

Werkwijze en inrichting om te testen of een fluidum steriel is of steriel kan worden gemaakt

Onderhavige vinding heeft betrekking op een werkwijze en inrichting om te testen of een vloeistof en / of een fluidum steriel is of steriel kan worden gemaakt gekenmerkt door een reageerbuis die is gevuld met een steriele voedingsbodem op basis van bij voorkeur agar agar of gelatine en die wordt afgesloten met een thermoplastische kunststof of een thermoplastische lijm. Het te onderzoeken fluidum wordt met een steriele injectiespuit opgezogen. Vervolgens wordt de naald door de thermoplastische kunststof geprikt en worden enkele druppels tot enkele milliliters fluidum in de reageerbuis gevoegd. Het met de injectiespuit aangebrachte gaatje wordt met hete steriele thermoplastische kunststof of lijm afgesloten van de buitenlucht waarna de reageerbuis optioneel wordt blootgesteld aan ultrasone trillingen en / of elektrische golven en / of magnetische golven en / of elektromagnetische golven en bijvoorbeeld enkele dagen in een gethermostreerde broedstoof wordt bewaard. Indien na enige verblijftijd in de broedstoof micro-organismen in de reageerbuis worden waargenomen was het te onderzoeken fluidum niet steriel of werd het te onderzoeken fluidum niet steriel gemaakt.

15

Inleiding

In de microbiologie is het vaak gewenst op een snelle manier te testen of een fluidum in het algemeen of een vloeistof in het bijzonder steriel is. In een standaard testmethode om te onderzoeken of een vloeistof steriel is wordt gebruik gemaakt van steriele petrischaaltjes die een voedingsbodem voor micro-organismen bevatten. Deze petrischaaltjes zijn in diameters van enkele centimeters tot een diameter van circa 15 centimeter verkrijgbaar en hebben een karakteristieke hoogte van 1 à 2 cm. De petrischalen zijn voorzien van een deksel om het inwaaien van verontreinigende sporen te voorkomen. Om een vloeistof te onderzoeken op aanwezigheid van micro-organismen wordt het deksel van een steriel petrischaaltje met voedingsbodem verwijderd en wordt een kleine hoeveelheid van de te onderzoeken vloeistof op de voedingsbodem in het petrischaaltje aangebracht. Vervolgens wordt het petrischaaltje weer afgedekt met het deksel en enkele dagen in de broedstoof geplaatst om vermeerdering van eventueel in de vloeistof aanwezige micro-organismen te bevorderen. Indien na enkele dagen kolonies van micro-organismen waarneembaar zijn in de vorm van al dan niet gekleurde vlekken op de voedingsbodem, weet de onderzoeker dat de op de voedingsbodem aangebrachte vloeistof niet steriel was.

Het is de vakman bekend dat petrischaaltjes veelal geïnfecteerd raken met (sporen van) micro-organismen op het moment dat het dekseltje van het steriele petrischaaltje wordt opgetild. Vooral als de petrischaaltjes worden geopend in een omgeving die veel stof en / of sporen / en / of zeer fijn gedispergeerde druppeltjes bevat, wordt boven beschreven test zeer snel onbetrouwbaar. Zo heeft de uitvinder van onderhavige uitvinding vastgesteld dat het openen van een petrischaaltje met een steriele voedingsbodem als inhoud, gedurende 15 seconden in een goed geventileerde

ruimte van een werkplaats, in circa 10% van de gevallen tot infectie van de voedingsbodem leidde. Men zou het prepareren van de petrischaaltjes i.e., het aanbrengen van de te onderzoeken watermonsters op de petrischaaltjes in een geschikte laboratoriumruimte kunnen uitvoeren waar maatregelen zijn getroffen het aantal micro-organismen per kubieke meter lucht te minimaliseren
 5 maar vaak brengt dit extra kosten met zich mee. Verder is het lastig om in plaats van vloeistof een hoeveelheid lucht te testen op (sporen van) micro-organismen. Daarnaast zijn petrischaaltjes voor een groot aantal toepassingen onnodig groot en onnodig duur. Ook zijn petrischaaltjes met voedingsbodem geen geschikte inrichtingen om de invloed van ultrasone trillingen en / of elektrische golven en / of magnetische golven en / of elektromagnetische golven op de
 10 overlevingskansen van deze micro-organismen te onderzoeken vanwege respectievelijk lostrillende dekseltjes en suboptimale geometrie om elektrische golven en / of magnetische golven en / of elektromagnetische golven over te dragen aan het medium in de petrischaaltjes. Onderhavige vinding betreft een werkwijze en inrichting om zowel lucht- als watermonsters op een goedkope en snelle manier te onderzoeken op aanwezigheid van (sporen van) micro-organismen
 15 waarbij de kans op besmetting van de voedingsbodem door (sporen) van micro-organismen uit de omgeving aanzienlijk kleiner is dan bij toepassing van petrischaaltjes in diezelfde omgeving. Tevens betreft onderhavige vinding een werkwijze en inrichting om de overlevingskansen van micro-organismen onder invloed van ultrasone trillingen en / of elektrische golven en / of magnetische golven en / of elektromagnetische golven te bestuderen.

20

Technische beschrijving van onderhavige vinding

Als basis van onderhavige vinding wordt gebruik gemaakt kleine glazen reageerbuisen bij voorkeur met diameter kleiner dan 20 mm en een lengte kleiner dan 200 mm. In deze reageerbuisen wordt een standaard gelatine en / of agar agar voedingsbodem voor telplaten gegoten. Bij voorkeur
 25 wordt een zodanige hoeveelheid voedingsbodem in de buisjes gegoten dat deze voor circa 70% gevuld zijn. Vervolgens worden de reageerbuisen inclusief inhoud gesteriliseerd bij voorkeur door de reageerbuisen gedurende 30 minuten in een broedstoom bij een temperatuur van 100 graden Celsius te plaatsen. Na afkoeling wordt de opening aan de bovenkant, van de gesteriliseerde reageerbuisen met de gestolde gelatine en / of agar voedingsbodem, dichtgemaakt met bij
 30 voorkeur een thermoplastische lijm maar niet daartoe beperkt. Zo kan bijvoorbeeld ook gebruik worden gemaakt van steriele doppen of andere dichtingsmiddelen al dan niet in combinatie met lijm. Een bijzonder geschikte lijm voor toepassing in onderhavige vinding is lijm op basis van ethyleen – vinylacetaat copolymeer zoals commercieel verkrijgbaar in de vorm van "Pattex Hot Lijmpatronen" die in combinatie met een "Pattex Hot Lijmpistool" gebruikt dienen te worden.
 35 Aangezien deze lijm op het moment dat deze met behulp van een lijmpistool aan de bovenkant van de reageerbuis wordt aangebracht een temperatuur heeft die hoger is dan 100 graden Celsius, is de lijm steriel en bij uitstek geschikt om de reageerbuis mee af te sluiten zonder te

voedingsbodem te infecteren. Verder blijkt deze lijm nagenoeg geen oplosmiddelen te bevatten zodat de lijm geen invloed heeft op eventuele overlevingskansen van (sporen van) micro-organismen in de te onderzoeken vloeistof. Nadat de lijm is afgekoeld is de gedesinfecteerde voedingsbodem in de reageerbuis hermetisch afgesloten van de omgeving. Uit experimenten met op deze wijze geprepareerde reageerbuizen blijkt dat de voedingsbodem in deze reageerbuizen, na enkele maanden in een woonkamer gestaan te hebben of in een broedstoof bij 30 graden Celsius, nog steeds steriel is. Indien moet worden onderzocht of een vloeistof steriel is, wordt een hoeveelheid van de te onderzoeken vloeistof met een steriele injectiespuit opgezogen. Vervolgens wordt een met thermoplastische lijm afgesloten reageerbuis met steriele voedingsbodem als inhoud genomen, wordt de naald van de injectiespuit door de thermoplastische lijm geprikt en worden enkele druppels vloeistof in de reageerbuis gebracht. Hierna wordt de injectienaald teruggetrokken en wordt het gaatje dat in de thermoplastische lijm is aangebracht met het lijmpistool gedicht of door korte lokale verwarming van reeds aanwezige lijm ter plekke van het gaatje. Vervolgens wordt de reageerbuis in bij voorkeur een broedstoof bij 30 graden Celcius geplaatst en na enkele dagen wordt de inhoud van de reageerbuis aan een visuele inspectie onderworpen. Indien de voedingsbodem ten opzichte van een blanco meting zichtbaar van kleur is veranderd was het te onderzoeken vloeistofmonster niet steriel.

Het is de vakman duidelijk dat bij toepassing van deze procedure de kans op infectie van de voedingsbodem met (sporen van) micro-organismen uit de omgeving minimaal is en dat deze procedure in tegenstelling tot de procedure met de petrischalen geschikt is om buiten een laboratoriumomgeving toe te passen. Verder is de vakman duidelijk dat de procedure en de inrichting met de reageerbuis ook geschikt is om gassen op steriliteit te testen terwijl dit in geval van petrischalen nagenoeg onmogelijk is. Ook is de vakman duidelijk dat het prepareren van reageerbuizen volgens bovenstaande procedure zodat deze reageerbuizen kunnen worden gebruikt om te testen of een fluidum al dan niet steriel is eenvoudig geautomatiseerd kan worden. Op deze wijze wordt het dan mogelijk om zeer reproduceerbaar en tegen lage kosten testbuisjes als massaproduct te produceren die in combinatie met een eenvoudig lijmpistool voor thermische lijm ook buiten het laboratorium kunnen worden gebruikt om monsters te verzamelen en op kweek te zetten. Bovenstaande werkwijze om testbuisjes te maken op een handmatige manier en / of op een geautomatiseerde manier en de boven beschreven inrichting van testbuisjes maken nadrukkelijk deel uit van onderhavige vinding.

In een andere voorkeursuitvoeringsvorm worden de testbuisjes gebruikt om de invloed van elektrische golven en / of magnetische golven en / of radiogolven op de overlevingskansen van (sporen van) micro-organismen te bestuderen. Hiertoe wordt een aantal testbuisjes opzettelijk geïnfecteerd met een micro-organisme naar keuze volgens de bovenstaande procedure met de injectiespuit. Nadat het gaatje van de injectiespuit met het lijmpistool is gedicht en het testbuisje weer hermetisch is afgesloten van de omgeving wordt een spoel om het buisje geschoven. Deze

spoel neemt bij voorkeur de gehele lengte van het buisje in beslag en het aantal windingen van de spoel is onder andere afhankelijk van de toegepaste frequentie van de elektrische golf en / of magnetische golf en / of radiogolf. De spoel wordt vervolgens aangesloten op de eindtrap van een zender en / of op een stroombron en op deze wijze worden de micro-organismen in het buisje

5 blootgesteld aan de golven. Optioneel wordt de spoel niet rechtstreeks op de eindtrap van een zender aangesloten of aan een stroombron gekoppeld maar geschiedt energie-overdracht naar de spoel om de reageerbuis via een antenne-inrichting of door inductie. Na de behandeling met de elektrische golven en / of magnetische golven en / of radiogolven worden de buisjes optioneel samen met buisjes die geen behandeling met golven hebben ondergaan en als blanco fungeren bij

10 voorkeur een aantal dagen in de broedstof geplaatst bij een temperatuur van bij voorkeur 30 graden Celsius maar niet daartoe beperkt. Na enkele dagen worden de buisjes bij voorkeur visueel geïnspecteerd en kan een conclusie worden getrokken over de invloed van de elektrische golven en / of de magnetische golven en / of de radiogolven op de overlevingskansen van de micro-organismen. Het is voor de vakman duidelijk dat de geometrie van de reageerbuisjes met

15 voedingsbodem volgens onderhavige vinding bij uitstek geschikt is voor overdracht van elektrische golven en / of magnetische golven en / of radiogolven naar de micro-organismen in de reageerbuis waardoor de werkwijze en inrichting volgens onderhavige vinding grote voordelen heeft ten opzichte van systemen die zijn gebaseerd op petrischaaltjes.

In een tweede voorkeuroitvoeringsvorm worden de testbuisjes gebruikt om de invloed van

20 ultrasone trillingen op de overlevingskansen van micro-organismen te bestuderen. Hiertoe worden de testbuisjes in trilling gebracht gebruik makend van een ultrasoon bestaan uit een commercieel verkrijgbaar ultrasoon waterbad en / of een ultrasoon waterbad met instelbaar vermogen en / of een ultrasoon waterbad met instelbare frequentie en / of een ultrasone transducer met instelbare frequentie en / of een ultrasone transducer met instelbaar vermogen en / of een ultrasone

25 transducer die een of meerdere piezo-elementen bevat.

In een derde voorkeuroitvoeringsvorm worden de testbuisjes gebruikt om de gecombineerde invloed van ultrasone trillingen en elektrische golven en / of magnetische golven en / of elektromagnetische golven op de overlevingskansen van micro-organismen te bepalen. Het is voor de vakman duidelijk dat hiertoe een inrichting en werkwijze nodig is die een combinatie is van de

30 eerste voorkeuroitvoeringsvorm en de tweede voorkeuroitvoeringsvorm.