



Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

⑤1	Kv.lk. ³ /Int.Cl. ³ G 01 N 21/03	
②1	Patenttihakemus — Patentansökning	762861
②2	Hakemispäivä — Ansökningsdag	07.10.76
②3	Alkupäivä — Giltighetsdag	13.08.73
④1	Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	07.10.76
④4	Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.08.81
④5	Patentti myönnetty — Patent meddelat	10.12.81
③2 ③3 ③1	Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	18.08.72
	USA(US) 281946	

(73) Warner-Lambert Company, 201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey
07950, USA(US)

(72) Julius Praglin, East Lyme, Conn., David Kenneth Longhenry, East Lyme,
Conn., Alan Clarkston Curtiss, Old Lyme, Conn., James Edward McKie,
Jr., Ledyard, Conn., USA(US)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä ja laite antibioottien herkkyyden määrittämiseksi - Förfarande
och apparatur för bestämning av antibioters känslighet

(62) Jakamalla erotettu hakemuksesta 2537/73 (patentti 53591) -
Avdelad från ansökan 2537/73 (patent 53591)

Keksinnön kohteena on säiliö, joka on tarkoitettu käytettäväksi jaettaessa liuosta useisiin identtisiin näytteisiin, joihin lisätään eri reagensseja, joiden kunkin reaktio liuoksen kanssa on tutkittava, ja joka käsittää täyttölöhkoja, joihin jaettava liuos sijoitetaan tasaisesti niihin jaettuna ja joista se siirretään vastaaviin koelohkoihin.

Sairaaloiden kliinisillä laboratorioilla on ollut ongelmia määrittäessä antibiootti, jolle potilaasta eristetty tautia synnyttävä bakteeri on herkin. Kirby-Bauerin menetelmässä, joka on kuvattu "Disc Susceptibility Testing"-otsikoidussa artikkelissa julkaisussa "Hospital Practice", February 1970, Vol. 5, n:o 2, sivut 91-100, mitataan estovyöhyke bakteeria sisältävässä hyytelössä olevan antibiootti-levyn eli -pyörylän ympäriltä. Tähän kuluu noin yksi vuorokausi ja se vaatii melkoisesti käsittelyä, työaikaa ja altistamista tautia synnyttävälle bakteerille. Pitkälle automatisoitu hiukkaslaskentajärjestelmä on kuvattu julkaisussa "Applied Microbiology", December 1971, sivut 980-986. Se antaa tulokset parissa kolmessa tunnissa, mutta on äärimmäisen monimutkainen ja kallis ja tappaa bakteerit estäen siten toiston. Valoa hajottavia lasersädefotometreja on myös käytetty pyörivällä ilmaisimella saadun hajaantumiskäyrän muutosten tutkimiseen bakteerien antibioottilherkkyyden määrittämiseksi. Tällaiset järjestelmät ja laitteet perustuvat solun koon ja muodon

muutoksiin eivätkä kasvun estoon (jolla voidaan tehdä päteviä johtopäätöksiä bakteerien herkkyydestä), sekä vaativat erittäin paljon taitoa kysyvän analyysin ja ovat suhteellisen kalliita. Tämän keksinnön tavoitteena on saada aikaan suhteellisen yksinkertainen ja huokea lokerosäiliö, joka on sopiva antibioottilerkkystutkimukseen ja joka ei ainoastaan perustu antibioottilerkkystutkimuksen hyväksytyille ja oikeiksi osoitetuille periaatteille, vaan on myös nopea, tehokas, taloudellinen ja yksinkertainen käyttää.

Keksinnön mukaisesti saadaan aikaan lokeroitu säiliö, joka on tarkoitettu käytettäväksi jaettaessa liuos useisiin identtisiin näytteisiin, joihin lisätään erilaisia reagensseja, joiden kunkin reaktio liuoksen kanssa on tutkittava, jolloin säiliö käsittää pitkittäisen lokerosarjan, jolla on pituusakseli, jolloin kussakin lokerossa on täyttö- ja koelohko, jotka kykenevät pitämään sisässään nesteitä, jolloin kaikkien lokeroitten täyttö- ja koelohkot ovat olennaisesti samalla suoralla linjalla, koelohkotuen lokerosarjan koelohkojen pitämiseksi alhaalla nesteen saamiseksi virtaamaan lokerosarjan koelohkoihin ja pysymään näissä, täyttölohkotuen täyttölohkosten pitämiseksi alhaalla liuoksen saamiseksi jakautumaan täyttölohkoihin, jakotilan, joka on yhdistetty kaikkiin täyttölohkoihin liuoksen saamiseksi virtaamaan jakotilasta täyttölohkoihin yhdysaukkojen kaikkien täyttölohkosten välille liuoksen saamiseksi tasan jakautumaan täyttölohkosten kesken, jolloin jokainen täyttölohko on yhdistetty sitä vastaavaan koelohkoon nesteen saamiseksi virtaamaan niiden välillä siten, että säiliön kääntäminen akselinsa ympäri asennosta, missä täyttölohkot ovat alhaalla, asentoon, missä koelohkot ovat alhaalla, mahdollistaa täyttölohkoihin tasan jakautuneiden liuosmäärien virtaamisen täyttölohkoista koelohkoihin, ja aukkoja jokaisen lokeron seinämässä koelohkojen yläpuolella reagenssien panemiseksi koelohkoihin.

Esillä olevan keksinnön lokeroitu säiliö on erittäin käyttökelpoinen sellaisen laitteiston osana, jolla voidaan suorittaa hakemuksessa n:o 2537/72 kuvattu menetelmä eri antibioottien suhteellisen tehokkuuden määrittämiseksi bakteereihin.

Keksinnölle on pääasiallisesti tunnusomaista, että kukin täyttölohko ja siihen liittyvä koelohko sijaitsevat omassa pituusakselilla varustetun, pitkittäisen lokerosarjan lokerossaan, että säiliö on varustettu jakotilalla, joka ottaa vastaan jaettavan liuoksen ja säiliön levätessä täyttölohkotuen varassa, jolloin täyttölohkot sijoittuvat jakotilan alapuolelle, sijoittaa liuoksen täyttölohkoihin tasaisesti niihin jakautuneena täyttölohkosten välissä olevien yhdysaukkojen kautta, että kukin täyttölohko on yhdistetty siihen liittyvään koelohkoon siten, että liuos virtaa täyttölohkoista koelohkoihin, kun säiliötä pyöritetään pitkittäisakselin ympäri, kunnes se lepää koelohkotuen varassa, jolloin koelohkot sijoittuvat täyttölohkosten alapuolelle, ja että kunkin lokeron seinässä on koelohkon yläpuolella aukko reagenssin sijoittamiseksi koelohkoon.

Käytettäessä tätä lokeroitua säiliötä, jota tästä edes kutsutaan kyvetiksi, voidaan eri reagenssien, kuten antibioottien tehokkuus määrittää lisäämällä antibiootit

samanaikaisesti useihin bakteerisuspension identtisiin näytteisiin. Näytteiden valmistus, antibioottien lisäys niihin ja niiden analyysi helpottuvat merkittävästi kun ne pannaan lokeroituun säiliöön eli kyvetiin ja sen jälkeen antibioottilevyt viedään samanaikaisesti levyjen jakelulaitteesta näytteisiin. Valmistauduttaessa tähän levyjen sisäänpanoon toisiinsa yhdistetyt täyttö- ja koelohkot käännetään kyljelleen niiden täyttämiseksi yhtä suurilla määrillä bakteerisuspensiota tämän siirtyessä jakotilasta lohkoihin. Kun kyveti sitten käännetään asentoon, missä toisiinsa yhdistetyt lohkot ovat pystyasennossa, näyteliuos virtaa yhtyvistä täyttölohkoista erillisiin koelohkoihin. Antibioottilevyt voidaan sitten kätevästi pudottaa kaikkiin koelohkoihin näiden yläseinämässä olevan aukon läpi ja näin nämä levyt pidetään vähäisesti uppoutuneina jokaisen lokeron koelohkoon suljettuun bakteerisuspensioon. Antibioottilevyt voidaan panna kyvetiin jopa ennen inokulaattia, so. elatusaineinkulumia, jos käytännön tarpeet niin vaativat. Koelohkot ovat edullisesti valoa läpäiseviä ja muotoiltu nopean fotometrisen analyysin mahdollistamiseksi, mikä tapahtuu esim. kuljettamalla ne nopeasti valonlähteen ja fotometrisen tuntoelimen, edullisesti valon hajuksen selville ottavaa tyyppiä olevan tuntoelimen ohi. Jos määritetty kasvuindeksi on liian pieni, kyveti voidaan uudelleen inkuboida ja uudelleen lukea ennen poisheittoa.

Esillä olevan keksinnön saamiseksi paremmin ymmärrettäväksi sitä selitetään seuraavassa lähemmin oheisten piirustusten yhteydessä, joissa samanlaiset osat on merkitty samoilla viitenumeroilla ja joissa

kuvio 1 on osittain luonnosmainen kaavio antibioottiherkkyystutkimukseen käytettävästä laitteistosta, johon sisältyy esillä olevan keksinnön mukainen kyveti;

kuvio 2 on päällikuva kuviossa 1 esitetyn laitteiston kyvetistä;

kuvio 3 on etukuva kuviossa 2 esitetystä kyvetistä;

kuvio 4 on pohjakuva kuvioissa 2 ja 3 esitetystä kyvetistä;

kuvio 5 on takakuva kuvioissa 3 ja 4 esitetystä kyvetistä;

kuvio 6 on päätykuva kuvioissa 2 ja 3 esitetyn kyvetin vasemmasta päästä;

kuvio 7 on päätykuva kuvioissa 2 ja 3 esitetyn kyvetin oikeasta päästä;

kuvio 8 on poikkileikkauskuva kuvion 3 linjalta 8-8; ja

kuviot 9-13 ovat osittain kaaviollisia kuvia kuvioissa 2-8 esitetyn kyvetin peräkkäisistä täyttövaiheista sitä syöttöputkesta täytettäessä.

Kuviossa 1 esitetään laitteisto useiden eri reagenssien, kuten antibioottien (esim. kaksitoista), suhteellisen tehokkuuden määrittämiseksi bakteerien kasvun estämisessä, joka laitteisto käsittää kertakäyttöisen muovikyvetin 12, jossa herkkyyskokeet suoritetaan, jakelulaitteen 14 levyjen 16 panemiseksi kyvetiin 12, inkubaattoriravistimen 30 bakteerien inkuboimiseksi ja kyvettien ravistelemiseksi ja automaattisen valonhajotusfotometri-analysaattorin 62 bakteerien kasvun avalvoimiseksi ja tulosten kirjoittamiseksi esikirjoitetulle lomakkeelle tai nauhalle 22, kuten myöhemmin lähemmin selitetään.

Ennen tässä yksityiskohtaisesti kuvattua tutkimusmenetelmää saatu kliininen eriste pannaan petrinmaljaan 20, jossa sen annetaan inkuboitua yön yli.

Sitten bakteorologi poimii maljasta useita morfologisesti samanlaisia kasvupesäkkeitä silmukkaa 24 käyttäen, minkä jälkeen ne pyörresekoittamalla suspendoidaan putkessa 13 olevaan suolaliuokseen. Fotometrin vakiointimenetelmää käyttäen putkessa oleva suspensio saatetaan normitettuun bakteeripitoisuuteen, joka tarkistetaan analysaattorissa 62 pistämällä putki kannessa 74 olevaan aukkoon ja katsomalla lukema mittarista 68. Kaksi millilitraa kol suspensiota lisätään 18 millilitraan reheväkasvuista elastusainetta, joka on pantu kierrepäiseen koeputkeen 78. Koeputki 78 ruuvataan kiinni muovikyvetiin 12 ja yksinkertaisella käsittelyllä saadaan koeputken sisältö tasaisesti jakautumaan kyvetin kolmeentoista koelokeroon S_c ja S_{1-12} . Nyt lisätään eluutiolevyt 16 aukkojen 26 kautta, jotka paljastetaan poistamalla suljin 34, levynjakelulaitteen 14 avulla ja pidetään suspendoituneina kammioiden S_{1-12} kahdestoista erillistetyssä lohossa 17 olevassa kasvuaineessa 28 kyvetin yläosassa olevien muoviputkein 29 avulla. Kolmastoista kammio S_c on kontrollikammio. Kyveti 12 inkuboidaan nyt kolme tuntia inkubaattori-ravistimessa 30, joka on rakennettu ottamaan vastaan 30 kyvetiä. Kolmen tunnin kuluttua kyveti 12 pistetään analysaattoriin 62 ja kasvu kussakin kammiossa S_c ja S_{1-12} evaluoidaan. Vertaamalla kontrollikammioon S_c jokaisen kammioissa S_{1-12} olevan antibiootin suhteellinen inhibitoiva vaikutus lasketaan ja kirjoitetaan kuten lähemmin jäljempänä kuvataan.

Reheväkasvuisella elatusaineella on seuraava koostumus grammoissa/litra ja sen pH-arvo on 7,0.

<u>aineosa</u>	<u>pitoisuus</u>
peptoni "C"	15,0
peptoni "S"	5,0
dekstroosi	5,5
natriumkloridi	4,0
natriumsulfiitti	0,2
l-systiini	0,7

Laitteiston 10 neljän komponentin yksityiskohtaista rakennetta selitetään seuraavassa:

A. Kyveti 12

Antimikrobisten aineiden vaikutuksen mittaaminen elastusaineessa olevien mikro-organismien (bakteerien) kasvuun vaatii kammion (kennon) jossa on inokuloitua elastusainetta. Elastusaineessa tapahtuvan kasvun mittaaminen valonhajotuksella vaatii, että tämä kammio on sekä käytettyä säteilevää valoa läpäisevä että geometrisesti yhteensopiva valonhajotusfotometrin kanssa. Monien antimikrobisten aineiden vaikutusta mikro-organismin kasvuun voidaan kätevästi ja nopeasti tarkastella järjestelmällä nämä optiset kammiot suoraan jonomuotoon yhdeksi yksiköksi. Kyveti 12 salli myös mukavasti siirtää yhtä paljon inokuloitua

elatusainetta jokaiseen kammioon S. Kyvetti 12 pystyy myös helposti ottamaan vastaan antimikrobisella aineella kyllästetyn pyöreän paperilevyn kaikkiin kammioihinsa, mutta ei pysty ottamaan vastaan tällaista antimikrobista levyä yhteen kontrollikammioonsa. Lisäksi kyvetti 12 on vesitiivis, optisesti kiillotettu, optisesti toisinnettava, halpa, suhteellisen pieni, pinottava ja mahdollisesti kertakäyttöinen.

Kyvetti 12 esitetään kuvioissa 2-8. Se on optisesti kirkasta ja inertistä muovia, kuten polystyreeniä ja se valmistetaan ruiskupuristusmenetelmällä kaksiosaiseksi optisesti kiillotettuja teräsmuotteja käyttäen. Ruiskupuristuksen jälkeen molemmat osat saumataan yhteen joko liuotteella tai ultraääni-energialla kyvetin valmistamiseksi. Ultraäänisaumasta suoritetaan, koska silloin vältetään optisen pinnan turmeltuminen liiallisen liuotteen johdosta. Kyvetissä 12 on suorassa jonossa eli sarjassa yksi kontrollikammio S_0 ja kaksitoista antimikrobisten eli bakteerien kasvua estävien aineiden koekammiota S_{1-12} . Ainoa toinen materiaali esitettyssä kyvetissä 12 käytetyn polystyreenin ohella on taipuisa polymeeri, kuten styreeni-butadieenipolymeeri, josta tiiviste 32 ja suljin 34 on valmistettu. Tiiviste 32 ja suljin 34 asetetaan kyvetiin 12 ennen lopullista pakkaamista.

Kyvetti 12 käsittää kaksi osaa:

(1) Inokulumiputkiaukko (P) (kuviot 2-7)

Kierteitetty aukko, joka ottaa vastaan inokuloitua elatusainetta sisältävän 18-145 kierrepäisen putken 78. Aukon pohjaosaan asetettu tiiviste 32 muodostaa vedenpitävän sulun kyvetin ja inokulumiputken välille.

(2) Jakotila (R) (kuviot 2-7)

Se ottaa vastaan inokuloidun elatusaineen inokulumiputkesta, kun kyvetiä käännettään käsin.

(3) Toisiinsa yhdistetyt täyttölohkot 15

Täyttölohkorivi 15 ulottuu kyvetin päästä päähän sen pituusakselin suunnassa (jakotilaa R lukuunottamatta). Ne on yhdistetty jakotilaan pääjakoaukolla 31 ja ottavat vastaan inokuloidun elatusaineen jakotilasta, kun kyvetiä käännettään käsin yhtä suurien liuosmäärien saamiseksi virtaamaan ko. lohkoihin jakoaukkojen 33 kautta, mitä auttaa ilman paluuvirtaus ilmareikien 35 läpi. Jakeluaukkojen 33 pinta-ala suurenee jakotilasta R pois päin.

(4) Koelohkot 17 (kuviot 7 ja 8)

Kolmesta erillistä lokeroiden S_0 , (S_1 , S_2-S_{12}) valoa hajottavaa koelohkoa 17 ottavat vastaan yhtä suuren tilavuusmäärän inokuloitua elatusainetta toisiinsa yhdistetyistä täyttölohkoista 15, kun kyvetiä käännettään käsin 90° pituusakselinsa ympäri täyttölohkojen laskemiseksi. Kun nämä kolmesta lokeroa S on täytetty inokuloidulla elatusaineella, ne on eristetty toisistaan

väliseinillä 36. Jakeluaukot 33 ja ilmareiät 35, jotka sijaitsevat väliseinän 36 yläosassa ja selvästi elatusainetason yläpuolella, ovat ainoat yhteydet loke-roiden välillä. Nämä ilmareiät ovat välttämättömät nesteen saamiseksi oikein jakautumaan alasvietyihin täyttölohkoihin 15, kuten yllä kuvattiin.

(5) Antimikrobilevyjen ontelopitimet (29) (kuviot 7 ja 8)

Kaksitoista aukkoista onttoa puikkoa 29 ulottuvat alas kahdentoista loke-ron (S_1-S_{12}) koelohkoihin. Jokainen ontto puikko, tunnettu levynpitimenä, ottaa vastaan pyöreän antimikrobipaperilevyn 16 (halkaisija 6,5 mm) kyvetin 12 yläpinnassa olevan kahdentoista levyaukon 26 kautta. Levy puttaa levynpitimeen 29 ja jää lepäämäänpitimen pohjalle 73. Levynpitimen seinämään lähelle levyä 16 on muodostettu kaksi eluutioaukkoa E, jotka sallivat antimikrobisen (so. bakteerien kasvua estävän) aineen eluution koelohkossa olevaan inokuloituun elatusaineeseen. Sulkimen 34 kaksitoista nystyrää 40 (kutsutaan sulkutulpiksi) pistetään levyaykkoihin 26 vedenpitävän sulun muodostamiseksi kuhunkin levynpitimeen. Suljin 34 on asetettu kahden yhdensuuntaisen kiskon 34a väliin, joiden välissä kyvetin 12 yläpinnan aukot 26 ovat.

(6) Kannike B (kuviot 2 ja 4-8)

Kyvetin 12 takaosaan on sijoitettu sen pituussuuntainen L-muotoinen kannike B, jolla kyvetti voidaan kiinnittää inkubaattoriravistimen 30 pitimiin 42 ja fotometrin vaunun pitimeen. Kyvetin kannike B mahdollistaa siis sen oikean asennoinnin sekä inkubaatio-ravistusjakson että fotometrin pyyhkäisyjakson ajaksi.

Inkubaattori-ravistin, esitetty kuviossa 1, ottaa vastaan kolmekymmentä kyvetiä kolmessa keskenään vaihdettavassa hyllyssä 54. Kussakin hyllyssä 54 on kymmenen pidintä 42 kyvettien pitämiseksi näiden oman kannikkeen B avulla.

Kyvettien kiertoravistus tai -sekoitus tapahtuu inkubaattorissa, jonka lämpötila pidetään arvossa $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ on-ei-tyyppisellä lämpötilansäätimellä. Inkubaattorissa on varoermostaatti 60 varalla olevan lämpötilansäätöjärjestelmän aikaansaamiseksi pääermostaatin sattuessa rikkoutumaan. Inkubaattori-ravistimessa 30 on nopeudensäätönappi 63, jolla voidaan muuttaa sen ravistusliikkeen kiertotaajuutta ja mittari 65a kiertotaajuuden näyttämiseksi sekä lämpötilanasetusnappi 65 lämpötilan muuttamiseksi.

A. Vakioinokulumin valmistaminen

Vakiotyyppinen inokulumi on puhtaiden bakteerien suspensio 0,90 paino-%:sa natriumkloridiliuoksessa, jolloin siinä on $1-3 \times 10^7$ elinkykyistä solua millilitraa kohti. Tämä normaalityyppinen suolaliuosinokulumi optisesti hyväksyttävässä, so. puhtaassa, naarmuttomassa 16 x 125 mm kokoisessa pyöreäpohjaisessa piilasi-putkessa antaa 35° kulmassa hajotussignaalin - $\log S$ arvojen $2,2(1 \times 10^7$ so-lua/ml) ja $1,9(3 \times 10^7$ solua/ml) välillä ollessaan asetettuna fotometriin.

Fotometrin vakiointimittarissa 68 on keskialue (kattaa 40 % mittarin koko alueesta), joka on "oikean inokulumin alue". Sen molemmat rajat vastaavat hyväksyttävän hajotusalueen rajoja. Mittarin vasen alue (kattaa 30 % mittarin koko alueesta) merkitsee "alle" ja/tai "lisää mikro-organismeja". Oikeanpuoleinen alue (kattaa loput 30 % mittarin koko alueesta) merkitsee "yli" ja/tai "laimenna suolaliuoksella".

Vakioinokulumi valmistetaan siirtämällä tietyn bakteerin kasvupesäke tai -pesäkkeitä 16-24 h agar-agarta 16 x 125 mm kokoiseen vakiotyyppiseen suolaliuosinokulumiputkeen 13, joka sisältää 6,0 ml 0,45 /um kalvolla suodatettua, steriiliä 0,90 paino-% suolaliuosta. Tähän tarkoitukseen käytetään mikrobiologista silmukkaa 24 ja sterilointiin käytetään tavallista liekitystä.

Vaikka ratkaisu, kuinka monta kasvupesäkettä on asetettava vesiliuosputkeen sopivan pitoisuusalueen saamiseksi, on loppujen lopuksi käytännön asia ja riippuu pesäkkeitten konsistensseista ja suuruuksista niin likimääräisiä suuntaviivoja pesäkkeitten halkaisijasta ja niiden lukumäärästä voidaan kehittää vakiotyyppisen inokulumin nopean valmistamisen helpottamiseksi.

Kun pesäkkeet on silmukalla siirretty suolaliuosputkeen 13 (silmukan varovainen hankaaminen putken sisäpuolta vasten heti koverankuperan osan alapuolelta auttaa irrottamaan erityisen tahnamaiset pesäkkeet silmukasta), putki 13 liekitetään, varustetaan kierrekannella, pidetään pyörreliikkeessä 15 sekuntia ja asetetaan fotometrin kannen inokulumiaukkoon. Putken yläosassa oleva valkoinen, pystysuora merkkiviiva auttaa sen asennoimisessa (valkoinen merkkiviiva asetetaan samaan linjaa fotometrin kannessa olevan samanlaisen viivan kanssa). Sitten painetaan vakiointinappia 79 ja pannaan merkille, mihin mittarin 66 osoitin asettuu. Jos osoitin on normaalin inokulumin alueella, suolaliuosinokulumi on valmis vietäväksi kyvettiin. Jos osoitin on "alle"alueella, putki 13 otetaan pois fotometristä ja siihen lisätään kasvupesäke tai -pesäkkeitä. Jos osoitin sijaitsee "yli" alueella, silloin putkeen lisätään vähitellen steriiliä, suodatettua 0,90 paino-% suolaliuosta kunnes inokulumi on laimennettu normaalialueelle.

B. Vakioidun inokulumin altistaminen antibiooteille

(1) Kyvetin panostaminen antimikrobisilla levyillä

Kun haluttu ryhmä antimikrobisia aineita (antibiootteja) on valittu, levynjakelulaite 14 panostetaan kääntämällä se ylösalaisin ja pistämällä varatut patruunat 39 (suu ylöspäin) jakelulaitteen 14 reikiin 19. On pidettävä huoli siitä, että jokaisen patruunan 39 levyt 16 on oikein pakattu (so. ovat 90° kulmassa patruunan pituusakselia vastaan) ja että ylimmän levyn ja putken suun välinen etäisyys ei ole 3 mm pitempi. Kun kaikki patruunat on panostettu, jakelulaite 14 käännetään takaisin normaaliin pystyasentoonsa. Suljin 34 poistetaan

kyvetistä 12. Jakelulaitteen 14 seisoessa penkillä (tai sopivalla pöydällä) kyvetti 12 asetetaan jakelulaitteen ohjaimeen ja työnnetään vasteseen 45 saakka. Sitten painetaan jakelulaitteen vipuvartta 51, minkä jälkeen se vapautetaan, jolloin yksi levy 16 menee kyvetin 12 jokaiseen levyaukkoon 26. Kyvetti 12 poistetaan jakelulaitteesta ja suljin 34 pannaan lujasti paikalleen kyvetin sulkemiseksi.

(2) Kyvetin täyttäminen elatusaineinokulumilla (kuviot 9-13)

Vakiomenetelmää noudattaen putkesta 13 siirretään steriilillä pipetillä 2,0 ml suolaliuosinokulumia 20 x 12 mm kokoiseen putkeen 78 (tasapohjainen, piilasinen, 18-145 kierrekannella varustettu), jossa on 18,0 ml steriiliä, 0,45 μ m kalvolla suodatettua reheväkasvuista elatusainetta (kuvattu edellä). Käytetään tavallista mikrobiologista putkien suiden liekitysmenetelmää ja inokulumin sisäänpanon jälkeen putki suljetaan kierrekannella. Sitten tätä putkea 78 käännetään varovasti ylösalaisin useita kertoja sisällön sekoittamiseksi, kansit poistetaan ja heti sen jälkeen putki kierretään pystyasennossa kyvetin inokulumiaukkoon P kunnes se lujasti painautuu tiivistettä 32 vasten. Ensimmäinen vaihe ja seuraavat vaiheet kyvetin täyttämisessä elatusaineinokulumilla esitetään vastaavasti kuvioissa 9 ja 10-13. Kyvetti 12 käännetään nyt varovasti 180° siten, että inokulumiputken 78 sisältö juoksee täydellisesti kyvetin jakotilaan R (kuvio 10). Kyvetti 12 asetetaan lepäämään jakotilansa päätypinnalla 112 vaakasuoralle pinnalle 114. Tässä asennossa kyvetin pituusakseli on kohtisuorassa vaakasuoraa pintaa vastaan, kuten kuviossa 11 on esitetty. Sitten kyvettiä 12 käännetään 90°, niin että inokulumit valuu jakotilasta toisiinsa yhdistettyihin jakelulohkoihin 15, kuten kuviossa 12 on esitetty. Tämä kääntö tapahtuu helpoimmin tarttumalla kyvetin ei-jakotilapäähän ja laskemalla se vaakasuoralle pinnalle, niin että kyvetin takasivu 9 (jossa kyvetin kannike B on) lepää vaakasuoralla pinnalla 114 (kuten kuviossa 13 on esitetty), jolloin takasivu 9 muodostaa täyttölohkojen tuen niiden pitämiseksi ala-asennossa ja elatusaineinokulumin saamiseksi jakautumaan täyttölohkoihin. Valuminen täyttölohkoihin on päättynyt 8 sekunnin kuluttua, minkä jälkeen suoritetaan lopullinen kääntö. Tähän kuuluu vain kyvetin kääntäminen 90° pituusakselinsa ympäri pystyasentoon (so. asento, missä se panostettiin antimikronisilla levyillä) lepäämään päätyseiniensä alareunojen 116 ja jakotilansa R alla olevan jalan 118 varassa, jolloin reunat 116 ja jalka 118 muodostavat koelohkotuen lokerosarjan pitämiseksi niin, että koelohkot ovat alhaalla, jotta elatusaineinokulumit juoksee näihin koelohkoihin ja pysyy niissä. On hyvin tärkeätä, että kyvetti pysyy vaakasuorassa tämän viimeisen käännön aikana, jolloin tämä taataan suorittamalla kääntö sillä tavalla, että kyvetin molemmat päät pysyvät käännön vaakasuoran pinnan aikana kosketuksessa. Oikein täytettyä kyvettiä tarkastelemalla voidaan nähdä, että elatusaineinokulumin korkeus on sama kaikis-

sa koelohkoissa. Kussakin ontelopitimuksessa 29 olevan levyn 16 pitäisi olla aivan elatusaineen pinnan alapuolella. Eräissä tapauksissa levyt 16 eivät sijaitse samalla tasolla, tämä ei kuitenkaan aiheuta ongelmia niin kauan kuin levy on elatusaineen kosketuksessa.

C. Täytetyn kyvetin inkubaatio ja ravistelu

Heti kun elatusaineinokulummi on jaettu antimikrobisilla levyillä panostettuun kyvetiin, tämä asetetaan inkubaattori-ravistimeen 30. Keskipituisen kliinisen mikrobiologisen laboratorion työkuormitus on todennäköisesti niin suuri, että useita kyvettejä on pantava yhdellä kertaa inkubaattori-ravistimeen. On suositeltavaa, että jos esim. 10 bakteerieristettä on tutkittava tunnissa, ensiksi valmistetaan kymmenen vakioinokulumia, minkä jälkeen kyvetit täytetään ja pannaan inkubaattori-ravistimen yhdelle hyllylle. Sen jälkeen ne samanaikaisesti inkuboidaan ja ravistetaan vakion 3 tunnin ajan 36°C lämpötilassa. Inkubaatiojakson aikana inkubaattori-ravistin voidaan hetkeksi pysäyttää toisen tai kolmannen kyvetihyllyn sisäänpanemiseksi. Kolmituntisen inkubaatio- ja sekoitusvaiheen jälkeen kyvetihyllyt poistetaan ja vietään fotometriin lukemista varten.

Lukemisprosessi toistetaan kunkin kammion eli lokeron osalta kunnes kaikista kammeista on saatu lukema ja tulos listattu.

Patenttivaatimukset:

1. Säiliö, joka on tarkoitettu käytettäväksi jaettaessa liuosta useihin identtisiin näytteisiin, joihin lisätään eri reagensseja, joiden kunkin reaktio liuoksen kanssa on tutkittava, ja joka käsittää täyttölohkoja, joihin jaettava liuos sijoitetaan tasaisesti niihin jaettuna ja joista se siirretään vastaaviin koelohkoihin, t u n n e t t u siitä, että kukin täyttölohko (15) ja siihen liittyvä koelohko (17) sijaitsevat omassa pituusakselilla varustetun, pitkittäisen lokerosarjan (S_1-S_{12}) lokerossaan, että säiliö (12) on varustettu jakotilalla (R), joka ottaa vastaan jaettavan liuoksen ja säiliön levätessä täyttölohkotuen (9) varassa, jolloin täyttölohkot sijoittuvat jakotilan alapuolelle, sijoittaa liuoksen täyttölohkoihin tasaisesti niihin jakautuneena täyttölohkojen välissä olevien yhdysaukkojen (33) kautta, että kukin täyttölohko on yhdistetty siihen liittyvään koelohkoon siten, että liuos virtaa täyttölohkoista koelohkoihin, kun säiliötä pyöritetään pitkittäisakselin ympäri, kunnes se lepää koelohkotuen (116, 118) varassa, jolloin koelohkot sijoittuvat täyttölohkojen alapuolelle, ja että kunkin lokeron seinässä on koelohkon yläpuolella aukko (26) reagenssin sijoittamiseksi koelohkoon.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jakotilalla (R) on liitäntä (P) syöttöputkea (78) varten, joka sisältää ennalta määrätyn määrän liuosta, jolloin sekä syöttöputki että jakotila pystyvät ottamaan vastaan liuosmäärän, joka voidaan jakaa ja mahduttaa erikseen jokaiseen pitkittäisen lokerosarjan (S_1 - S_{12}) lokeroon.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jokainen lokero (S_1 - S_{12}) on suurin piirtein pistoolinkotelon muotoinen perä- ja piippuosineen, jolloin täyttölohkot (15) muodostavat peräosat ja koelohkot (17) piippuosat.

4. Jonkin patenttivaatimuksen 1-3 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jokaisen lokeron mainittu seinämä käsittää aukollisen ontelopuikon (29), joka on asetettu vastaavan lokeron sisään ja että ontelopuikkojen kärjissä on aukkoja (E), joiden kautta ontelopuikkojen sisällöt eluoituvat koelohkoissa (17) oleviin näytteisiin.

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jokainen ontelopuikko (29) on oleellisesti suljettu putki, jossa on rakoja mainitun kärjen vieressä.

6. Patenttivaatimuksen 4 tai 5 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jokaiseen aukkoon (26), joka johtaa vastaavaan ontelopuikkoon, on asetettu poistettava tulppa (34a).

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että tulpat käsittävät taipuisan liuskan (34), jossa on pitkittäinen sarja yksittäisiä tulppia, jotka on liitetty liuskaan niiden sisäänpanon ja poiston helpottamiseksi.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jakotila (R) rajoittuu yhteen mainituista lokeroista ja on yhdistetty siihen täyttöaukolla (31) ja että säiliössä on myös väliseinä (36) kunkin kahden vierekkäisen lokeron välissä, jolloin yhdysaukot (33) sijaitsevat väliseinissä jokaisen täyttöaukon pohjassa, kun täyttölohkot ovat jakotilan alapuolella, minkä johdosta liuos virtaa ja jakautuu tasan kaikkiin täyttölukoihin.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jokaiseen väliseinään on muodostettu yksi ilmareikä (35) liuoksen tasaisen jakautumisen helpottamiseksi täyttölukoihin.

10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että siinä on yläseinämä, joka muodostaa etäällä lohkoista olevan pinnan, että aukot (26) ovat tässä yläseinämässä ja kunkin niistä muodostaa ko. yläseinämään liitetyn ontelopuikon avoin pää, jolloin kunkin ontelopuikon kärki on pistetty sitä vastaavaan lokeroon uppoutumaan juuri ja juuri ko. lokeron koelohkossa olevaan liuokseen.

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että ontelopuikkojen kärjet ovat pääasiallisesti suljetut että jokaisessa kärjessä on rako.

12. Patenttivaatimuksen 2 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että liitántä (P) syöttöputkea varten on asetettu pääasiassa yhdensuuntaiseksi pitkittäisen lokerosarjan kanssa, niin että säiliö ja paikallaan siinä oleva syöttöputki ovat pääasiassa yhdensuuntaiset tilan säästämiseksi ja syöttöputken sisällön jakotilaan (R) kaatamisen helpottamiseksi.

13. Patenttivaatimuksen 1 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että se käsittää yläosan ja alaosan, jolloin yläosaan sisältyy aukollinen yläseinämä mainituille lokeroille ja jakotila ja yläseinämä on saumattu alaosaan lokeroitten ja jakotilan peittämiseksi.

14. Patenttivaatimuksen 13 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että jakotilassa on liitántä (P) syöttöputkea varten ja että tämä liitántä on tasan jaettu ylä- ja alaosan kesken sen valmistamisen helpottamiseksi.

15. Patenttivaatimuksen 13 tai 14 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että aukollinen yläseinämä käsittää sarjan reiällisiä ontelopuikkoja (29), jotka on liitetty yläosaan ja tarkoitettu pistettäväksi lokeroihin, kun yläosa ja alaosa saumataan yhteen.

16. Jonkin patenttivaatimuksien 1-15 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että siihen on liitetty kannike (B) sen kiinnittämisen helpottamiseksi käsittelyä varten.

17. Patenttivaatimuksen 16 mukainen säiliö, t u n n e t t u siitä, että kannike (B) käsittää listan, joka on liitetty lokerosarjan toiseen pitkittäiseen sivuun ja jonka alareuna on asetettu etäälle ko. sivusta kiinnityksensä aikaansaamiseksi.

Patentkrav

1. Behållare att användas vid uppdelande av en lösning i ett antal identiska prov för tillsättande av respektive reaktanter till nämnda prov, varvid reaktionen mellan var och en av dessa testas, och som omfattar påfyllningslober, i vilka lösningen som skall uppdelas placeras jämnt och från vilka den förflyttas till motsvarande testlober, k ä n n e t e c k n a d därav, att varje påfyllningslob (15) och därtill hörande testlob (17) befinner sig i sin egen avdelning av längsgående rad avdelningar (S_1 - S_{12}), vilken rad har en längdaxel, att behållaren (12) är försedd med en reservoar (R), som tar mot lösningen som skall uppdelas, och då behållaren vilar på ett påfyllningslobstöd (9), varvid påfyllningsloberna placerar sig nedanför reservoaren, inför lösningen i påfyllningsloberna för jämn fördelning

genom förbindelseportar (33) mellan påfyllningsloberna, att var och en av påfyllningsloberna är kopplade till sin testlob, så att vätskan rinner från påfyllningsloberna till testloberna, då behållaren rullas kring sin längdaxel tills den vilar på testlobsstödet (16, 118), varvid testloberna placerar sig nedanför uppfyllningsloberna, och att varje lob har en öppning (26) i väggen ovanför testloben för införande av reaktanten i testloben.

2. Behållare enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att reservoaren (R) har en anslutning (P) för ett tillförselrör (78) innehållande en bestämd kvantitet av lösningen, varvid såväl tillförselröret som reservoaren har kapacitet för en sådan mängd lösning som kan fördelas och inhysas separat i var och en av nämnda längsgående rad (S_1 - S_{12}) avdelningar.

3. Behållare enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att var och en av avdelningarna (S_1 - S_{12}) är väsentligen hölsterformad med grov- och smalsektion, varvid påfyllningsloberna (15) utgör grovsektionerna och testloberna (17) smalsektionerna.

4. Behållare enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda vägg i var och en avdelning omfattar en öppningsförsedd rörformad tapp (29) placerad i motsvarande avdelning och att spetsarna i de rörformiga tapparna omfattar öppningar (E), varigenom innehållen i de rörformiga tapparna strömmar in i proverna i testloberna (17).

5. Behållare enligt patentkravet 4, k ä n n e t e c k n a d därav, att de rörformiga tapparna (29) var och en består av ett väsentligen tillslutet rör med springor invid nämnda spets.

6. Behållare enligt patentkravet 4 eller 5, k ä n n e t e c k n a d därav, att lösgörbara proppar (34a) placerats i var och en öppning (26), som leder till motsvarande rörformiga tapp.

7. Behållare enligt patentkravet 6, k ä n n e t e c k n a d därav, att propparna omfattar en flexibel remsa (34) med längsgående rad individuella proppar för att underlätta insättning och uttagning.

8. Behållare enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att reservoaren (R) sammanhänger med en av nämnda avdelningar och är kopplad till denna via en påfyllningsport (31) och att behållaren även omfattar en mellanvägg (36) mellan var och en av de invid varandra liggande avdelningarna, varvid förbindelseportarna (33) är belägna i mellanväggarna i botten av var och en av påfyllningsporterna, då påfyllningsloberna befinner sig nedanför reservoaren, varigenom lösningen strömmar in i och fördelas jämnt i var och en påfyllningslob.

9. Behållare enligt patentkravet 8, k ä n n e t e c k n a d därav, att en ventilationsport (35) utformats i varje mellanvägg för att underlätta jämn fördelning av lösningen i påfyllningsloberna.

10. Behållare enligt patentkravet 9, k ä n n e t e c k n a d därav, att den omfattar en ovanvägg, som bildar en yta avlägsen loberna, att öppningarna (26) är belägna i denna ovanvägg och varje öppning utformats av öppna ändan i en rörformad tapp kopplad till nämnda ovanvägg, varvid spetsen i varje rörformade tapp inskjutits i motsvarande avdelning så att den just och just sjunker ned i lösningen i testloben i denna avdelning.

11. Behållare enligt patentkravet 10, k ä n n e t e c k n a d därav, att spetsarna av de rörformade tapparna är väsentligen tillslutna och att en slits anordnats i var och en av spetsarna.

12. Behållare enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att anslutningen (P) för tillförselröret väsentligen inställts parallellt med den längsgående raden avdelningar, så att behållaren och det på sin plats liggande tillförselröret är väsentligen parallella med varandra för att bevara utrymme och underlätta hållande av innehållet i tillförselröret in i reservoaren (R).

13. Behållare enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att den omfattar en ovandel och en bas, varvid ovandelen inkluderar en öppningsförsedd övre vägg för nämnda avdelningar och reservoaren och övre väggen förseglats vid basen för att täcka avdelningarna och reservoaren.

14. Behållare enligt patentkravet 13, k ä n n e t e c k n a d därav, att reservoaren omfattar en anslutning (P) för tillförselröret och att denna anslutning delats lika mellan ovandelen och basen för underlättande av dess framställning,

15. Behållare enligt patentkraven 13 och 14, k ä n n e t e c k n a d därav, att den öppningsförsedda övre väggen omfattar en rad öppningsförsedda rörformade tappar (29) kopplade till ovandelen för insättning i avdelningarna, då ovandelen och basen förseglas samman.

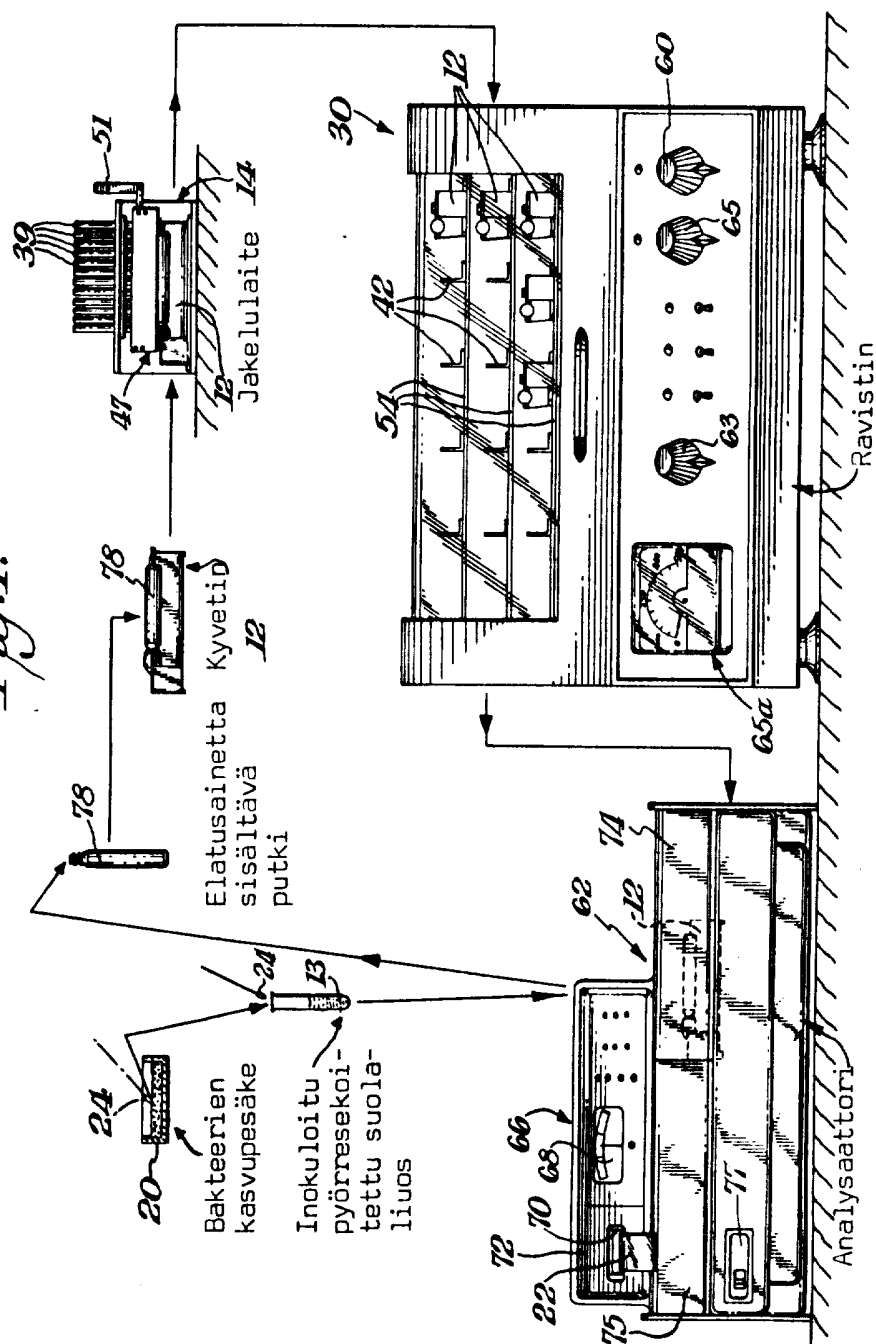
16. Behållare enligt något av patentkraven 1-15, k ä n n e t e c k n a d därav, att den försetts med en fästkonsol (B) för att underlätta monterandet av densamma vid förfarandet.

17. Behållare enligt patentkravet 16, k ä n n e t e c k n a d därav, att fästkonsolen (B) omfattar en stång förenad med en långsida av nämnda rad av avdelningar och liggande på ett avstånd från denna utmed nedre kanten för tillhanda-hållande av en monteringslits.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Patenttijulkaisuja:-Patentskrifter: USA(US) 3 304 965 (141-325).

Fig. 1.



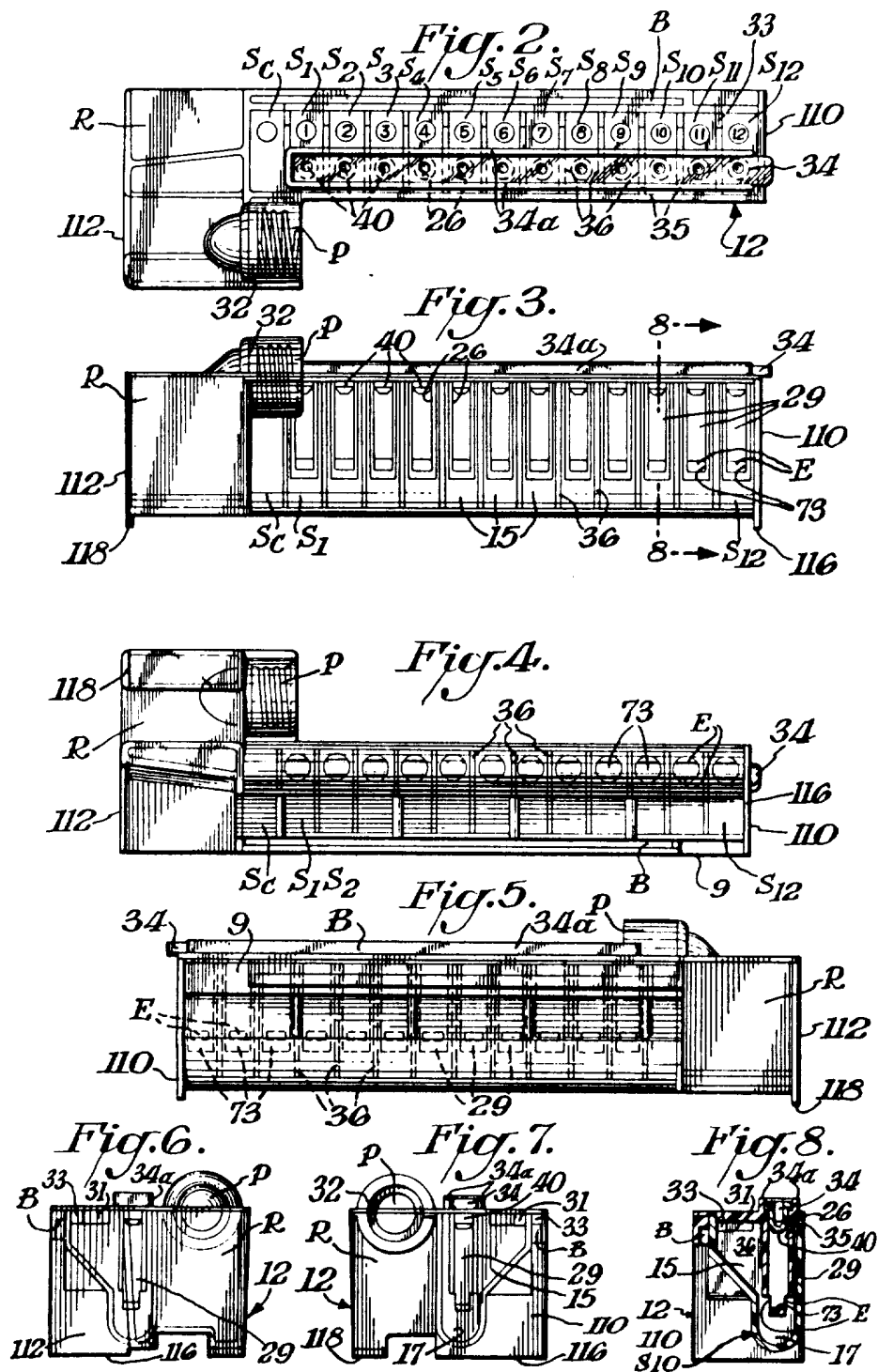
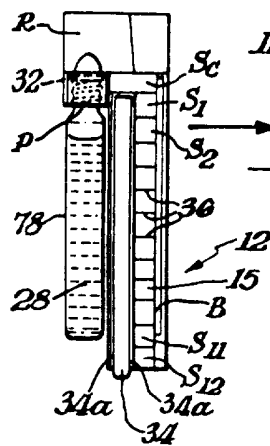
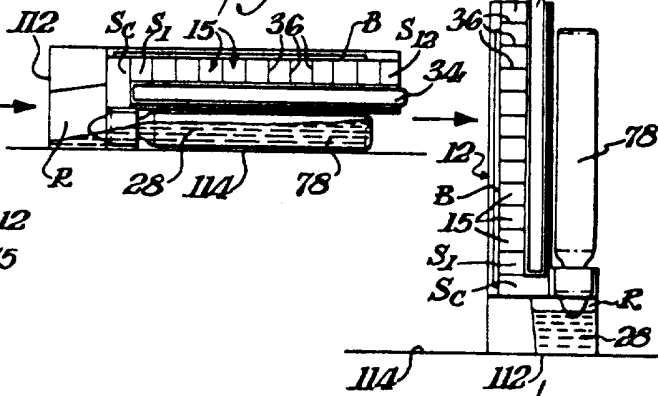
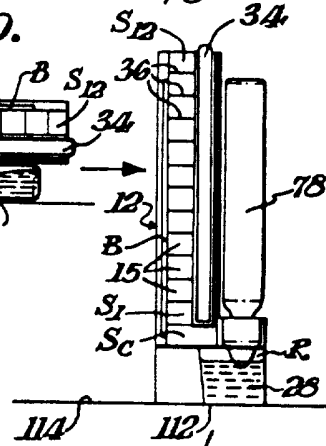
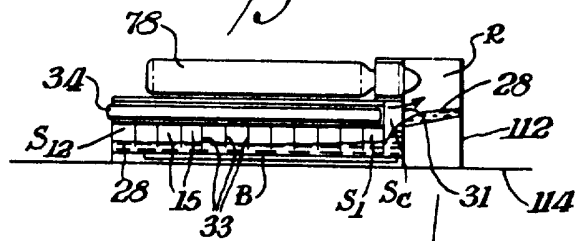


Fig. 9.*Fig. 10.**Fig. 11.**Fig. 12.**Fig. 13.*