



(21) 申请号 201780081010.4
(22) 申请日 2017.12.22
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110121551 A
(43) 申请公布日 2019.08.13
(30) 优先权数据
62/439,676 2016.12.28 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.06.27
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/068233 2017.12.22
(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/125811 EN 2018.07.05
(73) 专利权人 3M创新有限公司
地址 美国明尼苏达州
(72) 发明人 E·D·布鲁蒂内尔 A·J·扬
(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256
专利代理师 李勇 袁元

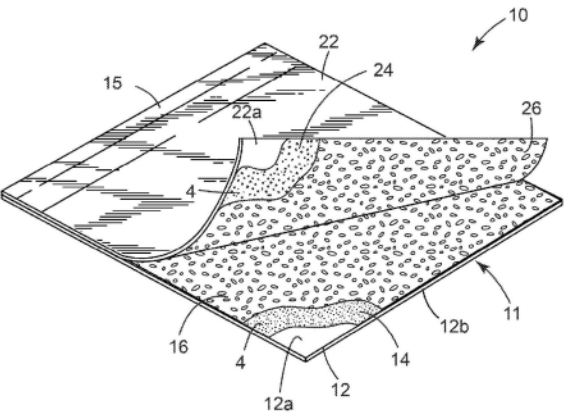
(51) Int.Cl.
C12M 1/16 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
(56) 对比文件
US 5232838 A,1993.08.03
CN 102958584 A,2013.03.06
US 2010209966 A1,2010.08.19
WO 2017019345 A1,2017.02.02
CN 105683388 A,2016.06.15
CN 104854232 A,2015.08.19
CN 104854233 A,2015.08.19
WO 0138559 A2,2001.05.31
CN 106103689 A,2016.11.09
CN 102471747 A,2012.05.23
CN 102762711 A,2012.10.31
JP H08336381 A,1996.12.24
CN 105754849 A,2016.07.13
审查员 陈云华

权利要求书2页 说明书22页 附图10页

(54) 发明名称
微生物检测装置及其使用方法

(57) 摘要

本发明提供了用于微生物检测的装置,所述装置包括主体构件,所述主体构件包括具有第一主表面和第二主表面的基材。所述装置还包括粘附到所述第一主表面的一部分上的第一粘合剂组合。基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒分布在所述第一粘合剂组合物中,并且冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物粘附到所述第一粘合剂组合物上。所述装置还包括附接到所述主体构件上的覆盖片,其中所述覆盖片包括面向所述主体构件的第一主表面。提供了包括防水小袋、进一步包括多孔膜式过滤器的装置。另外提供了使用所述装置检测和计数样本中的至少一种微生物的方法。



1. 一种微生物检测装置,所述装置包括:
主体构件,所述主体构件包括基材,所述基材具有第一主表面和第二主表面;
粘附到所述第一主表面的一部分上的第一粘合剂组合物;
分布在所述第一粘合剂组合物中的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒;
粘附到所述第一粘合剂组合物上的冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物;以及
附接到所述主体构件上的覆盖片,其中所述覆盖片包括面向所述主体构件的第一主表面。
2. 根据权利要求1所述的装置,还包括粘附到所述覆盖片的第一主表面的一部分上的第二粘合剂组合物。
3. 根据权利要求2所述的装置,还包括分布在所述第二粘合剂组合物中的基本上干燥的第二微生物生长营养物质组合物的多个颗粒。
4. 根据权利要求3所述的装置,其中所述第二微生物生长营养物质组合物的多个颗粒包括所述第二微生物生长营养物质组合物的多个颗粒簇。
5. 根据权利要求1所述的装置,其中所述第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒包括所述第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒簇。
6. 根据权利要求5所述的装置,其中所述第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒簇的平均长度为250微米或更小。
7. 根据权利要求5所述的装置,其中所述第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒簇的平均长度在10微米至100微米的范围内(包括端值在内)。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的装置,其中所述第一粘合剂组合物包括溶剂型粘合剂。
9. 根据权利要求1所述的装置,其中所述第一粘合剂组合物包括丙烯酸烷基酯共聚物。
10. 一种微生物检测装置,所述微生物检测装置包括:
一种防水小袋,包括:
具有内表面和外表面的第一壁部分;
具有内表面和外表面的第二壁部分;
多孔膜式过滤器,所述多孔膜式过滤器设置在所述小袋内,所述小袋在所述第一壁部分的内表面和所述第二壁部分的内表面之间,所述膜式过滤器具有第一主表面和与所述第一主表面相对的第二主表面;
第一隔室,所述第一隔室部分由所述第一壁部分的内表面限定并且部分由所述膜式过滤器的第一主表面限定;
可密封样本端口,所述可密封样本端口提供将液体沉积到所述第一隔室中的通道;
第二隔室,所述第二隔室部分由所述第二壁部分的内表面限定并且部分由所述膜式过滤器的第二主表面限定;
其中所述膜式过滤器允许含水液体从所述第一隔室进入所述第二隔室并防止预定尺寸的颗粒从所述第一隔室进入所述第二隔室;
粘附到所述第一隔室中的小袋的一部分上的粘合剂组合物;
分布在所述粘合剂组合物中的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个

颗粒；

粘附到所述粘合剂组合物上的冷水可溶性水凝胶-形成组合物；以及
设置在所述第二隔室中的吸收垫。

11. 根据权利要求10所述的装置，其中所述装置的尺寸被设定成接纳具有25mL至150mL（包括端值在内）的体积的液体样本。

12. 根据权利要求10所述的装置，其中所述粘合剂组合物包括溶剂型粘合剂。

13. 根据权利要求10至权利要求12中任一项所述的装置，其中所述第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒包括所述第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒簇。

14. 一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法，所述方法包括：

提供根据权利要求1所述的装置；

将所述覆盖片与所述基材分离；

将包含至少一种微生物的预定体积的样本加到所述第一水凝胶-形成组合物上以形成经接种的装置；

使所述覆盖片返回接触所述基材；

温育所述经接种的装置；以及

检测所述微生物的菌落在所述装置中存在与否。

15. 一种检测和清点样本中的至少一种微生物的方法，所述方法包括：提供根据权利要求10所述的装置；

将预定体积的含水样本置于所述装置的第一隔室中；

密封所述样本端口；

温育所述装置；以及

检测所述微生物的菌落在所述装置中存在与否。

微生物检测装置及其使用方法

技术领域

[0001] 本公开涉及用于培养和检测微生物的装置,包括微生物生长营养物质。本公开还涉及使用该装置检测或计数微生物的方法。

背景技术

[0002] 已经开发了多种培养装置。作为一个示例,明尼苏达州圣保罗市(St. Paul, Minnesota)的3M公司(3M Company,在下文中称为“3M”)已开发出培养装置。具体地讲,培养装置由3M公司以商品名PETRIFILM板进行出售。培养装置可用于方便常常与食物污染相关的微生物的快速生长和检测,包括(例如)好氧菌、大肠杆菌、大肠菌群、肠杆菌、酵母、霉菌、金黄色酿脓葡萄球菌、李氏杆菌、弯曲杆菌等。例如,PETRIFILM板或其他生长培养基的使用可简化食物样品的细菌测试。

[0003] 可使用培养装置来计数或识别细菌的存在,从而使得可进行改善的测定(就食物测试而言)或者可进行正确的诊断(就医学用途而言)。在其他应用中,可利用培养装置来使实验室样品中的微生物快速生长,如,用于实验目的。

发明内容

[0004] 提供用于增殖或储存微生物的装置和方法。在第一方面,提供一种装置。更具体地讲,提供了一种装置,其包括主体构件,该主体构件包括基材,该基材具有第一主表面和第二主表面。该装置还包括粘附到第一主表面的一部分上的第一粘合剂组合物。基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒分布在第一粘合剂组合物中,并且冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物粘附到第一粘合剂组合物上。该装置还包括附接到主体构件上的覆盖片,其中覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。

[0005] 在第二方面,提供了另一种微生物检测装置。微生物检测装置包括一个防水小袋,其包括具有内表面和外表面的第一壁部分、具有内表面和外表面的第二壁部分、以及设置在小袋内,在第一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间的多孔膜式过滤器。膜式过滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面。防水小袋还包括部分由第一壁部分的内表面限定并且部分由膜式过滤器的第一主表面限定的第一隔室、以及提供将液体沉积到第一隔室中的通道的可密封样本端口。另外,防水小袋包括部分由第二壁部分的内表面限定并且部分由膜式过滤器的第二主表面限定的第二隔室、以及设置在第二隔室中的吸收垫。膜式过滤器允许含水液体从第一隔室进入第二隔室并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室进入第二隔室。防水小袋还包括粘附到第一隔室中的小袋的一部分上的粘合剂组合物、分布在粘合剂组合物中的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒、以及粘附到粘合剂组合物上的冷水可溶性水凝胶-形成组合物。

[0006] 在第三方面,提供检测和计数样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括提供根据第一方面的一种装置、将第一层与第二层分离、以及将包含至少一种微生物的预定体积的样本加到第一水凝胶-形成组合物上以形成经接种的装置。该方法还包括使第一层返

回接触第二层、温育经接种的装置、以及检测靶微生物的菌落在装置中存在与否。

[0007] 在第四方面,提供检测和计数样品中的至少一种微生物的方法。该方法包括提供根据第二方面的一种装置,将预定体积的含水样本置于装置的第一隔室中、密封样本端口、温育装置、以及检测靶微生物的菌落在装置中存在与否。

[0008] 该装置和方法可简便而迅速地检测微生物。

附图说明

[0009] 图1A是微生物培养装置的示例性实施方案的局部剖视的顶部透视图。

[0010] 图1B是微生物培养装置的另一个示例性实施方案的局部剖视的顶部透视图。

[0011] 图2是图1A的装置的剖视图,包括任选的垫片。

[0012] 图3A为根据本公开的示例性实施方案的粘合剂组合物层的表面的扫描电镜 (SEM) 图像。

[0013] 图3B为根据本公开的示例性实施方案的另一个粘合剂组合物层的表面的SEM图像。

[0014] 图3C为根据本公开的示例性实施方案的一个粘合剂组合物层的横截面的SEM图像。

[0015] 图3D为根据本公开的示例性实施方案的另一个粘合剂组合物层的横截面的SEM图像。

[0016] 图4是图2的装置的顶视图,示出了印在基材层上的网格图案。

[0017] 图5为根据本公开的装置的一个实施方案的透视图。

[0018] 图6为图5的装置的另一个局部剖视透视图。

[0019] 图7是沿图6的装置的线7—7截取的剖视图。

[0020] 图8是图6的装置的分解剖视图。

[0021] 图9为图5装置的一个可供选择的实施方案的局部剖视平面图,示出粘合带和可剥离地粘附到其上的隔离衬片,它们形成可密封的样本端口。

[0022] 图10为根据本公开的装置的一个可供选择的实施方案的平面图,其中该装置包括具有螺帽的可密封样本端口。

[0023] 图11为根据本公开的培养装置的又一个另选实施方案的分解图。

[0024] 图12A是图11的装置的第一子组件。

[0025] 图12B是图11的装置的第二子组件。

[0026] 图13为图11的装配装置的平面图。

[0027] 图14是沿图13的装置的线14—14截取的剖视图。

[0028] 虽然可能未按比例绘制的以上附图示出了本公开的各种实施方案,但还可以设想其它实施方案,如在具体实施方式中所指出。

具体实施方式

[0029] 提供了用于增殖或存储微生物的装置和方法。

[0030] 通过端点表述的任何数值范围旨在包括范围的端点、范围内的所有数以及所述范围内的任何较窄范围(例如1至5包括1、1.5、2、2.75、3、3.8、4和5)。除非另外指明,否则本说

说明书和实施方案中所使用的表达量或成分、性质测量等的所有数字在所有情况下均应理解成由术语“约”来修饰。因此,除非有相反的说明,否则在上述说明书和所附实施方案列表所示出的数值参数可根据本领域的技术人员利用本公开的教导内容寻求获得的期望属性而变化。最低程度上说,并且在不试图将等同原则的应用限制到受权利要求书保护的实施方案的范围内的情况下,每个数值参数应至少根据所报告的数值的有效数位的数量并通过应用惯常的四舍五入法来解释。

[0031] 对于以下定义术语的术语表,除非在权利要求书或说明书中的别处提供不同的定义,否则整个申请应以这些定义为准。

[0032] 术语表

[0033] 在整个说明书和权利要求书中使用某些术语,虽然大部分为人们所熟知,但仍可能需要作出一些解释。应当理解,如本文所用:

[0034] 术语“一个”、“一种”和“该”、“所述”可互换使用,其中“至少一个(种)”意指一个(种)或多个(种)所述要素。

[0035] 术语“和/或”是指任一者或两者。例如,表达“A和/或B”意指A、B或A与B的组合。

[0036] “簇”是指一组附聚的和/或聚集的颗粒。

[0037] “团聚”是指初级粒子或聚集的粒子通常通过电荷或极性保持在一起的弱缔合。例如,团聚粒子在液体中分散时遇到的剪切力通常可将团聚粒子分解成更小的物体。术语“聚集的”和“聚集体”是指初级粒子通常通过(例如)残余化学处理、共价化学键或离子化学键键合在一起的强缔合。聚集体进一步分解成为更小的实体是很难实现的。

[0038] “冷水溶性”是指在室温(即约25℃)下形成水溶液的材料。

[0039] “疏水”是指在表面上表现出90°或更大水接触角的材料。

[0040] “不透明的”是指透光率为至多10%的基材。

[0041] “粉末”是指平均直径在0.1微米至400微米范围内的细分微粒材料。

[0042] “复水的培养基”是指用含水液体对冷水可溶性粉末进行复水所形成的溶液或凝胶。

[0043] 如本文所用,“微生物和水蒸汽基本上不可透过的”是指这样的覆盖片:其防止在装运、储存和使用薄膜培养装置(一种或多种)的过程中不期望地污染和水化冷水可溶性粉末的下面层,并避免复水的培养基变干燥,使得复水的培养基适合支持微生物在温育期间生长。

[0044] 如本文所用,“基本上不含水”指示水含量不大于约周围环境的水含量。

[0045] 如本文所用,“测试样本”是指从食物产品、人或动物测试受试者、药物或化妆品、土壤、水、空气、其他环境源或任何由其可确定好氧和/或耐氧细菌的存在和任选地计数的其他源所取得的组分或部分。可使用本领域的技术人员已知的技术(包括例如倾倒、移液、擦拭、过滤和接触)从源中取得测试样本。此外,测试样本可经历各种本领域已知的样本制备过程,包括例如共混、匀质、均化、富集、选择性富集或稀释。

[0046] “透明的”是指透光率为至少90%的基材。

[0047] 提供了用于增殖和/或存储微生物的装置,该装置具有有利的特征,诸如控制装置中包括的营养物质的量。此外,营养物质在使用期间不直接暴露于样本,并且因此当将流体样本引入到装置中时,营养物质受到保护,不会受到潜在的洗去。

[0048] 在第一方面,提供一种装置。更具体地讲,提供了一种装置,其包括主体构件,该主体构件包括基材,该基材具有第一主表面和第二主表面。该装置还包括粘附到第一主表面的一部分上的第一粘合剂组合物。基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒分布在第一粘合剂组合物中,并且冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物粘附到第一粘合剂组合物上。该装置还包括附接到主体构件上的覆盖片,其中覆盖片包括面向主体构件的第一主表面。

[0049] 图1A示出了用于培养微生物的装置的示例性实施方案。装置10包括主体构件11,该主体构件包括具有第一主表面12a(例如,上表面)和第二主表面12b(例如,下表面)的基材12。此外,该装置10还包括附接到主体构件11上的覆盖片22。覆盖片22包括面向主体构件11的第一主表面22a。

[0050] 基材12是防水的,并且任选地为自支承防水基材。在一些实施方案中,基材12是诸如聚酯、聚丙烯、有机硅或聚苯乙烯等材料的膜,其将不吸收水或换句话说讲不受水影响。已经发现厚度为约20微米至约250微米的聚酯膜和聚丙烯膜以及厚度为约380微米的聚苯乙烯膜每一种都适用于基材12。其他合适的基材包括带聚乙烯涂层或其他防水涂层的纸材。合适的聚乙烯涂覆的纸质基材的示例是“Schoeller Type MIL”印像纸(可从纽约的舒乐普拉斯基公司(Schoeller Pulaski, New York)商购获得)。基材12可为透明的或不透明的,这取决于是否想要通过该基材观察细菌菌落。在图4中所示的示例性实施方案中,基材12在第二主表面12b上印有正方形网格图案以便于对细菌菌落计数。

[0051] 第一主表面12a包括粘附到第一主表面12a的一部分上的第一粘合剂组合物14。基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒分布在所述第一粘合剂组合物14中。这与之前使用水性乳液将基本上水溶性的微生物营养物质包括在粘合剂中的描述相反。例如,在共同拥有的PCT公布W096/38533(Nelson)中,“粘合剂组合物括水不溶性粘合剂、非抑制乳化剂、和至少一种选自用于培养微生物的营养物质的亲水性试剂、选择剂、以及它们的组合”(WO 96/38533第2页,第8-11行)中。营养物质还被描述为溶解于实施例2的水性乳液悬浮液中,不作为分散和/或分布在粘合剂组合物中的颗粒提供。相比之下,在本公开的一些实施方案中,粘合剂组合物包括溶剂型粘合剂。通常,粘合剂组合物不含乳化剂。

[0052] 第一粘合剂组合物14是(基本上)水不溶性的并且对微生物生长是非抑制性的。在一些实施方案中,第一粘合剂组合物14在润湿时是充分透明的,以允许透过涂覆有粘合剂的膜观察细菌菌落。在一些实施方案中,第一粘合剂组合物14是压敏粘合剂。在一些其它实施方案中,还可使用热活化粘合剂,其中较低熔点物质涂覆到较高熔点物质上。诸如粘胶之类的水活化粘合剂也可能是有用的。冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物16粘附到第一粘合剂组合物14上。在许多实施方案中,冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物以粉末形式提供。

[0053] 参见图2,其提供了图1A的装置10的剖视图,此外还包括设置在冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物16上的任选的垫片18。一般来讲,垫片18包括限定孔20的水不溶性基材,该垫片18定位在基材片12和覆盖片22之间。通常,孔20限定样本接收区的周边边界。孔隙20可具有任何形状。孔隙20的可用形状的非限制性示例包括正方形、矩形、圆形、椭圆形、多边形、六边形和八边形。样本接收区(和孔隙20)的面积可根据例如待沉积在该区域中的样本

(例如含水液体)的体积选择。在任一实施方案中,对于0.5-3毫升的样本,样本接收区的面积为约 10cm^2 或约 15cm^2 。在任一实施方案中,对于1毫升-5毫升体积的样本,样本接收区的面积为约 20cm^2 ,约 25cm^2 ,约 30cm^2 ,约 31cm^2 ,或约 25cm^2 - 35cm^2 。

[0054] 参见图3A-3D,在一些实施方案中,分布在粘合剂组合物14中的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物的多个颗粒4包括第一微生物生长组合物的一个或多个初级颗粒、多个颗粒簇、或两者皆有。图3A为示出根据本公开的实施方案制备的粘合剂组合物14的层的SEM图像。颗粒簇4(即,附聚的和/或聚集的颗粒)可因微生物生长营养物质组合物与粘合剂组合物不相容而产生,通常其中微生物生长营养物质组合物为水溶性的并且粘合剂组合物为水不溶性的。虽然例如通过在容器中混合两种材料并滚动容器,微生物生长营养物质组合物可在整个粘合剂组合物中分布(例如分散),但通常微生物生长营养物质组合物分布在离散的团块中。再次参见图3A,微生物生长营养组合物的多个颗粒簇4在粘合剂组合物14的层的上表面5的平面上方突出。参见图3B,其提供了根据本公开制备的粘合剂组合物14的层的近景视图。另外,图3C和图3D中的每个为粘合剂组合物14的横截面的SEM图像,该粘合剂组合物具有分布在其中的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物的颗粒4。每个图像示出微生物生长营养组合物的至少一个颗粒簇4的横截面。在某些实施方案中,第一微生物生长组合物的多个颗粒簇的平均长度为250微米或更小,200微米或更小,150微米或更小,或100微米或更小;以及10微米或更大,25微米或更大,50微米或更大,或75微米或更大。在一些实施方案中,第一微生物生长组合物的多个簇的平均长度在10微米至100微米的范围内(包括端值在内)。

[0055] 已出乎意料地发现,尽管在微生物生长营养物质组合物(例如,为水溶性的)和粘合剂组合物(例如,为水不溶性的)的材料之间缺乏相容性,但是足量的营养物质能够穿过粘合剂组合物以供在装置中的微生物消耗。

[0056] 有利的是,微生物生长营养组合物的量可通过将所需的量掺入到粘合剂组合物中来控制。这与将一层微生物生长营养物质组合物粉末涂覆在粘合剂组合物的表面上形成对比。在某些实施方案中,(第一、第二、或以上二者)微生物生长营养物质组合物以占粘合剂组合物和微生物生长营养物质组合物总量的1重量%(重量%)或更多,2重量%或更多,5重量%或更多,7重量%或更多,10重量%或更多,或12.5重量%或更多的量存在于粘合剂组合物中;并且以占粘合剂组合物和微生物生长营养物质组合物总量的20重量%或更少,17重量%或更少,15重量%或更少的量存在于粘合剂组合物中。此外,由于分布在第一粘合剂组合物中,营养物质不暴露于膜的表面上,因此当将流体样本引入装置中时保护其不被洗掉。这对于其中样本必须接触粉末层然后穿过过滤器(诸如根据本公开的第二方面的装置)的应用尤其相关。

[0057] 再次参见图1A,该装置还包括粘附到第一粘合剂组合物14上的冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物16。期望水凝胶-形成组合物16的粉末的均匀层露出足够的表面积以进行水合。通常,厚度在约5微米至约150微米范围内的粘合剂组合物14层是合适的。

[0058] 合适的粘合剂在用水润湿时是透明的。如上所述,粘合剂组合物通常是水不溶性的。在某些实施方案中,粘合剂组合物包括溶剂型粘合剂。第一粘合剂组合物和第二粘合剂组合物(如果存在的话)通常为压敏粘合剂。例如,粘合剂可为压敏粘合剂,诸如包含丙烯酸烷基酯单体和烷基酰胺单体的共聚物的水不溶性粘合剂。优选的是,这些共聚物中丙烯酸

烷基酯单体与烷基酰胺单体的重量比为约90:10至99:1,更优选为94:6至98:2。丙烯酸烷基酯单体包含丙烯酸的低级烷基(C2至C10)单体,其包括例如,丙烯酸异辛酯(IOA)、丙烯酸2-乙基己酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸乙酯、丙烯酸异戊酯以及它们的混合物;同时烷基酰胺单体可包括但不限于,丙烯酰胺(ACM)、甲基丙烯酰胺、N-乙烯基吡咯烷酮(NVP)、N-乙烯基己内酰胺(NVCL)、N-乙烯基-2-哌啶、N-(单或二低级烷基(C2至C5))(甲基)丙烯酰胺、N-甲基(甲基)丙烯酰胺、N,N-二甲基(甲基)丙烯酰胺或它们的混合物。合适的粘合剂还可包括美国专利4,565,783、5,089,413、5,681,712和5,232,838中描述的那些。在一些实施方案中,可使用有机硅压敏粘合剂,包括例如美国专利7,695,818和7,371,464中描述的那些。

[0059] 在本公开中,覆盖片22通常选择为透明的以便于对微生物菌落进行计数,并且还通常选择为对细菌是不可渗透并具有低湿气透过率(即,覆盖片22防止脱水培养基在装置的运输、储存和使用期间受到不期望的污染,并提供支持微生物在温育期间生长的环境)。在一些实施方案中,覆盖片22具有与基材12相同的特性(例如,为防水的)。可选择覆盖片22以提供所期望培养的微生物类型所需的氧气透过量。例如,一些聚酯膜具有低透氧度(每25微米厚度小于 $5\text{g}/645\text{cm}^2/24\text{小时}$),并适于培养厌氧细菌。另一方面,一些聚乙烯具有高透氧度(例如,每25微米厚度约 $500\text{g}/645\text{cm}^2/24\text{小时}$),并适于好氧生物体。覆盖片22的合适材料包括聚丙烯、聚酯、聚乙烯、聚苯乙烯或有机硅。在某些实施方案中,覆盖片22包括取向的聚丙烯,诸如双轴向取向的聚丙烯,在一些示例性实施方案中取向的聚丙烯具有约40微米的厚度。

[0060] 重新参见图1A,在某些实施方案中,该装置还包括粘附到覆盖片22的第一主表面22a的一部分上的第二粘合剂组合物24。对于基材12和覆盖片22中的每一个,冷水可溶性水凝胶-形成组合物的层16、层26通常分别均匀粘附到粘合剂层14、粘合剂层24上。粘合剂层24是水不溶性的并且对微生物生长是非抑制性的,在润湿时是充分透明的以允许透过涂覆有粘合剂的膜观察气泡或微生物菌落。在一些实施方案中,粘合剂层24包含压敏粘合剂。期望涂料组合物的均匀层26露出足够的表面积以进行水合。

[0061] 参见图1B,在任一实施方案中,覆盖片22可不含任何涂层。作为另外一种选择,覆盖片22可例如在面向脱水介质的表面上涂覆有一层压敏粘合剂,以便有利于密封介质上的覆盖件。此外,覆盖片22可任选地在面向第一冷水可溶性水凝胶-形成组合物16的表面上涂覆有多层粘合剂组合物24和冷水可溶性水凝胶-形成组合物26,它们分别与第一粘合剂组合物14和第一冷水可溶性水凝胶-形成组合物16相同或不同。覆盖片22上的涂层可覆盖整个表面,但优选地覆盖旨在覆盖培养装置的生长区域的表面的至少一部分。若希望为装置提供的胶凝剂比可被掺入单独的第一冷水可溶性水凝胶-形成组合物中的多,则这种带涂层的覆盖片尤其优选。

[0062] 在多个实施方案中,装置10还包含分布在第二粘合剂组合物中的基本上干燥的第二微生物生长营养物质组合物的多个颗粒4。第二微生物生长营养物质可与第一微生物生长营养物质相同或不同。在某些实施方案中,如上文对于第一微生物生长组合物的颗粒所讨论的,第二微生物生长组合物的多个颗粒4包括第二微生物生长组合物的多个颗粒簇。另外,在一些实施方案中,第二粘合剂组合物还包含至少一种指示剂。

[0063] 在某些实施方案中,冷水可溶性水凝胶-形成组合物(例如16、26)包含一种或多种有机冷水可溶性试剂,诸如藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维

素、瓜耳胶、刺槐豆胶、黄原胶、聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷。可设想天然胶凝剂和/或合成胶凝剂的组合。优选的胶凝剂包括瓜尔胶、黄原胶和刺槐豆胶,这些胶凝剂可单独使用,或在任一实施方案中彼此组合使用。冷水可溶性水凝胶-形成组合物的均匀单层是期望的,其表面积充分暴露以便水化。在任一实施方案中,第一和/或第二冷水可溶性水凝胶-形成组合物包括胶凝剂的混合物。任选地,第一冷水可溶性水凝胶-形成组合物和/或第二冷水可溶性水凝胶-形成组合物还可包含诱导剂和指示剂、或这些物质的组合。

[0064] 合适的微生物生长营养物质组合物通常包含例如但不限于一种或多种营养物质,包括肉蛋白胨、酪蛋白蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母提取物、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。此外,用于支持本公开装置中的微生物生长的营养物质、附加胶凝剂、以及它们的混合物的非限制性示例包括描述于美国专利4,565,783;5,089,413;5,232,838;5,364,766;5,443,963;5,462,860;5,601,998;5,635,367;和5,681,712中的那些;这些参考文献也包括指示剂(例如检测试剂)和诱导剂的非限制性示例。

[0065] 合适的指示试剂可包括用于检测烷基酯酶活性、磷酸酶活性、糖苷酶活性、肽酶活性、pH变化、或氧化还原变化的一种或多种指示剂。在任一实施方案中,一种或多种指示剂可溶解在有机溶剂(例如甲醇)中,并在将组合物施用到基材片12和/或覆盖片22之前与粘合剂组合物(例如第一粘合剂组合物14和/或第二粘合剂组合物24)共混。在任一实施方案中,第一冷水可溶性水凝胶-形成组合物和/或第二冷水可溶性水凝胶-形成组合物可包含一种或多种相同或不同的指示剂。

[0066] 任选地,多种指示剂可用于检测好氧细菌或耐氧细菌的存在。在任一实施方案中,合适的指示剂包括例如酶底物。在任一实施方案中,每种指示剂可包含报告基团(例如,荧光底物基团或生色底物基团),该基团允许检测指示剂和生物活性成分(即,与好氧细菌或耐氧细菌相关的酶活性成分)之间的反应。一种适宜的指示剂是氯化三苯基四唑(TTC)。合适的氧化还原指示剂(例如,氯化三苯基四唑)包含报告基团(例如,生色底物和/或荧光底物基团),该基团被氧化或还原后形成可检测信号(例如,可检测的颜色变化或荧光变化)。举例来说,氯化三苯基四唑被细菌还原,形成具有可检测颜色的甲臌产物。在本公开的培养装置中检测可检测的报告基团(例如,甲臌)可指示好氧细菌或耐氧细菌是否可能存在。

[0067] 此外,在其中培养基包含溴甲酚紫作为pH指示剂的方法中,培养基将在约中性pH下具有紫色或灰色外观。随着微生物在培养基中生长并发酵碳水化合物(例如,葡萄糖),在邻近生长的细菌菌落处溴甲酚紫指示剂将显示出黄色。例如,在其中培养基包含氯酚红作为pH指示剂的方法中,培养基将在约中性pH下具有红色或紫罗兰色外观。随着微生物在培养基中生长并发酵碳水化合物,在邻近生长的微生物菌落处氯酚红指示剂将显示出黄色。气泡,如果存在于生长隔室中并且与微生物菌落相关(例如,触摸菌落或在距菌落约1mm或更少的某一距离内),则可在视觉上和/或通过使用成像系统检测。气泡可与可见的菌落和/或可通过邻近微生物菌落的区域中的pH指示剂的颜色改变检测的酸区域相关。例如,气泡可包含由碳水化合物的厌氧发酵生成的二氧化碳。

[0068] 在第二方面,提供了另一种微生物检测装置。微生物检测装置包括一个防水小袋,其包括具有内表面和外表面的第一壁部分、具有内表面和外表面的第二壁部分、以及设置在小袋内,在第一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间的多孔膜式过滤器。膜式过

滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面。防水小袋还包括部分由第一壁部分的内表面限定并且部分由膜式过滤器的第一主表面限定的第一隔室、以及提供将液体沉积到第一隔室中的通道的可密封样本端口。另外,防水小袋包括部分由第二壁部分的内表面限定并且部分由膜式过滤器的第二主表面限定的第二隔室、以及设置在第二隔室中的吸收垫。膜式过滤器允许含水液体从第一隔室进入第二隔室并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室进入第二隔室。防水小袋还包括粘附到第一隔室中的小袋的一部分上的粘合剂组合物、分布在粘合剂组合物中的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒、以及粘附到粘合剂组合物上的冷水可溶性水凝胶-形成组合物。

[0069] 例如,微生物检测装置可包括:

[0070] 一种防水小袋,其包括:

[0071] 具有内表面和外表面的第一壁部分;

[0072] 具有内表面和外表面的第二壁部分;

[0073] 多孔膜式过滤器,该多孔膜式过滤器设置在小袋内,在第一壁部分的内表面和第二壁部分的内表面之间,该膜式过滤器具有第一主表面和与第一主表面相对的第二主表面;

[0074] 第一隔室,所述第一隔室部分由第一壁部分的内表面限定并且部分由膜式过滤器的第一主表面限定;

[0075] 提供将液体沉积到第一隔室中的通道的可密封样本端口;

[0076] 部分由第二壁部分的内表面限定并且部分由膜式过滤器的第二主表面限定的第二隔室;

[0077] 其中膜式过滤器允许含水液体从第一隔室进入第二隔室并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室进入第二隔室;

[0078] 粘附到第一隔室中的小袋的一部分上的粘合剂组合物;

[0079] 分布在粘合剂组合物中的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒;

[0080] 粘附到粘合剂组合物上的冷水可溶性水凝胶-形成组合物;以及

[0081] 设置在第二隔室中的吸收垫。

[0082] 关于第二方面的微生物检测装置,图5-8示出根据本公开的至少一个实施方案的装置500的一个实施方案的各种视图。装置500包括由至少一个壁限定的防水小袋55。至少一个壁包括第一壁部分510和第二壁部分520。第一壁部分510具有内表面512和外表面514。第二壁部分520具有内表面522和外表面524。膜式过滤器540设置在第一壁部分510的内表面512和第二壁部分520的内表面522之间的小袋55中。膜式过滤器具有第一主表面542和与第一主表面相对的第二主表面544。

[0083] 虽然第一壁部分510和第二壁部分520可为一体小袋或袋的不同部分,但在任一实施方案中,作为另外一种选择,第一壁部分和第二壁部分可由接合在一起以形成小袋(例如,沿边缘加热密封和/或粘合密封)的聚合物膜的单独片材构成,如图9所示并且如本文所述。

[0084] 小袋55被分成至少两个隔室(分别为第一隔室550和第二隔室552)。第一隔室550部分由第一壁部分510的内表面512限定并且还部分由膜式过滤器540的第一主表面542限

定。第一隔室550具有可密封的样本端口560。在图5-7所示的实施方案中,可密封的样本端口560是仅仅沿着小袋55的周边的一部分的开口561。本文讨论了用于闭合开口561的非限制性示例性装置。第二隔室552部分由第二壁部分520的内表面522限定并且部分由膜式过滤器540的第二主表面544限定。

[0085] 第一隔室550被构造成容纳一定体积的待测试是否存在靶微生物的液体样本。第一隔室550可容纳的液体体积将受装置的若干特征的影响,包括(例如)第一隔室的尺寸(例如,如图7所示的长度“L”和宽度“W”)以及限定第一隔室的材料(例如,第一壁部分510和膜式过滤器540)的柔韧性。第二隔室552被构造成容纳一定体积的液体,其体积大约等于待测试的液体样本的体积。因此,本公开的装置的小袋尺寸可被设定成保持至多约两倍的待测试样本的体积。

[0086] 在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试(即,被构造成用于接收)至少约25毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约50毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约75毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约100毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约125毫升的液体样本。在任一实施方案中,本公开的装置被构造成用于测试至少约150毫升的液体样本。因此,在任一实施方案中,根据本公开的装置被构造成容纳至少约25mL,至少约50mL,至少约75mL,至少约100mL,至少约125mL,至少约150mL的液体样本(例如含水液体样本)。因此,在任一实施方案中,该装置的第一隔室被构造成容纳至少约25mL,至少约50mL,至少约75mL,至少约100mL,至少约125mL,至少约150mL的液体样本(例如含水液体样本)。

[0087] 小袋55还包含粘合剂组合物,该粘合剂组合物作为层530粘附到第一隔室550中的小袋的一部分上(例如小袋的第一壁部分510)。在任一实施方案中,粘合剂组合物包括压敏粘合剂。如上文关于第一实施方案所述,粘合剂组合物通常是水不溶性的。在某些实施方案中,粘合剂组合物包括溶剂型粘合剂。例如,粘合剂可为压敏粘合剂,诸如包含丙烯酸烷基酯单体和烷基酰胺单体的共聚物的水不溶性粘合剂。

[0088] 基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒535分布在粘合剂组合物中。在任一实施方案中,本公开的装置包含有效量的一种或多种干燥营养物质(例如,选择用于支持靶微生物生长的营养培养基)。微生物生长营养组合物通常包含至少一种营养物质,其选自肉蛋白胨、酪蛋白蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母提取物、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。如上文关于第一方面的装置所详述的,在一些实施方案中,分布在粘合剂组合物中的基本上干燥的微生物生长营养物质组合物的多个颗粒包括第一微生物生长组合物的一个或多个初级颗粒、多个颗粒簇、或两者皆有。类似地,在某些实施方案中,第一微生物生长组合物的多个颗粒簇的平均长度为250微米或更小,200微米或更小,150微米或更小,或100微米或更小;以及10微米或更大,25微米或更大,50微米或更大,或75微米或更大。在一些实施方案中,第一微生物生长组合物的多个簇的平均长度在10微米至100微米的范围内(包括端值在内)。

[0089] 与根据第一方面的装置类似,已出乎意料地发现,尽管在微生物生长营养物质组合物(例如,为水溶性的)和粘合剂组合物(例如,为水不溶性的)的材料之间缺乏相容性,但是足量的营养物质能够穿过粘合剂组合物以供在根据第三方面的装置中的微生物消耗。

[0090] 在许多实施方案中,微生物生长营养组合以占粘合剂组合和微生物生长营养物质组合总量的1重量%(wt.%)或更多,2重量%或更多,5重量%或更多,7重量%或更多,10重量%或更多,或12.5重量%或更多的量存在于粘合剂组合中;并且以占粘合剂组合和微生物生长营养物质组合总量的20重量%或更少,17重量%或更少,15重量%或更少的量存在于粘合剂组合中。此外,由于分布在第一粘合剂组合中,营养物质不暴露于膜的表面上,因此当将流体样本引入装置中时保护其不被洗掉。这对于其中样本必须接触粉末层然后穿过过滤器(诸如在此第二方面的装置中)的应用尤其相关。

[0091] 此外,干燥的(即,基本上不含水的)冷水可溶性水凝胶-形成组合粘附到粘合剂组合上。例如,图7示出了作为设置在第一壁部分510的内表面512上的干涂层532的冷水可溶性水凝胶-形成组合。干涂层532经由粘合剂层530粘附到第一壁部分510上。此外,小袋55具有设置在第二隔室552中的吸收垫580。在任何实施方案中,干涂层532可粘附到第一基材上(例如,粘附到涂覆到基材上的粘合剂层上),该基材粘附到小袋55的第一壁部分510上。这种任选构型如图11所示并在下文中描述。

[0092] 无论冷水可溶性水凝胶-形成组合是否粘附到小袋的第一壁部分上或粘附到附连到第一壁部分的第一基材上,由包含冷水可溶性水凝胶-形成组合的涂层限定的区域也限定了其中来自样本的微生物生长并在样本沉积到第一隔室中后计数的区域。因为装置包括吸收来自样本的大部分液体的吸收垫(下文所述),所以冷水可溶性水凝胶-形成组合仅由液体样本的一部分水合。有利的是,这些装置使用比先前报告的薄膜培养装置小得多的生长面积:样本体积比率。例如,根据本公开的第二方面的装置被构造用于容纳100-150mL的液体样本并具有约80cm²的生长区域(包括冷水可溶性水凝胶-形成组合)。因此,来自150mL的样本体积的微生物分布在生长区域上,该生长区域相当于小于1cm²/mL样本。

[0093] 小袋55(即,至少一个壁及其壁部分)由防水的可变形材料制成。在任何实施方案中,可变形材料可包括柔性片状材料,如聚合物膜。当制造至少一个壁时使用的合适材料包括聚乙烯、聚丙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚酰胺、聚氨酯、聚氯乙烯、聚丙烯酸酯、聚脲、以及它们的组合。小袋的至少一个壁可相对较薄(例如,大约25微米厚)或相对较厚(例如,大约125微米厚),前提条件是至少一个壁的至少一部分(例如,第一壁部分510,其与第一隔室550中的膜式过滤器540相对)能够当小袋55接纳液体样本时变形(未示出)和/或至少一个壁的至少一部分(例如,第二壁部分520,其邻近本文所述的吸收垫)能够当样本的至少一部分从第一隔室进入第二隔室时变形。

[0094] 膜式过滤器540允许液体(含水液体,未示出)从第一隔室550进入第二隔室552并防止预定尺寸的颗粒从第一隔室进入第二隔室。因此,当将怀疑包含靶微生物的含水液体样本置于第一隔室550中时,含水液体的第一部分通过(例如,通过重力流动)膜式过滤器540进入第二隔室552中,在其中它被吸收垫580吸收。靶微生物被捕集在膜式过滤器540之上或之中,或者被保留在含水液体的第二部分中,该含水液体保留在第一隔室550中。

[0095] 使用膜式过滤器捕集和保留微生物是本领域所熟知的。因此,可在根据本公开的装置中使用多种合适的膜式过滤器。合适的膜式过滤器的非限制性示例包括由尼龙、聚醚砜、聚四氟乙烯或纤维素材料(例如,混合纤维素酯)、微孔塑料膜(例如,激光蚀刻的聚碳酸酯膜)和陶瓷膜式过滤器制成的纤维膜式过滤器。

[0096] 通常对膜式过滤器的孔隙率进行选择,使得目标微生物不会一直通过孔从膜式过

滤器的一侧传递到另一侧,从而确保样本中基本上所有的靶微生物都被过滤器保留。典型的细菌长度为约0.5到5.0 μm 。某些较小的细菌(例如支原体)直径大约为0.3 μm 。酵母细胞一般比细菌大。典型的酵母细胞直径为约3-4 μm ,但某些直径大至约40 μm 。霉菌可以单个细胞、孢子或菌丝存在。虽然通常比细菌大,但霉菌细胞的平均大小会因物种而变化。因此,可根据目标微生物选择具有合适孔径的膜式过滤器。例如,标称孔径为1.0 μm 或更小、0.8 μm 或更小、0.6 μm 或更小、0.4 μm 或更小、0.2 μm 或更小、0.1 μm 或更小、0.05 μm 或更小、0.03 μm 或更小、0.02 μm 或更小、或者0.01 μm 或更小的膜式过滤器可适用于捕集和检测目标细菌。为了捕集和检测目标酵母或霉菌微生物,膜式过滤器的合适标称孔径可为12 μm 或更小、8 μm 或更小、5 μm 或更小、3 μm 或更小、2 μm 或更小、1 μm 或更小、0.8 μm 或更小、0.6 μm 或更小、0.4 μm 或更小、0.2 μm 或更小、或0.1 μm 或更小。

[0097] 膜式过滤器可由合适的过滤介质手工制备,或可按照预切的尺寸和形状购买。膜式过滤器的尺寸和形状可根据样品体积和样品中颗粒材料的预期负荷进行选择。通常,较大表面积 of 膜式过滤器比较小表面积 of 膜式过滤器允许更高的过滤速率。膜式过滤器可与其他过滤介质(如预过滤器,以捕集样品中的较大碎片)或其他膜式过滤器联合使用。

[0098] 在任一实施方案中,膜式过滤器可被支承(例如通过稀松布支承,未示出)以在使用期间为膜提供物理稳定性。在任一实施方案中,可将支承件附接到膜式过滤器上(例如,附接到第二主表面上)。在任一实施方案中,膜式过滤器可包含润湿剂(例如,非离子表面活性剂)以有利于液体样本快速且完全地渗透遍及膜式过滤器。优选地,润湿剂的量足以促进含水液体润湿膜,但其量在使用装置时基本上不抑制靶微生物的生长。

[0099] 当将含水样本置于小袋55的第一隔室550中时,将干燥的冷水可溶性水凝胶-形成组合物水合并形成水凝胶。当含水液体的第一部分从第一隔室550移动穿过膜式过滤器540至第二隔室552中时,水凝胶接触膜式过滤器540的第一表面,从而固定保留在膜式过滤器之上或之中的任何微生物。

[0100] 适用于薄膜培养装置的冷水可溶性胶凝剂是本领域已知的,并且包括例如冷水可溶性天然胶凝剂和合成胶凝剂。天然胶凝剂(诸如藻胶、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、瓜尔胶、刺槐豆胶、黄原胶)与合成胶凝剂(诸如聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷)及其混合物一般是合适的。可根据本公开的教导内容和以下美国专利的公开内容选择适用的胶凝剂:4,565,783;5,089,413;和5,232,838。其他优选的胶凝剂包括羟丙基甲基纤维素;这些胶凝剂可单独使用,或优选地,与另一种胶凝剂诸如前述胶凝剂中的一种组合使用。

[0101] 在任一实施方案中,干燥的冷水可溶性水凝胶-形成组合物可作为粘附到粘合剂层上的干粉置于小袋中,如本文所述。用于将干粉涂覆到用于薄膜培养装置的柔性膜上的方法和粘合剂描述于例如美国专利4,565,783;5,089,413;和5,232,838。在任一实施方案中,粘合剂层(如果存在的话)可包含用于指示微生物生长的指示剂。例如,如美国专利5,409,838所述,粘合剂可包含氯化三苯基四唑,该专利以引用方式全文并入本文。

[0102] 在任一实施方案中,可将干燥的冷水可溶性水凝胶-形成组合物作为含水组合物沉积到小袋的第一壁部分上,随后干燥,如美国专利4,565,783;5,089,413;和5,232,838所述。任选地,在任一实施方案中,干燥涂层可粘附到粘合剂层上,该粘合剂层被涂覆到小袋的第一壁部分上。在任一实施方案中,如上所述,粘合剂层还可包含用于指示微生物生长的指示剂。

[0103] 在将液体样本沉积到小袋中之前,吸收垫580优选相对较薄(例如,小于或等于5mm厚,小于或等于4mm厚,小于或等于3mm厚,小于或等于2mm厚,小于或等于约1mm厚)并被构造用于吸收等于其自身重量许多倍的一定量去离子水(例如,其自身重量的至少100倍,其自身重量的至少150倍,其自身重量的至少200倍,其自身重量的至少250倍,其自身重量的至少300倍,其自身重量的至少350倍,其自身重量的至少400倍,其自身重量的至少500倍)。在任一实施方案中,吸收垫可包括多种材料,诸如例如超吸收材料(例如一种超吸收聚合物;“本文,“SAP”)和吸收性较小的载体或非吸收性载体(例如纤维素纤维)。合适的吸收垫的非限制性示例为复合聚丙烯酸酯层压结构,其包括设置在两个纤维素片材之间的超吸收聚合物颗粒基体。在吸收垫的任一实施方案中,该垫可包括设置在气纺非织造材料中的SAP颗粒或与载体纤维共混成非织造材料的SAP纤维。

[0104] 任选地,在任一实施方案中(未示出),吸收垫可与第二隔室中的小袋的部件(例如,第二壁部分)相连。有利的是,这可防止吸收垫变形(例如,在其随着液体从第一隔室中迁移而溶胀时)至其与膜式过滤器的主要部分失去接触的程度。吸收垫可经由粘合剂(例如,压敏粘合剂)、热焊接或本领域已知的其他合适的连接部件连接到小袋上。在任一实施方案中,吸收垫可剥离地连接到小袋(例如,通过水溶性凝胶)。这个实施方案将吸收垫保持在适当位置处,以便接纳穿过膜式过滤器的液体,但允许吸收垫在由于吸收大量液体而溶胀时发生侧向运动。

[0105] 重新参见附图,图9示出根据本公开的装置501的可密封样本端口560的一个实施方案。装置501包括小袋55,其具有第一壁部分510、第二壁部分520、和具有开口的可密封样本端口560,它们每个均如本文所述。第一壁部分510的内表面512包括沿着靠近开口的内表面边缘涂覆在其上的粘合带516。粘附到粘合带516上的是隔离衬片518。在样本通过开口(样本端口560)沉积(例如,通过注入或吸入)到第一隔室(未在图9中示出)之后,操作者移除隔离衬片并使粘合带516接触靠近开口的第二壁部分520的内表面522,以便密封该开口。任选地,当完成密封过程时,操作者可从第一隔室550排出(从开口排出)一些空气或全部空气。

[0106] 图10示出包括小袋56的装置502的一个可供选择的实施方案,该小袋包括具有开口561的可密封样本端口560。在这一实施方案中,可密封样本端口560为螺帽开口,例如,液体测试样本可被注入或吸入该螺帽开口中。作为另外一种选择,在任一实施方案中,可密封样本端口560可为可刺穿的、可弹性变形的隔膜,通过该隔膜可引入针或吸移管末端以将样本递送到第一隔室中。在将针或吸移管从隔膜抽回之后,可弹性变形的隔膜再次密封端口。有利的是,在这些实施方案中,可将引入第一隔室中的空气最小化。

[0107] 在另一个可供选择的实施方案(未示出)中,可密封样本端口可包括在第一壁部分和第二壁部分中的每一者上的联锁拉链组件(例如,类似于ZIPLOK塑料储存袋)和与联锁组件协同使用的拉链组件,它们用于打开或密封第一隔室。

[0108] 在另一方面,本公开提供了一种装配大体积的薄膜培养装置的方法。本公开的装置可完全由片状材料组装而成。有利的是,这使得在组装多个装置时能够使用卷对卷工艺。图11-14示出根据本公开的装置503的一个可供选择的实施方案的各种视图。

[0109] 图11示出了用于装配根据本公开的装置的一个实施方案的片状材料。装置的每个部件可被切割成适当尺寸的片并随后组装到装置内,或者作为另外一种选择,可使用本领域

域已知的卷对卷工艺,利用深度受控模切被切割成适当的尺寸。

[0110] 在任一实施方案中,本公开的装置可部分地组装成一个或多个子组件,该子组件随后与其他部件组合以制备装置。参见图11,装置503包括第一子组件I,其包括第一部件A、第二部件B和第三部件C。组装的第一子组件I的另一个视图如图12A所示。第一部件A由如本文所述的其上涂覆有粘合剂层574的第一壁部分510构成。第二部件B由如本文所述的隔离衬片518构成。第三部件C由一侧上涂覆有粘合剂层582的第一基材590构成。设置在粘合剂层582上的是包含本文所述的干燥的冷水可溶性水凝胶-形成组合物的涂层584。如上文所述,涂层584可以干粉或液体组合物的形式沉积到粘合剂层582上,该液体组合物随后干燥至基本上无水的状态。第一基材590可包括类似于用于如上所述的小袋壁的那些片材的片状材料。作为另外一种选择,第一基材可包括非织造织物或纤维素材料(例如纸)。在任一实施方案中,纤维素材料可涂覆有基本上不抑制微生物生长的防水涂层。在第三部件C上由涂层584所限定的区域还限定组装好的装置中的生长和菌落计数区域。

[0111] 当装配子组件I时,隔离衬片518沿着形成组装装置的开口的第一壁部分510的边缘(边缘511)可剥离地粘附到粘合剂层574上。此外,第三部件C居中定位在部件A上,并且涂层584面向背离粘合剂层574的方向。然后使部件C与粘合剂574接触以使部件C附连到部件A上,同时涂层584是暴露的,如图12A所示。

[0112] 重新参见图11,第二子组件II包括第四部件D和第五部件E。第四部件D包括第二基材591。第二基材591形成包括孔592的框架。第二基材591在一侧上涂覆有粘合剂层593。第二基材591可包括类似于用于如上所述的小袋壁的那些片材的片状材料(例如柔性膜)。作为另外一种选择,第二基材可包括非织造织物或纤维素材料(例如纸)。在任一实施方案中,纤维素材料可涂覆有基本上不抑制微生物生长的防水涂层。任选地,吸收垫可在第二隔室中联接到第二基材上。

[0113] 第二子组件II还包括第五部件E(即,如本文所述的膜式过滤器540)。膜式过滤器540的尺寸被设定成使得其完全覆盖由孔592限定的区域。当组装子组件II时,膜式过滤器540粘附到粘合剂层593上,使得其完全覆盖第二基材591的孔592,如图12B所示。在使用中,在液体通过膜式过滤器时,液体通过孔从装置的第一隔室进入装置的第二隔室。在任一实施方案中,孔592限定第一区域,并且涂层584限定第二区域。优选地,第二区域大于或等于第一区域。更优选地,第二区域的形状和尺寸被设定成完全重叠孔的面积。

[0114] 任选地,当组装图11的装置503时,子组件I可联接到子组件II上以形成子组件III。这可通过将子组件II的背侧(即,不包括粘合剂层593的侧面)放置成与子组件I的粘合剂涂覆侧重叠接触来实现。此外,子组件II的孔592与子组件I对齐,使得其与子组件I的第三部件C重叠。

[0115] 为了完成装置503的构造,将第六部件F(即,如本文所述的吸收垫580)放置成与子组件III的膜式过滤器540重叠接触,并且将第七部件(即,如本文所述的第二壁部分520)放置成与第一部件A重叠接触,使得在第一部件A的周边,第七部件G以粘结方式联接到粘合剂层574的部分上。图13示出了图11的组装装置503的平面图,并且图14示出了它的剖视图。

[0116] 在任一实施方案中,本公开的装置还包含指示存活微生物存在的指示剂。指示剂置于小袋中。在任一实施方案中,指示剂可以干粉或干燥涂层形式置于小袋的第一隔室和/或第二隔室中。在任一实施方案中,指示剂可置于如本文所述的粘合剂层中。作为另外一种

选择或除此之外,指示剂可为涂覆到粘合剂层上的干燥试剂(例如,利用如本文所述的冷水可溶性水凝胶-形成组合物)。

[0117] 在任一实施方案中,指示剂可以是存活微生物的通用指示剂(例如氧化还原指示剂如氯化三苯基四唑)或一大类靶微生物的指示剂(例如,总好氧微生物)。作为另外一种选择,指示剂可以是与较小类的靶微生物反应的指示剂(例如,显色底物或荧光酶底物)。本领域的普通技术人员将认识到适合特定靶微生物的指示剂。

[0118] 在根据本公开的装置的任一实施方案中,该装置还包括一个隔离层(未示出),其设置在膜式过滤器和吸收垫之间的第二隔室中。隔离层为相对薄的(例如,约0.1mm至2mm厚)片状材料。在任一实施方案中,隔离层的形状和尺寸被设定成至少与膜式过滤器共延伸。在任一实施方案中,隔离层的吸收性比吸收垫的吸收性差得多。在任一实施方案中,隔离层的吸收性小于或等于膜式过滤器的吸收性。隔离层可包括疏水材料或基本上由疏水材料(例如,未改性的聚丙烯)构成。

[0119] 隔离层起到在初始阶段允许含水液体从膜式过滤器进入吸收层、同时限制营养物质从第一隔室扩散至第二隔室的作用,其中沉积到第一隔室中的超过一半的含水液体进入第二隔室,同时将装置温育以有利于微生物菌落生长。

[0120] 用作隔离层的合适材料包括例如非织造织物,其包含聚丙烯;聚乙烯;聚对苯二甲酸乙二醇酯;聚对苯二甲酸乙二醇酯和纤维素的共混物;聚对苯二甲酸乙二醇酯和人造丝的共混物;以及它们的混合物。有利的是,包括隔离层的装置可包括涂覆在小袋的第一壁部分上的干燥营养物质,并且可在水合的冷水可溶性胶凝剂中保留足够的营养物质以支持靶微生物在水合营养物质凝胶中的生长。

[0121] 在第三方面,提供检测和计数样本中的至少一种微生物的方法。该方法包括:提供根据第一方面的装置,将第一层与第二层分离,将预定体积的包含至少一种微生物的样本添加至第一水凝胶-形成组合物上以形成经接种的装置,使第一层返回接触第二层,温育经接种的装置,以及检测装置中是否存在靶微生物的菌落。以上针对第一方面详述的任一装置适用于第三方面的方法。

[0122] 例如,可具体参考图1和图3的装置来讨论将本发明的装置用于检测和计数微生物。在某些实施方案中,第二层22用作覆盖片并被拉回,然后将预定数量的水或水性测试样本置于主体构件11的第一层12上。通过粘合剂14附连到第一层12的胶凝剂16的粒子被快速水合或溶解并形成溶胶。然后小心地在第一层12上方替换第二层22,以最小化气泡的截留。然后将装置温育预定的一段时间。经接种的装置通常包括温育最长约48小时,或最长约24小时,或甚至最长约14小时。在培养基中生长的任何细菌菌落都可透过透明覆盖膜来检测并任选地清点(例如,计数)。在一些实施方案中,可使用诸如自动菌落计数器等自动系统来计数微生物。

[0123] 在第四方面,提供检测和计数样本中的至少一种微生物的另一种方法。该方法包括提供根据第二方面的一种装置,将预定体积的含水样本置于装置的第一隔室中、密封样本端口、温育装置、以及检测靶微生物的菌落在装置中存在与否。以上针对第二方面详述的任一装置适用于第四方面的方法中。

[0124] 第四方面的方法包括以下步骤:将预定体积的含水样本置于根据本公开的任一实施方案所述的装置的第一隔室中。含水样本可以是待测试是否存在靶微生物的任何可过滤

的液体样本。该方法尤其可用于疑似含有相对低浓度(例如,小于或等于10个微生物每毫升,小于或等于1个微生物每毫升,小于或等于0.1个微生物每毫升,小于或等于0.01个微生物每毫升)的靶微生物的水样。将预定体积的含水样本置于装置的第一隔室中包括通过可密封样本端口将预定体积置于装置中(例如,经由移液管移液、倒入、注入等)。

[0125] 该方法还包括密封样本端口的步骤。用于密封样本端口的方法将取决于用于该方法的装置中存在的可密封样本端口。例如,如果图11-13的装置503在该方法中使用,则密封样本端口包括移除隔离衬片518以暴露置于第一壁部分510上的粘合剂,然后使第一壁部分上的粘合剂与第二壁部分接触以形成防水密封,其封闭小袋的开口。

[0126] 例如,如果图10的装置502在该方法中使用,则密封样本端口包括将顶盖旋回到样本端口上,从而形成防水密封。

[0127] 例如,如果在该方法中使用包括可弹性变形的可穿刺隔膜(未示出)的装置,则当用于将样本引入装置中的移液管或针从隔膜抽出时,密封样本端口将自发地发生。

[0128] 在该方法的任一实施方案中,空气可在形成防水密封的过程之前和/或期间经由可密封样本端口从小袋中排出(例如,通过挤压手动排出)。

[0129] 该方法还包括在有利于靶微生物的生长和检测的温度下温育该装置一段时间的步骤。本领域的普通技术人员将认识到温育的温度和时间将取决于多种因素(例如,靶微生物、存在于样本中的营养物质、存在于装置中的营养物质、存在于样本和/或装置中的抑制剂),并且将相应地调节温育时间和温度。

[0130] 该方法还包括检测靶微生物的菌落在装置中存在与否的步骤。在任一实施方案中,检测装置中靶微生物的菌落是否存在可包括在装置的第一隔室中检测菌落(例如,目测或使用机器视觉检测)。在任一实施方案中,检测装置中靶微生物的菌落是否存在可包括检测与指示剂相关联的变化。在靶微生物的菌落中和/或其周围,指示剂可从第一状态(例如,基本上无色或无荧光)变为第二状态(例如,有色或发荧光)。在任一实施方案中,可对菌落进行计数,并且任选地可记录靶微生物菌落数。在一些实施方案中,可使用诸如自动菌落计数器自动系统来计数微生物。

[0131] 在任一实施方案中,在样本端口密封后,该方法还包括将装置的第一壁部分的外表面或装置的第二壁部分的外表面铺展在一个基本上垂直于重力的表面上。有利的是,将装置的第二壁部分的外表面铺展在基本上垂直于重力的表面上有利于样本液体通过重力作用流动通过膜式过滤器。此外,当液体通过膜式过滤器从第一隔室传递至第二隔室时,将装置的第二壁部分的外表面铺展在基本上垂直于重力的表面上有利于粘附到第一壁部分上的水合冷水可溶性水凝胶-形成组合物与膜式过滤器之间的接触。

[0132] 在任一实施方案中,该方法还包括使预定体积的至少90%,至少92%,至少95%,至少97%或至少98%从第一隔室传递至第二隔室。保留在第一隔室中的预定体积部分基本上作为通过水合冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物形成的凝胶的一部分存在。

[0133] 描述了为装置、套件、制备装置的方法或检测和清点微生物的方法的各种实施方案。

[0134] 实施方案1是微生物检测装置。所述装置包括主体构件,该主体构件包括基材,所述基材具有第一主表面和第二主表面。所述装置还包括粘附到所述第一主表面的一部分上的第一粘合剂组合物。基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒分布在所

述第一粘合剂组合物中,并且冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物粘附到所述第一粘合剂组合物上。所述装置还包括附接到所述主体构件上的覆盖片,其中所述覆盖片包括面向所述主体构件的第一主表面。

[0135] 实施方案2是根据实施方案1所述的装置,所述装置还包括粘附到所述覆盖片的第一主表面的一部分上的第二粘合剂组合物。

[0136] 实施方案3是根据实施方案2所述的装置,所述装置还包括分布在所述第二粘合剂组合物中的基本上干燥的第二微生物生长营养物质组合物的多个颗粒;

[0137] 实施方案4是根据实施方案3所述的装置,其中所述第二微生物生长营养物质组合物存在于所述第二粘合剂组合物中的量占所述第二粘合剂组合物总量的1重量%或更多。

[0138] 实施方案5是根据实施方案3或实施方案4所述的装置,其中所述第二微生物生长组合物的多个颗粒包括所述第二微生物生长组合物的多个颗粒簇。

[0139] 实施方案6是根据实施方案5所述的装置,其中所述第二微生物生长组合物的多个颗粒簇的平均长度为250微米或更小。

[0140] 实施方案7是根据实施方案5或实施方案6所述的装置,其中所述第二微生物生长组合物的多个颗粒簇的平均长度在10微米至100微米的范围内(包括端值在内)。

[0141] 实施方案8是根据实施方案2至实施方案7中任一项所述的装置,其中所述第二粘合剂组合物包括至少一种指示剂。

[0142] 实施方案9是根据实施方案2至实施方案8中任一项所述的装置,其中所述第二粘合剂组合物包括一种压敏粘合剂。

[0143] 实施方案10是根据实施方案2至实施方案9中任一项所述的装置,其中所述第二粘合剂组合物包括一种溶剂型粘合剂。

[0144] 实施方案11是根据实施方案2至实施方案10中任一项所述的装置,其中所述第二粘合剂组合物包括一种丙烯酸烷基酯共聚物。

[0145] 实施方案12是根据实施方案1至实施方案11中任一项所述的装置,其中所述第一微生物生长营养物质组合物存在于所述第一粘合剂组合物中的量占所述第一粘合剂组合物和所述第一微生物生长营养物质组合物组合的1重量%或更多。

[0146] 实施方案13是根据实施方案1至实施方案12中任一项所述的装置,其中所述第一微生物生长组合物的多个颗粒包括所述第一微生物生长组合物的多个颗粒簇。

[0147] 实施方案14是根据实施方案13所述的装置,其中所述第一微生物生长组合物的多个颗粒簇的平均长度为250微米或更小。

[0148] 实施方案15是根据实施方案13或实施方案14所述的装置,其中所述第一微生物生长组合物的多个簇的平均长度在10微米至100微米的范围内(包括端值在内)。

[0149] 实施方案16是根据实施方案1至实施方案15中任一项所述的装置,其中所述第一粘合剂组合物包括至少一种指示剂。

[0150] 实施方案17是根据实施方案1至实施方案16中任一项所述的装置,其中所述第一粘合剂组合物包括一种压敏粘合剂。

[0151] 实施方案18是根据实施方案1至实施方案17中任一项所述的装置,其中所述第一粘合剂组合物包括一种溶剂型粘合剂。

[0152] 实施方案19是根据实施方案1至实施方案18中任一项所述的装置,其中所述第一

粘合剂组合物包括一种丙烯酸烷基酯共聚物。

[0153] 实施方案20是根据实施方案1至实施方案17中任一项所述的装置,其中所述第一微生物生长营养物质组合物存在于所述第一粘合剂组合物中的量占所述第一粘合剂组合物总量的1重量%或更多。

[0154] 实施方案21是根据实施方案1至实施方案18中任一项所述的装置,其中所述第一微生物生长营养组合物包括至少一种营养物质,其选自肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母提取物、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。

[0155] 实施方案22是根据实施方案1至实施方案21中任一项所述的装置,其中所述冷水可溶性第一水凝胶-形成组合物包括冷水可溶性胶凝剂,其选自藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜耳胶、刺槐豆胶、黄原胶、聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷、以及它们的组合。

[0156] 实施方案23是微生物检测装置。微生物检测装置包括一个防水小袋,其包括具有内表面和外表面的第一壁部分、具有内表面和外表面的第二壁部分、以及设置在所述小袋内,在所述第一壁部分的内表面和所述第二壁部分的内表面之间的多孔膜式过滤器。膜式过滤器具有第一主表面和与所述第一主表面相对的第二主表面。防水小袋还包括部分由所述第一壁部分的内表面限定并且部分由所述膜式过滤器的第一主表面限定的第一隔室、以及提供将液体沉积到所述第一隔室中的通道的可密封样本端口。另外,防水小袋包括部分由所述第二壁部分的内表面限定并且部分由所述膜式过滤器的第二主表面限定的第二隔室、以及设置在所述第二隔室中的吸收垫。膜式过滤器允许含水液体从所述第一隔室进入所述第二隔室并防止预定尺寸的颗粒从所述第一隔室进入所述第二隔室。防水小袋还包括粘附到所述第一隔室中的小袋的一部分上的粘合剂组合物、分布在所述粘合剂组合物中的基本上干燥的第一微生物生长营养物质组合物的多个颗粒、以及粘附到所述粘合剂组合物上的冷水可溶性水凝胶-形成组合物。

[0157] 实施方案24是根据实施方案23所述的装置,其中所述小袋包括设置成与所述第一隔室中的膜式过滤器相对的可变形第一壁部分,并且所述粘合剂组合物设置在所述第一壁部分上。

[0158] 实施例25是根据实施方案23所述的装置,其中所述膜式过滤器连接到框架,其中所述框架包括孔,液体从所述第一隔室穿过所述孔进入所述膜式过滤器,其中所述孔限定第一区域,并且其中设置在所述小袋上的所述粘合剂组合物限定第二区域,其大于或等于所述第一区域。

[0159] 实施方案26是根据实施方案23至实施方案25中任一项所述的装置,其中所述装置的尺寸被设定成接纳具有25mL至150mL(包括端值在内)的体积的液体样本。

[0160] 实施方案27是根据实施方案23至实施方案26中任一项所述的装置,其中所述粘合剂组合物包括至少一种指示剂。

[0161] 实施方案28是根据实施方案23至实施方案27中任一项所述的装置,其中所述粘合剂组合物包括一种压敏粘合剂。

[0162] 实施方案29是根据实施方案23至实施方案28中任一项所述的装置,其中所述粘合剂组合物包括一种溶剂型粘合剂。

[0163] 实施方案30是根据实施方案23至实施方案29中任一项所述的装置,其中所述粘合剂组合物包括一种丙烯酸烷基酯共聚物。

[0164] 实施方案31是根据实施方案23至实施方案30中任一项所述的装置,其中所述第一微生物生长组合物的多个颗粒包括所述第一微生物生长组合物的多个颗粒簇。

[0165] 实施方案32是根据实施方案31所述的装置,其中所述微生物生长组合物的多个颗粒簇的平均长度为250微米或更小。

[0166] 实施方案33是根据实施方案31或实施方案32中任一项所述的装置,其中所述微生物生长组合物的多个簇的平均长度在10微米至100微米的范围内(包括端值在内)。

[0167] 实施方案34是根据实施方案23至实施方案33中任一项所述的装置,其中所述微生物生长营养物质组合物存在于所述粘合剂组合物中的量占所述粘合剂组合物总量的1重量%或更多。

[0168] 实施方案35是根据实施方案23至实施方案34中任一项所述的装置,其中所述微生物生长营养组合物包括至少一种营养物质,其选自肉蛋白胨、酪蛋白胨、明胶蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母提取物、乳糖、葡萄糖、右旋糖、胰蛋白胨、半乳糖、胰蛋白胨、脂肪、矿物质或维生素。

[0169] 实施方案36是根据实施方案23至实施方案35中任一项所述的装置,其中所述冷水可溶性水凝胶-形成组合物包括冷水可溶性胶凝剂,其选自藻酸盐、羧甲基纤维素、塔拉胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜耳胶、刺槐豆胶、黄原胶、聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚环氧乙烷、以及它们的组合。

[0170] 实施方案37是一种用于检测和计数样本中的至少一种微生物的方法。所述方法包括提供根据实施方案1至实施方案22中任一项所述的装置、将所述第一层与所述第二层分离、以及将包含至少一种微生物的预定体积的样本加到所述第一水凝胶-形成组合物上以形成经接种的装置。所述方法还包括使所述第一层返回接触所述第二层、温育所述经接种的装置、以及检测所述靶微生物的菌落在所述装置中存在与否。

[0171] 实施方案38是一种用于检测和计数样本中的至少一种微生物的方法。所述方法包括提供根据实施方案23至实施方案36中任一项所述的装置,将预定体积的含水样本置于所述装置的第一隔室中、密封所述样本端口、温育所述装置、以及检测所述靶微生物的菌落在所述装置中存在与否。

[0172] 实施例

[0173] 下面的实施例对本发明的目的和有益效果作出更进一步的解释,但这些实施例中列举的具体材料和用量以及其它条件和细节不应解释为是对本发明不当的限制。这些实施例仅为了进行示意性的说明,并非旨在限制所附权利要求书的范围。

[0174] 材料

[0175] 除非另外指明,否则实施例以及本说明书其余部分中的所有份数、百分比、比例等均按重量计。

[0176] R2a肉汤粉末得自印度孟买的HIMEDIA实验室(HIMEDIA Laboratories, Mumbai, India)。制造商报告R2a肉汤粉末的组成为:酸水解干酪素(16重量%);酵母提取物(16重量%);胰蛋白胨(16重量%);右旋糖(16重量%);可溶性淀粉(16%重量);磷酸氢二钾(9.6%重量);硫酸镁(0.8重量%);丙酮酸钠(9.6重量%)。

[0177] 瓜尔胶 (Meyprogat 150) 得自丹麦哥本哈根的丹尼斯克 (Danisco, Copenhagen, Denmark)。

[0178] BACTO胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 得自新泽西州富兰克林湖的碧迪公司 (Becton, Dickinson Company, Franklin Lakes, NJ)。

[0179] 2,3,5-氯化三苯基四唑 (TTC) 得自密歇根州圣路易斯的西格玛奥德里奇公司 (Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO))。

[0180] Butterfield缓冲液得自明尼苏达州圣保罗市的3M公司 (3M Corporation (St. Paul, MN))。

[0181] MELINEX 454PET膜 (3密耳 (0.076mm) 厚) 得自威斯康星州新柏林的泰科拉公司 (EIS的一家分公司) (Tekra Incorporated, New Berlin, WI)。

[0182] 温育和接种

[0183] 表1中列出的细菌菌株得自明尼苏达州圣克劳德的MICROBIOLOGICS公司 (MICROBIOLOGICS, Incorporated (St. Cloud, MN))。在实施例1中所用的细菌菌株通过在30℃下,在胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 中无振荡温育过夜,进行单独培养。对于实施例2-6,大肠杆菌 (*Escherichia coli*, ATCC 25922) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 15442) 样本通过在37℃下,在250rpm振荡下 (德国艾本德股份公司的New Brunswick™ INNOVA 44振荡培养箱 (New Brunswick™ INNOVA 44 Incubator Shaker, Eppendorf AG, Germany)),在胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 中温育过夜,进行单独培养。对于所有实施例,通过在Butterfield缓冲液 (10倍稀释液) 中连续稀释每种培养物样本来制备种菌,得到的最终浓度提供约10-300cfu/1mL种菌的菌落形成单位 (cfu) 计数 (这通常为10⁻⁷稀释)。

[0184] 表1:细菌菌株

[0185]	金黄色葡萄球菌金黄亚种 (<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>) (ATCC 6538)
	乳酸乳球菌乳脂亚种 (<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>) (ATCC 19257)
	藤黄微球菌 (<i>Kocuria rhizophila</i>) (ATCC 51820)
	酯香微杆菌 (<i>Microbacterium esteraromaticum</i>) (ATCC 51822)
	枯草芽孢杆菌斯氏亚种 (<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>) (ATCC 6633)
	金黄色葡萄球菌金黄亚种 (<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>) (ATCC 25923)
	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) (ATCC 51813)
	无乳链球菌 (<i>Streptococcus agalactiae</i>) (ATCC 27956)
	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) (ATCC 25922)
	金黄杆菌 (<i>Chryseobacterium shigense</i>) (ATCC 51823)
	不动杆菌属 (<i>Acinetobacter sp.</i>) (ATCC 51819)
	假单胞菌属 (<i>Pseudomonas sp.</i>) (ATCC 51821)
	铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) (ATCC 15442)

[0186] 实施例1.

[0187] 构造根据图1A的装置的微生物检测装置。通过以10.28重量%的粉末浓度将R2a肉

汤粉末加入到丙烯酸异辛酯/丙烯酸胺(96/4重量比)压敏粘合剂制剂(约22-25%固体的庚烷和乙酸乙酯溶液)中,制备营养物质涂覆制剂。使用瓶辊,将包含涂覆制剂的瓶在40rpm下混合4小时。然后使用6密耳(0.15mm)的间隙设置,手动将制剂用凹口棒涂覆到PET膜基材(3密耳(0.076mm)厚)的一侧上。经涂覆的膜在68℃烘箱中干燥10分钟。然后用瓜尔胶粉末涂覆基材的涂覆有粘合剂的一侧。均匀地施加粉末,并通过用手摇动将过量的粉末从粘合剂层移除。接着将所得涂覆有粉末的基材切成76mm宽,102mm长的区段,其用作装置的主体构件。

[0188] 该装置的覆盖片是透明的双轴取向的聚丙烯(BOPP)膜(1.6密耳(0.04mm)厚,并且两侧经电晕处理),在其一侧上涂覆有丙烯酸异辛酯/丙烯酸(98/2重量比)压敏粘合剂涂覆制剂,其包含TTC,如美国专利5,409,838的实施例4所述。随后用瓜耳胶粉末涂覆粘合剂层。均匀地施加粉末,并且将过量的粉末从粘合剂层移除。将覆盖片切割成与主体构件的尺寸匹配,然后使用双面胶带,沿一个边缘(76mm边缘)以类似铰链的方式附接到主体构件上。对于每个装置,覆盖片和主体构件取向为使得覆盖片的涂覆表面面向身体构件的涂覆表面。

[0189] 将选自表1的单一微生物样本接种到检测装置中。抬起本装置的覆盖片,并且通过移液管向主体构件的暴露涂覆表面加入1mL种菌(即,如上所述的最终稀释液)。重新放上覆盖片,通过用3M PETRIFILM平板涂布器(美国明尼苏达州圣保罗的3M公司(3M Corporation, St. Paul, MN))施加向下的压力,使样本均匀铺展。经接种的装置在30℃下温育40小时。温育期结束时,通过目视检查对红色菌落进行计数。作为比较例,将可商购获得的PETRIFILM菌落总数(PETRIFILM Aerobic Count, AC)板(3M公司(3M Corporation))单独接种、温育、并以与检测装置相同的方式计数。结果示于表2中。

[0190] 表2:使用实施例1的装置的各种生物体的菌落(cfu)计数。

生物体		实施例 1 的 装置	PETRIFILM AC 板(比较例)
[0191]	金黄色葡萄球菌金黄亚种(<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>)(ATCC 6538)	141	122
	乳酸乳球菌乳脂亚种(<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>)(ATCC 19257)	19	8
	藤黄微球菌(<i>Kocuria rhizophila</i>)(ATCC 51820)	135	120
	酯香微杆菌(<i>Microbacterium esteraromaticum</i>)(ATCC 51822)	156	116
	枯草芽孢杆菌斯氏亚种(<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>)(ATCC 6633)	9	1
[0192]	金黄色葡萄球菌金黄亚种(<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>)(ATCC 25923)	130	156
	大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)(ATCC 51813)	171	199
	无乳链球菌(<i>Streptococcus agalactiae</i>)(ATCC 27956)	12	13
	大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)(ATCC 25922)	218	218
	金黄杆菌(<i>Chryseobacterium shigense</i>)(ATCC 51823)	124	116
	不动杆菌属(<i>Acinetobacter sp.</i>)(ATCC 51819)	129	110
	假单胞菌属(<i>Pseudomonas sp.</i>)(ATCC 51821)	50	52

[0193] 实施例2.

[0194] 构造根据图1A的装置的微生物检测装置。通过以5.14重量%的粉末浓度将胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 粉末加入到丙烯酸异辛酯/丙烯酸酰胺 (96/4重量比) 压敏粘合剂制剂 (约22%-25%固体的庚烷和乙酸乙酯溶液) 中, 制备营养物质涂覆制剂。使用瓶辊, 将包含涂覆制剂的瓶在40rpm下混合4小时。然后使用12密耳 (0.30mm) 的间隙设置, 手动将制剂用凹口棒涂覆到PET膜基材 (3密耳 (0.076mm) 厚) 的一侧上。经涂覆的膜在68℃烘箱中干燥10分钟。然后用瓜尔胶粉末涂覆基材的涂覆有粘合剂的一侧。均匀地施加粉末, 并通过用手摇动将过量的粉末从粘合剂层移除。接着将所得涂覆有粉末的基材切成76mm宽, 102mm长的区段, 其用作装置的主体构件。

[0195] 该装置的覆盖片是透明的双轴取向的聚丙烯 (BOPP) 膜 (1.6密耳 (0.04mm) 厚, 并且两侧经电晕处理), 在其一侧上涂覆有丙烯酸异辛酯/丙烯酸 (98/2重量比) 压敏粘合剂涂覆制剂, 其包含TTC, 如美国专利5,409,838的实施例4所述。随后用瓜耳胶粉末涂覆粘合剂层。均匀地施加粉末, 并且将过量的粉末从粘合剂层移除。将覆盖片切割成与主体构件的尺寸匹配, 然后使用双面胶带, 沿一个边缘 (76mm边缘) 以类似铰链的方式附接到主体构件上。对于每个装置, 覆盖片和主体构件取向为使得覆盖片的涂覆表面面向主体构件的涂覆表面。

[0196] 用大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (ATCC 25922) 接种成品检测装置 (表1)。抬起本装置的覆盖片, 并且通过移液管向主体构件的暴露涂覆表面加入1mL种菌 (即, 如上所述的最终稀释液)。重新放上覆盖片, 通过用3M PETRIFILM平板涂布器 (美国明尼苏达州圣保罗的3M公司 (3M Corporation, St. Paul, MN)) 施加向下的压力, 使样本均匀铺展。经接种的装置在37℃下温育18小时。温育期结束时, 通过目视检查对红色菌落进行计数。作为比较例, 将可商购获得的PETRIFILM菌落总数 (PETRIFILM Aerobic Count, AC) 板单独接种、温育、并以与检测装置相同的方式计数。结果示于表3中。

[0197] 实施例3.

[0198] 根据实施例2所述的工序构造微生物检测装置, 不同的是涂覆步骤的间隙设置为6密耳 (0.15mm) 而非12密耳 (0.30mm)。将装置接种 (用大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (ATCC 25922) 接种)、温育并根据实施例2所述的工序进行计数。结果报告在表3中。

[0199] 实施例4.

[0200] 根据实施例2所述的工序构造微生物检测装置, 不同的是营养物质涂覆制剂中的TSB为10.28重量%而非5.14重量%。将装置接种 (用大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (ATCC 25922) 接种)、温育并根据实施例2所述的工序进行计数。结果报告在表3中。

[0201] 实施例5.

[0202] 根据实施例2所述的工序构造微生物检测装置, 不同的是: 1) 营养物质涂覆制剂中的TSB为10.28重量%而非5.14重量%, 以及2) 涂覆步骤的间隙设置为6密耳 (0.15mm) 而非12密耳 (0.30mm)。将装置接种 (用大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (ATCC 25922) 接种)、温育并根据实施例2所述的工序进行计数。结果报告在表3中。

[0203] 表3: 使用实施例2-5的装置的大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (ATCC 25922) 的菌落 (cfu) 计数

[0204]	装置	菌落(cfu)计数
	实施例 2	76
	实施例 3	84
	实施例 4	99
	实施例 5	89
	PETRIFILM AC 板 (比较例)	87

[0205] 实施例6.

[0206] 根据实施例2所述的工序构造微生物检测装置,不同的是包含涂覆制剂的瓶用瓶辊在40rpm下混合18小时。

[0207] 用大铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) (ATCC 15442) 接种成品检测装置(表1)。抬起本装置的覆盖片,并且通过移液管向主体构件的暴露涂覆表面加入1mL种菌(即,如上所述的最终稀释液)。重新放上覆盖片,通过用3M PETRIFILM平板涂布器(美国明尼苏达州圣保罗的3M公司(3M Corporation, St. Paul, MN))施加向下的压力,使样本均匀铺展。经接种的装置在37℃下温育40小时。温育期结束时,通过目视检查对红色菌落进行计数。作为比较例,将可商购获得的PETRIFILM菌落总数(PETRIFILM Aerobic Count, AC)板接种、温育、并以与检测装置相同的方式计数。结果报告在表4中。

[0208] 表4:使用实施例6的装置的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) (ATCC 15442)的菌落(cfu)计数。

[0209]	装置	菌落(cfu)计数
	实施例 6	208
	PETRIFILM AC 板 (比较例)	212

[0210] 虽然本说明书已经详细地描述了某些示例性实施方案,但是应当理解,本领域的技术人员在理解上述内容后,可很容易地想到这些实施方案的更改、变型和等同物。此外,本文引用的所有出版物和专利均以引用的方式全文并入本文中,如同各个单独的出版物或专利都特别地和单独地指出以引用方式并入一般。已对各个示例性实施方案进行了描述。这些实施方案以及其它实施方案均在如下权利要求书的范围内。

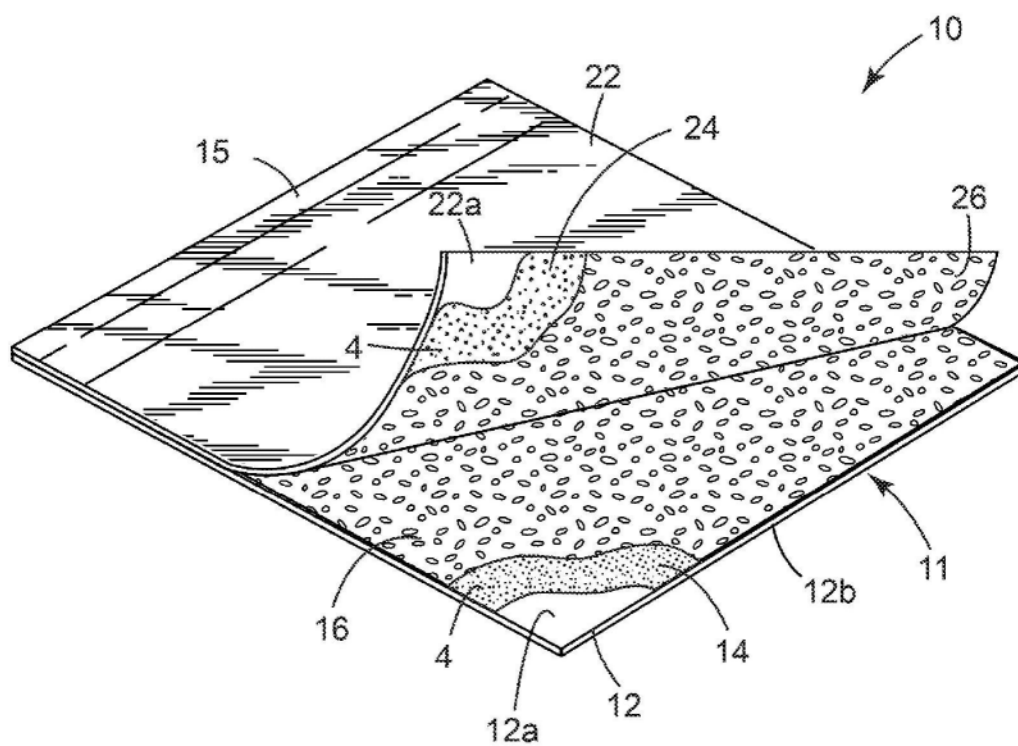


图1A

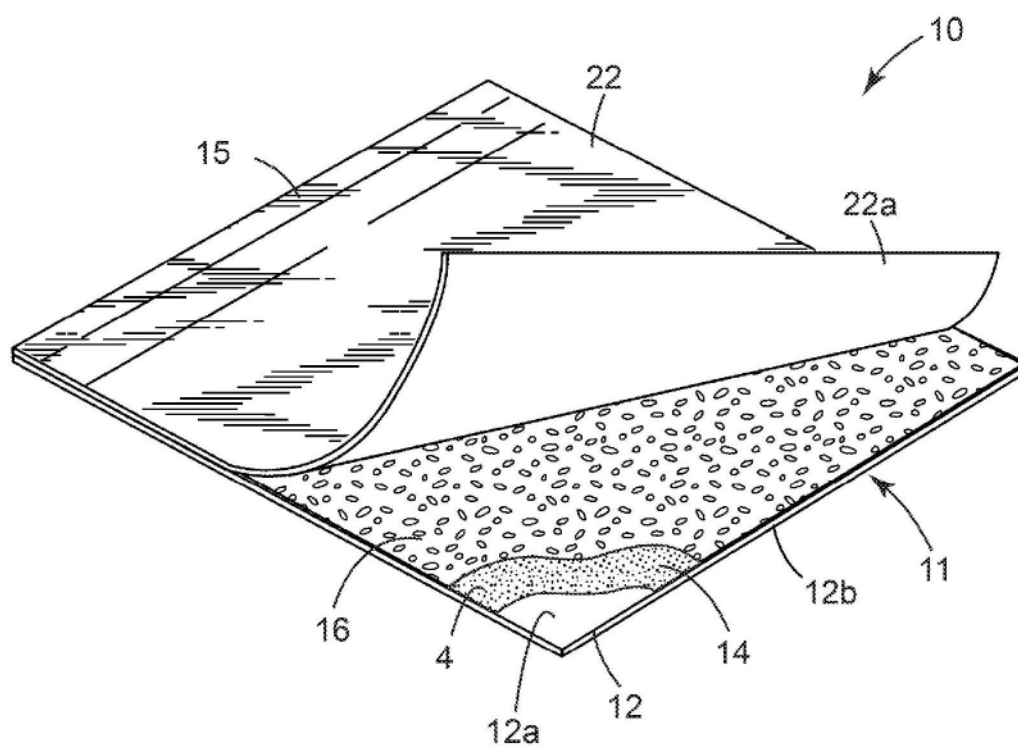


图1B

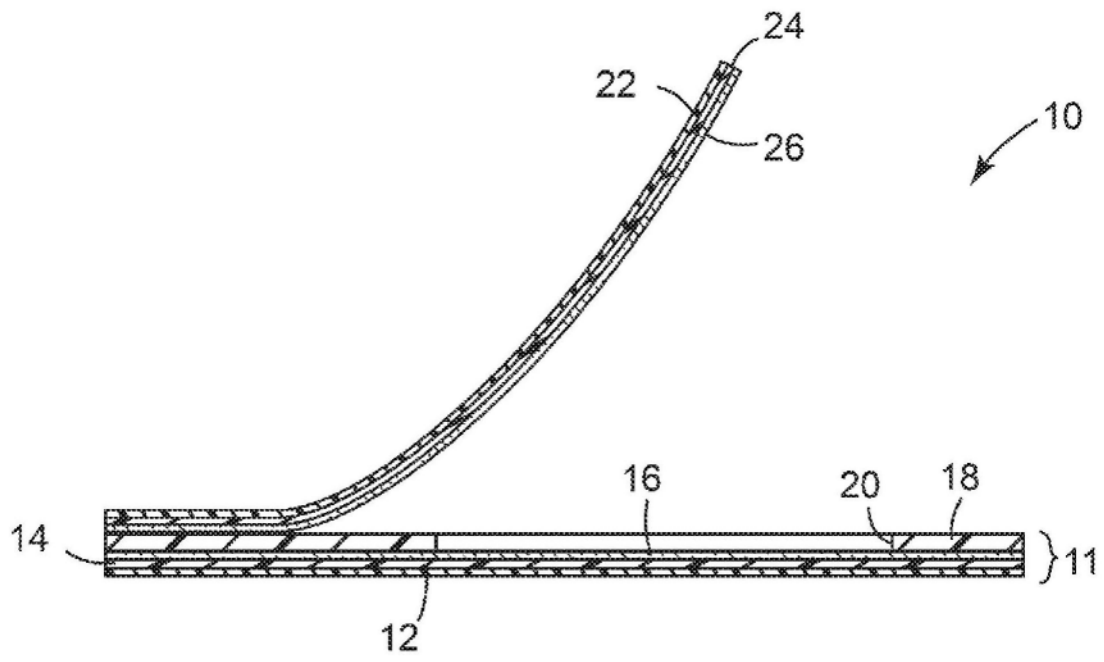


图2

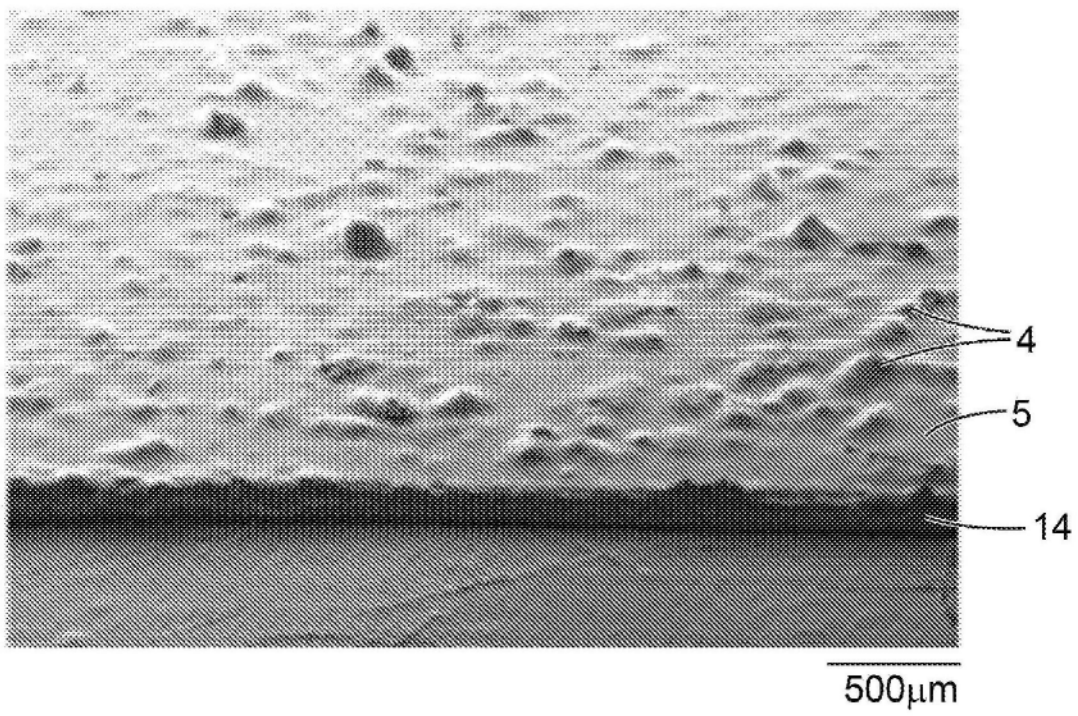


图3A

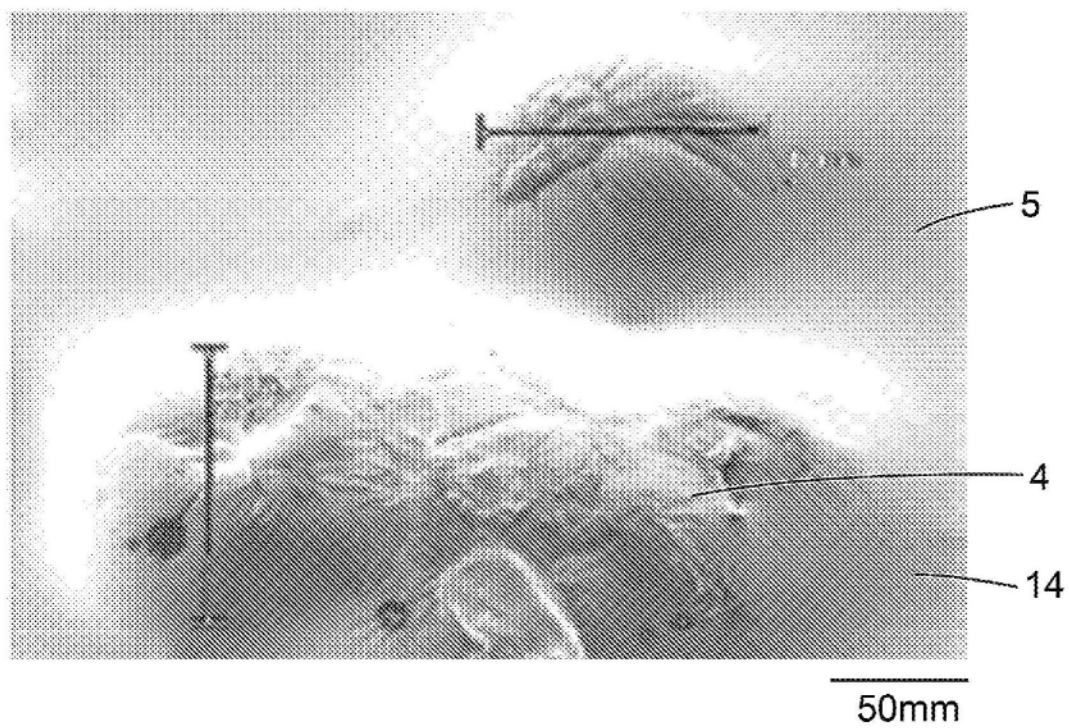


图3B

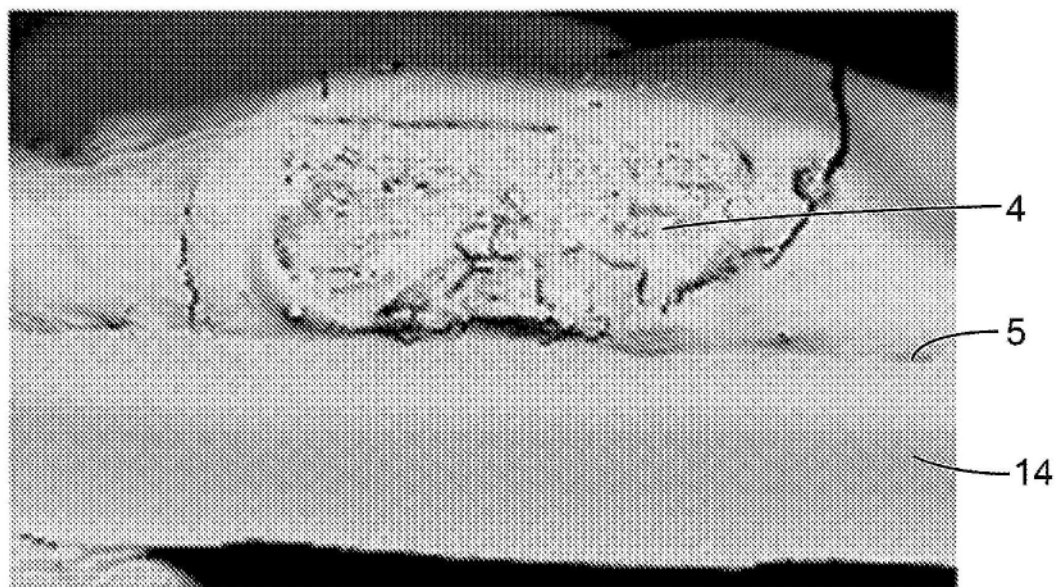


图3C

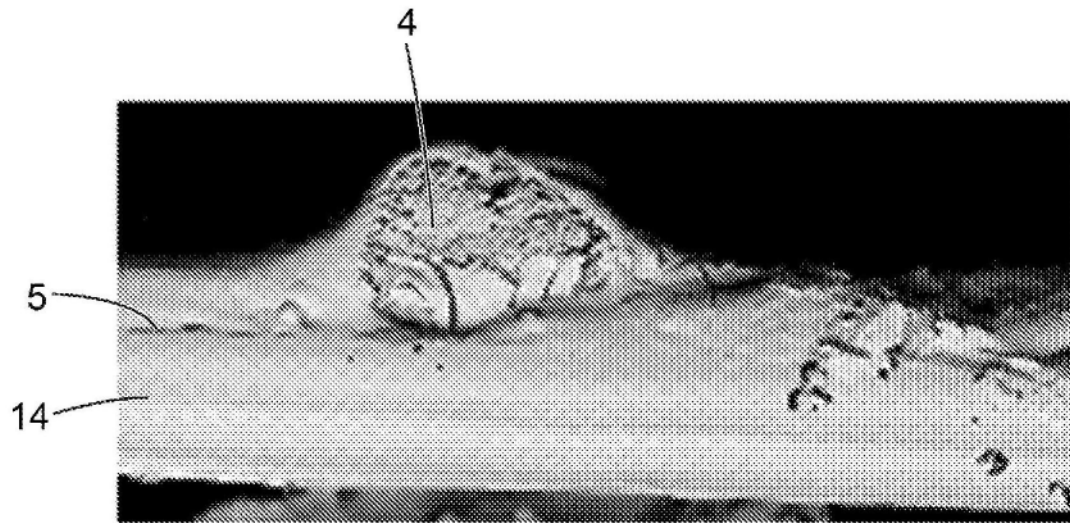


图3D

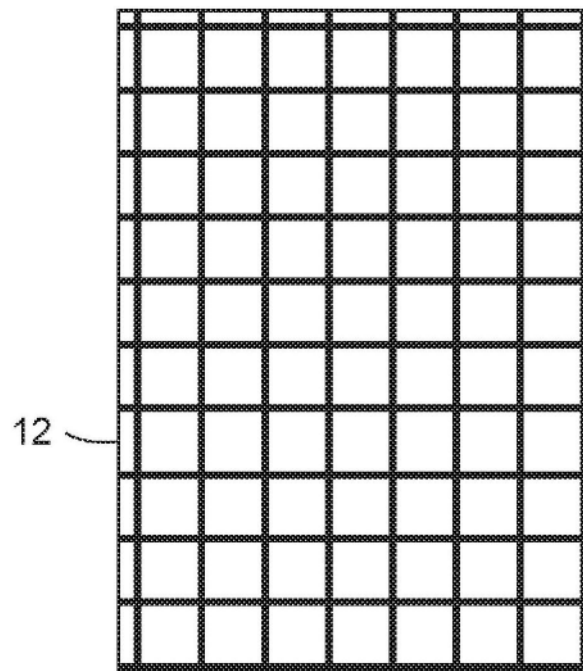


图4

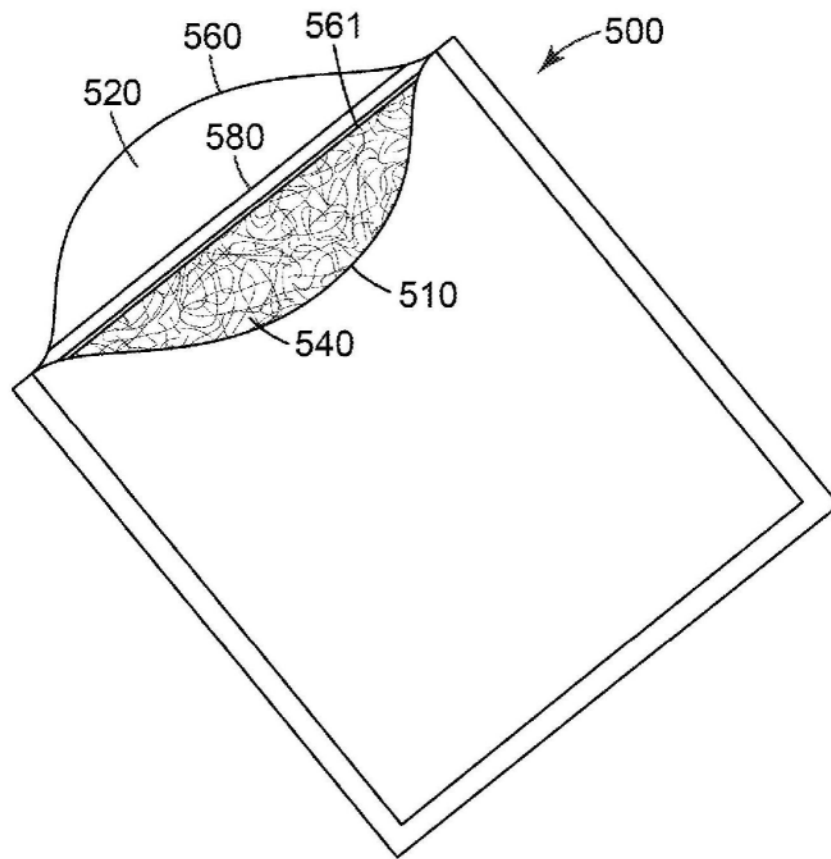


图5

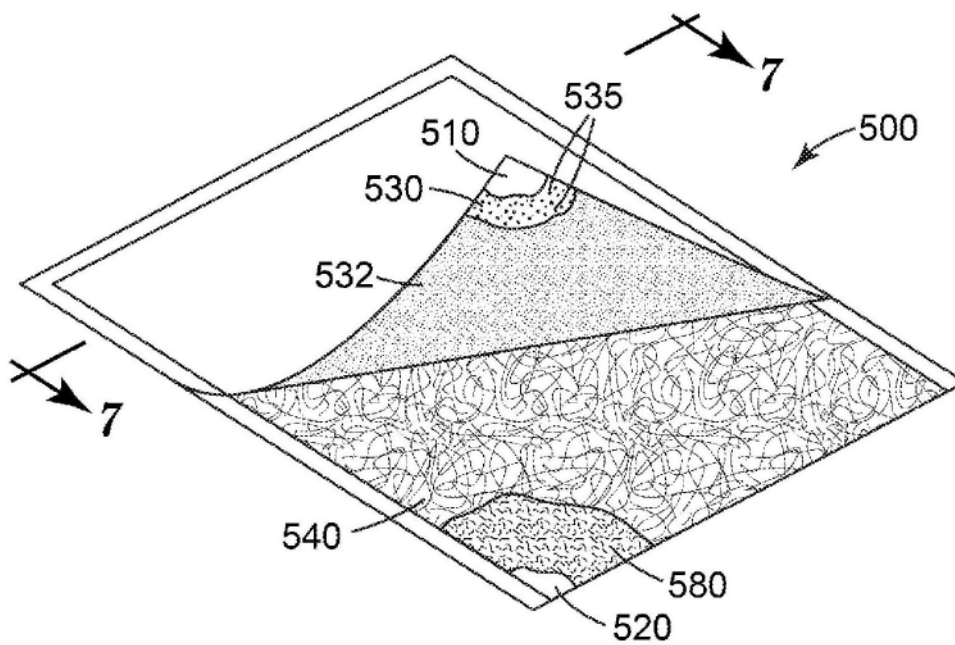


图6

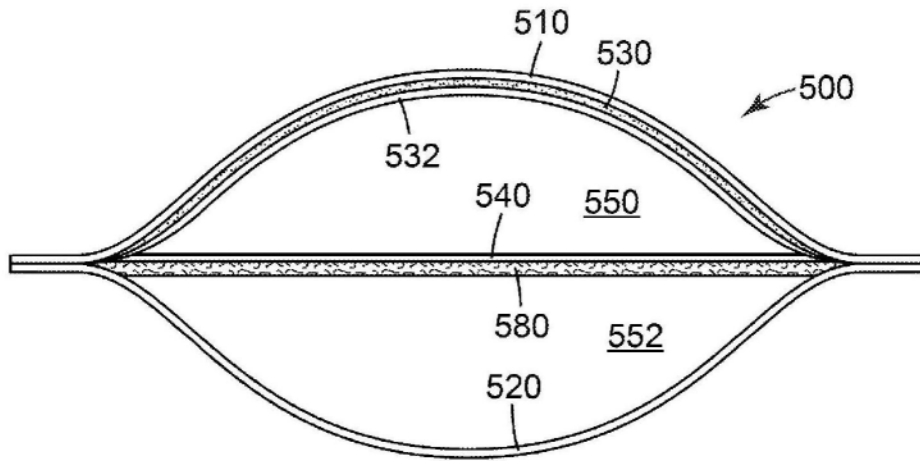


图7

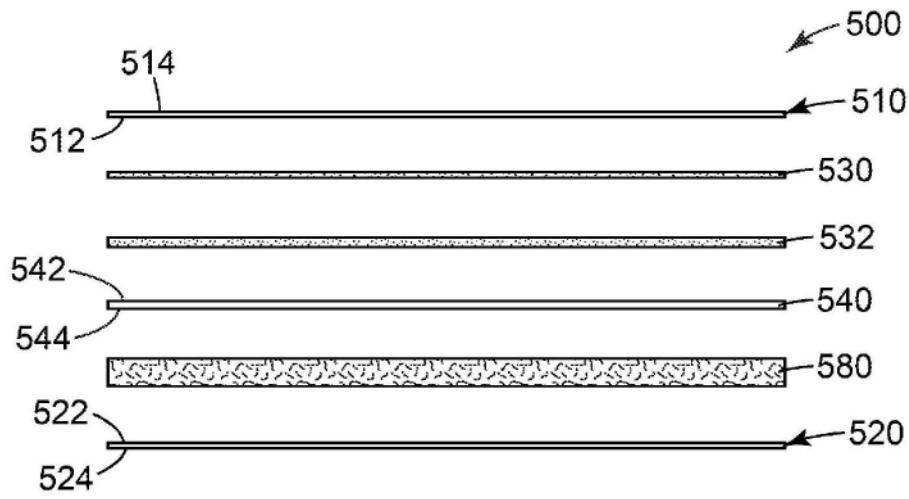


图8

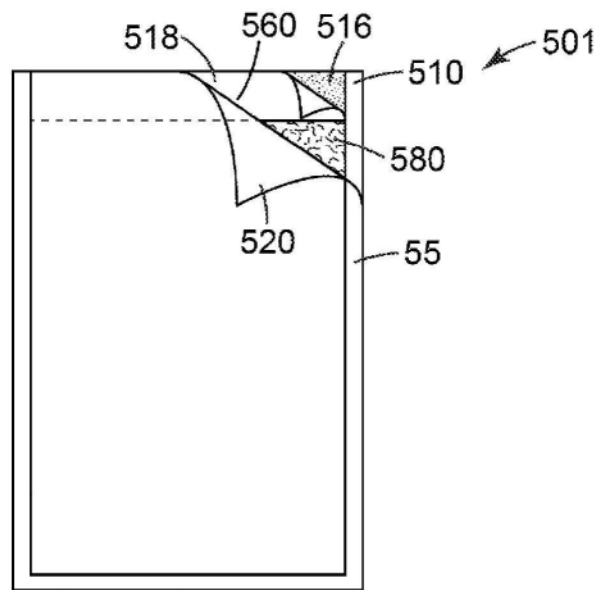


图9

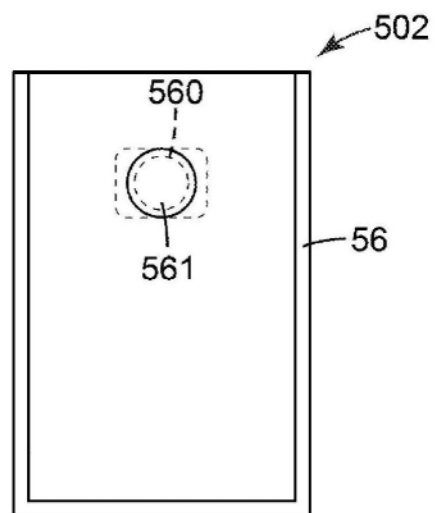


图10

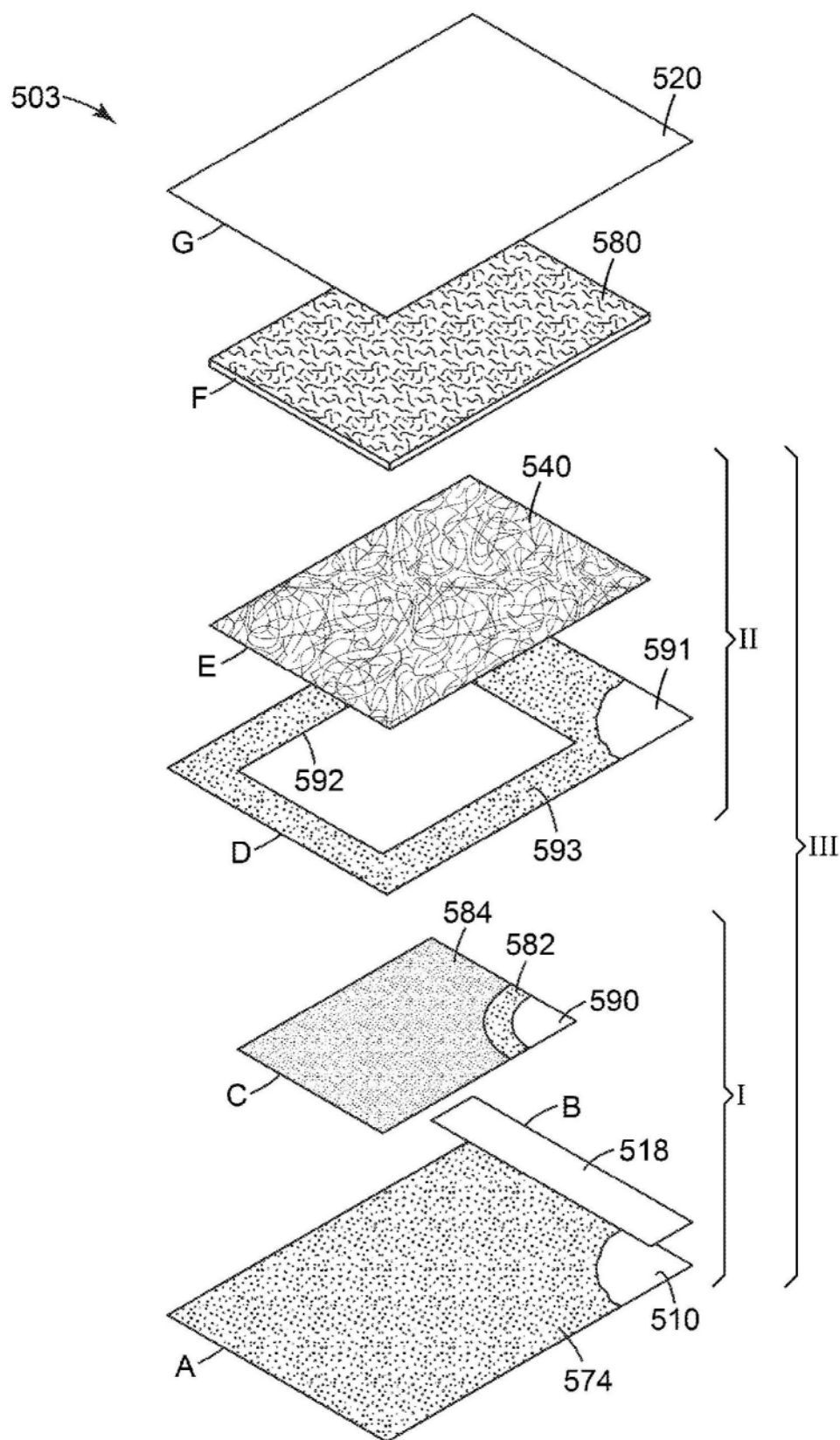


图11

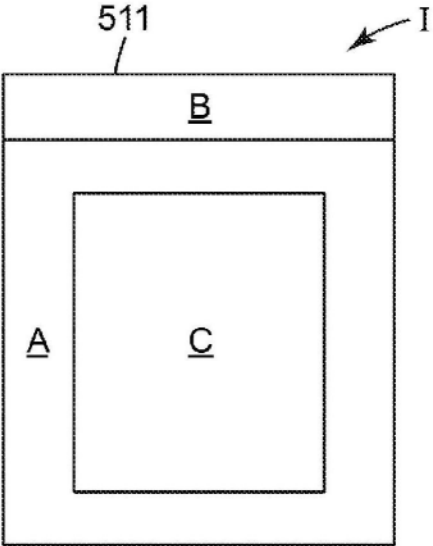


图12A

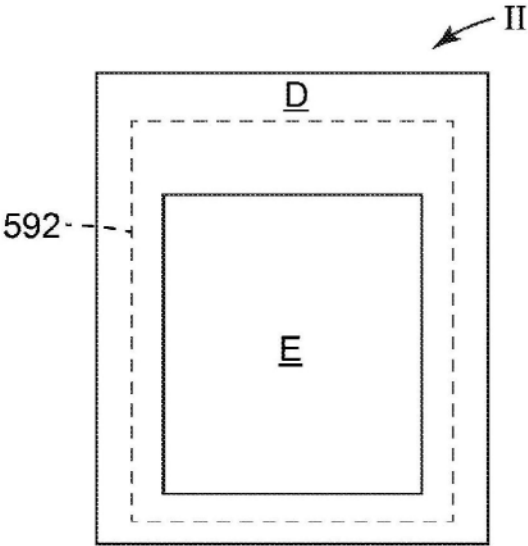


图12B

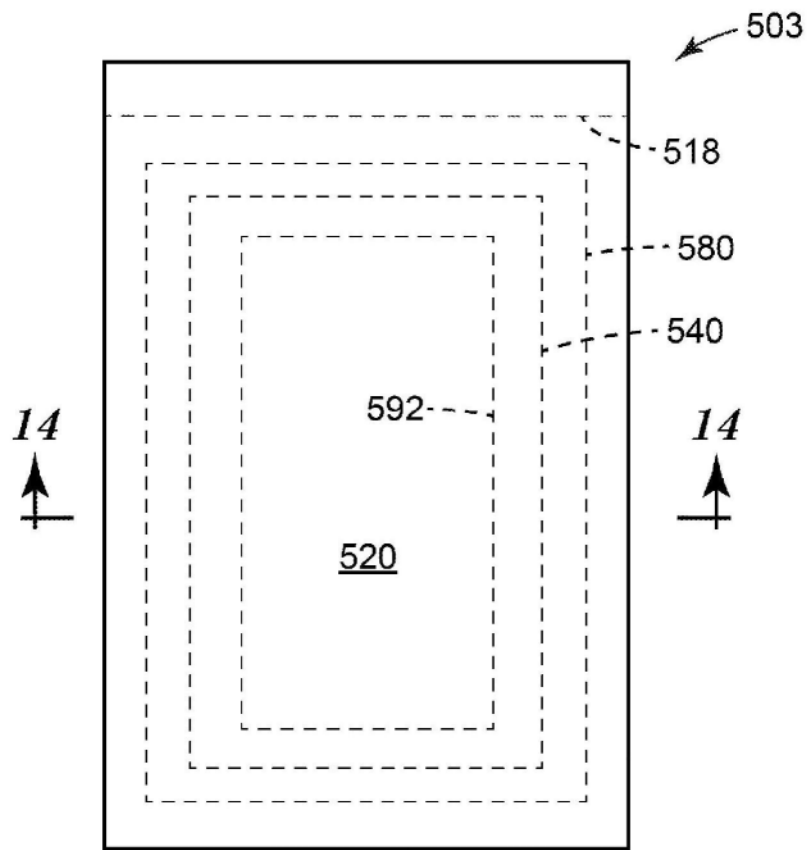


图13

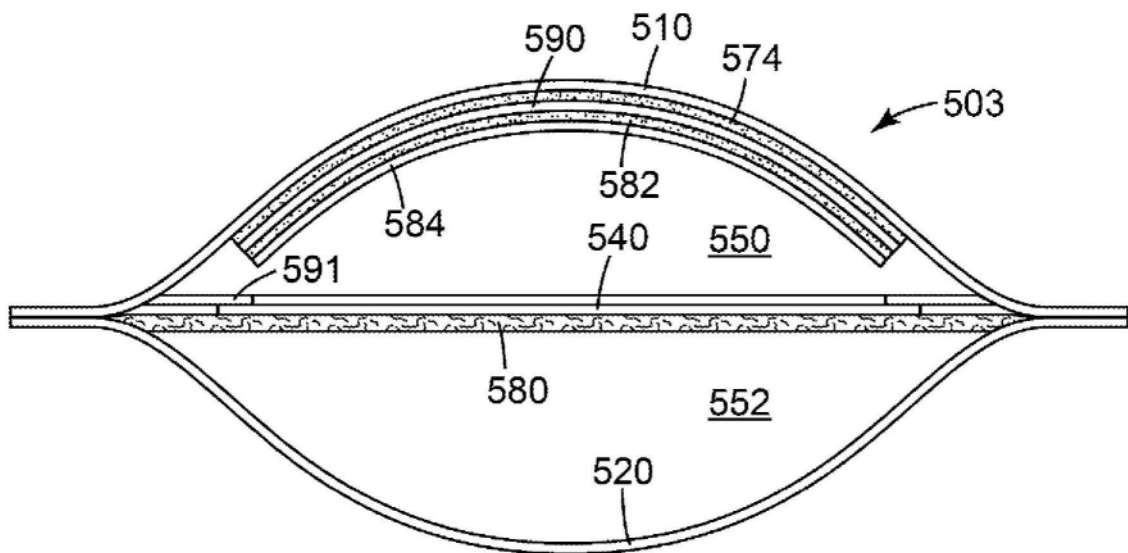


图14