



(10)授权公告号 CN 106574225 B

(45)授权公告日 2019.12.17

(21)申请号 201580044618.0

(22)申请日 2015.08.19

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106574225 A

(43)申请公布日 2017.04.19

(30)优先权数据
62/039,638 2014.08.20 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.02.20

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/045786 2015.08.19

(87)PCT国际申请的公布数据
W02016/028834 EN 2016.02.25

(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 埃文·D·布鲁蒂内尔
库尔特·J·霍尔沃森

(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 梁晓广 车文

(51)Int.Cl.
C12M 1/34(2006.01)
C12Q 1/06(2006.01)

审查员 陈云华

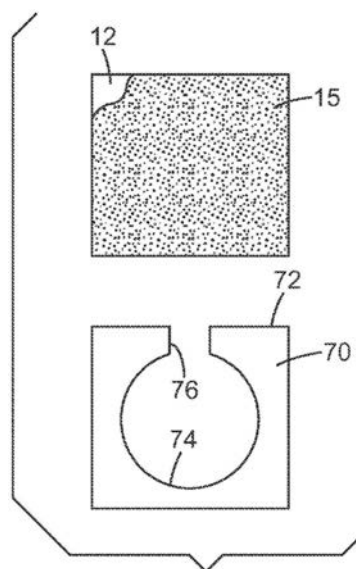
权利要求书1页 说明书29页 附图10页

(54)发明名称

用于样品分配和分析的装置和方法

(57)摘要

本公开提供一种装置,该装置包括含具有第一主表面的衬底的基部、粘附到第一主表面的至少一部分的压敏粘合剂、经由粘合剂联接至衬底的聚合物覆盖膜、设置在衬底和覆盖膜之间的多个隔离的闭合隔室、以及设置在闭合隔室中的两个或更多个中的水性液体。聚合物膜为包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂的复合物膜。多个隔室中的每个由防止与多个隔室中的至少一个其它隔室液体连通的密封限定。还提供使用该装置用于分配样品、用于分析样品、以及用于培养微生物的方法。



1. 一种用于样品分配和分析的装置,包括:
包括衬底的基部,所述衬底具有第一主表面;
粘附至所述第一主表面的至少一部分的压敏粘合剂,所述压敏粘合剂在所述第一主表面上具有厚度;
经由所述粘合剂联接至所述衬底的聚合物覆盖膜;
其中所述覆盖膜为包含聚合物和增粘剂的复合物膜;
其中所述复合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及所述增粘剂;
设置在所述衬底和所述覆盖膜之间的多个闭合隔室,所述多个隔室中的每个由防止与所述多个隔室中的至少一个其它隔室液体连通的密封限定;以及
设置在所述闭合隔室中的两个或更多个中的水性液体;
其中所述密封通过所述覆盖膜和所述压敏粘合剂之间的接触来形成;并且所述装置还包括:
位于所述基部之上的第二涂层,所述第二涂层被构造用于临时地防止所述覆盖膜粘附至所述压敏粘合剂,所述第二涂层包括:
水不溶性颗粒,所述水不溶性颗粒的直径小于或等于所述粘合剂的厚度,用于临时地防止所述覆盖膜粘附至所述压敏粘合剂,直到压力被施加至所述第二涂层;或
一种或多种水溶性试剂,用于临时地防止所述覆盖膜粘附至所述压敏粘合剂,直到液体被施加至所述第二涂层,以暴露所述粘合剂并允许所述粘合剂与所述覆盖膜粘结。
2. 根据权利要求1所述的装置,其中所述增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。
3. 根据权利要求1所述的装置,其中所述覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。
4. 根据权利要求1所述的装置,其中所述粘合剂是水不溶性的。
5. 根据权利要求1所述的装置,其中所述衬底包括金属箔。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的装置,其中所述压敏粘合剂为有机硅聚脲粘合剂。
7. 根据权利要求1所述的装置,其中所述压敏粘合剂的厚度为至少0.02mm。
8. 根据权利要求1所述的装置,其中所述覆盖膜的至少一部分的厚度为0.01mm至0.5mm。
9. 根据权利要求1所述的装置,还包括设置在所述压敏粘合剂的至少一部分上的第二涂层。
10. 一种用于分析液体样品的方法,所述方法包括:
将预定体积的液体沉积到根据权利要求1所述的装置的衬底的第一表面上,使得所述液体样品设置在所述第一表面和所述聚合物覆盖膜之间;
抵靠所述覆盖膜推压外部装置,以使所述覆盖膜的不连续区域与所述衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将所述液体分配到设置在所述衬底和所述覆盖膜之间的多个闭合隔室中;以及
对所述多个闭合隔室中的至少一个进行定量分析或定性分析。

用于样品分配和分析的装置和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2014年8月20日提交的美国临时专利申请62/039,638的优先权,所述申请的公开内容以引用的方式整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及一种分析例如对液体样品中的微生物或其它生物材料进行计数和/或检测的方法以及一种能够用于此类方法中的装置。

背景技术

[0004] 许多工业需要检测和定量样品中的生物材料,例如,确定食物和水中的微生物浓度为食物和水品质测试的重要部分。类似的需求来自许多工业,包括食物、生物技术、制药、水处理工业,以及医学微生物诊断、环境和科学研究。通常仔细检查样品以例如监测生产环境、过程中控制、储存后以及最终产品测试中的微生物群体。

[0005] 用于检查样品(特别是液体样品)的经典方法通常需要孵育时间或反应时间来进行分析。分析可涉及几种不同种类的化学、生物化学、物理或光学技术,并且需要许多小时或甚至数天来进行孵育和随后的分析。减少样品的定量和定性分析的时间对于在品质和过程控制操作中做出快速决定是非常必要的。

[0006] 关于水性生物样品的测试,有利的是将样品分配成等分试样,使得发生期望的反应或生长,并且可比原始较大体积中的相同反应或生长更快速地被检测。生物样品诸如微生物样品和分子生物学样品将常常需要此类分配,以便定性和/或定量地进行精确分析。

[0007] 此类方法和装置设想了与水性样品填充在一起的一系列微小隔室。在每种情况下,一旦填充和密封,则发生期望的反应或生长,并且可比原始较大体积中的相同反应或生长更快速地被检测。

发明内容

[0008] 一般来讲,本公开涉及用于分配液体样品(例如,水性液体样品)的装置和方法。此外,本公开涉及一种使用装置以检测液体样品中的微生物和/或生物分子的方法。

[0009] 在一个方面,本公开提供一种用于以有效、稳定和经济的方式将液体样品分配成大量较小的离散体积的快速、简单和方便的装置。

[0010] 本公开还提供一种可用于以有效、稳定和经济的方式将液体样品分配成大量较小的离散体积的小袋。有利地,小袋可装备有设置在其中用于检测微生物的营养物和/或指示剂。营养物和/或指示剂可被提供为干燥粉末涂层,当液体(例如,水性液体)被分配到小袋中时,该粉末涂层溶解。小袋可用于产生其中液体被分配到多个隔离的、闭合的隔室中的装置的方法中。

[0011] 有利地,本公开提供一种用于容易地分配液体的装置,其中该装置包括两层膜,一层涂覆有压敏粘合剂,并且另一层可变形以便符合期望分配的形状,使得样品被分配成小

的离散单元而不允许相邻隔室中的样品混合。

[0012] 在一个方面,本公开提供一种装置,该装置可包括含具有第一主表面的衬底的基部、粘附至第一主表面的至少一部分的压敏粘合剂、经由粘合剂联接至衬底的聚合物覆盖膜、设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室、以及设置在闭合隔室中的两个或更多个中的水性液体。覆盖膜可为包含聚合物和增粘剂的复合物膜。复合物膜可包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。多个隔室中的每个可由防止与多个隔室中的另一个液体连通的密封限定。密封通过覆盖膜和压敏粘合剂之间的接触来形成。

[0013] 在另一方面,本公开提供一种装置,该装置可包括含具有第一主表面的衬底的基部、粘附至第一主表面的至少一部分的压敏粘合剂、经由粘合剂联接至衬底的覆盖膜、设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室、以及设置在闭合隔室中的两个或更多个中的水性液体。覆盖膜可具有小于或等于20%的弹性恢复率。多个隔室中的每个可由防止与多个隔室中的另一个液体连通的密封限定。密封通过覆盖膜和压敏粘合剂之间的接触来形成。

[0014] 如本发明中公开的装置在分子生物学、生物化学、生物技术以及微生物学应用中找到多种应用。

[0015] 有利地,本发明的装置有利于改进得出结果的时间和容易扩展的测试能力,包括微生物的快速检测、分子表征、指示生物体测试、单一生物体病原体富集、最可能数(MPN)型测试形式以及高通量富集后生物化学表征,加上易于使用和节省时间的益处。

[0016] 在又一方面,本公开提供一种用于分配液体的方法。该方法可包括在衬底和聚合物覆盖膜之间沉积预定体积的液体,其中所述衬底涂覆有水不溶性压敏粘合剂,并且抵靠覆盖膜推压外部装置以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中。覆盖膜可为包含聚合物和增粘剂的复合物膜。复合物膜可包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。

[0017] 在又一方面,本公开提供一种用于分配液体的方法。该方法可包括将预定体积的液体沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,并且抵靠覆盖膜推压外部装置以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中。覆盖膜可具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0018] 根据另一方面,本公开提供一种用于分析液体样品的定量和定性方面的方法。该方法可包括将液体样品沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,抵靠覆盖膜推压外部装置以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中,并且对多个闭合隔室中的至少一个进行定量分析或定性分析。覆盖膜可为包含聚合物和增粘剂的复合物膜。复合物膜可包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。

[0019] 根据另一方面,本公开提供一种用于分析液体样品的定量和定性方面的方法。该方法可包括将液体样品沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,抵靠覆盖膜推压外部装置以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆

盖膜之间的多个闭合隔室中,并且对多个闭合隔室中的至少一个进行定量分析或定性分析。覆盖膜可具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0020] 在另一个实施方案中,本公开提供一种用于分离、检测、培养和富集微生物(包括厌氧和需氧形式)的方法。

[0021] 在任何实施方案中,通过本文所述的方法进行微生物检测和计数的分析,这些方法允许使用水溶性指示剂物种,并且减少或消除对当前微生物分析中通常需要的若干次稀释的需要。

[0022] 在又一方面,本公开提供一种用于培养需氧或厌氧微生物的方法。该方法可包括将样品与液体营养介质混合以使其液化,将液化样品沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述衬底涂覆有水不溶性压敏粘合剂,抵靠覆盖膜推压外部装置以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中,并且在促进所述微生物的至少一种细胞分裂的条件下孵育液化和分配的样品。覆盖膜可为包含聚合物和增粘剂的复合物膜。复合物膜可包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。

[0023] 在又一方面,本公开提供一种用于培养需氧或厌氧微生物的方法。该方法可包括将样品与液体营养介质混合以使其液化,将液化样品沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,抵靠覆盖膜推压外部装置以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中,并且在促进所述微生物的至少一种细胞分裂的条件下孵育液化和分配的样品。覆盖膜可具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0024] 本发明的另一方面为提供一种用于将液体样品分配到多个离散隔室中的试剂盒。该试剂盒可包括具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂层;和复合物覆盖膜。复合物膜可包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。

[0025] 本发明的另一方面为提供一种用于将液体样品分配到多个离散隔室中的试剂盒。该试剂盒可包括具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂层;和具有小于或等于20%的弹性恢复率的聚合物覆盖膜。

[0026] 在试剂盒的任何上述实施方案中,衬底和/或覆盖膜可以是基本上平面的。在试剂盒的任何上述实施方案中,压敏粘合剂可包括有机硅聚脲。在试剂盒的任何上述实施方案中,衬底还可包括设置在粘合剂的至少一部分上的第二涂层。在试剂盒的任何上述实施方案中,其中间隔元件联接至衬底的第一主表面。在试剂盒的任何上述实施方案中,覆盖膜附接至衬底;其中间隔元件(如果存在)设置在衬底和覆盖膜之间。

[0027] 在另一方面,本公开提供一种试剂盒。该试剂盒可包括具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂层,和复合聚合物膜。聚合物膜可包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。增粘剂可选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯和微晶蜡。在试剂盒的任何实施方案中,复合聚合物膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0028] 在又一方面,本公开提供一种试剂盒。该试剂盒可包括具有第一主表面的衬底,该

第一主表面具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂层,和具有小于或等于20%的弹性恢复率的聚合物膜。

[0029] 在试剂盒的任何上述实施方案中,衬底和/或聚合物膜是基本上平面的。在试剂盒的任何上述实施方案中,衬底和/或聚合物膜是基本上平坦的。在试剂盒的任何上述实施方案中,压敏粘合剂包含有机硅聚脲。在试剂盒的任何上述实施方案中,衬底还包括设置在粘合剂的至少一部分上的第二涂层。在试剂盒的任何上述实施方案中,第二涂层包含粉末状营养物和/或多个玻璃泡。在试剂盒的任何上述实施方案中,第二涂层基本上不含水。在试剂盒的任何上述实施方案中,如上文所述,间隔元件联接至衬底的第一主表面。在试剂盒的任何上述实施方案中,复合聚合物膜附接至衬底,其中间隔元件(如果存在)设置在衬底和覆盖膜之间。

[0030] 如本文所述,本发明具有若干个优点。第一,制品和方法避免使用具有预成型隔室的装置,从而允许操作者在使用时从多种潜在的分配构型(例如,隔室的数目、每个隔室的体积、样品的总体积)中进行选择。第二,在微隔室中使用微体积允许令人惊讶地快速检测和计数液体测试样品中的微生物。本发明在用于特定微生物诸如大肠杆菌(*E.coli*)或金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)的液体测试样品的MPN分析中特别有用。与分开的试管相反,本发明允许在单个装置中方便地进行MPN分析,并且有利地需要基本上更短的孵育时间以达到可检测的微生物生长。第三,在微隔室中使用微体积允许将液体测试样品分离成相对更大数目的测试体积。一般来讲,在微隔室中使用微体积提供对液体样品的测试的更大数目的运行或重复。在MPN分析的情况下,在微隔室中使用微体积提供从中可计算MPN的更大数目的数据点,从而对于给定的MPN结果显著地缩小95%置信限。第四,将样品分离成大量测试体积允许计数更高浓度的微生物,从而减少或消除样品稀释。第五,本发明允许在具有指示剂和/或营养物直接涂覆于其上的单个装置中进行MPN分析。第六,在进行MPN分析时,本发明允许宽的计数范围。

[0031] 前面已概述了本发明的一些最相关的目的。这些目的应当被理解为仅仅说明本发明的一些更突出的特征和应用。本发明包括将被描述或将从下面对实施方案的更详细描述中变得显而易见的其它特征和优点。

[0032] 术语“包括”及其变型在说明书和权利要求中出现这些术语的地方不具有限制的含义。

[0033] 术语“和/或”意指所列出元件中的一个或全部或者所列出元件中的任两个或更多的组合。

[0034] 另外,在本文中,通过端点表述的数值范围包括该范围内所包括的所有数值(例如,1至5包括1、1.5、2、2.75、3、3.80、4、5等)。

[0035] 本发明的上述发明内容并非旨在描述本发明的每个所公开的实施方案或每种实现方式。以下描述更具体地举例说明例示性实施方案。在整个申请中的若干个地方,通过实施例列表来提供指导,这些实施例可以各种组合使用。在每个情况中,所列举的列表仅用作代表性组,并且不应被解释为排他性列表。

[0036] 在以下附图和说明书中阐述了这些和其它实施方案的附加细节。其它特征、目的和优点将从说明书和附图并且从权利要求书中变得显而易见。

附图说明

[0037] 当结合附图阅读时,上述发明内容以及本发明的以下具体实施方式将被更好地理解。出于辅助解释本发明的目的,图中示出了目前优选的并且被认为是例示性的实施方案。然而应当理解,本发明不限于其中所示出的精确布置和器械。在图中:

[0038] 图1a为根据本公开的用于检测微生物的装置的部件的一个实施方案的局部剖视的平面视图。

[0039] 图1b为包括图1a的部件的组件的透视图,该组件具有处于打开位置以用于接种组件的覆盖膜。

[0040] 图1c为图1b的组件的横截面侧视图,该组件具有处于闭合位置的覆盖膜。

[0041] 图2a-d为示出使用图1a的部件来分配液体样品并且产生根据本公开的包括间隔元件的装置的一个实施方案的各种视图。

[0042] 图2e为用于检测微生物的装置的部件的一个实施方案的横截面侧视图,该装置包括具有顺应性构件的基部。

[0043] 图3a-3d为示出使用衬底和覆盖膜来分配液体样品并且产生根据本公开的没有间隔元件的装置的一个实施方案的平面视图。

[0044] 图4a-4e为示出根据本公开用于分析样品的小袋的构造的一个实施方案的平面视图。

[0045] 图5a-5d为使用图4e的小袋来分配液体样品的方法的一个实施方案的平面视图。

[0046] 图6为使用图2d的装置来检测微生物的一个实施方案的示意性平面视图。

具体实施方式

[0047] 现在将在下文中更全面地描述本发明。出于下列详细说明的目的,除了有明确相反规定之外,应当理解,本发明可假定各种替代的变型和步骤顺序。因此,在详细地描述本发明之前,应当理解,本发明并不限于具体举例说明的系统或实施方案,这些系统或实施方案当然可改变。在本说明书中的任何地方使用示例(包括本文论述的任何术语的示例)仅是例示性的,并且决不限制本发明或任何举例说明的术语的范围和含义。同样,本发明不限于本说明书中给定的各种实施方案。

[0048] 在详细解释本公开的任何实施方案之前,应当理解,本发明的应用不限于在以下描述中阐述或在以下图中例示的部件的构造和布置细节。本发明能够有其它实施方案并且能够以各种方式实践或实施。而且,应当理解,本文使用的措辞和术语是出于描述的目的并且不应被认为是限制性的。本文使用“包括”、“包含”或“具有”及其变型意指涵盖下文所列出的条目及其等效物以及附加的条目。除非另有说明或限制,否则术语“连接”和“联接”及其变型被广泛使用并且涵盖直接和间接的连接和联接。此外,“连接”和“联接”不限于物理或机械连接或联接。应当理解,在不脱离本公开的范围的情况下,可使用其它实施方案并且可进行结构性或逻辑性变化。此外,术语诸如“前面”“后面”“顶部”“底部”等仅用于描述与另一个元件相关的元件,但绝非意指阐述装置的具体取向,指示或暗示装置必需或需要的取向,或指定在使用中如何使用、安装、展示或定位本文所述的发明。

[0049] 如本文所用,单数形式“一”和“所述”包括多个指代物,除非上下文另有清晰的表示。术语“和/或”意指所列出元件中的一个或全部或者所列出元件中的任两个或更多个的

组合。

[0050] 术语“优选的”和“优选地”是指在某些情况下,可提供某些益处的本发明实施方案。然而,在相同或其它情况下,其它实施方案也可能是优选的。此外,对一个或多个优选实施方案的表述并不暗示其它实施方案是不可用的,且并非旨在将其它实施方案排除在本发明范围之外。

[0051] 当术语“约”用于描述范围的值或端点时,本公开应当被理解为包括所提及的具体值和端点。

[0052] 如本文所用,术语“包含(comprises)”、“包含(comprising)”、“包括(includes)”、“包括(including)”、“含有(containing)”、“特征在于”、“具有”或其任何其它变型,都旨在涵盖非排他性的包括。

[0053] 如本文所用,术语“平面”是指涉及两个维度的平面。

[0054] 如本文所用,表述“基本上平面”是指二维表面。本发明的“基本上平面的衬底”的材料(在形成隔室之前)不具有限定要求保护的隔室的最终形状、尺寸或体积的三维结构。

[0055] 如本文所用,术语“压敏粘合剂”是指在施加压力时导致与被粘物粘合的粘合剂。不需要溶剂、水或热来产生粘合。如名称“压敏”所指示,粘结的程度受施加的压力的量的影响。

[0056] 如本文所用,术语“疏水性”是指对水或水性介质具有相对较小或没有亲和力的分子的物理特性。疏水性分子趋于是非极性的,并且因此优选其它中性分子和非极性溶剂。水中的疏水性分子常常集聚在一起,从而形成胶束。疏水表面上的水将表现出高接触角。

[0057] 如本文所用,术语“弹性体”是指与其它材料相比,具有粘弹性(具有粘度和弹性两者)和非常弱的分子间力,一般具有低杨氏模量和高破坏应变的任何聚合物。连接以形成聚合物的单体中的每一个通常由碳、氢、氧和/或硅制成。弹性体是存在于它们的玻璃化转变温度以上的无定形聚合物,使得可能进行相当大的节段性运动。如本文所用,术语“弹性恢复率”是指变形后的恢复比例,并且定量为伸长后的恢复百分比。通过聚合物在初始弹性变形后将恢复其初始长度的百分比来测量弹性恢复率。弹性恢复率的百分比越高,聚合物在初始变形后恢复到其原始尺寸的趋势越大。

[0058] 如本文所用,术语“闭合隔室”是指限定和独立的空间,该空间隔离地保持每个隔室的内容物而不与相邻隔室的内容物混合。如本文所用,表述“多个闭合隔室”是指根据本发明设置在装置的衬底和覆盖膜之间的多于一个此类闭合隔室。

[0059] 如本文所用,术语“密封”是指聚合物覆盖膜和衬底之间的接合。该接合形成隔室并防止泄漏、防止隔室(例如,相邻隔室)之间的混合、和/或防止来自外部环境的污染。

[0060] 如本文所用,术语“增粘剂”是指用于粘合剂配制中以增加粘合剂的粘性、表面的粘性的化学化合物。它们通常为具有高玻璃化转变温度的低分子量化合物。在低应变速率下,它们提供更高的应力顺应性,并且在更高的应变速率下变得更硬。

[0061] 如本文所用,术语“熔体指数”为用于表征热塑性聚合物的常用量度。它是熔融时聚合物粘度的间接和反比例的量度。它测量在限定的温度、压力和几何条件下在给定时间量内流过孔口的聚合物熔体的质量。熔体指数值越大,它的粘度越低,并且因此聚合物的平均分子量越低。较高分子量的聚合物将更粘稠,并且在相同条件下较少流动,因此熔体指数将是较小的数值。熔体指数通常表达为在十分钟周期内流出的聚合物的克数,因此为g/

10min或dg/min。

[0062] 如本文所用,术语“比重”是指物质的密度与参考物质的密度(相同单位体积的质量)的比率。

[0063] 术语“光学透射率”或“透明度”是指当通过塑料膜、片、玻璃等观察时可看到物体的光学清晰度。透明度取决于光线穿过材料的线型度,并且由小角散射确定。它是由光电检测器通过确定透射通过材料的光的百分比而测量的材料的常规透射率。

[0064] 如本文所用,术语“液体样品”是指处于液态的任何样品,或者可溶解在液体中以形成液化样品或已液化的样品。

[0065] 术语“样品”可为任何生物样品或环境样品,诸如废水、食物、表面拭子或来自其它表面(诸如咽喉)的拭子,或本领域技术人员熟知的其它样品。该样品可为液体样品,或者可溶解在液体中以形成液化样品。如上文所述,可检测的生物材料是形成离散颗粒(诸如微生物)的任何材料,该材料可通过确定在孵育板的每个孔内存在或不存在此类生物材料来定量。

[0066] 如本文所用,术语“厌氧微生物”或“厌氧菌”是指对氧敏感并且在氧的存在下将不会生长的微生物。厌氧微生物或厌氧菌为不需要氧来生长的生物体。厌氧微生物包括专性厌氧菌和兼性厌氧菌两者。专性厌氧菌是在暴露于大气水平的氧时会死的那些微生物。兼性厌氧菌是在氧存在的情况下能进行有氧呼吸,但是在氧不存在的情况下能够切换到发酵或无氧呼吸的生物体。本发明的方法和系统可用于专性厌氧菌和兼性厌氧菌两者的富集和检测。

[0067] 如本文所用,微生物的术语“培养”或“生长”是指通过让微生物在预定的培养基中在有利于它们生长的条件下繁殖而增加它们的数量的方法。更具体地,它是提供合适的培养基和条件以促进微生物的至少一种细胞分裂的方法。培养基为含有用于微生物生长所必需的物理生长参数所需的全部营养物的固体、半固体或液体培养基。

[0068] 本公开的组件、装置和方法可用于分离液体样品,并且任选地分析样品中存在或不存在生物分子和/或微生物。组件、装置和方法在分析样品中微生物的存在和数量的最可能数(MPN)方法中特别有用。

[0069] 在国际公布号W095/23026中描述了最可能数的方法,其以引用的方式整体并入本文。在该方法中,将一定体积的水样品分配到若干个管(例如,10×10;10个管,每个含有10ml)中,并且允许每个管中的细菌生长。在特定温度下孵育特定时间后,计数阳性管的数量。这些实施方案中的最可能数可由式I确定:

[0070] (式I) $MPN/100ml = (P \times 100) / (NT)^{1/2}$

[0071] 其中P为阳性管的数量,N为阴性管中样品的体积(ml),T为所有管中的样品体积(ml),并且MPN为最可能数。该方法的主要缺点为当仅使用几根管时,95%置信限的范围较大。此类置信限大致使用式II来计算:

[0072] (式II) $\text{Log}(MPN) \pm 1.96(0.58/n^{1/2})$

[0073] 其中n为测试的数量。

[0074] 本领域中的所有当前装置/方法都遭受如何以简单的方式有效地填充微小隔室的问题。当前的解决方案包括使用具有预成形隔室的装置、施加真空、离心、以及甚至在油乳剂中形成微滴。在每种情况下,分隔液体所需的方法是麻烦的,并且包含颗粒诸如食物的现

实世界样品是不相容的。因为常规已知的方法不适于其中快速和容易地处理许多和变化的样品的常规使用,所以存在对于改进的方法和装置的需要。

[0075] 本发明解决了与用于将小体积液体样品分成大量较小离散体积的当前使用的系统相关联的问题。总的来说,本发明提供一种基于使用微体积显著地增加检测速度的令人惊讶的结果来实现快速和准确地检测和计数微生物的装置和方法。不仅当直接检测全细胞时,而且当间接检测此类细胞时,诸如通过检测或定量细胞碎片、细胞组分、源自细胞的生物分子或细胞副产物来检测和/或计数微生物。

[0076] 在标准琼脂板以及PETRIFILM™板上的菌落的自动检测和计数是困难的,并且遭受许多限制。然而,每个孔在冲压板中的位置是固定的,并且不需要识别算法。自动检测平台将仅需要测量给定区域中的荧光,并且确定它是否高于设定的阈值。不需要尽可能快的时间得出结果的客户将能够使用环境光或简单的手持照明源(例如,黑光)观察(和计数)阳性隔室,从而避免自动读板器的需要。当样品被分成许多较小的样品时,微生物或其它生物分子如病毒、核苷酸、代谢物等的有效浓度,最终在任何给定的分区中增加数量级,从而增大反应化学物质的速度并减少检测时间。

[0077] 本发明的装置与已知的固体培养技术相比具有另一个显著优点。有利地,本发明的方法是较少劳动密集的,允许更好地样品分布,并且提供更精确的微生物浓度估计。这是因为隔室中相应较大数量的样品等分试样提供了相应较窄的置信限区间。

[0078] 本发明在需要对微体积的液体样品进行定性和定量分析的各种领域中具有多方面应用。应用领域可包括但不限于微生物学、分子生物学、生物技术、化学等。

[0079] 定性和定量分析的示例性微生物应用包括但不限于生长评估、监测、单细胞富集培养、分离、与生长不相容的二次测试的执行、使用不同尺寸的隔室的最可能数(MPN)型测试。

[0080] 非限制性的示例性分子生物学应用包括聚合酶链反应测定、生物分子如核苷酸、氨基酸、肽、蛋白质、代谢物等的检测和定量。

[0081] 参考图,如下文所详述对本发明的装置进行构造。

[0082] 如图1a-1c中所示,本公开的装置可由包括基部10和覆盖膜20的部件制成。基部包括衬底12。在任何实施方案中,具有第一表面13的衬底12是基本上平面的。在任何实施方案中,衬底12可以是薄的(例如,小于5mm厚)并且基本上平坦(即,片状)。在任何实施方案中,衬底12可以是自支撑的。任选地,衬底12可以是光学半透明或透明的。优选地,衬底12是水不溶性的或在第一表面13的至少一部分上具有水不溶性涂层(未示出)。优选地,在与水性液体(例如,水性样品)接触时,衬底12将不会滤去任何化学品(例如,可能抑制微生物生长和/或活性(例如,用于检测微生物的酶活性)的化学品)。

[0083] 在任何实施方案中,基部10和覆盖膜20可组装成如图1b中所示的组件100。覆盖膜20可经由合适的附接装置(例如,压敏粘合剂,未示出)附接至衬底10和/或间隔元件30。有利地,液体样品(未示出)可简单地通过将覆盖膜20提起以暴露样品将沉积到其上的区域(例如,由围绕所例示实施方案的粘合剂15和第二涂层18(下文所述)的间隔元件30限定)而沉积到组件100中。

[0084] 衬底12可例如由聚合物膜或其它适当的材料来制造。适当的聚合物包括但不限于聚乙烯、聚丙烯、聚酯、聚酰亚胺、含氟聚合物、聚碳酸酯、聚氨酯、聚苯乙烯、其衍生物、以及

它们的组合。其它适当的材料可包括但不限于金属箔(如铝箔、铜箔、钢箔)、层压箔、纸箔、以及纸板。在任何实施方案中,衬底12是双轴取向的聚丙烯。

[0085] 衬底12具有至少约0.01mm的厚度。在任何实施方案中,衬底12具有大于5mm、小于或等于5mm、小于或等于约2mm、小于或等于约1mm的厚度。优选地,衬底12不表现出将干扰可用于检测目的的任何基于荧光或颜色的指示剂系统的基本光吸收特性(例如,在紫外和/或可见波长中)。

[0086] 在任何实施方案中,衬底相对于电磁辐射的可见波长、紫外波长和/或红外波长可以是光学透射的。

[0087] 返回参考图1a-1c,第一主表面13的至少一部分具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂(PSA)层15。当如本文所述组装本公开的装置时,当对覆盖膜20施加压力以使其与PSA层15接触时,PSA层15与覆盖膜20形成粘结。不需要溶剂、水或热来活化PSA粘合剂,并且粘结的程度受到用于使粘合剂15接触覆盖膜20的压力的量(以及外部装置的布局,下文所述)的影响。本发明的PSA能够甚至在水性液体和基本上不干扰粘合剂的某些非水性液体的存在下保持它们的粘合特性。涂覆到衬底12上的PSA层的厚度为至少约0.02mm。在任何实施方案中,PSA层的厚度在约0.02mm至约0.1mm的范围内。合适的PSA包括但不限于有机硅聚脲粘合剂等。

[0088] 合适的PSA包括与合适的增粘剂配混的弹性体。压敏粘合剂基本上不溶于水性液体(例如,水、水性培养基、水性缓冲液)。弹性体化合物和增粘剂均不应引起对微生物生长和/或活性的实质性抑制。在任何实施方案中,压敏粘合剂相对于电磁辐射的可见波长、紫外波长、和/或红外波长可以是光学透射的。

[0089] 其它合适的组合物可基于有机硅-聚脲基压敏粘合剂的家族。此类组合物描述于以下文献中,参考文献中的每一个均以引用的方式整体并入本文:美国专利5,461,134(Leir等人);美国专利6,007,914(Joseph等人);国际公布号W096/35458(及其相关美国专利申请序列号08/427,788(1995年4月25日提交));08/428,934(1995年4月25日提交);08/588,157(1996年1月17日提交);以及08/588,159(1996年1月17日提交);国际公布号W096/34028(及其相关美国专利申请序列号08/428,299(1995年4月25日提交));08/428,936(1995年4月25日提交);08/569,909(1995年12月8日提交);以及08/569,877(1995年12月8日提交);以及国际公布号W096/34029(及其相关美国专利申请序列号08/428,735(1995年4月25日提交)和08/591,205(1996年1月17日提交))。

[0090] 在任何实施方案中,基部10任选地包括附接至衬底10的间隔构件30。任选地,间隔构件30可粘附至粘合剂层15。间隔构件30包括使PSA层15的一部分暴露的孔32,该部分限定用于在本公开的装置中产生隔室的区域的周边,如下文所述。

[0091] 用于间隔构件30的合适的材料包括例如,可容易地以片形式获得的任何天然或合成物质。优选地,间隔构件30基本上不抑制微生物生长或活性,并且不吸收水性液体(例如,由疏水性材料构造或涂覆有疏水性材料)。聚乙烯、聚丙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯和聚苯乙烯为一些合适的合成材料示例。具体地,优选相对廉价、可商购获得的聚苯乙烯泡沫和聚乙炔泡沫。任选地涂覆有疏水涂层的天然物质诸如金属(例如箔片)、木材等是较不优选的替代品。

[0092] 间隔构件30的厚度应足以在装置中产生足够大以容纳所需样品体积的内部体积。

在任何实施方案中,间隔构件30可小于1mm厚、至少约0.02mm厚、至少约1mm厚、至少约1.5mm厚、或至少约2mm厚。

[0093] 在本发明的任何实施方案中,涂覆有PSA的主涂层(即,PSA层15)的衬底还可包括第二涂层。任选的第二涂层18可包括但不限于一种或多种水溶性试剂,诸如例如营养物、脱水或粉末状培养基、选择性试剂(例如,抗生素、盐)化学品、染料、蛋白质、肽、核苷酸、酶以及抗体。因此,当该类型的第二涂层18暴露于水性液体时,水溶性试剂溶解,从而使粘合剂暴露并且允许其与覆盖膜20粘结以形成如本文所述的隔室。

[0094] 另选地或除此之外,第二涂层18可包括具有小于或等于粘合剂15厚度的直径的水不溶性颗粒(例如,中空或实心玻璃微球或其碎片)。对于该类型的第二涂层18,水不溶性颗粒可被推(具有或不具有微球破裂)入粘合剂层15(例如,通过由覆盖膜施加的压力)中,从而使粘合剂暴露并且导致覆盖膜粘结至粘合剂,如下文所述。在任何实施方案中,将微球推入粘合剂层中可能导致微球破裂。有利地,在任何实施方案中,第二涂层18临时地防止覆盖膜20粘附至粘合剂层15,直至液体沉积到组件100中,从而溶解第二涂层(如果第二涂层18包含水溶性试剂),并且使粘合剂层暴露或直至向第二涂层(如果第二涂层18包含水不溶性颗粒)施加压力以使粘合剂暴露,并且从而允许粘合剂与覆盖膜20粘结。

[0095] 在任何实施方案中,本公开的第二涂层18可基本上不含水。如说明书和权利要求书中所用,短语“基本上不含水”表示一旦其被允许与周围环境平衡时,具有不大于约脱水涂层的含水量的含水量的涂层。

[0096] 参考图1a-1c,覆盖膜20可由非吸水剂(例如,疏水性)并且具有不大于20%的弹性恢复率的任何弹性聚合物膜材料制成。可例如,使用ASTM D5459-95 (2012) “用于拉伸包覆膜的机器方向弹性恢复和永久变形以及应力保留的标准测试方法(Standard Test Method for Machine Direction Elastic Recovery and Permanent Deformation and Stress Retention of Stretch Wrap Film)”;宾夕法尼亚州西康舍霍肯市的美国材料与试验协会(ASTM International, West Conshohocken, PA)来测量塑料膜的弹性恢复率;该文献以引用的方式整体并入本文。覆盖膜20优选为自密封的、可模制的和柔性的膜,诸如例如以商品名PARAFILM[®]购自Bemis Flexible包装公司(威斯康星州的奥什科什(Oshkosh, WI))的复合物膜。

[0097] 在任何实施方案中,覆盖膜相对于电磁辐射的可见波长、紫外波长和/或红外波长可以是光学透射的。

[0098] 覆盖膜20可例如由聚合物膜或其它适当的材料来制造。合适的聚合物膜公开在美国专利4,425,268中,其以引用的方式整体并入本文。聚合物膜可为聚合物和增粘剂的适当的复合物。适当的聚合物可包括但不限于乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物。适当的增粘剂可包括但不限于低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。有利地,使用乙烯和乙酸乙烯酯的高分子量共聚物以及乙烯和高级烯烃的线型共聚物的组合物来制造覆盖膜20。

[0099] 高分子量共聚物的熔体指数在约0.1至约4.0之间。线型共聚物的比重在约0.917和约0.945之间。在任何实施方案中,覆盖膜20具有0.02mm至0.5mm范围内的厚度,优选在0.1至0.25mm的范围内,更优选在0.1至0.15mm的范围内。在拉伸该覆盖膜20时,层的厚度可减小至约0.01mm至0.25mm。导致膜厚度减小的对覆盖膜20的该拉伸可有助于密封的隔室和

它们的外部环境之间的有效气体交换,但不允许湿气穿过。覆盖膜20具有低的透水性并且对湿蒸气不敏感。有利地,覆盖膜20和装置的这些特性一般有助于有效培养需氧和厌氧微生物,如本发明的实施方案中所例示。

[0100] 返回到图,图2a-2d示出根据本公开的形成检测装置(例如,图2d的检测装置1000)的方法的一个实施方案。检测装置1000由如本文所述的组件100(图2b)形成。在覆盖膜20至少部分地与基部10分离(如图2a中所示)时,将水性样品40施加(例如,通过移液管)至组件的基部10。样品40被施加至第二涂层18(如果存在)或由间隔构件30的孔32限定的区域内的压敏粘合剂15。间隔构件30起到容纳样品40的作用并防止其脱离或滤去。用于限定样品区域的适当的间隔构件30可包括但不限于缓冲器、间隔器、杆和金属轮缘。液体样品40被分配在样品区域中,并且通过使覆盖膜20与样品40和基部10接触而覆盖有覆盖膜20。本领域中具有普通技术的人员将认识到,本公开的装置的尺寸可被设定为适应具有各种体积的样品。例如,样品体积可小至约50 μ L或大至约100mL或更大。优选地,整个样品体积被分布到根据本公开的装置的隔室中。如果第二涂层18为水溶性试剂,如本文所公开,水性样品40和第二涂层18之间的接触将溶解该涂层,从而使粘合剂层15与样品40流体连通,如图2b中所示。

[0101] 如图2b中所示,朝基部10推压覆盖膜20(如图2a中的箭头“A”所示)散布样品40,以便填充由衬底12和间隔构件30限定的基部10中的可用体积。覆盖膜20抵靠基部的放置还从组件100中排出基本上所有的空气。液体样品40的有效散布可使用本领域已知的方法以任何数量的方式完成,诸如例如将覆盖膜“滚动”(例如,从组件100的一个边缘至相对边缘)到间隔构件30上;使用如辊、金属散布器、聚合物散布器、弯曲玻璃棒等散布工具;将装置倾斜;或对覆盖膜施加手动压力。

[0102] 在将基部10和覆盖膜20组装以形成其中设置有液体样品40的组件100之后,形成多个隔室以产生检测装置1000(图2d)。在任何实施方案中,隔室具有预定的体积。在任何实施方案中,多个隔室的每个隔室的体积约等同于其它隔室中每一个的体积。在覆盖膜10和涂覆在衬底12上的压敏粘合剂15之间的接触点处的多个隔室的密封通过由外部装置施加压力以形成预定图案的密封来实现,其中覆盖膜20接触基部10的粘合剂层15。覆盖膜20和/或基部10的PSA层15的疏水性有助于防止限制在相邻隔室中的液体的交叉污染。

[0103] 外部装置被用于推压覆盖膜20以在指定区域处与基部10的压敏粘合剂15接触。这是根据期望实现的隔室的尺寸、形状和数量,使用具有期望的图案化表面(即,具有预定图案的腔的表面)的任何工具或装置(例如,图2c的工具50)来实现的。工具50可为具有多个预定的脊和腔的任何图案化装置(例如,96孔或384孔微量滴定板),当在其上施加工具50时,预定的脊和腔可用于在可模制表面上形成互补的图案化结构。在工艺中形成的隔室的尺寸、形状和体积至少部分地由冲压工具50决定,并且可从纳升至毫升变化。所得装置(例如,图2d的装置1000)可包括任何期望数量的隔室60。

[0104] 在一个实施方案中,具有脊54和腔56的工具50被压靠在组件100的覆盖膜20上(如图2c中的箭头B所指示)从而留下孔的图案(图2d的隔室60),每个隔室60保持原始样品(即,图2c中部分地以截面示出的装置100的样品40)的给定(例如,预定)部分,如图2d中所示。此外,每个隔室60被密封62围绕,密封62在流体上将容纳在隔室60中的样品部分与容纳在其它隔室60中的样品部分隔离。

[0105] 在图2c的所例示实施方案中,工具50包括周边脊52,周边脊52限定尺寸和形状与

间隔元件50的孔32类似的区域。有利地,周边脊密封装置1000的周边,从而防止样品材料从装置1000泄漏。

[0106] 外部装置(例如,工具50)可通过包括但不限于包括液压、气动、机械和电气类型的压制工具的任何方式被推压到覆盖膜上。在任何实施方案中,可手动地抵靠覆盖膜推压外部装置。

[0107] 使用本发明的方法在单个装置1000上制造相对大量的隔室60。优选地,装置1000包括2至2000个隔室,更优选约10至约1000个隔室,甚至更优选约50至约500个隔室之间,并且最优选约100至约300个隔室。装置1000可具有大量均匀尺寸的隔室,如图2d中所示。

[0108] 在任何实施方案中,本公开装置中的多个隔室中的一个或多个可具有约200nL至约10mL的体积。例如,多个隔室中的一个或多个可具有约200nL、约500nL、约1 μ L、约10 μ L、约50 μ L、约100 μ L、约250 μ L、约500 μ L、约1mL、约2mL、约5mL、或约10mL的体积。

[0109] 在一个实施方案中,装置可包括多个分道或其它分组,每个分道或其它分组包括特定体积的隔室,即,它们在整个装置中不是均匀的。例如,可使用如美国专利6,696,286(其以引用的方式整体并入本文)的图2中所描绘的工具来形成本公开的装置。对应的装置将具有隔室的组(例如,行),其中体积在一组内是恒定的,但是在组之间变化。体积可在隔室组的阵列上递增地变化,其中例如,较小的隔室保持亚微升体积,并且较大的隔室保持多微升体积。甚至可能的是,装置中的最大隔室包括将保持例如多至毫升体积的隔室。该特征允许在单个装置内将液体测试样品分布成不同的测试体积尺寸。对于如最可能数(MPN)的计数测定,该特征将是有益和有利的,因为对于高度浓缩的样品,可选择适当的体积尺寸,并且在单个装置中使用单个分配步骤执行MPN分析,而不需要连续稀释。

[0110] 本发明的装置允许液体测试样品离散分离成相对大量的测试微体积。将液体样品分离到隔室中并在隔室之间没有交叉污染的情况下执行定量和定性分析的能力是本装置的主要优点。然而,可使用各种附加的制造方法来进一步增强隔室的效用,如下文所述。

[0111] 在根据本公开的方法的任何实施方案中,本公开的装置的基部可放置到顺应性(即,柔性、变形的)表面上,同时抵靠覆盖膜推压外部装置。有利地,顺应性表面有利于外部装置的各种接触点/表面和覆盖膜的表面之间的基本上均匀的接触(以及力的基本上均匀的分布)。该均匀接触确保多个隔室在该工艺中被密封。合适的顺应性表面包括但不限于柔性聚合物(例如,橡胶)层、闭孔或开孔泡沫(例如,聚氨酯)层等、以及它们的组合。

[0112] 另选地或除此之外,在任何实施方案中,本公开的装置的基部还包括顺应性构件。顺应性构件可包括但不限于前述柔性聚合物层、泡沫层、以及它们的组合。图2e示出基部11的一个实施方案,基部11包括联接至基部12的顺应性构件14。顺应性构件14可经由任何合适的装置(未示出)联接至衬底,所述装置包括例如粘合剂、钉、夹具、铆钉、以及熔融粘结。

[0113] 在任何实施方案中,经由分配液体样品的方法来形成本公开的装置。该装置不需要包括间隔元件。在不具有间隔元件的装置中将水性样品分配到隔室中的方法的一个实施方案的步骤在图3a-3d中例示。如本文所述,包括具有第一主表面13的衬底12的基部10涂覆有压敏粘合剂层15。基部10可放置在其中粘合剂层15面向上的表面(优选平坦的、基本上水平的表面)上。如图3a中所示,将待分配的预定体积的水性溶液(图3a的样品40)直接分配到粘合剂层15上。

[0114] 在将水性样品40沉积到衬底上之后,将如本文所述的覆盖膜20放置到样品40和基

部10上,使得样品40设置在覆盖膜20和基部10的粘合剂层15之间。任选地,通过形成围绕设置在覆盖膜20和基部10的粘合剂层15之间的液体样品40的周边密封,在覆盖膜20和基部10的粘合剂层15之间密封液体样品40。周边密封(例如,图3c中所示的周边密封92)通过抵靠粘合剂层15推压覆盖膜20的预定部分来形成。这可使用任何合适的形成周边的外部装置来完成,诸如例如具有围绕腔57的脊56的工具55。腔57应当限定与水性样品40的体积至少一样大,优选约等于该体积的体积。因此,当抵靠覆盖膜推压工具55时,它将样品40分布在基部10的预定区域上。工具55的脊56在抵靠覆盖膜20推压时导致覆盖膜20和粘合剂层15之间的接触,从而形成限定样品保持腔室(即,腔室90)的周边密封90。在任何实施方案中,腔室90具有由工具55的腔57限定的预定的体积。当腔57的体积近似等于液体样品40的体积时,空气在周边密封92的形成期间基本上被排除。形成周边密封92的合适工具55的一个实施方案为塑料散布装置,诸如购自3M公司(明尼苏达州的圣保罗市(St. Paul, MN))的PETRIFILM酵母和霉菌散布器。

[0115] 在另选的实施方案(未示出)中,周边密封92可通过抵靠覆盖膜推压钝的物体(例如,铅笔尖端、擦除器尖端)以描绘液体样品周围的周边密封而手动地形成。预期周边密封92可采取各种形状中的任一种形式,包括但不限于圆形、椭圆形、多边形、正方形、矩形、六边形、八边形、以及长圆形。

[0116] 在形成任选的周边密封92之后,抵靠覆盖膜20推压形成分配的外部装置(例如,图3c的工具50),以使覆盖膜20的预定部分与粘合剂层15接触以形成多个隔室60。在覆盖膜20的预定部分接触粘合剂层15的地方形成密封62。密封基本上防止隔室之间的液体连通。用于形成隔室62的合适的外部装置的非限制性示例为塑料384孔微量滴定板(未处理的黑色#242764, Nalge Nunc International公司;纽约州的罗契斯特市(Rochester, NY))。可例如通过使用手动压力或通过使用空气压机(例如,购自威斯康星州米尔顿市(Milton, WI)的Janesville工具制造公司的A-0019型空气压机),抵靠覆盖膜20推压外部装置。用于形成密封的力的量应当为足够的力以确保覆盖膜和粘合剂层之间充分接触以形成密封。

[0117] 使用具有与腔室90近似相同的形状和尺寸的外部装置优选可确保通过该方法产生的多个隔室中的每个隔室具有预定的(任选基本上均匀的)体积。然而,如图3a-3d中所例示,这不是强制性的。

[0118] 在另一方面,本公开提供一种用于分配液体样品(例如,水性液体样品)的小袋。图4a示出用于制造根据本公开的小袋的一些部件的局部剖视的平面视图。在任何实施方案中,基本上平面的衬底12具有涂覆在主表面上的层或压敏粘合剂15。合适的衬底12和粘合剂15如上文所述。在将涂层施加在粘合剂15上之前,将片状掩模70施加(例如,层压)至衬底12上的粘合剂15。掩模70具有周边边缘72、中心开口74、和从开口74延伸至周边边缘72的间隙76。当放置在衬底12上时,开口74和间隙76使粘合剂15的一部分暴露。尽管被示出为具有圆形形状,但预期开口74可具有多种合适形状(例如,圆形、正方形、椭圆形、长方形、矩形、多边形等)中的任一种。

[0119] 掩模70可由各种材料制成,包括例如纸或塑料膜片。优选地,掩模70在抵靠粘合剂15放置的一侧上涂覆有低粘合性背胶。低粘合性背胶(未示出)有利于从粘合剂15去除掩模,而不破坏粘合剂15和衬底12之间的粘结。在将掩模70施加至粘合剂15之后,将第二涂层18(例如,粉末材料的涂层,诸如上文所述的试剂或颗粒)施加至暴露的粘合剂18。图4c示出

第二涂层18粘附至粘合剂未被掩模70覆盖的部分。在任何实施方案中,第二涂层18包含如本文所述的水溶性试剂。在任何实施方案中,第二涂层包含具有小于或等于粘合剂层18的厚度的平均粒径的多个颗粒(例如,玻璃泡,诸如购自明尼苏达州圣保罗市的3M公司的K37玻璃泡)。

[0120] 在施加第二涂层18之后,可任选地去除(例如,通过振动)过量的粉末,并去除掩模70。去除掩模70使剩余的粘合剂15暴露在衬底12上,如图4d中所示。为了完成根据本公开的小袋500的制备,如图4e中所示,将尺寸被设定为覆盖暴露的粘合剂15的覆盖膜20层压(例如,使用辊,未示出)至粘合剂。小袋500包括内部贮存器502,液体样品(未示出)沿小袋500的边缘通过端口504(即,开口)被引入内部贮存器502中。

[0121] 根据本公开的小袋500可用于分配样品的方法中。图5a-5d示出用于使用图4e的小袋500分配液体样品的步骤的一个实施方案。

[0122] 如图5a中所示,将液体样品40(例如怀疑含有生物材料(例如,微生物或生物分子)的水性样品)引入(例如,经由移液管)到小袋500的贮存器502中。如果贮存器502中的第二涂层(未示出)包含水溶性试剂,则液体样品40的引入使试剂溶解并使粘合剂(未示出)暴露,使得其可与小袋502的覆盖膜粘结。任选地,可抵靠小袋500的覆盖膜推压散布装置55(例如,购自明尼苏达州圣保罗市的3M公司的PETRIFILM酵母和霉菌板散布器),以将液体散布在整个贮存器502上,以将空气推出贮存器502(经由端口),并且形成围绕单个、液体填充的腔室90的周边密封92,如图5b中所示。如上文所述,抵靠液体填充贮存器(未示出)或液体填充隔室90(如图5c中所示)推压外部装置(例如,工具50),以形成图5d中所示的装置2000。装置2000包括多个液体填充的隔室40,每个隔室根据由如本文所述的工具50限定的脊54的图案经由一个或多个密封42而与相邻隔室隔开。

[0123] 因此,本发明提供一种用于检测测试样品中的微生物的方法。合适的测试样品的非限制性示例包括固体、半固体、凝胶材料、颗粒悬浮液、溶液、液体、以及它们的组合。在将固体或半固体样品引入本公开的装置或小袋中之前,可将它们在水性介质(例如,无菌水、缓冲液、营养介质)中匀化和/或悬浮。液体或液化的测试样品可直接沉积到涂覆有粘合剂和任选地第二涂层的衬底上。将样品展开并且如本文所述形成装置,从而导致通过借助PSA有效密封顶部和衬底,来将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中。可使用本领域技术人员已知的方法,在至少一个隔室上进行分配的样品的定性和定量分析。

[0124] 定量分析包括但不限于样品中微生物或生物分子的枚举、定量、计数和测量。生物分子可包括但不限于多糖、脂质、核酸、DNA、RNA、代谢物、维生素、激素以及氨基酸。定性分析包括但不限于微生物或生物分子的检测、培养、分离、鉴定以及纯化。

[0125] 在另一个实施方案中,本发明涉及一种在液体测试样品中培养微生物的方法。除了分配的样品包括营养生长介质并且允许在足以促进微生物的至少一种细胞分裂的时间的条件下孵育以外,该方法类似于上文所述的方法。对于厌氧微生物的培养,具有分配的样品的装置可保持在厌氧室中以维持隔室中的厌氧环境。

[0126] 在将样品分布到隔室中之后,可根据所需的用途进行各种测定。对于微生物检测或计数,测定装置可孵育足以允许微生物的至少一个细胞分裂周期的时间。出于这些目的,装置一般在约25℃至约45℃,更优选约30℃至约37℃下孵育。微生物检测的孵育时间将变化。检测时间也将根据生长速率、使用的检测系统(例如,指示试剂)和样品中存在的微生物

的数量而变化。

[0127] 液体测试样品可为来自任何来源的任何感兴趣的样品。液体测试样品可包括用于感兴趣的微生物的选择性营养生长介质和/或在生长的微生物存在下产生信号的指示剂物质。优选地,当一定体积的液体测试样品分布到衬底上时,营养生长介质作为衬底上的涂层以足以实现所需浓度的量存在。此类涂层可例如通过将营养介质的溶液放置或分布到衬底上并且干燥溶液以在膜上产生营养介质的涂层或沉积来实现。介质的组分可存在于涂覆在衬底上的粘合剂中。当介质与液体样品接触时,其最终扩散到样品中。

[0128] 用于各种感兴趣的微生物的多种选择性生长介质如用于多种微生物的多种指示剂物质是已知的,并且这些介质或指示剂物质中的任一种均适用于本发明的方法中。本发明的优点是可使用可溶性指示剂,因为通过在密封的隔室中限制水性生物样品来防止扩散。

[0129] 在其它实施方案中,隔室可含有营养介质的涂层,并且营养介质还可包含至少一种指示剂物质。另选地,液体测试样品可包括至少一种指示剂物质。在任一情况下,指示剂物质可为能够在液体测试样品中提供可检测信号的任何指示剂物质。此类指示剂包括但不限于显色指示剂、荧光指示剂、发光指示剂、以及电化学指示剂。出于本申请的目的,术语“电化学”意指改变样品与微生物反应时的电阻或电导的化学指示剂。

[0130] 测定试剂可通过本领域技术人员已知的用于将测定试剂固定在固体衬底上的许多方法中的任一种来固定在衬底中。此类方法包括例如干燥含测定试剂的液体,以及用于将生物分子和其它测定试剂非共价附接至固体衬底的其它方法。另选地,可采用各种方法通过本领域技术人员熟知的方法将测定试剂共价附接至衬底。

[0131] 可合适地采用在相对低浓度下检测的荧光指示剂。合适的指示剂包括4-甲基伞形基磷酸酯和4-甲基伞形基-B-D-吡喃葡萄糖苷、L-苯丙氨酸-7-酰氨基-4-甲基香豆素。其它可包括4-甲基伞形基乙酸酯和4-甲基伞形基硫酸酯。

[0132] 在另一方面,制造了一种用于该装置的试剂盒。在任何实施方案中,试剂盒包括以下部件:(i)具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有涂覆在其上的水不溶性压敏粘合剂层,和(ii)复合聚合物膜。衬底可为用于如本文所述的装置的任何合适的衬底。复合聚合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂。增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。在任何实施方案中,复合聚合物膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0133] 在任何实施方案中,试剂盒包括以下部件:(i)具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂层,衬底和粘合剂如本文所述;和(ii)具有小于或等于20%的弹性恢复率的聚合物膜,如本文所述。

[0134] 在试剂盒的任何实施方案中,衬底和/或聚合物膜是基本上平面的。在试剂盒的任何实施方案中,衬底和/或聚合物膜是基本上平坦的。在试剂盒的任何实施方案中,压敏粘合剂包含有机硅聚脲。在试剂盒的任何实施方案中,衬底还包括设置在粘合剂的至少一部分上的第二涂层。在试剂盒的任何实施方案中,第二涂层包含粉末状营养物和/或多个玻璃泡。在试剂盒的任何实施方案中,第二涂层基本上不含水。在试剂盒的任何实施方案中,如上文所述,间隔元件联接至衬底的第一主表面。在试剂盒的任何实施方案中,复合聚合物膜附接至衬底,其中间隔元件(如果存在)设置在衬底和覆盖膜之间。

[0135] 根据本公开的任何试剂盒的附加部件可包括各种尺寸和形状样品散布工具、样品区域限定物体和冲压工具。试剂盒可附加地包括易于使用的说明手册。

[0136] 存在本领域技术人员可用的各种替代技术和程序,这些将类似地允许人们成功地实践预期发明。下文所述的所有具体材料和方法全部或部分落入本发明的范围内。这些具体组成、材料和方法并不旨在限制本发明,而是仅仅例示落入本发明范围内的具体实施方案。本领域技术人员可在没有实施本发明的能力以及不脱离本发明范围的情况下开发等同的材料和方法。应当理解,可在本文所述的程序中进行许多变型,同时仍保持在本发明的界限内。发明人旨在将此类变型包括在本发明的范围内。

[0137] 示例性实施方案

[0138] 实施方案A为一种装置,该装置包括:

[0139] 包括衬底的基部,衬底具有第一主表面;

[0140] 粘附至第一主表面的至少一部分的压敏粘合剂;

[0141] 经由粘合剂联接至衬底的聚合物覆盖膜;

[0142] 其中覆盖膜为包含聚合物和增粘剂的复合物膜;

[0143] 其中复合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂;

[0144] 设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室,多个隔室中的每个由防止与多个隔室中的至少一个其它隔室液体连通的密封限定;以及

[0145] 设置在闭合隔室中的两个或更多个中的水性液体;

[0146] 其中密封通过覆盖膜和压敏粘合剂之间的接触来形成。

[0147] 实施方案B为实施方案A的装置,其中增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。

[0148] 实施方案C为实施方案A或实施方案B的装置,其中覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0149] 实施方案D为一种装置,该装置包括:

[0150] 包括衬底的基部,衬底具有第一主表面;

[0151] 粘附至第一主表面的至少一部分的压敏粘合剂;

[0152] 经由粘合剂联接至衬底的聚合物覆盖膜,覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率;

[0153] 设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室,多个隔室中的每个由防止与多个隔室中的至少一个其它隔室液体连通的密封限定;以及

[0154] 设置在闭合隔室中的两个或更多个中的水性液体;其中密封通过覆盖膜和压敏粘合剂之间的接触来形成。

[0155] 实施方案E为前述实施方案中任一项的装置,其中衬底是水不溶性的。

[0156] 实施方案F为前述实施方案中任一项的装置,其中密封防止多个隔室中的任两个之间的液体连通。

[0157] 实施方案G为前述实施方案中任一项的装置,其中第一主表面是基本上平面的。

[0158] 实施方案H为前述实施方案中任一项的装置,其中衬底具有至少约0.02mm的厚度。

[0159] 实施方案I为实施方案H的装置,其中衬底具有小于或等于5mm的厚度。

- [0160] 实施方案J为实施方案H的装置,其中衬底具有小于或等于2mm的厚度。
- [0161] 实施方案K为前述实施方案中任一项的装置,其中衬底由选自下列的材料制成:聚丙烯、聚氨酯、聚乙烯、聚酯、聚酰亚胺、含氟聚合物、聚碳酸酯、聚苯乙烯,前述材料中任一种的衍生物,以及前述材料中任两种或更多种的组合。
- [0162] 实施方案L为实施方案K的装置,其中材料为聚丙烯,其中聚丙烯为双轴取向的聚丙烯。
- [0163] 实施方案M为前述实施方案中任一项的装置,其中衬底包括金属箔。
- [0164] 实施方案N为实施方案M的装置,其中金属箔包括铝、铜、或钢。
- [0165] 实施方案O为实施方案M或实施方案N的装置,其中金属箔包括金属箔-聚合物层压体。
- [0166] 实施方案P为前述实施方案中任一项的装置,其中压敏粘合剂在与水性液体接触时保持其粘合特性。
- [0167] 实施方案Q为前述实施方案中任一项的装置,其中压敏粘合剂包含弹性体和增粘剂。
- [0168] 实施方案R为实施方案A至P中任一项的装置,其中压敏粘合剂为有机硅聚脲粘合剂。
- [0169] 实施方案S为前述实施方案中任一项的装置,其中压敏粘合剂的厚度为至少约0.02mm。
- [0170] 实施方案T为实施方案S的装置,其中压敏粘合剂的厚度小于或等于0.2mm。
- [0171] 实施方案U为前述实施方案中任一项的装置,其中覆盖膜为包含聚合物和增粘剂的复合物膜。
- [0172] 实施方案V为前述实施方案中任一项的装置,其中覆盖膜是自密封的、可模制的和柔性的膜。
- [0173] 实施方案W为前述实施方案中任一项的装置,其中覆盖膜的至少一部分的厚度为0.01mm至0.5mm。
- [0174] 实施方案X为实施方案W的装置,其中覆盖膜的至少一部分的厚度为0.10mm至0.25mm。
- [0175] 实施方案Y为前述实施方案中任一项的装置,其中覆盖膜的至少一部分在拉伸时的厚度为0.01mm至0.20mm。
- [0176] 实施方案Z为前述实施方案中任一项的装置,其中水性液体包括生物样品。
- [0177] 实施方案AA为实施方案Z的装置,其中生物样品用于微生物分析或生物化学分析。
- [0178] 实施方案AB为实施方案Z的装置,其中生物样品为食物样品、临床样品、环境样品、或废水样品。
- [0179] 实施方案AC为前述实施方案中任一项的装置,其中每个隔室中的水性液体具有200nL至10mL的体积。
- [0180] 实施方案AD为前述实施方案中任一项的装置,其中所有隔室中的水性液体具有50 μ L至100mL范围内的总体积。
- [0181] 实施方案AE为前述实施方案中任一项的装置,其中装置还包括设置在衬底和覆盖膜之间的间隔元件。

- [0182] 实施方案AF为实施方案AE的装置,其中间隔元件附接至衬底。
- [0183] 实施方案AG为前述实施方案中任一项的装置,其中装置还包括设置在压敏粘合剂的至少一部分上的第二涂层。
- [0184] 实施方案AH为实施方案AG的装置,其中第二涂层基本上由干燥粉末组成。
- [0185] 实施方案AI为实施方案AG或实施方案AH的装置,其中第二涂层选自营养物、化学品、染料、蛋白质、酶以及抗体。
- [0186] 实施方案AJ为一种用于分配液体的方法,该方法包括:
- [0187] 在衬底和聚合物覆盖膜之间沉积预定体积的液体,其中所述衬底涂覆有水不溶性压敏粘合剂;
- [0188] 其中覆盖膜为包含聚合物和增粘剂的复合物膜;
- [0189] 其中复合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃
- [0190] 的线型共聚物、以及增粘剂;以及
- [0191] 抵靠覆盖膜推压外部装置,以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中。
- [0192] 实施方案AK为实施方案AJ的方法,其中增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。
- [0193] 实施方案AL为实施方案AJ或实施方案AK的方法,其中覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。
- [0194] 实施方案AM为一种用于分配液体的方法,该方法包括:
- [0195] 将预定体积的液体沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,并且所述覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率;以及
- [0196] 抵靠覆盖膜推压外部装置,以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中。
- [0197] 实施方案AN为实施方案AJ至AM中任一项的方法,其中在抵靠覆盖膜推压外部装置之前,衬底和/或覆盖膜是基本上平坦的。
- [0198] 实施方案A0为实施方案AJ至AN中任一项的方法,其中外部装置包括具有多个腔的图案化表面。
- [0199] 实施方案AP为实施方案AJ至A0中任一项的方法,其中衬底还包括设置在粘合剂上的第二涂层。
- [0200] 实施方案AQ为实施方案AP的方法,其中第二涂层选自营养物、化学品、染料、蛋白质、酶以及抗体。
- [0201] 实施方案AR为一种用于分析液体样品的方法,该方法包括:
- [0202] 将预定体积的液体沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂;
- [0203] 其中覆盖膜为包含聚合物和增粘剂的复合物膜;
- [0204] 其中复合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂;
- [0205] 抵靠覆盖膜推压外部装置,以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,

从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中;以及

[0206] 对多个闭合隔室中的至少一个进行定量分析或定性分析。

[0207] 实施方案AS为实施方案AR的方法,其中增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。

[0208] 实施方案AT为实施方案AR或实施方案AS的方法,其中覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0209] 实施方案AU为一种用于分析液体样品的方法,该方法包括:

[0210] 将液体样品沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,并且所述聚合物覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率;

[0211] (ii) 抵靠覆盖膜推压外部装置,以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中;以及

[0212] 对多个闭合隔室中的至少一个进行定量分析或定性分析。

[0213] 实施方案AV为实施方案AR至AU中任一项的方法,其中在抵靠覆盖膜推压外部装置之前,衬底和/或覆盖膜是基本上平坦的。

[0214] 实施方案AW为实施方案AR至AV中任一项的方法,其中定量分析包括样品中微生物或生物分子的计数。

[0215] 实施方案AX为实施方案AW的方法,其中生物分子选自蛋白质、多糖、脂质、核酸、DNA、RNA、代谢物、维生素、激素以及氨基酸。

[0216] 实施方案AY为实施方案AR至AX中任一项的方法,其中定性分析包括样品中微生物或生物分子的检测、培养、分离、鉴定或纯化。

[0217] 实施方案AZ为一种用于培养微生物的方法,该方法包括:

[0218] 将预定体积的液体沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂;

[0219] 其中覆盖膜为包含聚合物和增粘剂的复合物膜;

[0220] 其中复合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂;

[0221] 抵靠覆盖膜推压外部装置,以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中;以及

[0222] 在促进所述微生物的至少一种细胞分裂的条件下孵育液化和分配的样品。

[0223] 实施方案BA为实施方案AZ的方法,其中增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。

[0224] 实施方案BB为实施方案AZ或实施方案BA的方法,其中覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。

[0225] 实施方案BC为一种用于培养微生物的方法,该方法包括:

[0226] 将样品与液体营养介质混合以使其液化;

[0227] 将液化的样品沉积到衬底的第一表面上,使得液体样品设置在第一表面和聚合物覆盖膜之间,其中所述第一表面涂覆有水不溶性压敏粘合剂,并且所述聚合物覆盖膜具有小于或等于20%的弹性恢复率;

- [0228] 抵靠覆盖膜推压外部装置,以使覆盖膜的不连续区域与衬底的压敏粘合剂接触,从而导致将液体分配到设置在衬底和覆盖膜之间的多个闭合隔室中;以及
- [0229] 在促进所述微生物的至少一种细胞分裂的条件下孵育液化和分配的样品。
- [0230] 实施方案BD为实施方案AZ至BC中任一项的方法,其中在抵靠覆盖膜推压外部装置之前,衬底和/或覆盖膜是基本上平坦的。
- [0231] 实施方案BE为实施方案AZ至BD中任一项的方法,其中微生物是需氧或厌氧的。
- [0232] 实施方案BF为一种试剂盒,该试剂盒包括:
- [0233] 具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有涂覆在其上的水不溶性压敏粘合剂层;以及
- [0234] 复合聚合物膜;
- [0235] 其中聚合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂;
- [0236] 其中增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。
- [0237] 实施方案BG为实施方案BF的试剂盒,其中复合聚合物膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。
- [0238] 实施方案BH为一种试剂盒,该试剂盒包括:
- [0239] 具有第一主表面的衬底,该第一主表面具有粘附到其上的水不溶性压敏粘合剂层;以及
- [0240] 具有小于或等于20%的弹性恢复率的聚合物膜。
- [0241] 实施方案BI为实施方案BF至BH中任一项的试剂盒,其中衬底和/或聚合物膜是基本上平面的。
- [0242] 实施方案BJ为实施方案BF至BI中任一项的试剂盒,其中压敏粘合剂包含有机硅聚脲。
- [0243] 实施方案BK为实施方案BF至BJ中任一项的试剂盒,其中衬底还包括设置在粘合剂的至少一部分上的第二涂层。
- [0244] 实施方案BL为实施方案BK的试剂盒,其中第二涂层包含粉末状营养物和/或多个玻璃泡。
- [0245] 实施方案BM为实施方案BF至BL中任一项的试剂盒,其中间隔元件联接至衬底的第一主表面。
- [0246] 实施方案BN为实施方案BF至BM中任一项的试剂盒:
- [0247] 其中聚合物膜附接至衬底;
- [0248] 其中间隔元件(如果存在)设置在衬底和覆盖膜之间。
- [0249] 实施方案B0为一种小袋,该小袋包括:
- [0250] 衬底;
- [0251] 附接至衬底的复合聚合物膜;
- [0252] 设置在第一层和第二层之间的贮存器;以及
- [0253] 端口,液体可通过该端口被引入贮存器中;
- [0254] 其中,在贮存器中,衬底包括粘附至衬底的压敏粘合剂层和涂覆到粘合剂层上的基本上不含水的第二层;

- [0255] 其中第二层防止粘合剂和复合聚合物膜之间的粘合；
- [0256] 其中聚合物膜包含乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、乙烯和高级烯烃的线型共聚物、以及增粘剂；
- [0257] 其中增粘剂选自低分子量聚异丁烯、多萜烯、无定形聚丙烯、以及微晶蜡。
- [0258] 实施方案BP为实施方案B0的小袋，其中复合聚合物膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。
- [0259] 实施方案BQ为一种小袋，该小袋包括：
- [0260] 衬底；
- [0261] 附接到衬底的聚合物膜；
- [0262] 设置在衬底和聚合物膜之间的贮存器；以及
- [0263] 端口，液体可通过该端口被引入贮存器中；
- [0264] 其中，在贮存器中，衬底包括粘附至衬底的压敏粘合剂层和涂覆到粘合剂层上的基本上不含水的第二层；
- [0265] 其中第二层防止粘合剂和复合聚合物膜之间的粘合；
- [0266] 其中聚合物膜具有小于或等于20%的弹性恢复率。
- [0267] 实施方案BR为实施方案B0至BQ中任一项的小袋，其中第二涂层包含粉末。
- [0268] 实施方案BS为实施方案B0至BR中任一项的小袋，其中第二涂层包含营养物、用于指示微生物生长的试剂、或选择性试剂。
- [0269] 实施方案BT为实施方案BN至BS中任一项的小袋，其中第二涂层包含多个水不溶性颗粒。
- [0270] 实施方案BU为实施方案BT的小袋，其中水不溶性颗粒包括玻璃泡。
- [0271] 实施方案BV为实施方案BT或实施方案BU的小袋，其中水不溶性颗粒具有平均直径，其中粘合剂层具有厚度，其中平均直径小于或等于厚度。
- [0272] 实施方案BW为包括实施方案BQ至BX中任一项的小袋的试剂盒。
- [0273] 实施例
- [0274] 通过以下实施例进一步例示了本发明的目的和优点，但是这些实施例中引用的具体材料及其量以及其它条件和细节不应被理解为对本发明的不当限制。除非另外指示，否则所有份数和百分比均基于重量，所有水均为蒸馏水，并且所有分子量均为重均分子量。
- [0275] 实施例1：密封装置的制备和水性样品在密封装置中的分配。
- [0276] 衬底和覆盖膜的制备
- [0277] 使用具有基本上平面的第一表面的0.05mm (2密耳) 厚的双轴取向聚丙烯 (BOPP, 2密耳) 作为衬底。在第一表面上，用0.05mm (2密耳) 厚的基于有机硅的水不溶性压敏粘合剂 (有机硅聚脲) 来涂覆膜。水不溶性有机硅聚脲粘合剂根据美国专利5,461,134和6,007,914中描述的方法制备；二者均以引用的方式整体并入本文。
- [0278] 对于疏水性覆盖膜，使用0.1mm厚的塑料石蜡膜 (PARAFILM M4密尔 (0.1mm) 膜，Bemis Flexible Packaging公司；Oshkosh, WI)。
- [0279] 将水性样品分配到隔室中
- [0280] 通过用0.5mg/ml的4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸 (西格玛奥德里奇公司 (Sigma-Aldrich Corp)；密苏里州的圣路易市 (St. Louis, MO)) 在BACTO™胰蛋白酶大豆肉汤 (美国BD

公司(Becton,Dickinson and Company);新泽西州的富兰克林湖(Franklin Lakes,New Jersey))中稀释大肠杆菌(*Escherichia coli*) (ATCC#25922,美国类型组织收集;弗吉尼亚州的马纳萨斯市(Manassas,Virginia))的过夜培养物来制备水性溶液。测试溶液每微升具有约1-100个细菌。

[0281] 将水性样品分配到隔室中的工艺的步骤在图3a-3d中示出。将粘合剂涂覆的衬底(即,图3a的基部10)放置在其中粘合剂15面向上的平坦表面上,并且将1ml的测试水性溶液(图3a的样品40)直接分配到粘合剂涂覆的基部上,如图3a中所示。

[0282] 在将水性样品添加到衬底上之后,然后将覆盖膜20小心地放置到样品40和基部10上,并且抵靠覆盖膜20推压(如图3b中的箭头B所指示)塑料散布装置(明尼苏达州圣保罗市的3M公司的PETRIFILM酵母和霉菌板散布器),以将液体散布开并将液体密封到覆盖膜20和基部之间的具有6cm直径的圆形腔室(图3c的腔室90)中。腔室90通过将覆盖膜20接合至基部10的周边密封92来界定边界。

[0283] 将塑料384孔微量滴定板(未处理的黑色#242764,Nalge Nunc International公司;纽约州的罗契斯特市)(图3c的工具50)放置在培养装置的顶部上,其中孔的开口面向下并且使用空气压机(型号A-0019,Janesville工具制造公司;威斯康星州的米尔顿市(Milton,WI))使用中等的力(即,使用刚好足以确保覆盖膜和粘合剂层之间的接触的力)将微量滴定板向下按压,从而使覆盖膜向上变形进入微量滴定板的腔中并且在孔之间的区域中将覆盖膜密封至衬底,从而形成图3d的接种的分配装置2000。

[0284] 隔室60(图3d)通过在覆盖膜和基部的压敏粘合剂之间的接触区域处产生密封62而形成。所得密封62形成防漏隔室。

[0285] 在冲压之后,每个装置含有大约140个单独密封的孔,每个孔含有介于5和10微升之间的样品。覆盖膜的变形看起来是非常均匀的,其中>95%的孔完全被液体填充,并且没有可见的气泡。随后从384孔板中取出冲压培养装置。

[0286] 实施例2:具有丙烯酸酯粘合剂涂覆的铝箔作为底层的隔室

[0287] 如上文实施例1中所述来构造培养装置,下面段落中所注明的除外。

[0288] 对于衬底,使用9792R箔带(3M公司,明尼苏达州的圣保罗市(3M Company, St.Paul,MN))。该箔(0.036mm厚)为在一侧上涂覆有3M选定诊断丙烯酸酯粘合剂的极软铝箔。粘合剂为大约0.027mm厚。该箔是不透明的、可刺穿的,并且粘合剂与生物测定非常相容。

[0289] 如实施例1中所述,使用PARAFILM M塑料石蜡膜来制造覆盖膜。该装置的构造允许将1 μ l毛细吸管插入穿过箔带,以便从单独隔室(未示出)中的任一个提取样品。有利地,这可允许使用特定隔室的内容物的至少一部分执行后续测试(例如,生物化学、免疫学、酶学测试)。

[0290] 实施例3:细菌生长检测-定性分析。

[0291] 隔室中微生物生长的孵育和检测

[0292] 将在密封隔室中具有分配的样品的实施例1的冲压培养装置在37℃下孵育24小时。

[0293] 使用有氧计数(AC)PETRIFILM板(3M公司;明尼苏达州的圣保罗市(3M Company, St.Paul,MN))作为比较,其中根据制造商的说明书将1ml的相同测试溶液接种到膜上,散布

并在37℃下孵育24小时。

[0294] 在孵育之后,观察液体填充的隔室如当装置被放置在UV照射下时通过一个或多个隔室中的荧光所证明的细菌的生长。通过大肠杆菌 β -葡萄糖苷酸酶将非荧光4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸(MUG)酶促裂解成荧光产物指示隔室中的阳性生长。使用立体显微镜检测4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸(MUG)荧光衬底的水解。使用配备有激发源(365nm)和发射滤光片(400nm长通)的立体显微镜(带有AxioCam MRc5的Zeiss Luminar.V12)来可视化阳性隔室。结果在表1中示出。

[0295] 选择本文所示的实施例,因为仅单个生物体从原始水性测试溶液分配到产生阳性荧光信号的每个孔中是统计上可能的($p < 0.05$)。

[0296] 表1:大肠杆菌在根据本公开的培养装置中的生长。

[0297]		实施例 1 (生长-阳性 ^a)	PETRIFILM 板 (CFU)
	测试溶液 1(5 μ L)	21 个隔室	4
	测试溶液 2(10 μ L)	130 个隔室	82

[0298] ^a生长通过每个“生长-阳性”隔室中的阳性荧光和不存在可观察到的气泡来证明。隔室中的荧光被认为对于隔室中细菌的生长是阳性的。

[0299] 除了使用荧光指示剂,注意到非荧光的孔在孵育期期间已累积了小气泡,而荧光孔(对于生长是阳性的)没有。在隔室中不存在气泡与隔室中的细菌生长相关。

[0300] 实施例4:检测细菌氧化还原活性和生长

[0301] 根据实施例1,使用0.1mg/ml或0.01mg/ml刃天青(西格玛奥德里奇公司;密苏里州的圣路易市(Sigma-Aldrich Corp.;St.Louis,MO))而不是0.5mg/ml的MUG(4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸)来制备冲压培养装置。添加刃天青允许检测细菌氧化还原活性,并且不依赖于特异性酶活性(β -D-葡萄糖苷酸酶),如MUG,以检测微生物活性。

[0302] 如上文实施例2中所提供来孵育冲压培养装置。使用有氧计数(AC)PETRIFILM板作为具有1ml的相同测试样品的比较物。

[0303] 通过目视检查液体填充的隔室来完成细菌生长的检测。深粉色孔被认为对于细菌生长是阴性的,并且浅粉色至澄清的隔室被认为对于细菌生长是阳性的。结果在表2中示出。如上文实施例2中,在隔室内不存在小气泡也是细菌生长的精确指示。

[0304] 表2:

[0305]		实施例 3 (生长-阳性 ^a)	PETRIFILM 板 (CFU)
	0.1mg/ml 刃天青	18 个隔室	4
	0.01mg/ml 刃天青	24 个隔室	3

[0306] ^a生长通过实施例3的每个“生长-阳性”隔室中的颜色变化和不存在可观察到的气泡来证明。

[0307] 实施例5:得出检测细菌连续生长的结果的时间

[0308] 使用没有添加4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸(MUG)的COLILERT[®]细菌培养基(IDEXX实验室;缅因州的韦斯特布鲁克市(Westbrook,Maine)),如实施例1中来构造和接种

培养装置,因为MUG已包含在COLILERT培养基内。

[0309] 将装置定位成使得由覆盖膜形成的隔室面向塑料384孔微量滴定板(未处理的黑色#242764,Nalge Nunc International公司;纽约州的罗契斯特市)的孔中。随后将该组件放置到TecanINFINITE[®]M200读板器(Tecan Systems公司,加利福尼亚州的圣荷西市(San Jose,CA))的读取托盘中,并扫描荧光。在该配置中,光源和检测器在装置上方,从而导致穿过培养装置的衬底的激发和发射光。

[0310] 将读板室设置为保持37℃的温度,并且使用365nm的激发波长和470±10nm的发射滤光片,每20分钟进行荧光测量持续24小时。将所得荧光曲线作为时间的函数作图。当任何给定时间点的荧光比该隔室的前18个时间点(6小时)的平均值大2.5倍时,确定培养装置的隔室对于生长是阳性的。将每个隔室中观察到阳性生长的时间点(在37℃下孵育的分钟)报告于表3中。

[0311]

表 3：检测时间。此表报告了在本公开的冲压培养装置的每个隔室中观察阳性生长所需的孵育的分钟数。
“NG” =无生长（即，隔室中的荧光不超过用于确定微生物生长的规定阈值）。

列号		C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
行号	6	-	-	-	-	-	820	680	NG	NG	-	-	-	-
	7	-	-	-	NG	720	700	740	760	660	NG	-	-	-
	8	-	NG	NG	760	740	760	780	800	660	NG	NG	NG	-
	9	-	740	NG	NG	740	640	NG	NG	NG	840	780	NG	-
	10	NG	NG	660	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG	780	NG	NG
	11	NG	980	NG	NG	NG	NG	660	980	NG	NG	740	760	640
	12	NG	700	NG	NG	NG	NG	680	700	840	800	NG	NG	NG
	13	720	680	780	760	800	820	660	760	NG	680	NG	680	NG
	14	NG	NG	700	880	NG	700	NG	NG	NG	NG	760	700	640
	15	NG	NG	NG	NG	640	NG	740	NG	740	NG	NG	980	-
	16	-	-	NG	NG	680	NG	780	760	NG	740	NG	NG	-
	17	-	-	-	1140	660	700	720	640	680	700	840	-	-
	18	-	-	-	-	720	NG	NG	780	700	NG	-	-	-

[0312] 隔室的行和列分别在左侧和顶部指定。表的每个单元中的数字指示如实施例4中所概述的以分钟计的检测时间。NG指示在24小时内该孔没有可检测的生长，并且“-”指示未填充的孔，这主要是由于冲压区域的圆形形状。

[0313] 总之，131个孔中有65个孔对于生长是阳性的，其中平均检测时间为747±11分钟。

误差计算反映平均值的标准误差。中值检测时间和模式检测时间分别为740和700分钟,并且范围为640至1140分钟。制造商规定在100ml样品中,使用COLILERT培养基检测单个大肠杆菌的时间为24小时,并且使用QUANTI-TRAY[®] MPN系统(IDEXX实验室;缅因州的韦斯特布鲁克市(Westbrook, Maine))为18小时。

[0314] 实施例6:制造小袋状制品并在其中分配液体样品

[0315] 小袋的制备

[0316] 用于制备小袋的工艺在图4a-4e中示出。如实施例1中所述,用基于有机硅的压敏粘合剂(粘合剂15,图4a)涂覆由双轴取向的聚丙烯组成的衬底12。

[0317] 掩模(图4a的掩模70)由涂覆有低粘合性氟硅背胶(购自Siliconature USA;伊利诺伊州的芝加哥市(Chicago, IL))的聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)隔离衬垫构造。掩模70具有6cm直径的圆形开口74和在掩模周边72的一侧上的1cm宽的间隙76。如图4b中所示,将掩模70的低粘合侧放置到涂覆在衬底12上的粘合剂15上。

[0318] 使用玻璃巴斯德移液管和有机硅球泡(K37玻璃泡,3M公司;明尼苏达州的圣保罗市(St. Paul, Minnesota))将玻璃泡的第二涂层18分布到粘合剂上。通过翻转和轻拍膜来去除过量的玻璃泡,从而得到如图4c中所示的涂覆制品200。然后去除掩模70以暴露已被掩模70覆盖的粘合剂15,如图4d中所示。如下文所述,将如实施例1中所述的由PARAFILM M塑料石蜡膜制成的覆盖膜20粘附至暴露的粘合剂15。

[0319] 在其中粘合剂没有用玻璃泡粉末涂覆的区域中使用橡胶辊以将覆盖膜和衬底密封在一起。这有效地形成具有圆形贮存器502(图4e)的小袋500,其中接种端口504在圆形贮存器502的一侧上。在玻璃泡已涂覆到粘合剂上的地方,有效地防止了覆盖膜和衬底之间的粘合。

[0320] 小袋制品中样品的接种和分配。

[0321] 如实施例1中所述制备包含具有4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸荧光指示剂(COLILERT培养基, IDEXX实验室;缅因州的韦斯特布鲁克市(Westbrook, Maine))和大肠杆菌美国类型组织收集#25922(EZ-CFU, Microbiologics公司;明尼苏达州的圣克芬德市(St. Cloud, Minnesota))的细菌培养基的测试溶液。

[0322] 为了接种,将小袋保持直立,其中接种端口指向上。将1ml的测试溶液穿过接种端口直接分配到小袋中(如图5a中所示),并且允许在小袋的底部处沉降。

[0323] 将接种的小袋以45°角放置在铝块上,并且将塑料散布装置(PETRIFILM酵母和模板散布器,3M公司;明尼苏达州的圣保罗市(St. Paul, Minnesota))手动抵靠小袋按压(用中等手动压力)以将液体散布开,并将液体密封到设置在覆盖膜和衬底之间的圆形(6cm直径)腔室(由周边密封92界定的腔室90,如图5b中所示)中。以45°角散布(虽然不是必需的),随着小袋衬底通过散布器抵靠覆盖膜按压,促进了空气的排空和圆形腔室的均匀填充。散布器迫使覆盖膜抵靠玻璃泡(未示出),从而驱动玻璃泡进入粘合剂中,从而允许粘合剂接触覆盖膜以在衬底和覆盖膜之间形成周边密封92。

[0324] 将塑料384孔微量滴定板(未处理的黑色#242764, Nalge Nunc International公司;纽约州的罗契斯特市;图5c的工具50)放置在密封小袋的顶部上,其中孔的开口面向下并且使用空气压机(型号A-0019, Janesville工具制造公司;威斯康星州的米尔顿市)以将微量滴定板向下压,从而使覆盖膜向上变形进入微量滴定板的腔中并且将覆盖膜密封至衬

底以形成分配装置2000,分配装置2000具有液体样品分布于其中的多个隔室60。每个隔室60通过一个或多个密封62与其它隔室流体隔离。

[0325] 使用立体显微镜检查孔之间的密封区域揭示,玻璃泡已被向下推入粘合剂层中,从而允许覆盖膜与压敏粘合剂接触。

[0326] 实施例7:制造替代的小袋状制品并在其中分配液体样品

[0327] 小袋的制备

[0328] 除了使用粉末状细菌培养基(BACTO胰蛋白酶大豆肉汤(美国BD公司;新泽西州的富兰克林湖)而不是玻璃泡作为第二涂层之外,如实施例6中所述制备小袋状制品。

[0329] 如实施例6中所述,使用橡胶辊将覆盖膜和衬底一起密封在未用细菌培养基粉末涂覆的区域中。这有效地形成沿一个边缘具有接种端口的圆形小袋,如实施例6中所述。在粉末状细菌培养基已涂覆到粘合剂上的地方,有效地防止了覆盖膜和衬底之间的粘合。

[0330] 样品的接种和分配

[0331] 为了接种,将小袋保持直立,其中粉末涂覆的接种端口指向上。将1ml的测试溶液(包含具有4-甲基伞形基- β -D-葡萄糖苷酸荧光指示剂(COLILERT细菌培养基,IDEXX实验室;缅因州的韦斯特布鲁克市(Westbrook,Maine))和大肠杆菌美国类型组织收集#25922的细菌培养基)直接分配到小袋中并允许在底部处沉降。

[0332] 如实施例6中所述,使用塑料散布装置(PETRIFILM酵母和模板散布器,3M公司;明尼苏达州的圣保罗市(St.Paul,Minnesota))来密封接种的小袋。

[0333] 使用塑料384孔微量滴定板(未处理的黑色#242764,Nalge Nunc International公司;纽约州的罗契斯特市)以完成包含多个隔室的培养装置的形成,如实施例6中所述。

[0334] 在压制之前对小袋的目视检查和在压制之后使用立体镜对孔之间的密封区域的检查揭示,通过添加测试样品来溶解粉状培养基,从而使粘合剂重新暴露,并且允许覆盖膜与涂覆在衬底上的压敏粘合剂接触。

[0335] 将冲压培养装置放置在37°C的培养箱中。

[0336] 实施例8:需氧微生物在冲压培养装置的隔室中的生长-定量和定性分析

[0337] 使用培养基、异养板计数(用于QUANTI-TRAY培养基的HPC)(IDEXX实验室;缅因州的韦斯特布鲁克市(Westbrook,Maine))和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) ATCC#15442(美国类型组织收集;弗吉尼亚州的马纳萨斯市)作为测试微生物,根据实施例1来制备冲压培养装置。

[0338] 接种培养装置并且如实施例1-3中所述在37°C下孵育24小时。使用有氧计数(AC)PETRIFILM板(3M公司;明尼苏达州的圣保罗市(St.Paul,MN))作为比较,其中将1ml的相同测试溶液接种到PETRIFILM板上,散布并在37°C下孵育24小时。

[0339] 在孵育24h之后,评估冲压培养装置的隔室的细菌生长。使用配备有激发源(365nm)和发射滤光片(400nm长通)的立体显微镜(带有Axiocam MRc5的Zeiss Luminar.V12)以观察每个隔室的荧光,上文所述。结果在表4中示出。

[0340] 表4:

[0341]	实施例 8 (生长-阳性 ^a) 34 个隔室	PETRIFILM 板 (CFU) 24
--------	--	----------------------------

[0342] ^a生长通过实施例8的每个“生长-阳性”隔室中的阳性荧光来证明。

[0343] 数据展示了冲压培养装置中需氧细菌的生长和计数。

[0344] 实施例9:厌氧微生物在冲压培养装置的隔室中的生长-定量和定性分析

[0345] 使用培养基37g/L脑心浸液肉汤、5g/L BACTO酵母提取物(美国BD公司;新泽西州的富兰克林湖(Franklin Lakes, New Jersey))、0.5g/L半胱氨酸盐酸盐、0.5g/L亚硫酸钠以及0.5g/L硫酸铁(西格玛奥德里奇;密苏里州的圣路易市(St. Louis, MO)),根据实施例1来制备冲压培养装置。

[0346] 选择产芽胞梭状芽胞杆菌(*Clostridium sporogenes*) ATCC#5384(美国类型组织收集;弗吉尼亚州的马纳萨斯市)作为微生物来展示与厌氧大气系统结合的冲压培养装置中的厌氧微生物的生长。

[0347] 将培养装置接种并且在具有活化的GASPAK™ EZ厌氧菌容器系统袋w/指示剂(美国BD公司;新泽西州的富兰克林湖(Franklin Lakes, New Jersey))的密封箱中在37℃下孵育24小时。

[0348] 使用有氧计数(AC)PETRIFILM板(3M公司;明尼苏达州的圣保罗市(St. Paul, MN))作为比较,其中将1ml相同的测试溶液接种到膜上,散布并在与冲压培养装置相同的厌氧容器中在37℃下孵育24小时(表5)。

[0349] 在孵育期之后,含有由产芽胞梭状芽胞杆菌ATCC#5384产生的硫化氢与培养基中存在的铁的反应产生的黑色沉淀的冲压培养装置中的隔室被认为是生长阳性的(表5)。观察到在冲压培养装置中的厌氧细菌生长良好,如表5中所示。图6示出具有多个隔室60的冲压培养装置1000的示意性顶部视图。阴影隔室60a指示与指示剂物质(例如,实施例9的培养基中存在的铁)的可观察到的(例如,可见的颜色变化)反应。无阴影隔室60b指示与指示剂物质无可观察到的反应。

[0350] 表5:

[0351]		实施例 9 (生长-阳性 ^a)	PETRIFILM 板 (CFU)
	测试溶液 1	65 个隔室	45
	测试溶液 2	9 个隔室	8

[0352] ^a生长通过实施例9的每个“生长-阳性”隔室中的黑色沉淀来证明。

[0353] 实施例10:二次生物化学测试的性能

[0354] 制备冲压培养装置,并且如实施例2.1所述地用HPC培养基进行接种。一组装置用铜绿假单胞菌ATCC#15442接种,并且另一组培养装置用大肠杆菌ATCC#25922接种。将这两组在37℃下孵育24小时。

[0355] 孵育之后,在紫外光照射下观察每个培养装置的隔室以检测生长。在每个培养装置的至少几个隔室(即,铜绿假单胞菌和大肠杆菌样品两者产生的荧光阳性隔室)中观察到阳性荧光(生长)。

[0356] 用含有30% H₂O₂的毛细吸管(西格玛化学品公司(Sigma Chemical Co.))刺穿来自每个培养装置的代表性荧光阳性隔室。一些孔刺穿(箔)衬底。其它孔刺穿覆盖膜。在所有情况下,接种铜绿假单胞菌的装置中的荧光阳性隔室与过氧化物溶液产生剧烈的鼓泡反应。相比之下,在所有情况下,当将过氧化物溶液引入隔室时,接种大肠杆菌的装置中的荧光阳

性隔室不产生任何可观察到的鼓泡反应。

[0357] 本文引用的所有专利、专利申请和出版物以及电子可获得资料的完整公开内容均以引用的方式并入。在本申请的公开内容和以引用的方式并入本文的任何文献的公开内容之间存在任何不一致的情况下,应以本申请的公开内容为准。上述具体实施方式和实施例仅是为了清楚理解而给出。不应从中理解为不必要的限制。本发明不限于所示出和描述的确切细节,因为对于本领域技术人员显而易知的变化将包括在由权利要求书所限定的本发明中。

[0358] 所有标题是为了方便读者,不应用于限制标题后面的正文的含义,除非如此规定。

[0359] 本文例示性地描述的本发明可在不存在本文未具体公开的任何元件的情况下进行适当地实践。因此,例如,在本文的每个实施例中,术语“包括”、“基本上由.....组成”和“由.....组成”中的任一个可被替换为其它两个术语中的任一个。尽管将已采用的术语和表达用作描述而非限制术语,并且非旨在使用此类术语和表达而排出所示和所描述的特征或其部分的任何等同物,但是已经认识到,在所要求保护的本发明的范围内的各种修改是可能的。因此,应当理解,尽管本发明已通过优选的实施方案和任选的特征而具体公开,但是本领域的技术人员可推出本文所公开的概念的修改和变型,并且此类修改和变型被视为在由所附权利要求书所限定的本发明的范围内。

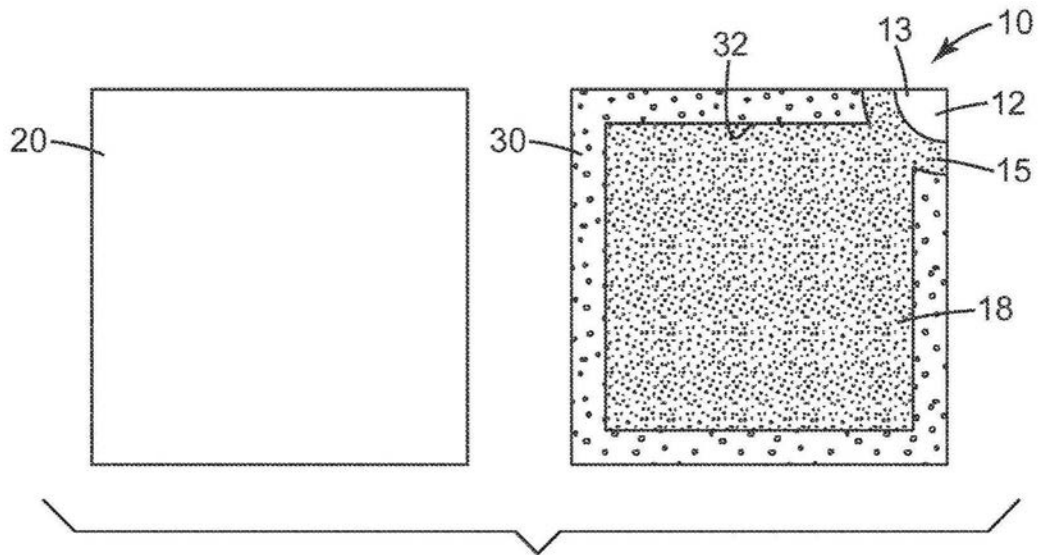


图1a

图1a

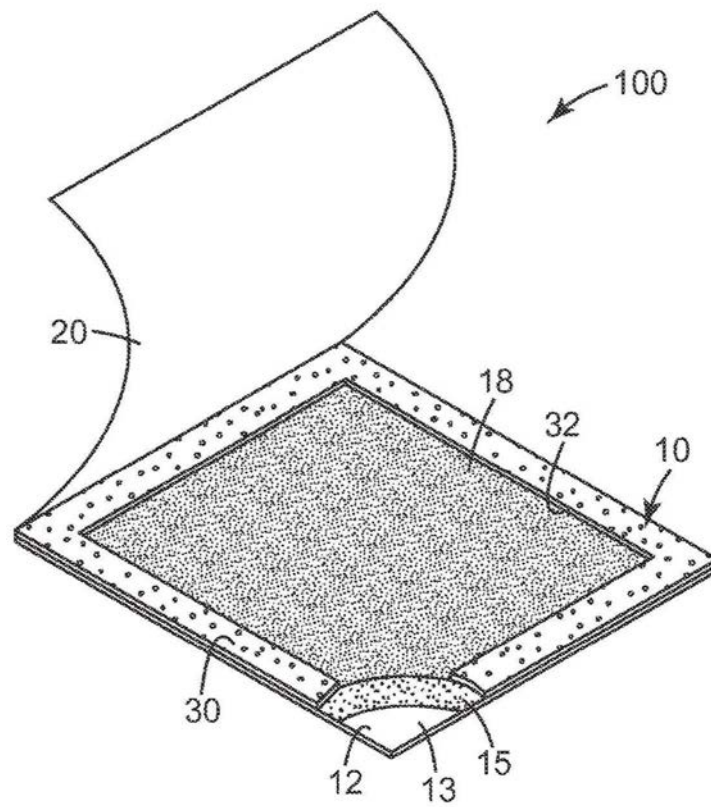


图1b

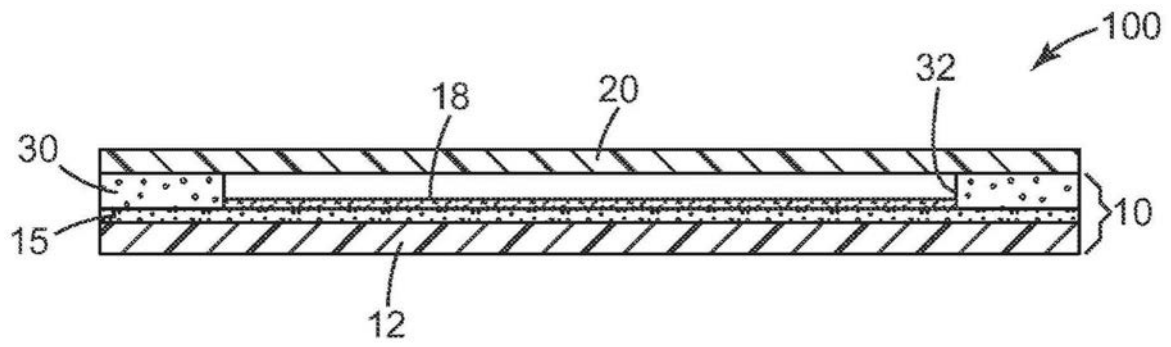


图1c

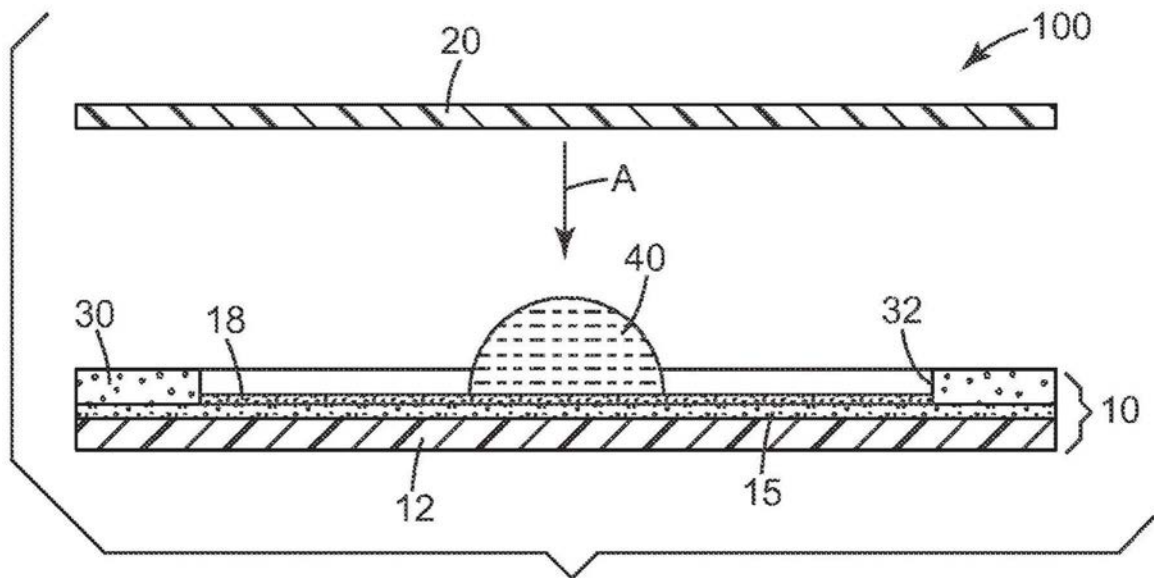


图2a

图2a

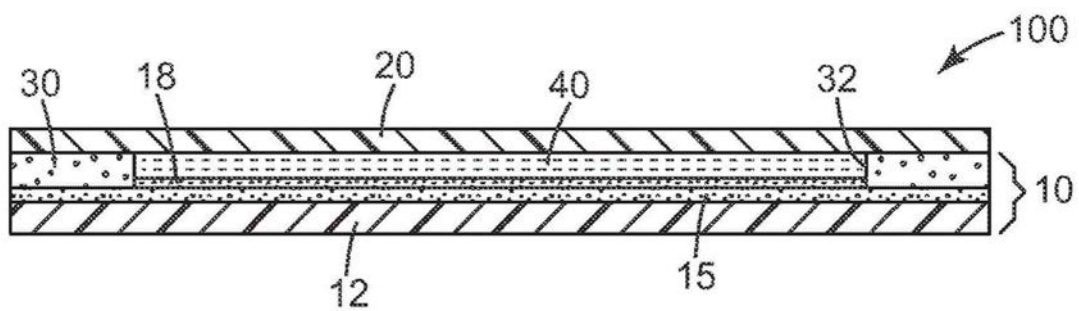


图2b

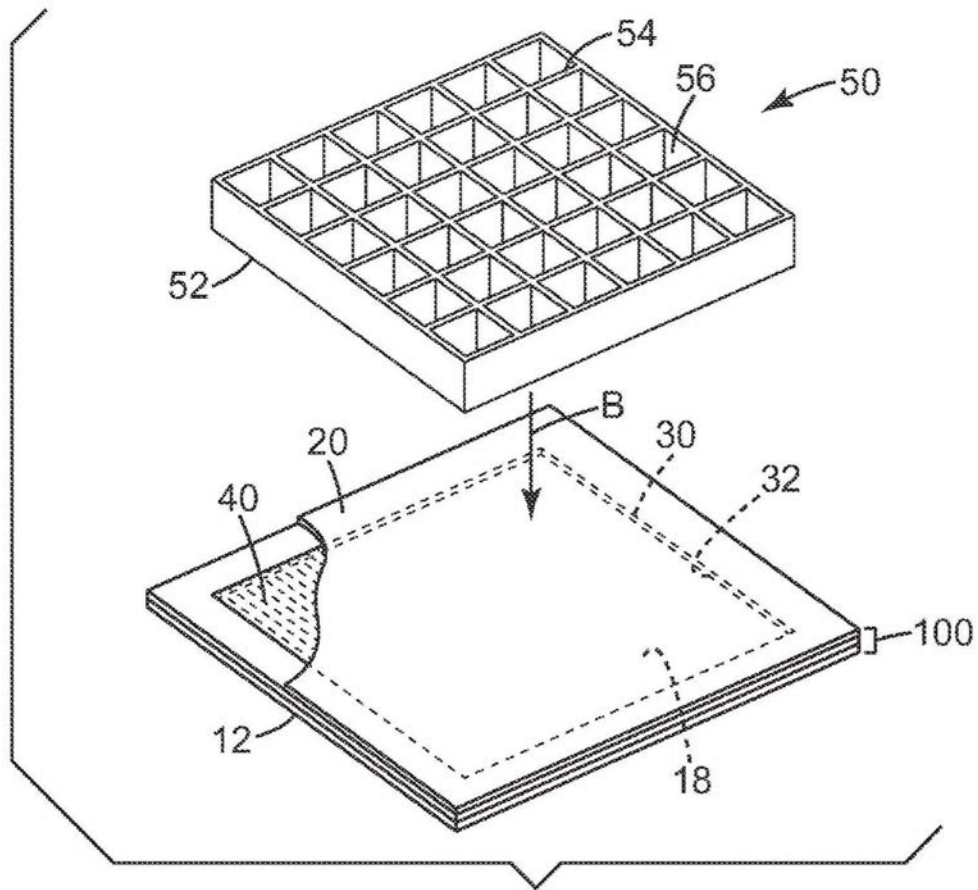


图2c

图2c

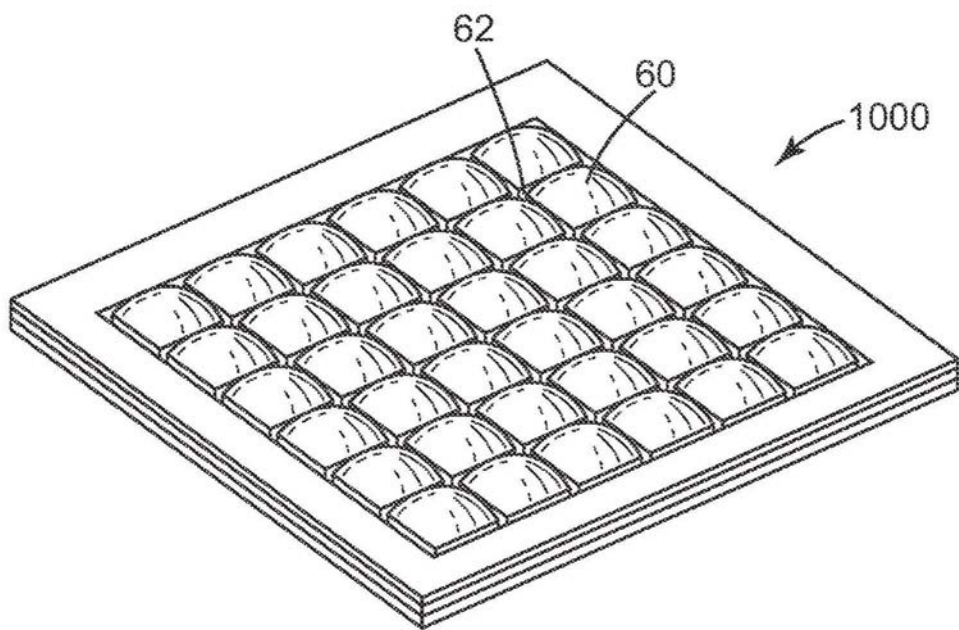


图2d

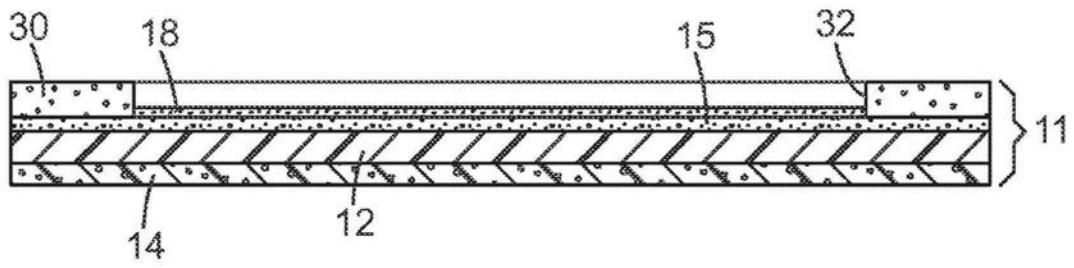


图2e

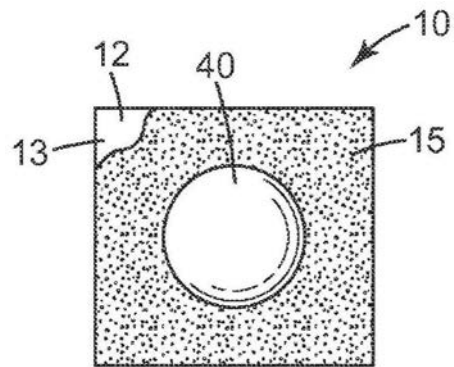


图3a

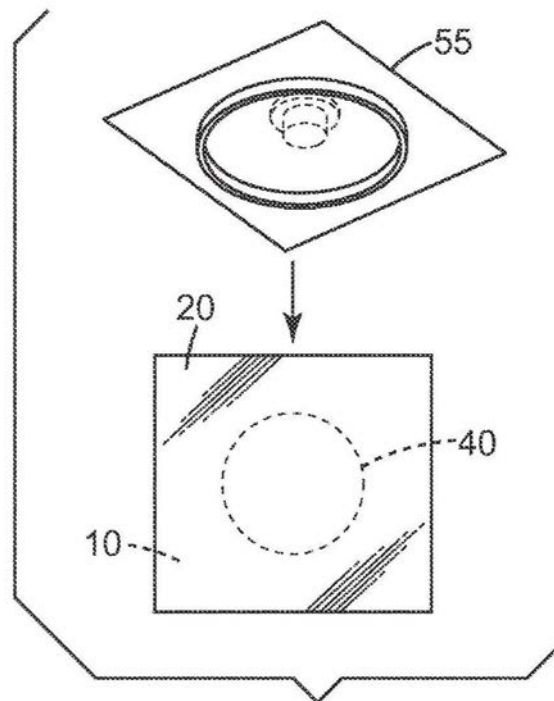


图3b

图3b

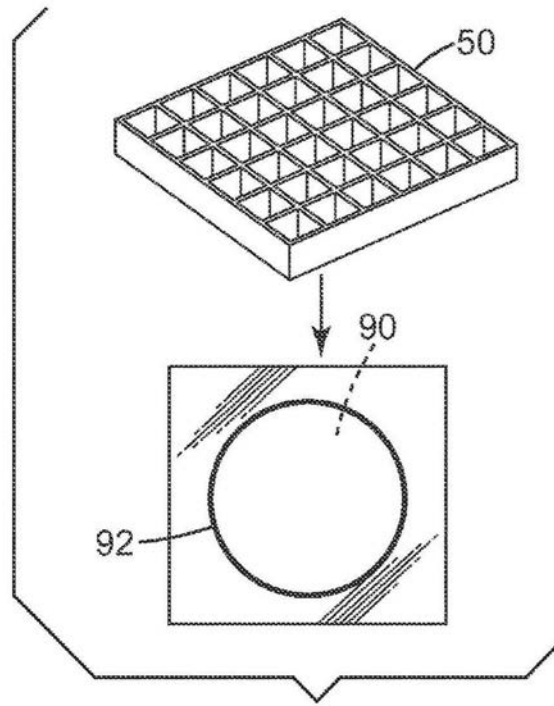


图3c

图3c

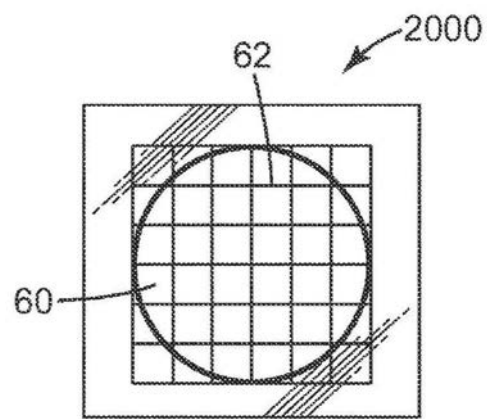


图3d

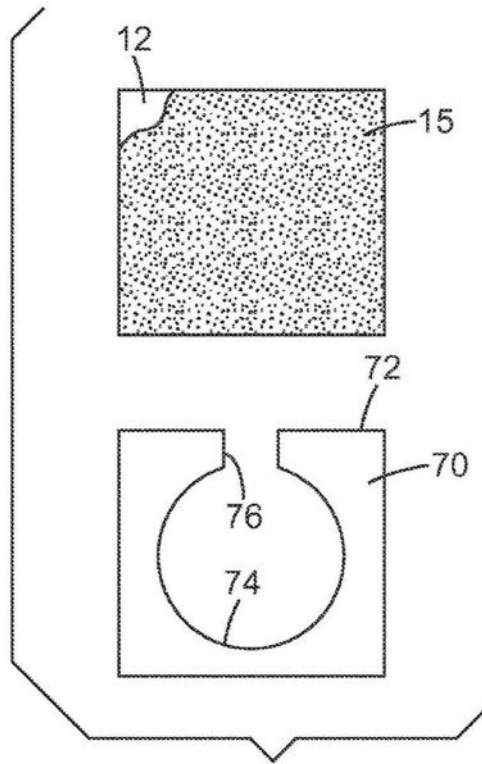


图4a

图4a

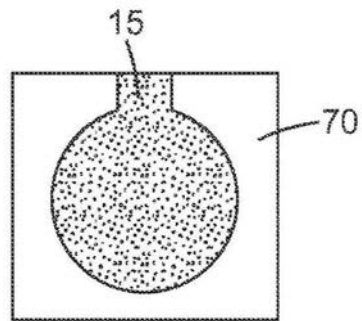


图4b

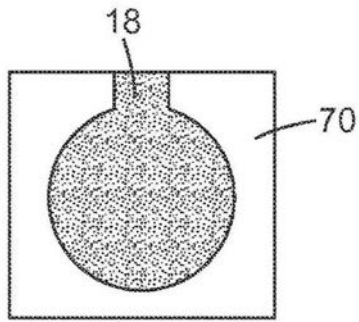


图4c

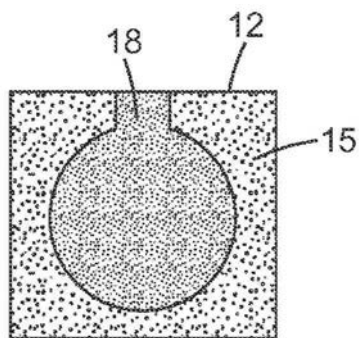


图4d

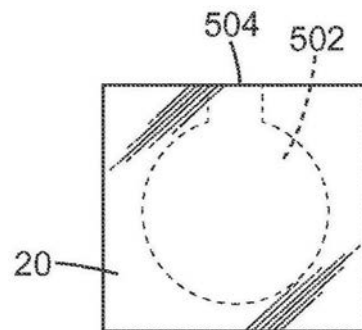


图4e

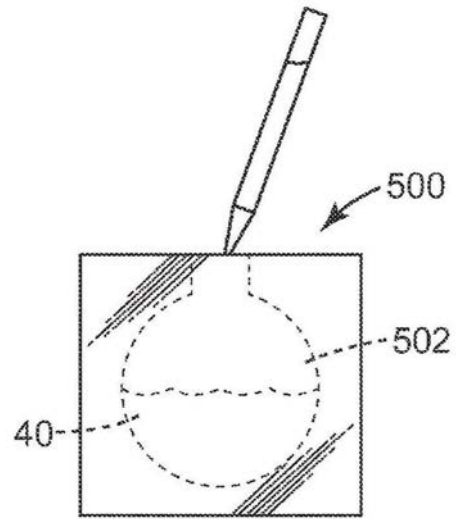


图5a

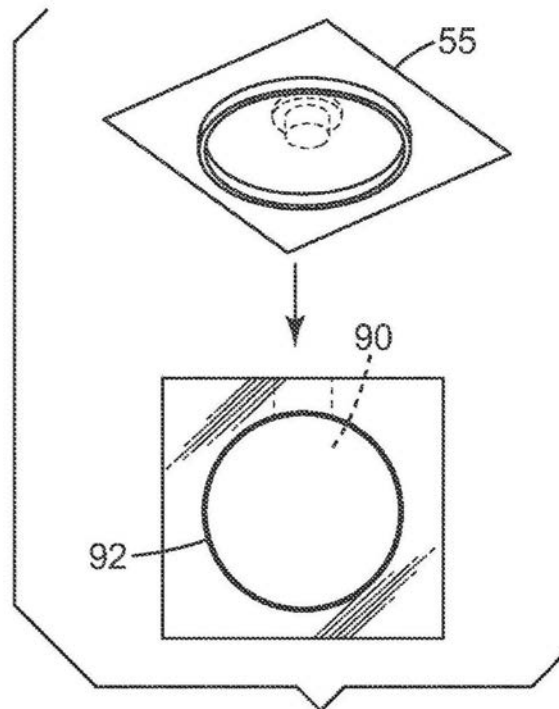


图5b

图5b

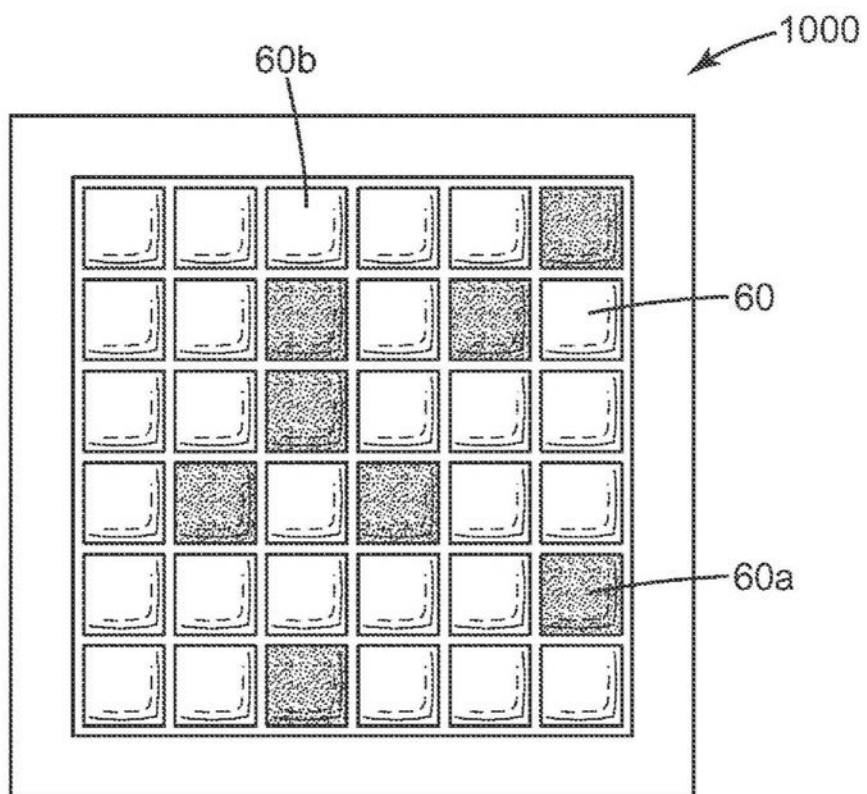


图6