

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6087426号  
(P6087426)

(45) 発行日 平成29年3月1日 (2017.3.1)

(24) 登録日 平成29年2月10日 (2017.2.10)

(51) Int. Cl.	F I
C 1 2 Q 1/24 (2006.01)	C 1 2 Q 1/24
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04
C 1 2 N 1/02 (2006.01)	C 1 2 N 1/02
B O 1 D 39/16 (2006.01)	B O 1 D 39/16 A
	B O 1 D 39/16 H

請求項の数 6 (全 35 頁)

(21) 出願番号	特願2015-516044 (P2015-516044)	(73) 特許権者	505005049
(86) (22) 出願日	平成25年5月23日 (2013.5.23)		スリーエム イノベイティブ プロパティ
(65) 公表番号	特表2015-521053 (P2015-521053A)		ズ カンパニー
(43) 公表日	平成27年7月27日 (2015.7.27)		アメリカ合衆国, ミネソタ州 55133
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/042359		-3427, セント ポール, ポスト オ
(87) 国際公開番号	W02013/184373		フィス ボックス 33427, スリーエ
(87) 国際公開日	平成25年12月12日 (2013.12.12)		ム センター
審査請求日	平成28年3月15日 (2016.3.15)	(74) 代理人	100088155
(31) 優先権主張番号	61/655, 601		弁理士 長谷川 芳樹
(32) 優先日	平成24年6月5日 (2012.6.5)	(74) 代理人	100107456
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 池田 成人
		(74) 代理人	100128381
			弁理士 清水 義憲
		(74) 代理人	100162352
			弁理士 酒巻 順一郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微生物のランタン含有濃縮剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

微生物を濃縮するためのプロセスであって、

(a) ランタン / 炭酸塩含有物質の複数の粒子を含む濃縮剤を提供する工程であって、前記濃縮剤の、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも 0.05 である、工程と、

(b) 前記微生物を含む液体試料を提供する工程と、

(c) 前記濃縮剤を前記液体試料と接触させる工程と、

(d) 前記微生物を前記濃縮剤と結合させて、結合した微生物を形成する工程と、を含む、プロセス。

【請求項 2】

前記結合した微生物が生存状態にある、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 3】

前記濃縮剤が多孔質マトリックスを更に含み、

前記複数の粒子が、前記多孔質マトリックスの表面上に分散されるか、前記多孔質マトリックスの全体にわたって分散されるか、又は前記多孔質マトリックスの表面上及び全体にわたって分散される、請求項 1 又は 2 に記載のプロセス。

【請求項 4】

前記濃縮剤が、炭酸ランタン、オキシ炭酸ランタン、水酸化炭酸ランタン、又はこれらの混合物を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 5】

10

20

(a) ランタン / 炭酸塩含有物質の複数の粒子を含む濃縮剤であって、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも0.05である、濃縮剤と、  
前記濃縮剤に結合した微生物と、を含む物品。

【請求項6】

前記微生物が生存状態にある、請求項5に記載の物品。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本出願は、2012年6月5日に出願された米国特許仮出願第61/655,601号の利益を主張するものであり、その開示の全容を本明細書に参照として援用する。 10

【0002】

(分野)

微生物の濃縮剤、濃縮剤を含む物品、及び微生物を濃縮するためのプロセスを提供する。

【0003】

(背景)

微生物汚染による感染が大きな問題となっている。このため、様々な臨床試料、食品試料、環境試料、及び他の種類の試料中の微生物の存在についてアッセイすることにより、存在する微生物を特定及び/又は定量化することがしばしば望まれるか又は必要とされる。特定の微生物の存在を検出する能力は、分析される試料中の微生物の濃度にしばしば依存する。 20

【0004】

例えば、濾過、クロマトグラフィー、遠心分離、重力沈降法などの様々な物理的濃縮法が、異なる微生物を非特異的に捕捉するために使用されてきた。これらの物理的濃縮法は、速度、コスト(例えば、公知の方法の少なくとも一部のものは、高価な機器、材料、及び/又は熟練した技術者を必要とする)、試料の要求条件(例えば、試料の性質及び/又は体積の制限)、空間的要求条件、使いやすさ(例えば、公知の方法の少なくとも一部のものは、複雑な多段階のプロセスを必要とする)、現場での使用の適性、有効性、又はこれらの組み合わせにおいて異なり得る。異なる金属水酸化物及び/又は金属酸化物のような無機材料が、例えば、国際公開第2009/046183 A1号(Kshirsagar)、同第2009/046191 A2号(Kshirsagar)、同第2009/085357 A2号(Kshirsagar)、同第2010/114725 A1号(Kshirsagar)、同第2010/114727 A1号(Kshirsagar)、及び同第2011/079038号(Kshirsagar)に述べられるものなど、これらの方法の特定のものにおいて微生物の濃縮剤として使用されている。 30

【0005】

(概要)

微生物(例えば、細菌株、真菌、酵母、原生動物、ウイルス、及び細菌の芽胞)の非特異的濃縮に適した新規な濃縮剤が望まれており、本明細書において提供されるものである。更に、本濃縮剤を含む物品、及び本濃縮剤を使用して微生物を濃縮する方法が提供される。本濃縮剤は、ランタン及び炭酸塩の両方を含む。 40

【0006】

本濃縮剤を使用して、病原性微生物などの微生物の濃度を検出に適したレベルにまで高めることができる。本濃縮剤は、速やかで安価かつ簡単(複雑な装置又は手順を伴わない)各種微生物を濃縮する方法を提供するものである。本濃縮剤は、様々な試料マトリックス、様々な細菌量、及び様々な試料体積といった様々な条件下で効果的に使用することができる。

【0007】

第1の態様では、微生物を濃縮するためのプロセスが提供される。このプロセスは、ラ 50

ンタン及び炭酸塩の両方を含有する濃縮剤を提供する工程を含む。濃縮剤は、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも0.05である。プロセスは、微生物を含有する液体試料を提供する工程、及び濃縮剤を液体試料と接触させる工程を更に含む。プロセスは、微生物を濃縮剤と結合させて、結合した微生物を形成する工程を更に含む。

【0008】

第2の態様では、濃縮剤と、濃縮剤に結合した微生物とを含む物品が提供される。本濃縮剤は、ランタン及び炭酸塩の両方を含有する。濃縮剤は、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも0.05である。

【0009】

第3の態様では、濃縮剤と多孔質マトリックスとを含む物品が提供される。本濃縮剤は、ランタン及び炭酸塩の両方を含有する。濃縮剤は、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも0.05である。濃縮剤は、多孔質マトリックスの表面上に、多孔質マトリックスの全体に、又はこれらの組み合わせで分散される。

【0010】

濃縮剤、多孔質マトリックス中に濃縮剤を含む物品、及び濃縮剤を使用して微生物を濃縮するプロセスが提供される。より詳細には、濃縮剤は、ランタン及び炭酸塩の両方を含有するものである。濃縮剤は、微生物を濃縮又は捕捉するために使用することができる。濃縮剤は、一般的にいずれの特定の微生物の株、種、又はタイプにも特異的ではなく、したがって試料中の微生物の集団全体の濃縮に用いることができる。特定の微生物を、その特定の微生物を対象とする任意の公知の検出方法を使用して、捕捉された微生物集団の中から検出することができる。

【0011】

「a」、「an」、「the」、及び「at least one」なる用語は、互換可能に使用されるものである。

【0012】

「及び／又は」なる用語は、列記された要素の一方又は両方を意味するものである。例えば、A及び／又はBとは、A単独、B単独、又はA及びBの両方を意味するものである。

【0013】

「含む (comprises)」なる用語及びその変化形は、説明文及び請求項で使用される場合、限定的な意味を有するものではない。

【0014】

数値範囲には、その範囲の端点及びその範囲内のすべての数値が含まれる。

【0015】

濃縮剤は、ランタン及び炭酸塩の両方を含有する。濃縮剤の、ランタンに対する炭素の重量比は、少なくとも0.05、少なくとも0.06、少なくとも0.7、少なくとも0.8、少なくとも0.9、又は少なくとも0.10である。ランタンに対する炭素の重量比は、多くの場合、0.20以下又はそれよりも高い値、0.18以下、0.16以下、0.15以下、0.14以下、又は0.13以下である。ランタンに対する炭素の重量比は、多くの場合、0.05～0.20の範囲、0.05～0.18の範囲、0.05～0.16の範囲、0.05～0.14の範囲、0.06～0.14の範囲、又は0.08～0.14の範囲である。

【0016】

濃縮剤中の炭素は、濃縮剤中に含まれる炭酸塩に多くの場合由来する。炭酸塩のモル数に対するランタンのモル数の比は、通常、少なくとも0.3である。この比は、多くの場合、少なくとも0.4、少なくとも0.5、又は少なくとも0.6である。この比は、多くの場合、5以下、4以下、3以下、又は2以下である。例えば、炭酸塩のモル数に対するランタンのモル数の比は、0.3～5の範囲、0.4～4の範囲、0.4～3の範囲、0.5～3の範囲、又は0.5～2の範囲であり得る。

【0017】

濃縮剤中のランタン及び炭酸塩は、多くの場合、各種のランタン／炭酸塩含有物質の形で存在する。本明細書において使用するときの「ランタン／炭酸塩含有物質」なる語句は、ランタン及び炭酸塩の両方を含有する物質のことを指す。ランタン／炭酸塩含有物質としては、例えば、炭酸ランタン、オキシ炭酸ランタン、水酸化炭酸ランタン、及びこれに類するもの、並びにこれらの混合物が挙げられる。これらのランタン／炭酸塩含有物質は、いずれも無水物形、水和物形、又はこの両方の形で存在することができる。炭酸ランタンの水和物形は、多くの場合、式： $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ （式中、 $x$ は、2～8の範囲、4～8の範囲、又は3～6の範囲の数など、8以下の数である）により表される。例えば、水和物形の炭酸ランタンとして、 $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 又は $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ がある。炭酸ランタンの無水物形は、通常、式： $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3$ により表される。オキシ炭酸ランタンの水和物形は、多くの場合、式： $\text{La}_2\text{O}(\text{CO}_3)_2 \cdot y\text{H}_2\text{O}$ 又は $\text{La}_2\text{O}_2\text{CO}_3 \cdot z\text{H}_2\text{O}$ （式中、 $y$ 及び $z$ は、それぞれ独立して、1～4又は2～4の範囲の数など、4以下の数である）により表される。オキシ炭酸ランタンの無水物形は、多くの場合、式： $\text{La}_2\text{O}(\text{CO}_3)_2$ 又は $\text{La}_2\text{O}_2\text{CO}_3$ により表される。水酸化炭酸ランタンの無水物形は、多くの場合、式： $\text{La}(\text{OH})(\text{CO}_3)$ により表される。

10

**【0018】**

いくつかの実施形態では、濃縮剤は、酸化ランタンを含有しない。他の実施形態では、濃縮剤は、20重量％以下の酸化ランタンを含む。例えば、濃縮剤は、10重量％以下、5重量％以下、2重量％以下、又は1重量％以下の酸化ランタンを含有し得る。酸化ランタンがいくらか存在していたとしても、濃縮剤中の炭酸塩のモル数に対するランタンのモル数の比は、依然として、0.3～5の範囲である。

20

**【0019】**

濃縮剤は通常、粒子を含む。換言すると、濃縮剤中のランタン／炭酸塩含有物質は、多くの場合、複数の粒子の形である。これらの粒子は任意の望ましいサイズを有し得るが、粒子の平均サイズ（すなわち最大寸法の平均の大きさ）は、通常、100  $\mu\text{m}$ 以下、75  $\mu\text{m}$ 以下、50  $\mu\text{m}$ 以下、40  $\mu\text{m}$ 以下、30  $\mu\text{m}$ 以下、20  $\mu\text{m}$ 以下、又は10  $\mu\text{m}$ 以下である。粒子は通常、1  $\mu\text{m}$ よりも大きい、2  $\mu\text{m}$ よりも大きい、又は5  $\mu\text{m}$ よりも大きい平均粒径を有する。例えば、粒子の平均直径は、1～100  $\mu\text{m}$ 、1～75  $\mu\text{m}$ 、1～50  $\mu\text{m}$ 、1～20  $\mu\text{m}$ 、又は1～10  $\mu\text{m}$ の範囲であり得る。

30

**【0020】**

ランタン／炭酸塩含有物質の粒子は、任意の形状を有し得る。いくつかの実施形態では、粒子は小平板状の形態を有する。すなわち、粒子の3つの次元（すなわち、 $x$ 方向、 $y$ 方向、又は $z$ 方向）の1つが他の2つの次元よりも大幅に小さいものである。例えば、 $z$ 方向は、他の2つの次元の20％未満、10％未満、5％未満、2％未満、又は1％未満であってよい。他の実施形態では、粒子はほぼ球状である。球状の形態は、1個の粒子又は個々の粒子の凝集体及び／又は集合体より生じ得る。

**【0021】**

いくつかの実施形態では、ランタン／炭酸塩含有物質は、明確に定義されたX線回折パターンを有する結晶性物質を含む。他の実施形態では、ランタン／炭酸塩含有物質は、ピークがないか又はブロードピークのみを示すX線回折パターンを有する非晶質物質を含む。更なる他の実施形態では、ランタン／炭酸塩含有物質は、無秩序な結晶配列、小結晶領域、又はその両方の存在を示すX線回折パターンを有する。このようなX線回折パターンは、ブロードなピークのみ、又はシャープなピークとブロードなピークとの組み合わせを有し得る。

40

**【0022】**

任意の適切な方法を使用してランタン／炭酸塩含有物質を調製することができる。いくつかの実施形態では、ランタン／炭酸塩含有物質は、水溶性炭酸塩、水溶性重炭酸塩、又はこれらの混合物を水溶性ランタン塩に加えて沈殿物を形成することによって調製される。適切な水溶性ランタン塩としては、これらに限定されるものではないが、塩化ランタン

50

、硝酸ランタン、酢酸ランタンなどが挙げられる。適切な水溶性炭酸塩及び／又は重炭酸塩としては、これらに限定されるものではないが、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、重炭酸カリウム、炭酸アンモニウム、重炭酸アンモニウムなどが挙げられる。反応混合物中のランタンのモル数に対して等量又は過剰量の炭酸塩及び／又は重炭酸塩が、通常、加えられる。

#### 【 0 0 2 3 】

ランタン塩への炭酸塩及び／又は重炭酸塩の添加速度及び反応温度（例えば室温～100）を調整することにより、ランタン／炭酸塩含有物質の沈殿粒子の粒径を変化させることができる。通常、添加速度が遅いほど、又は反応温度が高いほど、大きな粒子が形成される傾向がある。更に、pHを調整して反応速度を変化させることができる。一般的に、pHを高くすると反応速度は低くなる傾向がある。例えば、炭酸塩及び／又は重炭酸塩と水酸化イオンとの混合物を含有する緩衝液の使用によって所望のpHを得ることができる。更に、すべての炭酸塩及び／又は重炭酸塩の添加後に反応温度を高温（例えば50～100の範囲など、50よりも高い温度）に保持することを利用して、平均粒径を増大させるか、粒度分布を狭くするか、又はこの両方を行うことが可能である。

10

#### 【 0 0 2 4 】

ランタン／炭酸塩含有物質の粒子は、濾過又は他の任意の適切なプロセスによって沈殿後に反応混合物から回収することができる。回収された粒子は、多くの場合、水で洗浄することによって、反応混合物中に使用されるあらゆる余分な炭酸塩及び／又は重炭酸塩、あらゆる残留するランタン塩の対イオン、及びあらゆる残留する炭酸塩及び／又は重炭酸塩の対イオンを除去される。回収された粒子は、室温、又は100以下、125以下、若しくは150以下の温度などの高温で乾燥することができる。得られるランタン／炭酸塩含有物質は、多くの場合、炭酸ランタンの水和物形であるが、水和物形のオキシ炭酸ランタン、水和物形の水酸化炭酸ランタン、又はこれらの混合物などの他の物質も含み得る。

20

#### 【 0 0 2 5 】

沈殿させたランタン／炭酸塩含有物質には更に熱処理（例えば焼結）を行うことができる。例えば、沈殿させたランタン／炭酸塩含有物質は、少なくとも150、少なくとも200、又は少なくとも250の温度で加熱処理（例えば焼結）を行うことができる。加熱処理温度の上限は、通常、熱処理した物質の少なくとも大部分がランタン／炭酸塩含有物質となるように選択される。すなわち、熱処理温度の上限は、熱処理した物質の20重量％未満が酸化ランタンであるように選択される。更に、微生物の捕捉速度は、約500よりも高い温度で焼結された濃縮剤では低下する傾向がある。熱処理温度の上限は、通常、500以下、450以下、又は400以下である。焼結温度は、通常、150～500の範囲、150～400の範囲、200～500の範囲、200～400の範囲、250～500の範囲、250～450の範囲、250～400の範囲、250～350の範囲、又は275～325の範囲である。熱処理中に使用される雰囲気は、空気、又は、窒素、アルゴンなどの不活性ガスでよい。

30

#### 【 0 0 2 6 】

熱処理によって、ランタン／炭酸塩含有物質の化学組成を変化させることができる。例えば、熱処理は多くの場合、水和物形のランタン／炭酸塩含有物質を無水物形の物質に変換する。炭酸ランタン物質はオキシ炭酸ランタンに変換され得る。得られる熱処理したランタン／炭酸塩含有物質は、X線回折パターンによれば、沈殿したランタン／炭酸塩含有物質よりも結晶性がより低い、又は結晶性がより高いと考えられ得る。

40

#### 【 0 0 2 7 】

熱処理によって、微生物を結合するランタン／炭酸塩含有物質の効果を変化させることができる。いくつかの実施形態では、微生物を結合する最大効率は、沈殿させたランタン／炭酸塩含有物質を、225～375の範囲、250～350の範囲、又は275～325の範囲のように300に近い温度で加熱することによって得ることがで

50

きる。得られるランタン / 炭酸塩含有物質は、異なる化合物の混合物であり得るが、通常、無秩序な結晶構造の存在及び / 又は小結晶領域の存在を示唆する多数のブロードピークを有する X 線回折パターンを有する。

#### 【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態では、ランタン / 炭酸塩含有物質は、異なる化合物の混合物である。混合物は、例えば、炭酸ランタン、オキシ炭酸ランタン、及び水酸化炭酸ランタンの無水物形及び / 又は水和物形のから選択される少なくとも 2 種類の異なる物質を含み得る。このような複数の化合物の混合物は、多くの場合、個々の化合物と比較して濃縮剤としてより効果的であり得る。

#### 【 0 0 2 9 】

微生物は、濃縮剤に結合し得る。換言すると、濃縮剤中のランタン / 炭酸塩含有物質を使用して、液体試料から微生物を捕捉、単離、除去、分離、又は濃縮することが可能である。微生物を潜在的に含む任意の対象として液体試料を用いることが可能である。液体試料は、液体、固体の液体中への分散液若しくは懸濁液、又は第 1 の液体の第 2 の液体中への分散液若しくは懸濁液であり得る。液体試料は、直接使用するか、濃縮剤と接触させる前に濃縮するか（例えば遠心分離又は蒸発により）、又は希釈する（例えば pH 緩衝液などの緩衝液を加えることにより）ことができる。固体又は半固体の形の試料を抽出するか（例えば液体で洗浄又はすすぐことにより）、又は液体中に懸濁若しくは分散することができる。試料は、スワブにより擦り取るか、及び / 又は液体ですすぐことによって表面から採取することができる。こうした試料としては、これらに限定されるものではないが、生物学的試料、環境的試料、食品試料、飼料試料、実験室試料、及び工業的試料が挙げられる。

#### 【 0 0 3 0 】

直接的に、又は液相による処理後に間接的に使用することができるいくつかの特定の食品試料として、これらに限定されるものではないが、生鮮食品、挽肉、乳製品、ジュース、飲料などが挙げられる。食品試料は、食品加工装置、食品取り扱い装置、食品を調理する場所などの検査から得られるものでもよい。直接的に、又は液相による処理後に間接的に使用することができるいくつかの特定の生物学的液体としては、これらに限定されるものではないが、全血又は全血の成分（例えば、血漿、血小板濃縮血液画分、濃厚血小板、及び赤血球濃厚液パック）、細胞調製物（例えば、組織分散液、骨髓穿刺液、及び椎体骨髓）、細胞懸濁液、尿、唾液、肺組織液、脳脊髄液、創傷浸出液、創傷生検試料、眼液、髄液、及び溶解調製物が挙げられる。直接的に、又は液相による処理後に間接的に使用することができる環境的試料としては、これらに限定されるものではないが、飲料水、地下水、土壌試料、及び産業廃棄物試料が挙げられる。更なる他の工業的試料としては、様々なバイオプロセス又は医薬製剤化と関連するものがある。

#### 【 0 0 3 1 】

液体試料と濃縮剤とは接触させられる。濃縮剤を液体試料に加えるか、又は液体試料を濃縮剤に加えることができる。任意の適量の液体試料及び濃縮剤を使用することができる。液体試料の体積は、多くの場合、特定の用途によって決まる。液体試料が診断又は研究用途に関するものである場合、体積はマイクロリットルの範囲（例えば 1 ~ 1 0 0 0  $\mu$  L）であり得る。液体試料が食品病原体試験に関するものであるか又は飲料水試験用のものである場合には、体積はミリリットル ~ リットルの範囲（例えば 1 mL ~ 1 0 L 又はそれ以上）であり得る。液体試料が工業用途に関するものである場合、体積は、数百リットル又はそれ以上であり得る。液体試料の体積に対して必要とされる濃縮剤の量は、当業者であれば容易に決定することができる。いくつかの用途では、試料 1 mL 当たり 1 ~ 1 0 mg の濃縮剤が有用である。

#### 【 0 0 3 2 】

多くの実施形態において、濃縮剤の少なくとも一部を液体試料中に懸濁又は分散させることができる。例えば、スパチュラ若しくはディップスティック、又は濃縮剤を保持した他の物品を液体試料中に浸漬することができる。他の例では、濃縮剤を保持したフィルム

10

20

30

40

50

上に液体試料を注ぐか、又は濃縮剤が入ったチューブ又はウェルに液体試料を加えることができる。更なる他の例では、濃縮剤と液体試料とは各種の容器のいずれかの中で（任意の添加順序で）加え合わされる。これらの容器は場合により、キャップされた試験管、及びキャップされたボトル又はジャーのように、キャップするか、閉鎖するか、又は密封することができる。必要に応じて、液体試料を加える前に容器を滅菌することができる。

#### 【0033】

濃縮剤が相当量の液体試料に曝露されるように混合（例えば、攪拌、揺動、振盪又は振動）することにより、濃縮剤と液体試料との接触性を高めることができる。1 mL以下の体積を有する試料のように少量の液体試料では、例えば米国特許第5,238,812号（Coulterら）に述べられるような、渦を形成させるなどの混合方法を使用することができる。1 mL～10 Lの範囲の試料などのより大きな体積では、例えば米国特許第5,576,185号（Coulterら）に述べられるように濃縮剤と液体試料とを「くるくる回転させる」要領で穏やかに転動させることにより、混合を行うことができる。接触は、任意の所望の時間にわたって行うことができる。約100 mL以下の体積を有する液体試料では、接触時間は、60分間以内、45分間以内、30分間以内、20分間以内、10分間以内、又は5分間以内であり得る。このような液体試料の接触時間は、多くの場合、少なくとも5秒間、少なくとも10秒間、少なくとも15秒間、少なくとも30秒間、又は少なくとも1分間である。

#### 【0034】

必要に応じて、1種類以上の添加剤を液体試料と濃縮剤との混合物に加えることができる。適切な添加剤としては、これらに限定されるものではないが、溶解試薬、バイオルミネッセンスアッセイ試薬、微生物増殖培地、緩衝液（例えば固体試料を分散又は抽出するため）、微生物染色試薬、洗浄用緩衝液（例えば未結合の物質を洗い流すため）、溶離剤（例えば血清アルブミン）、界面活性剤、及び機械的研磨/溶離剤（例えばガラスビーズ）が挙げられる。

#### 【0035】

液体試料が濃縮剤と接触している間、液体試料中に存在する微生物は濃縮剤に結合することができる。結合した微生物（すなわち、濃縮剤に結合した微生物）は、残留する液体試料から分離することができる。いくつかの実施形態では、このような分離は、重力沈降に少なくとも一部頼って行うことができる。例えば、結合した微生物は、60分以内、45分以内、30分以内、15分以内、10分以内、又は5分以内の時間で沈降し得る。他の実施形態では、こうした分離は、遠心分離などの方法によって行うことができる。これらの実施形態のいずれにおいても、デカンテーション、サイフォン吸引、濾過、又は当該技術分野では周知の他の方法によって上清を除去することができる。結合した微生物は、分離工程において使用される容器又はベッセルの底に残り得る。また、結合した微生物は濾材上に残る場合もある。

#### 【0036】

液体試料を濃縮剤と接触させる他の方法では、濃縮剤は、多孔質マトリックスを更に含む濃縮装置の一部をなす。これらの濃縮装置中の濃縮剤は、多孔質マトリックスの表面上に、多孔質マトリックスの全体に、又はこれらの組み合わせで分散された複数の粒子の形である。任意の適切な多孔質マトリックスを使用することができる。

#### 【0037】

濃縮装置のいくつかの実施形態では、多孔質マトリックスはポリマーであり、焼結可能なポリマー粒子を用いて形成される。すなわち、濃縮装置は、（a）焼結されたポリマー粒子の多孔質マトリックス、及び（b）ランタン及び炭酸塩の両方を含有する複数の濃縮剤粒子を含む。濃縮剤粒子は、多孔質マトリックスの表面上に、多孔質マトリックスの全体に、又はこれらの組み合わせで分散される。

#### 【0038】

このような濃縮装置を形成するには、焼結可能なポリマー粒子と濃縮剤粒子とを互いに混合し、ポリマー粒子を軟化させるのに十分な温度にまで加熱する。冷却すると、軟化し

10

20

30

40

50

たポリマー材料が互いに融合して、焼結されたポリマー粒子の多孔質マトリックスを形成する。得られる濃縮装置は、多くの場合、濃縮剤が多孔質マトリックスの内部、多孔質マトリックスの表面上、又はその両方に埋め込まれた固体又は自己支持型多孔質マトリックスの形である。濃縮装置は、複雑な細孔構造（例えば多孔質マトリックスの全体にわたる細孔の曲がりくねった経路）を有し、良好な機械的強度を有し得る。

#### 【0039】

粒子状の形態にある場合に焼結することが可能なポリマーとしては、各種の熱可塑性ポリマーが挙げられる。比較的高い粘性及び比較的低いメルトフローレートを有する熱可塑性ポリマーは、焼結プロセスの間の粒子形状の保持を促進することができる。すなわち、粒子形状が保持されなければ、多孔率が低いか0である本体が形成され得る。

10

#### 【0040】

有用な熱可塑性ポリマーとしては、これらに限定されるものではないが、ポリオレフィン（オレフィンのホモポリマー及びコポリマー、並びにオレフィンと他のビニルモノマーとのコポリマーを含む）、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリフェニレンスルフィドなど、及びこれらの組み合わせが挙げられる。有用なポリマーの代表的な例としては、エチレンビニルアセテート（EVA）ポリマー、エチレンメチルアクリレート（EMA）ポリマー、ポリエチレン（例えば、低密度ポリエチレン（LDPE）、線状低密度ポリエチレン（LLDPE）、高密度ポリエチレン（HDPE）、及び超高分子量ポリエチレン（UHMWPE）を含む）、ポリプロピレン、エチレン-プロピレンゴム、エチレン-プロピレン-ジエンゴム、ポリスチレン、ポリ（1-ブテン）、ポリ（2-ブテン）、ポリ（1-ペンテン）、ポリ（2-ペンテン）、ポリ（3-メチル-1-ペンテン）、ポリ（4-メチル-1-ペンテン）、1,2-ポリ-1,3-ブタジエン、1,4-ポリ-1,3-ブタジエン、ポリイソブレン、ポリクロロブレン、ポリ酢酸ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリフッ化ビニリデン、ポリテトラフルオロエチレンなど、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

20

#### 【0041】

いくつかのより具体的な濃縮装置では、ポリマー多孔質マトリックスを形成するために使用される熱可塑性ポリマーには、超高分子量ポリエチレン（UHMWPE）などのポリエチレンが含まれる。超高分子量ポリエチレンの例としては、少なくとも約750,000 g/mol、少なくとも1,000,000 g/mol、少なくとも2,000,000 g/mol、又は少なくとも3,000,000 g/molの重量平均分子量を有するものがある。

30

#### 【0042】

焼結可能なポリマーは、焼結されたポリマー多孔質マトリックスで望ましい孔（例えば穴、凹部、又は好ましくは通路）径に応じて広い範囲の粒径を有し得る。より微細な粒子は、多孔質マトリックス中の孔径がより微細となり得る。一般的にポリマー粒子は、1~1000 µmの範囲の平均粒径（すなわち、最長寸法の直径）を有するマイクロ粒子であり得る。例えば、平均粒径は、1~750 µmの範囲、1~500 µmの範囲、1~300 µmの範囲、5~300 µmの範囲、1~200 µmの範囲、5~200 µmの範囲、10~200 µmの範囲、50~200 µmの範囲、又は100~200 µmの範囲であり得る。得られる細孔は、マイクロメートルの範囲か又はこれよりも小さくなり得る。必要に応じて、多孔質マトリックスの多孔度は、メルトフローレートがより高い熱可塑性ポリマーとより低い熱可塑性ポリマーとのブレンドを用いることによって、変化させるか又は制御することもできる。

40

#### 【0043】

熱可塑性ポリマー粒子と濃縮剤粒子とを（更に湿潤剤又は界面活性剤などの必要に応じて加えられる任意の添加剤を）加え合わせ、機械的にブレンドする（例えば市販の混合装置を使用して）ことにより混合物を形成することができる。混合物は、通常、均一となるまでブレンドされる。一般的に、粒子状濃縮剤は、混合物中の固形物の全重量に対して90重量%以下の濃度で混合物中に存在してよい。固形物には、通常、ポリマー粒子、濃縮

50



剤粒子、及び必要に応じて用いられる添加剤に関連した他のあらゆる固形物が含まれる。大量の濃縮剤が使用される場合、濃縮装置は、多孔質マトリックスを形成するのに不十分な量のポリマー材料を含有することになり、得られる構造が一体性を欠く場合がある。濃縮剤は、例えば、混合物中の固形物の全重量に対して、85重量%以下、80重量%以下、75重量%以下、又は70重量%以下の量で存在してよい。濃縮剤の量は、通常、混合物中の固形物の全重量に対して少なくとも5重量%である。濃縮剤の量が少ない場合、濃縮剤による微生物の捕捉効率が不十分な程度に低くなり得る。濃縮剤の量は、多くの場合、混合物中の固形物の全重量に対して少なくとも10重量%、少なくとも20重量%、少なくとも30重量%、少なくとも40重量%、又は少なくとも50重量%である。

#### 【0044】

10

濃縮装置のいくつかの例は、混合物中の固形物の全重量に対して5~90重量%の濃縮剤粒子と10~95重量%のポリマー粒子とを含有する。例えば、濃縮装置は、10~80重量%の濃縮剤粒子と20~90重量%のポリマー粒子、20~80重量%の濃縮剤粒子と20~80重量%のポリマー粒子、40~80重量%の濃縮剤粒子と20~60重量%のポリマー粒子、又は10~50重量%の濃縮剤粒子と50~90重量%のポリマー粒子を含有することができる。必要に応じて、従来の添加剤（例えば湿潤剤、界面活性剤など）を混合物中に少量（例えば5重量%以下）加えることができる。

#### 【0045】

得られた混合物は、成形鋳型又は他の適切な容器又は基材中に入れることができる。有用な成形鋳型は、単一の空洞又は複数の空洞を有するものでよく、炭素鋼、ステンレス鋼、真鍮、アルミニウム、チタン、ニッケルなどから作製することができる。キャピティは、処理が完了した後、焼結されたポリマー多孔質マトリックスを成形鋳型から取り出すことができるものであれば、実質上あらゆる所望の形状のものであってよい。成形鋳型は、市販の粉末処理及び/又は振動装置を使用して仕上げるることができる。

20

#### 【0046】

ポリマー粒子を焼結するための熱処理は、成形鋳型に熱を導入する（例えば、電気抵抗加熱、電気誘導加熱、又は蒸気加熱により）ことによって行うことができる。この成形鋳型をポリマーの焼結に十分な温度まで加熱する（例えば、ポリマーの融点よりもわずかに低い温度まで加熱することにより）ことができる。この温度は、多くの場合、ポリマー粒子の分子量に応じて90~200の範囲、又はこれよりも高い温度である。例えば、温度は、100~200の範囲、120~200の範囲、100~180の範囲、又は120~180の範囲とすることができる。場合により、加熱処理の間に混合物を加圧することができる。熱処理の後、成形鋳型を、自然に、又は実質上あらゆる従来の冷却方法又は装置を使用して、周囲温度（例えば20~25の範囲の温度）に冷却することができる。

30

#### 【0047】

濃縮装置の一例を、米国特許第7,112,272号（Hughesら）、同第7,112,280号（Hughesら）、及び同第7,169,304号（Hughesら）に述べられるポリマー粒子及び処理方法を使用して作製することができる。一方が表面に渦巻きを有する「ポップコーン形状」であり、他方がほぼ球形である異なる2種類の超高分子量ポリエチレン（UHMWPE）粒子を互いにブレンドすることができる。「ポップコーン形状」及び球形のUHMWPEの例は、ティコナ社（Ticona）（ドイツ、フランクフルトに本部を置くセラネーゼ社（Celanese）の一部門）よりPMX CF-1（0.25~0.30g/立方cmのかさ密度及び約10 $\mu$ m~約100 $\mu$ mの範囲で約30~40 $\mu$ mの平均直径を有する）及びPMX CF-2（0.40~0.48g/立方cmのかさ密度及び約10 $\mu$ m~約180 $\mu$ mの範囲で約55~65 $\mu$ mの平均直径を有する）として販売されている。同様の形態、バルク密度、及び粒径を有し、約750,000g/モル~約3,000,000g/モルの範囲の重量平均分子量を有する、他の製造業者に由来するUHMWPE粒子を使用することもできる。これら2種類のUHMWPE粒子は、同じか又は異なる分子量のものを選択することができる。別の特定の例では、両方の

40

50

種類の粒子は上記に述べた範囲の同様の分子量を有し、例えば両方の種類の粒子が 3, 000, 000 g / モルに近い重量平均分子量を有することができる。これら 2 種類の UHMWPE 粒子を異なる相対量（例えば等量）で加え合わせた後、上記に述べた比で更に濃縮剤と加え合わせることができる。濃縮装置の所望の特性に応じて、いずれか一方の種類の UHMWPE を他方よりも少ない量で使用するか、又は更には混合物に加えないこともできる。

#### 【0048】

濃縮装置の他の実施形態では、多孔質マトリックスは不織繊維状である。すなわち、濃縮装置は、(a) 不織繊維状多孔質マトリックスと、(b) ランタン及び炭酸塩の両方を含有する複数の濃縮剤粒子とを含む。濃縮剤粒子は、多孔質マトリックスの表面上に、多孔質マトリックスの全体に、又はこれらの組み合わせで分散される。

10

#### 【0049】

このような濃縮装置は、濃縮剤粒子がその内部に巻き込まれた不織繊維状多孔質マトリックスを提供することが可能な実質上あらゆるプロセスによって作製することができる。この種の多孔質マトリックスは、通常、相互に挿入された繊維を織布又は編布ではない形で含むウェブ又は媒体である。不織繊維状多孔質マトリックスを調製するのに有用なプロセスとしては、これらに限定されるものではないが、エアレイ法、メルトブロー又はスパンボンドなどのスパンレイ法、カーディング、ウェットレイ、及びこれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの用途では、スパンレイ法又はウェットレイ法によって不織繊維状マトリックスを作製することが好ましい場合がある。

20

#### 【0050】

濃縮装置の不織繊維状多孔質マトリックスを作製する際の使用に適した繊維は、通常、放射線及び/又は各種の溶媒に対して安定的な繊維などのパルプ化又は押出成形可能な繊維である。有用な繊維としては、ポリマー繊維、無機繊維、及びこれらの組み合わせが挙げられる。多くの実施形態において、繊維はポリマー繊維を含み、複数の異なる種類のポリマー繊維をしばしば含む。例えば、ポリマーの繊維の少なくとも一部を、ある程度の親水性を示すように選択することができる。

#### 【0051】

適切なポリマー繊維としては、天然ポリマー（動物又は植物源由来のもの）及び/又は、熱可塑性ポリマー及び溶媒分散性ポリマーなどの合成ポリマーから製造されるものが挙げられる。有用なポリマーとしては、羊毛；絹；セルロース系ポリマー（例えば、セルロース、レーヨンなどのセルロース誘導体）；フッ素化ポリマー（例えば、ポリフッ化ビニル、ポリフッ化ビニリデン、フッ化ビニリデンのコポリマー（例えばポリ（フッ化ビニリデン - co - ヘキサフルオロプロピレン））、クロロトリフルオロエチレンのコポリマー（例えばポリ（エチレン - co - クロロトリフルオロエチレン）など）；塩素化ポリマー；ポリオレフィン（例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（1 - ブテン）、エチレンとプロピレンとのコポリマー、オレフィンコポリマー（例えば、エチレン又はプロピレンと 1 - ブテン、1 - ヘキセン、1 - オクテン、及び 1 - デセンとのコポリマー）、ポリ（エチレン - co - 1 - ブテン）、ポリ（エチレン - co - 1 - ブテン - co - 1 - ヘキセン）など）；ポリイソブレン；ポリブタジエン；ポリアミド（例えば、ナイロン 6、ナイロン 6, 6、ナイロン 6, 12、ポリ（イミノアジポイルイミノヘキサメチレン）、ポリ（イミノアジポイルイミノデカメチレン）、ポリカプロラクタムなど）；ポリイミド（例えば、ポリ（ピロメリットイミド）など）；ポリエーテル；ポリエーテルスルホン（例えば、ポリジフェニルエーテルスルホン、ポリ（ジフェニルスルホン - co - 酸化ジフェニレンスルホン）など）；ポリスルホン；ポリ酢酸ビニル；酢酸ビニルのコポリマー（例えば、ポリ（エチレン - co - 酢酸ビニル）、アセテート基の少なくとも一部が加水分解されて各種ポリ（ビニルアルコール）（例えば、ポリ（エチレン - co - ビニルアルコール）など）を与えるコポリマーなど）；ポリホスファゼン；ポリビニルエステル；ポリビニルエーテル；ポリビニルアルコール；ポリアラミド（例えば、ポリパラフェニレンテレフタルアラミドなどのパラアラミド及びデュポン社（DuPont Co.）（デラウェア州、

30

40

50

ウィルミントン)より「K E V L A R」の商品名で販売される繊維(該繊維のパルプは、パルプを形成する繊維の長さに基づき異なる等級で市販されており、例えば、いずれも長さが少なくとも4mmであるアラミド繊維を含む「K E V L A R 1 F 3 0 6」及び「K E V L A R 1 F 6 9 4」などがある)など;ポリカーボネート;及びこれらに類するもの;並びにこれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの具体的な例では、ポリマー繊維として、ポリアミド、ポリオレフィン、ポリスルホン、及びこれらの組み合わせが挙げられる。更により具体的な例としては、ナイロン、ポリエチレン、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

#### 【0052】

適切な無機繊維としては、ガラス、セラミックス、及びこれらの組み合わせから選択される少なくとも1種類の無機材料を含むものが挙げられる。有用な無機繊維としては、例えば、ガラス繊維(例えば、Eガラス、Sガラスなど)、セラミック繊維(例えば、金属酸化物(アルミナなど)、炭化ケイ素、窒化ホウ素、炭化ホウ素などで形成された繊維)、及びこれらの組み合わせが挙げられる。有用なセラミック繊維は、少なくとも部分的に結晶性であってよい(識別されるX線粉末回折パターンを示すか、又は結晶質相及び非晶質(ガラス)相の両方を含む)。いくつかの用途では、無機繊維として、ガラス繊維及びそれらの組み合わせが挙げられる。

#### 【0053】

不織繊維状多孔質マトリックスを形成するために使用される繊維は、特定の用途(例えば、特定の種類の試料マトリックス)において充分な構造的一体性及び充分な多孔度を有する多孔質マトリックスを与えることができる長さ及び直径のものとすることができる。例えば、その繊維長は、多くの場合、少なくとも約0.5mm、少なくとも約1mm、少なくとも約2mm、少なくとも約3mm、少なくとも約4mm、少なくとも約6mm、少なくとも約8mm、少なくとも約10mm、少なくとも約15mm、少なくとも約20mm、少なくとも約25mm、又は少なくとも約30mmである。繊維の直径は、例えば、少なくとも10 $\mu$ m、少なくとも20 $\mu$ m、少なくとも40 $\mu$ m、又は少なくとも60 $\mu$ mであり得る。繊維長及び直径は、繊維の性質及び用途の種類などの因子に応じて異なり得る。

#### 【0054】

濃縮剤の粒子の捕捉を促進し、かつ/又は大きな表面積を得るには、不織繊維状多孔質マトリックスを形成するために用いられる繊維は、多くの場合、少なくとも1つのフィブリル化繊維(例えば、多数のより小さな結合フィブリルにより囲まれた主繊維の形の)を含む。主繊維は、一般的に、0.5mm~5mmの範囲の長さ、及び1 $\mu$ m~20 $\mu$ mの範囲の直径を有することができる。フィブリルは、通常、サブマイクロメートルの直径を有し得る。

#### 【0055】

不織繊維状多孔質マトリックスは、複数の異なる種類の繊維を含むことができる。いくつかの実施形態では、多孔質マトリックスは、2、3、4種類、又は更にはそれよりも多い異なる種類の繊維を用いて形成することができる。例えば、強度及び一体性の目的ではナイロン繊維を加えることができるのに対して、微粒子の捕捉の目的ではフィブリル化ポリエチレンを加えることができる。フィブリル化繊維と非フィブリル化繊維とが組み合わせて用いられる場合、非フィブリル化繊維に対するフィブリル化繊維の重量比は、多くの場合、少なくとも1:2、少なくとも1:1、少なくとも2:1、少なくとも3:1、少なくとも5:1、又は更には少なくとも8:1である。

#### 【0056】

濃縮装置は、多くの場合、濃縮装置中の固形物の全重量に対して少なくとも10重量%の繊維(例えば、繊維、ポリマーバインダー、及び濃縮剤)を含有する。含まれる繊維の量がこの量よりも少ないと、濃縮装置が充分な多孔度を有さなくなる場合がある。いくつかの濃縮装置は、少なくとも15重量%、少なくとも20重量%、又は少なくとも25重量%の繊維を含有する。繊維状多孔質マトリックスは、多くの場合、固形分の全重量に対

10

20

30

40

50

して95重量%以下の繊維を含有する。繊維の量がこの量よりも多いと、液体試料と接触する際に微生物を捕捉するために存在する濃縮剤の量が不十分となる場合がある。いくつかの濃縮装置の例では、固形分の全重量に対して90重量%以下、80重量%以下、70重量%以下、60重量%以下、又は50重量%以下の繊維を含有する。

【0057】

不織繊維状多孔質マトリックスは多くの場合、少なくとも1種類のポリマーバインダーを更に含有する。適切なポリマーバインダーとしては、比較的不活性な（繊維又は濃縮剤粒子のいずれとも化学的反応をほとんどあるいはまったく示さない）天然及び合成ポリマー材料が挙げられる。有用なポリマーバインダーとしては、ポリマー樹脂（例えば粉末及びラテックスの形）、ポリマーバインダー繊維など、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

10

【0058】

不織繊維状多孔質マトリックスに使用するのに適したポリマー樹脂としては、これらに限定されるものではないが、天然ゴム、ネオプレン、スチレンブタジエンコポリマー、アクリレート樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、及びこれらの組み合わせが挙げられる。多くの実施形態において、ポリマー樹脂はアクリレート樹脂を含む。

【0059】

適切なポリマーバインダー繊維としては、接着剤単独型繊維及び2成分繊維が挙げられる。接着剤単独型繊維の例としては、イーストマン・ケミカル・プロダクツ社（Eastman Chemical Products）（米国、テネシー州、キングズポート）より、KODELの商品名で市販されるもの（例えばKODEL 43UD）が挙げられる。2成分繊維は、例えば、隣接型、シースコア型などであり得る。隣接型2成分繊維の一例としては、チッソ株式会社（大阪、日本）よりCHISSOの商品名（例えばCHISSO ES）で市販されるポリオレフィン熱結合2成分繊維がある。シースコア型2成分繊維の一例としては、ユニチカ株式会社（大阪、日本）より商品名MELTY（例えばMELTY 4080）として販売されるもの、及びエチル酢酸ビニル（シース）及びポリプロピレン（コア）で形成されたMinifibers（テネシー州ジョンソンシティ）がある。この繊維は、ポリエステルのコアとポリエチレンのシースを有する。

20

【0060】

使用されるポリマーバインダーの種類によらず、得られる濃縮装置（乾燥形態）中のバインダーの量は、多くの場合、濃縮装置中の固形物（例えば、繊維、ポリマーバインダー、及び濃縮剤）の全重量に対して0.5～10重量%の範囲である。このようなポリマーバインダーの量は一般的に、多くの用途における使用に充分な一体性を不織繊維状多孔質マトリックスに与えることができる一方で、濃縮剤粒子はそれほど被覆しない。例えば、ポリマーバインダーの量は、濃縮装置中の固形物の全重量に対して、1～8重量%、1～6重量%、1～5重量%、1～4重量%、2～8重量%、又は3～7重量%の範囲であり得る。

30

【0061】

ポリマーバインダーは、濃縮剤粒子と実質的に接着しないことが好ましい。別の言い方をすれば、濃縮装置を走査電子顕微鏡で調べた場合に、ポリマーバインダーで覆われている濃縮剤粒子が濃縮剤粒子の全表面積の5%未満であるということである。例えば、濃縮剤の全表面積の4%未満、3%未満、2%未満、又は更には1%未満がポリマーバインダーにより覆われる。

40

【0062】

この種の濃縮装置は、（a）複数の上記繊維を提供する工程と、（b）複数の上記濃縮剤粒子を提供する工程と、（c）複数の繊維の少なくとも一部を、複数の濃縮剤粒子の少なくとも一部が内部に巻き込まれた不織繊維状多孔質マトリックス内に形成する工程と、を含むプロセスによって作製することができる。上述したように、形成する工程は、内部に濃縮剤粒子が巻き込まれた不織繊維状マトリックスを提供することが可能な実質上あらゆるプロセスによって行うことができる。

50

## 【 0 0 6 3 】

濃縮装置を作製するための別の更なる特定のプロセスとして、ウェットレイ又は「ウェットレイド」プロセスがある。このプロセスでは、( a ) 複数の繊維、( b ) 複数の濃縮剤粒子、( c ) ポリマーバインダー、及び( d ) 水、水混和性有機溶媒、又はこれらの混合物などの分散用の液体を含有する分散液が形成される。繊維、濃縮剤粒子、及びポリマーバインダー成分は同時に分散用の液体に分散することができる。あるいは、これらの成分の1つ又は2つを他の成分の導入に先立って分散させることもできる。いくつかの実施形態では、繊維は、添加剤、表面処理剤、又は分散液中への繊維の分散を促す化学基を有する。例えば、ポリオレフィン系繊維が無水マレイン酸又は無水コハク酸官能基を有してもよく、あるいは、ポリオレフィン系繊維を調製するための溶解プロセス中に適切な界面活性剤を添加してもよい。

10

## 【 0 0 6 4 】

ウェットレイドプロセスは、更に、繊維の少なくとも一部にポリマーバインダーを少なくとも部分的に堆積することと、分散液から分散用の液体を除去することと、を更に含む。繊維上へのポリマーバインダーの堆積は、ポリマーバインダーの性質に応じて、分散用の液体の除去又は脱水工程の前又は後に行うことができる。例えば、ポリマーラテックスがポリマーバインダーとして使用される場合、ポリマーラテックスは、濃縮剤粒子の添加の前又は後でかつ脱水工程の前に繊維上に沈殿させることができる。最初の脱水後、熱を加えることによって、脱水を完了し、得られた堆積ラテックスを硬化させることができる。ポリマーバインダー繊維がポリマーバインダーとして使用される場合には、一般的に最初に脱水を行った後、熱を加えることによって脱水を完了し、ポリマーバインダー繊維を融解する(これにより、繊維上にポリマーバインダーを堆積する)ことができる。

20

## 【 0 0 6 5 】

この種の濃縮装置の調製に際しては、1種類以上の補助剤又は添加剤を使用することができる。有用な補助剤としては、加工助剂(例えば、ポリマーバインダーを繊維上に沈殿させる助けとなり得る、アルミン酸ナトリウム及び硫酸アルミニウムなどの沈降剤)、得られる濃縮装置の全体的な性能を高めることができる物質などが挙げられる。こうした補助剤が使用される場合、その量は、濃縮装置の全乾燥重量(例えば、繊維、濃縮剤、及びポリマーバインダー)に対して、5重量%以下、4重量%以下、3重量%以下、1重量%以下、又は0.5重量%以下の量で存在することができる。補助剤の全体量は、通常、濃縮装置中に含有させることができる濃縮剤粒子の量を最大とするためにできるかぎり少なくなるように選択される。

30

## 【 0 0 6 6 】

別の更なる特定のウェットレイドプロセスでは、繊維(例えば、短繊維)を、分散用の液体(例えば、水、アルコールなどの水混和性有機溶媒、又はこれらの混合物)の存在下、容器内でブレンドすることによってスラリーを形成することができる。スラリーの形成後、濃縮剤粒子、ポリマーバインダー、及び必要に応じて用いられる沈降剤(例えばミョウバンなどのpH調製剤)をスラリーに加えることができる。

## 【 0 0 6 7 】

ウェットレイドプロセスが、当該技術分野では周知のハンドシート法によって行われる場合、3つの成分(すなわち、繊維、ポリマーバインダー、及び濃縮剤粒子)を分散液に加える順序は、濃縮装置の最終的な性能に大きく影響しないことが示されている。しかしながら、濃縮剤粒子を加えた後にポリマーバインダーを加えることで、繊維に対する濃縮剤粒子の接着性が幾分高い濃縮装置を得ることができる。

40

## 【 0 0 6 8 】

分散混合液は、形成された後、底がスクリーンで覆われた成形鋳型に注ぎ込まれる。この分散用の液体をスクリーンに通して(濡れたシート状の)混合物から排水することができる。十分な量の液体が排水された後、通常、濡れたシートを成形鋳型から取り外し、加圧、加熱、又はその2つの組み合わせによりシートを乾燥させることができる。一般的に、圧力は約300~約600kPaの範囲である。濡れたシートを乾燥させるためには、

50

90 ~ 200 の範囲、100 ~ 175 の範囲、100 ~ 150 の範囲、又は90 ~ 120 の範囲の温度を用いることができる。乾燥により、多くの場合、分散用の液体のすべて又は大部分（例えば、分散液を形成するために加えられた分散用の液体の量に対して、分散用の液体の85重量%以下、90重量%以下、95重量%以下、98重量%以下、又は99重量%以下）が除去される。ウェットレイドプロセスにおけるポリマーバインダーとしてポリマーバインダー繊維が使用される場合、沈降剤は一般的に不要であり、加えられる熱を利用してポリマーバインダー繊維を融解することができる。

#### 【0069】

得られる乾燥シートは、少なくとも0.1mm、少なくとも0.2mm、少なくとも0.5mm、少なくとも0.8mm、少なくとも1mm、少なくとも2mm、少なくとも4mm、又は少なくとも5mmの平均の厚さを有し得る。平均の厚さは、多くの場合、20mm以下、15mm以下、12mm以下、又は10mm以下である。カレンダー加工を用いることで、必要に応じて乾燥シートの更なる加圧又は融合を行うことができる。

#### 【0070】

不織繊維状多孔質マトリックスを有する濃縮装置では、濃縮剤は、使用される繊維の性質に応じて、化学的相互作用（例えば化学結合）又は物理的相互作用（例えば吸着又は機械的閉じ込め）のいずれかによって閉じ込められる。

#### 【0071】

濃縮装置の性能及び効率は濃縮装置に含有される濃縮剤粒子の量によって異なり得るため、比較的高い粒子充填量が一般的に望ましい場合がある。濃縮装置中の濃縮剤の量は、多くの場合、濃縮装置中の固形物（例えば、繊維、ポリマーバインダー、及び濃縮剤）の全重量に対して5 ~ 90重量%の範囲である。使用される濃縮剤が5重量%未満であると、微生物を濃縮する濃縮装置の効果が不必要に低くなり得る。使用される濃縮剤が90重量%を上回ると、存在する繊維が少なすぎて多孔質マトリックスを形成することができないか、構造が一体性を欠く場合がある。濃縮装置のいくつかの例では、濃縮剤は、濃縮装置中の固形物の全重量に対して少なくとも10重量%、少なくとも20重量%、少なくとも30重量%、少なくとも40重量%、又は少なくとも50重量%に等しい量で存在する。濃縮装置中の濃縮剤粒子の量は、多くの場合、濃縮装置中の固形物の全重量に対して85重量%以下、80重量%以下、75重量%以下、70重量%以下、又は60重量%以下である。濃縮剤は、多くの場合、多孔質マトリックスの全体にわたって実質上均一に分散されることが好ましい。

#### 【0072】

一般的に乾燥シート材料の平均細孔径は、走査電子顕微鏡（SEM）で測定した場合に、約0.1 ~ 約10  $\mu\text{m}$  の範囲であり得る。20 ~ 80体積%の範囲、又は40 ~ 60体積%の範囲の空隙体積が有用であり得る。乾燥シート材料の多孔度は、繊維混合物中により大きい直径の繊維又は剛性の繊維を使用することにより改変する（増大させる）ことができる。

#### 【0073】

乾燥シート材料は可撓性であってよい（例えば、直径0.75インチ（約2cm）のコアの周囲に巻き付けることができる）。この可撓性は、シート材料をブリーツ加工するか又は丸めることを可能とする。シート材料は、比較的低い背圧を有し得る（すなわち、比較的大量の液体が、比較的高い背圧を生じることなく、比較的速度やかにシート材料を通過することができる）。本明細書で使用するところの「比較的低い背圧」とは、3mL/cm<sup>2</sup>の流速において（ただし、流速はシート材料の前面表面積に基づく）、3ポンド/平方インチ（20.7kPa）以下、2.5ポンド/平方インチ（17.2kPa）以下、2ポンド/平方インチ（13.8kPa）以下、1.5ポンド/平方インチ（10.3kPa）以下、1ポンド/平方インチ（6.9kPa）以下、又は0.5ポンド/平方インチ（3.5kPa）以下の示差背圧のことを指す。

#### 【0074】

カレンダー加工していないシート材料は、所望の大きさに切断し、これを使用して液体

10

20

30

40

50

試料と接触する際に微生物を結合することができる。必要に応じて（例えば、シートの全体にわたった大きな圧力低下が問題とならない場合）、使用に先立ってシート材料をカレンダー加工することによって引張り強度を高めることができる。シート材料をブリーツ加工する場合、乾燥及びカレンダー加工は通常避けられる。

【0075】

不織繊維状多孔質マトリックスを有するいくつかの濃縮装置では、乾燥シート材料の単一層が効果的であり得る。他の濃縮装置では、乾燥シート材料の多層を使用することでより高い微生物の結合性能が得られる。

【0076】

上記に述べた濃縮装置のいずれも、例えば、1つ以上のプレフィルター（例えば、試料を多孔質マトリックスに通す前に試料から比較的大きい粒子を除去するための）、装置の両側に圧力差を加えるためのマニホールド（例えば、試料を多孔質マトリックスに通すことを助けるための）、及び／又は外部ハウジング（例えば、多孔質マトリックスを収容及び／又は保護するための使い捨てカートリッジ）などの1つ以上の他の構成要素を更に有することができる。

【0077】

上記に述べた濃縮装置のいずれも、微生物を含む液体試料と任意の適切な要領で接触させることができる。例えば、濃縮装置を液体試料に加えてもよく、又は液体試料を濃縮装置に加えてもよい。濃縮装置を液体試料中に浸漬してもよく、液体試料を濃縮装置上に注いでもよく、液体試料を濃縮装置が入った管又はウェルの中に注いでもよく、あるいは試料を、濃縮装置上を通過させる又は濃縮装置の中に通すこともできる。好ましくは、こうした接触は、液体試料が多孔質マトリックスの少なくとも1つの細孔内を通るようにして行われる。

【0078】

濃縮装置と液体試料とは、各種の容器又はホルダーのいずれの中に加え合わせてもよい（任意の添加の順序で）。適切な容器又はホルダーは、通常、漏れを生じることなく濃縮装置及び液体試料の両方を保持するように設計される。容器のいくつかの例は、キャップするか、閉鎖するか、又は密封することができる。いくつかの実施形態では、容器又はホルダーは、カラム又はシリンジバレルである。本発明のプロセスを行う際の使用に適した容器は、特定の試料によって決定され、その大きさ及び性質は大きく異なり得る。例えば、容器は10  $\mu$ L容器（例えば試験管又は注射器）などの小型のものであってもよく、又は100 mLから3 L容器（例えば、エルレンマイヤーフラスコ又は環状円筒容器）のような大型のものであってもよい。

【0079】

容器、濃縮装置、及び液体試料と直接接触する他の任意の器具又は添加剤は使用に先立って滅菌（例えば、制御された熱、酸化エチレンガス、又は放射線によって）することにより、検出誤差を生じ得る液体試料のあらゆる汚染を低減又は防止することができる。効果的な検出を行うために特定の液体試料の微生物を捕捉又は濃縮するのに十分な濃縮装置中の濃縮剤の量は異なり（例えば、濃縮剤及び装置の性質及び形態、並びに液体試料の量に応じて）、当業者によって容易に決定することが可能である。

【0080】

濃縮装置と液体試料との接触時間は、任意の所望の時間とすることができる。例えば、接触時間は、24時間以下、12時間以下、6時間以下、4時間以下、2時間以下、1時間以下、30分以下、15分以下、10分以下、5分以下、1分以下、30秒以下、又は15秒以下とすることができる。接触は、混合（例えば、攪拌により、振盪により、又は、濃縮装置の両側に圧力差を作用させることによって液体試料の多孔質マトリックスの通過を促すことにより）によって促進することができる。

【0081】

いくつかの実施形態では、液体試料は、濃縮装置を少なくとも1回（多くの場合、1回のみ）通過させられる（例えば圧送、加圧、又は重力供給により）。実質上あらゆる方式

10

20

30

40

50

のポンプ（例えば、蠕動ポンプ）又は濃縮装置の両側に圧力差を確立するための他の装置（例えば、注射器又はプランジャー）を使用することができる。濃縮装置を通じた試料の流速は、約 100 mL / 分以下、又はそれよりも大きい流速が効果的であり得る。流速は、例えば、1 ~ 100 mL / 分の範囲、10 ~ 100 mL / 分の範囲、10 ~ 50 mL / 分の範囲、又は 10 ~ 25 mL / 分の範囲とすることができる。

#### 【0082】

必要に応じて、1種類以上の必要に応じて加えられる添加剤を液体試料と濃縮装置との混合物に加えることができる。適切な添加剤としては、これらに限定されるものではないが、溶解試薬、生物発光分析試薬、微生物増殖培地、緩衝液（例えば固体試料を分散又は抽出するため）、微生物染色試薬、洗浄用緩衝液（例えば未結合の物質を洗い流すため）、溶離剤（例えば血清アルブミン）、界面活性剤、及び機械的研磨 / 溶離剤（例えばガラスビーズ）が挙げられる。

10

#### 【0083】

液体試料が濃縮装置と接触している間、液体試料中に存在する微生物は濃縮装置中の濃縮剤に結合することができる。結合した微生物（すなわち、濃縮装置中の濃縮剤に結合した微生物）は、通常、残留する液体試料から分離される。結合した微生物（又はその1つ以上の構成成分）は、接触後に濃縮装置から単離又は分離することも可能である。例えば、溶離剤又は溶解剤を、濃縮装置上を通過させる又は濃縮装置の中に通すことができる。

#### 【0084】

上記に述べた濃縮装置のいずれも、微生物汚染物質又は病原体を液体試料（例えば水）から除去するための濾材として使用することができる。濾材は、多孔質マトリックス、及び多孔質マトリックスの表面上に分散されるか、多孔質マトリックスの全体に分散されるか、又はその組み合わせとして複数の濃縮剤粒子を含む。いくつかの実施形態では、濾材は、（a）不織繊維状多孔質マトリックス、及び（b）不織繊維状多孔質マトリックス中に巻き込まれた複数の濃縮剤粒子を含有する。他の実施形態では、濾材は、（a）焼結されたポリマー粒子の多孔質マトリックス、及び（b）焼結されたポリマー粒子の多孔質マトリックス中に埋め込まれた複数の濃縮剤粒子を含有する。

20

#### 【0085】

上記に述べた濃縮剤及び濃縮装置を使用することによって、様々な微生物を濃縮して検出することができる。試料は複数の微生物株を含む場合があるが、任意の1つの株を、他のいずれの株とも独立して検出することができる。これらの微生物としては、これらに限定されるものではないが、細菌（グラム陽性細菌及びグラム陰性細菌を含む）、真菌類、カビ、酵母、原生動物、ウイルス（エンベロープを有しないウイルス及びエンベロープを有するウイルスの両方を含む）、細菌の芽胞など、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

30

#### 【0086】

検出される標的微生物の属としては、これらに限定されるものではないが、リステリア属、大腸菌属、サルモネラ属、カンピロバクター属、クロストリジウム属、ヘリコバクター属、マイコバクテリウム属、ブドウ球菌属、シゲラ属、腸球菌属、バチルス属、ナイセリア属、シゲラ属、連鎖球菌属、ビブリオ属、エルシニア属、ボルデテラ属、ボレリア属、シュードモナス属、サッカロミセス属、カンジダ属など、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

40

#### 【0087】

検出の標的となり得る特定の微生物株としては、大腸菌、腸炎エルシニア菌、エルシニア仮性結核菌、コレラ菌、腸炎ビブリオ菌、ビブリオ・バルニフィカス菌（*Vibrio vulnificus*）、リステリア・モノサイトゲネス（*Listeria monocytogenes*）、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、サッカロマイセス・セレヴィシエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、カンジダ・アルビカンス（*Candida albicans*）、ブドウ球菌エンテロトキシン亜種、セレウス菌、炭疽菌、バチルス・アトロファエウス（*Bacillus atrophaeus*）、枯草菌、ウェルシュ菌、ボツリヌス菌、クロストリジウム・ディフィシル（*Clostridium difficile*）、エン

50



テロバクター・サカザキ (Enterobactersakazakii)、緑膿菌など、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

【 0 0 8 8 】

微生物は、一般的に、濃縮剤に結合した後であっても生存可能である。これらの微生物は、適切な栄養素などの好ましい条件が利用可能であれば複製又は増殖が可能である。

【 0 0 8 9 】

微生物に対する濃縮剤の結合効率と呼ぶこともできる捕捉効率は、通常、試料中の微生物の全量に対して少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、又は少なくとも 9 5 % である。

【 0 0 9 0 】

濃縮装置又は濃縮剤により捕捉又は結合された（例えば、吸着又は篩い分けにより）微生物は、現在知られている又は今後開発される、実質的にあらゆる所望の方法によって検出可能である。このような方法には、例えば、培養による方法（時間が許す場合には好ましい場合がある）、顕微鏡法（例えば透過光型顕微鏡又は落射蛍光顕微鏡（蛍光染料で標識した微生物を可視化するのに使用できる））、及びその他のイメージング法、免疫学的検出方法、及び遺伝子的検出方法が挙げられる。微生物の捕捉後の検出プロセスは、必要に応じて、洗浄することにより試料マトリックスの構成成分を除去することと、濃縮装置の不織繊維状多孔質マトリックスを切片化するか又は他の方法により細かくすることと、染色することと、煮沸するか又は溶出緩衝液若しくは溶解剤を使用することにより細胞検体を濃縮装置から放出させることと、などを含み得る。

【 0 0 9 1 】

免疫学的検出法は、一般的に、細菌又はウイルス粒子の表面上のマーカーとして機能する生物学的分子（例えばタンパク質又はプロテオグリカン）である、標的生物に由来する抗原物質の検出である。抗原物質の検出は通常、抗体、例えばファージディスプレイなどのプロセスによって選択されたポリペプチド、又はスクリーニングプロセスにより得られるアプタマーによって行うことができる。

【 0 0 9 2 】

免疫学的検出方法は周知のものであり、例えば免疫沈降法及び酵素結合免疫吸着検定法（E L I S A）が挙げられる。抗体結合は、様々な方法で検出することができる（例えば、一次抗体又は二次抗体のいずれかを、蛍光染料、量子ドット、又は化学発光若しくは着色基質を生成できる酵素により標識し、プレートリーダー又はラテラルフロー装置のいずれかをを用いることにより）。

【 0 0 9 3 】

検出はまた、遺伝子アッセイ（例えば核酸ハイブリダイゼーション又はプライマーを用いた増幅）によって行うことができ、これは多くの場合、好ましい方法である。捕捉又は結合された微生物は溶解することでその遺伝物質をアッセイに利用することが可能となる。溶解方法は周知のものであり、例えば、超音波処理、浸透圧ショック、高温処理（例えば約 5 0 ～ 約 1 0 0 ）、及びリゾチーム、グルコラーゼ、ザイモリアーゼ（zymolase）、リチカーゼ、プロテイナーゼ K、プロテイナーゼ E、又はウイルスエンドリシン（enolysins）などの酵素と共にインキュベートすることが挙げられる。

【 0 0 9 4 】

一般的に使用されている遺伝子的検出アッセイの多くは、D N A 及び / 又は R N A を含む特定の微生物の核酸を検出するものである。遺伝子的検出法で用いられる条件のストリンジェンシーは、検出される核酸配列の変異レベルと相関する。高度に厳密な塩濃度及び温度の条件により、標的の正確な核酸配列に検出が限定される。このため、標的核酸配列にわずかな変異を有する微生物株を、高度に厳密な遺伝子アッセイを使用して判別することができる。遺伝子的検出は、一本鎖の核酸プローブが微生物の変性された核酸とハイブリダイズすることによって、プローブ鎖を含む二本鎖核酸を形成する核酸ハイブリダイゼーションに基づいたものであり得る。当業者には、ゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動、又はその他の分離方法を行った後にハイブリッドを検出するための、放射性標識、蛍光

10

20

30

40

50

標識、及び化学発光標識などのプローブ標識は馴染み深いものである。

【0095】

特に有用な遺伝子的検出法は、プライマーを用いた核酸増幅に基づくものである。プライマーを用いた核酸増幅方法には、例えば、熱サイクル法（例えばポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）、及びリガーゼ連鎖反応（LCR）、並びに等温法及び鎖置換増幅法（SDA）（及びこれらの組み合わせ、好ましくはPCR又はRT-PCR）が挙げられる。増幅産物を検出する方法としては、これらに限定されるものではないが、例えばゲル電気泳動分離及びエチジウムブロミド染色、並びに産物中に組み込んだ蛍光標識又は放射性標識の検出が含まれる。増幅産物の検出前に分離工程を必要としない方法（例えば、リアルタイムPCR又はホモジーニース検出法）を用いることもできる。

10

【0096】

生物発光検出法は周知のものであり、例えば、米国特許第7,422,868号（Fanら）に述べられるものを含むアデノシン三リン酸（ATP）検出方法が挙げられる。他の発光に基づく検出方法を使用することもできる。

【0097】

上記に述べた濃縮剤及び濃縮装置は、非特異的又は非株特異的なものであるため、これらを使用することで、同じ試料中の複数の微生物株をアッセイの標的とすることができる汎用捕捉システムを与えることができる。例えば、食品試料の汚染についてアッセイを行う場合、同じ試料内でリステリア・モノサイトゲネス（*Listeria monocytogenes*）、大腸菌、及びサルモネラのすべてについて試験を行うことが望ましい場合がある。1回の捕捉工程を行った後、例えば、これら微生物株のそれぞれから異なる核酸配列を増幅するための特異的プライマーを使用してPCR又はRT-PCRアッセイを行うことができる。これにより、それぞれの株について別々の試料取扱い及び調製手順を行う必要をなくすることができる。

20

【0098】

（a）少なくとも1つの上記に述べた濃縮装置又は濃縮剤と、（b）本発明の濃縮プロセスを行う際に使用するための少なくとも1つの試験容器又は試験試薬（好ましくは滅菌試験容器又は試験試薬）と、を含む診断キットが提供される。診断キットは、プロセスを行うための取り扱い説明書を更に含むことが好ましい。

30

【0099】

有用な試験容器又はホルダーとしては上記に述べたものが挙げられ、例えば、接触、インキュベーション、溶離液の回収、又は他の所望の処理工程に使用することができる。有用な試験試薬としては、微生物培養又は増殖培地、溶解剤、溶離剤、緩衝液、発光検出アッセイの構成要素（例えば、照度計、溶解剤、ルシフェラーゼ酵素、酵素基質、反応緩衝液など）、遺伝子的検出アッセイ構成要素など、及びこれらの組み合わせが挙げられる。好ましい溶解剤は、緩衝液中で与えられる溶解酵素又は薬品であり、好ましい遺伝子的検出アッセイの構成成分としては、標的微生物に特異的な1つ以上のプライマーが挙げられる。キットは必要に応じて滅菌ピンセットなどを更に含んでもよい。

【0100】

微生物を濃縮するためのプロセス又は微生物の濃縮剤を含む物品である異なる項目が提供される。

40

【0101】

項目1は、微生物を濃縮するためのプロセスである。このプロセスは、ランタン及び炭酸塩の両方を含有する濃縮剤を提供する工程を含む。濃縮剤は、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも0.05である。プロセスは、微生物を含有する液体試料を提供する工程、及び濃縮剤を液体試料と接触させる工程を更に含む。プロセスは、微生物を濃縮剤と結合させて、結合した微生物を形成する工程を更に含む。

【0102】

項目2は、濃縮剤が粒子を含む、項目1のプロセスである。

50

## 【 0 1 0 3 】

項目 3 は、粒子が、100 μm 以下の平均直径を有する、項目 2 のプロセスである。

## 【 0 1 0 4 】

項目 4 は、微生物が、細菌の株、真菌、酵母、原生動物、ウイルス、細菌の芽胞、又はこれらの混合物である、項目 1 ~ 3 のいずれかのプロセスである。

## 【 0 1 0 5 】

項目 5 は、微生物が、グラム陰性細菌又はグラム陽性細菌である、項目 1 ~ 4 のプロセスである。

## 【 0 1 0 6 】

項目 6 は、結合した微生物が生存状態にある、項目 1 ~ 5 のいずれか 1 つのプロセスである。

10

## 【 0 1 0 7 】

項目 7 は、結合した微生物を液体試料から分離する工程を更に含む、項目 1 ~ 6 のいずれか 1 つのプロセスである。

## 【 0 1 0 8 】

項目 8 は、濃縮剤が複数の粒子を含むとともに更に多孔質マトリックスを更に含み、複数の粒子が、多孔質マトリックス表面上に分散されるか、多孔質マトリックスの全体にわたって分散されるか、又は多孔質マトリックスの表面上及び全体にわたって分散される、項目 1 ~ 7 のいずれかのプロセスである。

## 【 0 1 0 9 】

20

項目 9 は、多孔質マトリックスが不織繊維を含む、項目 8 のプロセスである。

## 【 0 1 1 0 】

項目 10 は、不織繊維が、フィブリル化された繊維を含む、項目 9 のプロセスである。

## 【 0 1 1 1 】

項目 11 は、不織繊維が、ポリマー繊維、無機繊維、又はこれらの組み合わせである、項目 9 のプロセスである。

## 【 0 1 1 2 】

項目 12 は、多孔質マトリックスがポリマーバインダーを更に含む、項目 9 ~ 11 のいずれか 1 つに記載のプロセスである。

## 【 0 1 1 3 】

30

項目 13 は、ポリマーマトリックスが、焼結されたポリマー材料を含む、項目 8 のプロセスである。

## 【 0 1 1 4 】

項目 14 は、焼結されたポリマー材料が、焼結された熱可塑性ポリマーである、項目 13 のプロセスである。

## 【 0 1 1 5 】

項目 15 は、濃縮剤を提供する工程が、水溶性ランタン塩を、水溶性炭酸塩溶液、水溶性重炭酸塩溶液、又はこれらの混合物と混合することにより沈殿物を形成させることを含む、項目 1 ~ 14 のいずれか 1 つのプロセスである。

## 【 0 1 1 6 】

40

項目 16 は、濃縮剤を提供する工程が、沈殿物を 150 ~ 500 の範囲の温度で加熱することを更に含む、項目 15 のプロセスである。

## 【 0 1 1 7 】

項目 17 は、濃縮剤を提供する工程が、炭酸ランタン水和物粒子を、少なくとも部分的に無水炭酸ランタンを形成するのに十分な温度にまで加熱することを含む、項目 1 ~ 14 のいずれか 1 つのプロセスである。

## 【 0 1 1 8 】

項目 18 は、濃縮剤が、炭酸ランタン、オキシ炭酸ランタン、水酸化炭酸ランタン、又はこれらの混合物を含む、項目 1 ~ 14 のいずれか 1 つのプロセスである。

## 【 0 1 1 9 】

50

項目 19 は、濃縮剤が、無水物形又は水和物形である炭酸ランタンを含む、項目 18 のプロセスである。

【0120】

項目 20 は、濃縮剤が、無水物形又は水和物形であるオキシ炭酸ランタンを含む、項目 18 のプロセスである。

【0121】

項目 21 は、結合した微生物の存在を検出する工程を更に含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 つのプロセスである。

【0122】

項目 22 は、(a) ランタン及び炭酸塩を含み、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも 0.05 である濃縮剤と、(b) 前記濃縮剤と結合した微生物とを含有する物品である。

10

【0123】

項目 23 は、微生物が生存状態にある、項目 22 の物品である。

【0124】

項目 24 は、濃縮剤が、複数の粒子を含む、項目 22 又は 23 の物品である。

【0125】

項目 25 は、粒子が、100 μm 以下の平均直径を有する、項目 24 の物品である。

【0126】

項目 26 は、濃縮剤が、炭酸ランタン、オキシ炭酸ランタン、水酸化炭酸ランタン、又はこれらの混合物を含む、項目 22 ~ 25 のいずれか 1 つの物品である。

20

【0127】

項目 27 は、濃縮剤が、無水物形又は水和物形である炭酸ランタンを含む、項目 26 の物品である。

【0128】

項目 28 は、濃縮剤が、無水物形又は水和物形であるオキシ炭酸ランタンを含む、項目 26 の物品である。

【0129】

項目 29 は、濃縮剤及び多孔質マトリックスを含む物品である。濃縮剤は、ランタン及び炭酸塩の両方を含有する。濃縮剤の、ランタンに対する炭素の重量比が少なくとも 0.05 である。濃縮剤は、多孔質マトリックスの表面上に、多孔質マトリックスの全体に、又はこれらの組み合わせで分散される。

30

【0130】

項目 30 は、濃縮剤が複数の粒子を含む、項目 29 の物品である。

【0131】

項目 31 は、物品が小板の形状である、項目 30 の物品である。

【0132】

項目 32 は、多孔質マトリックスが、不織繊維及び必要に応じて用いられるポリマーバインダーを含む、項目 29 ~ 31 のいずれか 1 つの物品である。

【0133】

項目 33 は、不織繊維が、ポリマー繊維、無機繊維、又はこれらの組み合わせを含む、項目 32 の物品である。

40

【0134】

項目 34 は、多孔質マトリックスが、焼結されたポリマー材料である、項目 29 ~ 31 のいずれか 1 つの物品である。

【0135】

項目 35 は、焼結されたポリマー材料が、焼結された熱可塑性材料である、項目 34 の物品である。

【0136】

項目 36 は、多孔質マトリックスが、ろ過剤の形態である、項目 29 ~ 35 のいずれか

50

1つの物品である。

【0137】

項目37は、濃縮剤が、炭酸ランタン、オキシ炭酸ランタン、水酸化炭酸ランタン、又はこれらの混合物を含む、項目29～36のいずれか1つの物品である。

【0138】

項目38は、濃縮剤が、無水物形又は水和物形である炭酸ランタンを含む、項目37の物品である。

【実施例】

【0139】

実施例において使用する比率(%)は、特に断らない限りはすべて重量比率である。すべての実施例は、特に断らない限りは2重で試験を行った。 10

【0140】

材料

特に断らない限り、試薬はすべて、シグマ・アルドリッチ社(Sigma-Aldrich)又はブイ・ダブリュー・アール社(VWR)より標準製品として購入した。

【0141】

大腸菌(ATCC 51813)、黄色ブドウ球菌(ATCC 6538)、サッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)(ATCC 201390)、及びリステリア・モノサイトゲネス(*Listeria monocytogenes*)(ATCC 51414)を含むすべての細菌及び酵母培養物は、特に断らない限り、アメリカ培養細胞系統保存機関(The American Type Culture Collection)(バージニア州マナッサス)より購入した。特に断らない限り、試験用の細菌は、標準的な微生物学の手法に従って、トリプチックソイ寒天プレート上に培養物をストリークし、37で一晚インキュベートすることによって調製したストリーク培養物から単離した。試験用の酵母培養物は、標準的な微生物学の手法に従って、酵母抽出物ペプトンデキストロース寒天プレート上に培養物をストリークし、30で一晚インキュベートすることによって調製したストリーク培養物から単離した。 20

【0142】

本明細書で使用する「繊維1」なる用語は、ミニファイバーズ社(Minifibers, Inc)(テネシー州ジョンソンシティ)よりFYBEL 600の商品名で市販される、線質量密度が1デニールであるフィブリル化ポリエチレン繊維のことを指す。 30

【0143】

本明細書で使用する「繊維2」なる用語は、ミニファイバーズ社(Minifibers, Inc)(テネシー州ジョンソンシティ)より市販される、長さ2インチ(5.08cm)及び線質量密度が6デニールである短ナイロン繊維のことを指す。

【0144】

本明細書で使用する「繊維3」なる用語は、ミニファイバーズ社(Minifibers, Inc)(テネシー州ジョンソンシティ)より市販される、長さ5mm及び線質量密度が2デニールである2成分(エチレン酢酸ビニルとポリプロピレン)繊維のことを指す。

【0145】

本明細書で使用する「繊維4」なる用語は、シュラー社(Schuller Inc.)(コロラド州デンバー)よりMICRO-STRAND 106～475の商品名で市販されるガラス繊維のことを指す。 40

【0146】

炭酸ランタン水和物( $La_2(CO_3)_3 \cdot xH_2O$ )を、アルファ・エイサー社(Alfa Aesar)(マサチューセッツ州ワードヒル)より入手した。

【0147】

塩化ランタン( $LaCl_3$ )を、イー・エム・サイエンス社(EMScience)(ニュージャージー州ギブスタウン)より入手した。

【0148】

50

純度 99.9% の硝酸ランタン六水和物 ( $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 粉末を、アルファ・エイサー社 (Alfa Aesar) (マサチューセッツ州ワードヒル) より入手した。

【0149】

酸化ランタン ( $\text{La}_2\text{O}_3$ ) 粉末を、アルファ・エイサー社 (Alfa Aesar) (マサチューセッツ州ワードヒル) より入手した。

【0150】

重炭酸ナトリウム ( $\text{NaHCO}_3$ ) を、イー・エム・ディー・ケミカルズ社 (EMD Chemicals, Inc.) (ニュージャージー州ギブスタウン) より入手した。

【0151】

「ラテックスバインダー」なる用語は、エア・プロダクツ・ポリマーズ社 (ペンシルベニア州アレンタウン) より AIRFLEX 600BP の商品名で市販される、固形分 50 重量% の酢酸ビニルエマルションのことを指す。

10

【0152】

「凝集剤」なる用語は、ミッドサウス・ケミカル社 (Midsouth Chemical Co., Inc.) (ルイジアナ州リングールド) より MP 9307 の商品名で市販されるポリマー材料のことを指す。

【0153】

「DI 水」とは、ミリポア社 (Millipore) (マサチューセッツ州ウォルサム) より MILLI-Q GRADIENT SYSTEM の商品名で市販される浄化システムを通過させた、電気抵抗率が 18 M の脱イオン水のことを指す。

20

【0154】

「吸着緩衝液」なる用語は、pH が 7.2 に等しい溶液のことを指す。100X 強度の緩衝液として、DI 水に溶解した 5 mmol の KCL、1 mmol の  $\text{CaCl}_2$ 、0.1 mmol の  $\text{MgCl}_2$ 、及び 1 mmol の  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  を含むものを用いた。

【0155】

「BHI プロス」とは、ベクトン・ディキンソン社 (Becton Dickinson) (メリーランド州スパークス) より DIFCO BOVINE HEART INFUSION BROTH の商品名で市販されるものを、製造者の指示に従って 3.7 重量% となるように調製したものを指す。

【0156】

30

「バターフィールド緩衝液」とは、pH が  $7.2 \pm 0.2$  である一塩基性リン酸カリウム緩衝溶液のことを指す。この緩衝液は、ブイ・ダブリュー・アール社 (VWR) (ペンシルベニア州ウェストチェスター) より購入することができる。

【0157】

「トリブチックソイ寒天プレート」とは、3 重量% の DIFCO トリブチックソイ寒天を用い、製造者の指示に従って調製されたプレートのことを指す。DIFCO トリブチックソイ寒天は、ベクトン・ディキンソン社 (Becton Dickinson) (メリーランド州スパークス) より購入することができる。

【0158】

「MOX プレート」とは、ハーディー・ダイアグノスティクス社 (Hardy Diagnostics) (カリフォルニア州サンタマリア) より市販される、リステリア菌用に改変されたオックスフォード培地を使用して調製されたプレートのことを指す。

40

【0159】

「YPD 寒天プレート」とは、いずれもベクトン・ディキンソン社 (Becton Dickinson) (メリーランド州スパークス) より市販される 5 重量% 酵母抽出ペプトンデキストロス及び 1.5% 寒天を用い、製造者の指示に従って調製された寒天プレートのことを指す。

【0160】

「大腸菌プレート」とは、3M E. coli / Coliform (大腸菌 / 大腸菌群) ペトリフィルムプレートの商品名でスリー・エム社 (3M Company) (ミネソタ州セント

50

ボール)より市販されるプレートのことを指す。

【0161】

「ACプレート」とは、3M好気性細菌計数(Aerobic Count)ペトリフィルムプレートの商品名でスリー・エム社(3M Company)(ミネソタ州セントポール)より市販されるプレートのことを指す。

【0162】

「YMプレート」とは、3Mペトリフィルム酵母及びカビ(Yeast and Mold)プレートの商品名でスリー・エム社(3M Company)(ミネソタ州セントポール)より市販されるプレートのことを指す。

【0163】

「シリンジ」なる用語は、BD L U E R - L O Kの商品名で市販されるチップを有するものを指す。このようなシリンジは、バイ・ダブリュー・アール社(VWR)(ペンシルベニア州ウエストチェスター)より購入することができる。

【0164】

「フィルターホルダー」なる用語は、ミリポア社(Millipore)(マサチューセッツ州ベッドフォード)よりS w i n n e xの商品名で市販される13mmフィルターホルダーのことを指す。

【0165】

「ストマッカー」なる用語は、バイ・ダブリュー・アール社(VWR)(ペンシルベニア州ウエストチェスター)より購入することができる、S T O M A C H E R 400循環実験用ブレンダー(Circulator Laboratory Blender)の商品名で市販されるブレンダーのことをそれぞれ指す。「ストマッカーバッグ」とは、バイ・ダブリュー・アール社(VWR)より購入することができる、F I L T R A - B A Gの商品名で市販されるポリエチレン試料バッグのことを指す。

【0166】

バイオメルークス社(bioMerieux, Inc.)(ノースカロライナ州ダーハム)よりD E N S I C H E Kの商品名で市販される濃度計を使用して、0.5マクファーランド標準液を調製した。マクファーランド番号0.5とは、約 $1 \sim 1.5 \times 10^8$  C F U / m Lの細菌濃度に相当する。C F Uなる用語は、コロニー形成単位のことを指す。マクファーランド標準液を、細菌数が所定の範囲内となるように、細菌懸濁液の濁度を調整するための基準として用いた。

【0167】

X線回折分析

試料は、ゼロバックグラウンドの石英インサート上で直接調べた。反射幾何学データを、P h i l i p s垂直回折計、銅K 線、及び散乱放射の比例検出器レジストリを用いてサーベイスキャンの形で収集した。回折計に、可変入射ビームスリット、固定回折ビームスリット、及びグラファイト回折ビームモノクロメータを取り付けた。サーベイスキャンは、0.04度のステップサイズ及び4秒の滞留時間を用いて5~80度(2 )で行った。X線発生器は45 k V及び35 m Aに設定した。粉末回折ファイル(P D F)を、回折パターンに観察される反射に基づき、試料中に存在する相の同定に使用した。

【0168】

走査電子顕微鏡(SEM)イメージング

試料を、アルミニウムスタブ上に貼着された両面カーボンテープ上に装填した。装填された試料を、スパッターコーター(テッド・ペラ社(Ted Pella, Inc.)(カリフォルニア州アーバイン)より販売されるSEMコーティングユニットP S 3)を用いてA u / P dでコーティングすることにより、イメージングの際の帯電効果を抑制した。コーティングした試料は、以下のイメージング条件: 20 k V及び作動距離(W . D . ) 17 mmで、ジェー・イー・オー・エル・ユー・エス・エー社(JEOL USA, Inc.)(マサチューセッツ州ピーボディ)より販売されるJ E O L J S M - 6 4 0 0走査電子顕微鏡を使用して2次電子モードでイメージングした。

10

20

30

40

50

## 【0169】

## ランタン分析

元素分析に使用した器具は、パーキンエルマー（Perkin Elmer）社のOptima 8300誘導結合プラズマ（ICP）光学放射分光光度計であった。試料は、0、0.2、0.5、及び1.0パーセント・パー・ミリオン（ppm）のランタンを含有する酸マッチングした基準溶液を用いて生成した外部検量線に対して分析した。0.5 ppmの品質管理基準を使用して、分析中の検量線の精度を監視した。0.5 ppmスカンジウム溶液をサンプル及び基準とともに測定して、内部基準として用いた。一般的な分析では、10ミリグラム（mg）の試料をポリプロピレン遠心チューブ中に0.01 mg単位で秤量し、2体積％の硝酸水溶液で溶解した。固形物が完全に分解した時点で、溶液を脱イオン水で50 mLにまで希釈した。分析に先立ち、溶液を更に体積で100倍に希釈して、ランタン濃度を線形検量範囲内とした。

10

## 【0170】

## 炭素分析

LECOモデル932 CHNS元素分析装置を使用して、燃焼により炭素の重量比率（％）について試料を分析した。試料は、少なくとも3重で測定し、結果を標準偏差とともに各実験の測定値の平均として報告した。試料の分析に先立って、スルファメタジン基準を用いた検量線を生成した。特に断らない限り、炭素の絶対標準偏差は、 $\pm 0.5$ 重量％未満であった。炭素の検出限界は、0.50重量％であった。

## 【0171】

## 実施例1：濃縮剤1

ランタン／炭酸塩含有物質（濃縮剤1）を、ビーカー内で、等量の10重量％の硝酸ランタン（ $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）の水溶液を、6重量％の重炭酸ナトリウム（ $\text{NaHCO}_3$ ）の水溶液に、マグネチックスターラーバーで絶えず攪拌しながら滴下することにより調整した。重炭酸塩の添加開始から数分後、明白色の固体が溶液から沈殿した。この固体を真空濾過してから、濾紙（ワットマン濾紙5番）を装着したブフナー漏斗内で脱イオン水により洗浄した。固体を室温の空气中で一晩乾燥して、ランタンを含有する濃縮剤1を得た。この物質（濃縮剤1）のX線回折分析により、鉱物であるカルキンサイト（PDF：6-0076）と構造が類似した相の存在が示された。濃縮剤1の走査電子顕微鏡（SEM）イメージングによれば、粒子は、板状の形態を有していた。個々の小板は、厚さが数百nmであり、平面の寸法は数ミクロンであった。これらの小板は、数十μmまでの粒径のより大きな粒子に凝集する傾向を示した。炭素含量は、5.39重量％であった。ランタン含量は、49.3重量％であった。ランタンに対する炭素の重量比は、0.109であった。

20

30

## 【0172】

## 実施例2：濃縮剤2（濃縮剤1を300℃で加熱したもの）

実施例1で調製した濃縮剤1を、箱形炉（カーボライト社（Carbolite LTD）（英国、ホーブバレー）より販売されるCarbolite RHF 1500炉）内で室温から300℃まで30分かけて昇温した後、300℃の石英ボート内で1時間、空气中で焼結した。得られた白色粉末（濃縮剤2）をX線解析で分析したところ、炭酸ランタンの存在（PDF：6-0076及び／又は4-010-3609）を示した。X線解析パターンは、（200）及び（400）平面に沿った強い配向を、また、無秩序かつ／又は小粒化されたオキシ炭酸ランタン相（PDF：48-1113）に帰着されるブロードな反射群を示した。濃縮剤2の走査電子顕微鏡（SEM）イメージングによれば、この物質は、実施例1で調製した濃縮剤1と同様の板状の形態を有していた。このような板状の形態は、X線回折分析で観察された強い配向効果と符合するものである。炭素含量は、 $6.73 \pm 0.16$ 重量％であった。ランタン含量は、 $57.9 \pm 0.8$ 重量％であった。ランタンに対する炭素の重量比は、 $0.116 \pm 0.003$ であった。

40

## 【0173】

## 比較例1：（濃縮剤1を550℃で加熱したもの）

50



実施例 1 で調製した濃縮剤 1 を、箱形炉（カーボライト社（Carbolite LTD）（英国、ホープバレー）より販売される Carbolite RHF 1500 炉）内で室温から 550 まで 60 分かけて昇温した後、550 の石英ポート内で 1 時間、空気中で焼結した。得られた白色粉末（比較例 1）は、X 線解析により示されるように、オキシ炭酸ランタン（PDF：48-1113）を含有することが示された。この物質の SEM イメージングは、実施例 2 で調製した物質と同様の形態及び大きさを示した。炭素含量は、 $2.88 \pm 0.03$  重量%であった。ランタン含量は、 $72.3$  重量%であった。ランタンに対する炭素の重量比は、 $0.040 \pm 0.0004$  であった。

【0174】

実施例 3：濃縮剤 3

濃縮剤 3 は、市販の炭酸ランタン水和物（ $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ）であった。X 線回折によれば、この物質は、ランタナイト（ $\text{La}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ）（PDF：4-010-3609）を含有していた。走査電子顕微鏡（SEM）イメージングによれば、濃縮剤 4 は、板状の形態を有していた。個々の小板は、一般的に厚さ  $1\mu\text{m}$  よりも厚く、平面の寸法は数十ミクロンであった。これらの小板は、数十  $\mu\text{m}$  までの粒径のより大きな粒子に凝集する傾向を示した。炭素含量は、 $5.31 \pm 0.12$  重量%であった。ランタン含量は、 $44 \pm 1$  重量%であった。ランタンに対する炭素の重量比は、 $0.121 \pm 0.004$  であった。

【0175】

実施例 4：（濃縮剤 3 を 300 に加熱したもの）

実施例 3 で述べた濃縮剤 3 を、箱形炉（カーボライト社（Carbolite LTD）（英国、ホープバレー）より販売される Carbolite RHF 1500 炉）内で室温から 300 まで 30 分かけて昇温した後、300 の石英ポート内で 1 時間、空気中で焼結した。得られた白色粉末（濃縮剤 4）は、濃縮剤 1 と同様の X 線回折パターンを有していた。走査電子顕微鏡（SEM）イメージングによれば、形態及び微小構造は濃縮剤 3 と同様であった。炭素含量は、 $7.15 \pm 0.12$  重量%であった。ランタン含量は、 $57.7 \pm 0.3$  重量%であった。ランタンに対する炭素の重量比は、 $0.124 \pm 0.002$  であった。

【0176】

比較例 2：（濃縮剤 3 を 550 に加熱したもの）

実施例 3 で述べた濃縮剤 3 を、箱形炉（カーボライト社（Carbolite LTD）（英国、ホープバレー）より販売される Carbolite RHF 1500 炉）内で室温から 550 まで 60 分かけて昇温した後、550 の石英ポート内で 1 時間、空気中で焼結した。X 線回折によれば、得られた白色粉末（比較例 2）はオキシ炭酸ランタン（PDF：48-1113）を含有していた。この物質の走査電子顕微鏡（SEM）イメージングにより、この物質が濃縮剤 3 と同様の形態及び大きさを有することが示された。炭素含量は、 $2.86 \pm 0.04$  重量%であった。ランタン含量は、 $72.3 \pm 0.8$  重量%であった。ランタンに対する炭素の重量比は、 $0.040 \pm 0.001$  であった。

【0177】

微生物懸濁液 1：大腸菌の懸濁液

グラム陰性細菌である大腸菌（E. coli）のストリーク培養物を用いて、3 mL の DI 水中、マクファールランド標準液 0.5 を調製した。 $10^8$  CFU/mL を含む、得られた細菌ストック液を吸着緩衝液中で連続希釈して、懸濁液 1 mL 当たり  $10^3$  個の微生物を有する細菌懸濁液を得た。

【0178】

実施例 5：実施例 2 による大腸菌の捕捉

実施例 5 は、体積 1.0 mL の微生物懸濁液 1 を、10 mg の実施例 2 で調製した濃縮剤 2 が入れられた、ベクトン・ディキンソン社（Becton Dickinson）（ニュージャージー州、フランクリンレイクス）より BD Falcon の商品名で市販される、ラベルが貼られた滅菌 5 mL ポリプロピレンチューブに加えることにより調製した。捕捉効率を表 1

10

20

30

40

50

に示す。

【 0 1 7 9 】

比較例 3：比較例 1 による大腸菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 1 0 m g の比較例 1 を使用した点以外は実施例 5 と同様にして比較例 3 を調製した。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 0 】

実施例 6：実施例 3 からの濃縮剤 3 による大腸菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 1 0 m g の実施例 3 で述べた濃縮剤 3 を使用した点以外は実施例 5 と同様にして実施例 6 を調製した。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 1 】

実施例 7：濃縮剤 4 による大腸菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 1 0 m g の実施例 4 で調製した濃縮剤 4 を使用した点以外は実施例 5 と同様にして実施例 7 を調製した。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 2 】

比較例 4：比較例 2 による大腸菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 1 0 m g の比較例 2 を使用した点以外は実施例 5 と同様にして比較例 4 を調製した。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 3 】

比較例 5： $\text{La}_2\text{O}_3$  による大腸菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 1 0 m g の酸化ランタン ( $\text{La}_2\text{O}_3$ ) を使用した点以外は実施例 5 と同様にして比較例 C 5 を調製した。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 4 】

比較例 C 6： $\text{LaCl}_3$  による大腸菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 1 0 m g の塩化ランタン ( $\text{LaCl}_3$ ) を使用した点以外は実施例 5 と同様にして比較例 C 6 を調製した。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 5 】

比較例 C 7： $\text{LaCl}_3$  による大腸菌の捕捉

1 0 m g の塩化ランタンを 1 m L の濾過滅菌した D I 水に加えて 1 0 m g / m L 溶液 ( 4 0 m m o l 分散液 ) を調製することにより比較例 C 7 を調製した。次いで、この分散液 5  $\mu$  L を滅菌 5 m L チューブ内で 1 m L の微生物懸濁液 1 に加えた。比較例 C 7 の塩化ランタン濃度は、細菌懸濁液 1 m L 当たり 0 . 2 m m o l であった。捕捉効率を表 1 に示す。

【 0 1 8 6 】

大腸菌の捕捉効率：実施例 5 ~ 7 及び比較例 C 3 ~ C 7

1 . 0 m L の微生物懸濁液 1 を、ベクトン・ディキンソン社 ( Becton Dickinson ) ( ニュージャージー州、フランクリンレイクス ) より B D F a l c o n の商品名で市販される、ラベルが貼られた滅菌 5 m L ポリプロピレンチューブに加えることによりコントロール試料を調製した。濃縮剤は加えなかった。1 つのコントロール試料は、大腸菌 1 m L 当たり 1 3 0 C F U を含み、別のコントロール試料は、大腸菌 1 m L 当たり 1 3 5 C F U を含んでいた。

【 0 1 8 7 】

実施例 5 ~ 7、比較例 C 3 ~ C 7、及びコントロール試料の入ったチューブにキャップをし、ボルテックスミキサー ( バーンステッド・インターナショナル社 ( Barnstead International ) ( アイオワ州ドゥビューク ) より販売される T h e r m o l y n e M a x i m i x P l u s ボルテックスミキサー ) 上で混合した。次いで各チューブを、プラットフォームロッカー ( バーンステッド・インターナショナル社 ( Barnstead International ) より販売される T h e r m o l y n e V a r i M i x プラットフォームロッカー ) 上で毎分 1 4 サイクルで 1 0 分間、室温 ( 2 5 ) で揺動した。比較例 C 7 のチューブは、更に 2 0 分間、全体で 3 0 分間揺動した。揺動後、各チューブを 1 0 分間沈殿させた。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 8 8 】

沈殿した物質を、1 mL 滅菌バタフィールド緩衝液に再懸濁し、製造者の指示に従って A C プレート上に接種した。コントロール試料も同様に A C プレート上に接種した。各プレートを 37 で 18 ~ 20 時間インキュベートし、製造者の指示に従って、3 M P e t r i f i l m プレートリーダー（スリー・エム社（3M Company）（ミネソタ州セントポール）より販売されるもの）を使用してコロニーカウントについて分析した。捕捉効率（効率）は、再懸濁された物質上で捕捉された微生物の数（％）に等しい。捕捉効率は、再懸濁された物質からカウントされたコロニーの数（捕捉）と、非処理のコントロール試料からカウントされたコロニーの数（コントロール）とから、以下の式に従って求めた。

すなわち、

$$\text{捕捉効率（％）} = \left( \left( \text{捕捉} \right) / \left( \text{コントロール} \right) \right) \times 100$$

大腸菌の捕捉効率の結果を表 1 に示す。効率の標準偏差は、特に断らない限りは 10 % 未満である。

## 【 0 1 8 9 】

## 【表 1】

表 1：大腸菌の捕捉効率

実施例	効率（％）
5*	93
C3**	74
6*	54
7**	89
C4**	51 (標準偏差 18%)
C5*	58
C6*	0
C7*	0

\* これらの実施例のコントロール試料は、大腸菌 1 mL 当たり 130 CFU を含んでいた。

\*\* これらの実施例のコントロール試料は、大腸菌 1 mL 当たり 135 CFU を含んでいた。

## 【 0 1 9 0 】

微生物懸濁液 2：黄色ブドウ球菌の懸濁液

グラム陽性細菌である黄色ブドウ球菌（S. aureus）のストリーク培養物を用いて、3 mL の D I 水中、マクファーランド標準液 0.5 を調製した。10<sup>8</sup> CFU / mL を含む、得られた細菌ストック液を吸着緩衝液中で連続希釈して、懸濁液 1 mL 当たり 10<sup>3</sup> 個の微生物を有する細菌懸濁液を得た。

## 【 0 1 9 1 】

実施例 8：濃縮剤 2 による黄色ブドウ球菌の捕捉

実施例 8 は、体積 1.0 mL の微生物懸濁液 2 を、10 mg の実施例 2 で調製した濃縮剤 2 が入れられた、ベクトン・ディキンソン社（Becton Dickinson）（ニュージャージー州、フランクリンレイクス）より B D F a l c o n の商品名で市販される、ラベルが貼られた滅菌 5 mL ポリプロピレンチューブに加えることにより調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

## 【 0 1 9 2 】

比較例 C 8：比較例 1 による黄色ブドウ球菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 10 mg の比較例 1 を使用した点以外は実施例 8 と同様にして比較例 C 8 を調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

## 【 0 1 9 3 】

実施例 9：濃縮剤 3 による黄色ブドウ球菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 10 mg の実施例 3 で述べた濃縮剤 3 を使用した点以外は実施例 8 と同様にして実施例 9 を調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

【0194】

実施例 10：濃縮剤 4 による黄色ブドウ球菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 10 mg の実施例 4 で述べた濃縮剤 4 を使用した点以外は実施例 8 と同様にして実施例 10 を調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

【0195】

比較例 9：比較例 2 による黄色ブドウ球菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 10 mg の比較例 2 を使用した点以外は実施例 8 と同様にして比較例 C 9 を調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

10

【0196】

比較例 C 10： $\text{La}_2\text{O}_3$  による黄色ブドウ球菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 10 mg の酸化ランタン ( $\text{La}_2\text{O}_3$ ) を使用した点以外は実施例 8 と同様にして比較例 C 10 を調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

【0197】

比較例 C 11：濃縮剤  $\text{LaCl}_3$  による黄色ブドウ球菌の捕捉

濃縮剤 2 の代わりに 10 mg の塩化ランタン ( $\text{LaCl}_3$ ) を使用した点以外は実施例 8 と同様にして比較例 C 11 を調製した。捕捉効率を表 2 に示す。

【0198】

20

比較例 C 12： $\text{LaCl}_3$  による黄色ブドウ球菌の捕捉

10 mg の塩化ランタンを 1 mL の濾過滅菌した DI 水に加えて 10 mg/mL 溶液 (40 mmol 分散液) を調製することにより比較例 C 12 を調製した。次いで、この分散液 5  $\mu\text{L}$  を滅菌 5 mL チューブ内で 1 mL の微生物懸濁液 2 に加えた。比較例 C 12 の塩化ランタン濃度は、細菌懸濁液 1 mL 当たり 0.2 mmol であった。捕捉効率を表 2 に示す。

【0199】

黄色ブドウ球菌の捕捉効率：実施例 8 ~ 10 及び比較例 C 8 ~ C 12

1.0 mL の微生物懸濁液 2 を、ベクトン・ディキンソン社 (Becton Dickinson) (ニュージャージー州、フランクリンレイクス) より BD Falcon の商品名で市販される、ラベルが貼られた滅菌 5 mL ポリプロピレンチューブに加えることによりコントロール試料を調製した。濃縮剤は加えなかった。1つのコントロール試料は、黄色ブドウ球菌 1 mL 当たり  $1.4 \times 10^8$  CFU を含み、別のコントロール試料は、黄色ブドウ球菌 1 mL 当たり  $1.95 \times 10^8$  CFU を含んでいた。

30

【0200】

実施例 8 ~ 10、比較例 C 8 ~ C 12、及びコントロール試料の入ったチューブにキャップをし、ボルテックスミキサー (バーンステッド・インターナショナル社 (Barnstead International) (アイオワ州ドゥビューク) より販売される Thermolyne Maxi Mix Plus ボルテックスミキサー) 上で混合した。次いで各チューブを、プラットフォームロッカー (バーンステッド・インターナショナル社 (Barnstead International) より販売される Thermolyne Vari Mix プラットフォームロッカー) 上で毎分 14 サイクルで 10 分間、室温 (25 °C) で揺動した。比較例 C 12 のチューブは、更に 20 分間、全体で 30 分間揺動した。揺動後、各チューブを 10 分間沈殿させた。

40

【0201】

沈殿した物質を、1 mL 滅菌バターフィールド緩衝液に再懸濁し、製造者の指示に従って AC プレート上に接種した。コントロール試料も同様に AC プレート上に接種した。各プレートを 37 °C で 18 ~ 20 時間インキュベートし、製造者の指示に従って、3M PETRIFILM プレートリーダー (スリー・エム社 (3M Company) (ミネソタ州セントポール) より販売されるもの) を使用してコロニーカウントについて分析した。捕捉効率

50

は上記に述べたようにして計算した。黄色ブドウ球菌の捕捉効率の結果を表 2 に示す。効率の標準偏差は、特に断らない限りは 10 % 未満である。

【 0 2 0 2 】

【表 2】

表 2：黄色ブドウ球菌の捕捉効率

実施例	効率 (%)
8 *	100
C8 **	60 (標準偏差 20%)
9 *	56
10 **	90
C9 **	60
C10 *	97
C11 *	0
C12 *	0

10

\* これらの実施例のコントロール試料は、黄色ブドウ球菌 1 mL 当たり 195 CFU を含んでいた。

\*\* これらの実施例のコントロール試料は、黄色ブドウ球菌 1 mL 当たり 140 CFU を含んでいた。

20

【 0 2 0 3 】

実施例 11：濃縮剤 2 による希釈大腸菌の捕捉

大腸菌のストリーク培養物を用いて、3 mL の濾過滅菌水中、マクファーランド標準液 0.5 を調製した。1 × 10<sup>8</sup> CFU/mL を含む、得られた細菌ストック液を水で連続希釈して、約 100 CFU/mL を有する細菌懸濁液を得た。この細菌懸濁液を 100 mL の水道水で 1:1000 に希釈することによって全体で約 10 CFU の濃度を有する微生物懸濁液を与えることにより、希釈懸濁液を調製した。体積 1 mL の吸着緩衝液及び 100 mL の希釈微生物懸濁液を、バイ・ダブリュー・アール社 (VWR) より入手した滅菌 250 mL ポリプロピレン製円錐底遠心チューブに加えた。

30

【 0 2 0 4 】

実施例 2 で調製した濃縮剤 2 (100 mg) を、希釈微生物懸濁液に加えた。2 重の試料を調製した。各チューブにキャップをし、プラットフォームロッカー上で 14 サイクル / 分で 30 分間、室温 (25) で揺動した。揺動後、チューブの内容物を約 30 分間沈殿させた。

【 0 2 0 5 】

各試料から 99 mL の体積をピペットで吸引して捨て、沈殿した物質を含んだ 1 mL の水を残した。各チューブからの沈殿物質をピペットで取り出して、別の大腸菌プレートに接種した。各プレートを 37 で 18 ~ 20 時間インキュベートし、製造者の指示に従って、3M Petrifilm プレートリーダー (スリー・エム社 (3M Company) (ミネソタ州セントポール) より販売されるもの) を使用してコロニーカウントについて分析した。捕捉効率を計算したところ、標準偏差 20 % 未満で 100 % であった。希釈した微生物懸濁液は、100 mL 当たり 3 CFU を含んでいた。濃縮剤 2 により捕捉された平均の CFU は 3 CFU であった。

40

【 0 2 0 6 】

実施例 12：濃縮剤 2 (5 g) を含む多孔質マトリックス

30.0 g の繊維 1、6.0 g の繊維 2、4.5 g の繊維 3、及び 3.0 g の繊維 4 を、4 L の冷たい水道水と、4 L のブレンダー (バイ・ダブリュー・アール社 (VWR Co.) (ペンシルベニア州ラドナー) より販売される Warning 商業用耐久型ブレンダー、モデル 37BL84) 内で、中速で 90 秒間混合することにより繊維ブレミックスを調製し

50

た。この混合物を、ニット (nits) 又は凝塊のない繊維の均一な分散について調べ、凝塊がすべて細くなるように必要なだけ更にブレンドした。次いで、1 L の繊維プレミックスを 1 L ステンレス鋼ビーカーに加え、インペラミキサー (サーモ・フィッシャー・サイエンティフィック社 (ThermoFisher Scientific) (マサチューセッツ州ウォルサム) より販売される Fisher Scientific Stedfast 攪拌器モデル SL 2400) で速度設定 4 として 5 分間混合した。次いで、1.0 g のラテックスバインダーを 50 mL ビーカー内で約 25 mL の水道水に分散し、混合物に加えた。ビーカーを更に約 25 mL の水道水ですすぎ、これを混合物に加えて約 2 分間混合した。同様にして、0.5 g の凝集剤を約 25 mL の水道水に分散し、混合下で混合物に加えた後、ビーカーから更に約 25 mL のすすぎ水を加えた。ラテックスバインダーが溶液から繊維上に析出し、プレミックスの液相は濁った状態からほぼ透明に変化した。次いで、実施例 2 で調製した 5.0 g の濃縮剤 2 を加え、ボルテックスミキサーで 1 分間混合した。

#### 【0207】

ウィリアムズ・アパラタス社 (Williams Apparatus) (ニューヨーク州ウォータータウン) より入手した TAPPI パッドメーカー装置を使用して、フェルトを調製した。この装置は、底部に目の細かいスクリーン及び排水弁を有する約 20 cm (8 インチ) 四方で高さ 20 cm (8 インチ) の箱を有していた。この箱に、スクリーンの上約 1 cm の高さにまで水道水を満たした。粒子を含有する混合物を箱に注ぎ入れ、直ちに弁を開くと、形成された真空により箱から水が抜かれた。得られたウェットレイドフェルトは、厚さ約 3 mm であった。

#### 【0208】

このウェットレイドフェルトを装置から 20 cm 四方のプロッター紙 (アンカー・ペーパー社 (Anchor Paper) (ミネソタ州セントポール) より販売される 96 ポンド (43 kg) の白紙) のシート上に移した。シートの湿り具合に応じてこのフェルトを 2 ~ 4 層のプロッター紙の間に挟み、60 ポンド / 平方インチ (0.41 MPa) (フェルト上に約 12 ポンド / 平方インチ (82.7 kPa) の圧力が作用するように計算した) に設定した空圧プレス機により 2 枚の強化スクリーンの間で 1 ~ 2 分間、水がそれ以上しみ出なくなることが観察されるまでプレスした。次いで、プレスしたフェルトを新しいプロッター紙のシート上に移し、120 に設定したオープン (エス・ピー・エックス・サーマル・プロダクト・ソリューションズ社 (SPX Thermal Product Solutions) (ペンシルベニア州ホワイドディア) より販売される BLUE M Stabil-Therm オープン、モデル OV-560A2) に約 40 分間入れることによって残留する水を除去し、ラテックスバインダーを硬化させて多孔質マトリックスを形成した。

#### 【0209】

実施例 13 : 濃縮剤 2 (10 g) を含む多孔質マトリックス

10.0 g の濃縮剤 2 を加えた点以外は実施例 12 の手順に従って多孔質マトリックスを調製した。

#### 【0210】

微生物懸濁液 3 : L. モノサイトゲネス (L. monocytogenes) の懸濁液

リステリア・モノサイトゲネス (L. monocytogenes) のストリーク培養物を用いて、3 mL の BHI ブロス中、マクファーランド標準液 0.5 を調製した。約  $10^8$  CFU/mL を含む、得られた細菌ストック液を BHI ブロス中で連続希釈して、約  $10^3$  CFU/mL を有する細菌懸濁液を得た。

#### 【0211】

実施例 14 : 実施例 12 の多孔質マトリックス / 濃縮剤による L. モノサイトゲネス (L. monocytogenes) の捕捉

直径 14 mm の円形片を実施例 12 の物品から打ち抜き、フィルターホルダー (Swinne) に挿入した。3 mL シリンジを使用して 1.5 mL の微生物懸濁液 3 をフィルターホルダー内の円形試料上加えた。フィルターホルダーを容器に被せて濾液を回収し、約 15 秒間で濾過を完了した。捕捉効率を表 3 に示す。

## 【0212】

実施例15：実施例13の多孔質マトリックス／濃縮剤によるL．モノサイトゲネス（*L.monocytogenes*）の捕捉

実施例12の代わりに実施例13の物品から円形片を打ち抜いた点以外は実施例14に述べたのと同様の手順に従って実施例15を調製し、濾過した。捕捉効率を表3に示す。

## 【0213】

実施例14～15によるL．モノサイトゲネス（*L. monocytogenes*）の捕捉効率

実施例14及び15で得られた各濾液から100μLの体積をMOXプレート上に接種した。100μLの濾過しない微生物懸濁液3をMOXプレート上に接種することによりコントロールを調製した。実施例14及び15からの円形物品を、各濾過の後で表面を滅菌したピンセットを使用してフィルターホルダーから取り出し、100μLのバターフィールド緩衝液とともにMOXプレート上に置いた。すべてのプレートを37℃で18～20時間インキュベートした。コロニーをマニュアルでカウントした。

## 【0214】

コントロール試料は3370CFU/mL（5055CFU/1.5mL）を有していた。接種した円形物品はいずれもL．モノサイトゲネス（*L. monocytogenes*）の増殖を示し、捕捉された細菌細胞が生存可能であることが示された。

## 【0215】

濾液からのコロニーのカウントを用い、円形物品の捕捉効率を以下のようにして計算した。濾過効率（効率）は、濾液からカウントされたコロニーの数（濾液カウント）と、濾過しないコントロール試料からカウントされたコロニーの数（コントロールカウント）とから、以下の式に従って求めた。すなわち、

## 【0216】

濾過効率（％）＝（（濾液カウント）／（コントロールカウント））×100

捕捉効率（％）＝100－濾過効率

捕捉効率の結果を表3に示す。

## 【0217】

## 【表3】

表3：L．モノサイトゲネス（*L. monocytogenes*）の捕捉効率

実施例	効率（％）
14	63
15	83

## 【0218】

実施例16：実施例13の多孔質マトリックス／濃縮剤による大腸菌の除去

大腸菌のストリーク培養物を用いて、3mLの滅菌DI水中、マクファールランド標準液0.5を調製した。1×10<sup>8</sup>CFU/mLを含む、得られた細菌ストック液をDI水で連続希釈して、約10<sup>5</sup>CFU/mLを有する細菌懸濁液を得た。

## 【0219】

直径14mmの円形片を実施例13の物品から打ち抜き、フィルターホルダー（Swinnex）に挿入した。3mLシリンジを使用して1.0mLの微生物懸濁液をフィルター内の円形片上加えた。濾過後、濾液を回収し、DI水で1：100に希釈し、大腸菌プレート上に接種した。約10<sup>5</sup>CFU/mLを有する細菌懸濁液をバターフィールド緩衝液で1：100の倍率で希釈してから1mLの希釈液を接種することにより、コントロール試料を調製した。プレートを37℃で18～20時間インキュベートした。3M PETRIFILMプレートリーダーを使用してコロニーカウントを測定した。

## 【0220】

対数減少値（LRV）は、濾過マトリックスの細菌除去性能の指標である。この値は、下式に従い、コントロール中のコロニーカウント（CFU/mL）の対数値（Logコントロールカウント）から濾液中のコロニーカウント（濾液カウント）の対数値を差し引く

ことによって計算した。すなわち、

$$LRV = (\log_{10}(\text{コントロールカウント})) - (\log_{10}(\text{濾液カウント}))$$

【0221】

コントロールは、130,000 CFU/mL (5.1 log CFU/mL) の平均のコロニーカウントを示した。濾液ではカウントは認められず、実施例13の円形物品のLRVは5であった。

【0222】

微生物懸濁液4：S.セレヴィシエ (*S. cerevisiae*) のビール懸濁液

YPD寒天プレートからのサッカロマイセス・セレヴィシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) のストリーク培養物を用いて、最寄りの小売業者より購入したビール (アルコール4.3%のミケロブ (Michelob) ゴールデンライトドラフトビール) 3 mL 中、マクファールランド標準液0.5を調製した。約  $10^6$  CFU/mL を含む、得られた酵母ストック液をビールで連続希釈して  $10^3$  CFU/mL を含む酵母懸濁液を得た。この試料をコントロール酵母懸濁液と呼ぶものとする。この懸濁液の1:100希釈液を100 mL のビール中に接種して10 CFU/mL とすることにより、酵母添加 (spiked) ビール試料を調製した。この試料を、酵母添加ビールコントロール又は微生物懸濁液4と呼ぶものとする。

【0223】

実施例17：実施例12の多孔質マトリックス/濃縮剤上のS.セレヴィシエ (*S. cerevisiae*) の濃度

直径14 mmの円形片を実施例12から打ち抜き、フィルターホルダー (Swinnex) に挿入した。20 mL シリンジを用いて、微生物懸濁液4 (100 mL) をフィルターホルダーに5つのパッチで加えた。試料の全体が多孔質マトリックス/濃縮剤を通過した後、表面を滅菌したピンセットで円形片を空の滅菌1.5 mL ポリプロピレンマイクロ遠心チューブ (バイ・ダブリュー・アール社 (VWR)、カタログ番号89000-028) に移した。これを実施例17とする。

【0224】

次いで、実施例17の捕捉効率を求めるため、100  $\mu$ L の酵素溶液及び50  $\mu$ L の、試料調製キット (スリー・エム社 (3M Company) (ミネソタ州セントポール) より販売される3M CLEAN-TRACE 表面ATPシステム) からの抽出溶媒をマイクロ遠心チューブに加えた。内容物をボルテックスミキサー (バイ・ダブリュー・アール社 (VWR) (ペンシルベニア州ウェストチェスター) より販売されるVWR固定速度型ボルテックスミキサー) 上で約3200回転/分で5秒間混合した。20/20 n S I S ソフトウェアを備えたベンチトップ照度計 (ターナー・バイオシステム社 (Turner Biosystems) (カリフォルニア州サニーベール) より販売される20/20 n シングルチューブ照度計) を使用して試料のATPシグナルを相対光単位 (RLU) で1分間、10秒間隔で測定した。ルミネセンス値を下記に述べるようにして分析した。捕捉された微生物を予め抽出/溶出する必要なくATPの直接的検出を行った。

【0225】

100 mL の酵母無添加 (unspiked) ビール (すなわち、S.セレヴィシエ (*S. cerevisiae*) を加えないビール) を、実施例12の多孔質マトリックス/濃縮剤から打ち抜いた円形片に通して濾過することにより、バックグラウンドのATPレベルを測定した。このコントロール円形片を、実施例17について上記に述べた手順に従って処理し、ATPシグナルを測定した。

【0226】

100  $\mu$ L のビールのためのATPシグナル (酵母無添加ビールのバックグラウンド) も測定した。酵母無添加ビールとは、S.セレヴィシエ (*S. cerevisiae*) をいっさい加えていないビールのことを指す。バックグラウンドのATPシグナルを、試験試料を含むビールのATPシグナルから引くことによって、表4に示されるような補正後のATPシグナルの値を計算した。



## 【 0 2 2 7 】

10<sup>3</sup>CFUのコントロール(100μL)及び濾過しない酵素添加ビール試料(100μL)についてもATPシグナルを測定した。これらの試料を、10<sup>3</sup>CFUコントロール及び酵素添加ビールコントロール試料としてそれぞれ用いた。

## 【 0 2 2 8 】

下式に従ってコントロールの補正後のATPシグナルの値からATPシグナル率(%)を計算した。

$$\text{ATPシグナル率}(\%) = (\text{補正後のRLU} / 10^3\text{CFUコントロールからのRLU}) \times 100$$

結果を表4に示す。

10

## 【 0 2 2 9 】

## 【表4】

表4：ATPシグナルの測定値

試料	ATPシグナル(RLU)	補正後のATPシグナル(RLU)	10 <sup>3</sup> CFUコントロールのATPシグナル率(%)
酵母無添加(Unspiked)ビールのバックグラウンド	747		
コントロール円形片	826		
10 <sup>3</sup> CFUコントロール	1420	673	100%
酵母添加(spiked)ビール対照	980	233	34%
実施例17	1305	479	71%

20

## 【 0 2 3 0 】

酵母のカウントは、製造者の指示に従ってY/Mプレート上に100mLの酵母添加ビールの1mLを接種することにより測定し、試料は、全体で1350CFUの酵母細胞を有した。

## 【 0 2 3 1 】

実施例18～19及び比較例C13：牛肉試料の濾過

99mLのバターフィールド緩衝液及び最寄りの食料品店より購入した牛挽肉試料11g(脂肪分15%)をストマッカーバッグに加え、製造者の指示に従って、230rpmの速度で30秒間、ストマッカーで処理することにより、牛挽肉試料を調製した。

30

## 【 0 2 3 2 】

10mLの牛挽肉試料を10mLシリンジによりフィルターホルダー(Swinnex)内の実施例12の14mm円形片に加えることによって実施例18を調製した。シリンジをフィルターホルダーの入口ポートに嵌め込み、試料全体がマトリックスを通過するまで、シリンジのプランジャーを用いて試料に陽圧を加えた。濾液の体積及び濾過時間を表5に示す。

## 【 0 2 3 3 】

実施例19及び比較例C13は、実施例19では実施例12の代わりに実施例13からの円形片を使用し、比較例C13では市販の0.22ミクロンポリカーボネート(PC)ワットマンフィルター(VWR)を打ち抜いて得られた直径14mmの円形片を使用した点以外は、実施例18について上記に述べたのと同様にして調製し、試験を行った。

40

## 【 0 2 3 4 】

## 【表 5】

表 5：牛挽肉試料の濾過時間

実施例	牛挽肉	
	濾過体積 (mL)	濾過時間 (秒)
18	10	14
19	10	13
C13	0	30

10

## 【0235】

上記のデータは、実施例 12 及び 13 の多孔質マトリックス / 濃縮剤は、標準的な微生物学的フィルター（ポリカーボネートフィルター）よりも幾分、目詰まりしにくく、更に、複雑な試料マトリックスを処理する場合により高い濾過性能を有することを示している。

## 【0236】

実施例 20 ~ 21 及び比較例 C14：豆乳試料の濾過

以下のようにして実施例 20 を調製した。最寄りの食料品店より購入した豆乳（脂肪分 4.5 g）11 mL を 99 mL のバターフィールド緩衝液と攪拌することにより豆乳試料を調製した。10 mL の試料を、10 mL シリンジにより、フィルターホルダー（Swinnex）内の実施例 12 の 14 mm 円形片に加えた。シリンジをフィルターホルダーの入口ポートに嵌め込み、試料全体がマトリックスを通過するまで、シリンジのプランジャーを用いて試料に陽圧を加えた。濾液の体積及び濾過時間を表 6 に示す。

20

## 【0237】

実施例 21 及び比較例 C14 は、実施例 21 では実施例 12 の代わりに実施例 13 から円形片を使用し、比較例 C14 では、やはり直径 14 mm の市販の 0.22 ミクロンポリカーボネート（PC）ワットマンフィルター（VWR）を使用した点以外は、実施例 20 について上記に述べたのと同様にして調製し、試験を行った。

## 【0238】

## 【表 6】

表 6：豆乳試料の濾過時間

実施例	豆乳	
	濾過体積 (mL)	濾過時間 (秒)
20	10	45
21	9	55
C14	0	30

30

## 【0239】

上記のデータは、実施例 12 及び 13 の多孔質マトリックス / 濃縮剤は、標準的な微生物学的フィルター（ポリカーボネートフィルター）よりも幾分、目詰まりしにくく、更に、複雑な試料マトリックスを処理する場合により高い濾過性能を有することを示している。

40

## フロントページの続き

- (72)発明者 クシルサガール, マンジリ, ティー.  
アメリカ合衆国, ミネソタ州, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 33427  
, スリーエム センター
- (72)発明者 ハジメ, エヴァン クーン ルン ユウジ  
アメリカ合衆国, ミネソタ州, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 33427  
, スリーエム センター
- (72)発明者 ラビンス, アンドリュー ダブリュー.  
アメリカ合衆国, ミネソタ州, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 33427  
, スリーエム センター

審査官 森井 文緒

- (56)参考文献 国際公開第2011/079038(WO, A1)  
国際公開第2008/134472(WO, A1)  
特表2010-539984(JP, A)  
ZHANG YANYAN, LANTHANUM-BASED CONCENTRATION AND MICRORESPIROMETRIC DETECTION OF MICROBES IN WATER, WATER RESEARCH, NL, ELSEVIER, 2010年 6月 1日, V44 N11, P3385-3392

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12Q 1/00-3/00

C12N 1/00-7/08

B01D 39/16

PubMed

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamIII)