(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105073146 B
(45)授权公告日 2017.11.14

(21)申请号 201480010729.5

(22)申请日 2014.02.20

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105073146 A

(43)申请公布日 2015.11.18

(30)优先权数据
61/769,357 2013.02.26 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.08.26

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/017280 2014.02.20

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/133854 EN 2014.09.04

(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 弗朗索瓦·阿希穆
阿萨姆谱塔·本纳阿尔斯-艾登
威廉·E·福尔茨
斯瓦尔那拉塔·斯瓦米纳坦

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司 11219
代理人 王潜 郭国清

(51)Int.Cl.
A61L 2/28(2006.01)
C12M 1/34(2006.01)
C12Q 1/22(2006.01)

(56)对比文件
US 5552320 A,1996.09.03,
US 6329207 B1,2001.12.11,

审查员 刘昱

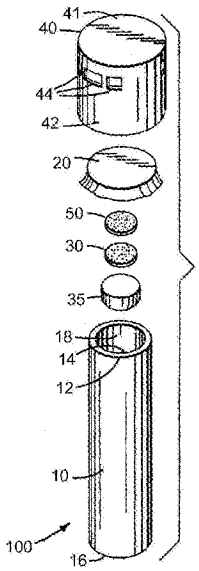
权利要求书1页 说明书20页 附图3页

(54)发明名称

用于监测低温灭菌过程的生物指示器

(57)摘要

本发明提供了一种用于评价灭菌过程的功效的制品和方法。所述制品包括具有内部体积的外容器;设置在所述内部体积中的干燥的可测量生物活性的源;以及有效量的用于中和灭菌剂化合物的干燥试剂;其中所述可测量生物活性的源和所述试剂两者均与所述外容器外部的环境蒸汽连通。所述方法包括使所述制品暴露于第一灭菌剂一段时间,以及任选地暴露于第二灭菌剂一段时间,以及检测所述可测量生物活性。



CN 105073146 B

1.一种制品，其包括：

具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；

设置在所述内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；和

有效量的用于中和过氧化氢的干燥试剂，所述试剂设置在所述内部体积中；

其中所述可测量生物活性的源和所述试剂两者均与所述外容器外部的灭菌室环境蒸汽连通。

2.根据权利要求1所述的制品，其还包括可渗透过氧化氢的层，其中所述层联接到所述外容器，其中所述层被置于所述可测量生物活性的源与所述外容器外部的环境之间。

3.根据权利要求1所述的制品，其中所述可测量生物活性的源包括酶活性或能够繁殖的微生物。

4.根据权利要求1所述的制品，其中所述可测量生物活性的源的一部分设置在第一涂层中。

5.根据权利要求1所述的制品，其中所述试剂选自过氧化氢酶、硫代硫酸盐、亚硫酸氢盐和L-甲硫氨酸。

6.根据权利要求4所述的制品，其中所述试剂的一部分设置在第二涂层中，其中所述第二涂层邻近所述第一涂层。

7.一种方法，其包括：

使用包括以下步骤的过程处理前述权利要求中任一项所述的制品：

将所述制品置于灭菌室中；

向所述室中引入第一量的第一灭菌剂，其中所述第一量的第一灭菌剂被怀疑包含有效量的过氧化氢；

使所述制品暴露于所述第一灭菌剂一段时间；以及

检测所述可测量生物活性。

8.根据权利要求7所述的方法，其还包括：

向所述室中引入第二量的第二灭菌剂；以及

使所述制品暴露于所述第二灭菌剂一段时间。

9.根据权利要求8所述的方法，其中所述第二量的第二灭菌剂被怀疑包含过氧化氢，其中在将所述第一量引入所述室中之后的预定时间将所述第二量引入所述室中。

10.根据权利要求8所述的方法，其中所述第二量的第二灭菌剂被怀疑包含有效量的除过氧化氢之外的灭菌剂。

用于监测低温灭菌过程的生物指示器

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2013年2月26日提交的美国临时专利申请No.61/769,357的权益，该专利申请全文以引用方式并入本文。

背景技术

[0003] 生物指示器(或“灭菌指示器”)是用于测试灭菌器的功效的装置，诸如医院常用于监测用于对医疗器械、玻璃器皿等灭菌的过程的那些装置。指示器通常包括微生物源、培养基和用于指示存在或不存在活微生物的检测器。培养基还可以充当检测器，其中浑浊悬浮液的形成指示微生物的生长。在实施过程中，使微生物源(通常为已用预定量的活微生物浸渍的吸收性纸条)经历灭菌过程。然后，将微生物浸渍条置于无菌培养基中并在适当温度下温育预定时间。在温育周期结束时，使用检测器确定是否有任何微生物在灭菌过程后存活。在一些指示器中，通过检测器的颜色变化显示微生物存活，这意味着灭菌不完全。

[0004] 为简化灭菌测试过程并将外部污染可能影响测试结果的风险降到最低，有时以允许微生物源、培养物和指示器结合并且不使生物指示器暴露于非灭菌环境的方式包装生物指示器的元件(微生物、培养基和检测器)。

[0005] 低温灭菌过程通常用于可能被蒸汽灭菌过程中使用的温度和/或压力破坏的灭菌对象。已开发出监测低温灭菌过程的功效的生物指示器，所述低温灭菌过程涉及使用例如环氧乙烷、过氧化氢或过乙酸。最近，已开发出允许操作者将对象暴露于两种不同低温灭菌剂的灭菌系统。低温灭菌剂中的一种包含过氧化氢，而另一种低温灭菌剂包含臭氧。

发明内容

[0006] 本发明整体涉及用于测定灭菌过程的功效的生物指示器制品和方法。具体地讲，本发明涉及用于测定采用一种或多种低温灭菌剂的灭菌过程的功效的制品和方法。通常，在灭菌过程中使用两种低温灭菌剂时，每种灭菌剂以有效降低存在于灭菌器中的微生物数量的量使用。因此，从理论上说，如果灭菌剂中的一种不能使对象(例如，对象的内腔部分)完全灭菌，另一种灭菌剂应当足以完成使对象灭菌。研究者已认识到需要可用于区分用于低温灭菌过程的第一量的第一灭菌剂的功效与用于灭菌过程的第二量的第一灭菌剂或第二量的第二灭菌剂的功效的制品(例如生物指示器)。此外，本发明制品和方法提供了对灭菌过程的第一量中的一个的功效与第二量的功效的区分问题的解决方案。

[0007] 有利地，本发明的制品包括这样的特征结构，当在使对象有效灭菌的条件下，将制品暴露于采用第一量的其他有效量的过氧化氢(例如过氧化氢蒸汽)的灭菌过程时，该特征结构保护可测量生物活性免受第一量的过氧化氢的有害影响，否则即使将可测量生物活性暴露于第一量，都将导致生物活性的部分或全部失活。

[0008] 在一个方面，本发明提供制品。该制品可包括具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；设置在内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；以及有效量的用于中和过氧化氢的干燥试剂，该试剂设置在内部体积中。可测量生物活性的源和试剂均

与外容器外部的环境蒸汽连通。在任何实施例中，该制品还可包括联接到外容器的闭合器，其中联接到外容器的闭合器形成使蒸汽从外容器外部的环境进入内部体积的通道。

[0009] 在上述实施例中的任一个中，该制品还可包括可渗透过氧化氢的层，其中该层联接到外容器或闭合器，其中该层被置于可测量生物活性的源与外容器外部的环境之间。在上述实施例中的任一个中，该层可渗透第二灭菌剂，其中第二低温灭菌剂为除过氧化氢之外的低温灭菌剂。在上述实施例中的任一个中，开口可包括曲折路径。在上述实施例中的任一个中，可测量生物活性的源可包括酶活性或能够繁殖的微生物。在上述实施例中的任一个中，可将可测量生物活性的一部分设置在第一涂层中，该第一涂层任选地设置在第一基材上。在上述实施例中的任一个中，试剂可选自过氧化氢酶、硫代硫酸盐、亚硫酸氢盐和L-甲硫氨酸。在上述实施例中的任一个中，可将试剂的一部分设置在第一涂层中。

[0010] 在另一方面，本发明提供方法。该方法可包括使用包括以下步骤的过程处理制品：将制品置于灭菌室中，向室中引入第一量的第一灭菌剂，将制品暴露于第一灭菌剂一段时间，以及检测可测量生物活性。第一量的第一灭菌剂可能被怀疑包含有效量的过氧化氢。该制品可包括具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；设置在内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；以及有效量的用于中和过氧化氢的干燥试剂，该试剂设置在内部体积中。可测量生物活性的源和试剂均与外容器外部的环境蒸汽连通。在任何实施例中，该方法还可包括向室中引入第二量的第二灭菌剂以及将制品暴露于第二灭菌剂一段时间。

[0011] 在该方法的任一个实施例中，第二量的第二灭菌剂可能被怀疑包含过氧化氢，其中在将第一量引入室中后的预定时间将第二量引入室中；或者第二量的第二灭菌剂可能被怀疑包含有效量的除过氧化氢之外的灭菌剂。在该方法的上述实施例中的任一个中，第二灭菌剂可包括气体等离子体、臭氧、过乙酸、环氧乙烷或从它们衍生的离子。在该方法的上述实施例中的任一个中，检测可测量生物活性包括检测酶活性。在该方法的上述实施例中的任一个中，第二灭菌剂蒸汽或等离子体可包括臭氧、过乙酸、环氧乙烷或从它们衍生的离子。

[0012] 在又一个方面，本发明提供一种制品。该制品可包括具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；设置在内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；以及有效量的用于中和灭菌剂化合物的干燥试剂，该有效量被设置在内部体积中。可测量生物活性的源和试剂均与外容器外部的环境蒸汽连通。在任何实施例中，该制品还可包括可渗透灭菌剂化合物的层，其中该层联接到外容器，其中该层被置于可测量生物活性的源与外容器外部的环境之间。在任何实施例中，可测量生物活性的源可包括酶活性或能够繁殖的微生物。在任何实施例中，灭菌剂化合物可包含过氧化氢。

[0013] 词语“优选的”和“优选地”是指在某些情况下可以提供某些有益效果的本发明实施例。然而，在相同的情况或其他情况下，其他实施例也可以是优选的。此外，对一个或多个优选实施例的表述并不暗示其他实施例不是可用的，并且不意在将其他实施例从本发明的范围排除。

[0014] 本文所用的“一种(个)”、“所述(该)”、“至少一种(个)”以及“一种或多种(一个或多个)”可互换使用。因此，例如，包括“一个”窗口的闭合器可理解为意指闭合器可包括“一个或多个”窗口。

[0015] 如本文所用，“生物指示器”或“BI”是指用于监测灭菌过程的功效的生物体(例如微生物或孢子)和/或其生物活性(例如酶活性)或包括该生物体和/或其生物活性的制品。

[0016] 如本文所用，“独立式生物指示器”或“SCBI”是指这样的制品，该制品包括适于用作生物指示器的生物体和/或生物活性，以及检测生物体和/或生物活性的失活或其不足所必需的组分(例如营养物、指示试剂)。

[0017] 如本文所用，“低温灭菌过程”是指多种灭菌过程，这些过程不依赖于使待灭菌对象暴露于加压蒸汽(例如温度高于约120℃的蒸汽)足够一段时间以实现蒸汽使对象灭菌。低温灭菌过程的非限制性例子包括依赖于使对象暴露于环氧乙烷、过氧化氢、二氧化氯、戊二醛、甲醛或臭氧的组合物以实现灭菌的过程。

[0018] 术语“和/或”意指所列要素的一个或全部，或所列要素的任何两个或两个以上的组合。

[0019] 另外，本文通过端点表述的数值范围包括范围内包含的所有数值(如，1到5包括1、1.5、2、2.75、3、3.80、4、5等)。

[0020] 本发明的特征和优点应通过考虑优选的实施例的详细描述以及所附权利要求书而进行理解。如下结合本发明各种示例性实施例来描述本发明的这些和其他特征及优点。

[0021] 本发明的上述发明内容并不意在描述本发明的每个公开的实施例或每种实施方式。以下附图和具体实施方式更具体地举例说明了示例性实施例。通过具体实施方式、附图和权利要求书，其他特征、对象和优点将变得明显。

附图说明

[0022] 图1为根据本发明的制品的一个实施例的横截面侧视图。

[0023] 图2为图1的制品的分解图。

[0024] 图3A和图3B为基材的两个实施例的分解侧视图，该基材具有设置在其上的可测量生物活性的源和用于中和过氧化氢的试剂。

[0025] 图4为根据本发明的独立式生物指示器的实施例的横截面侧视图，该独立式生物指示器具有包含检测培养基的内容器。

[0026] 图5为图4的制品的分解图。

[0027] 尽管上述各图示出了本发明的若干个实施例，但是如讨论所述，还可以想到其他的实施例。在所有情况下，本发明仅示例性而非限制性地展示了本发明。应当理解，本领域的技术人员可以设想出许多其他的落入本发明的原理的范围和实质内的修改形式和实施例。附图可未按比例绘制。

具体实施方式

[0028] 在详细说明本发明的任何实施例之前，应当理解本发明在其应用时并不受限于下文描述中提及的或下列附图中所示的部件构造和布置细节。本发明可以具有其他实施例，并且能够以各种方式实践或实施。还应当理解，本文所用的措辞和术语的目的在于描述，而不应当被视作具有限制性。本文中所用的“包括”、“包含”或“具有”以及它们的变化形式意在涵盖其后所列举的项目及其等同项目以及附加项目。除非另外说明或限定，否则术语“连接”和“联接”及其变型均按广义使用，涵盖直接和间接这两方面的连接和联接。另外，“连

接”和“联接”不限于物理或机械连接或联接。应理解，其他的实施例也可采用，且可在不偏离本发明范围的情况下作出结构变化或逻辑变化。此外，诸如“前”、“后”、“顶部”、“底部”之类的术语仅用于描述元件彼此的关系，而决不用来描述装置的具体取向，也不用来指示或暗示装置的必要或需要的取向，或用来规定本文所述发明在使用过程中的操作、安装、显示或设置方式。

[0029] 本发明整体涉及用于测定灭菌过程的功效的方法和生物指示器制品。具体地讲，本发明涉及灭菌过程，该过程包括使对象暴露于过氧化氢(例如过氧化氢蒸汽和/或等离子体)。此外，本发明涉及灭菌过程，该过程包括使对象暴露于过氧化氢和至少一种其他低温灭菌剂(例如气体等离子体、臭氧、过乙酸、戊二醛、甲醛、环氧乙烷)。Shintani等人(GAS PLASMA STERILIZATION OF MICROORGANISMS AND MECHANISMS OF ACTION(REVIEW),2010, Experimental and Therapeutic Medicine,1:731-738(微生物的气体等离子体灭菌和作用机制(综述)，2010年，《实验和治疗医学》，第1卷，第731-738页))描述了微生物的气体等离子体灭菌，该文献全文以引用方式并入本文。

[0030] 使对象暴露于使用两个不同低温灭菌剂处理的过程可在低温灭菌剂处理中的一个失效的情况下提供附加的保护措施。本发明的制品可用作生物指示器或独立式生物指示器以监测灭菌过程的功效。

[0031] 用于测定灭菌过程的功效的生物指示器和化学指示器在领域中是熟知的。在常规生物指示器中，将生物活性(诸如测试生物)涂布于载体上并连同待灭菌制品一起置于灭菌器中，该测试微生物对所采用的灭菌过程具有比在天然污染物中存在的大多数生物高数倍的耐性。在完成灭菌循环之后，将载体在营养培养基中温育以测定测试生物的任一种在该灭菌工序之后是否存活。可检测的生物数量增长通常取24小时的最小值。在专利文献中已描述多个所谓的“独立式生物指示器”(SCBI)(例如，美国专利No.3,846,242、No.4,717,661、No.5,073,488、No.5,223,401、No.5,418,167、No.5,739,004、No.5,795,730，所述专利均全文以引用方式并入本文中)。

[0032] 此外，酶活性已用于测定灭菌过程的功效。美国专利No.5,073,488(其全文以引用方式并入本文)描述了酶(例如，β-D-葡糖苷酶、α-D-葡糖苷酶、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、丁酸酯酶、辛酸酯酶脂肪酶、肉豆蔻酸脂肪酶、亮氨酸氨基肽酶、缬氨酸氨基肽酶、胰凝乳蛋白酶、磷酸水解酶、α-D-半乳糖苷酶、β-D-半乳糖苷酶、α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶、N-乙酰基-8-氨基葡萄糖苷酶、β-D-纤维二糖糖苷酶、丙氨酸氨基肽酶、脯氨酸氨基肽酶、酪氨酸氨基肽酶、苯丙氨酸氨基肽酶、β-D-葡萄糖醛酸酶和脂肪酸酯酶)作为灭菌过程的生物指示器的有效性。

[0033] 研究者发现，当前可用的生物指示器可能不适于在对象暴露于灭菌过程(包括使对象暴露于多种化学性质不同的低温灭菌剂化合物)时，或者在对象暴露于包括不连续、连续暴露于相同灭菌剂化合物(例如过氧化氢)的灭菌过程时，区分单个的低温灭菌剂处理的功效。之所以使对象暴露于多种化学性质不同的低温灭菌剂化合物，是因为两种或更多种化学性质不同的低温灭菌剂均可能单独地使生物指示器的测试微生物和/或酶活性失活。因此，如果使生物指示器暴露于第一灭菌剂使得生物指示器完全失活，则不可能确定暴露于第二灭菌剂是否具有任何灭菌效果。除认识到该需求之外(即，对在采用至少两种化学性质不同的灭菌剂的过程中能够确定仅一种灭菌剂的功效的生物指示器而言)，研究者还提

供了满足该需求的制品和方法。

[0034] 在一个方面，本发明提供了一种用于测定灭菌过程的有效性的制品。虽然根据本发明制备的制品可用于调节生物指示器对于采用单个低温灭菌剂化合物的灭菌过程的耐性，但该制品特别适用于在采用两种不同的(例如化学性质不同的)低温灭菌剂化合物的低温灭菌过程中确定一种灭菌剂化合物的有效性。

[0035] 该制品包括具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；设置在内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；以及有效量的用于中和灭菌剂化合物(例如过氧化氢)的干燥试剂，该有效量被设置在内部体积中。可测量生物活性的源和试剂均与外容器外部的环境蒸汽连通。

[0036] 图1示出了根据本发明的制品100的一个实施例的横截面视图，图2示出了根据本发明的制品100的一个实施例的分解透视图。制品100包括具有至少一个限定内部体积的侧壁18的外容器10、包括开口14的第一末端12、以及第二末端16。开口14提供外容器10的内部体积与外容器10外部的环境(例如气体环境)之间的流体连通(例如蒸汽连通)。在任何实施例中，开口14可包括细菌不可渗透的曲折路径，诸如美国专利No.4,461,837(以引用方式并入本文)和公布于1989年11月28日的共同转让的共同待审的美国专利No.4,883,641中所述的。

[0037] 外容器10可具有多种形状，包括例如图1和图2中示出的正圆柱形。外容器10可由多种材料构造，包括例如玻璃和塑料。可使用本领域已知的工艺(例如挤出或模塑工艺)制造外容器10。在任何实施例中，可使用液体不可渗透的、基本上非气体吸收性的以及任选地透光的(例如，半透明的或基本透明的)材料制造外容器10。合适的材料的非限制性例子包括但不限于多种聚烯烃、聚乙烯、聚丙烯、聚碳酸酯、聚酰胺、聚甲基戊烯和聚酯。在其中制品100包括外容器10(该外容器具有设置在其中的内容器(如下文所述))的任何实施例中，优选地外容器10可充分变形，以使得可压力开启的内容器在外容器10变形时破裂。在任何实施例中，外容器10内可包括破裂插入装置(breaker insert device)(未示出)，并且该装置可用于在对制品100的闭合器40施加向下的轴向力时促进内容器(如下文所述)破裂。此类破裂插入装置在美国专利申请公布No.2012/0149094中提出，该专利申请公布全文以引用方式并入本文。

[0038] 在任何实施例中，制品100还包括任选的(例如通过摩擦配合)联接到外容器10的闭合器40。闭合器40由顶部41和下垂的侧壁42构成。闭合器40限制环境与容器10的内部体积之间(例如经由开口14)的蒸汽连通。闭合器40具有底部开放的中空主体，其中闭合器40的内径约等于外容器10的外径，以使得闭合器40可摩擦接合到外容器10的开口14上。在侧壁42内切割出多个窗口44。窗口44有利于环境与容器10的内部体积之间(例如经由开口14)的蒸汽连通。因此，联接到外容器10的闭合器40形成使蒸汽或等离子体从外容器外部的环境(例如经由窗口44)进入外容器10的内部体积的通道。在任何实施例中，联接到外容器10的闭合器40可形成包括曲折路径(未示出)的通道。

[0039] 虽然图2示出的实施例示出了闭合器40的侧壁42中的窗口44，但预期此外或作为另一种选择，闭合器40的顶部41可具有贯穿其延伸的一个或多个窗口(未示出)。

[0040] 将制品100置于待灭菌的负载中时，将闭合器40以外容器10的至少一个外部侧壁18不会阻塞窗口44的方式设置在外容器10中的开口14上。在这个位置中，灭菌器中的灭菌

剂蒸汽或等离子体可通过流经窗口44进入外容器10。在灭菌循环完成之后，可通过按压闭合器40以迫使外容器10的至少一个侧壁18抵靠闭合器40的顶部41的内表面而使闭合器40与外容器10完全接合，从而阻塞窗口44。然后，将外容器10的内部与外部环境密封隔离。

[0041] 在任何实施例中，制品100优选地还包括任选的层20。层20可渗透过氧化氢蒸汽和/或过氧化氢等离子体。在任何实施例中，层20还可渗透用于低温灭菌过程的至少一种其他灭菌剂化合物的蒸汽或等离子体。在任何实施例中，层20可基本上不渗透微生物(例如，细菌、孢子、酵母和/或霉菌)。至少一种其他灭菌剂蒸汽或等离子体的非限制性例子包括气体等离子体(例如，氧气、氮气、氦气或氩气的等离子体)、臭氧、过乙酸和环氧乙烷。在任何实施例中，层20可包含非织造片材，例如纺粘烯烃片材。

[0042] 用于制备层20的其他合适的材料包括纤维材料，诸如棉花、玻璃棉、布、由聚丙烯制成的非织造纤维网、人造丝、聚丙烯/人造丝、尼龙、玻璃纤维或其他纤维、滤纸、微孔疏水性和亲水性膜、开孔聚合物泡沫以及半渗透塑料膜，诸如美国专利No.3,346,464中描述的那些。优选纤维或多孔材料，因为此类材料易于传递灭菌气体。优选的层20材料包括疏水性材料，诸如尼龙纤维网、微孔疏水性膜或玻璃纤维非织造纤维网。特别优选的是以商品名“CELGAR K-442微孔膜(CELGAR K-442Microporous Film)”从北卡罗纳州夏洛特市塞拉尼斯分离产品公司(Celanese Separations Products,Charlotte,NC)商购获得的微孔疏水性膜。

[0043] 将层20设置在制品100中，使得层20置于可测量生物活性的源(如下文所述)与外容器10外部的环境之间。例如，可以将层20压配到外容器10的开口14中并(例如通过摩擦配合)保持在适当位置，或层20可在开口14上方延伸并通过多种装置保持在适当位置，所述装置包括例如夹具、松紧带、粘合剂或闭合件(如下文所述)。或者，可以将层20压配到闭合器40中，或以其他方式联接到闭合器(例如，经由粘合剂或夹具，未示出)，并且闭合器40可以经由例如摩擦配合联接到外容器10，从而将层20定位在外容器10的内部体积与外容器外部的环境之间，如图1和图2所示。

[0044] 实际上，纤维层或多孔层20可以充当防止细菌和真菌渗透到外容器10中的过滤器。因此，层20应具有不大于约0.5微米的孔径(例如，能够防止尺寸大于约0.5微米的粒子经由其通过)。在任何实施例中，该层可与上文所述曲折路径结合使用。

[0045] 制品100还包括可测量生物活性的源30。可测量生物活性的源30设置在外容器10的内部体积中。在任何实施例中，可将生物活性的源30设置在外容器10中的一个位置，该位置使层20(如果存在)的至少一部分置于生物活性的源30与外容器10外部的环境之间。因此，因为开口14、闭合器40(如果存在)和层20(如果存在)允许灭菌剂化合物进入根据本发明的外容器10的内部体积，设置在外容器中的可测量生物活性的源30与外容器10外部的环境中存在的灭菌剂化合物蒸汽连通。

[0046] 在不存在缓解因子诸如本文所述的用于中和灭菌剂化合物的试剂(例如，用于中和过氧化氢的试剂)的情况下，当可测量生物活性的源30暴露于包含灭菌剂化合物(例如，过氧化氢蒸汽或过氧化氢等离子体)的环境时，本发明的任何制品中的可测量生物活性可受到调节的影响(例如，局部或全部失活)。在任何实施例中，在不存在缓解因子的情况下，当可测量生物活性的源30暴露于包含灭菌剂化合物的蒸汽或等离子体的环境时，本发明的任何制品中的可测量生物活性可受到不可逆调节的影响(例如，局部或全部失活)。

[0047] 此外，当源30暴露于包含至少一种除过氧化氢之外的灭菌剂蒸汽或等离子体(例如，气体等离子体、臭氧、过乙酸或环氧乙烷)的环境时，本发明的任何制品中的可测量生物活性易受调节的影响(例如，局部或全部失活)。优选地，通过使可测量生物活性的源30暴露于包含至少一种除过氧化氢之外的灭菌剂蒸汽或等离子体(例如，气体等离子体、臭氧、过乙酸或环氧乙烷)的大气环境，不可逆地调节本发明的任何制品中的可测量生物活性的至少一部分(例如，局部或全部失活)。在更优选的实施例中，使本发明的包括可测量生物活性的源的任何制品暴露于使用除过氧化氢之外的灭菌剂蒸汽或等离子体(例如，气体等离子体、臭氧、过乙酸或环氧乙烷)的有效灭菌过程，将使全部可测量生物活性不可逆地失活。

[0048] 在任何实施例中，可测量生物活性的源30为基本上干燥的(例如粉末)。在任何实施例中，可将可测量生物活性的源30的至少一部分(例如，至多并包括100％部分的任何部分)设置在表面上的第一涂层(例如干燥涂层)中。在任何实施例中，可将第一涂层以液态涂料施加于表面，随后用本领域已知的工艺干燥。可测量生物活性的源30设置在外容器10中介于开口14与第二末端16之间。优选地，可测量活性源30设置在外容器10中介于层20(如果存在)与第二末端16之间的一个位置，该位置使层20的至少一部分置于生物活性的源30与开口14之间。在任何实施例中，可将生物活性的源30设置在外容器10中与开口14间隔开的位置(例如，生物活性的源紧邻第二末端16定位)处，以使得灭菌剂很可能基本上渗透到外容器10中以接触生物活性的源30。因此，因为层20可渗透灭菌剂蒸汽或等离子体(例如过氧化氢蒸汽或等离子体)，所以可测量生物活性的源30与外容器10外部的环境中的灭菌剂蒸汽或等离子体蒸汽连通。

[0049] 任选地，可将可测量生物活性的源30设置在(例如，涂布到和/或粘附到)第一基材35的表面上。第一基材35可采取例如片材形式。第一基材35的尺寸被设计为贴合到外容器10内。第一基材35可以包含例如金属、玻璃、玻璃纤维、膜、非织造材料、聚合物(例如，聚丙烯、聚乙烯、聚酯)或金属涂布的聚合物。在一些实施例中，第一基材可以包含纤维素材料，前提条件是纤维素材料基本上不与用于灭菌过程的灭菌剂化合物中的一者或多者反应。

[0050] 在任何实施例中，可测量生物活性的源30可以包括能够繁殖的测试微生物(例如，细菌或孢子)。生物指示器(下文称“BI”)中常规使用测试微生物以监测灭菌条件。这些常规使用的测试微生物对于所采用的灭菌过程通常比在天然污染物中遇到的大多数生物体具有高数倍的耐性。细菌孢子被公认为是具有最高耐性的微生物生命形式。其在用于确定灭菌装置、化学物质和工艺的灭菌功效的所有测试中均为所选生命形式。来自芽孢杆菌属(Bacillus)和梭状芽胞杆菌属(Clostridia)物种的孢子是用于监测采用饱和蒸汽、干热、γ辐照和环氧乙烷的灭菌过程的最常用测试微生物。

[0051] 在任何实施例中，可测量生物活性的源30可以包括涂布到第一基材35上并干燥的细菌或孢子的悬浮液。在任何实施例中，可将可测量生物活性的源30的至少一部分(例如，至多并包括100％部分的任何部分)设置在第一基材35上。或者，可将可测量生物活性的源直接沉积到容器中(例如，容器的壁18上邻近第二末端处，未示出)。在这些实施例中，可将可测量生物活性的源以液体悬浮液沉积，随后用本领域已知的工艺干燥。

[0052] 测试微生物(例如细菌或孢子)的可测量生物活性可以是其生长和繁殖的能力。因此，可以通过直接或间接测量多个微生物来检测(例如测量)生物活性。在一些实施例中，通过测量与存在生长中的微生物相关的代谢活性(例如，代谢副产物，诸如有机酸)来测量生

物活性。由生长中的微生物产生有机酸允许通过检测pH下降(例如,通过使用当pH下降时颜色改变的pH指示剂)检测生物活性。

[0053] 作为另外一种选择或除此之外,可测量生物活性的源30可以包括酶。可用于本发明实践的酶包括胞外酶和胞内酶,其活性与常用于监测灭菌功效的至少一种测试微生物的生存能力相关。所谓“相关”是指酶活性在背景上可用于预测测试微生物的未来生长。酶必须是这样的酶,在对测试微生物亚致死的灭菌循环后,该酶在24小时内(并且在优选的实施例中在8小时或更少时间内)保持与酶的底物体系反应的充分活性,但在将对测试微生物致死的灭菌循环后,该酶失活或活性明显减低。根据本发明可用的示例性酶包括来自嗜热脂肪地芽孢杆菌(Geobacillus stearothermophilus)的孢子的α-D-葡糖苷酶,诸如可以“ATCC 8005”和“ATCC 7953”从维吉尼亚州马纳萨斯美国模式培养物保藏所(American Type Culture Collection,Manassas,VA)商购获得的那些,以及来自萎缩芽胞杆菌(Bacillus atrophaeus)的β-D-葡糖苷酶(例如,可以“ATCC 9372”从美国模式培养物保藏所(American Type Culture Collection)商购获得)。其他合适的酶和用于识别合适的酶的方法可见于美国专利No.5,073,488。

[0054] 在可测量生物活性的源为酶的任何实施例中,可测量生物活性的源30可以是:1)衍生自合适微生物的纯化的和/或分离的酶;2)具有固有酶或通过基因工程添加酶的微生物;或3)在孢子形成或生长期间已添加酶的微生物,使得酶与微生物结合或相连,例如,在孢子形成期间将酶添加到孢子中,从而结合到孢子内。可用作本发明实践可用的酶源的优选微生物是孢子或营养态的细菌或真菌。特别优选的酶源包括例如来自芽孢杆菌属、杆菌属(Geobacillus)、梭菌属(Clostridium)、脉孢属(Neurospora)和念珠菌属(Candida)的微生物物种。

[0055] 返回附图,制品还包括用于中和灭菌剂化合物(例如过氧化氢)的试剂50。将试剂50设置在制品内部(例如,外容器10的内部体积)。通常通过使过氧化氢分解为水和氧气来中和过氧化氢。在本说明书和所附权利要求中,相对于过氧化氢,“中和”和“分解”可互换使用,是指通过其使过氧化氢失活的过程。用于中和过氧化氢的合适的试剂包括多种组合物,包括例如过氧化氢酶、过氧化物酶和其他过氧化物中和催化剂。优选的组合物是过氧化氢酶,更优选的是过氧化氢酶冻干粉。用于中和臭氧的合适的试剂包括例如硫代硫酸盐、金属离子(Cu+)和硝基离子。用于中和甲醛的合适的试剂包括例如甘氨酸。用于中和戊二醛的合适的试剂包括例如亚硫酸氢盐化合物(参见例如Susan L.P.Jordan(1996):INACTIVATION OF GLUTARALDEHYDE BY REACTION WITH SODIUM BISULFITE,Journal of Toxicology and Environmental Health,47:3,299-309(Susan L.P.Jordan,1996年,“通过与亚硫酸氢钠的反应使戊二醛失活”,《毒理学与环境卫生杂志》,第47卷,第3期,第299-309页);和H-W Leung(2001)ECOTOXICOLOGY OF GLUTARALDEHYDE:REVIEW OF ENVIRONMENTAL FATE AND EFFECTS STUDIES,Ecotoxicology and Environmental Safety,49:26-39(H-W Leung,2001年,“戊二醛生态毒理学:环境归趋和效应研究综述”,《生态毒理学与环境安全》,第49卷,第26-39页);所述文献均全文以引用方式并入本文中)。

[0056] 在任何实施例中,用于中和灭菌剂化合物的试剂可以包括包含多种化合物(例如,亚硫酸氢钠和硫代硫酸钠)的干燥组合物(例如干燥混合物)。多种化合物可以中和相同的灭菌剂化合物和/或它们可以中和不同的灭菌剂化合物。使用化合物的液体混合物中和高

水平消毒剂在例如Espigares等人(EFFICACY OF SOME NEUTRALIZERS IN SUSPENSION TESTS DETERMINING THE ACTIVITY OF DISINFECTANTS,J.Hospital Infection,2003,55:137-140("确定消毒剂活性的悬浮液测试中的一些中和剂的功效",《医院感染杂志》,2003年,第55卷,第137-140页))中有所描述,该文献全文以引用方式并入本文。

[0057] 用于中和灭菌剂化合物的试剂50任选地与诸如糖、盐的稳定剂(例如粉末)、本领域熟知的其他稳定剂或它们的组合混合。稳定剂不仅延长了催化剂的储存寿命,而且增加了要使用的粉末量。这是需要的,因为本发明的制品几乎不需要纯试剂(例如酶,诸如过氧化氢酶)。优选地,稳定剂不妨碍制品100中的微生物(如果存在)的生长。用于中和过氧化氢的其他合适的试剂包括硫代硫酸盐、亚硫酸氢盐和L-甲硫氨酸。

[0058] 诸如铂、钯、铁等金属催化剂也是合适的过氧化氢中和剂。优选地,金属催化剂不会抑制制品中的微生物(如果存在)的生长。因为可能需要高表面积以促进过氧化氢的快速中和,所以金属催化剂的优选形式为金属细粉或细陶瓷粉上的金属涂层。

[0059] 设置在容器10中的试剂50的量应足以中和足够的灭菌剂(例如过氧化氢),从而在制品100暴露于典型的灭菌过程时保护(即,防止杀死或灭活)可测量活性的至少一部分,所述灭菌过程采用具有足够灭菌剂(例如过氧化氢)蒸汽或等离子体以采用别的方式杀死或灭活所有生物活性的环境。用于中和过氧化氢灭菌剂的试剂量可以根据试剂与过氧化氢催化反应(即,一分子试剂可与超过一分子过氧化氢反应)或是化学计量反应(即,一分子试剂只能与一分子过氧化氢反应)而变化。用于制品的中和剂的量还可取决于其中使用中和剂的过氧化氢灭菌过程。本文的例子提供可用试剂量的指导并提供可用于用低温灭菌过程中使用的任何给定灭菌剂(例如过氧化氢)测试任何给定试剂的简易程序。

[0060] 在任何实施例中,用于中和灭菌剂化合物的试剂50为基本上干燥的(例如粉末)。在任何实施例中,可将试剂50的至少一部分(例如,至多并包括100%部分的任何部分)设置在表面上的第二涂层(例如干燥涂层)中。在任何实施例中,可将第二涂层以液态涂料施加于表面,随后用本领域已知的工艺干燥。将试剂50设置在外容器10中层20与第二末端16之间。将试剂50设置在外容器10中的一个位置,该位置使层20的至少一部分置于试剂50与开口14之间。因此,因为层20可渗透灭菌剂(例如过氧化氢)蒸汽或等离子体,所以试剂50与外容器10外部的环境中的灭菌剂蒸汽或等离子体蒸汽连通。

[0061] 可以将试剂50设置在外容器10中的多个位置中。在任何实施例中,可以将试剂50的至少一部分(例如至多并包括100%部分的任何部分)设置在第一基材35上,如图3A和图3B所示。或者,可以将试剂直接沉积到容器中(例如,容器的壁上邻近第二末端处,未示出)。在任何实施例中,可以将试剂以液体悬浮液沉积,随后用本领域已知的工艺干燥。优选地,可以将试剂50设置在外容器10中邻近可测量生物活性的源30处。

[0062] 在任何实施例中,可以将试剂50设置为与可测量生物活性的源30接触。例如,可以将可测量生物活性的源30设置为第一基材35上的第一涂层,并且可以将试剂50设置为与源30的至少一部分重叠的第二涂层,如图3A所示。或者,可以将可测量生物活性的源30设置为第一基材35上的第一涂层,并且可以将试剂50设置为邻近第一涂层的第二涂层,如图3A所示。在可供选择的实施例(未示出)中,将可测量生物活性的源设置为第一基材上的第一涂层,并将用于中和过氧化氢的试剂设置为第二基材上的第二涂层。在任何实施例中,第二基材可以包括本文所述的层20。在这些实施例中,可将第二涂层施加到层20的面向外容器10

的内部体积的表面。因此，在任何实施例中，可将用于中和灭菌剂的试剂50设置为邻近开口14和闭合器(如下文所述，如果存在)。

[0063] 在任何实施例中，制品还可包括营养物(未示出)以促进孢子的萌发或长出。在任何实施例中，制品还可包括指示剂(未示出)以指示微生物的生长和/或指示可测量酶活性的存在。可以将营养物和/或指示剂设置在上文所述的第一涂层或第二涂层中。

[0064] 在任何实施例中，本发明的制品还可包括设置在外容器中的内容器。图4和图5示出了根据本发明的包括内容器的制品200的一个实施例的两个视图。制品200包括外容器10、层20和闭合器40，如上文所述。制品200还包括第一基材35，在该第一基材上设置了可测量生物活性的源(未示出)和用于中和低温灭菌剂(例如过氧化氢)的试剂，两者均如上文所述。此外，制品200包括设置在外容器10中的内容器60。内容器60设置在外容器10中介于层20与第二末端16之间。内容器60包含药剂65以有利于检测生物活性。在任何实施例中，药剂可溶解或悬浮于水性液体中。

[0065] 内容器60可以包含酶底物和/或水性营养培养基的水溶液。内容器60使用不可渗透气体和液体的材料制造，并且在对其施加压力时能够打开(即，“可压力开启”)，以允许酶底物和/或营养培养基进入外容器10。内容器60优选地为易碎材料，诸如玻璃；并且优选地紧密保持在外容器10中与其形成协作关系，以允许在外容器10变形时打破或压破内容器60。在另一个实施例中(未示出)，内容器可用塞子密封，使得在施加压力时塞子被挤出，从而释放内容器的内容物。在另一个实施例中(未示出)，闭合器可以包括如美国专利No.4,304,869中所示的安瓿粉碎装置，其中闭合器具有从闭合装置底部下垂的凸片，在按压闭合装置时，该凸片用于压碎安瓿。

[0066] 在其中可测量生物活性的源是微生物并且生物活性的检测包括检测微生物的生长的实施例中，试剂可以包含营养物，以促进微生物孢子的萌发和/或促进微生物的生长。在其中可测量生物活性的源是微生物(例如，来自萌发的孢子的微生物)并且生物活性的检测包括检测微生物的生长的实施例中，试剂可以包含指示剂(例如，pH指示剂、显色酶底物、荧光酶底物)，以便于检测活微生物。用于检测包括微生物的可测量生物活性的源的合适的试剂(即，营养物、营养培养基、生长培养基和指示剂)在例如美国专利No.3,346,464、No.3,585,112、No.4,291,122、No.4,416,984、No.4,528,268、No.5,073,488、和No.5,223,401中有所描述；所述专利均全文以引用方式并入本文中。

[0067] 在其中可测量生物活性的源是酶活性并且生物活性的检测包括检测酶活性的实施例中，本发明的试剂可以包含酶底物。用于检测包括酶活性的可测量生物活性的源的合适指示剂包括例如氧化还原指示剂、显色酶底物和荧光酶底物。根据本发明的用于检测酶活性的合适的指示试剂的非限制性例子公开于美国专利No.5,073,488和No.6,355,448中；所述专利全文以引用方式并入本文中。

[0068] 在另一个方面，本发明提供了一种用于测定灭菌过程的有效性的方法。该方法包括使用灭菌过程处理本发明的实施例中的任何一个的制品以及检测制品的可测量生物活性。制品包括干燥的可测量生物活性的源和有效量的用于中和低温灭菌剂化合物(例如过氧化氢)的干燥试剂，如本文所述。灭菌过程包括将制品置于灭菌室中；向灭菌室中引入第一量的第一灭菌剂，其中第一量的第一灭菌剂被怀疑包含有效量的过氧化氢；以及使制品暴露于第一灭菌剂一段时间。

[0069] 灭菌室可以是适于进行低温灭菌过程的任何室。用于采用环氧乙烷(参见例如美国专利No.4,337,223)、过氧化氢(参见例如美国专利No.6,953,549,该专利全文以引用方式并入本文)和臭氧(参见例如美国专利申请公布No.US 2011/0076192,该专利全文以引用方式并入本文)的低温灭菌过程的合适灭菌室的非限制性例子已有描述。

[0070] 通常,在灭菌过程中处理制品包括将待灭菌制品置于容器中以及向容器中引入或在容器中产生有效量的灭菌剂蒸汽或等离子体(例如,第一灭菌剂蒸汽或等离子体或第二灭菌剂蒸汽或等离子体),从而在容器中形成使制品暴露于其中的环境(例如,气体和/或等离子体环境)。优选地,在适用于有效量的第一灭菌剂蒸汽或等离子体对制品灭菌的条件下,将制品保持在容器中。本领域的普通技术人员将认识到合适的条件。合适的条件可以包括但不限于装入容器中的材料的量和类型、容器的温度、容器中的大气压、容器的相对湿度、制品保持在容器中的时间长度以及上述条件的两个或更多个的组合。

[0071] 第一灭菌剂可以是在低温灭菌过程中适于用作蒸汽和/或等离子体的任何灭菌剂化合物;灭菌剂化合物是这样的化合物,针对该化合物识别可在制品中以基本上干燥的形式提供的对应中和剂。合适的第一灭菌剂化合物的非限制性例子包括过氧化氢和臭氧。

[0072] 该方法包括向灭菌室中引入第一量的第一灭菌剂。通常,引入灭菌室中的第一量为被怀疑为有效量的灭菌剂的量。如本文所用,灭菌剂的“有效量”是指引入灭菌室中的灭菌剂化合物的量(即,将灭菌剂作为蒸汽相或等离子体相引入灭菌室中和/或将灭菌剂引入灭菌室中(例如,作为液体或固体)并在灭菌室中转化为蒸汽相或等离子体相)。根据在低温灭菌过程中使用第一灭菌剂的典型参数(例如,温度、暴露时间、相对湿度或上述参数中的任何两个的组合),第一量的第一灭菌剂足以将生物指示器中的活测试微生物(例如,易受灭菌剂化合物影响的孢子)的数量降低至少2个对数。

[0073] 在任何实施例中,第一灭菌剂包含过氧化氢。包括使制品暴露于包含有效量的过氧化氢蒸汽或等离子体的环境的步骤的灭菌过程是本领域已知的并且在例如美国专利No.4,169,123、4,169,124、4,643,876和4,756,882中有所描述;所述专利均全文以引用方式并入本文中。此外,商用灭菌器(例如,得自加利福尼亚州尔湾的高级灭菌产品公司(Advanced Sterilization Products(ASP)(Irvine,CA))的STERRAD NX灭菌器;得自俄亥俄州门托的STERIS公司(STERIS Corporation(Mentor,OH))的AMSCO V-PRO 1灭菌器)包括灭菌容器和使制品暴露于包含有效量的过氧化氢蒸汽或等离子体的环境的自动化程序。

[0074] 用于过氧化氢灭菌过程的自动化程序中的一些能够向灭菌室中引入(例如,通常以连续方式)过氧化氢蒸汽(VHP),直至VHP的浓度达到预定值。可通过在引入VHP时测量室中的压力来估算室中的VHP量。其他自动化程序能够在不同时间向室中引入至少两种不同量的过氧化氢。因此,在任何实施例中,该方法还可包括向室中引入第二量的第二灭菌剂,其中第二灭菌剂包含过氧化氢。初次引入过氧化氢向室中引入了有效量,随后注入过氧化氢补充了可由于冷凝、降解和/或与被处理负载中存在的材料(包括微生物)相互作用而消耗的过氧化氢蒸汽,从而确保灭菌过程的功效。在任何实施例中,第二量可被怀疑为包括有效量的过氧化氢。

[0075] 处理根据本方法的制品包括使制品暴露于第一灭菌剂一段时间。本领域普通技术人员将认识到,为了使对象(例如本发明的制品)去污或灭菌,过程的功效取决于灭菌剂的量(例如灭菌室中的灭菌剂浓度)、使对象暴露于灭菌剂的时间长度,并且可取决于其他因

素，例如负载和/或室的温度、相对湿度以及灭菌室中存在的材料的量和/或类型(例如，相对于灭菌剂的吸收性能)。下面的例子提供了典型过程的通用指南；然而，正如本领域普通技术人员所熟知的，参数可根据所需结果变化。

[0076] 如上文所述，在任何实施例中，本公开的方法包括向室中引入第二量的第二灭菌剂。可将第二灭菌剂作为蒸汽或等离子体引入室中，或者，可在室中转变为蒸汽或等离子体形式。在任何实施例中，第二灭菌剂包含除过氧化氢之外的灭菌剂化合物。合适的第二灭菌剂包括但不限于气体等离子体、臭氧、二氧化氯、过乙酸、环氧乙烷或从它们衍生的离子。在本方法的任何实施例中，第二量可被怀疑包括有效量的第二灭菌剂。

[0077] 包括使制品暴露于包含有效量臭氧的环境的步骤的灭菌过程是本领域已知的并且在例如PCT专利公布No.WO 92/04057中有所描述，该专利公布全文以引用方式并入本文。包括使制品暴露于包含有效量的蒸汽相过乙酸的环境的步骤的灭菌过程也是本领域已知的并且在例如PCT专利公布No.WO 2012/173756中有所描述，该专利公布全文以引用方式并入本文。包括使制品暴露于包含有效量的气态环氧乙烷的环境的步骤的灭菌过程也是本领域已知的(参见例如美国专利No.4,337,223和美国专利申请公布No.US 2007/0292305，所述专利全文以引用方式并入本文)。

[0078] 最近，已开发出能够使制品暴露于两种不同类型灭菌剂蒸汽和/或等离子体的灭菌器。能够使制品暴露于两种不同灭菌剂的组合物的示例性灭菌器在美国专利申请公布No.2011/0076192中有所描述，该专利全文以引用方式并入本文。商用灭菌器(3M OPTREOZ 125-Z灭菌器或其等同物，得自加拿大魁北克市的TS03(TS03(Quebec City,Canada)))能够向灭菌室中引入第一量的第一灭菌剂(例如蒸汽相过氧化氢)和第二量的第二灭菌剂(例如臭氧)，以便对制品灭菌。因此，使用根据本发明的灭菌过程处理制品可包括将制品置于适于使制品暴露于两种不同灭菌剂的灭菌容器中(例如，类似于3M OPTREOZ 125-Z灭菌器的灭菌容器)

[0079] 根据本发明方法的任何实施例，在处理制品(例如，暴露于第一灭菌剂和/或第二灭菌剂一段时间)之后，检测可测量活性。用于检测可测量活性的程序将根据可测量生物活性的源和制品中存在的组分的性质而变化。

[0080] 例如，当可测量生物活性的源包括活微生物(例如，细菌、酵母或孢子)时，检测可测量生物活性可包括使用培养基培养微生物。在这些实施例中，检测可测量生物活性可包括温育与培养基接触的生物活性的源一段时间。本领域普通技术人员将认识到，根据被培养的特定微生物的典型要求选择温育温度。例如，可以在37℃左右的温度下温育萎缩芽孢杆菌的孢子，而可以在56℃左右的温度下温育嗜热脂肪地芽孢杆菌的孢子。

[0081] 可在制品中培养微生物(例如，通过在灭菌过程之后将合适的培养基加入制品或通过使内容器破裂以向外容器中释放内容器中包含的合适的培养基和/或指示试剂)。本领域普通技术人员将认识到用于检测培养基中的多种微生物的多种方法。方法包括但不限于使用显色或荧光酶底物观察与活微生物相关的酶促反应，使用显色或荧光氧化还原指示剂观察与活微生物相关的氧化或还原反应，使用pH指示剂观察由活微生物产生的酸性或碱性代谢物的产生。

[0082] 常用于本发明的营养培养基的类型是本领域众所周知的。优选的营养培养基的例子是大豆酪蛋白消化液的水溶液、流体硫基乙醇酸盐和葡萄糖胰蛋白胨(Difco

Laboratories,Inc.)。特别优选的是不含葡萄糖的改性胰酶大豆液体培养基基料。为避免污染,通常在将此类水性营养培养基置于内容器之后对其灭菌。众所周知的微生物生长指示剂(其在存在活微生物的情况下改变颜色)优选地存在于容器中的至少一个中。生长指示剂材料优选地可溶于水性营养培养基并(在微生物生长时)赋予其颜色,以使得可通过外容器的半透明壁容易地观察到颜色变化。此外,优选地选择生长指示剂材料,以使其不会妨碍酶改性产物的颜色或发光。可用于本发明的生长指示剂材料是本领域已知的并包括pH-敏感性染料指示剂(诸如溴百里酚蓝、溴甲酚红紫、酚红等)、氧化还原染料指示剂(诸如亚甲蓝等)。此类材料通常响应于微生物生长的迹象(诸如pH变化、氧化还原电位等)而发生颜色变化。

[0083] 观察与活微生物相关的反应可包括使用仪器检测反应。观察与活微生物相关的反应可包括使用仪器测量反应产物(例如,显色或荧光产物)。在任何实施例中,检测可测量生物活性可以包括检测可测量生物活性的不存在。

[0084] 当可测量生物活性的源包括酶活性时,检测可测量生物活性可包括使用酶底物体系(例如,包含发光酶底物、显色酶底物或荧光酶底物)检测可测量生物活性。在这些实施例中,检测可测量生物活性可以包括温育与酶底物接触的生物活性的源一段时间。

[0085] 在本申请的上下文中,酶底物体系定义为通过酶起作用并转变成酶改性产物的物质或物质混合物。一般来讲,酶改性产物是发光、荧光、有色或放射性材料。然而,酶底物体系可由与酶反应时将生成产物的化合物组成,该产物将与另外的化合物或组合物反应生成发光、荧光、有色或放射性材料。优选地,如果在灭菌过程中指示剂装置将要包括底物体系,则底物不能在灭菌或温育过程中自发地分解或转变成可检测产物。例如,在用于监测采用过氧化氢蒸汽或等离子体和臭氧蒸汽或等离子体的过程的装置中,底物体系的组分应该在介于约20℃和80℃之间的温度下稳定。并且优选地,如果酶底物体系将要保存于常规的生长培养基中和/或与常规的生长培养基一起使用,其在与生长培养基接触时应该是稳定的(例如,基本上不自发水解)。

[0086] 检测包括酶活性的可测量生物活性包括观察通过酶活性(例如,直接或间接)催化的反应的产物。观察通过酶活性催化的反应的产物可包括使用仪器检测产物。观察通过酶活性催化的反应的产物可包括使用仪器测量产物(例如,明亮产物、有色产物或荧光产物)。在任何实施例中,检测可测量生物活性可以包括检测可测量生物活性的不存在。

[0087] 监测本发明的可测量生物活性的荧光产物的优选方法是使用为本发明的制品特别设计(例如,被构造为可操作地联接到外容器)的荧光计。荧光计消除了在视觉上尝试区分低水平的荧光产物和背景荧光(例如,由于营养培养基(如果存在)的组分)或无荧光时所遇到的主观判读。可校正荧光计以检测给定温育周期内的最低量的荧光产物。

[0088] 被设计为与本发明的装置一起使用的特别优选的荧光计由室组成,该室被设计用于阻挡环境光,同时将制品的外容器设置为使得外容器内的可测量生物活性的源可被365nm波长紫外光照明,并且可使用光电二极管在460nm波长区域内检测任何所得的荧光。可校正荧光计以检测荧光的阈值量,从而辨别可测量生物活性的存在。

[0089] 本发明的方法可用于测定用于采用如本文所述的第一灭菌剂化合物和第二灭菌剂化合物的灭菌过程的第二灭菌剂量的有效性。有利地,不管第一灭菌剂化合物和第二灭菌剂化合物是相同化合物还是不同化合物都是可能的。用于中和灭菌剂化合物(例如第一

灭菌剂化合物，诸如过氧化氢）的试剂防止第一灭菌剂化合物使可测量生物活性的源失活（例如，部分或全部失活）。因此，如果在制品暴露于第一灭菌剂化合物和第二灭菌剂化合物两者之后，检测到可测量活性（例如，检测到可测量活性的至少一部分或全部），则可得出结论：灭菌过程（一般来讲）和第二灭菌剂化合物的量（具体地讲）不能有效地使制品灭菌。

[0090] 示例性实施例

[0091] 实施例A是一种制品，其包括：

[0092] 具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；

[0093] 设置在内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；以及

[0094] 有效量的用于中和过氧化氢的干燥试剂，该试剂设置在内部体积中；

[0095] 其中可测量生物活性的源和试剂两者均与外容器外部的环境蒸汽连通。

[0096] 实施例B是实施例A的制品，还包括联接到外容器的闭合器，其中联接到外容器的闭合器形成使蒸汽或等离子体从外容器外部的环境进入内部体积的通道。

[0097] 实施例C是实施例A或实施例B的制品，还包括可渗透过氧化氢的层，其中该层联接到外容器或闭合器，其中该层被置于可测量生物活性的源与外容器外部的环境之间。

[0098] 实施例D是实施例C的制品，其中该层可渗透过氧化氢和第二低温灭菌剂，其中第二低温灭菌剂是除过氧化氢之外的低温灭菌剂。

[0099] 实施例E是前述权利要求中任一项的制品，其中开口或通道包括曲折路径。

[0100] 实施例F是前述实施例中任一项的制品，其中可测量生物活性包括酶活性。

[0101] 实施例G是实施例A至E中任一项的制品，其中可测量生物活性是能够繁殖的微生物。

[0102] 实施例H是实施例G的制品，其中微生物是内生孢子。

[0103] 实施例I是前述实施例中任一项的制品，其中第二灭菌剂选自气体等离子体、臭氧、过乙酸和环氧乙烷。

[0104] 实施例J是前述实施例中任一项的制品，其中可测量生物活性的源的一部分设置在第一涂层中。

[0105] 实施例K是实施例J的制品，其中制品还包括第一基材，其中第一涂层设置在第一基材上。

[0106] 实施例L是前述实施例中任一项的制品，其中试剂选自过氧化氢酶、硫代硫酸盐、亚硫酸氢盐和L-甲硫氨酸。

[0107] 实施例M是前述实施例中任一项的制品，其中试剂的一部分设置在第一涂层中。

[0108] 实施例N是前述实施例中任一项的制品，其中试剂的一部分设置在第二涂层中。

[0109] 实施例O是实施例N的制品，其中制品还包括第二基材，其中第二涂层的一部分设置在第二基材上。

[0110] 实施例P是实施例O的制品，其中层为第二基材，其中第二涂层设置在第二基材上或其中。

[0111] 实施例Q是实施例N至P中任一项的制品，其中第二涂层邻近第一涂层。

[0112] 实施例R是实施例Q的制品，其中第二涂层的一部分与第一涂层重叠。

[0113] 实施例S是实施例G至R中任一项的制品，还包括营养物以促进微生物的生长。

[0114] 实施例T是前述实施例中任一项的制品，还包括能够与可测量生物活性的源反应

的指示剂。

[0115] 实施例U是实施例S或实施例T的制品，其中营养物或指示剂设置在内容器中，该内容器设置在外容器中介于第一末端与第二末端之间。

[0116] 实施例V是一种方法，其包括：

[0117] 使用包括以下步骤的过程处理前述实施例中任一项的制品：

[0118] 将制品置于灭菌室中；

[0119] 向室中引入第一量的第一灭菌剂，其中第一量的第一灭菌剂被怀疑包含有效量的过氧化氢；

[0120] 使制品暴露于第一第二灭菌剂一段时间；以及

[0121] 检测可测量生物活性。

[0122] 实施例W是实施例V的方法，还包括：

[0123] 向室中引入第二量的第二灭菌剂；和

[0124] 使制品暴露于第二灭菌剂一段时间。

[0125] 实施例X是实施例W的方法，其中第二量的第二灭菌剂被怀疑包含过氧化氢，其中在将第一量引入室中后的预定时间将第二量引入室中。

[0126] 实施例Y是实施例W的方法，其中第二量的第二灭菌剂被怀疑包含有效量的除过氧化氢之外的灭菌剂。

[0127] 实施例Z是实施例X的方法，其中在将第一量引入室中后将第二量引入室中。

[0128] 实施例AA是实施例V至Z中任一项的方法，其中使制品暴露于第一灭菌剂包括在适用于第一灭菌剂的功效的条件下使制品暴露于第一灭菌剂。

[0129] 实施例BB是实施例V至AA中任一项的方法，其中使制品暴露于第二灭菌剂包括在适用于第二灭菌剂的功效的条件下使制品暴露于第二灭菌剂。

[0130] 实施例CC是实施例W至BB中任一项的方法，其中第二灭菌剂包括气体等离子体、臭氧、过乙酸、环氧乙烷或从它们衍生的离子。

[0131] 实施例DD是实施例V至CC中任一项的方法，其中检测可测量生物活性包括检测酶活性。

[0132] 实施例EE是实施例V至DD中任一项的方法，其中检测可测量生物活性包括检测pH变化。

[0133] 实施例FF是制品，包括：

[0134] 具有内部体积的外容器、包括开口的第一末端、以及第二末端；

[0135] 设置在内部体积中的干燥的可测量生物活性的源；和

[0136] 有效量的用于中和低温灭菌剂化合物的干燥试剂，该有效量被设置在内部体积中；

[0137] 其中可测量生物活性的源和试剂两者均与外容器外部的环境蒸汽连通。

[0138] 实施例GG是实施例FF的制品，还包括可渗透低温灭菌剂化合物的层，其中该层联接到外容器，其中该层被置于可测量生物活性的源与外容器外部的环境之间。

[0139] 实施例HH是实施例FF的制品，其中开口包括曲折路径。

[0140] 实施例II是实施例FF至HH中任一项的制品，其中可测量生物活性的源包括酶活性。

[0141] 实施例JJ是实施例FF至HH中任一项的制品，其中可测量生物活性的源是能够繁殖的微生物。

[0142] 实施例KK是实施例FF至JJ中任一项的制品，其中低温灭菌剂化合物包含过氧化氢。

[0143] 以下实例进一步说明了本发明的优点和实施例，但是这些实例中所列举的具体材料及其量以及其他条件和具体细节均不应被理解为对本发明的不当限制。除非另有规定或者显而易见，否则所有的材料均可商购获得或者是本领域技术人员已知的。

[0144] 实例

[0145] 灭菌器系统和灭菌循环参数。

[0146] 用STERRAD NX灭菌器(得自加利福尼亚州尔湾的高级灭菌产品公司(Advanced Sterilization Products(ASP)(Irvine,CA)))和3M OPTREOZ 125-Z灭菌器(得自加拿大魁北克市的TS03(TS03(Quebec City,Canada)))，使下面实例中描述的生物指示器(BI)暴露于采用过氧化氢灭菌的灭菌循环。灭菌剂浓度和暴露时间不同。在STERRAD NX灭菌器中，使BI暴露于标准(“全”)循环和3分钟(“半”)循环暴露。半循环使用注入灭菌室中的较小量的灭菌剂过氧化氢。在3M OPTREOZ 125-Z灭菌器中，使一些BI暴露于使用过氧化氢随后使用臭氧的全“循环2”，并且使一些BI暴露于11.84托(1.58kPa)仅有过氧化氢的循环。STERRAD NX循环和OPTREOZ循环的描述在下表1和表2中列出。

[0147] 表1:STERRAD NX灭菌器:标准循环和3分钟暴露循环

[0148]

循环阶段	受控参数	标准循环	3 分钟半循环
1)递送	允许进入灭菌器的 59% H_2O_2 溶液的体积	1.8mL	1.0mL
2)暴露	暴露于 H_2O_2	3 分钟	3 分钟
相数		2	1
循环持续时间近似值（空室）		28 分钟	14 分钟

[0149] 表2:OPTREOZ 125Z灭菌器:循环2和仅有过氧化氢的循环

[0150]

循环阶段	受控参数	循环 2	仅过氧化氢
1)真空	压力	1 托(0.133kPa)	1 托(0.133kPa)
2) H_2O_2 注入	允许的 50% H_2O_2 溶液的 P_v	19 托(2.53kPa)	11.84 托(1.58kPa)
3) O_3 注入	注入的臭氧剂量	10mg/L	0mg/L
4)暴露	持续时间	5 分钟	0 分钟
相数		2	1
循环持续时间近似值（空室）		56 分钟	少于 50 分钟

[0151] 实例1-5

[0152] 通过将过氧化氢酶定位在示例性生物指示器内的不同位置，评估作为用于中和过氧化氢的试剂的过氧化氢酶在保护孢子免受暴露于过氧化氢灭菌过程的影响方面的效应。下文所述实例中使用了得自密苏里州圣路易斯西格玛奥德里奇公司(Sigma Aldrich, St.Louis,MO)的牛肝过氧化氢酶冻干粉。向市售的3M ATTEST 1274生物指示器和3M ATTEST 1292快速读数生物指示器中添加过氧化氢酶，由此改造这两种指示器，添加方式如下：针对实例1至4中的每个实例制备十个生物指示器(BI)样品，并针对实例5制备十二个生物指示器样品。在如下文所述制备实例1至5之后，使经改造的生物指示器样品经历上表1中所述的STERRAD NX灭菌器标准循环。下表3以所评价的阳性/总BI的比率示出了灭菌生物指示器的结果。阳性结果意味着，过氧化氢酶酶活性在防止过氧化氢灭菌剂杀死BI中的全部孢子方面是有效的。

[0153] 通过如下方式制备实例1中所用的生物指示器制品：首先拆卸若干得自明尼苏达州圣保罗3M公司(3M Company(St.Paul,MN))的3M ATTEST 1274生物指示器。1274生物指示器的零部件包括具有开口的外容器(套筒)、包含营养培养基和用于检测生物活性的指示剂的密封玻璃内容器(安瓿)、包括小圆形金属试片(包含涂布到其上的嗜热脂肪地芽孢杆菌孢子)的第一基材、蓝色顶盖过滤材料(即，如上文所述的“层”)以及闭合器。另外，从一卷12407TYVEK®卷材切出1.27cm直径的DUPONT牌TYVEK材料块，该卷材具有得自加利福尼亚州尔湾的高级灭菌产品公司(Advanced Sterilization Products(ASP)(Irvine,CA))的STERRAD®化学指示剂。该TYVEK材料的圆形切块有意地不包括化学指示剂，但仅用作在其上设置过氧化氢酶的第二基材材料。用10mg/mL过氧化氢酶水溶液对该TYVEK第二基材加标以递送200μg过氧化氢酶/BI。使过氧化氢酶加标的TYVEK材料干燥。通过重新组装以下部件制备实例1-5的改造的生物指示器：首先将孢子涂布的第一基材置于外容器底部中；接下来，将包含营养培养基和用于检测生物活性的指示器的内容器置于外容器中；然后将过氧化氢酶加标的第二基材置于外容器中。最后，将闭合器摩擦配合到外容器的开口上。因此，在该例子中，将蓝色顶盖过滤材料(即，如本文所述的“层”)替换为过氧化氢酶加标TYVEK材料。

[0154] 以如实例1的相同方式制备实例2，不同的是使用不同的第二基材材料。使用由95/5PP/人造丝纤维网材料组成的不同非织造纤维网材料，而非从一卷具有STERRAD®化学指示剂的12407TYVEK®卷材切出的TYVEK材料。95/5PP/人造丝材料是由95%聚丙烯(单组分)纤维和5%LENZING(单组分)人造丝纤维以135gsm的基重制成并通过(用一个平滑辊和另一个具有大约17%点粘合图案的辊)的双辊压延法在160℃下梳理的梳理非织造纤维网。人造丝纤维是LENZING VISCOSE 1.7分特、39mm切割长度、亮本白人造丝纤维(纽约州纽约市的兰精纤维公司(Lenzing Fibers;New York,NY))。聚丙烯纤维是FIBERVISIONS T-133/HY-Entangle 1.7分特聚丙烯纤维(佐治亚州德卢斯维顺公司(FiberVisions Corporation;Duluth,GA))。此外，对实例2加标3个水平的过氧化氢酶，以针对实例2-1、实例2-2和实例2-3分别实现：20μg、100μg和200μg过氧化氢酶/BI。使过氧化氢酶加标的第二基材材料干燥，然后重新组装BI。

[0155] 使用如第二基材材料的95/5PP/人造丝纤维网材料，以如实例2的相同方式制备实例3。然而，在实例3中，在将孢子涂布的第一基材置于外容器底部中之后，重新组装3M

ATTEST 1274BI组件;接下来,将过氧化氢酶加标的第二基材置于孢子涂布的第一基材上;然后插入包含营养培养基和用于检测生物活性的指示器的内容器,然后插入蓝色顶盖过滤材料。最后,将闭合器摩擦配合到外容器上。因此,与实例1和实例2相比,在实例3中,将过氧化氢酶设置为更接近孢子。此外,对实例3加标2个水平的过氧化氢酶,以针对实例3-1和实例3-2分别实现:20μg和200μg过氧化氢酶/BI。使过氧化氢酶加标的第二基材干燥,然后重新组装BI。

[0156] 以如实例3的相同构造制备实例4,即将过氧化氢酶涂布的第二基材定位在孢子涂布的第一基材与包含生长培养基和指示器的内容器之间。然而,通过使用3M ATTEST 1292快速读数生物指示器,而不是3M ATTEST 1274BI制备实例4。3M ATTEST 1292快速读数生物指示器具有与1274BI相同数量、以相同方式取向的组件。然而,3M ATTEST 1292快速读数BI中的顶盖过滤材料(即,如上文所述的“层”)是白色聚丙烯(PP)熔喷纤维网材料。该PP纤维网过滤材料取自不同的3M ATTEST 1292快速读数BI,并用作过氧化氢酶涂布的第二基材材料。将水性过氧化氢酶储备溶液加标到该第二基材材料上以实现约200μg过氧化氢酶/BI的负载使其干燥然后重新组装。

[0157] 通过如下方式制备实例5,首先拆卸若干3M ATTEST 1274生物指示器,然后将水性过氧化氢酶储备溶液直接加标到涂布到金属第一基材上的孢子上,在室温条件下使其干燥,然后重新组装生物指示器。

[0158] 参考例1.

[0159] 以与实例1完全相同的方式制备参考例1(实例1的对照),不同的是TYVEK第二基材材料未用过氧化氢酶加标。

[0160] 参考例2.

[0161] 与参考例1一样,通过制备与实例2完全相同的样品,但没有过氧化氢酶加标到95/5PP/人造丝纤维网第二基材材料上,来制备称为参考例2的对照。

[0162] 参考例3

[0163] 与参考例1和参考例2一样,通过制备与实例3完全相同的样品,但没有过氧化氢酶加标到95/5PP/人造丝纤维网材料上,来制备称为参考例3的对照。

[0164] 参考例4

[0165] 类似上述参考例,以与实例4完全相同的方式制备称为参考例4的对照,但没有任何过氧化氢酶加标到第二基材材料上。

[0166] 参考例5

[0167] 类似上述参考例,以与实例5完全相同的方式制备称为参考例5的对照,但没有任何过氧化氢酶加标到第二基材材料上。

[0168] 表3:对中和过氧化氢起作用的过氧化氢酶在生物指示器中的位置

[0169]

实例	过氧化氢酶量/BI	第二基材材料	过氧化氢酶涂布的第二基材位置	阳性 BI/全 BI
参考例 1	0μg/BI	TYVEK	接近闭合器	0/10
实例 1	200μg/BI	TYVEK	接近闭合器	0/10
参考例 2	0μg/BI	PP/人造丝	接近闭合器	0/10
实例 2-1	20μg/BI	PP/人造丝	接近闭合器	0/10
实例 2-2	100μg/BI	PP/人造丝	接近闭合器	0/10
实例 2-3	200μg/BI	PP/人造丝	接近闭合器	0/10
参考例 3	0μg/BI	PP/人造丝	孢子载体上方	0/10
实例 3-1	20μg/BI	PP/人造丝	孢子载体上方	0/10
实例 3-2	200μg/BI	PP/人造丝	孢子载体上方	6/10
参考例 4	0μg/BI	PP 纤维网	孢子载体上方	0/10
实例 4	200μg/BI	PP 纤维网	孢子载体上方	10/10
参考例 5	0μg/BI	无/直接	直接位于孢子上	0/12
实例 5	200μg/BI	无/直接	直接位于孢子上	10/12

[0170] 实例6-9

[0171] 实例6-9中评价了不同水平的各种过氧化氢中和剂对于孢子对过氧化氢灭菌过程的耐性的效应。通过添加如下文所述的各种中和剂对可商购获得的3M ATTEST 1274生物指示器进行改造。对于每个样品组，使4个类似制备的生物指示器(BI)经历相同灭菌循环。下表4以所评价的阳性/总BI的比率示出了实例6-9的灭菌生物指示器的结果。阳性结果意味着，中和剂在防止过氧化氢灭菌剂杀死BI中的全部孢子方面是有效的。

[0172] 通过如下方式制备实例6：首先拆卸若干3M ATTEST 1274生物指示器。然后，类似实例5，将一定量的水性过氧化氢酶溶液直接加标到金属孢子载体试片上的孢子上，以实现4个水平的过氧化氢酶：4μg、20μg、50μg和100μg过氧化氢酶/BI。使过氧化氢酶溶液干燥，然后将经改造的3M ATTEST 1274生物指示器以其原始构造重新组装。参考例6是对照，因此没有添加过氧化氢酶。

[0173] 以与实例6相同的方式制备实例7，不同的是使用硫代硫酸钠代替过氧化氢酶作为过氧化氢中和剂。硫代硫酸钠($Na_2S_2O_3$)(无水，≥98.0%)得自密苏里州圣路易斯西格玛奥德里奇公司(Sigma Aldrich Company(St.Louis,MO))。将4个水平的硫代硫酸钠加标到孢子上：20μg、100μg、200μg和2000μg硫代硫酸钠/BI。

[0174] 以与实例6相同的方式制备实例8，不同的是使用亚硫酸氢钠代替过氧化氢酶作为过氧化氢中和剂。亚硫酸氢钠($HNaO_3S$)(试剂级)由BDH制造，并且通过宾夕法尼亚州拉德诺的VWR公司(VWR(Radnor,PA))获得。将4个水平的亚硫酸氢钠加标到孢子上：20μg、200μg、250μg和2500μg亚硫酸氢钠/BI。

[0175] 以与实例6相同的方式制备实例9，不同的是使用甲硫氨酸代替过氧化氢酶作为过

氧化氢中和剂。甲硫氨酸(99.00%)得自新泽西州吉布斯敦的Calbiochem\EMD化学品公司(Calbiochem,EMD Chemicals(Gibbstown,NJ))并以500μg/BI加标到孢子上。

[0176] 表4:不同水平的各种过氧化氢中和剂。数据显示了每个被测组的生长阳性生物指示器的数量。除了称为“NT”的那些之外,对于每个组测试4个生物指示器。

[0177]

实例	中和剂浓度/BI	STERRAD NX 3 分钟半循环	STERRAD NX 标准循环	OPTREOZ 仅 H_2O_2	OPTREOZ 循环 2
参考例 6	0（对照）	0/4	0/4	0/4	0/4
实例 6-1	4μg 过氧化氢酶	0/4	0/4	0/4	0/4
实例 6-2	20μg 过氧化氢酶	4/4	0/4	4/4	0/4
实例 6-3	50μg 过氧化氢酶	4/4	4/4	4/4	4/4
实例 6-4	100μg 过氧化氢酶	4/4	4/4	4/4	3/4
实例 7-1	20μg $Na_2S_2O_3$	0/4	0/4	4/4	0/4
实例 7-2	100μg $Na_2S_2O_3$	4/4	2/4	4/4	0/4
实例 7-3	200μg $Na_2S_2O_3$	4/4	3/4	4/4	0/4
实例 7-4	2000μg $Na_2S_2O_3$	4/4	4/4	NT	NT
实例 8-1	20μg $HNaO_3S$	2/4	0/4	0/4	3/4
实例 8-2	200μg $HNaO_3S$	4/4	4/4	0/4	0/4
实例 8-3	250μg $HNaO_3S$	4/4	4/4	1/4	NT
实例 8-4	2500μg $HNaO_3S$	4/4	4/4	4/4	NT
实例 9	500μg 甲硫氨酸	4/4	0/4	0/4	NT

[0178] NT＝未测试

[0179] 本文引用的所有专利、专利申请、出版物和电子文献的全部公开内容以引用方式并入。在本专利申请的公开内容和以引用方式并入本文的任何文件的公开内容之间存在任何矛盾的情况下,应以本专利申请的公开内容为准。给出上述详细说明及实例仅为清楚地理解本发明。这些说明和实例不应被理解成对本发明进行不必要的限制。而且,本发明并不局限于本文所显示及所描述的具体细节,本发明的各种变化对于本领域技术人员来说是显而易见的,这些变化都包括在本发明由权利要求书所界定的范围内。

[0180] 所有的标题是为了阅读者方便,而不应该被用于限制该标题后面的正文的含义,除非是这么规定的。

[0181] 在不脱离本发明的实质和范围的前提下,可以进行各种修改。这些和其他实施例均在以下权利要求书的范围内。

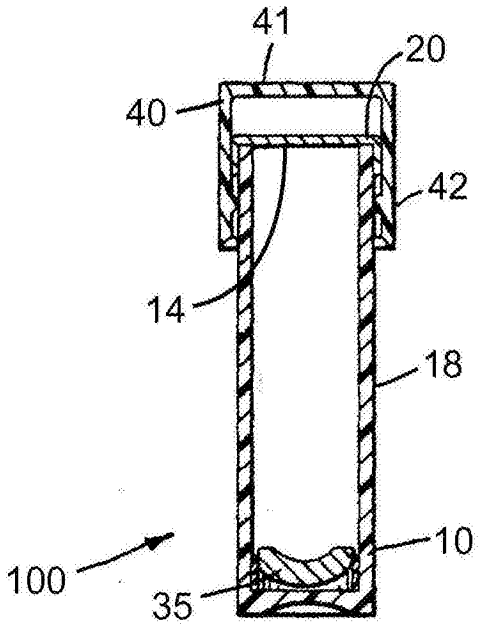


图1

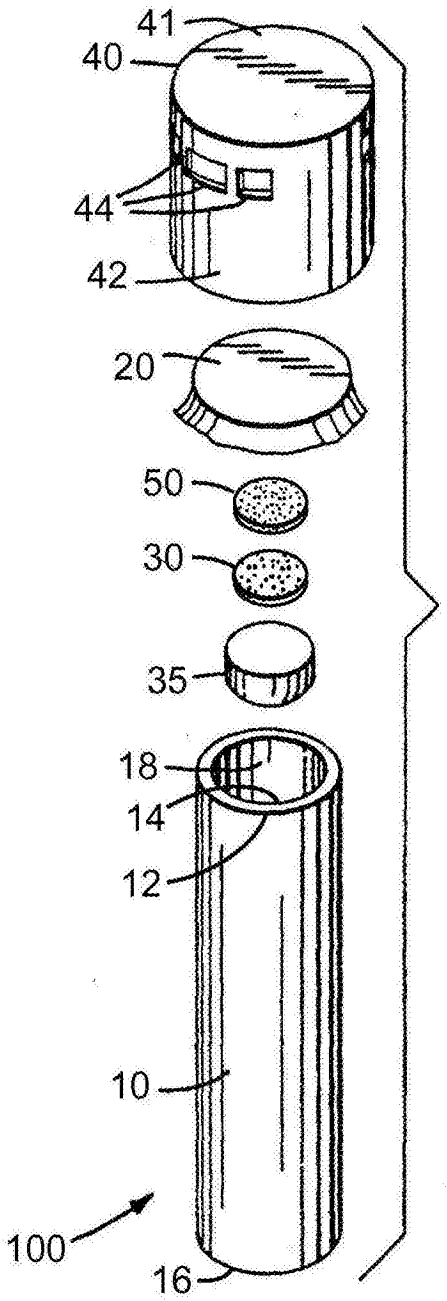


图2

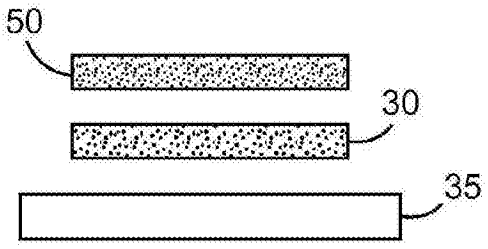


图3A

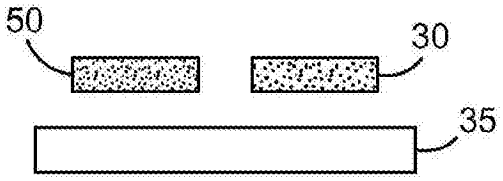


图3B

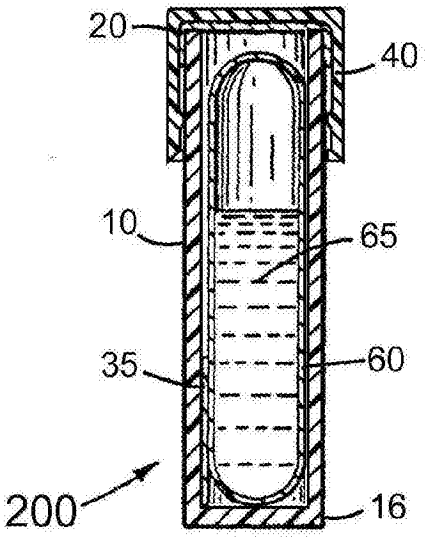


图4

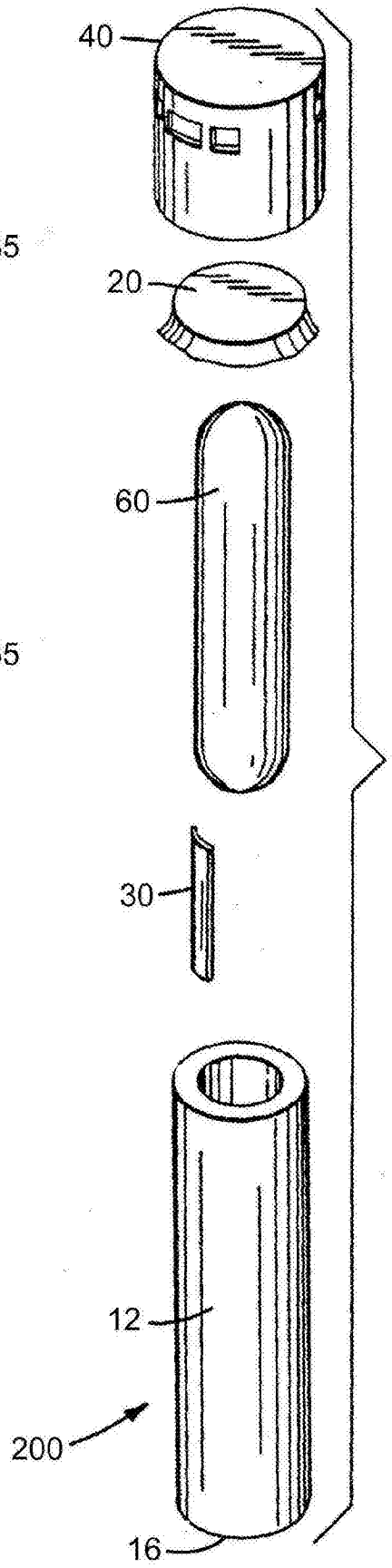


图5