分的内表面的周边的12.7mm的带未被覆盖。

[0190] 根据美国专利5,409,838的实施例4中所述的方法,首先用丙烯酸异辛酯/丙烯酰胺(98/2重量比)压敏粘合剂涂覆透明的BOPP膜(1.6密耳(0.04mm)厚并且在两侧进行电晕处理)的一侧来制备框架层。随后切割经涂覆的膜以形成具有127mm×152.4mm的外部尺寸和居中的76.2mm×101.6mm的内部开口的框架。所得的框架具有25.4mm宽的粘合涂覆的边框。然后将框架粘合附接到膜式过滤器和第二壁的内表面,从而形成部分构造的装置,该装置具有在一侧上未覆盖的76.2mm×101.6mm的滤膜部分。

[0191] 将透明的BOPP膜(1.6密耳(0.04mm)厚并在两侧进行电晕处理)的独立片用实施例1中所述的TSB微生物生长营养物质涂层组合物刮涂(14密耳(0.35mm)间隙设定)。将被微生物生长营养物质涂覆的基材在85℃的烘箱中干燥12分钟,以提供约360mg/24in<sup>2</sup>(2.3mg/cm<sup>2</sup>)的干燥涂覆重量。将如美国专利5,409,838的实施例4中所述的含有TTC的丙烯酸异辛酯/丙烯酸(98/2重量比)压敏粘合剂涂层制剂以2密耳(0.05mm)的间隙设定刮涂到暴露的营养物质涂层上。将所得的经涂覆的膜在65℃的烘箱中干燥6分钟,以提供具有约179mg/24in<sup>2</sup>(1.15mg/cm<sup>2</sup>)的干燥涂覆重量的PSA涂层。然后用瓜尔胶(例如冷水可溶性水凝胶形成组合物)粉末涂覆膜的被粘合剂涂覆的一侧。均匀地施加粉末,并通过手动摇动膜随后用纸巾轻轻擦拭表面,将过量的粉末从粘合剂层移除。瓜尔胶的最终涂覆重量为约409mg/24in<sup>2</sup>(2.6mg/cm<sup>2</sup>)。这是用于制备实施例1中所述的装置的经涂覆的基材部分的相同的经涂覆的膜片。将膜片切成76.2mm宽×101.6mm长的部分,然后放置成覆盖部分构造的装置的先前未覆盖的滤膜。将膜取向为使得膜的经涂覆的一侧面向滤膜。

[0192] 第一壁部分由透明的BOPP膜(1.6密耳(0.04mm)厚并且在两侧进行电晕处理)的127mm×152.4mm的块组成,该膜已根据美国专利5,409,838的实施例4中所述的方法在一侧上涂覆有丙烯酸异辛酯/丙烯酰胺(98/2重量比)压敏粘合剂。沿着第一壁部分的经涂覆的表面上的127mm边缘之一附接被有机硅涂覆的纸材剥离衬垫的25.4mm宽的块。然后将第一壁部分边缘对齐并粘合层压到被营养物质涂覆的BOPP膜的未涂覆表面和框架层的背向第二壁部分的表面两者。这种结构产生了袋,该袋具有通向第一隔室的开口,该开口部分地由第一壁部分和膜式过滤器限定。

[0193] 将选自表2的单一微生物样本接种到检测装置中。然后将接种物样本的最终稀释液(100mL,上述程序)倒入袋装置的第一隔室中。移除袋上的剥离衬垫并密封第一隔室。然后将该装置放置在培养箱中的平坦的水平表面(面向水平表面的第二壁部分的外表面)上,并在30℃下保持48小时。温育期结束时,通过目视检查对每个装置中的红色菌落(cfu)进行计数。结果示于表3中。

[0194] 表3.

生物体	菌落(cfu)计数			
	实施例1 的装置	实施例2 的装置	实施例3的 装置(袋)	PETRIFILM AC 板(比较例)
大肠杆菌 (ATCC 25922)	96	85	97	89
金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)	48	40	59	28
假单胞菌属物种(ATCC 51821)	58	36	50	37

[0195]

[0196]	肠道沙门氏菌(ATCC 51812)	110	121	116	102
	无乳链球菌(ATCC 27956)	18	17	26	21

[0197] 虽然本说明书已经详细地描述了某些示例性实施方案,但是应当理解,本领域的技术人员在理解上述内容后,可很容易地想到这些实施方案的更改、变型和等同物。此外,本文引用的所有出版物和专利均以引用的方式全文并入本文中,如同各个单独的出版物或专利都特别地和单独地指出以引用方式并入一般。已对各个示例性实施方案进行了描述。这些实施方案以及其它实施方案均在如下权利要求书的范围内。



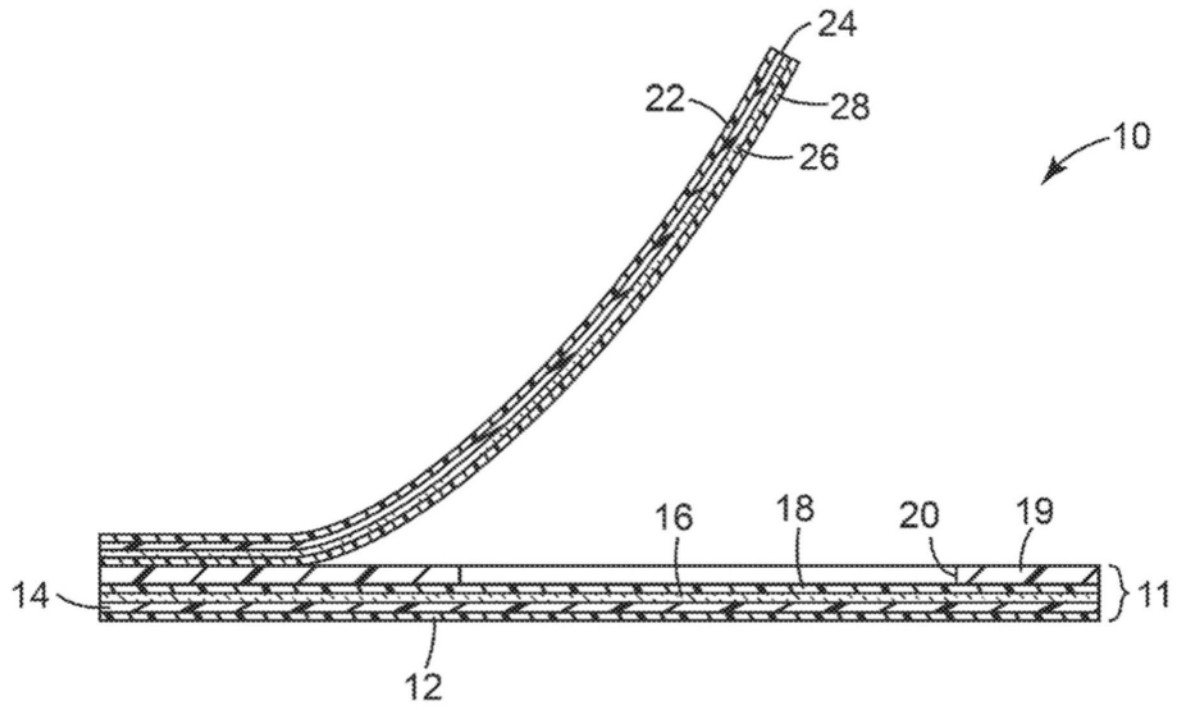


图3

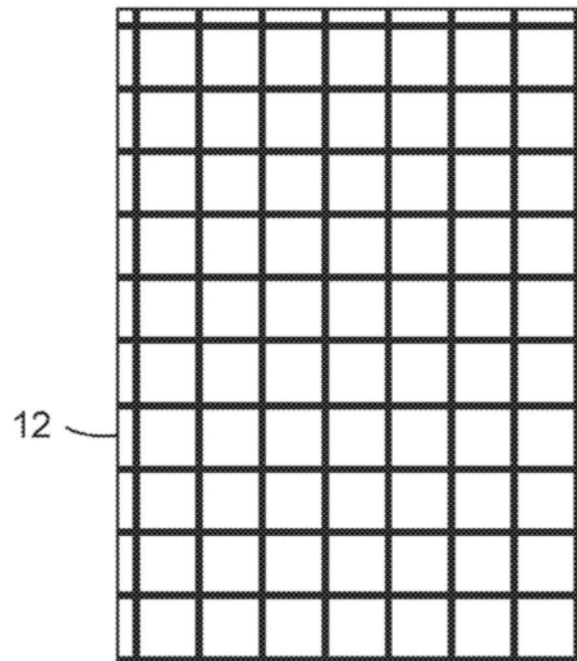


图4

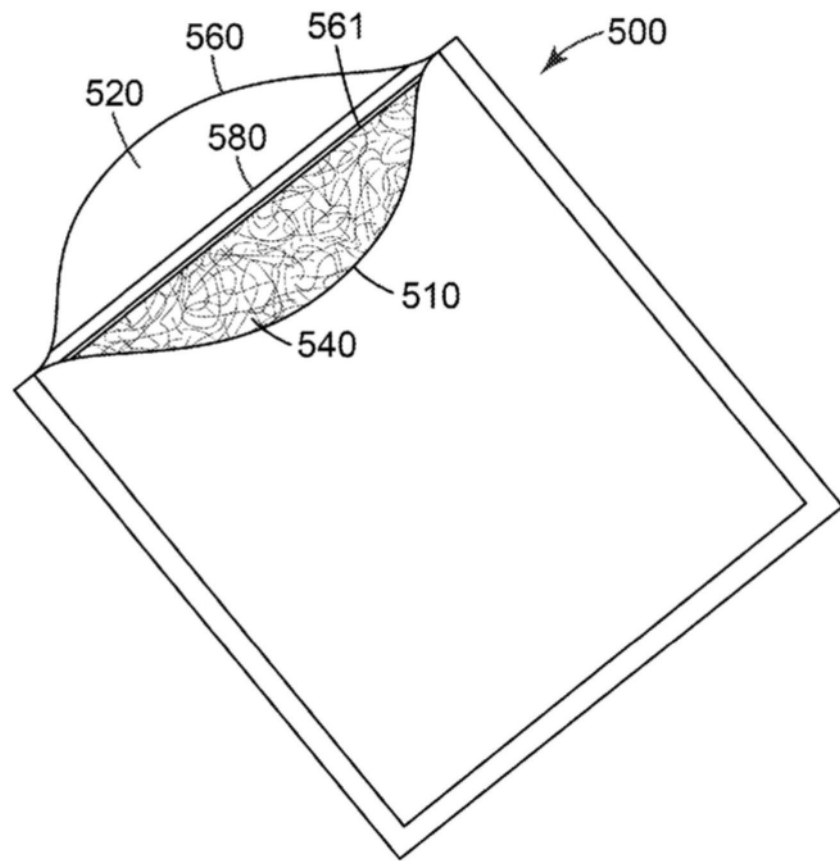


图5

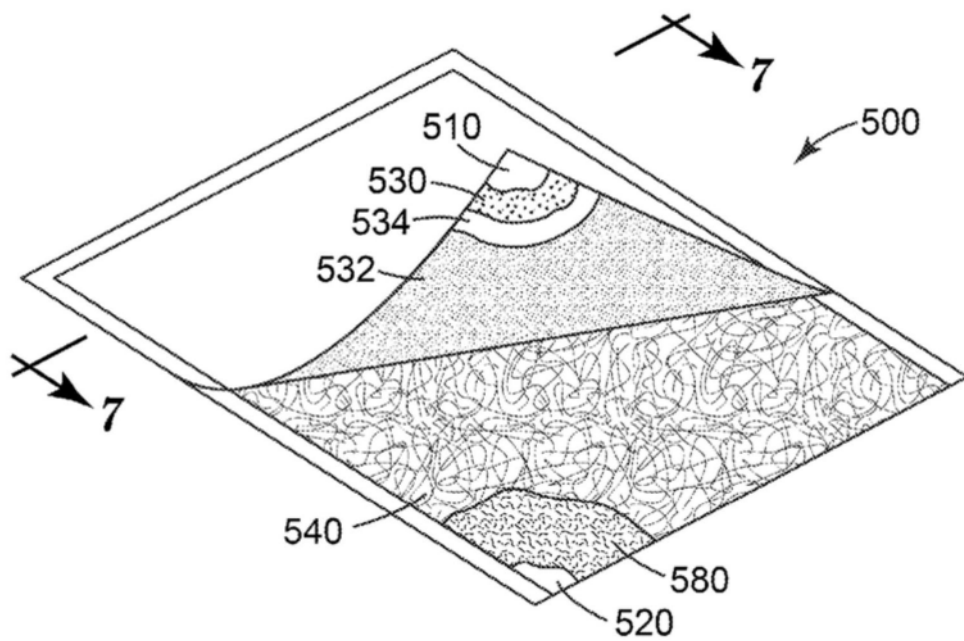


图6

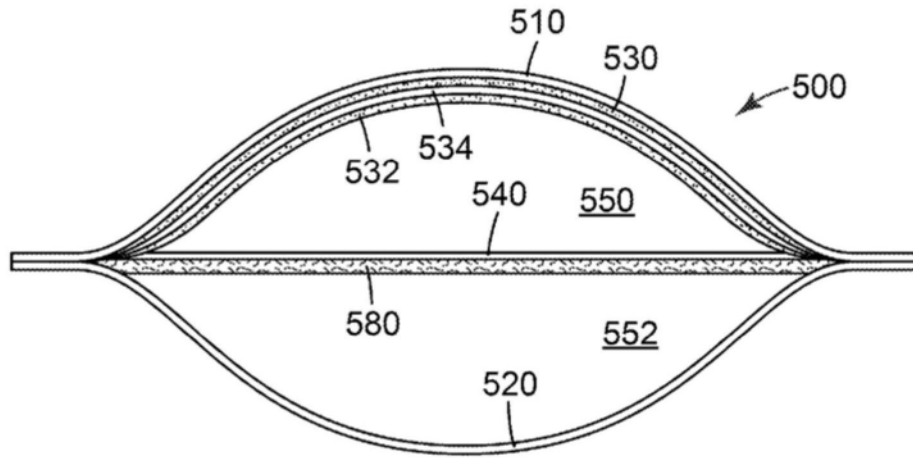


图7

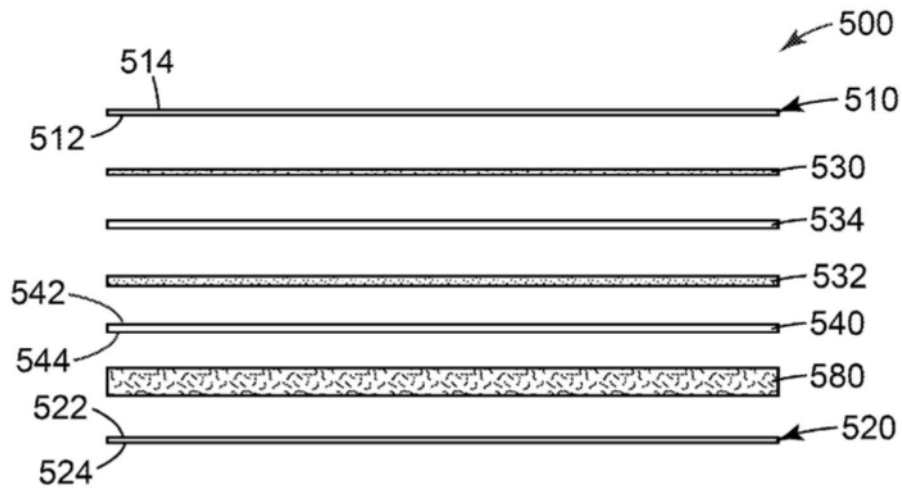


图8

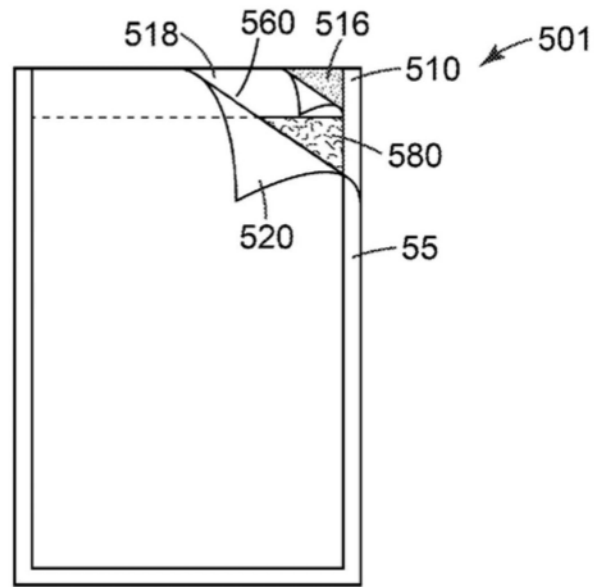


图9

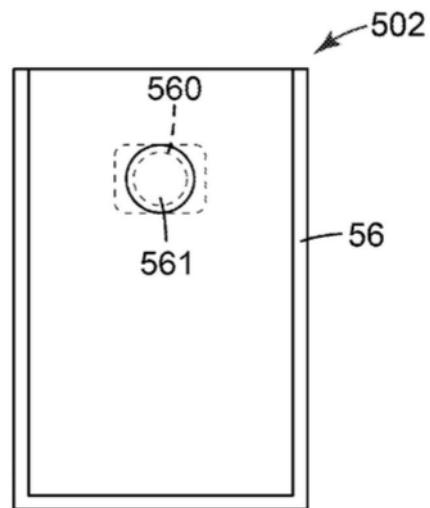


图10

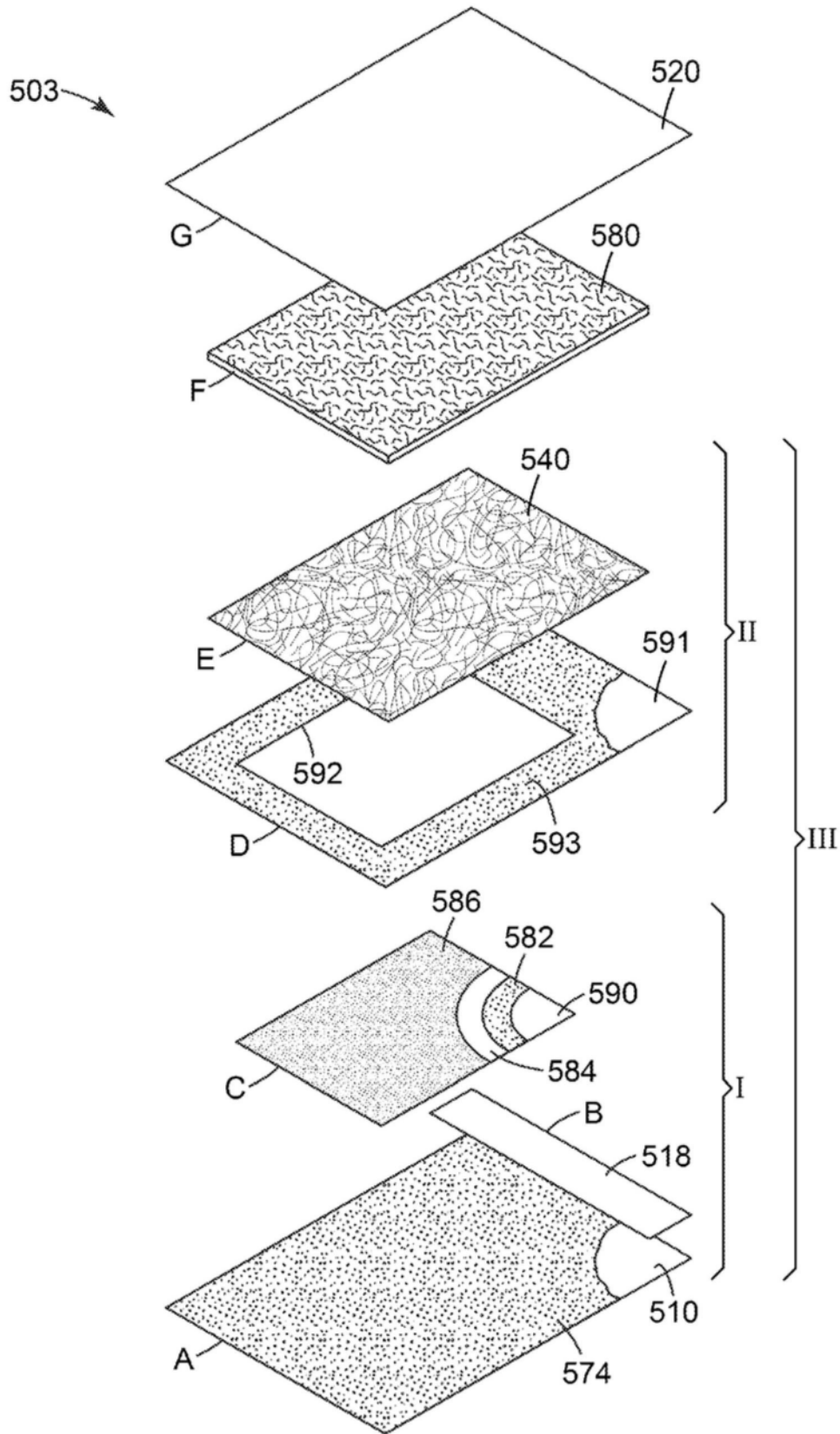


图11



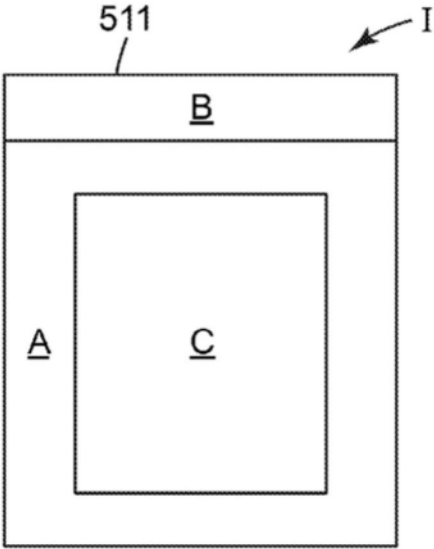


图12A

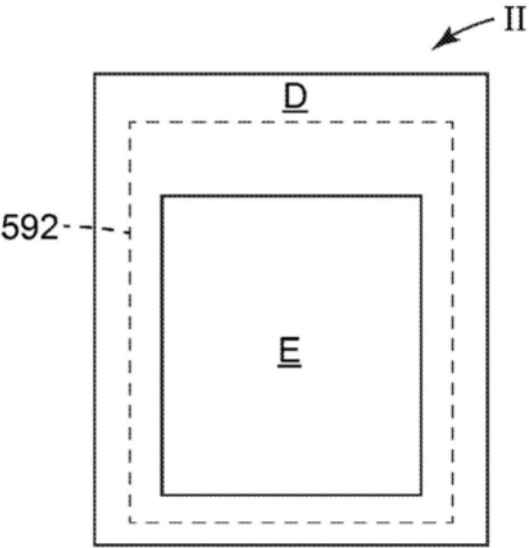


图12B

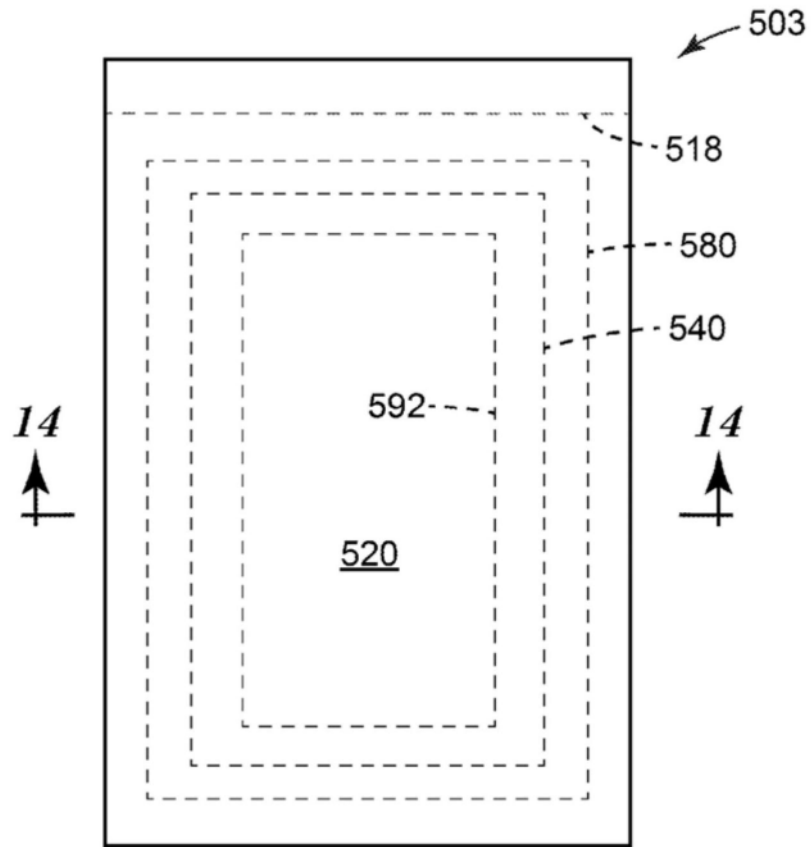


图13

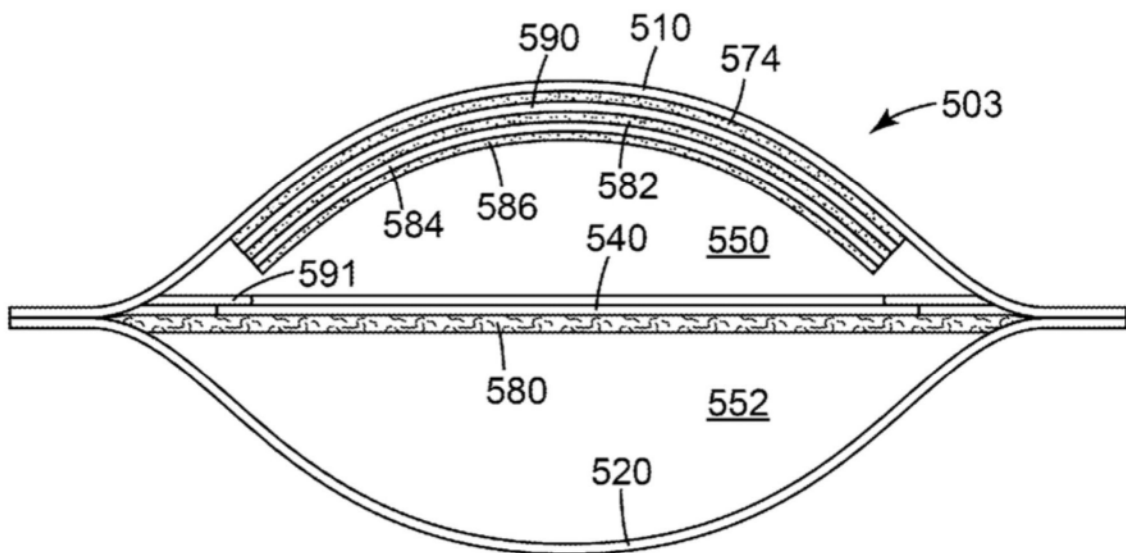


图14

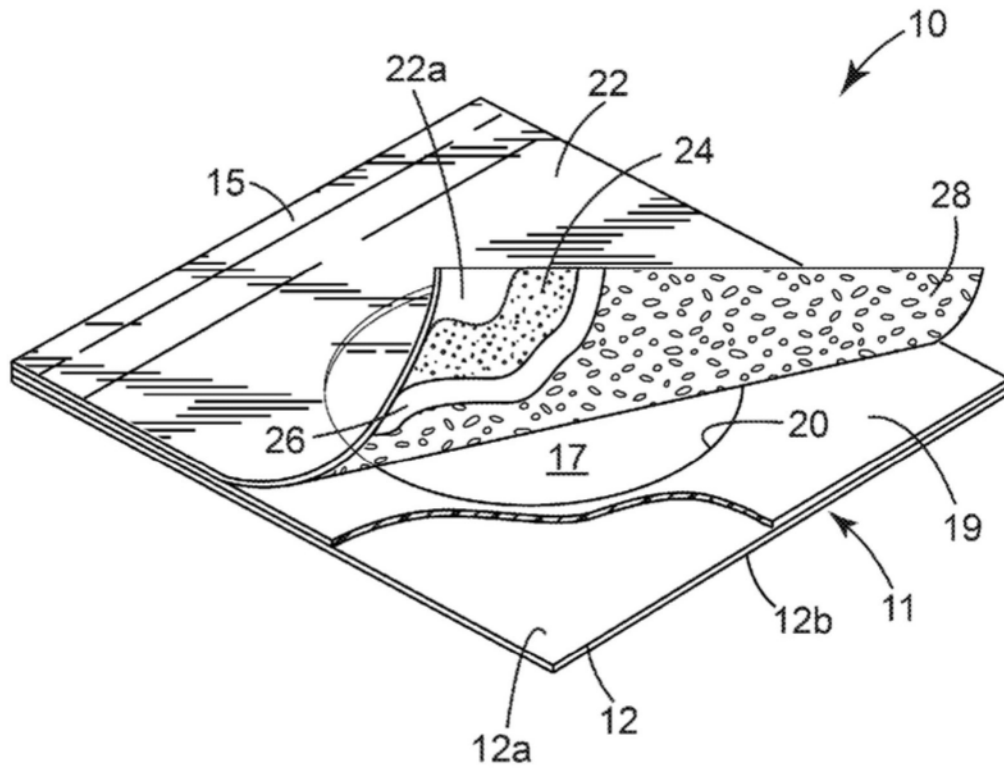


图15