



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 60 2004 004 708 T2 2007.11.29**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 508 621 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **60 2004 004 708.2**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **04 019 716.2**

(96) Europäischer Anmeldetag: **19.08.2004**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **23.02.2005**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **14.02.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.11.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C12Q 1/24 (2006.01)**

C12Q 1/04 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

C12Q 1/06 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

2003299208 22.08.2003 JP

(73) Patentinhaber:

Sysmex Corp., Kobe, JP

(74) Vertreter:

HOFFMANN & EITLE, 81925 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

DE, GB, IT

(72) Erfinder:

**Kawashima, Yasuyuki, Kobe-shi Hyogo 655-0003,
JP**

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung und Verfahren zur Bestimmung von Bakterien**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Hintergrund der Erfindung

1. Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Detektion von nicht-fermentativen Bakterien, die in einer Probe enthalten sind. Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Detektion von fermentativen Bakterien und nicht-fermentativen Bakterien, die in einer Probe enthalten sind. Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Bestimmung, ob die in einer Probe enthaltenen Bakterien fermentative oder nicht-fermentative Bakterien sind. Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Bestimmung, ob die hauptsächlich in einer Probe enthaltenen Bakterien fermentative oder nicht fermentative Bakterien sind.

2. Beschreibung des verwandten Standes der Technik

[0002] Bakterien werden eingeteilt in fermentative Bakterien, welche ein saures Endprodukt durch Abbau von Zucker produzieren und nicht-fermentative Bakterien, welche nicht in der Lage sind, Zucker abzubauen.

[0003] Als Verfahren zur Detektion von fermentativen Bakterien kann ein Methyl-Rot-Reaktionstest erwähnt werden.

[0004] Wenn Bakterien Zucker, der in einem Medium enthalten ist, abbauen, wird ein saures Produkt produziert. In dem Methyl-Rot-Reaktionstest wird ein Methyl-Rot-Reagens als pH-Indikator verwendet, wodurch die Ansäuerung des Mediums (d. h. eine Absenkung des pHs des Mediums) detektiert wird durch eine Veränderung der Farbe des hinzugefügten pH-Indikators. Durch diese Veränderung in der Farbe des Mediums kann man herausfinden, ob der Zucker in dem Medium abgebaut worden ist oder nicht, wodurch man fermentative Bakterien detektieren kann. Im Allgemeinen wird bei dem Klassifizieren von Bakterien in fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien der Methyl-Rot-Reaktionstest durchgeführt unter Verwendung eines Mediums, welches rein kultivierte Bakterien enthält. Dann werden die Bakterien eingeteilt in fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien auf der Basis, ob fermentative Bakterien nachgewiesen worden sind oder nicht.

[0005] Das oben erwähnte Verfahren benötigt jedoch das Kultivieren zur Untersuchung, ob die Bakterien Zucker abbauen oder nicht, so dass es etwa zwei bis drei Tage benötigt, bevor fermentative Bakterien nachgewiesen werden. Somit benötigt das konventionelle Verfahren Kultivierungsarbeit, um fermentative Bakterien zu detektieren. Solche Kultivierungsarbeit ist aufwendig und benötigt lange Zeit.

[0006] Als Technik für die automatische Analyse von Bakterien ohne Kultivierung der Bakterien ist ein Verfahren, das in der Europäischen Patentveröffentlichung Nr. 1136563 offenbart ist, bekannt. Nach diesem Verfahren wird, durch Einwirkenlassen eines kationischen Tensids auf die Probe, die die Bakterien enthält, die Farbstoffdurchlässigkeit der Bakterien verstärkt. Dadurch wird die Färbbarkeit der Bakterien erhöht. Dann werden durch Durchführen einer Fluoreszenzfärbbehandlung und Detektieren der von den Bakterien ausgestrahlten Fluoreszenz mit einem Durchflusszytometer die Bakterien in der Probe detektiert. Unter Verwendung einer wie oben beschriebenen Technik kann man Bakterien in einer Probe in einer vergleichsweise kurzen Zeitdauer automatisch detektieren. Man kann jedoch unter Verwendung eines solchen Verfahrens die Bakterien in einer Probe nicht detektieren unter der weiteren Klassifizierung der Bakterien in fermentative und nicht fermentative Bakterien.

Zusammenfassung der Erfindung

[0007] Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren und eine Vorrichtung zur schnelleren und einfacheren Detektion von nicht-fermentativen Bakterien im Vergleich zu herkömmlichen Techniken zur Verfügung.

[0008] Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Verfahren und eine Vorrichtung zum einfacheren und schnelleren Nachweis von fermentativen und nicht-fermentativen Bakterien im Vergleich zu konventionellen Techniken zur Verfügung.

[0009] Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Verfahren und eine Vorrichtung zur schnelleren und einfacheren Bestimmung, ob die Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, fermentative oder nicht fermentative Bak-

terien sind, im Vergleich zu herkömmlichen Techniken zur Verfügung.

[0010] Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Verfahren und eine Vorrichtung zur einfacheren und schnelleren Bestimmung, ob die in der Probe hauptsächlich enthaltenen Bakterien fermentative oder nicht-fermentative Bakterien sind, im Vergleich zu herkömmlichen Techniken zur Verfügung.

Kurze Beschreibung der Abbildungen

[0011] [Fig. 1](#) ist eine Ansicht, die die Konstruktion einer Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0012] [Fig. 2](#) ist eine Abbildung, die einen Analytprobenvorbereitungsabschnitt der Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0013] [Fig. 3](#) ist eine Ansicht, die einen Messabschnitt der Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0014] [Fig. 4](#) ist eine Ansicht, die einen Hüllflusszellenteil der Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0015] [Fig. 5](#) ist eine Ansicht, die die Beziehung zwischen einem Kontrollabschnitt der Bakterien-Alysiervorrichtung und jedem Abschnitt der Vorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0016] [Fig. 6](#) ist eine Ansicht, die den Fluss der Gesamtkontrolle der Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0017] [Fig. 7](#) ist eine Ansicht, die den Analysierfluss in der Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt;

[0018] [Fig. 8](#) ist eine Modellansicht, die ein Beispiel eines zweidimensionalen Scattergramms, das durch die Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hergestellt wurde, illustriert;

[0019] [Fig. 9A](#) bis [Fig. 9D](#) sind Ansichten, die ein Beispiel eines zweidimensionalen Scattergramms, das durch die Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hergestellt wurde, illustriert;

[0020] [Fig. 10A](#) bis [Fig. 10C](#) sind Ansichten, die ein Beispiel eines zweidimensionalen Scattergramms, das durch die Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hergestellt wurde, illustriert;

[0021] [Fig. 11A](#) bis [Fig. 11D](#) sind Ansichten, die ein Beispiel eines zweidimensionalen Scattergramms, das durch die Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hergestellt wurde, illustriert; und

[0022] [Fig. 12](#) ist eine Ansicht, die die Konstruktion einer Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt.

Beschreibung der bevorzugten Ausführungsformen

[0023] Nachstehend wird eine Bakterien-Alysiervorrichtung gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschrieben.

[0024] [Fig. 1](#) ist eine Ansicht, die eine Bakterien-Alysiervorrichtung **1** illustriert, in welcher die äußere Erscheinung der Vorrichtung in durchgezogenen Linien gezeigt wird, und die schematische Konstruktion des Inneren der Vorrichtung in durchbrochenen Linien gezeigt wird. Ein Flüssig-Kristall-Touchscreen **2** zur Durchführung verschiedener Eingaben und Anzeigen und Ausgabe der Messergebnisse, ein Probeneinsatzabschnitt Deckel **3**, ein Reagenseinsatzabschnitt Deckel **4**, und ein Startschalter **5** sind an der vorderen Oberfläche der Bakterien-Alysiervorrichtung **1** angeordnet. Weiters ist eine Kontrolleinheit **6**, welche die Funktion der Vorrichtung

und den Analysiervorgang kontrolliert, angeordnet an der Oberseite des Inneren der Bakterien-Analysiervorrichtung **1**, gezeigt in durchbrochenen Linien. Ein Analytproben-Vorbereitungsabschnitt **7** zum Vorbereiten einer Probenflüssigkeit ist an der Vorderseite des unteren Teils angeordnet. Ein Messabschnitt **8** zum Detektieren eines Signals aus der Probenflüssigkeit ist an der Rückseite des unteren Teils angeordnet.

[0025] [Fig. 2](#) ist eine Ansicht, die den Analytproben-Vorbereitungsabschnitt **7** illustriert. Der Analytproben-Vorbereitungsabschnitt **7** enthält einen Probeneinsatzabschnitt **9**, einen Reagens-Einsatzabschnitt **10**, einen Färbeabschnitt **11**, eine Verteilungsvorrichtung **12**, und eine Flüssigkeits-Transportvorrichtung **13**. Ein Benutzer öffnet den zuvor erwähnten Probeneinsatzabschnitt Deckel **3** von [Fig. 1](#), um einen Probenbehälter, der eine Probe enthält, in die Probeneinsatzabschnitt **9** einzusetzen. Der Benutzer öffnet auch den Reagens-Einsatzabschnitt Deckel **4** von [Fig. 1](#), um ein Mikroprobenröhrchen **14**, enthaltend eine Färbeflüssigkeit bzw. ein Mikroprobenröhrchen **15**, enthaltend eine Verdünnungsflüssigkeit, in den Reagens-Einsatzabschnitt **10** einzusetzen. Ein Mikroprobenröhrchen **16** wird in den Färbeabschnitt **11** eingesetzt. Des Weiteren wird die Probe gemischt mit der Färbeflüssigkeit und der Verdünnungsflüssigkeit in dem Mikroprobenröhrchen **16** zum Herstellen einer Analytprobe. Hier ist, obwohl dies in den Abbildungen nicht dargestellt wird, die Färbereinheit **11** ausgestattet mit einem Temperaturregelmechanismus zum Halten der Lösung in dem Mikroprobenröhrchen **16** bei einer konstanten Temperatur, und einem Rührmechanismus zum Rühren der Lösung in dem Mikroprobenröhrchen **16**. Eine Verteilungsvorrichtung **12** ist adaptiert, um eine vorherbestimmte Menge Flüssigkeit durch die Spitze davon aufzusaugen und auszustoßen, und die Verteilvorrichtung **12** ist ebenso adaptiert, um aufwärts, abwärts, nach rechts, links, vorne und hinten durch eine Antriebseinheit (nicht dargestellt) bewegbar zu sein. Die Flüssigkeits-Transporteinheit **13** ist zusammengesetzt aus einem Saugrohr **17** zum Saugen einer Analytprobe, einer Flüssigkeits-Transportröhre **18** zum Transportieren der Analytprobe, welche durch das Saugröhrchen **17** aufgesaugt wurde, zum Messabschnitt **8**, der in [Fig. 3](#) dargestellt wird, und einer Pumpe **19** zum Saugen der Analytprobe und Transportieren der Analytprobe zum Messabschnitt **8**. Das Saugröhrchen **17** wird in das Mikroteströhrchen **16** eingeführt, welches in Färbeabschnitt **11** eingesetzt ist, um eine vorherbestimmte Menge der Analytprobe aufzusaugen. Die aufgesaugte Analytprobe wird zum Messabschnitt **8** durch die Flüssigkeits-Transportröhre **18** transportiert.

[0026] [Fig. 3](#) ist eine Ansicht, die den Messabschnitt **8** beschreibt. Der Messabschnitt **8** ist ausgestattet mit einer Umhüllungs-Durchflusszelle **20**, eine Laserlichtquelle **21**, eine Kondensierlinse **22**, Sammellinsen **23** und **24**, Nadellöchern **25** und **26**, einem Filter **27**, einer Fotodiode **28**, und einer Fotoverstärkerröhre **29**. Die Umhüllungs-Durchflusszelle **20** dient dazu, die Analytprobe, die in dem zuvor erwähnten Analytproben-Vorbereitungsabschnitt **7** von [Fig. 2](#) vorbereitet wurde, hindurchfließen zu lassen. Bezugnehmend auf [Fig. 4](#) ist die Umhüllungs-Durchflusszelle **20** auch ausgestattet mit einer Probendüse **30** zum Strömen der Analytproben-Flüssigkeit nach oben in Richtung eines engen Lochabschnitts **33**, einem Hüllflüssigkeits-Einlass **31**, und einem Flüssigkeits-Auslass **32**. Sammellinsen **23** und **24** sammeln optische Informationen, wie vorwärts gestreutes Licht oder seitwärts-Fluoreszenzlicht, das von jedem Teilchen in der Probe erhalten wird, welches vom Laserstrahl getroffen wurde. Die Photodiode **28** empfängt und wandelt vorwärts gestreutes Licht photoelektrisch um in ein elektrisches Ausgabesignal. Die Fotoverstärkerröhre **29** empfängt und wandelt seitwärts Fluoreszenzlicht photoelektrisch um in ein elektrisches Ausgabesignal. Die Ausgabesignale werden jeweils zum Kontrollabschnitt **6** gesandt.

[0027] [Fig. 5](#) ist eine Ansicht, die Konstruktionen des Kontrollabschnittes **6** illustriert sowie die Beziehung zwischen dem Kontrollabschnitt **6** und jedem anderen Abschnitt der Vorrichtung.

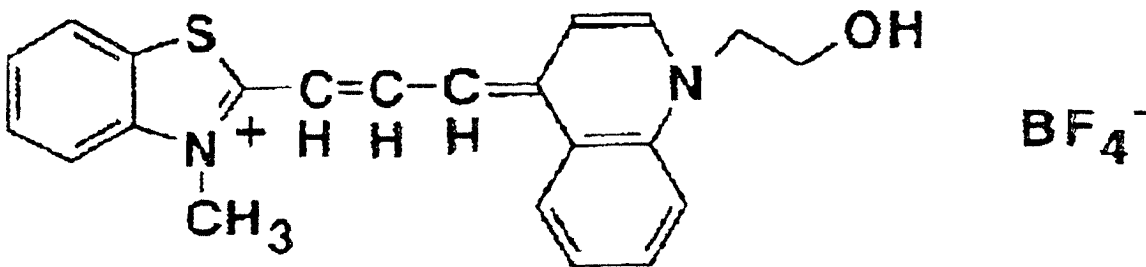
[0028] Der Kontrollabschnitt **6** umfasst einen Mikrocomputer mit einer zentralen Prozessiereinheit (CPU) und einer Speichervorrichtung, wie ROM oder RAM, und einer Schaltung zum Verarbeiten der Signale, die von dem Messabschnitt **8** geschickt wurden. Der Kontrollabschnitt **6** funktioniert als Speicherabschnitt **34**, ein Analysierabschnitt **35**, und ein Funktions-Kontrollabschnitt **36**. Der Speicherabschnitt **34** speichert Analyseprogramme zum Analysieren der Signale, die von den Teilchen in der Probe erhalten wurden, und Kontrollprogramme zum Kontrollieren der Funktionen jedes Teils der Vorrichtung. Des Weiteren speichert der Speicherabschnitt **34** Daten der Signale, welche durch den Messabschnitt **8** detektiert wurden und die Ergebnisse der Verarbeitung durch die Analyseprogramme. Der Analyseabschnitt **35** analysiert die Signale, die durch den Messabschnitt **8** detektiert wurden entsprechend den Analyseprogrammen und erzeugt Daten bezogen auf die Bakterien, die in der Analytproben-Flüssigkeit enthalten sind. Die im Analyseabschnitt **35** erzeugten Daten werden auf dem Flüssigkristall-Touchscreen **2** ausgegeben. Der Funktions-Kontrollabschnitt **36** kontrolliert die Funktion jedes Abschnittes der Vorrichtung entsprechend den Kontrollprogrammen, welche im Speicherabschnitt **34** gespeichert sind.

[0029] Nachfolgend wird die Funktion der Vorrichtung im Detail beschrieben.

[0030] Zunächst setzt der Benutzer eine Probe und Reagentien zur Messung an die vorbestimmten Positionen in dem Analytproben-Vorbereitungsabschnitt 7 ein. Die Probe kann eingesetzt werden in den Probeneinsetzabschnitt 9 des erwähnten Analytproben-Vorbereitungsabschnitts 7 von [Fig. 2](#) durch Öffnen des erwähnten Probeneinsetzabschnitts Deckel 3 von [Fig. 1](#). Des Weiteren können bezüglich der Reagentien wie der Färbeflüssigkeit und der Verdünnungsflüssigkeit das Mikroteströhrchen 14, enthaltend die Färbeflüssigkeit, und Mikroteströhrchen 15, enthaltend die Verdünnungsflüssigkeit, jeweils in den Reagenseinsetzabschnitt 10 des Analytproben-Vorbereitungsabschnitts 7 durch Öffnen des Reagenseinsetzabschnitts Deckels 4 eingesetzt werden.

[0031] Flüssigkeit, die Bakterien enthält, wird als Probe verwendet. Z. B. kann eine Bakterienflüssigkeit, erhalten durch Einsammeln einer Bakterienkolonie und Suspendieren der Bakterien in eine Flüssigkeit, Urin oder Blut enthaltend Bakterien, oder dergleichen, als Probe verwendet werden.

[0032] Die Färbeflüssigkeit enthält einen Polymethin-artigen Fluoreszenzfarbstoff, dargestellt durch die folgende Strukturformel. Dieser Farbstoff hat die Eigenschaft, sich spezifisch an Nucleinsäuren von Bakterien zu binden, so dass eine Färbeflüssigkeit, die diesen Farbstoff enthält, spezifisch Bakterien färben kann.



[0033] Die Verdünnungsflüssigkeit kann die folgende Zusammensetzung aufweisen.

Reagenzzusammensetzung (Verdünnungsflüssigkeit)

Zitronensäure	100 mM
Natriumsulfat	90 mM
Amidosulfonsäure	100 mM
NaOH	die Menge, die pH 1,5 ergibt

[0034] Wenn die Probe und die Reagenzien in dieser Weise eingesetzt werden und der Startknopf 5 gedrückt wird, wird die Gesamtkontrolle gestartet. [Fig. 6](#) ist ein Flussdiagramm, das den Fluss der Gesamtkontrolle durch die Kontrollprogramme zeigt. Wenn der Startknopf gedrückt wird, werden die Schritte S1 (Analytproben-Vorbereitung), S2 (Messung) und S3 (Analyse) sukzessive ausgeführt. Der Analytproben-Vorbereitungsabschnitt 7, Messabschnitt 8, und Analyseabschnitt 35 werden durch Kontrollprogramme kontrolliert, wodurch eine Serie von Funktionen automatisch ausgeführt wird. Die oben erwähnten Schritte S1, S2 und S3 werden nachstehend beschrieben.

S1 (Analytproben-Vorbereitung)

[0035] Die Funktion des Analytproben-Vorbereitungsabschnitts 7 bei der Analytproben-Vorbereitung wird in Bezug auf [Fig. 2](#) beschrieben. Zunächst saugt die Verteilungsvorrichtung 12 eine Probe aus einem Probenbehälter, der in dem Probeneinsetzabschnitt 9 eingesetzt ist, und stößt 50 µl in das Mikroteströhrchen 16, das in dem Färbeabschnitt 11 eingesetzt ist, aus. Als nächstes saugt die Verteilungsvorrichtung 12 eine Verdünnungsflüssigkeit aus dem Mikroteströhrchen 15, welches in den Reagens-Einsetzabschnitt 10 eingesetzt ist, und stößt 340 µl in das Mikroteströhrchen 16, welches in dem Färbeabschnitt 11 eingesetzt ist, aus. Des Weiteren saugt die Verteilungsvorrichtung 12 eine Färbeflüssigkeit aus dem Mikroteströhrchen 14, welches in den Reagens-Einsetzabschnitt 10 eingesetzt ist, und stößt 10 µl in das Mikroteströhrchen 16, welches in den Färbeabschnitt 11 eingesetzt ist, aus. Danach rührt der Färbeabschnitt 11 die Mischung für 30 Sekunden, während das Mikroteströhrchen 16 bei einer Temperatur von 42°C gehalten wird. Dies bereitet eine Analytprobe im Mikroteströhrchen 16 vor.

[0036] In der oben beschriebenen Vorbereitung einer Analytprobe wird die Probe unter sauren Bedingungen prozessiert durch Verwendung einer sauren Verdünnungsflüssigkeit, und die Bakterien in der Probe werden gefärbt. Fermentative Bakterien produzieren ein saures Produkt bei dem Abbau von Zucker, wie bei der Be-

schreibung des verwandten Standes der Technik beschrieben wurde. Aus diesem Grund können fermentative Bakterien selbst unter sauren Bedingungen überleben, in welchen es Bakterien im Allgemeinen schwierig finden zu leben. Auf der anderen Seite sterben nicht-fermentative Bakterien ab, oder erleiden Schäden an ihren Zellmembranen oder Zellwänden unter den sauren Bedingungen. Daher erleiden, wenn eine Probe unter sauren Bedingungen behandelt wird, nicht-fermentative Bakterien Schäden an ihren Zellmembranen oder Zellwänden, so dass die Farbstoffdurchlässigkeit erhöht wird. Dies ermöglicht es, den Substanzen in den Zellen der nicht-fermentativen Bakterien effizient an die Farbstoffe gebunden zu werden. Im Ergebnis werden nicht-fermentative Bakterien einen höheren Grad an Färbbarkeit aufweisen als fermentative Bakterien. In dieser Ausführungsform wird Fluoreszenzfärbung durchgeführt, so dass durch Detektieren von Fluoreszenz jedes Bakterium in der Probe fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien einfach unterschieden werden können durch Unterschiede der Fluoreszenzintensität. In anderen Worten ist die Fluoreszenzintensität, die von nicht-fermentativen Bakterien erhalten wird, höher als die Fluoreszenzintensität, die von fermentativen Bakterien erhalten wird. Hier ist die saure Bedingung, die oben gezeigt wurde, vorzugsweise pH 1,0 bis 3,0, am bevorzugtesten 1,0 bis 2,0.

[0037] Wenn die Analytprobe vorbereitet wurde, wird die Analytprobe aus dem Mikroteströhrchen **16** des Färbeabschnitts **11** durch die Flüssigkeits-Transportvorrichtung **13** gesaugt, und wird zur Umhüllungsdurchflusszelle **20** des Messabschnittes **8** geschickt.

S2 (Messung)

[0038] Die Funktion des Messabschnittes **8** bei der Messung wird in Bezug auf [Fig. 3](#) und [Fig. 4](#) beschrieben werden. Die in dem Analytproben-Vorbereitungsabschnitt **7** vorbereitete Analytprobe wird zu der Umhüllungsdurchflusszelle **20** geleitet, und die Probenflüssigkeit wird durch die Probendüse **30** in die Umhüllungsdurchflusszelle ausgestoßen. Gleichzeitig damit wird eine Hüllflüssigkeit ausgestoßen in die Umhüllungsdurchflusszelle durch den Hüllflüssigkeits-Einlass **31**. Dadurch wird die Probenflüssigkeit umgeben durch die Hüllflüssigkeit innerhalb der Hüllflüssigkeits-Durchflusszelle und wird weiter verengt durch den engen Lochabschnitt **33** zu fließen. Durch Verengen des Flusses der Probenflüssigkeit auf das Maß der Teilchengröße werden die in der Probenflüssigkeit enthaltenen Teilchen in einer Linie angeordnet, um durch den engen Lochabschnitt zu fließen.

[0039] Ein Laserstrahl, der von der Laserlichtquelle **21** ausgestoßen wird, wird durch die Kondensierlinse **22** verengt und auf den Probenfluss, welcher durch den engen Lochabschnitt **33** fließt, gestrahlt. Das vorwärts gestreute Licht, das von jedem Teilchen in der Probe ausgestrahlt wird, welches vom Laserstrahl erfasst wurde, wird durch die Sammellinse **23** gesammelt, um durch die Lochblende **25** hindurchzutreten. Das Seiten-Fluoreszenzlicht wird durch die Sammellinse **24** gesammelt, um durch den Filter **27** und die Lochblende **26** hindurchzutreten. Dann wird das vorwärts gestreute Licht aufgefangen und fotoelektrisch umgewandelt durch die Fotodiode **28**, und das Seiten-Fluoreszenzlicht wird aufgefangen und fotoelektrisch umgewandelt durch die Fotoverstärkerröhre **29**, und jeweils ausgegeben als vorwärts gestreutes Lichtsignal und Seiten-Fluoreszenz-Lichtsignal. Jedes Signal wird zum Kontrollabschnitt **6** geschickt und wird in dem Speicherabschnitt **34** gespeichert als Daten individueller Teilchen.

S3 (Analyse)

[0040] Wenn ein vorwärts gestreutes Lichtsignal und ein Seiten-Fluoreszenz-Lichtsignal detektiert werden durch die Messung von S2, analysiert der Analyseabschnitt **35** dann jedes Signal entsprechend den Analyseprogrammen. Die Funktion der Analyseprogramme in S3 wird beschrieben in Bezug auf das Flussdiagramm von [Fig. 7](#). Die Schritte in dem Flussdiagramm sind wie folgt.

[0041] S301: Die Daten des vorwärts gestreuten Lichtsignals und des Seiten-Fluoreszenz-Lichtsignals, von der Probenflüssigkeit detektiert, werden aus dem Speicherabschnitt **34** ausgelesen. Dann geht der Vorgang zu S302.

[0042] S302: Die vorwärts gestreute Lichtintensität (Fsc) und die Seiten-Fluoreszenz-Lichtintensität (FL) werden berechnet auf der Basis des vorwärts gestreuten Lichtsignals und des Seiten-Fluoreszenz-Lichtsignals, erhalten von jedem Teilchen in der Probenflüssigkeit. Anschließend geht das Verfahren zu S303.

[0043] S303: Ein Scattergramm wird hergestellt unter Verwendung des Fsc und FL jedes Teilchens, welche in S302 berechnet wurden, als Parameter. Dies wird wie folgt durchgeführt. Zunächst werden zweidimensionale Koordinaten entwickelt unter Verwendung von Fsc und FL als Achsen, und dann wird die Koordinatenpo-

sition, die jedem Teilchen in der Analytprobe entspricht, bestimmt auf der Basis von Fsc und FL, welche in S302 berechnet wurden. In dieser Weise wird ein Scattergramm hergestellt unter Verwendung von Fsc und FL als Parameter. Dann folgt in dem Verfahren S304.

[0044] S304: Ein Bereich, in welchem nicht-fermentative Bakterien auftreten (dieser wird bezeichnet als NF-Bereich) und ein Bereich, in welchem fermentative Bakterien auftreten (dieser wird bezeichnet als F-Bereich) werden auf dem hergestellten Scattergramm gesetzt. Die Art und Weise, in welcher diese Bereiche auf dem Scattergramm gesetzt werden, ist in [Fig. 8](#) dargestellt. Der NF-Bereich und der F-Bereich, die hier gesetzt werden, sind zuvor empirisch bestimmt durch Messen von Analytproben, enthaltend die Bakterien, welche als nichtfermentative Bakterien bestätigt sind und Bakterien, die als fermentative Bakterien bestätigt sind. Dies ermöglicht, dass, wenn die hauptsächlich in der Probe enthaltenen Bakterien nicht-fermentative Bakterien sind, die Punkte, die den nichtfermentativen Bakterien in der Probe entsprechen, einen Cluster bilden und in dem NF-Bereich aufscheinen. Wenn auf der anderen Seite die in der Probe hauptsächlich enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien sind, bilden die Punkte, die den fermentativen Bakterien in der Probe entsprechen, einen Cluster und treten im F-Bereich auf. Hier werden die Daten der Koordinaten in dem NF-Bereich und dem F-Bereich, welche in dem Speicherabschnitt **34** gespeichert sind, ausgelesen durch die Analyseprogramme in S304 und auf das Scattergramm angewandt. Dann folgt in dem Verfahren S305.

[0045] S305: Die Anzahl der Punkte in dem NF-Bereich und dem F-Bereich wird gezählt. Dann geht das Verfahren zu S306.

[0046] S306: Die Anzahl der Punkte, die in dem NF-Bereich auftreten und die Anzahl der Punkte, die in dem F-Bereich auftreten, wird verglichen, um zu bestimmen, in welcher der Regionen die Cluster der Punkte auftreten. Zunächst wird unter der Annahme, dass die Anzahl der Punkte, die in dem NF-Bereich auftreten, NF ist und die Anzahl der Punkte, die in dem F-Bereich auftreten, F ist, ein Wert A bestimmt durch die folgende Berechnungsformel:

$$NF/(NF + F) = A$$

[0047] Wenn der Wert A, der durch die obige Formel berechnet wurde, größer oder gleich einem vorherbestimmten Wert ist (nämlich falls die Kolonie der Punkte in dem NF-Bereich auftritt), dann geht das Verfahren zu S307. Wenn auf der anderen Seite der Wert A kleiner ist als der vorherbestimmte Wert (nämlich wenn die Kolonie der Punkte nicht in dem NF-Bereich auftritt), dann geht das Verfahren zu S308.

[0048] S307: Das nicht-fermentative Bakterienzeichen X wird auf „1“ gesetzt. Das Verfahren geht dann zu S309 weiter.

[0049] S308: Das nicht-fermentative Bakterienzeichen X wird auf „0“ gesetzt. Das Verfahren geht dann zu S309 weiter.

[0050] S309: In S309 wird ein Verfahren zur Bestimmung, ob das nicht-fermentative Bakterienzeichen X „1“ ist oder nicht, ausgeführt. Wenn das nicht-fermentative Bakterienzeichen X „1“ ist, dann geht das Verfahren zu S310, wohingegen, wenn das nicht-fermentative Bakterienzeichen X nicht „1“ ist, das Verfahren zu S311 geht.

[0051] S310: Das in S303 und S304 hergestellte Scattergramm, die Zählergebnisse der Anzahl von Punkten in dem NF-Bereich und dem F-Bereich, die in S305 gezählt wurden, und eine Nachricht, die besagt, dass „die hauptsächlich in der Probe enthaltenen Bakterien sind nicht-fermentative Bakterien“, werden auf dem Flüssigkristall-Touchscreen **2** angezeigt.

[0052] S311: Das in S303 und S304 hergestellte Scattergramm, die Zählergebnisse der Anzahl der Punkte in dem NF-Bereich und dem F-Bereich, die in S305 gezählt wurden, und eine Nachricht, die besagt, dass „die hauptsächlich in der Probe enthaltenen Bakterien sind fermentative Bakterien“, werden auf dem Flüssigkristall-Touchscreen **2** angezeigt.

[0053] Das Obige ist das Flussdiagramm der Messung dieser Ausführungsform.

[0054] Wie oben beschrieben, ist [Fig. 8](#) eine Ansicht, um das Scattergramm, das in S303 und S304 hergestellt wird, zu beschreiben. In dem Scattergramm stellt die Abszisse FL dar, und die Ordinate stellt Fsc dar. Auf die Abszisse hat die rechte Seite einen größeren Wert von FL. Auf der Ordinate hat die obere Seite einen größeren Wert von Fsc. Die nichtfermentativen Bakterien treten innerhalb des NF-Bereichs auf, welcher in dem

Scattergramm gesetzt wurde. Auf der anderen Seite treten die fermentativen Bakterien innerhalb des F-Bereichs auf, welcher auf dem Scattergramm gesetzt wurde. Hier haben, wie oben beschrieben, die nicht-fermentativen Bakterien einen höheren Wert an Fluoreszenzfärbbarkeit als die fermentativen Bakterien. Daher ist die Fluoreszenzintensität, die von den nicht-fermentativen Bakterien detektiert wird, höher als die Fluoreszenzintensität, die von den fermentativen Bakterien detektiert wird. Aus diesem Grund wird der NF-Bereich an einer Position gesetzt, welcher höherer Fluoreszenzintensität entspricht als der F-Bereich.

[0055] Nachfolgend wird ein Beispiel der Analyseergebnisse einer Probe unter Verwendung der Bakterien-Analysiervorrichtung **1** gezeigt werden.

Messbeispiel 1

[0056] Eine Probe wurde wie folgt vorbereitet. Zunächst wurden Bakterien in einem Agarosemedium kultiviert, um eine Bakterienkolonie zu bilden. Dann wurde die vorgesehene Art von Bakterien von der Kolonie gesammelt, und suspendiert in ein Herzinfusions-Flüssigmedium, so dass die Anzahl der Bakterien eine Konzentration von etwa 10^9 /ml beträgt. In diesem Beispiel wurde Bakterienflüssigkeit für jede von insgesamt 7 Arten von Bakterien hergestellt, und als Probe verwendet. Unter diesen 7 Arten von Bakterien sind 4 Arten von fermentativen Bakterien, umfassend *E. coli*, *K. pneumoniae*, *L. achidophilus* und *S. aureus*. Die nichtfermentativen Bakterien sind 3 Arten, umfassend *P. aeruginosa*, *A. baumannii* und *E. faecalis*. Das Scattergramm, das erhalten wurde durch die Analyse der Bakterienflüssigkeit jeder der Bakterien, die durch das vorstehende Verfahren hergestellt wurde, unter Verwendung der Bakterien-Analysiervorrichtung **1**, wird in **Fig. 9** und **10** gezeigt.

[0057] **Fig. 9A** bis **Fig. 9D** sind Scattergramme, erhalten unter Verwendung der Bakterienflüssigkeit von fermentativen Bakterien als Probe. **Fig. 9A** ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *E. coli*. **Fig. 9B** zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *K. pneumoniae*. **Fig. 9C** zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *S. aureus*. **Fig. 9D** zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *L. achidophilus*. In **Fig. 9A**, **Fig. 9B**, **Fig. 9C** und **Fig. 9D** wird ein Cluster von Punkten in dem F-Bereich gesehen, wo fermentative Bakterien auftreten.

[0058] **Fig. 10A** bis **Fig. 10C** sind Scattergramme, erhalten unter Verwendung der Bakterienflüssigkeit der nicht-fermentativen Bakterien als Proben. **Fig. 10A** zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *P. aeruginosa*. **Fig. 10B** zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *A. baumannii*. **Fig. 10C** zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Bakterienflüssigkeit von *E. faecalis*. In **Fig. 10A**, **Fig. 10B** und **Fig. 10C** ist ein Cluster von Punkten in dem NF-Bereich zu sehen, wo nicht-fermentative Bakterien auftreten.

[0059] Durch **Fig. 9** und **10** wird bestätigt, dass die Cluster der nicht-fermentativen Bakterien in dem NF-Bereich auftreten, wo nicht-fermentative Bakterien auftreten, und die Cluster der fermentativen Bakterien in dem F-Bereich auftreten, wo fermentative Bakterien auftreten. Daher können, da die Positionen des Auftretens der fermentativen Bakterien und nicht-fermentativen Bakterien auf dem Scattergramm sich erheblich unterscheiden, die fermentativen Bakterien leicht von den nicht-fermentativen Bakterien unterschieden werden.

[0060] Der Methyl-Rot-Reaktionstest, der als Stand der Technik in der obigen Beschreibung gezeigt wurde, bedarf der Kultivierung zur Untersuchung, ob die Bakterien Zucker abbauen oder nicht, um fermentative Bakterien nachzuweisen. Aus diesem Grund benötigt er zwei bis drei Tage, bevor fermentative Bakterien detektiert werden. Im Gegensatz eliminiert die Bakterien-Analysiervorrichtung **1** die Notwendigkeit der Kultivierung, um zu untersuchen, ob die Bakterien Zucker abbauen oder nicht. Daher kann unter Verwendung der Bakterien-Analysiervorrichtung **1** die vorbereitete Bakterienflüssigkeit als Probe zur Messung verwendet werden, und die Ergebnisse können sofort erhalten werden.

[0061] Als nächstes wird ein Beispiel der Ergebnisse, erhalten durch Analysieren von Urin als Probe, gesammelt von einem Patienten, unter Verwendung der Bakterien-Analysiervorrichtung **1** beschrieben werden.

Messbeispiel 2

[0062] Die verwendeten Proben waren 4 Proben A bis D. Probe A ist Urin eines Menschen, enthaltend *E. coli* (fermentatives Bakterium), Probe B ist Urin eines Menschen, enthaltend *S. aureus* (fermentatives Bakterium), Probe C ist Urin eines Menschen, enthaltend *E. faecalis* (nicht-fermentative Bakterien), und Probe D ist Urin

eines Menschen, enthaltend *P. aeruginosa* (nicht-fermentative Bakterien).

[0063] Die Scattergramme, die erhalten wurden durch Analysieren der oben beschriebenen 4 Proben A bis D unter Verwendung der Bakterien-Analysiervorrichtung 1, werden in [Fig. 11A](#) bis D gezeigt. [Fig. 11A](#) zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Probe A. [Fig. 11B](#) zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Probe B. [Fig. 11C](#) zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Probe C.

[0064] [Fig. 11D](#) zeigt ein Scattergramm, erhalten durch Analysieren der Probe D. Bezüglich der Proben A und B treten die Cluster von Punkten in allen Fällen in dem F-Bereich auf, wo fermentative Bakterien auftreten. Auf der anderen Seite, bezüglich Proben C und D, treten die Cluster der Punkte in allen Fällen in dem NF-Bereich auf, wo nicht-fermentative Bakterien auftreten.

[0065] Die Ergebnisse der Bestimmung, ob die hauptsächlichsten Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, fermentative Bakterien oder nicht-fermentative Bakterien sind, unter Verwendung der Bakterien-Analysiervorrichtung 1 auf der Basis der Auftretensregion von Clustern von Punkten in einem Scattergramm, wird in der folgenden Tabelle gezeigt.

Tabelle 1

Probe	Ergebnis der Bestimmung
A	fermentative Bakterien
B	fermentative Bakterien
C	nicht-fermentative Bakterien
D	nicht-fermentative Bakterien

[0066] Wie in Tabelle 1 gezeigt, wurden die hauptsächlich in dem Urin der Proben A und B enthaltenen Bakterien als fermentative Bakterien bestimmt, und die hauptsächlich in dem Urin der Proben C und D enthaltenen Bakterien als nichtfermentative Bakterien bestimmt. Darüber hinaus stimmt in all diesen Fällen der Proben A, B, C und D das Ergebnis der Bestimmung der Bakterienart auf Basis des Analyseergebnisses mit der Art der Bakterien, welche tatsächlich in der Probe enthalten sind, überein.

[0067] In der oben beschriebenen Ausführungsform können die fermentativen Bakterien und die nicht-fermentativen Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, rasch detektiert werden, um zu bestimmen, ob die hauptsächlich in der Probe enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien oder nicht-fermentative Bakterien sind. Der Methyl-Rot-Reaktionstest, der als Stand der Technik in der obigen Beschreibung gezeigt wurde, bedarf der Kultivierung zur Untersuchung, ob die Bakterien Zucker abbauen oder nicht, so dass es zwei oder drei Tage benötigt, bevor fermentative Bakterien detektiert werden. Im Gegensatz eliminiert die vorliegende Ausführungsform die Notwendigkeit zur Kultivierung, um zu untersuchen, ob die Bakterien Zucker abbauen oder nicht, so dass die hergestellte Bakterienflüssigkeit als Messprobe verwendet werden kann und die Ergebnisse sofort erhalten werden können.

[0068] Des Weiteren können in der oben beschriebenen Ausführungsform Blut oder Urin, erhalten von einem Patienten als Messprobe, so wie sie sind, verwendet werden, ohne Herstellung einer Bakterienflüssigkeit wie oben beschrieben. Dies ermöglicht, dass man schnell bestimmen kann, ob die Hauptart der Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, fermentative Bakterien oder nicht-fermentative Bakterien sind.

[0069] Hier ist die Bakterien-Analysiervorrichtung 1 der oben beschriebenen Ausführungsform eine Vorrichtung, in welcher alle Komponenten integriert sind, die vorliegende Erfindung ist jedoch nicht auf diese Konstruktion limitiert. Z. B. kann sie eine Vorrichtung, wie in [Abb. 12](#) gezeigt, sein, in welcher ein Teil der Bestandteile separat zur Verfügung gestellt wird. Eine Bakterien-Analysiervorrichtung 37 von [Fig. 12](#) ist hergestellt aus einem Hauptkörper der Messvorrichtung 38 und einem PC 39. Des Weiteren hat, obwohl in der Abbildung nicht gezeigt, der Messvorrichtung-Hauptkörper 38 einen Startknopf, einen Analytproben-Vorbereitungsabschnitt zum Vorbereiten einer Probenflüssigkeit, einen Messabschnitt zum Detektieren von Signalen aus der Probenflüssigkeit, und einen ersten Kontrollabschnitt, welcher das Funktionieren der Vorrichtung kontrolliert. Der erste Kontrollabschnitt hat einen ersten Speicherabschnitt, welcher Kontrollprogramme zum Kontrollieren der Funktion von jeder Vorrichtung speichert und einen Funktions-Kontrollabschnitt zum Kontrollieren der Funktion von jeder Vorrichtung gemäß den Kontrollprogrammen, welche in dem ersten Speicherabschnitt gespeichert sind.

Der PC **39** hat einen Ausgabeschirm **40** zum Ausgeben und Anzeigen der Messergebnisse, einen Eingabeabschnitt **41** zum Durchführen verschiedener Eingaben, und einen zweiten Kontrollabschnitt **42**, welcher einen Analysevorgang kontrolliert. Der zweite Kontrollabschnitt **42** hat einen zweiten Speicherabschnitt zum Speichern der Analyseprogramme und der Ergebnisse des Prozessierens durch die Analyseprogramme und einen Analyseabschnitt zum Durchführen der Analyse auf Basis der Daten, die erhalten wurden durch die Messung. Der Messvorrichtung-Hauptkörper **38** und PC **39** von [Fig. 12](#) sind über eine Verbindungsvorrichtung verbunden. Die Funktion von jedem Abschnitt in dem Messvorrichtung-Hauptkörper **38** wird gemäß des ersten Kontrollabschnittes des Messvorrichtung-Hauptkörpers **38** kontrolliert. Die Messdaten, die im Messvorrichtung-Hauptkörper **38** erhalten wurden, werden in dem zweiten Speicherabschnitt des PC **39** gespeichert und durch den Analyseabschnitt analysiert.

[0070] Des Weiteren wird in der Analyse (S3) der Bakterien-Analysevorrichtung **1** der oben beschriebenen Ausführungsform der Bereich (F-Bereich), wo die Punkte, welche fermentativen Bakterien entsprechen, auftreten, und der Bereich (NF-Bereich), wo die Punkte entsprechend den nichtfermentativen Bakterien auftreten, beide auf dem Scattergramm gesetzt; die vorliegende Erfindung ist jedoch nicht darauf limitiert. Z. B. kann man auf dem Scattergramm nur den Bereich (NF-Bereich), wo die Punkte, die den nichtfermentativen Bakterien entsprechen, auftreten, setzen. In diesem Fall werden die nicht-fermentativen Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, detektiert durch Bestimmen, ob die Punkte in dem NF-Bereich auftreten, welche auf dem Scattergramm gesetzt wurde.

[0071] Des Weiteren wird in der Analyse (S3) der Bakterien-Analysiervorrichtung **1** der oben beschriebenen Ausführungsform bestimmt, ob die hauptsächlich in einer Probe enthaltenen Bakterien fermentative oder nicht-fermentative Bakterien sind; jedoch ist die vorliegende Erfindung nicht darauf alleine limitiert. Z. B. können in dem Fall der Analyse einer „Probe enthaltend nur eine Art von Bakterien“, wie in Messbeispiel 1 verwendet, die Bakterien der Probe klassifiziert werden in entweder fermentative oder nichtfermentative Bakterien, da es klar ist, dass die Bakterien, die in der Probe enthalten sind, nur von einer Art sind. Daher kann in diesem Fall in der Analyse (S3) bestimmt werden, ob die Art der Bakterien in der Probe fermentative oder nicht-fermentative Bakterien sind.

[0072] Zusätzlich kann des Weiteren in der Analyse (S3) der Bakterien-Analysiervorrichtung **1** der oben beschriebenen Ausführungsform die Anzahl von fermentativen Bakterien und die Anzahl der nicht-fermentativen Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, berechnet werden. Auf dem Scattergramm erscheinen die Punkte, die den fermentativen Bakterien entsprechen, in dem F-Bereich, und die Punkte, die nichtfermentativen Bakterien entsprechen, in dem NF-Bereich. Dies erlaubt, dass die Anzahl der fermentativen Bakterien und die Anzahl der nicht-fermentativen Bakterien, die in der Probe enthalten sind, berechnet werden auf Basis der Anzahl der Punkte, die in der F-Region bzw. der NF-Region auftreten.

[0073] Des Weiteren kann in dem Fall des Durchführens einer Messung unter Verwendung einer „Probe enthaltend nur eine Art von Bakterien“ die Anzahl von Bakterien berechnet werden einzig aufgrund der Bakterien, die in dem Analyseschritt bestimmt werden. Z. B. wird, falls in dem Analyseschritt bestimmt wurde, dass die hauptsächlich in einer Probe enthaltenden Bakterien nicht-fermentative Bakterien sind, die Anzahl von nicht-fermentativen Bakterien enthalten in der Probe berechnet auf Basis der Anzahl von Punkten, die in dem NF-Bereich auftreten, ohne Berechnung der Anzahl von fermentativen Bakterien. Auf der anderen Seite wird, falls in dem Analyseschritt bestimmt wurde, dass die hauptsächlich in der Probe enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien sind, die Anzahl der fermentativen Bakterien, die in der Probe enthalten sind, berechnet auf Basis der Anzahl von Punkten in dem F-Bereich auftreten, ohne Berechnung der Anzahl von nicht-fermentativen Bakterien.

[0074] Des Weiteren können, in dem Fall des Durchführens von Messungen unter Verwendung einer „Probe enthaltend Bakterien und Teilchen, die nicht Bakterien sind“, wie Urin, die Teilchen, die nicht Bakterien sind (im Weiteren als Unreinheiten bezeichnet), zusammen mit den Bakterien gefärbt werden, und die Punkte, die den Unreinheiten entsprechen, können in dem F-Bereich auftreten. Daher kann bei der Berechnung der Anzahl von fermentativen Bakterien, die in der Probe enthalten sind, auf Basis der Anzahl der Punkte, die in dem F-Bereich auftreten, die korrekte Anzahl von fermentativen Bakterien nicht berechnet werden infolge des Einflusses der Unreinheiten. Daher kann bei der Durchführung der Messung unter Verwendung einer „Probe enthaltend Bakterien und Unreinheiten“ der Analyseschritt nur die Anzahl von nicht-fermentativen Bakterien berechnet werden, ohne die Anzahl der fermentativen Bakterien zu berechnen. In diesem Fall wird die Anzahl der nicht-fermentativen Bakterien, die in der Probe enthalten sind, berechnet auf Basis der Anzahl der Punkte, die in dem NF-Bereich auftreten.

[0075] Des Weiteren kann, selbst wenn eine „Probe enthaltend Bakterien und Unreinheiten“ verwendet wird für die Messung, die Anzahl der fermentativen Bakterien bestimmt werden unter der Voraussetzung, dass die gesamte Anzahl der Bakterien, die in der Probe enthalten sind, bestimmt werden kann. In diesem Fall wird in dem Analyseschritt die Anzahl von nichtfermentativen Bakterien, die in der Probe enthalten sind, berechnet auf Basis der Anzahl der Punkte, die in dem NF-Bereich auftreten. Dann wird durch Abziehen der Anzahl der nicht-fermentativen Bakterien von der Gesamtzahl der Bakterien, die zuvor bestimmt wurden, die Anzahl der fermentativen Bakterien, die in der Probe enthalten sind, berechnet. Hier kann die Gesamtzahl der Bakterien, die in einer Probe enthalten sind, bestimmt werden, z. B. unter Verwendung einer Methode, die in der Europäischen Patentveröffentlichung Nr. 1136563 offenbart ist.

[0076] Die in den Ansprüchen enthaltenen Bezugszeichen limitieren nicht den Schutzbereich der Ansprüche; ihre einzige Funktion ist es, die Ansprüche leichter verständlich zu machen.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Analysieren von in einer Probe enthaltenen Bakterien, umfassend:
einen Analytproben-Bereitungssteil (7) zum Bereiten einer Analytprobe aus der Probe, wobei besagte Probe unter sauren Bedingungen prozessiert wird, so daß die Zellmembranen oder Zellwände von nicht-fermentativen Bakterien beschädigt werden, um die Durchlässigkeit eines Farbstoffs zu erhöhen, und worin die Bakterien in der Probe mit einem Farbstoff gefärbt werden;
einen Detektor (8) zum Detektieren von optischer Information von jedem Teilchen in der Analytprobe; und
einen Controller (6) zum Detektieren von fermentativen oder nicht-fermentativen Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information.

2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, worin besagter Controller fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien in der Probe auf Basis von der detektierten optischen Information detektiert.

3. Vorrichtung gemäß Anspruch 1 oder 2, worin besagter Controller bestimmt, ob die Art von in der Probe enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien oder nichtfermentative Bakterien sind auf Basis der detektierten optischen Information.

4. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, worin besagter Farbstoff ein Fluoreszenzfarbstoff ist.

5. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, worin besagter Analytproben-Bereitungssteil einen Flüssigkeitsmischungsmechanismus umfaßt zum Mischen einer sauren Lösung mit der Probe.

6. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, worin besagter Analytproben-Bereitungssteil einen Flüssigkeitsmischungsmechanismus umfaßt zum Mischen einer sauren Lösung mit der Probe, und zum Mischen der erhaltenen Mischung mit einem Reagens, welches Fluoreszenzfarbstoff enthält.

7. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, worin die von dem besagten Detektor detektierte optische Information Fluoreszenz umfaßt.

8. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, worin besagter Controller die Anzahl von fermentativen Bakterien oder die Anzahl von nicht-fermentativen Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information berechnet.

9. Vorrichtung gemäß Anspruch 2, worin besagter Controller die Anzahl von nicht-fermentativen Bakterien und die Anzahl von fermentativen Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information berechnet.

10. Vorrichtung gemäß Anspruch 3, worin besagter Controller bestimmt, ob die vorherrschenden Bakterien, die in der Probe enthalten sind, fermentative Bakterien oder nichtfermentative Bakterien sind auf Basis der detektierten optischen Information.

11. Vorrichtung gemäß Anspruch 3, worin besagter Controller fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information detektiert und bestimmt, ob die Art der in der Probe enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien oder nichtfermentative Bakterien sind gemäß dem Ergebnis des Detektierens der fermentativen Bakterien und nichtfermentativen Bakterien.

12. Vorrichtung gemäß Anspruch 3, worin besagter Controller fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information detektiert und bestimmt, ob die in der Probe

vorherrschenden Bakterien fermentative Bakterien oder nicht-fermentative Bakterien sind auf Basis eines Ergebnisses des Detektierens der fermentativen Bakterien und nicht-fermentativen Bakterien.

13. Verfahren zur Analyse von in einer Probe enthaltenen Bakterien, umfassend:
einen Analytproben-Bereitungsschritt zum Bereiten einer Analytprobe aus der Probe, worin besagte Probe unter sauren Bedingungen prozessiert wird, so daß die Zellmembranen oder Zellwände von nicht-fermentativen Bakterien beschädigt werden, um die Farbstoffdurchlässigkeit zu erhöhen, und worin die Bakterien in der Probe mit einem Farbstoff gefärbt werden;
einen Detektionsschritt zum Detektieren von optischer Information von jedem Teilchen in der Analytprobe; und
einen Bakteriendetektionsschritt zum Detektieren von fermentativen und nicht-fermentativen Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information.

14. Verfahren gemäß Anspruch 13, des weiteren umfassend einen Berechnungsschritt zum Berechnen der Anzahl der detektierten fermentativen Bakterien oder der Anzahl der detektierten nicht-fermentativen Bakterien.

15. Verfahren gemäß Anspruch 13, des weiteren umfassend einen ersten Berechnungsschritt zum Berechnen der Gesamtanzahl von Bakterien, die in der Probe enthalten sind, einen zweiten Berechnungsschritt zum Berechnen der Anzahl der detektierten nicht-fermentativen Bakterien und einen dritten Berechnungsschritt zum Berechnen der Anzahl der fermentativen Bakterien auf Basis der Gesamtzahl der Bakterien und der Zahl der nichtfermentativen Bakterien.

16. Verfahren gemäß Anspruch 13, worin der Bakteriendetektionsschritt fermentative Bakterien und nicht-fermentative Bakterien auf Basis der detektierten optischen Information detektiert und des weiteren umfassend einen Bestimmungsschritt zum Bestimmen, ob die Art der in der Probe enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien oder nicht-fermentative Bakterien sind auf Basis eines Ergebnisses des Detektierens der fermentativen Bakterien und nicht-fermentativen Bakterien.

17. Verfahren gemäß Anspruch 13, des weiteren umfassend einen Bestimmungsschritt zum Bestimmen, ob die Art der in der Probe enthaltenen Bakterien fermentative Bakterien oder nicht-fermentative Bakterien sind auf Basis eines Ergebnisses des Detektierens der fermentativen Bakterien oder nicht-fermentativen Bakterien.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Fig. 1

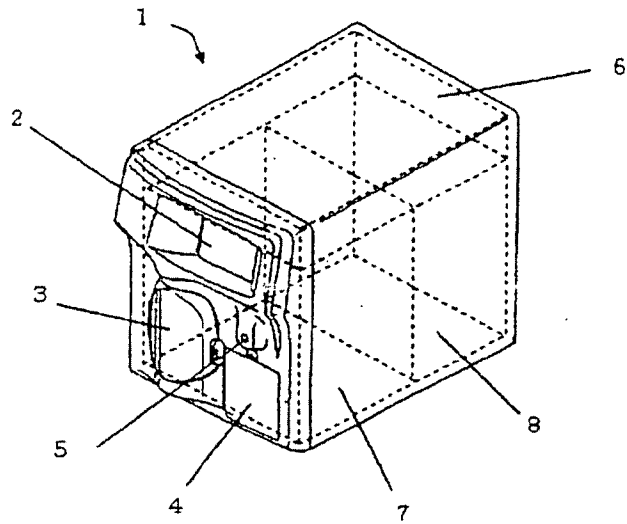


Fig. 2

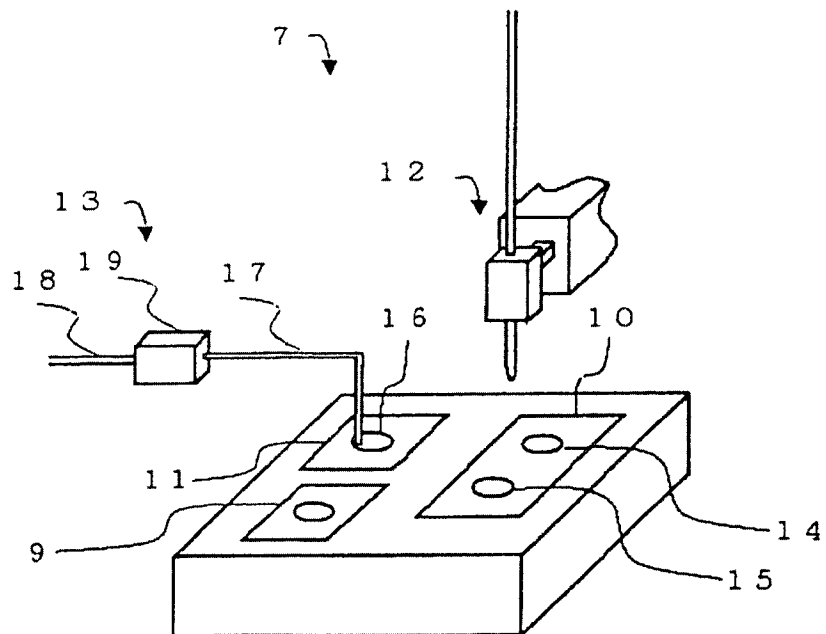


Fig. 3

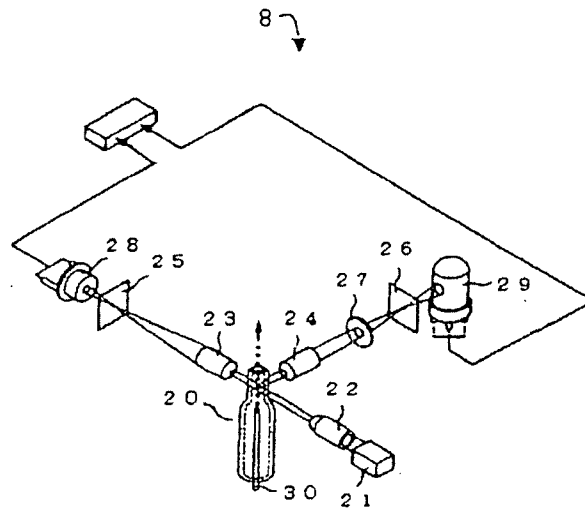


Fig. 4

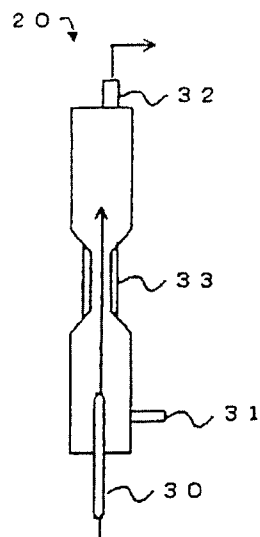


Fig. 5

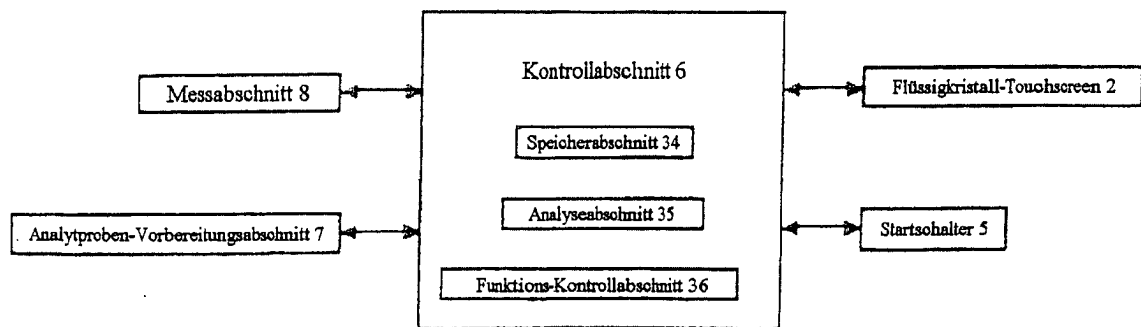


Fig. 6

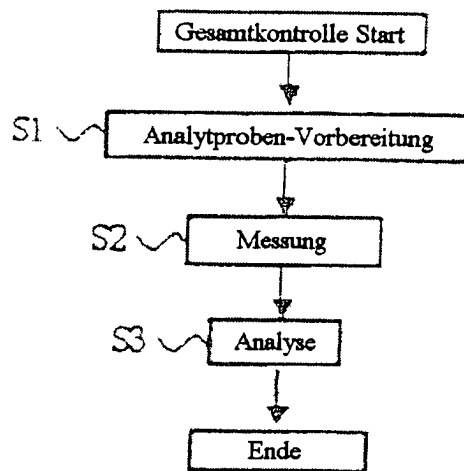


Fig. 7

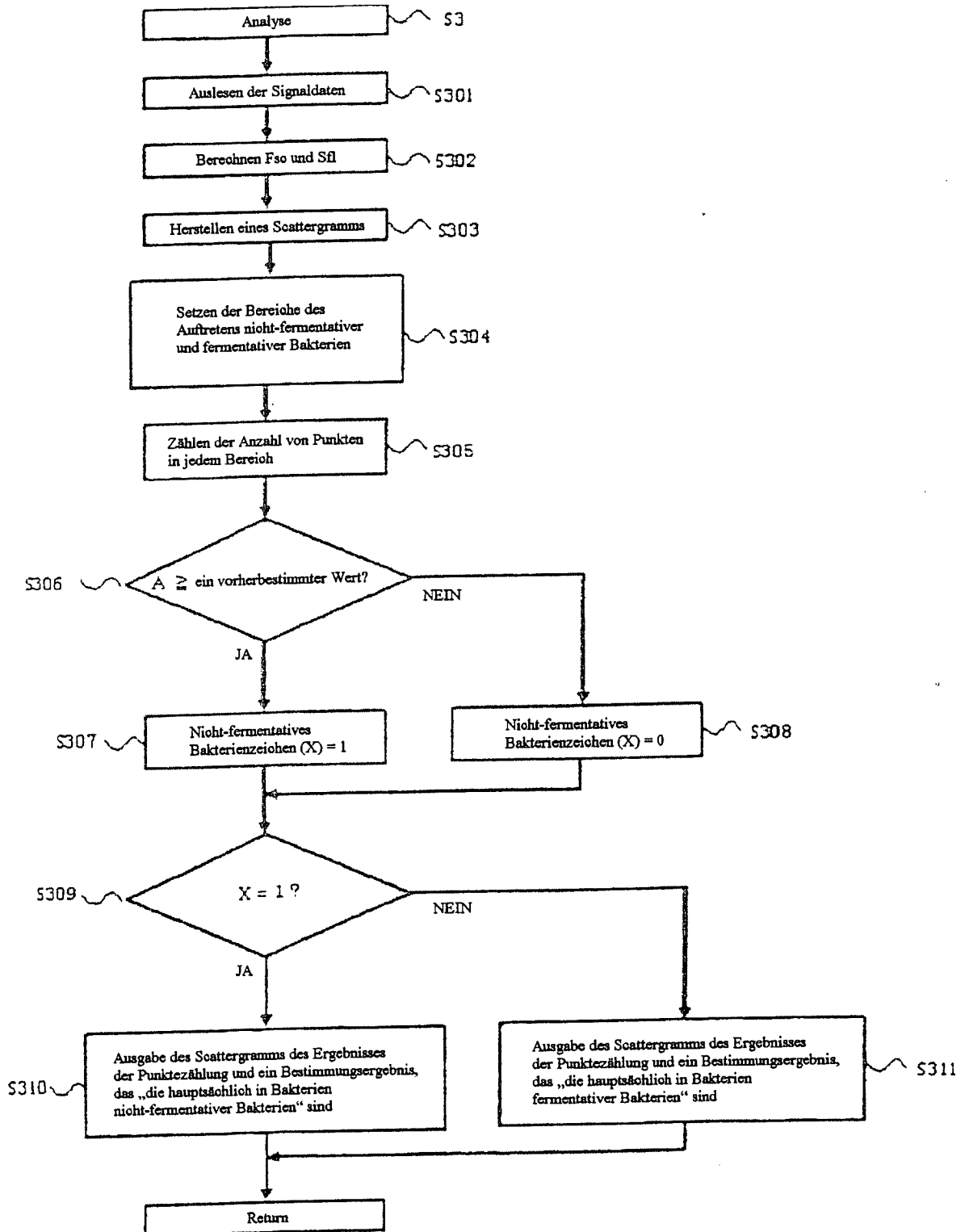


Fig. 8

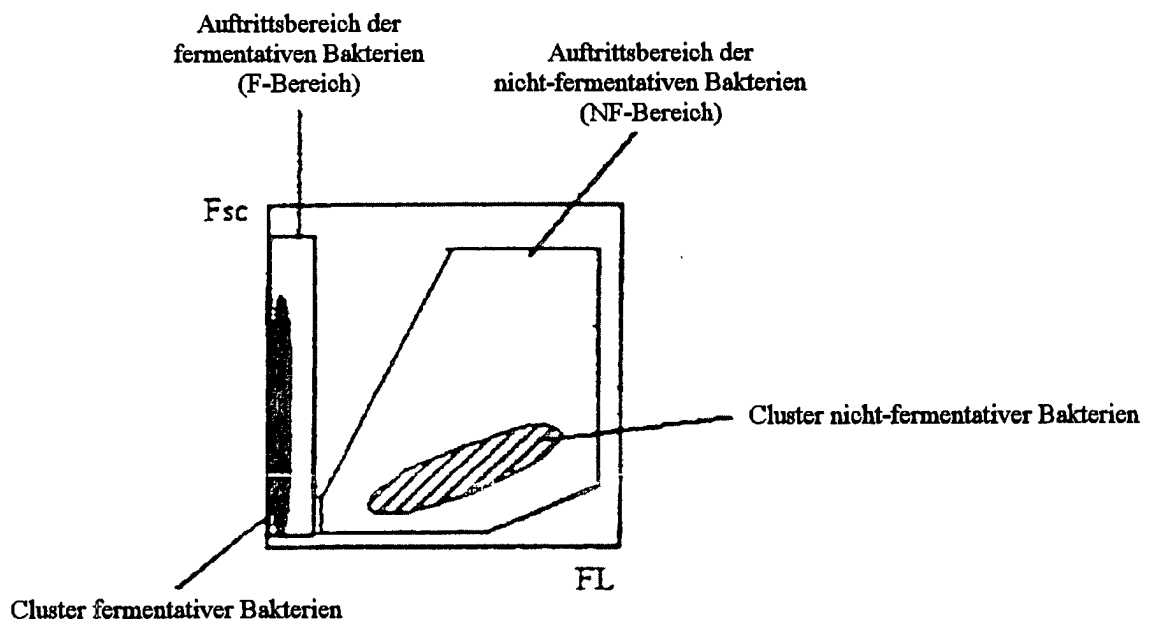


Fig. 9A

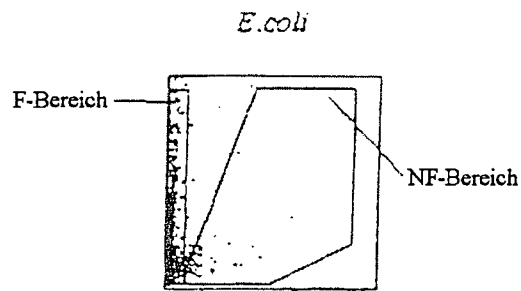


Fig. 9B

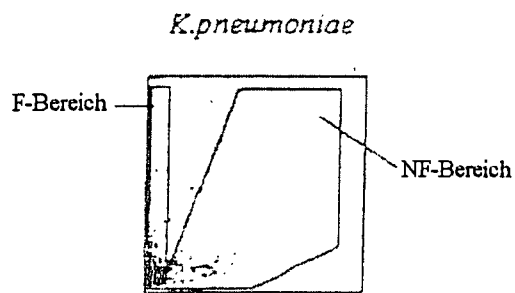


Fig. 9C

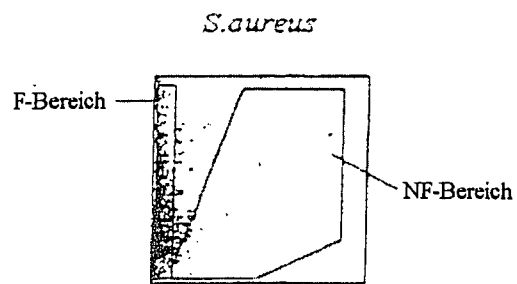


Fig. 9D

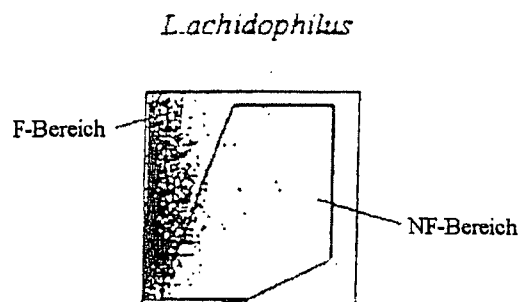


Fig. 10A

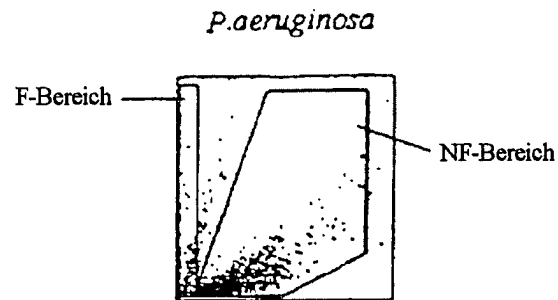


Fig. 10B

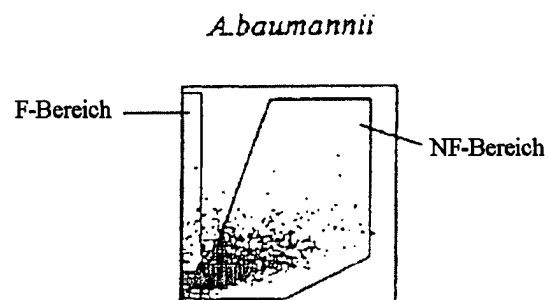


Fig. 10C

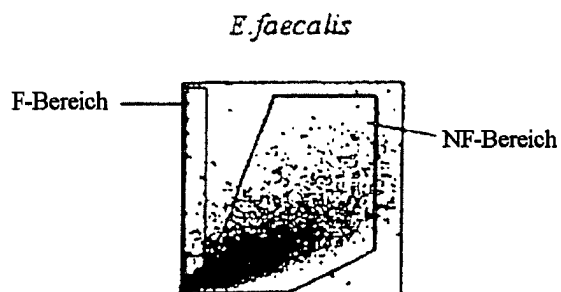


Fig. 11A

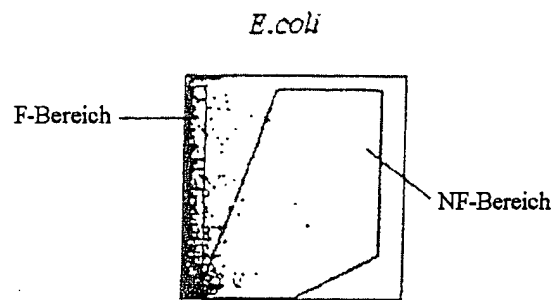


Fig. 11B

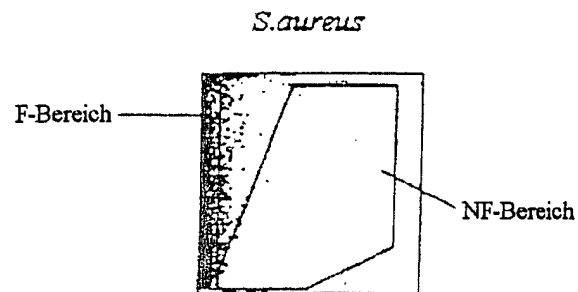


Fig. 11C

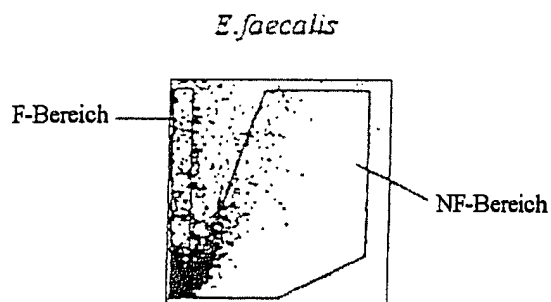


Fig. 11D

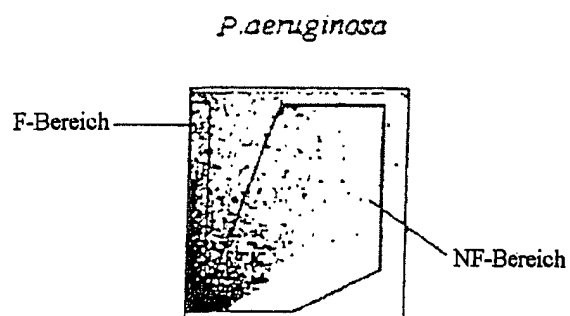


Fig. 12

