



(11) FREMLÆGGELSESSKRIFT 142424

DANMARK



DIREKTORATET FOR  
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(51) Int. Cl.<sup>3</sup> C 12 M 1/18

(21) Ansøgning nr. 1542/77 (22) Indleveret den 6. apr. 1977

(24) Løbedag 6. apr. 1977

(44) Ansøgningen fremlagt og  
fremlæggelsesskriftet offentliggjort den 27. okt. 1980

(30) Prioritet begæret fra den  
7. apr. 1976, 674473, US

- 
- (71) FISHER SCIENTIFIC COMPANY, Pittsburgh, Pennsylvania, US.
- (72) Opfinder: Eric John Messner, 27 Surrey Road, Pearl River, New York,  
US: Albert Carl Dornbush, 145 Forest Avenue, Pearl River, New York, US.

(74) Fuldmægtig under sagens behandling:  
Ingeniørfirmaet Budde, Schou & Co.

---

(54) Testudstyr til bestemmelse af en mikroorganismes følsomhed over for antibiotika.

Den foreliggende opfindelse angår et testudstyr til bestemmelse af en mikroorganismes følsomhed over for antibiotika, omfattende flere testkamre, hvor i det mindste nogle af kamrene indeholder en gradueret koncentrationsrække af et antibiotikum.

Med dannelsen af antibiotika og andre lægemidler såvel i hospitaler og laboratorier som i uddannelsesinstitutioner er der et forøget behov for information vedrørende de enkelte mikroorganismers følsomhed eller sensitivitet over for forskellige antibiotika eller lægemidler samt for information om analysen af særlige bestanddele i blod eller andre biologiske væsker.

Fra beskrivelsen til BE patent nr. 691.532 kendes lyofiliserede (frysetørrede) antibiotika eller kemoterapeutiske midler i forskellige koncentrationer, herunder en blindprøve, i adskilte celler anbragt i søjler og rækker i en bakke til afprøvning af mikroorganismers modstandsevne over for antibiotika eller midler. Fastholdelsesorganer i bunden af dyrkningscellerne fastholder det lyofiliserede materiale i de enkelte celler. Identificeringslåg på hver celle lukker og identificerer indholdet af hver celle. Et dyrkningsmedium og/eller en indikator kan findes i lyofiliseret tilstand i testcellerne. Cellerne og lågene er stort set gennemsigtige for at tillade observation af kulturerne.

Fra beskrivelsen til US patent nr. 3.713.985 kendes en række biologiske reagenser i en række bægge, på en strimmel eller pallet, hvor strimlerne er forsynet med tappe til langsgående sammenlukning af en gruppe strimler til dannelse af en bakke. Endvidere findes et folielåg til at beskytte det lyofiliserede indhold under opbevaring, og der foretages rekonstituering af indholdet på anvendelsestidspunktet. Dyrkningsmediet og testorganismerne tilsættes efter hinanden og hver for sig på anvendelsestidspunktet, således at kontrolreagenset først redispergeres. Derefter foretages inokulering og inkubering.

Mængden af antibiotikum til inhibering af væksten af patogene mikroorganismer ligger ofte i området fra ca. 0,1 til ca. 250 mikrogram pr. ml. Da 0,2 ml opløsning er en hensigtsmæssig testprøvestørrelse, er mængden af antibiotikum i en række kamre på mellem ca. 0,02 og 50 mikrogram. Disse mængder er så små, at det blotte øje ikke ville være i stand til at konstatere deres tilstedeværelse i testkamrene.

Testudstyret ifølge opfindelsen er ejendommeligt ved, at de pågældende kamre indeholder lige store mængder polyvinylpyrrolidon som et vandopløseligt fyldstof og bærestof til fastholdelse af antibiotiket med antibiotiket i dispergeret og rekonstituerbar, frysetørret form i polyvinylpyrrolidonet.

Ved at anvende polyvinylpyrrolidon som et vandopløseligt fyldstof og antibiotikumtilbageholdende bærestof, især når polyvinylpyrrolidonet og antibiotiket er anbragt i testkamrene i vandig opløsning og derpå frosset og tørret, opnår man, at antibiotiket er fordelt i polyvinylpyrrolidonskummet, og begge er adhæsivt fastholdt i testkammeret og kan ved visuel iagttagelse konstateres at være til stede i testkammeret på anvendelsestidspunktet. Skummets synlighed giver bekræftelse på antibiotikets tilstedeværelse og bevirker en psykologisk stimulering for brugeren.

Det tørrede polyvinylpyrrolidon understøtter opløsningen af antibiotiket, da det holder antibiotiket i finfordelt tilstand og selv er opløseligt. Polyvinylpyrrolidon er biologisk inaktivt. Det har været anvendt som strækemiddel til blod og i mange biologiske miljøer. Det er anført i US farmakopien som "Povidone" og de biologiske anvendelser er velkendt. Det er så inaktivt, at en mængde på mindre end fra 250 til mindst 10.000 mikrogram pr. ml er tilfredsstillende til dannelse af en svamp til at fastholde antibiotiket. En foretrukken koncentration på 2000 mikrogram pr. ml er hensigtsmæssig. Dette giver 400 mikrogram pr. 0,2 ml testcontainer, hvilket er hensigtsmæssigt både af hensyn til konstituering som rekonstituering, og det er tillige let synligt i form af et skum, der bekræfter tilstedeværelsen af såvel polyvinylpyrrolidonet som antibiotiket.

Anvendelsen af polyvinylpyrrolidonet i testudstyret ifølge opfindelsen afhjælper to væsentlige problemer forbundet med fremstillingen og anvendelsen af de kendte testudstyr.

Da for det første mængden af antibiotikum i fordybningerne er ganske lille (mikrogram) og er seriefortyndet og frysetørret i på hinanden følgende kamre, er det vanskeligt visuelt at afgøre ud fra et kvalitetskontrollsynspunkt, hvorvidt et givent kammer indeholder noget antibiotikum. Tilsætning af polyvinylpyrrolidon som fyldstof gør den visuelle bestemmelse lettere.

For det andet bevirker anvendelsen af polyvinylpyrrolidon i forbindelse med et antibiotikum dannelsen af en frysetørret skumprop med en konsistens, der minder om bomuldsvat, som slutter tæt til og adhærer til bunden og siderne af kammeret. Der er meget ringe sandsynlighed for, at denne kombination løsnes fra fordybningen under forseglingen og udpakningen af pladerne og forsendelse og opbevaring.

Det er let at bringe polyvinylpyrrolidonet i opløsning med antibiotiket og senere inokulere med den vandige dyrkningsvæske. Endvidere reagerer polyvinylpyrrolidon ikke med antibiotiket eller påvirker dets styrke, og polyvinylpyrrolidon påvirker endvidere ikke patogene organismers vækstkaraktistika.

Fortrinsvis anvendes samme koncentration af polyvinylpyrrolidon i hvert forsøgskammer for at formindske antallet af variable og for at der kan anvendes visuel iagttagelse til at bekræfte, at hvert kammer er ensartet fyldt.

Testudstyret omfatter ofte et kammer uden indhold af antibiotikum for at bekræfte vækstkarakteristika uden nogen form for inhibering eller for at bekræfte testudstyrets sterilitet. Dette testkammer kan eventuelt indeholde polyvinylpyrrolidon som en blindprøve.

Testudstyret bør være sterilt, således at kun testorganismen dyrkes. Ved fyldning og tørring anvendes steril teknik. Nogle antibiotika eller vækstbekæmpelsesstoffer, der ifølge deres natur virker som et mikroorganismehinhiberingsmiddel, kan steriliseres in situ ved anvendelse af ethylenoxid, bestråling, varmetilførsel eller på anden måde, der er foreneligt med det vækstbekæmpende stof. Visse sulfapreparater er meget stabile under steriliseringsprocesser.

Ved anvendelse af et antal testplader med kamre i hver plade kan der anvendes et særskilt antibiotikum i hver testplade. Forskellige patienter på et hospital kan have forskellige spektre af antibiotika, som skal testes.

Da pladerne kan stables, kan der anvendes en stabel på fem eller ti plader som en enhed med inkubering og opbevaring. Flere testplader, fem eller ti kan hensigtsmæssigt stables med et dehydreringsmiddel i en pose indtil anvendelsestidspunktet. En foliepose kan anvendes for at give maksimal beskyttelse mod fugtighed.

Opfindelsen forklares nærmere i det følgende under henvisning til tegningen.

På tegningen er der i fig. 1 vist et tværsnit af en dyrknings-testplade med et plasttryklåg, som lukker de enkelte celler, hvor antibiotiket findes i et polyvinylpyrrolidonskum.

I fig. 2 er vist et billede af et plasttryklåg.

I fig. 3 er vist et tværsnit af en beholder fyldt med en flydende opløsning af antibiotikum og polyvinylpyrrolidon.

I fig. 4 er vist et tværsnit af beholderen efter, at væsken er frosset og tørret til dannelsen af et skum.

I fig. 5 er vist et tværsnit af beholderen med tryklåget anbragt på plads.

I fig. 6 er vist en beholder, hvor indholdet rekonstitueres ved tilsætning af en væske.

I fig. 7 er vist et tværsnit af en beholder med tryklåget anbragt på plads, og som viser den klare væske enten inden væksten af mikroorganismer eller, hvor mikroorganismevæksten er blevet inhiberet.

I fig. 8 er vist en enkelt beholder med tryklåget anbragt på plads og indeholdende en uklar væske, som skyldes propageringen af mikroorganismer deri.

I fig. 9 er vist en gruppe testplader anbragt i hver sin plastpose, som er forseglet inden i et fugtighedstæt folieovertræk.

I fig. 10 er vist et billede af en enkelt dyrkningstestplade.

I fig. 11 er vist en enkelt dyrkningstestplade set fra siden.

I fig. 12 er vist en dyrkningstestplade set fra enden.

I fig. 13 er vist en stabel på fem dyrkningstestplader stablet med henblik på forsendelse eller håndtering, hvor stabelen er set fra enden.

Som illustreret i fig. 1 og 10 består den biologiske dyrkningstestplade 21 af en flad plade 22 med en række rektangulære fordybninger 23. Hver af de rektangulære fordybninger har en flad bund 24 og omtrentlig rektangulære vægge 25. Ved at anvende omtrentlig parallelle vægge, kan lys passere gennem to omtrentlig parallelle vægge med minimal forvrængning eller bøjning, hvilket muliggør enten inspektion ved hjælp af øjet eller et mekanisk optisk udstyr til måling af uklarheden af materialer i fordybningen. Det er ønskeligt, at fordybningen er svagt tilspidset i området fra ca.  $1/2$  til  $4^\circ$ , hvilket tillader støbning af fordybningerne og fjernelsen af støbedornen. Såfremt der ikke fandtes nogen tilspidsning ville det være vanskeligere at fjerne støbedornen, og hvis tilspidsningen er mere end ca.  $4^\circ$ , ville fordybningerne begynde at blive prismatiske i deres virkning på lys.

Som vist i fig. 1 har den der viste udførelsesform en række på 10 fordybninger. Det er klart, at antallet af fordybninger kan variere, men 10 er et hensigtsmæssigt antal til de fleste testformål.

På forsiden af den flade plade 22 er der en nedhængende eller nedadrettet forrand 26. Forranden bibringer yderligere stivhed og har tillige en gruppe indeksindsnit 27. Hver indeksindsnit er i koordineret afstand i forhold til en fordybning. Hensigtsmæssigt er indsnitene centreret med hensyn til hver fordybning og har til formål at registrere testpladen med hensyn til et aflæsningsorgan, når der anvendes et mekanisk tilførselssystem i forbindelse med et elektrooptisk tætheds aflæsningssystem.

På bagsiden af den flade plade er der hensigtsmæssigt, men ikke nødvendigvis en bagkant 28. Endvidere er der for enden af skivens bagkant en afstivningsribbe 29. Denne ribbe er svagt tilspidset med henblik på lettere støbning deraf og har en sådan længde, at testpladen hviler horisontalt på en horisontal flad overflade. Afstivningsribben og fordybningerne har fortrinsvis et fælles bundplan. Dette bevirker,

at dyrkningstestpladerne kan hvile fladt på en arbejdsflade under fyldning og dyrkning, hvilket også tillader, at testpladerne kan stables uden at vælte.

I enderne af testpladerne er disse forsynet med stablingshåndtag 30. Disse håndtag er hule indvendig og koniske, hvorved håndtagene hviler på hinanden, når testpladerne er stablet. For- og bagsiden af håndtagene er hensigtsmæssigt forlængelser af frontkanten og bagkanten 26 og 28 og har en opadgående del 31 og en flad top 32 for hver ende. Kantforlængelserne har en sådan vinkel, at når de er stablet, hviler stabelen, uden at pladerne binder, og uden at der er for megen fri bevægelighed.

Toppen af den flade plade over afstivningsribben kan have afstandsbrikker 33. Disse afstandsbrikker 33 har en sådan størrelse, at når fordybningstryklåg 34, som omtales nærmere i det følgende, anbringes i fordybningen, griber afstivningsribben i kontakt med afstandsknapperne og giver ensartet lodret stabling.

Med henblik på forsendelse, inkubering og opbevaring er fordybningerne lukket, og indholdet deri beskyttet ved hjælp af et tryklåg 34. Tryklåget er fremstillet af en tynd plade 35 af fleksibelt plastmateriale. Det er en smule større end fordybningerne, som skal dækkes og har en række nedadrettede rektangulære fordybningslukker 36.

Som vist i fig. 2 og 5 har hver fordybningslukke rektangulær form og en sådan størrelse, at det passer i den rektangulære fordybning 23. Afstanden mellem dem svarer til afstanden i rækkerne af rektangulære fordybninger 23. Fordybningslukkerne er hensigtsmæssigt hule og strækker sig noget ned i fordybningen i samlet stilling. Randene 37 passer hensigtsmæssigt ved et let tryk ind i den rektangulære fordybning 23, således at tryklåget 34 let kan fjernes og genanbringes, og når det er anbragt i stilling falder det ikke let ud under forsendelse og håndtering. På tryklåget findes en løfteflig 38. Løftefligen har et område med stofkarakter 39. Området med stofkarakter dannes ved støbning ved profilering af formen, således at det stofagtige område bliver ru og lettere tager imod blæk eller en etikette end den glatte overflade på tryklåget. Løftefligen strækker sig hensigtsmæssigt fra tryklåget i omtrentlig tryklågets bredde og anbragt på plads passer det mod dyrkningstestpladen således, at løftefligen 38 kan tages op med en fingernegl. Den kan imidlertid også drejes  $180^{\circ}$  om en lodret akse, således at løftefligen vender udad og kan anvendes som identifikationsflig.

Området med stofkarakter på løftefligen på tryklåget muliggør identificering af en speciel dyrkningstestplade i en stabel. Det er hensigtsmæssigt, men ikke nødvendigt at der på overfladen af dyrkningstestpladen 21 er en etikette 40. Hensigtsmæssigt omfatter etiketten navnet på antibiotiket eller det aktive middel, identifikation med hensyn til batchnummer, datoer og oprindelse og har plads til patientens navn, datoen for testens udførelse og andre informationer på anvendelsestidspunktet.

Enderne af håndtagene 30 kan være forsynet med en støbt tekst 41. Det er hensigtsmæssigt, at et varemærke eller et fabriksnavn kan støbes på overfladen af håndtaget af hensyn til identifikation.

Anvendelsen af dyrkningstestpladen er vist i fig. 3 til 8. Dyrkningstestpladen er støbt med 10 rektangulære fordybninger. Som vist i fig. 3 er fordybningerne fyldt med et flydende antibiotikum 42 indeholdende polyvinylpyrrolidon som et vandopløseligt fyldstof og antibiotikumbindende bærestof. Polyvinylpyrrolidon er biologisk indifferent og har ingen virkning på antibiotiket, dyrkningsmediet eller mikroorganismene, og selv når det er frosset og tørret fylder det fordybningen med en svamp, der ligner bomuldsvat i struktur, og som holder antibiotiket på plads og forhindrer migrering af antibiotiket.

Som vist i fig. 4 er væsken i beholderne frosset og tørret til dannelse af et tørret antibiotikum i polyvinylpyrrolidonet 43. Hensigtsmæssigt stables en gruppe dyrkningstestplader med tryklågene over fordybningerne fjernet, f.eks. som vist i fig. 13, og en gruppe af sådanne stabler er anbragt på hylderne i et frysekammer, indholdet fryses, kammeret evakueres, og der anvendes konventionel lyofiliseringsteknik til tørring til en svamp. Svampens tørre tilstand beskyttes ved at påsætte tryklåget over fordybningerne, hvorpå der foretages opbevaring i tørre omgivelser til anvendelsestidspunktet.

I fig. 5 er vist den tørrede svamp med tryklåget anbragt over fordybningen.

På anvendelsestidspunktet, som vist i fig. 6, sættes et flydende fortyndingsmiddel til den tørre svamp.

Ved anvendelse af rørfortyndingspraksis er det flydende fortyndingsmiddel et passende dyrkningsmedium 44, som er blevet inokuleret med en testorganisme. Fortrinsvis forekommer testorganismen i en standardkoncentration, således at testpladeresultaterne er både kvantitative og kvalitative.

Teoretisk kan selve dyrkningsmediet blandes med antibiotiket og tørres ned og opbevares, således at kun testorganismen og et indifferent fortyndingsmiddel, nemlig vand, behøver at tilsættes på anvendelsestidspunktet. Det foretrækkes, at dyrkningsmediet er tilsat testorganismen (1), da testorganismen kan sættes til dyrkningsmediet, inden det tilsættes for at undgå dobbelttilsætning, (2) der kan vælges et dyrkningsmedium, som er særligt hensigtsmæssigt for en specifik testorganisme, og (3) koncentrationen af testorganismen er ensartet i alle tests. Mange dehydratiserede dyrkningsmedier er hygroskopiske, og som følge af deres tiltrækning af vand kunne nedbrydningen af nogle antibiotika fremskyndes. Forskellige laboratorier foretrækker forskellige dyrkningsmedier til forskellige organismer eller endog samme organisme. Ved at sætte organismen, som skal testes, til dyrkningsmediet, opnås yderligere fleksibilitet ved valg af dyrkningsmedium. Selv uden dyrkningsmedium er der en minimal risiko for, at der fås et system, som kan støtte bakterievækst under opbevaring.

I fig. 7 er vist en fordybning, hvori der er en klar opløsning 45. Når svampen og antibiotiket er opløst i dyrkningsmediet, er opløsningen klar. Hvis der er tilstrækkeligt med antibiotikum til at inhibere væksten af testorganismen, forbliver opløsningen klar. I modsat fald vokser mikroorganismen og gør opløsningen uklar 46 som vist i fig. 8.

En klar opløsning 45 indicerer ingen bakterievækst. En uklar opløsning 46 indicerer bakterievækst.

Bedømmelsen af opløsningerne til bestemmelse af bakterievækst kan foretages enten ved hjælp af det menneskelige øje, dvs. en bedømmelse med det blotte øje, eller der kan anvendes elektrooptisk apparatur såsom en fotosensitiv læser eller lys med konstant intensitet. Lyset kan have en valgt bølgelængde eller farve afhængigt af opløsningen. Der kan anvendes separate læsere for hver celle, eller den samme læser kan anvendes til en gruppe på 10 celler i en række i en dyrkningstestplade.

Med henblik på forsendelse og opbevaring stables en gruppe på fem testplader hensigtsmæssigt omsluttet af et plasthylster 47 som vist i fig. 9. Der kan også anbringes et tørremiddel i hylsteret for at sikre tørhed. To eller flere af sådanne plasthylstre kan derpå anbringes i et ydre foliehylster 48. Det ydre foliehylster 48 kan indeholde yderligere hylstre med tørremiddel og er forseglet, således at indholdet er beskyttet mod omgivelsernes fugtighed i lang tid.



Når dyrkningstestpladerne er forseglet på denne måde, bevarer de i alt væsentligt deres oprindelige styrke i flere måneder, og det kan forventes, at testpladerne vil være tilfredsstillende i det mindste i flere år.

Størrelsen af fordybningerne er ikke kritisk, men en fordybningsstørrelse på 8 x 10 mm i toppen og 5 x 8 mm i bunden med en dybde på 9 mm tillader at der arbejdes med 0,2 ml, når fordybningen er ca. halvt fuld, og tillader en hensigtsmæssig arbejdsstørrelse med et minimalt forbrug af reagens- og materiale-mængder. En tykkelse af selve cellerne, testpladen og håndtagene på ca. 0,8 mm giver gode resultater. En sådan tykkelse er et kompromis mellem dele med tilstrækkelig stor tykkelse af hensyn til styrken, og som er tilstrækkelig tynde af hensyn til minimale materialekrav. Med en sådan tykkelse er dyrkningstestpladerne er tilstrækkelig stærke til om ønsket at kunne anvendes, men de er tilstrækkeligt billige til, at det sædvanligvis er billigere at betragte testpladerne som engangsplader.

#### Eksempel

Antibiotiket, som skal testes, fremstilles i det pågældende dobbeltfortyndingsområde, idet der startes med 10 4-liter kolber, hvor til den første sættes 6 g polyvinylpyrrolidon ("Povidone" USP) og 3 liter tredobbelt destilleret vand. Til hver af de øvrige 9 kolber sættes 3 g polyvinylpyrrolidon og 1500 ml tredobbelt destilleret vand.

Til den første kolbe sættes 206,25 mg tetracyclin-hydrochlorid, hvorpå kolben rystes, indtil indholdet er opløst og fordelt ensartet. Halvdelen af indholdet af den første kolbe sættes derpå til den anden kolbe, og indholdet af den anden kolbe rystes, indtil der fås en ensartet opløsning. Halvdelen af indholdet af den anden kolbe sættes derpå til den tredje kolbe, etc., og rækken fortsættes, indtil den dobbelte rækkefortynding er fremkommet i den 9. kolbe. Overskud af den fortyndede opløsning i den 9. kolbe hældes bort. Den 10. kolbe indeholder kun polyvinylpyrrolidon og tredobbelt destilleret vand. Den kan efterlades tom.

Indholdet af hver kolbe underkastes sterilfiltrering til 2-liter reagensflasker, som lukkes med låg og opbevares i et is-vandbad for fyldning ved hjælp af sterilteknik. Fyldningen bør ikke forsinkes unødigt. Opløsningerne forbliver normalt stabile og uden ændring i mindst 24 timer, hvis de opbevares køligt, men det foretrækkes at de straks påfyldes for at sikre mod tab af styrke.

2/10 ml af indholdet af hver af kolberne fyldes i de respektive fordybninger i en enkelt testplade.

Fordybningerne i alt 5 000 testplader fyldes, testpladerne stables og anbringes på hylder i et koldt kammer. Det kolde kammer er forkølet, idet det kolde kammer holdes på en temperatur under  $-40^{\circ}\text{C}$ , idet hyldeafkølingen opretholdes, indtil indholdet i alle fordybningerne er størknet. Dette skal ske på mindre end 12 timer. Efter frysning evakueres det kolde kammer til et totaltryk på mindre end  $100\ \mu$ , hvorefter hylde temperaturen hæves til ca.  $10^{\circ}\text{C}$  og holdes ved denne temperatur, indtil temperaturfølere i apparatet indicerer, at temperaturen i fordybningerne ligger i området  $5-10^{\circ}\text{C}$  fra temperaturen af selve hylderne. Derefter opvarmes hylderne til ca.  $30^{\circ}\text{C}$ , og når testpladerne er passende opvarmet, hæves temperaturen til  $40^{\circ}\text{C}$ , og kammeret holdes på denne temperatur i 4 timer. På dette tidspunkt er indholdet i hver fordybning omhyggeligt tørt.

Stadig under anvendelse af sterilteknik anbringes tryklågene over fordybningerne på de tørrede testplader, og fem testplader stables og anbringes i et polyethylenplastovertræk. En pakke med 5 g silicagel anbringes inde i plastovertrækket for at støtte opretholdelsen af tørre omgivelser. To sådanne overtræk hver med fem testplader anbringes derpå i en ydre foliepose, som er praktisk taget uigennemtrængelig for fugtighed og opretholder de tørre omgivelser fra testpladerne i et tidsrum på mindst 4 måneder og formentlig i mindst adskillige år.

Dyrkningstestpladerne har hver en etikette, som angiver det særlige antibiotikum og koncentrationen deraf i hver af fordybningerne, med plads til identifikationsdata såsom dato, patienten og testbetingelserne, hvorunder dyrkningstestpladen. Et antal folieposer emballeres i en forsendelsesbeholder, idet antallet er baseret på kundernes anvendelse.

På denne måde indeholder fordybningerne de i nedenstående tabel I anførte bestanddele:

Tabel I

<u>Fordybning nr.</u>	<u>Tetracyclin-hydrochlorid</u>		
1	12,5 mcg	+ 10% overskud	+ 400 mcg "Povidone"
2	6,25 mcg	"	"
3	3,125 mcg	"	"
4	1,56 mcg	"	"
5	0,78 mcg	"	"
6	0,39 mcg	"	"
7	0,195 mcg	"	"
8	0,098 mcg	"	"
9	0,049 mcg	"	"
10	0,00 mcg	-	"

Dyrkningstestplader anvendes hensigtsmæssigt til et vilkårligt antibiotikum eller terapeutisk bekæmpelsesmiddel såsom penicillin, ampicillin, clindamycin, erythromycin, methicillin, tetracyclin, demethylchlortetracyclin, 7-dimethylamino-6-demethyl-6-deoxytetracyclin, minocyclin, cephalothin, gentamycin, colistin, carbenicillin, chloramphenicol, kanamycin og et vilkårligt af sulfonamiderne.

Andre antibiotika kan anvendes, og hvis et antibiotikum kræver et andet område end det anførte, kan koncentrationen ændres, men med det brede område dækket af de ni fortyndinger i fordybningerne, vil man opnå den rigtige dosering af de fleste antibiotika.

Den tiende fordybning indeholder intet antibiotikum, og hvis den derfor inokuleres med testorganismen, viser den væksten af mikroorganismen under ikke-hæmmede betingelser. Hvis fordybningen ikke inokuleres viser den, at ingen forureninger er til stede.

Antallet af dyrkningstestplader og valg af dyrkningstestplader, hver med sit antibiotikum, afhænger af brugerens skøn.

På anvendelsestidspunktet anbringes lige store mængder dyrkningsvæske inokuleret med bakteriekulturen, som skal testes, ved hjælp af en pipette i hver pladefordybning, hvorefter pladerne inkuberes i et givet tidsrum ved en given temperatur. Testen aflæses ved visuel bedømmelse for vækst, som angives ved uklarhed, hvorimod mangel på vækst indiceres ved en klar suspension. Slutpunktet er defineret som den fordybning, som indeholder den laveste koncentration af antibiotikum, hvor der ikke findes påviselig mikroorganismevækst. Kontrolfordybningen på hver plade, som ikke indeholder noget

antimikrobielt middel, tjener som et mål for den ikke-hæmmede vækst af bakteriekulturen. I de fleste tilfælde konstateres der vækst i løbet af 4-6 timer med hurtigtvoksende bakterier. Et slutpunkt for den minimale hæmningskoncentration (MIC) taget på dette tidspunkt har vist sig at være ækvivalent ved slutpunktet efter 18 timers inkubering i forsøg gennemført med mikroorganismer, som vokser hurtigt. Endvidere indicerer forsøg med bakterier, som har en lavere væksthastighed, at foreløbige MIC-værdier kan opnås efter 4-6 timers inkubering, selv om pladerne inkuberes i alle 18 timer med henblik på opnåelse af de endelige resultater.

Slutpunktet er defineret som den fordybning, der indeholder den koncentration af antimikrobielt middel, hvor der ikke er nogen påviselig mikroorganismevækst, som kan bestemmes visuelt som sammenløbende uklarhed eller rimelige mængder flokkulering eller klynger af bakterier.

En svag uklarhed eller et lille antal partikler på bunden af fordybningen udgør ikke vækst.

MIC-værdien i mcg eller enheder pr. ml fås ved at multiplicere det tilsvarende indholdstal påtrykt ved siden af den fordybning, som ikke viser nogen vækst, med 5.

P a t e n t k r a v .

Testudstyr til bestemmelse af en mikroorganismes følsomhed over for antibiotika, omfattende flere testkamre, hvor i det mindste nogle af kamrene indeholder en gradueret koncentrationsrække af et antibiotikum, k e n d e t e g n e t ved, at de pågældende kamre indeholder lige store mængder polyvinylpyrrolidon som et vandopløseligt fyldstof og bærestof til fastholdelse af antibiotiket med antibiotiket i dispergeret og rekonstituerbar, frysetørret form i polyvinylpyrrolidonet.

Fremdragne publikationer:

USA patent nr. 3713985.

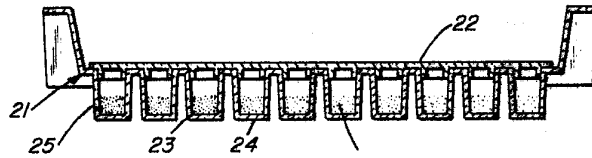


FIG. 1

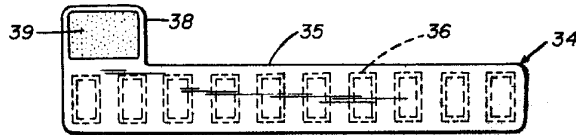


FIG. 2

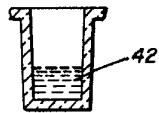


FIG. 3

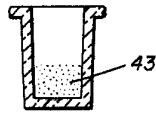


FIG. 4

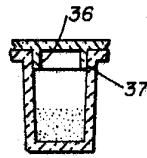


FIG. 5

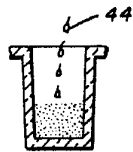


FIG. 6

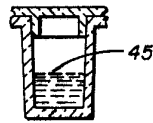


FIG. 7

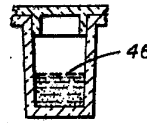
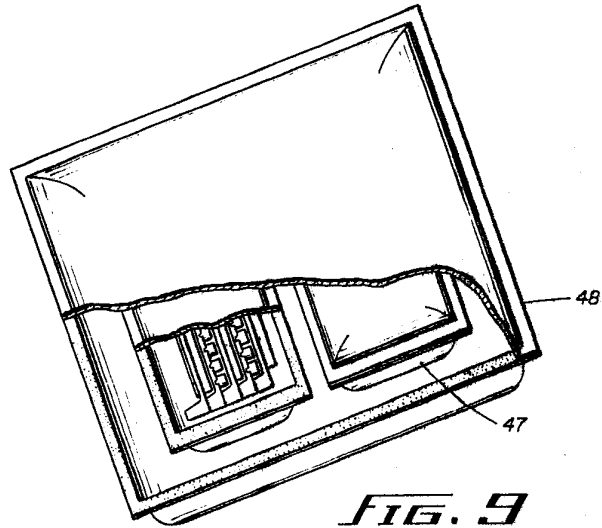
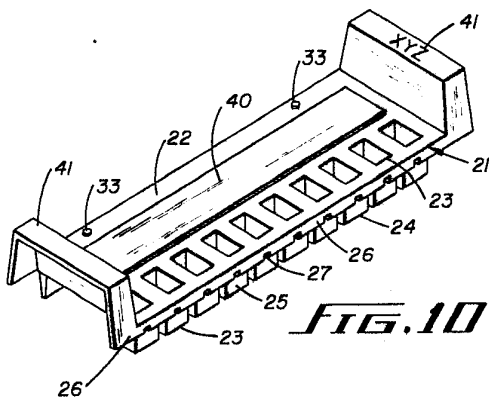


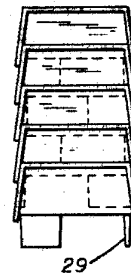
FIG. 8



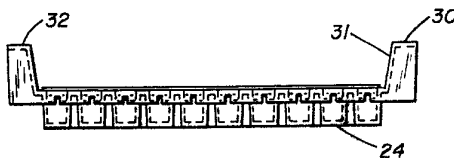
**FIG. 9**



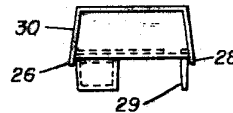
**FIG. 10**



**FIG. 13**



**FIG. 11**



**FIG. 12**