



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 34 394 T2** 2007.04.12

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 981 641 B1**

(51) Int Cl.⁸: **C12Q 1/00** (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 34 394.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/09755**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 922 250.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1998/051816**

(86) PCT-Anmeldetag: **13.05.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **19.11.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **01.03.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **03.05.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **12.04.2007**

(30) Unionspriorität:
856104 14.05.1997 US

(74) Vertreter:
derzeit kein Vertreter bestellt

(73) Patentinhaber:
**Minnesota Mining and Manufacturing Co., St.
Paul, Minn., US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE, FR, GB, IT

(72) Erfinder:
BOLEA, A., Phillip, Saint Paul, MN 55133-3427, US

(54) Bezeichnung: **SYSTEM ZUR MESSUNG DER WIRKSAMKEIT EINES STERILISATIONSZYKLUS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

ALLGEMEINER STAND DER TECHNIK

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein System zum Bestimmen der Wirksamkeit eines Sterilisationszyklus. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung ein System zum Messen von Fluoreszenz von einem biologischen Sterilisationsindikator, um die Wirksamkeit des Sterilisationszyklus zu bestimmen.

[0002] Die Sterilisation der Ausrüstung und der Vorrichtungen ist in manchen Branchen von wesentlicher Bedeutung. Beispielsweise müssen Krankenhäuser und andere medizinische Einrichtungen Ausrüstung und Vorrichtungen, die zur Behandlung von Patienten verwendet werden, üblicherweise und häufig sterilisieren. Die jeweilige Art des Sterilisationszyklus, die verwendet wird, um solche Ausrüstung zu sterilisieren, kann, je nach der bestimmten Ausrüstung oder den Vorrichtungen, die sterilisiert werden, variieren und beruht auf der speziellen Vorliebe der Einheit, welche den Sterilisationszyklus durchführt. Alle derartigen Sterilisationszyklen oder Verfahren sind jedoch typischerweise konzipiert, um lebende Organismen abzutöten, die sonst die Ausrüstung oder Vorrichtungen, die sterilisiert werden, verunreinigen.

[0003] Verschiedene Sterilisationszyklen verwenden verschiedene Verfahren oder Techniken zur Sterilisation. Beispielsweise können solche Sterilisationszyklen die Verabreichung von Dampf, Trockenhitze, Chemikalien oder Strahlung an die Ausrüstung oder Vorrichtungen, die sterilisiert werden, beinhalten. Dampfsterilisation ist typischerweise wirksam, wenn die Ausrüstung, die sterilisiert wird, einem Dampf mit einer Temperatur in einem Bereich von 121-132°C ausgesetzt wird. Die Ausrüstung, die sterilisiert wird, wird der Dampfsterilisation vorzugsweise für etwa drei Minuten bei 132°C ausgesetzt, und reicht bis zu 30 Minuten bei 121°C. Eine Form der chemischen Sterilisation umfasst das Aussetzen der zu sterilisierenden Vorrichtungen gegenüber Ethylenoxidgas. Die Vorrichtungen, die sterilisiert werden, werden etwa eine Stunde bei 65°C bis etwa vier Stunden bei 30°C dem Ethylenoxidgas ausgesetzt. Trockenhitzesterilisation umfasst typischerweise das Aussetzen der Vorrichtungen, die sterilisiert werden, gegenüber Temperaturen im Bereich von etwa 180°C oder höher für mindestens zwei Stunden. In vielen Umgebungen ist die Wirksamkeit des Sterilisationszyklus von wesentlicher Bedeutung. Aus diesem Grund werden Sterilisationsindikatoren verwendet, um die Wirksamkeit des Sterilisationszyklus zu bestimmen. Früher haben Sterilisationsindikatoren eine Reihe von Formen angenommen. Beispielsweise sind biologische Indikatoren und chemische Indikatoren aus dem Stand der Technik gut bekannt. Bei herkömmlichen biologischen Indikatoren wird auf einem

Trägerstoff ein Testorganismus platziert, der gegenüber dem Sterilisationsprozess viel resistenter ist als die meisten Organismen, welche durch natürliche Verunreinigung vorhanden sein würden, und zusammen mit zu sterilisierenden Gegenständen in einen Sterilisator platziert. Der Sterilisationsindikator wird demnach demselben Sterilisationszyklus ausgesetzt wie die Vorrichtungen, die sterilisiert werden. Nach Abschluss des Sterilisationszyklus wird der Trägerstoff in einem Nährstoffmedium inkubiert um zu bestimmen, ob einer der Testorganismen das Sterilisationsverfahren überlebt hat. Bei den herkömmlichen biologischen Sterilisationsindikatoren dauert das Wachstum einer feststellbaren Anzahl von Organismen normalerweise mindestens etwa 24 Stunden.

[0004] Der biologische Sterilisationsindikator wird anschließend untersucht um zu bestimmen, ob ein solches Wachstum stattgefunden hat. Falls ja, zeigt ein solches Wachstum an, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam war und es kann davon ausgegangen werden, dass die Vorrichtungen, die dem Sterilisationszyklus ausgesetzt waren, nicht steril sind.

[0005] Kommerziell verfügbare chemische Indikatoren nutzen Chemikalien, die Sterilität durch Farbveränderungen oder Änderung eines festen zu einem flüssigen Zustand anzeigen. Ein Vorteil solcher chemischen Indikatoren ist, dass die Ergebnisse am Ende des Sterilisationszyklus bekannt sind. Die Ergebnisse zeigen jedoch beispielsweise nur an, dass während des Sterilisationszyklus eine bestimmte Zeit lang eine bestimmte Temperatur erreicht worden ist oder Ethylenoxidgas vorhanden war. Zweifellos zeigen chemische Indikatoren nicht zwingend an, ob Bedingungen erreicht worden sind, die zur Beseitigung der relevanten Organismen erforderlich sind. Die Industrie hat daher eine Vorliebe für biologische Indikatoren an den Tag gelegt, die lebende Organismen verwenden.

[0006] Eine andere Art von biologischem Indikator aus dem Stand der Technik ist beschrieben in Matner et al. (US-Patent 5,418,167). Matner et al. beschreiben die Verwendung von Enzymen, um die Zeit, die erforderlich ist, um die Wirksamkeit des Sterilisationszyklus zu bestimmen, drastisch zu verringern.

[0007] Kommerzielle Beispiele biologischer Indikatoren mit schnellen Antwortzeiten umfassen die 3M™ Attest™ Rapid Readout Biological Indicators, die von 3M in St. Paul, MN (USA) erhältlich sind. Die Attest Rapid Readout Biological Indicators enthalten ein flexibles Polypropylengefäß mit einem Sporenstreifen, der eine vitale Population von Sporen von *Bacillus Stearothermophilus* aufweist. Das Gefäß enthält außerdem ein Wachstumsmedium, bei dem es sich um modifizierte Tryptic-Soy-Brühe in einer zerdrückbaren Glasampulle handelt. Mit dem zur Verwendung mit einem Dampfsterilisationszyklus konzipierten At-

test Rapid Readout Indicator zeigt das Vorhandensein eines sporenassoziierten Enzyms Sporenwachstum in dem biologischen Indikator an. Das Vorhandensein des aktiven Enzyms wird mittels eines nicht-fluoreszierenden Substrates gemessen. Das nichtfluoreszierende Substrat wird von dem aktiven sporenassoziierten Enzym zu einem fluoreszierenden Produkt umgewandelt.

[0008] Ist der Sterilisationszyklus nicht wirksam, bleiben sowohl die Spore als auch das Enzym aktiv. Das Enzym wandelt das Substrat in das fluoreszierende Produkt um. Daher wird nach einem Inkubationszeitraum die Fluoreszenz in dem Gefäß festgestellt, um die Wirksamkeit des Sterilisationszyklus zu bestimmen.

[0009] Obgleich die 3M™ Attest™ Rapid Readout Biological Indicators den Stand der Technik wesentlich weiterentwickelt haben, sind Verbesserungen möglich. Um Sporenwachstumsaktivität mittels Fluoreszenz festzustellen, werden die Rapid Readout Biological Indicators für Dampfsterilisationszyklen typischerweise eine Stunde lang inkubiert. Nach der Inkubationszeit wird das Gefäß in einen Messapparat platziert und die Fluoreszenz in dem Gefäß gemessen. Die Inkubationszeit, die erforderlich ist, um in einem solchen Messapparat aus dem Stand der Technik eine genaue Messung zu erhalten, könnte verkürzt werden.

[0010] Der mit den 3M™ Attest™ Rapid Readout Biological Indicators verbundene Messapparat aus dem Stand der Technik sollte nach Ablauf eines vorbestimmten Zeitraums (beispielsweise nach 12 Stunden Betrieb) oder immer dann, wenn die Stromzufuhr zu der Einheit unterbrochen wird, kalibriert werden. Der Kalibrierungsvorgang weist mehrere Bedienschritte auf. Darüber hinaus wird die Kalibrierung anhand eines biologischen Indikators durchgeführt, der dem Sterilisationszyklus unterzogen wurde und der als steril gilt. Die Kalibrierung wird wohl im Wesentlichen gegen einen unbekanntes Wert durchgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0011] Die vorliegende Erfindung ergibt sich teilweise aus der Erkenntnis, dass das Verfahren der Messung des biologischen Indikators in den Messgeräten aus dem Stand der Technik nicht so wirksam ist, wie sie sein sollte. Die verschiedenen Bestandteile des biologischen Indikators (wie beispielsweise das Gefäß, der Sporenstreifen, der Deckel und die Verpackung) zeigen alle Autofluoreszenzverhalten, was mit der in dem Gefäß mit dem biologischen Indikator enthaltenen Sporenwachstumsaktivität nichts zu tun hat. Dieses Autofluoreszenzverhalten wirkt daher wie eine Fluoreszenzbasiswert- oder eine Fluoreszenzschwellenwertmessung während der Fluoreszenzbestimmung.

[0012] In Systemen aus dem Stand der Technik ging man davon aus, dass jeder biologische Indikator das schlimmstmögliche Autofluoreszenzverhalten in Verbindung mit der jeweiligen Art von biologischem Indikator aufweist. Die Fluoreszenz des biologischen Indikators wurde gemessen, und es wurde bestimmt, ob diese Fluoreszenz die Basislinie, also die im schlimmsten Fall vorhandene Autofluoreszenz, übertraf. Die Sporenwachstumsaktivität musste daher ein solches Maß erreichen, dass die von dem Sporenwachstum erzeugte Fluoreszenz das im schlimmsten Fall vorhandene Autofluoreszenzverhalten, welches das Gefäß mit dem biologischen Indikator aufweisen könnte, übertraf. Dies verlängerte die Zeit in Verbindung mit einer Bestimmung der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus.

[0013] Bei der vorliegenden Erfindung wird für jeden biologischen Indikator vor der Inkubation ein Fluoreszenzbasiswert gemessen, indem mehrere vorläufige Fluoreszenzmesswerte gemessen werden, indem bestimmt wird, ob die Fluoreszenzmesswerte im Wesentlichen Minima auf der Basis der vorläufigen Fluoreszenzmesswerte erreicht haben, und indem der Schritt des Erhaltens des Basiswertes durchgeführt wird, wenn die Fluoreszenzmesswerte die Minima erreicht haben. Dieser Fluoreszenzmesswert wird als Fluoreszenzbasis- oder -schwellenwert für den jeweiligen biologischen Indikator verwendet. Nach einem kurzen Inkubationszeitraum wird daher ein weiterer Fluoreszenzmesswert gemessen, und es wird bestimmt, ob sich die Fluoreszenz in dem biologischen Indikator um einen statistisch signifikanten Wert gegenüber der bei dem ersten Fluoreszenzmesswert vorhandenen verändert hat. Auf der Basis der Messwerte wird die Wirksamkeit der Sterilisationszyklus bestimmt. Die Zeit bis zu einem nicht-wirksamen Messwert ist eine Funktion der Anzahl an vitalen Organismen in dem biologischen Indikator. Diese kann lediglich zehn Minuten betragen. Die Zeit bis zu einer wirksamen Indikation ist eine Funktion der Art des Tests und wird vorzugsweise empirisch festgelegt.

[0014] In einer bevorzugten Ausführungsform wird bestimmt, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam war, sobald festgestellt wird, dass sich die Fluoreszenz in dem biologischen Indikator um einen statistisch signifikanten Wert gegenüber der Basismessung, die mit dem biologischen Indikator durchgeführt wurde, verändert hat.

KURZBESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0015] [Fig. 1A](#) ist ein Blockdiagramm eines Messsystems mit einem biologischen Indikator in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung.

[0016] [Fig. 1B](#) ist eine auseinander gezogene Ansicht eines Abschnittes eines Messsystems mit ei-

nem biologischen Indikator in Übereinstimmung mit einem Aspekt der vorliegenden Erfindung.

[0017] **Fig. 1C** ist ein ausführlicheres Blockdiagramm eines Abschnittes des in **Fig. 1A** gezeigten Messsystems in teilweise schematischer Form.

[0018] **Fig. 2A–Fig. 2D** veranschaulicht den Betrieb eines biologischen Indikatorsystems in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung,

[0019] **Fig. 3** veranschaulicht eine Familie von Kurven, welche für mehrere verschiedene biologische Indikatoren die gegen die Zeit aufgetragene, relative Fluoreszenzintensität darstellen.

[0020] **Fig. 4** ist ein Blockdiagramm mehrere biologischer Indikatoren, die vorzugsweise in Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung aneinander gekoppelt sind.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0021] **Fig. 1A** ist ein Blockdiagramm eines biologischen Indikatormesssystems **10** (System **10**) in Übereinstimmung mit einem Aspekt der vorliegenden Erfindung. Das System **10** umfasst ein elektro-optisches Anregungsmodul **12**, ein elektro-optisches Wahrnehmungsmodul **14**, ein Referenzmodul **15**, Steuerelektronik **16**, Bedieneroberfläche **18**, ein wahlweiser Bildschirm **20**, eine Heizer-Servoeinrichtung **22**, einem Detektor zum Feststellen einer leeren Kammer **23** und einen Inkubator und eine optische Integrationskavität **24** (Inkubator **24**), welche ein Inkubatormodul **25** und eine darin gebildete optische Integrationskavität **36** umfasst. System **10** veranschaulicht auch einen biologischen Sterilisationsindikator **26** (BI **26**) mit einem Antitrotationsmerkmal auf seinem Deckel **28**, der sich in dem Inkubator **24** befindet.

[0022] In der bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei BI **26** um einen biologischen Sterilisationsindikator, der von der Minnesota Mining and Manufacturing Company in St. Paul, Minnesota, USA, unter dem Handelsnamen 3M Attest, Modell 1291 oder 1292, kommerziell erhältlich ist. BI **26** umfasst Deckel **28**, Gefäß **30** und verschiedene Inhalte (nicht gezeigt). BI **26** weist das Vorhandensein eines vitalen Mikroorganismus (wie z. B. Sporen) durch Produktion von Fluoreszenz im Inneren von Gefäß **30** nach Inkubation in Inkubator **24** nach. Dies wird vorzugsweise durch Nutzung eines nichtfluoreszierenden Substrates (wie beispielsweise 4-Methylumbelliferyl-alpha-D-glucosid) in Gefäß **30** und Umwandlung dieses nicht-fluoreszierenden Substrates zu einem fluoreszierenden Produktes durch sporensassoziierte Enzymaktivität erreicht. Das sporensassoziierte Enzym ist vorzugsweise Alpha-D-Glucosidase, bei der

es sich um eines der an dem Wachstum der Sporen in Gefäß **30** beteiligten Enzyme handelt.

[0023] Zur Messung eines Fluoreszenzmesswertes von BI **26** werden die fluoreszierenden Substanzen in Gefäß **30** und das Referenzmodul **15** durch das elektro-optische Anregungsmodul **12** optisch angeregt. Das elektro-optische Anregungsmodul **12** umfasst vorzugsweise einen Blitzmechanismus **32** und einen Filter **34**. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Blitzmechanismus **32** eine Blitzröhre, die einen Breitband-Lichtimpuls (beispielsweise einen Lichtimpuls von etwa 100 µs) ausstrahlt, welcher reich an Wellenlängen im nahen ultravioletten Bereich ist. Filter **34** ist vorzugsweise ein resorptiver Farbglassfilter, der geringe Autofluoreszenz abgibt und für bestimmte Wellenlängen durchgängig ist. Ein geeigneter Filter ist ein Schott bg 39, ug 11-Filter, der von Schott Glass Technologies, Inc. of Duryea, PA, USA, erhältlich ist.

[0024] Das Licht wird durch Filter **34** geleitet und trifft auf Gefäß **30** und Referenzmodul **15**. Das Referenzmodul **15** umfasst vorzugsweise den Filter **35** und den optischen Referenzsensor **37**. Der Filter **35** ist vorzugsweise ein Filter bzw. ein Filtersatz, der ausgewählt ist, um die Anregungsenergie, welche durch Filter **34** gelangt, passieren zu lassen. Filter **35** leitet diese Energie zum optischen Referenzsensor **37** weiter. Ein geeigneter Filter ist ein Schott bg 39, ug 11 Filter, der von Schott Glass Technologies, Inc. aus Duryea, PA, USA, erhältlich ist.

[0025] Der optische Referenzsensor **37** nimmt die Energie wahr, die durch Filter **35** gelangt, und liefert ein Referenzsignal an die Steuerelektronik **16**, welche die Energie anzeigt, die durch den Filter **35** gelangt. Das von dem Referenzsensor **37** an die Steuerelektronik **16** gelieferte Referenzsignal zeigt daher die Intensität des von dem Blitzmechanismus **32** abgegebenen Blitzes an.

[0026] Das Licht, das durch Filter **34** gelangt und auf Gefäß **30** auftrifft, regt das Fluoreszenzmaterial in Gefäß **30** an. Die von Gefäß **30** abgestrahlte Fluoreszenz wird vorzugsweise von einer Integrationskavität **36** aufgefangen, bei der es sich vorzugsweise um eine geometrische reflektive Kavität (beispielsweise mit einer Parabol- oder Kugelform) handelt, die um Gefäß **30** herum angeordnet ist, um die von Gefäß **30** abgestrahlte Energie aufzufangen (oder zu integrieren) und diese Fluoreszenz zu dem elektro-optischen Wahrnehmungsmodul **14** zu leiten.

[0027] Das elektro-optische Wahrnehmungsmodul **14** umfasst Filter **38** und einen optischen Sensor **40**.

[0028] Bei Filter **38** handelt es sich vorzugsweise um einen Filter oder um einen Filtersatz, der gewählt ist, um die Oberflächenreflexion von der Oberfläche

von Gefäß **30** zurückzuwerfen, wenn der Blitz auf die Oberfläche von Gefäß **30** auftrifft. Ein geeigneter Filter blockiert Licht im Bereich von einer Wellenlänge von etwa 350 nm und lässt Licht im Bereich von etwa 450 nm durch. Es kann jeder geeignete Filter verwendet werden, der dazu neigt, die Wechselwirkung zwischen der Anregungsenergie des Blitzmechanismus **32** und der Emissionsenergie des Gefäßes **30** zu verringern. Dieser Filter wirkt, um die Emissionswellenlängen durchzulassen, welche Fluoreszenz in Gefäß **30** anzeigen. Ein geeigneter als Filter **38** verwendeter Filter wird von Schott Glass Technologies, Inc. als Schott bg 39, kv 408-Filter bereitgestellt. Die Ausgabe von Filter **38** wird an den optischen Sensor **40** geliefert, bei dem es sich vorzugsweise um eine blauverstärkte Photodiode handelt, welche die Empfindlichkeit der Photodiode im Wellenlängenbereich von 400-450 nm verstärkt. Ein geeigneter optischer Sensor **40** wird von der Burr Brown Corporation in Tucson, Arizona, USA, unter dem Handelsnamen OPT **301** bereitgestellt.

[0029] Die Ausgabe des optischen Sensors **40** wird an die Steuerelektronik **16** geleitet. In der bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei der Steuerelektronik **16** um eine mikroprozessorbasierte Steuereinheit, die einen damit verbundenen Speicher- und Zeitgeberschaltkreis und Verstärker und andere geeignete Konditionierungsschaltkreise umfasst, um die Ausgabe der optischen Sensoren **37** und **40** zu empfangen und diese als konditioniertes Signal weiterzugeben, welche die Intensität des Blitzmechanismus **32** bzw. der Fluoreszenzaktivität in dem Gefäß **30** anzeigen. Die Steuerelektronik **16** umfasst vorzugsweise außerdem eine Verbindung zu einer geeigneten Bedieneroberfläche **18**. In der bevorzugten Ausführungsform umfasst die Bedieneroberfläche **18** eine Bildröhre und eine Tastatur oder die Eingabe über ein Membrantastefeld, die Eingabe über einen Berührungsbildschirm oder jede andere geeignete Bedieneroberflächenvorrichtung. Die Steuerelektronik **16** kann mit einem wahlweisen Bildschirm **20** verbunden sein, bei dem es sich um handelsübliches Oszilloskop handelt, das verwendet wird, um eine Anzeige bereitzustellen, welche das von dem optischen Sensor **40** empfangene Signal darstellt. Schließlich ist die Steuerelektronik **16** vorzugsweise auch mit der Heizer-Servoeinrichtung **22** und dem Detektor zum Feststellen einer leeren Kammer **23** gekoppelt.

[0030] Bei der Heizer-Servoeinrichtung **22** handelt es sich vorzugsweise um eine programmierbare oder anderweitig geeignete Heizvorrichtung, welche den Inkubator **24** mit Wärme versorgt, welche verwendet wird, um die Sporen und das Wachstumsmedium im BI **26** zu inkubieren. Die von der Heizer-Servoeinrichtung **22** bereit gestellte Wärmemenge hängt von der jeweiligen biologischen Zusammensetzung der Substanzen in BI **26** ab, wie sie aus dem Stand der Tech-

nik bekannt ist. Es können auch mehrere Heizzonen mit funktionellen Sollwerten verwendet werden, welche auf der Basis spezifischer, anwenderdefinierter BI-Modellen bestimmt werden.

[0031] Der Detektor zum Feststellen einer leeren Kammer **23** stellt fest, ob sich in dem Inkubator **24** ein BI **26** befindet.

[0032] Der Detektor **23** ist unten unter Bezugnahme auf [Fig. 1C](#) ausführlicher erläutert.

[0033] Die Elemente, welche BI **26** umfassen, zeigen Autofluoreszenzverhalten, wenn sie von dem elektrooptischen Anregungsmodul **12** angeregt werden. Beispielsweise fand man heraus, dass manche biologischen Indikatoren Autofluoreszenzverhalten aufweisen, welches einen Fluoreszenzmesswert liefert, der rund fünfmal höher ist als ein Messwert von einer leeren Messkavität. Wenn darüber hinaus das Wachstumsmedium in Gefäß **30** auf den Sporenstreifen aufgetragen wird (d. h. wenn BI **26** benässt ist), erhöht sich das Autofluoreszenzverhalten von BI **26** um weitere 20%. Dieses Autofluoreszenzverhalten wirkt als Basis- oder Schwellenmesswert für jeden biologischen Indikator. In Systemen aus dem Stand der Technik würde daher die Messvorrichtung erfordern, dass die Sporenwachstumsaktivität in dem biologischen Indikator Fluoreszenz verursacht, welche einen im schlimmsten Fall für einen mit dieser Messvorrichtung verwendbaren biologischen Indikator erwarteten Schwellenwert übersteigt.

[0034] In Übereinstimmung mit einem Aspekt der vorliegenden Erfindung wird kurz nachdem das Wachstumsmedium auf den Sporenstreifen in BI **26** aufgebracht wurde, aber vor jeder signifikanten Inkubation, ein Fluoreszenzmesswert gemessen und mit diesem spezifischen BI **26** korreliert. Anschließend (wie später in der Beschreibung ausführlicher beschrieben ist) wird nach einiger Inkubationszeit ein weiterer Fluoreszenzmesswert von diesem bestimmten BI **26** gemessen und mit dem ersten Messwert bzw. dem Basismesswert für diesen bestimmten BI **26** verglichen. Die Steuerelektronik **16** bestimmt daraufhin, ob der zweite Fluoreszenzmesswert den ersten Fluoreszenzmesswert um eine statistisch signifikante Menge übersteigt. Ist dies der Fall, stellt die Steuerelektronik **16** eine Ausgabe an die Bedieneroberfläche **18** bereit, die anzeigt, dass in BI **26** Sporenwachstumsaktivität vorhanden ist und deshalb der Sterilisationszyklus, den BI **26** durchlaufen hat, nicht wirksam war.

[0035] Bei der Durchführung dieses Verfahrens gibt es eine Reihe von verschiedenen Möglichkeiten zur Messung des Fluoreszenzmesswertes von BI **26**. [Fig. 1A](#) veranschaulicht eine bevorzugte Ausführungsform, bei der Inkubator **24** eine optische Sammel- oder Integrationskavität **36** aufweist. Diese Art

von Kavität umfasst einen Reflektor, der um Gefäß 30 herum angeordnet ist und der wirkt, um Licht aus der gesamten äußeren Umgebung von Gefäß 30 zu sammeln bzw. zu integrieren und dieses Licht zum elektro-optischen Wahrnehmungsmodul 14 zu leiten. Eine andere Möglichkeit zur Messung eines Fluoreszenzmesswertes von Gefäß 30 ist dagegen, den optischen Sensor 40 auf nur einen kleineren Abschnitt von Gefäß 30 zu richten. In diesem Fall wird Fluoreszenzaktivität von lediglich einem Abschnitt von Gefäß 30 wahrgenommen und nicht von der gesamten äußeren Umgebung von Gefäß 30. Wenn diese Art von Fluoreszenzmesstechnik verwendet wird, ist es wichtig, dass der BI 26 (wenn er zu einem Zeitpunkt während des Vorgangs aus dem Inkubator 24 genommen wird) für die zweite Fluoreszenzmessung in derselben Winkelausrichtung relativ zu dem elektro-optischen Wahrnehmungsmodul 14 ersetzt wird, wie er bei der Fluoreszenzbasismessung war. In Übereinstimmung mit einem Aspekt der vorliegenden Erfindung weist daher BI 26 ein Tastungsmerkmal auf, welches erfordert, dass er jedes Mal dieselbe Winkelausrichtung relativ zu dem elektro-optischen Wahrnehmungsmodul 14 annimmt. Dies ist in [Fig. 1B](#) veranschaulicht.

[0036] [Fig. 1B](#) veranschaulicht eine auseinandergezogene Ansicht von Inkubator 24. [Fig. 1B](#) veranschaulicht, dass ein Schlüsselblock 42 von einer oberen Fläche von Inkubator 24 verläuft. Schlüsselblock 42 weist eine darin definierte Deckelaufnahmeöffnung 44 auf. Die Öffnung 44 weist einen im Allgemeinen runden Abschnitt 46 und einen Schlüsselkanal 48 auf. Die Öffnung 44 ist etwas größer als ein äußerer Umfang von Deckel 28 in BI 26. Deckel 28 hat einen äußeren Umfang, der ebenfalls aus einem im Allgemeinen runden Abschnitt 50 und einem Schlüsselabschnitt oder einem Vorsprung 52 gebildet ist. Durch Bereitstellen dieser Anordnung kann Deckel 28 in den Block 42 nur durch Winkelausrichtung von Schlüssel 52 zu dem Schlüsselkanal 48 eingeführt werden. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Bodenabschnitt von Deckel 28 oder Schlüssel 52 so abgeschrägt, dass er in den Schlüsselkanal 48 passt. Dies trägt dazu bei sicherzustellen, dass Gefäß 30 jedes Mal in derselben Winkelausrichtung in den Inkubator 24 eingeführt und dort gehalten wird. Dies erhöht die Einheitlichkeit der von BI 26 gemessenen Fluoreszenzmesswerte, insbesondere, wenn keine Integrationskavität 36 verwendet wird.

[0037] [Fig. 1C](#) ist ein ausführlicheres Blockdiagramm eines Abschnittes von System 10, das in [Fig. 1A](#) gezeigt ist. [Fig. 1C](#) veranschaulicht einen Abschnitt des optischen Referenzsensors 37, des optischen Sensors 40 und der Steuerelektronik 16 in mehr Einzelheiten. Der optische Referenzsensor 37 umfasst Photodiode D1, Schalter S1 und S2, Kondensator C1 und Verstärker A1. Der optische Sensor 40 umfasst Diode D2, Schalter S3 und S4, Kondensator C2 und Verstärker A2. Die Steuerelektronik 16 umfasst einen Analog-zu-Digital (A/D)-Wandler, eine Zustandsmaschine 21 und einen Regler 23.

[0038] Die Photodiode D1 in dem optischen Referenzsensor 37 ist angeordnet, um die von dem Filter 34 abgegebene Anregungsenergie des Blitzmechanismus 32 wahrzunehmen. Photodiode D1 ist daher vorzugsweise angeordnet, um Licht direkt von Filter 34 oder Anregungslicht zu empfangen, das von Gefäß 30 und der Integrationskavität 36 reflektiert wird. In jedem Fall ist Photodiode D1 derart neben einem geeigneten Filter 35 platziert, dass nur Energie in einem Bereich in der Nähe der Wellenlänge der von dem Blitzmechanismus 32 bereit gestellten Anregungsenergie durchgeleitet wird.

[0039] Photodiode D2 wiederum ist relativ zu der Integrationskavität 36 und dem Gefäß 30 angeordnet, um Emissionsenergie festzustellen, die von der Kavität 36 und dem Gefäß 30 basierend auf dem Fluoreszenzverhalten von BI 26 abgegeben werden. Daher ist ein geeigneter Filter 38 bereit gestellt, um nur die Wellenlängen durchzulassen, die in einem Bereich liegen, welcher der Fluoreszenz von Gefäß 30 entspricht.

[0040] Durch Bereitstellen eines optischen Referenzsensors 37 und eines optischen Sensors 40 wird eine Reihe von Dingen erreicht. Erstens ist der Lichtimpuls, der von dem Blitzmechanismus 32 bereitgestellt wird, nicht von Blitz zu Blitz konstant. In anderen Worten bedeutet dies, dass die Lichtabgabe des Blitzmechanismus 32 bis zu einem gewissen Grad von der Temperatur des Plasmabogens in der Lampe abhängt. Blitze können daher in Bezug auf ihren spektralen Gehalt von Blitz zu Blitz eine gewisse Variation aufweisen. Wenn ein erster Blitz auf Gefäß 30 gerichtet wird, kann die Fluoreszenzaktivität ein gewisses Maß aufweisen, während das Fluoreszenzverhalten der Substanz in Gefäß 30 unterschiedlich sein kann, wenn ein zweiter Blitz (der intensiver als der erste Blitz ist) auf dasselbe Gefäß 30 gerichtet wird. Durch Bereitstellen eines optischen Referenzsensors 37 kann das Signal, welches die von Gefäß 30 abgegebene Fluoreszenzenergie darstellt, mithilfe des spezifischen Referenzsignals von dem optischen Referenzsensor 37, welches die Intensität des jeweiligen Blitzes von dem Blitzmechanismus 32 anzeigt, normalisiert werden. Die variierenden Effekte unterschiedlicher Blitzintensitäten sind in weiteren Bearbeitungsschritten daher im Wesentlichen beseitigt.

[0041] Darüber hinaus können die Intensitäten der Blitze des Blitzmechanismus 32 auch dazu neigen, mit der Zeit schwächer zu werden, und der Blitzmechanismus 32 wird schließlich unbrauchbar. Durch Bereitstellen eines optischen Referenzsensors 37, der konfiguriert ist, um die Intensität des Blitzes von dem Blitzmechanismus 32 wahrzunehmen, lässt sich

das System **10** konfigurieren, um den Bediener darauf aufmerksam zu machen, wenn der Blitzmechanismus **32** nicht länger ausreichend arbeitet.

[0042] Der optische Referenzsensor **37** ist auch von Vorteil, wenn er in Verbindung mit dem Detektor zum Feststellen der leeren Kammer **23** verwendet wird. Der Detektor zum Feststellen der leeren Kammer **23** ist konfiguriert, um festzustellen, ob sich in der Integrationskavität **36** ein BI **26** befindet. Der Detektor zum Feststellen der leeren Kammer **23** kann eine Reihe geeigneter Formen annehmen, beispielsweise die eines optischen Detektors, der eine Lichtabgabevorrichtung auf einer Seite der Kammer umfasst, die BI **26** aufnimmt, und einen optischen Detektor auf der anderen Seite. Befindet sich in der Kammer ein BI, liefert das von dem optischen Detektor bereitgestellte optische Signal eine geeignete Anzeige. Der Detektor zum Feststellen der leeren Kammer **23** kann auch als ein einfacher mechanischer Schalter oder als ein Indikator von Typ eines mechanischen Relais ausgeführt sein, der seinen Zustand ändert, je nachdem, ob sich in der Kammer ein BI **26** befindet. Auf diese Weise kann die Steuerelektronik **16** feststellen, ob die Integrationskavität **36** schmutzig ist oder gereinigt werden muss oder eine andere Maßnahme erfordert. Befindet sich beispielsweise in der Integrationskavität **36** kein BI **26**, erwartet die Steuerelektronik **16**, eine Art von Autofluoreszenzverhalten als Antwort auf einen Blitz von dem Blitzmechanismus **32** zu sehen. Wenn außerdem ein optischer Referenzsensor **37** angeordnet ist, um Anregungsenergie zu empfangen, die von der Integrationskavität **36** reflektiert wird (und nicht direkt vom Filter **34**), kann die Steuerelektronik **16** die erwarteten Ergebnisse eines Blitzes mit den tatsächlichen Ergebnissen eines Blitzes vergleichen um zu bestimmen, ob sich in der Integrationskavität **36** ein Fremdgegenstand befindet, ob die Wände der Integrationskavität **36** mit Schmutz beschichtet sind oder aus anderen Gründen gereinigt werden müssen oder ob die Integrationskavität **36** eine anderen Art von Maßnahme erfordert.

[0043] Während des Betriebs wird zunächst der in [Fig. 1C](#) dargestellte Schaltkreis initialisiert. Nach Empfang eines Startsignals vom Regler **23** liefert die Zustandsmaschine **21** Signale an Schalter S1-S4, um Schalter S1 und S3 zu öffnen und Schalter S2 und S4 zu schließen. Dies zwingt die Ladung der Kondensatoren C1 und C2 auf eine Nullebene, sowohl in Sensor **37** als auch in Sensor **40**. Daraufhin werden die Schalter S2 und S4 geöffnet, und die Schalter S1 und S3 werden geschlossen. In diesem Zustand warten Sensor **37** und **40** auf einen Blitz.

[0044] Die Zustandsmaschine **21** liefert daraufhin ein Blitzausgabesignal an den Blitzmechanismus **32**, das bewirkt, dass der Blitzmechanismus **32** einen Blitz abgibt. Der Lichtimpuls kann vorzugsweise 50-100 Mikrosekunden breit sein. Die Photodiode

D1, wie gefiltert von dem Filter **35**, reagiert auf die vom Blitzmechanismus **32** abgegebene Anregungsenergie. Die Photodiode D2, wie gefiltert von dem Filter **38**, reagiert auf die aufgrund von Fluoreszenz in Gefäß **30** abgegebene Emissionsenergie. In beiden Dioden D1 und D2 wird ein Lichtstrom induziert, der beginnt, in die Diode zu strömen, indem Photonen auf die Photodiode auftreffen. Der Strom bewirkt, dass sich in den Kondensatoren C1 und C2 eine Ladung entwickelt, und bewirkt, dass die Verstärker A1 und A2 insofern positiv reagieren, als sich die Ausgabe der Verstärker von einer Ebene von etwa null Volt auf eine Ebene von etwa fünf Volt bewegt. Insbesondere ist die Übertragungsfunktion der Sensoren **37** und **40** wie folgt:

$$V_{Aus} = -\frac{1}{Kap} \int I_{int}(t) dt$$

wobei V_{Aus} = Die Ausgabespannung ist, die an der Ausgabe der Verstärker in Sensor **37** und **40** bereitgestellt wird;

Kap = Die Kapazität der Kondensatoren C1 bzw. C2, und

$I_{int}(t)$ = Der in den Dioden D1 und D2 von den auf die Photodioden auftreffenden Photonen induzierte Lichtstrom ist.

[0045] Als Nächstes liefert die Zustandsmaschine **21** das Umwandlungssignal (KONV) an den A/D-Wandler **19**. Der A/D-Wandler **19** ist vorzugsweise ein beliebiger geeigneter und handelsüblicher 12-Bit-Analog-zu-Digital-Wandler, der eine Ausgabe in einem seriellen Datenstrom liefert. Es kann aber auch jeder geeignete A/D-Wandler verwendet werden, der eine geeignete Konfiguration aufweist. Als Antwort auf den Empfang des KONV-Signals von der Zustandsmaschine **21** liefert der A/D-Wandler **19** digitale Daten, welche die Werte der von den Sensoren **37** und **40** in der DATENEINGANG-Leitung zu dem Regler **23** gelieferten Spannungen anzeigen.

[0046] Erwähnenswert ist darüber hinaus, dass der Regler **23** in einer DATENAUSGANG-Leitung Daten an die Zustandsmaschine **21** und den A/D-Wandler liefert, um diese Abschnitte des Schaltkreises zu konfigurieren. An den A/D-Wandler **19**, die Zustandsmaschine **21** und den Regler **23** wird von einem Bus-Master (nicht gezeigt) außerdem ein Taktsignal geliefert, welches für Synchronisation und Taktgebung in dem Schaltkreis sorgt.

[0047] Nach dem Empfangen des digitalisierten Signals von dem A/D-Wandler **19** liefert der Regler **23** ein Ausgabesignal, das die Fluoreszenz in Gefäß **30** anzeigt, wobei die Intensität des von dem Blitzmechanismus **32** abgegebenen Blitzes berücksichtigt wird, der die Fluoreszenz bewirkt hat. Bei dieser Berechnung berücksichtigt der Regler **23** in der bevorzugten Ausführungsform die kinetische Reihe, die mit

einem bestimmten analysierten BI **26** assoziiert ist. Bei einer kinetischen Reihe, wie ausführlicher unter Bezugnahme auf [Fig. 3](#) beschrieben ist, handelt es sich vorzugsweise um eine empirisch erzeugte Kurve bzw. eine Reihe von Kurven, welche für BI mit verschiedenen Mengen an vitalen Organismen nach der Sterilisation die relative Fluoreszenzintensität für das jeweilige Modell des BI gegen die Zeit in Minuten grafisch darstellen.

[0048] Bei der Bereitstellung des Ausgabesignals normalisiert der Regler **23** zunächst die Emissionsdaten, die vom optischen Sensor **40** festgestellt werden. Dazu werden die Messwerte des optischen Sensors **40** genommen und der Mindestwert der kinetischen Reihe in Verbindung mit dem jeweiligen BI subtrahiert. Dieser Wert wird anschließend durch den Umfang der kinetischen Reihe dividiert und mit 100 multipliziert. Der Regler **23** erfasst daher jeden Messwert als einen Prozentanteil der Vollausschlagamplitude der mit dem jeweiligen BI assoziierten kinetischen Reihe. Dadurch werden inkompatible Einheiten in der Bestimmung beseitigt. Der Regler **23** nimmt dann die resultierenden normalisierten Daten her und korrigiert sie hinsichtlich Variationen in dem von dem Blitzmechanismus **32** abgegebenen Blitz. Dazu werden die korrigierten Emissionsdaten durch die normalisierten unkorrigierten Emissionsdaten (die wie oben angegeben erhalten werden), dividiert durch die normalisierten Anregungsreferenzdaten, die von dem optischen Referenzsensor **37** bereitgestellt werden, dargestellt. Das Ergebnis ist ein normalisiertes, hinsichtlich Blitzvariationen angeschlossenes Ausgabesignal.

[0049] [Fig. 2A–Fig. 2D](#) veranschaulichen den Betrieb von System **10** in Übereinstimmung mit einem Aspekt der vorliegenden Erfindung. Der BI **26** wird zusammen mit den anderen zu sterilisierenden Vorrichtungen oder Ausrüstungen in einen Sterilisator gegeben. Dies ist durch Block **54** angezeigt. Anschließend wird der Sterilisationszyklus durchgeführt. Der Sterilisationszyklus kann typischerweise Dampfsterilisation, Trockenhitzeesterilisation oder chemische Sterilisation (z. B. auf der Basis von Ethylenoxid, Peressigsäure oder Wasserstoffperoxid), Plasma- oder Bestrahlungssterilisationstechniken oder Kombinationen davon umfassen. Verschiedene Zeitrahmen, Temperaturschemata und Sterilisationszyklen erfordern, wie bekannt ist, die Verwendung verschiedener Arten von BI. In jedem Fall wird der BI **26** dem Sterilisationszyklus unterzogen. Dies ist durch Block **S6** angezeigt.

[0050] Als Nächstes gibt der Bediener die in dem System jeweils verwendete Art von BI **26** in das System **10** ein (vorzugsweise über die Bedieneroberfläche **18**). Dies ist durch Block **57** angezeigt und dient zu einer Reihe von Zwecken. Zunächst zeigt die jeweils verwendete Art des BI der Steuerelektronik **16**

den korrekten Sollwert für die Heizer-Servoeinrichtung **22** (oder für andere Heizer-Servoeinrichtungen in dem System) an. Beispielsweise kann eine Art von BI eine Inkubation bei etwa 60°C erfordert, während eine andere Art die Inkubation bei etwa 37°C erfordern kann. Je nach Art bzw. Arten des verwendeten BI **26** erhält die Steuerelektronik **16** darüber hinaus aus dem Speicher entsprechende Informationen zum kinetischen Verhalten zur Verwendung bei der Bereitstellung der Ausgabe (wie oben und in Bezug auf [Fig. 1C](#) erläutert). [Fig. 3](#) veranschaulicht solche kinetischen Informationen für einen bestimmten BI. Die in [Fig. 3](#) veranschaulichten kinetischen Informationen gelten für den 3M™ Attest™ Rapid Readout Biological Indicator Modell 1291, der von Minnesota Mining und Manufacturing in St. Paul, Minnesota, USA, hergestellt wird. Die Zeit ist in Minuten auf der x-Achse aufgetragen, während die relative Fluoreszenzintensität auf der y-Achse aufgetragen ist. [Fig. 3](#) veranschaulicht eine Reihe von Kurven, dargestellt durch die Bezeichnungsziffer **101**, welche der Abwesenheit vitaler Organismen in dem BI **26** nach dem Sterilisationszyklus entsprechen. [Fig. 3](#) zeigt auch eine andere Anzahl von Kurven, die durch die Bezugsziffer **103** angezeigt sind, welche einer kleinen Anzahl vitaler Organismen entsprechen, Kurven **105**, die eine großen Anzahl vitaler Organismen entsprechen, und Kurve **107**, welche einen verunreinigten BI anzeigt (und die unten ausführlicher erläutert ist).

[0051] Die Fluoreszenzintensitätsmesswerte, die für die Zeit knapp vor dem Zeitpunkt Null in [Fig. 3](#) erhalten wurden, entsprechen der Autofluoreszenz des biologischen Indikators, bevor dieser benässt wird, und bei noch intakter Ampulle. Zum Zeitpunkt Null wird die Ampulle zerbrochen, und der Sporenstreifen in dem jeweiligen BI wird benässt. Bei einem solchen Modell eines BI sind ungefähr während der ersten fünf Minuten alle nicht-verunreinigten BI mit Kurven assoziiert, die eine im Allgemeinen negative Steigung haben. Mit anderen Worten neigt die Fluoreszenzaktivität in allen nichtverunreinigten BI in den ersten fünf Minuten dazu, sich zu verringern. Während der nächsten Minuten zeigen die BI daraufhin eine Kurve mit im Wesentlichen null Steigung, bei der sich die Fluoreszenzaktivität nicht verändert. Danach hängt die Steigung der Kurve von der Anzahl vitaler Organismen ab, die nach dem Sterilisationszyklus in dem jeweiligen BI verbleiben. Je größer die Anzahl der verbleibenden vitalen Organismen ist, desto steiler ist die positive Steigung. Wenn also der jeweilige BI von dem Bediener eingegeben wird, erhält der Regler **23** aus dem Speicher die damit verbundenen kinetischen Merkmale, beispielsweise die in [Fig. 3](#) ausgeführten.

[0052] Als Nächstes wird BI **26** auf Sporenwachstum konditioniert. In der Ausführungsform, in der es sich bei dem BI **26** um den Attest Rapid Readout Biological Indication Modell 1291 BI handelt, wird die

Glasampulle, die ein Wachstumsmedium enthält, zerbrochen und ihr Inhalt auf einen trockenen Streifen aufgetragen, der die Sporen enthält. Konditionierung des BI **26** auf Sporenwachstum ist durch Block **58** angezeigt. Der BI **26** wird daraufhin inkubiert, wie durch Block **55** angezeigt ist.

[0053] Anschließend wird etwa zum Zeitpunkt Null in [Fig. 3](#) ein erster Fluoreszenzmesswert gemessen. Dies ist durch Block **59** angezeigt. Der etwa zum Zeitpunkt Null gemessene Fluoreszenzmesswert zeigt das Autofluoreszenzverhalten des jeweiligen BI **26** zu dem Zeitpunkt an, an dem der Messwert gemessen wird. Darüber hinaus umfasst der erste Messwert keine Fluoreszenz, die auf signifikantes Sporenwachstum zurückzuführen ist, es sei denn, der BI **26** war vor dem Sterilisationszyklus verunreinigt. Die Steuerelektronik **16** vergleicht dann den ersten Fluoreszenzmesswert mit einem vorbestimmten Schwellenwert. Wenn der erste Messwert den Schwellenwert übersteigt, zeigt dies an, dass der jeweilige BI **26**, von dem der erste Messwert gemessen wurde, vor dem Sterilisationszyklus verunreinigt war, beispielsweise bei dem Hersteller des jeweiligen BI **26**. Anders ausgedrückt, haben in diesem BI **26** bereits vor einer etwaigen Inkubation wesentliches Sporenwachstum oder bakterielle Aktivität stattgefunden, wenn der BI **26** vor dem Sterilisationszyklus verunreinigt ist. Der anfängliche erste Fluoreszenzmesswert spiegelt daher ein recht hohes Maß an Fluoreszenz wider, d. h. viel höher als das von einem nicht-verunreinigten BI erwartete Autofluoreszenzverhalten. Wenn daher die Steuerelektronik **16** feststellt, dass der erste Fluoreszenzmesswert von dem BI **26** den Schwellenwert übersteigt, stellt die Steuerelektronik **16** eine Ausgabe an die Bedieneroberfläche **18** bereit, die anzeigt, dass der jeweilige BI **26**, für den der Messwert gemessen wurde, verunreinigt war und dass die Wirksamkeit des jeweiligen Sterilisationszyklus nicht bestimmt werden kann. Dies ist durch Block **62** und **64** angezeigt.

[0054] Wenn der BI **26** nicht verunreinigt war, misst die Steuerelektronik **16** vorzugsweise eine Reihe von Messwerten, um die Minima in der mit dem jeweiligen BI assoziierten kinetischen Serie zu suchen. Dabei misst die Steuerelektronik **16** vorzugsweise eine Reihe von Messwerten, wobei sie nach der negativen Steigung sucht, die während der ersten drei bis fünf Minuten bei einem BI dieses Modells typischerweise auftritt. Die Steuerelektronik **16** misst daraufhin eine Reihe von Messwerten und sucht nach einer Kurve mit null Steigung, die den nächsten Minuten der kinetischen Reihe entspricht. Wenn die Steigung von Null gemessen wird, bestimmt die Steuerelektronik **16** dies als die lokalen Minima für den jeweiligen BI und misst einen Fluoreszenzbasismesswert. Dies ist durch Block **61**, **63** und **65** angezeigt.

[0055] Der Fluoreszenzbasismesswert wird gemessen

und von der Steuerelektronik **16** in einem assoziierten Speicher gespeichert. Der Fluoreszenzfangs- bzw. -basismesswert zeigt das Autofluoreszenzverhalten des jeweiligen BI **26** an, für den der Messwert gemessen wurde. Darüber hinaus umfasst der Basismesswert oder der Schwellenwert keine auf etwaiges wesentliches Sporenwachstum zurückzuführende Fluoreszenz, es sei denn, der BI **26** war vor dem Sterilisationszyklus verunreinigt.

[0056] Nach Erhalt des Basismesswerts wartet die Steuerelektronik **16** auf eine vorgesehene Unterbrechung. Die Länge der Unterbrechung entspricht dem jeweiligen verwendeten BI-Typ und den Erwartungen hinsichtlich der Schnelligkeit der Sporenwachstumsaktivität. Dies ist durch Block **66** angezeigt. Eine solche Unterbrechung kann beispielsweise, je nach Wunsch, eine bis drei Minuten dauern.

[0057] Nach der gewünschten Unterbrechung wird ein weiterer Fluoreszenzmesswert von dem BI **26** gemessen. Nachdem der zweite Fluoreszenzmesswert von dem BI **26** gemessen worden ist, vergleicht die Steuerelektronik **16** diesen Fluoreszenzmesswert mit dem Fluoreszenzbasismesswert, der für den jeweiligen BI **26** gemessen wurde (und der im Speicher gespeichert ist). Wenn die Steuerelektronik **16** feststellt, dass der zweite Fluoreszenzmesswert den Fluoreszenzbasismesswert um einen statistisch signifikante Wert übersteigt, bedeutet dies, dass während des Inkubationszyklus ein statistisch signifikantes Maß an biologischer Aktivität (Sporenwachstum) in dem BI **26** stattgefunden hat. Der Sterilisationszyklus war daher nicht wirksam. Die Steuerelektronik **16** stellt daher eine Ausgabe an die Bedieneroberfläche **18** bereit, die anzeigt, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam war. Dies ist durch Block **69**, **70** und **72** angezeigt.

[0058] Alternativ, und wie gezeigt in [Fig. 2C](#), kann die Steuerelektronik **16** weitere Analysen der gemessenen Fluoreszenzmesswerte durchführen. Beispielsweise veranschaulicht [Fig. 3](#) eine Kurvenschar für eine Art von biologischem Indikator, der verschiedenen Mengen an Sterilisationsmittel ausgesetzt wurde. Solche Kurven gibt es auch für andere Arten von BI bzw. können für andere Arten von BI bestimmt werden. In der in [Fig. 2C](#) gezeigten Ausführungsform bestimmt die Steuerelektronik **16** die Sporenwachstumsrate in dem BI **26** basierend auf den Basislinienmessungen und zweiten Fluoreszenzmessungen des jeweiligen analysierten biologischen Indikators. Dies ist durch Block **74** angezeigt. Anschließend erhält die Steuerelektronik **16** die kinetischen Merkmale für diese Art von BI. Anders ausgedrückt erhält die Steuerelektronik **16** die jeweilige Kurvenschar (beispielsweise die in [Fig. 3](#) gezeigte), welche dieser Art von biologischem Indikator entspricht. Dies ist durch Block **76** angezeigt.

[0059] Die Steuerelektronik **16** bestimmt dann, ob die Sporenwachstumsrate in dem jeweiligen analysierten BI **26** den kinetischen Merkmalen einer der Kurven entspricht. Ist das der Fall, stellt die Steuerelektronik **16** eine Ausgabe an die Bedieneroberfläche **18** bereit, die anzeigt, dass der Sterilisationszyklus wirksam war oder nicht, je nach der jeweiligen Kurve, der die Messwerte entsprechen. Wenn die Sporenwachstumsrate nicht den kinetischen Merkmalen der Kurve entspricht, die anzeigt, dass keine vitalen Organismen vorhanden sind, bestimmt die Steuerelektronik **16**, ob die Sporenwachstumsrate für den jeweiligen analysierten BI **26** geringer ist als die von den erhaltenen kinetischen Merkmalen identifizierte. Ist dies nicht der Fall, zeigt dies an, dass die Sporenwachstumsrate die von der relevanten Kurve, die dem Nichtvorhandensein vitaler Organismen entspricht, identifizierte übersteigt, und zeigt erneut an, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam war. Die Steuerelektronik **16** gibt dann die jeweilige Mitteilung aus.

[0060] Wenn die für den jeweiligen analysierten BI **26** bestimmte Sporenwachstumsrate geringer ist als die von der Kurve identifizierten kinetischen Merkmale, bestimmt die Steuerelektronik **16**, ob eine weitere Inkubation erforderlich ist, und, wenn dies der Fall ist, wird der Inkubationszyklus fortgesetzt. Diese Schritte sind durch Block **78**, **80**, **82**, **83** und **84** angezeigt.

[0061] Die Steuerelektronik **16** prüft nicht nur die Fluoreszenzmesswerte um zu bestimmen, ob die zweiten Messwerte die Fluoreszenzbasiswerte überschreiten, sondern bestimmt auch, ob auf andere Weise eine Sporenwachstumsaktivität stattfindet. Beispielsweise kann die Steuerelektronik **16** bestimmen, ob die Kurve, die durch Auftragen der Fluoreszenzmesswerte gegen die Zeit erhalten wird, für zwei, drei oder mehr aufeinander folgende Messintervalle positiv ist. Ist dies der Fall, bestimmt die Steuerelektronik **16**, dass dies eine positive biologische Aktivität anzeigt, und stellt eine Ausgabe an die Bedieneroberfläche **18** bereit, die anzeigt, dass der Sterilisationszyklus unwirksam war.

[0062] Es können auch andere geeignete Verfahren verwendet werden, beispielsweise indem die Wirksamkeit nicht nur auf der Basis des Vorzeichens der Steigung, sondern auch auf der Basis der Größenordnung der Steigung bestimmt wird. Ist die Steigung beispielsweise sehr positiv, zeigt dies das Vorhandensein vitaler Organismen tendenziell schneller an, als wenn die Steigung nur leicht positiv ist.

[0063] Indem nun wieder auf [Fig. 2A](#) Bezug genommen wird, bestimmt die Steuerelektronik **16**, ob eine weitere Inkubationszeit erforderlich ist, wenn der zweite Fluoreszenzmesswert den Fluoreszenzbasiswert nicht um einen statistisch signifikanten Wert übersteigt.

[0064] Je nach dem jeweils analysierten biologischen Indikator möchte der Bediener den biologischen Indikator möglicherweise für eine beliebige Zeit zwischen 5 und 15 Minuten oder länger inkubieren. Wie durch die Kurvenschar in [Fig. 3](#) angezeigt ist, wurde jedoch beobachtet, dass sich durch Verwendung dieses Systems des Messens von BI **26** der Sterilisationszyklus bei manchen biologischen Indikatoren erst nach fünf Minuten, für die überwiegende Mehrzahl der biologischen Indikatoren in weniger als zehn Minuten und für im Wesentlichen alle biologischen Indikatoren in weniger als fünfzehn Minuten feststellen lässt. Der Bediener muss den biologischen Indikator einfach so lange inkubieren, bis ein ausreichendes Konfidenzmaß erreicht ist, das anzeigt, dass keine Sporenwachstumsaktivität vorhanden ist und dass in dem jeweils analysierten BI **26** ebenfalls keine vorhanden ist. Dies ist durch Block **84** angezeigt. Dieser Zeitraum wird vorzugsweise durch empirische Charakterisierungsstudien für die verschiedenen zu analysierenden BIs ermittelt.

[0065] Sobald die Steuerelektronik **16** feststellt, dass der zweite Fluoreszenzmesswert den Fluoreszenzbasiswert nicht um einen statistisch signifikanten Wert übersteigt, und sobald die Steuerelektronik **16** feststellt, dass keine weitere Inkubationszeit erforderlich ist, stellt die Steuerelektronik **16** eine Ausgabe an die Bedieneroberfläche **18** bereit, die anzeigt, dass der Sterilisationszyklus wirksam war. Dies ist in [Fig. 2B](#) durch Block **86** angezeigt.

[0066] Während die vorliegende Beschreibung sich auf einen einzelnen Fluoreszenzbasiswert und einen einzelnen zweiten Fluoreszenzmesswert bezieht, können auch andere Verfahren des Messens von Fluoreszenzmesswerten verwendet werden. Beispielsweise können für jeden Fluoreszenzbasiswert oder zweiten Fluoreszenzmesswert innerhalb eines kurzen Zeitraumes mehrere Messwerte bzw. eine Gruppe von Messwerten gemessen werden. Diese mehreren Messwerte werden dann verarbeitet, beispielsweise wird der Mittelwert bestimmt, um einen einzelnen Fluoreszenzmesswert zu erhalten, der als jeweiliger Fluoreszenzbasiswert oder jeweiliger zweiter Fluoreszenzmesswert gespeichert wird. Beispielsweise werden in einer bevorzugten Ausführungsform innerhalb einer Zeitspanne von mehreren Sekunden fünf Messwerte gemessen. Diese Messwerte werden dann gemittelt, um einen endgültigen Fluoreszenzmesswert zu erhalten. Dieser Fluoreszenzmesswert wird als Fluoreszenzbasiswert gespeichert. Anschließend werden fünf Minuten später fünf weitere Messwerte innerhalb einer Zeitspanne von mehreren Sekunden gemessen, und diese Werte werden gemittelt. Der Mittelwert wird als der zweite Fluoreszenzmesswert gespeichert. Danach werden alle zwei Minuten fünf weitere Messwerte gemessen und gemittelt, um weitere zweite Fluoreszenzmesswerte zu erhalten. Dies wird solange

wiederholt, bis der maximale Inkubationszeitraum erreicht ist.

[0067] Anstelle des Mittels der mehreren Fluoreszenzmesswerte können natürlich auch andere Verarbeitungstechniken angewandt werden, um einen endgültigen Wert zu erhalten. Beispielsweise können hohe oder niedrige Ausrutscherwerte vor dem Mitteln verworfen werden, es kann der Medianwert verwendet werden oder es kann eine beliebige andere geeignete Verarbeitung durchgeführt werden.

[0068] Ein solches System ist von [Fig. 2D](#) gezeigt. Ein erster Fluoreszenzmesswert wird gemessen und gespeichert. Dies ist durch Block **88** und **90** angezeigt. Die Steuerelektronik **16** bestimmt anschließend, ob zu diesem Zeitpunkt weitere Fluoreszenzmesswerte gemessen werden müssen. Ist dies der Fall, werden weitere Fluoreszenzmesswerte gemessen und gespeichert, um ein Messwertgruppe der gewünschten Anzahl von nahe beabstandeten Messwerten zu bilden. Dies ist durch Block **92** angezeigt.

[0069] Sind keine weiteren Messwerte für die jeweilige Messwertgruppe zu messen, wird die Messwertgruppe von der Steuerelektronik **16** verarbeitet. Wie oben erörtert ist, kann dies durch Mitteln, Messen des Medianwertes, Verwerfen von Ausrutscherwerten oder andere geeignete Verarbeitungstechniken erfolgen. Dies ist durch Block **94** angezeigt. Der endgültige Wert, der das Ergebnis der Verarbeitung ist, wird gespeichert, und der Betrieb des Systems **10** wird, wie in [Fig. 2A–Fig. 2C](#) ausgeführt, fortgesetzt.

[0070] [Fig. 4](#) veranschaulicht ein Blockdiagramm eines anderen Aspektes der vorliegenden Erfindung. In [Fig. 4](#) sind mehrere Messvorrichtungen **96** mit einer Host-Steuereinheit **98** gekoppelt. Zum Zwecke der Beschreibung von [Fig. 4](#) umfasst jede Messvorrichtung **96** ein elektro-optisches Anregungsmodul **12**, ein elektro-optisches Wahrnehmungsmodul **14**, ein Referenzmodul ist, eine Steuerelektronik **16**, einen Inkubator **24** und eine Heizer-Servoeinrichtung **22**. Natürlich kann jede Messvorrichtung **96** auch eine Bedieneroberfläche **18** umfassen. Die Steuerelektronik **16** jeder Messvorrichtung **96** ist wiederum mit einer Host-Steuereinheit **98** gekoppelt, welche gegebenenfalls auch Eingaben von anderen Host-Steuereinheiten empfängt und gegebenenfalls Ausgaben an E/A-Anwendervorrichtungen (beispielsweise eine Bedieneroberfläche **99**, Strichcode-Lesevorrichtungen und Etikettiervorrichtungen), andere Netzwerke der medizinischen Einrichtung, andere Sterilisatoren und beliebige andere Vorrichtungen oder Netzwerke bereitstellt.

[0071] Das vorliegende System kann auch verwendet werden, um mehrere unterschiedliche Arten von BI zu inkubieren und zu messen. Wenn die verschiedenen BI verschiedene Inkubationstemperaturen er-

fordern, sind verschiedene Heizer-Servoeinrichtungen **22** zusammen mit mehreren Inkubatoren **24** bereitgestellt. Die Steuerelektronik **16** inkubiert dann die BI bei der jeweiligen Temperatur mit geeigneten Ablaufzeiträumen und misst und speichert die Fluoreszenzmesswerte unabhängig für jeden BI. Auf der Bedieneroberfläche **18** werden an den Bediener geeignete Ausgaben bereitgestellt.

[0072] Es ist demnach ersichtlich, dass die vorliegende Erfindung ein System zum Messen herkömmlicher und im Handel erhältlicher biologischer Sterilisationsindikatoren bereitstellt, um die Wirksamkeit eines Sterilisationszyklus innerhalb von 15 Minuten oder weniger zu bestimmen. Dies wird erreicht, indem einfach eine Veränderung der Fluoreszenz des biologischen Indikators festgestellt wird, anstatt darauf zu warten, dass die Fluoreszenz einen Wert erreicht, welcher die im schlimmsten Fall von typischen biologischen Indikatoren abgegebene Autofluoreszenz übersteigt. Tatsächlich wurde beobachtet, dass bei Anwendung der vorliegenden Erfindung eine überwiegende Mehrzahl von biologischen Indikatoren in weniger als zehn Minuten gemessen werden kann.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Wirksamkeit eines Sterilisationszyklus, wobei das Verfahren aufweist:

Bereitstellen eines biologischen Sterilisationsindikators, der als Antwort auf biologische Aktivität, die ein Bakterienwachstum in dem biologischen Sterilisationsindikator anzeigt, Fluoreszenz zeigt;
 Aussetzen des biologischen Sterilisationsindikators gegenüber dem Sterilisationszyklus;
 Platzieren des biologischen Sterilisationsindikators in einem Fluoreszenzmessgerät;
 Messen der Fluoreszenz des biologischen Sterilisationsindikators, um einen Fluoreszenzbasiswert zu erhalten;
 Erneutes Messen der Fluoreszenz des biologischen Sterilisationsindikators, um einen zweiten Fluoreszenzmesswert zu erhalten;
 Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus ausgehend von dem Fluoreszenzbasiswert und dem zweiten Fluoreszenzmesswert; und
 wobei der Schritt des Messens der Fluoreszenz, um den Basiswert zu erhalten, aufweist:
 Messen von mehreren vorläufigen Fluoreszenzmesswerten;
 Bestimmen, ob die Fluoreszenzmesswerte im Wesentlichen Minima auf der Basis der vorläufigen Fluoreszenzmesswerte erreicht haben; und
 Durchführen des Schritts des Erhaltens des Basiswertes, wenn die Fluoreszenzmesswerte die Minima erreicht haben.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Fluores-

zenzmessung, um den Fluoreszenzbasiswert zu erhalten, nach dem Sterilisationszyklus und vor dem Auftreten eines signifikanten Bakterienwachstums in dem biologischen Sterilisationsindikator seit Abschluss des Sterilisationszyklus durchgeführt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 2 und ferner aufweisend:

Inkubieren des biologischen Sterilisationsindikators zwischen dem Erhalten des Fluoreszenzbasiswertes und dem Erhalten des zweiten Fluoreszenzmesswerts.

4. Verfahren nach Anspruch 1 und ferner aufweisend:

Bestimmen, ob der biologische Sterilisationsindikator, basierend auf mindestens einem der mehreren vorläufigen Fluoreszenzmesswerte, verunreinigt ist.

5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei das Bestimmen, ob der biologische Sterilisationsindikator verunreinigt ist, aufweist:

Bestimmen, ob mindestens einer der vorläufigen Fluoreszenzmesswerte einen ersten Schwellenwert erfüllt;

und Bereitstellen eines Anzeichens, dass der biologische Sterilisationsindikator verunreinigt ist, wenn der mindestens eine der vorläufigen Fluoreszenzmesswerte den ersten Schwellenwert erfüllt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus aufweist:

Bestimmen, ob der zweite Fluoreszenzmesswert den Fluoreszenzbasiswert übersteigt; und wenn ja, Bestimmen, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam war.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei das Bestimmen, ob der zweite Fluoreszenzmesswert den Fluoreszenzbasiswert übersteigt, aufweist:

Bestimmen, ob der zweite Fluoreszenzmesswert den Fluoreszenzbasiswert um einen statistisch signifikanten Wert übersteigt.

8. Verfahren nach Anspruch 6 und ferner aufweisend:

Messen mehrerer Fluoreszenzmesswerte nach dem Fluoreszenzbasiswert und Bestimmen, ob einer der mehreren Fluoreszenzmesswerte den Fluoreszenzbasiswert übersteigt.

9. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Messen von Fluoreszenz und das erneute Messen von Fluoreszenz jeweils aufweist:

Messen mehrerer Fluoreszenzmesswerte, die relativ zu einem Zeitpunkt, der den Schritt des Messens und den Schritt des erneuten Messens trennt, in der Zeit nahe beabstandet sind; und

Verarbeiten der mehreren Fluoreszenzmesswerte,

um einen endgültigen Fluoreszenzmesswert zu erhalten.

10. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus aufweist:

Extrapolieren einer Linie zwischen dem Fluoreszenzbasiswert und dem zweiten Fluoreszenzmesswert;

Berechnen eines Vorzeichens einer Steigung der Linie; und

Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus auf der Basis des Vorzeichens der Steigung.

11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus aufweist:

Bestimmen, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam ist, wenn die Steigung positiv ist.

12. Verfahren nach Anspruch 10 und ferner aufweisend:

Bestimmen einer Größenordnung der Steigung; und Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus auf der Basis des Vorzeichens und der Größenordnung der Steigung.

13. Verfahren nach Anspruch 10 und ferner aufweisend:

Messen eines oder mehrerer zusätzlicher Fluoreszenzmesswerte;

Extrapolieren einer Linie zwischen jedem Fluoreszenzmesswert und einem vorherigen Fluoreszenzmesswert; und

Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus auf der Basis einer Steigung der extrapolierten Linien.

14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei das Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus auf der Basis einer Steigung der extrapolierten Linien aufweist:

Berechnen eines Vorzeichens jeder der extrapolierten Linien; und

Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus auf der Basis des Vorzeichens der Steigung mehrerer aufeinander folgender extrapolierte Linien.

15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei das Bestimmen der Wirksamkeit des Sterilisationszyklus auf der Basis des Vorzeichens der Steigung mehrerer aufeinander folgender extrapolierte Linien aufweist:

Bestimmen, dass der Sterilisationszyklus nicht wirksam war, wenn das Vorzeichen der Steigung der mehreren aufeinander folgender extrapolierte Linien positiv ist.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

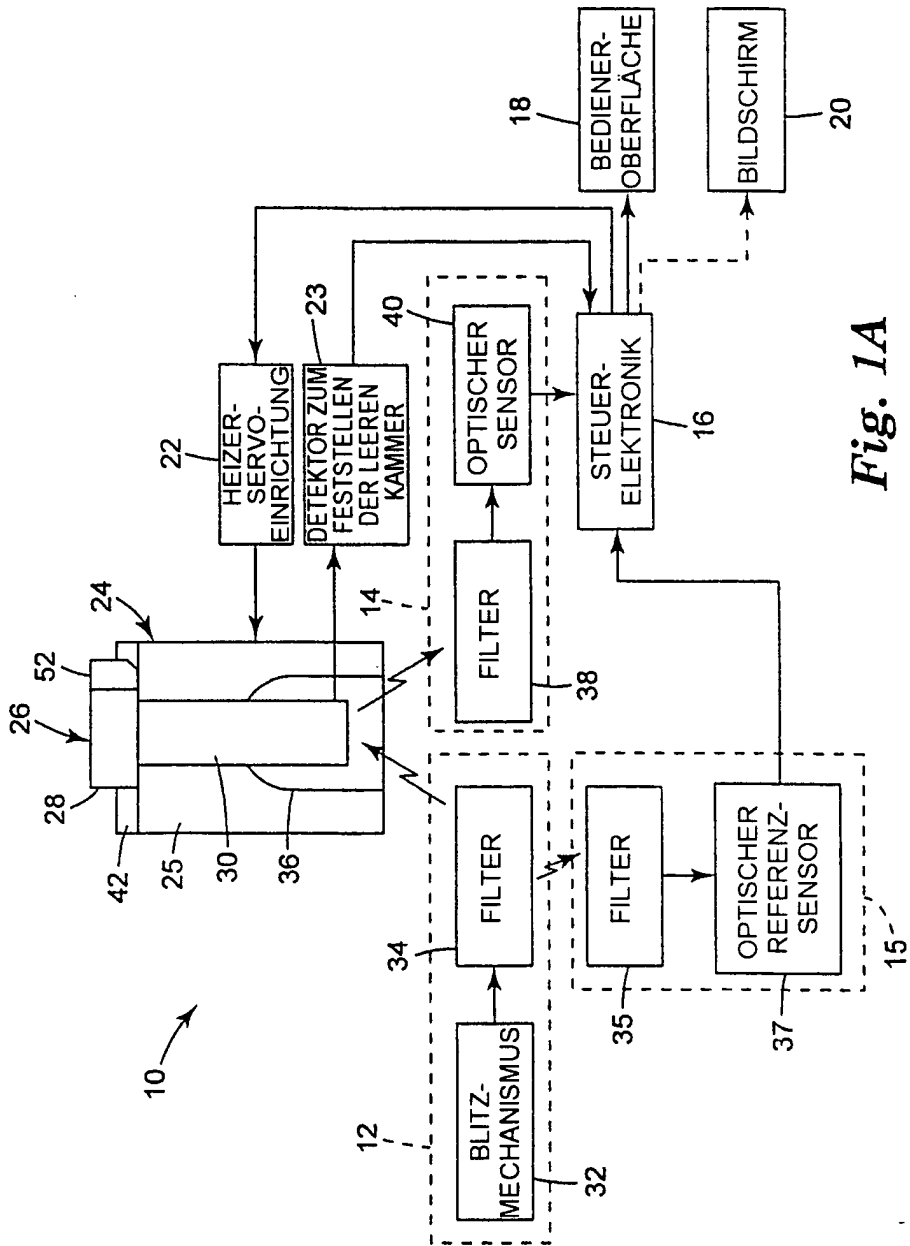


Fig. 1A

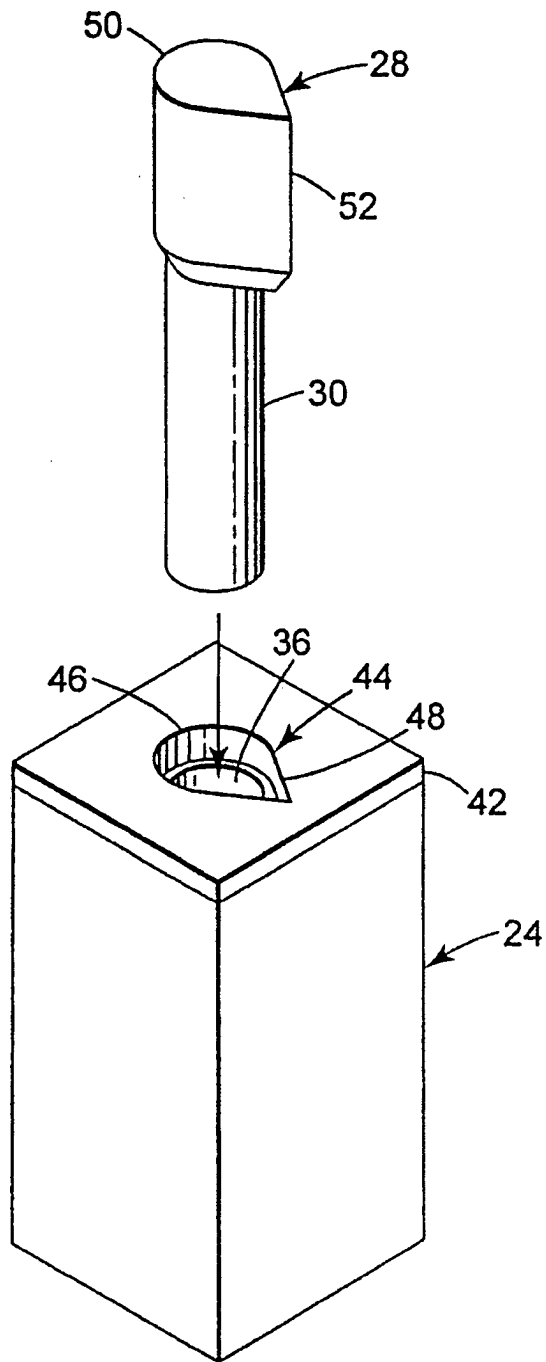


Fig. 1B

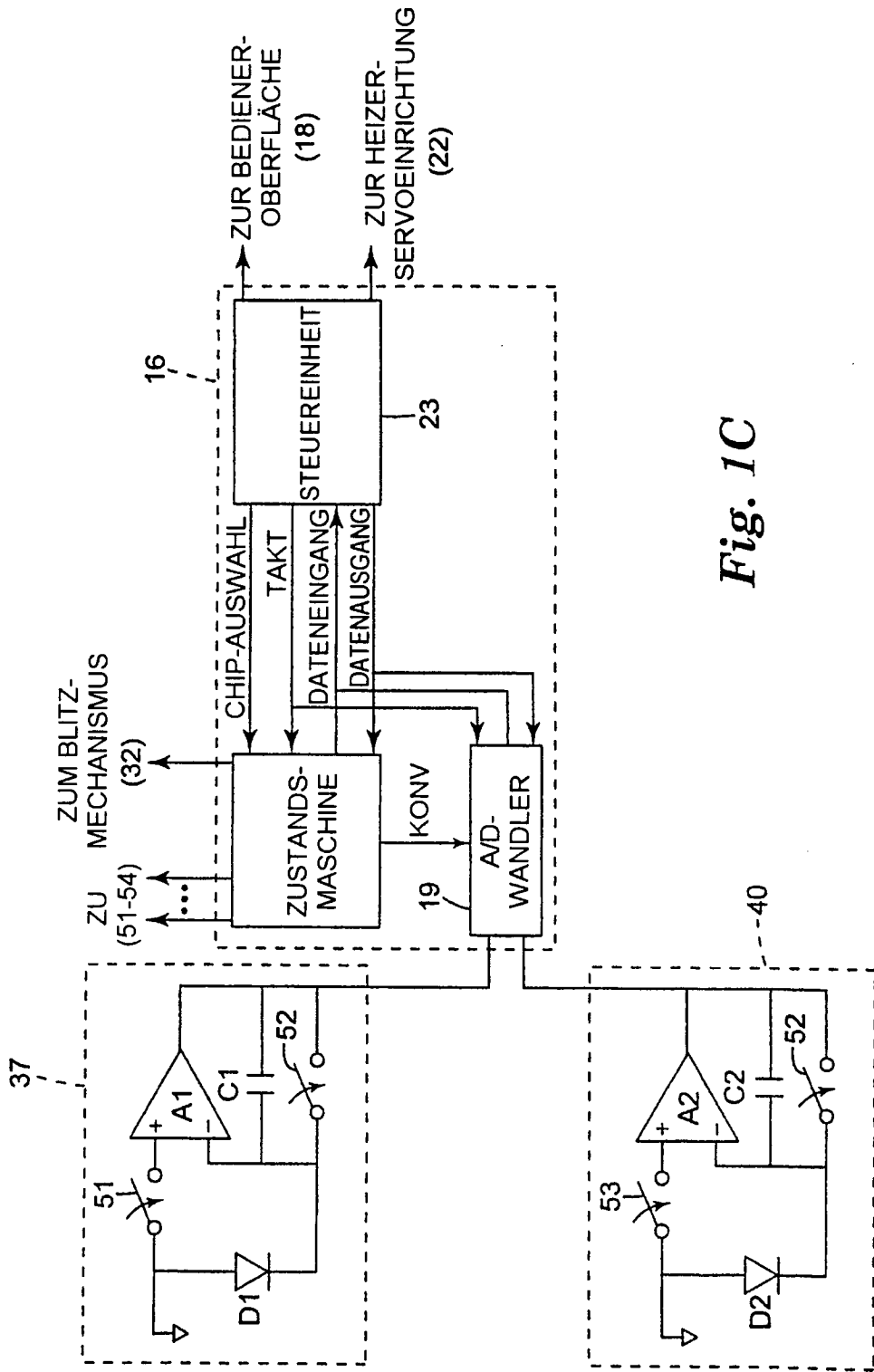


Fig. 1C

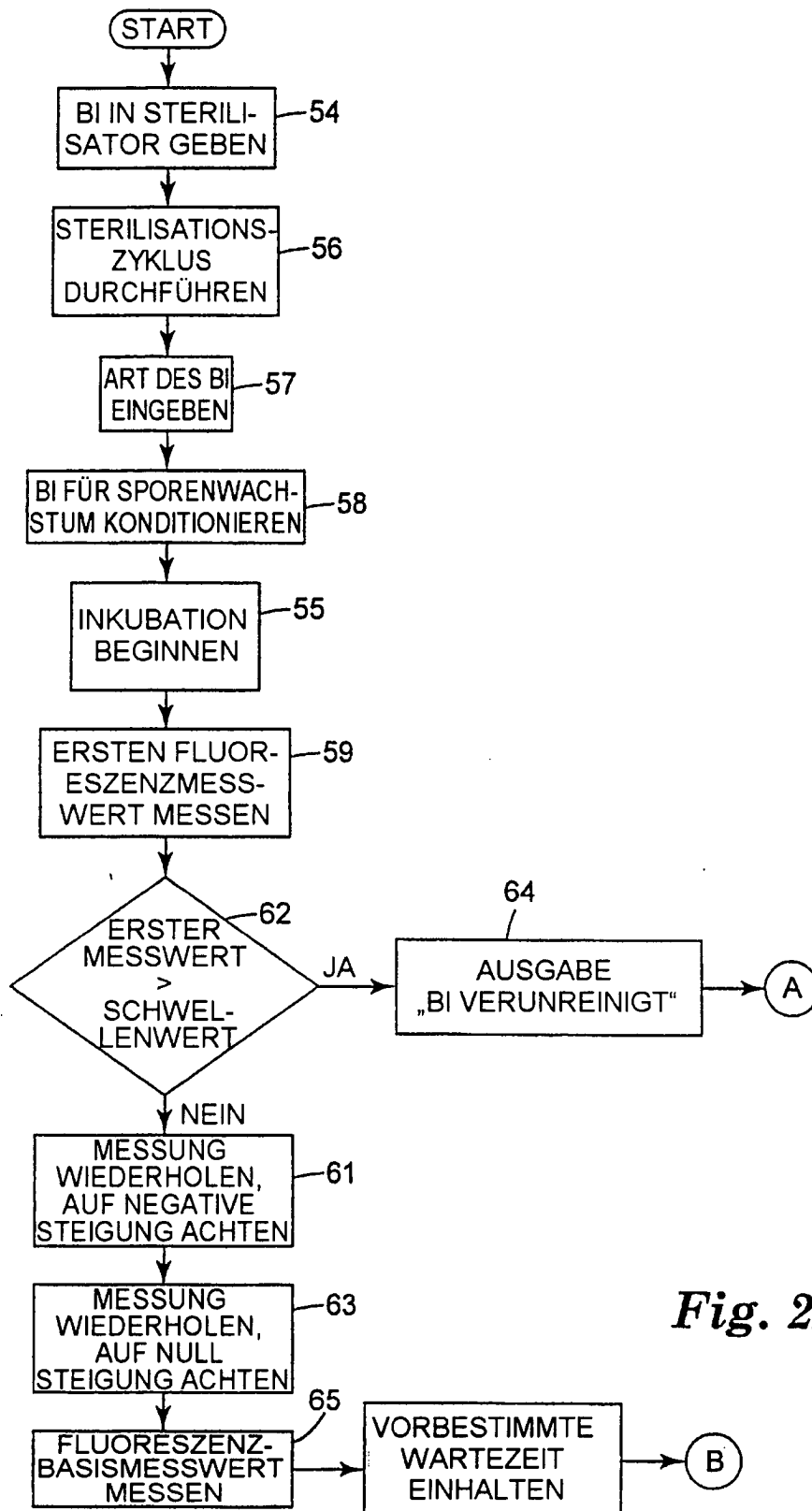


Fig. 2A

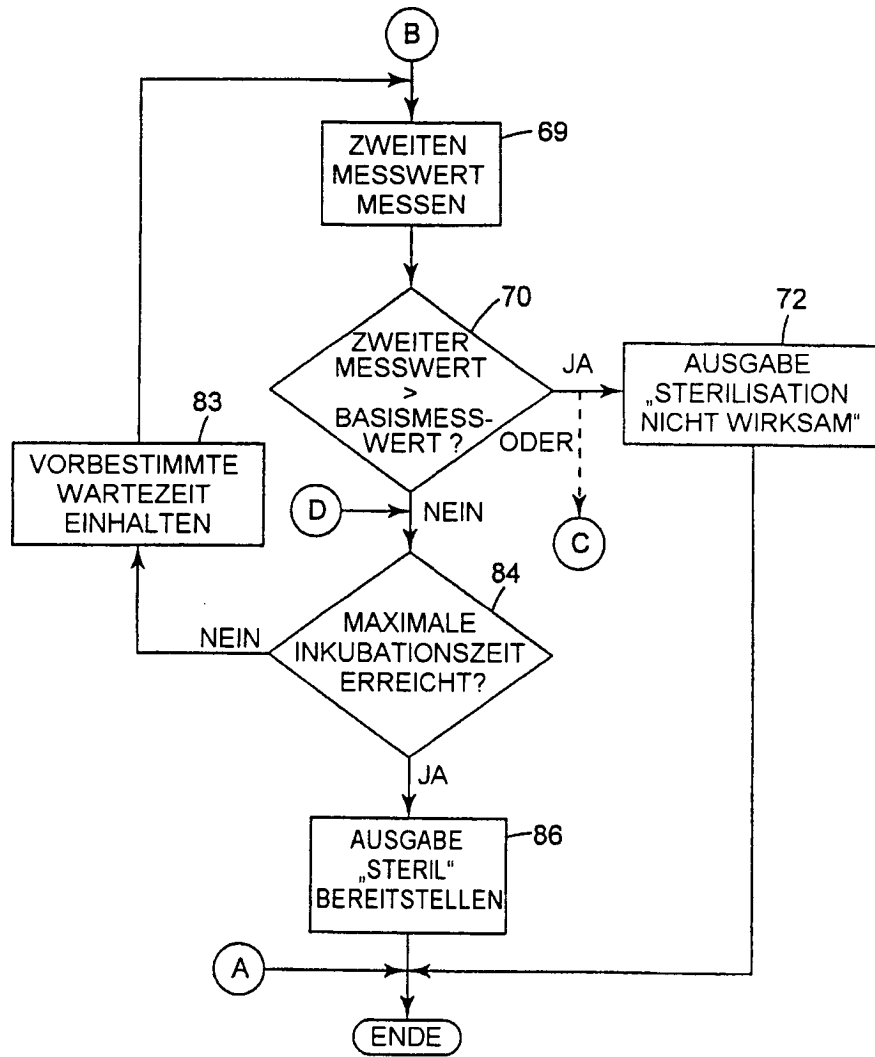


Fig. 2B

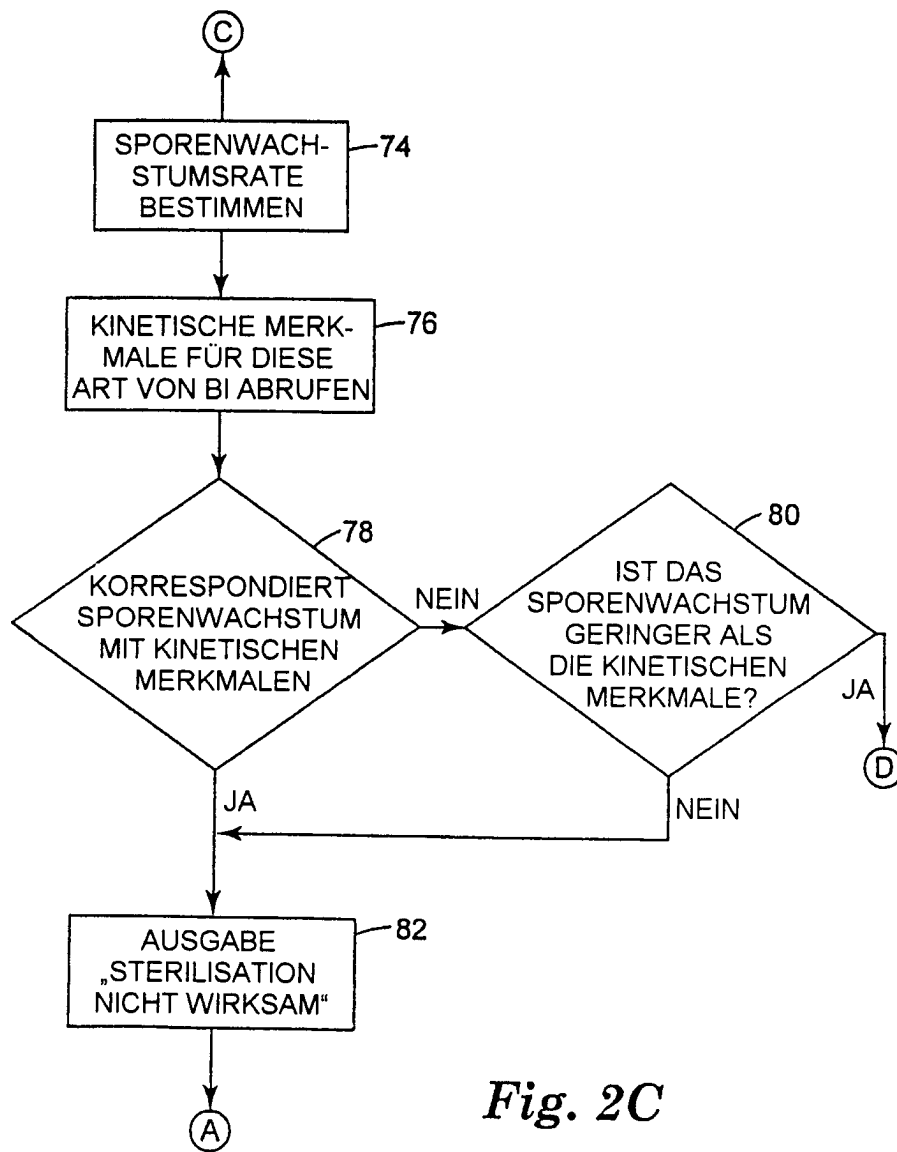


Fig. 2C

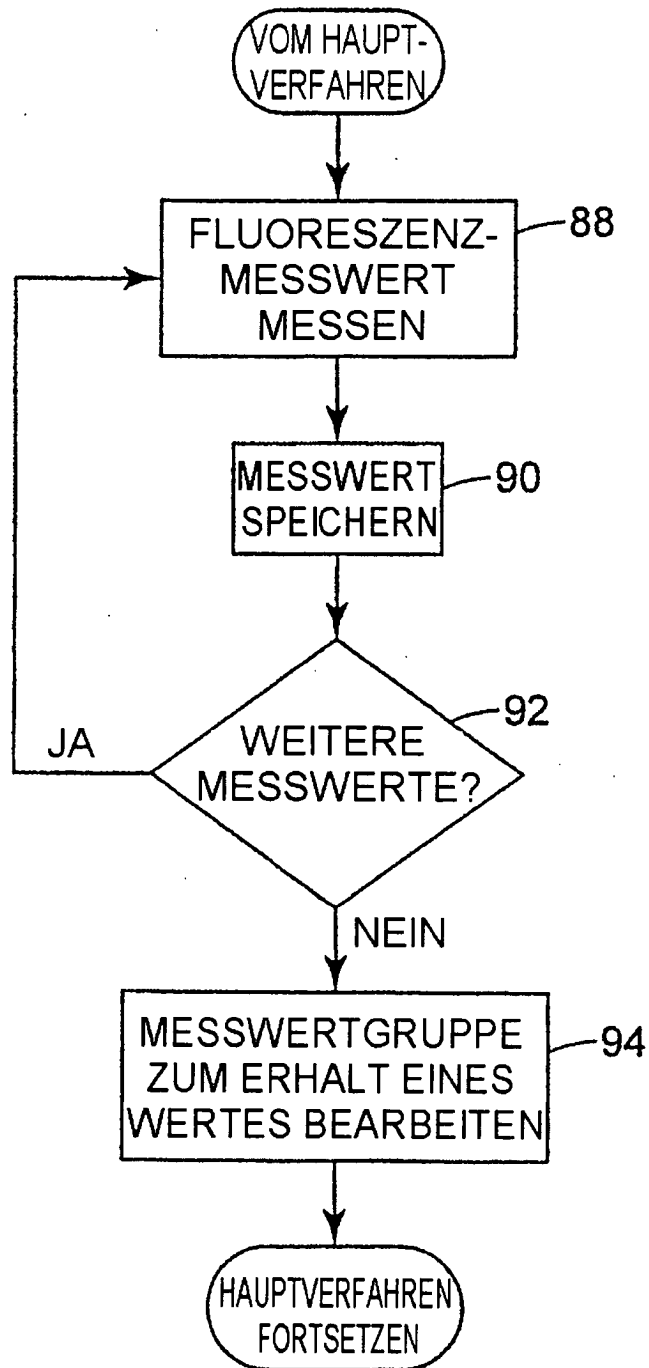


Fig. 2D

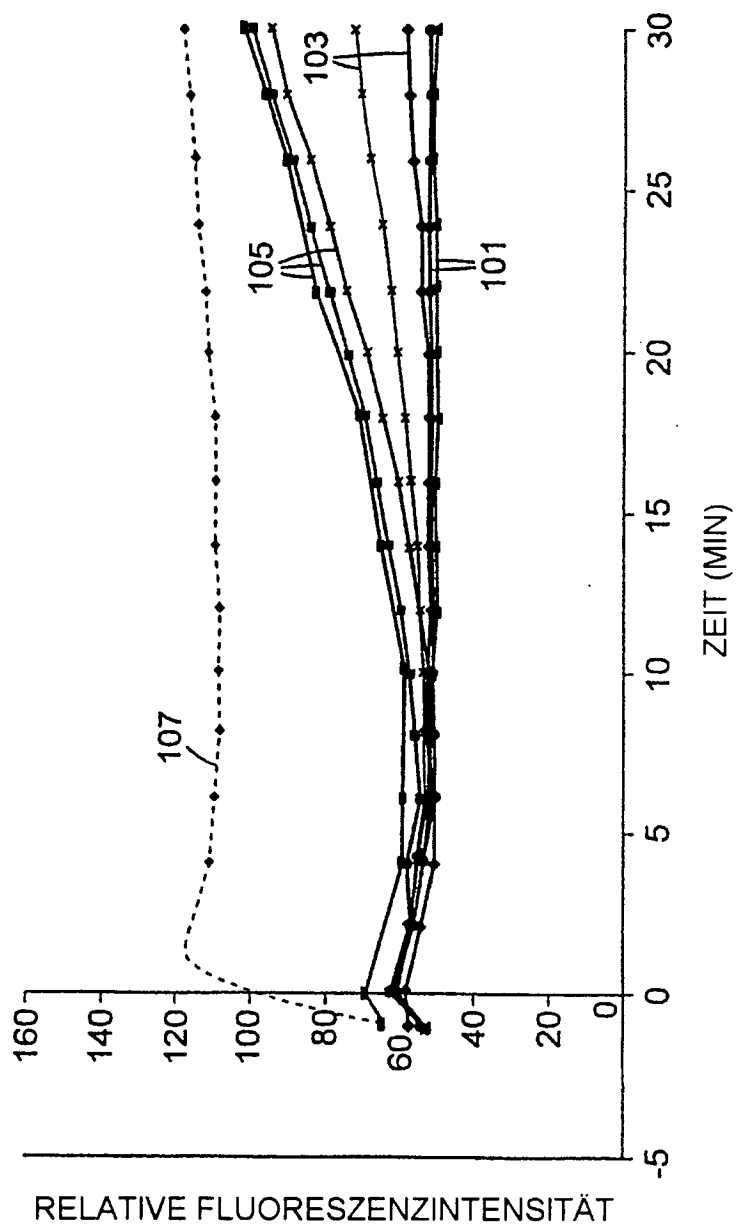


Fig. 3

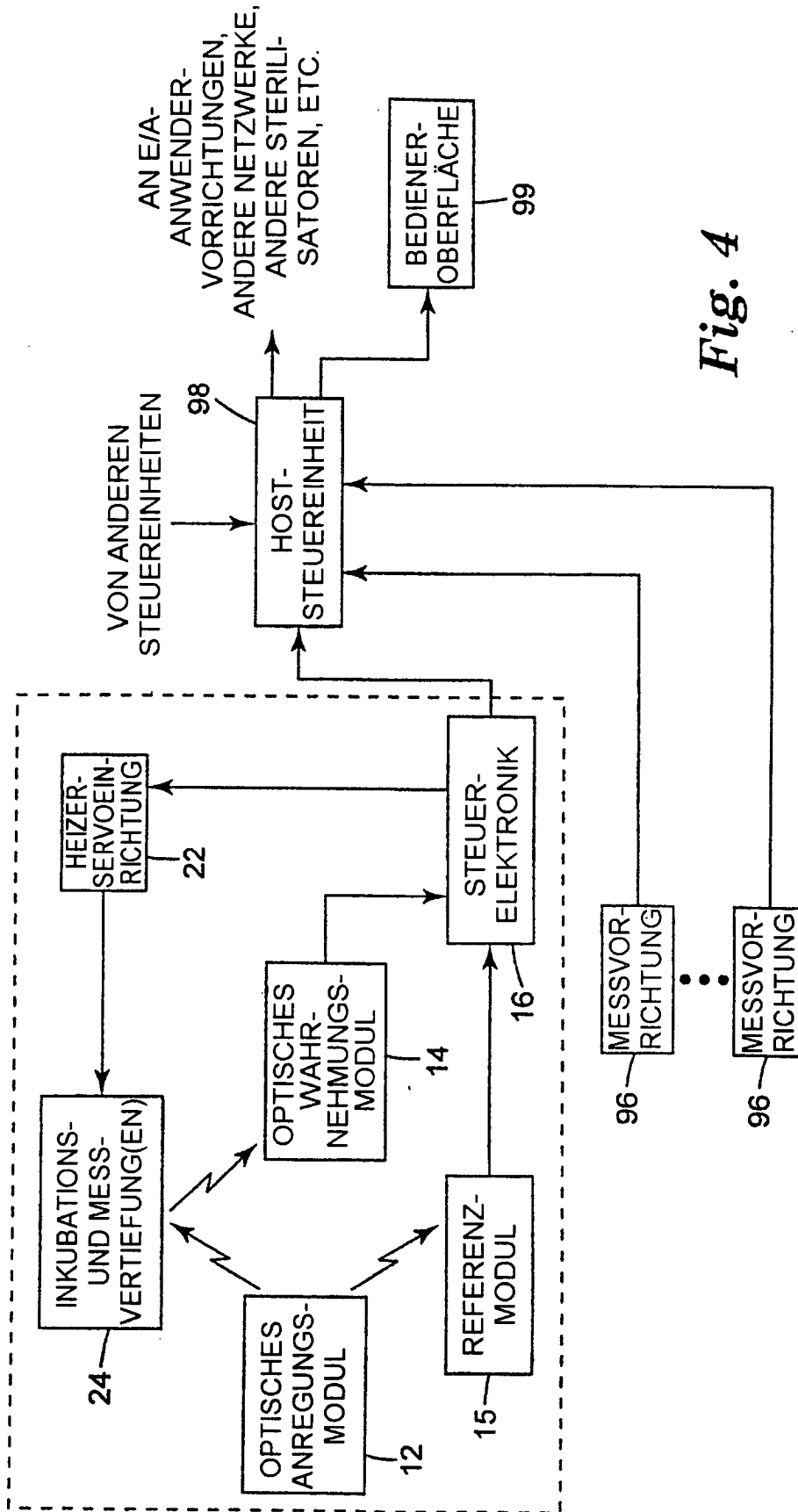


Fig. 4