

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6838815号
(P6838815)

(45) 発行日 令和3年3月3日(2021.3.3)

(24) 登録日 令和3年2月16日(2021.2.16)

(51) Int.CI.

F 1

D04H 1/413 (2012.01)
C12Q 1/04 (2006.01)D04H 1/413
C12Q 1/04

請求項の数 11 (全 43 頁)

(21) 出願番号 特願2017-548978 (P2017-548978)
 (86) (22) 出願日 平成28年3月17日 (2016.3.17)
 (65) 公表番号 特表2018-510270 (P2018-510270A)
 (43) 公表日 平成30年4月12日 (2018.4.12)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2016/022814
 (87) 國際公開番号 WO2016/149472
 (87) 國際公開日 平成28年9月22日 (2016.9.22)
 審査請求日 平成31年3月1日 (2019.3.1)
 (31) 優先権主張番号 62/135,425
 (32) 優先日 平成27年3月19日 (2015.3.19)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73) 特許権者 505005049
スリーエム イノベイティブ プロパティ
ズ カンパニー
アメリカ合衆国 ミネソタ 55144
セント ポール, ハドソン ロード 25
O 1, スリーエム センター
(74) 代理人 100110803
弁理士 赤澤 太朗
(74) 代理人 100135909
弁理士 野村 和歌子
(74) 代理人 100133042
弁理士 佃 誠玄
(74) 代理人 100171701
弁理士 浅村 敬一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】流体試料中の微生物を検出するための不織布物品及び当該不織布物品の使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) 繊維性多孔質マトリックスと、b) 前記繊維性多孔質マトリックスに捕らえられた複数の濃縮剤粒子と、を含む不織布物品であって、前記繊維性多孔質マトリックスが無機纖維及びポリマー纖維から本質的になりポリアミド纖維を含まない、不織布物品。

【請求項 2】

前記ポリマー纖維が2成分纖維を含む、請求項1に記載の不織布物品。

【請求項 3】

前記無機纖維がガラス纖維を含む、請求項1に記載の不織布物品。

【請求項 4】

前記無機纖維及びポリマー纖維が50mm未満の平均長さを有する、請求項1～3のいずれか一項に記載の不織布物品。

【請求項 5】

前記繊維性多孔質マトリックスが、非捲縮ポリマー纖維を含む不織纖維層である、請求項1～4のいずれか一項に記載の不織布物品。

【請求項 6】

前記ポリマー纖維がフィブリル化ポリエチレン纖維と2成分纖維とを含み、前記無機纖維がガラス纖維を含み、

前記濃縮剤粒子が非晶質金属ケイ酸塩、グアニジン官能化金属ケイ酸塩、珪藻土、表面改質珪藻土、グアニジン官能化珪藻土、-FeO(OH)、金属炭酸塩、金属リン酸塩

10

20

、シリカ、パーライト、グアニジン官能化パーライト、又はこれらの組み合わせを含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の不織布物品。

【請求項7】

流体試料中の微生物又は標的細胞検体を検出する方法であって、

a) 請求項1～6のいずれか一項に記載の不織布物品を提供する工程と、

b) 少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を含有すると疑われる流体試料を提供する工程と、

c) 前記少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の少なくとも一部が前記不織布物品に拘束されるように、前記流体試料を前記不織布物品と接触させる工程と、

d) 拘束された前記少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の存在を検出する工程と、を含む、方法。 10

【請求項8】

前記検出する工程が生物発光法を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

拘束された前記少なくとも1種の微生物株を溶解剤と接触させる工程を更に含む、請求項7又は8に記載の方法。 20

【請求項10】

前記少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を少なくとも1種の検出試薬と接触させて定置する前記工程の前に、前記少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を洗浄することを更に含む、請求項7～9のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項11】

前記流体試料が、管腔又はカニューレを有するデバイスからのすすぎ液を含み、

前記接触させる工程が、前記管腔又はカニューレを有するデバイスが前記不織布物品と流体連通している一体型アセンブリ内で起こる、請求項7～10のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

【分野】

本開示は、流体試料中の微生物を検出するための不織布物品及び当該不織布物品の使用方法に関する。 30

【0002】

【背景】

微生物の存在の同定及び/又は定量測定を行うために、様々な医療、食品、環境、又はその他の試料中における、細菌又は他の微生物の存在を検定することが、望ましい又は必要であることが多い。例えば、細菌DNA又は細菌RNAの検査は、たとえ他の細菌種の存在下であっても、特定の細菌種の存在又は不在を検査するために、行うことができる。しかしながら、特定の細菌の存在を検出する能力は、少なくとも部分的に、分析される試料中の細菌の濃度に依存する。試料中の細菌を濃縮することで、培養時間を短縮すること、又は培養工程の必要を排除することすら可能になる。よって、菌株に特異的な抗体を使用することによって、特定の細菌株を単離する(及びそれにより濃縮する)ための方法が(例えば、抗体をコーティングした磁性又は非磁性粒子の形態で)開発されている。しかしながら、このような方法は高価になり、少なくとも一部の診断用途に望まれる方法よりも依然としてやや遅い傾向がある。微生物の非特異的な濃縮又は捕捉は、炭水化物とレクチンタンパク質との相互作用に基づいた方法によって達成されている。様々な無機物質(例えばヒドロキシアパタイト及び金属水酸化物)も、細菌に非特異的に結合しこれを濃縮するために使用されている。このような非特異的濃縮法は、速さ、コスト、試料要件、スペース要件、使いやすさ、現場使用のための適合性、及び/又は有効性が様々である。 40

【0003】

細菌はほとんどの水系に天然に存在し、冷却塔、熱交換器、油及びガス探鉱、及び水圧破碎操作などの水を使用する工業用途において問題を引き起こす可能性がある。細菌を許容可能な限度内に維持するために有効な殺生物剤プログラムを策定及び実施するためには、細菌をモニタリングする必要がある。水の微生物学的品質は、典型的には、従来の培養に基づく方法によって評価され、これは実施に24~48時間かかり得る。すぐに結果が得られることから、水中の微生物汚染の測定には、ATP生物発光アッセイに基づく迅速な方法が使用されてきた。しかしながら、この方法は、検出可能な応答を起こすために少なくとも 1×10^5 コロニー形成単位 (cfu) / mLを必要とすることから、検出感度に制限される。処理薬品からの干渉が生物発光に影響し、誤った結果及び殺生物剤の不適切な管理を招く可能性がある。ATP生物発光アッセイの感度は、より大量の試料（例えば、100mL）を使用することによって増大できるが、このような方法はフィールドでの実施が困難となり得る。

【0004】

[概要]

水又は水性分散体のような流体試料中の微生物及び/又は細胞検体の検出に使用できる不織布物品が提供される。

【0005】

第1の態様では、不織布物品が提供される。不織布物品は、a) 繊維性多孔質マトリックスと、b) 繊維性多孔質マトリックスに捕らえられた(enmeshed)複数の濃縮剤粒子と、を含む。繊維性多孔質マトリックスは、無機纖維及びポリマー纖維から本質的になる。

【0006】

第2の態様において、流体試料中の微生物及び/又は細胞検体を検出する方法が提供される。当該方法は、a) 第1の態様による不織布物品を提供する工程と、b) 少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を含有すると疑われる流体試料を提供する工程と、を含む。方法は、c) 少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の少なくとも一部が不織布物品に拘束されるように流体試料を不織布物品に接触させる工程と、d) 拘束された少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の存在を検出する工程と、を更に含む。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】実施例1の代表的な不織布物品の走査電子顕微鏡(SEM)画像である。

【図2】実施例2の代表的な不織布物品のSEM画像である。

【図3】実施例3の代表的な不織布物品のSEM画像である。

【0008】

[詳細な説明]

流体試料の微生物量をモニタリングするための不織布物品及び迅速方法が提供される。当該方法は、少なくとも1種の微生物又は標的細胞検体を濃縮する不織布物品と、微生物又は標的細胞検体の検出とを組み合わせる。不織布物品は、微生物及び/又は標的細胞検体を濃縮するために大量の流体試料と接触させてもよく、更に、検出前に汚染物質を除去するために任意選択の洗浄を行ってもよい。不織布物品は、検出用容器に容易に移される。本開示による方法は、流体試料中の細菌汚染を約15分ですぐに検出することができる。したがって、上記不織布物品及び方法は、流体試料中の微生物及び標的細胞検体のフィールドベースの検出に好適であり得る。

【0009】

以下の定義された用語の用語集に関して、別の定義が特許請求の範囲又は本明細書の他の箇所において提供されない限り、出願全体にこれらの定義が適用されるものとする。

【0010】

用語集

明細書及び特許請求の範囲の全体を通して特定の用語が使用されており、大部分は周知であるが、いくらか説明を必要とするものもある。本明細書で使用される場合、以下のように理解されるものとする。

【0011】

用語「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」は、「少なくとも1つの」と同義に使用され、記載される要素のうちの1つ以上を意味する。

【0012】

用語「及び/又は(and/or)」は、一方又は両方を意味する。例えば「A及び/又はB」は、Aのみ、Bのみ、又はA及びBの双方を意味する。

【0013】

本明細書で使用するとき、末端値による数値範囲での記述には、その範囲内に含まれるあらゆる数値が含まれる(例えば1~5には1、1.5、2、2.75、3、3.8、4、及び5が含まれる)。

10

【0014】

本明細書及び実施形態で使用される量又は成分、特性の測定値などを表す全ての数は、別途記載のない限り、全ての場合において「約」という用語によって修飾されることを理解されたい。したがって、逆の指示がない限り、前述の明細書及び添付の実施形態の列挙において示す数値パラメータは、本開示の教示を利用して当業者が得ようとする所望の特性に依存して変化しうる。最低でも、請求項記載の実施形態の範囲への均等論の適用を限定する試みとしてではなく、各数値パラメータは、報告される有効桁の数に照らして、通常の四捨五入を適用することにより、少なくとも解釈されるべきである。

【0015】

用語「含む/包含する(comprises)」及びその変化形は、それらの用語が記載及び特許請求の範囲に現れる場合、限定的な意味を有するものではない。

20

【0016】

用語「~から本質的になる」は、所与の組成物又は生成物の所望の特性に著しく影響しない追加の材料の存在を除外しない。

【0017】

「好ましい」及び「好ましくは」という言葉は、一定の状況下で一定の利益を提供できる、本開示の実施形態を指す。しかしながら、同じ又は他の状況下で、他の実施形態がまた好ましくてもよい。更には、1つ以上の好ましい実施形態の記載は、他の実施形態が有用ではないことを示唆するものではなく、本開示の範囲から他の実施形態を排除することを意図するものではない。

30

【0018】

用語「カニューレを有するデバイス」は、細い可撓管のような管を含むデバイスを意味する。

【0019】

用語「細胞検体」は、細胞起源の検体(すなわち、微生物又はその構成要素(例えば、細胞又は細胞要素、例えば、デオキシリボ核酸(DNA)若しくはリボ核酸(RNA)、タンパク質、アデノシン三リン酸(ATP)などのヌクレオチド等、及びそれらの組み合わせ))を意味し、本明細書における微生物又は微生物株といった記載は、あらゆる細胞検体に一般的に適用されることが意図されている。

【0020】

用語「濃縮剤」は、流体試料から微生物及び/又は細胞検体を拘束し(好ましくは、少なくとも約60%、又は少なくとも約70%、又は少なくとも約80%、又は少なくとも約90%の細胞検体捕捉又は拘束効率を有する)、それによって、微生物及び/又は細胞検体を流体試料中に存在したときよりも少量に濃縮する、材料又は組成物を意味する。

40

【0021】

用語「検出」は、細胞検体(例えば、それにより標的微生物が存在することを判定する、少なくとも標的微生物の構成要素)の同定を意味する。

【0022】

(繊維性多孔質マトリックス中の粒子に関しての)「捕らえられた(enmeshed)」という用語は、粒子が、単に繊維性多孔質マトリックスの表面上に保持されているのではなく

50

、纖維性多孔質マトリックス中に及び纖維性多孔質マトリックス上に閉じ込められている（好ましくは、その中に分散している）ことを意味する。

【0023】

（纖維又は纖維性材料に関しての）「フィブリル化（された）」という用語は、纖維の本幹に結合しているフィブリル又は枝を形成するように（例えば、叩くことによって）処理されることを意味する。

【0024】

用語「纖維性多孔質マトリックス」は、絡み合った纖維を含む、不織布ウェブ又は媒体（すなわち、織布又は編布ではない）を意味し、例えば、メルトブロー法、スパンボンド法、又はその他のエアレイド法、カーディング法、ウェットトレイド法などによって絡み合わされた纖維を含むウェブを含む。典型的には、纖維は、100mm未満の長さを有し、非捲縮である。

10

【0025】

用語「濾過」は、一般に、サイズ、電荷、及び／又は機能によって物質を分離するプロセスを記述するために使用される。例えば、濾過は、可溶物及び溶媒（例えば、希釈剤）を不溶物から分離する工程を含むことができ、あるいは、可溶物、溶媒、及び相対的に小さな不溶物を、相対的に大きな不溶物から分離する工程を含むことができる。様々な濾過方法が使用でき、液体組成物をフィルタに通すこと、沈殿させてから吸引又はデカントにより移すこと、他の好適な濾過方法、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。「沈殿」は、液体組成物中の不溶物を沈殿させることを指すのに用いられる。沈殿は重力又は遠心によって行うことができる。次いで、不溶物から可溶物及び溶媒を吸引する工程、可溶物及び溶媒をデカントにより移す工程、又はこれらの組み合わせによって、不溶物（又は相対に大きな不溶物）を、可溶物（又は可溶物及び相対的に小さな不溶物）及び溶媒から分離することができる。

20

【0026】

用語「濾過液」は、一般に、液体組成物から不溶物（又は少なくとも相対的に大きな不溶物）を除去した後に残る液体を記述するために使用される。

【0027】

用語「流体」は、液体、溶液、又は液体中への固体若しくは液体の分散体を意味する。

30

【0028】

用語「管腔を有するデバイス」（lumened device）は、管状の内部又は外部形状を含むデバイスを意味する。

【0029】

用語「微生物」は、分析又は検出に好適な遺伝物質を有する任意の細胞又は粒子を意味する（例えば、細菌、酵母、ウイルス、及び細菌内生胞子が挙げられる）。

【0030】

用語「微生物株」は、検出方法により識別可能な微生物（例えば、異なる属、属内の異なる種、又は種内の異なる分離株の微生物）の特定のタイプを意味する。

【0031】

用語「ポリマー」及び「ポリマー材料」は、互換可能に用いられ、1つ以上のモノマーを反応させることによって形成された材料を指す。

40

【0032】

用語「試料」は、（例えば分析のために）採取される物質又は材料を意味する。

【0033】

用語「試料マトリックス」は、微生物及び／又は細胞検体以外の試料の構成成分を意味する。

【0034】

用語「標的細胞検体」は、検出しようとする任意の細胞検体を意味する。

【0035】

用語「標的微生物」は、検出しようとする任意の微生物を意味する。

50

【0036】

本明細書全体を通し、「1つの実施形態」、「特定の実施形態」、「1つ以上の実施形態」、又は「実施形態」への言及は、「実施形態」という用語の前に「例示的（代表的）」という用語が含まれているかどうかに関わらず、その実施形態と共に記載される、ある特定の特徴、構造、材料、又は特性が、本開示の特定の例示的な実施形態の少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。それゆえに、本明細書全体を通して様々な箇所にある「1つ以上の実施形態において」、「いくつかの実施形態において」、「特定の実施形態において」、「一実施形態において」、「多くの実施形態において」又は「実施形態において」といった句の出現は、必ずしも本開示の特定の代表的実施形態のうちの同一の実施形態に言及しているわけではない。更に、特定の特徴、構造、材料、又は特性は、1つ以上の実施形態において任意の好適な方法で組み合わされてもよい。

10

【0037】

ここで本開示の様々な実施形態を記載する。本開示の代表的な実施形態は、開示の趣旨及び範囲から逸脱することなく、様々な修正や変更が可能である。したがって、本開示の実施形態は以下に記述する例示的実施形態に限定されず、請求項及びそれと同等の任意のものに定められた制限によって支配されるものと理解されたい。

【0038】

第1の態様では、不織布物品が提供される。不織布物品は、a) 繊維性多孔質マトリックスと、b) 繊維性多孔質マトリックスに捕らえられた複数の濃縮剤粒子と、を含む。繊維性多孔質マトリックスは、無機纖維及びポリマー纖維から本質的になる。不織纖維性多孔質マトリックスは、多くの場合、紡織又は編み合わせではなく、交互に置かれた (interlaid) 繊維の層の形態である。不織纖維性多孔質マトリックスは、例えば、エアレイド技術、メルトプローラ又はスパンボンドのようなスパンレイド技術、カーディング、ウェットレイド、及びこれらの組み合わせのような任意の好適なプロセスによって調製することが可能である。多くの実施形態において、纖維性不織布マトリックスは、ウェットレイド法によって調製される。

20

【0039】

不織纖維性多孔質マトリックスの調製に使用するのに好適な纖維は、通常、放射線及び / 又は種々の溶媒に対して安定な纖維のような、パルプ化可能又は押出可能な纖維である。任意選択的に、ポリマー纖維のうちの少なくとも一部は、ある程度の親水性を呈するよう選択され得る。有用な纖維としては、ポリマー纖維、無機纖維、及びこれらの組み合わせが挙げられる。より具体的には、纖維としては、ポリオレフィン纖維及びファイバーグラス纖維など、複数の異なる種類の纖維が挙げられる。

30

【0040】

好適なポリマー纖維としては、天然ポリマー（動物又は植物源由来）及び / 又は合成ポリマー、例えば熱可塑性及び溶媒分散性ポリマーなどから作製されたものが挙げられる。有用なポリマーとしては、ポリオレフィン（例えば、ポリ（エチレン）（例えば、低密度ポリエチレン、中密度ポリエチレン、高密度ポリエチレンなど）、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-デセノンとのコポリマー、例えば、ポリ（エチレン-*c*₀-1-ブテン）、ポリ（エチレン-*c*₀-1-ブテン-*c*₀-1-ヘキセン）など）；ポリ乳酸；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（エーテルスルファン）（例えば、ポリ（ジフェニルエーテルスルファン）、ポリ（ジフェニルスルファン-*c*₀-ジフェニレンオキシドスルファン）など）；ポリ（スルファン）；ポリ（ビニルエステル）、例えば、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-*c*₀-酢酸ビニル）、及びアセテート基の少なくとも一部が加水分解されていることでポリ（エチレン-*c*₀-ビニルア

40

50

ルコール)などの種々のポリ(ビニルアルコール)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ミド)などのパラアラミド、及びDuPont Co. (Wilmington, DE) より「KEVLAR」の商品名で販売される繊維(そのパルプは、パルプを構成する繊維の長さに基づいて例えば「KEVLAR 1F 306」及び「KEVLAR 1F 694」などの様々なグレードで市販されており、これらはいずれも少なくとも4mmの長さのアラミド繊維を含んでいる)など) ; 羊毛 ; 絹 ; セルロース系ポリマー(例えば、セルロース、レーヨンのようなセルロース誘導体など) ; アクリル系ポリマー(例えば、ポリアクリロニトリル) ; ポリエステル(例えば、ポリエチレンテレフタレート) ; 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)など)、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)など ; 塩素化ポリマー；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。特定の実施形態において、ポリマー繊維は、ポリオレフィン、ポリスルファン、ポリアミド、又はこれらの組み合わせを含む。

【0041】

好適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。これらの繊維を加えることにより、多くの場合、繊維性多孔質マトリックスを強化することが可能である。例えば、無機繊維を含有する多孔質マトリックス層は、多くの場合、壊れることなく、屈曲、折り畳み、又はブリーツ状にすることが可能である。有用な無機繊維としては、例えば、繊維ガラス(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、炭化ホウ素などで製造された繊維)、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り得る(認識可能なX線粉末回折図形を示す、又は結晶質相及び非晶質(ガラス)相の両方を含有する)。いくつかの用途において、無機繊維はファイバーガラスを含む。

【0042】

濃縮剤粒子の捕捉を促進する目的で、及び/又は大きい表面積を確保する目的で、不織繊維性多孔質マトリックスの形成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を(例えば、主繊維が多くのより小さな結合フィブリルで取り囲まれた形態で)含有する。主繊維は、一般に、0.5mm~5mmの範囲の長さ、及び1μm~20μmの範囲の直径を有し得る。フィブリルは、典型的には、マイクロメートル未満の直径を有し得る。多くの実施形態において、フィブリル化繊維は、ポリ(エチレン)又はポリプロピレンのようなポリオレフィンから、又はポリアクリロニトリルのようなアクリル系ポリマーから調製される。

【0043】

好適なポリマー繊維は、2成分繊維を更に含み、これは典型的には2成分繊維内の材料の1つの融点の違いにより、マトリックス繊維の全てを1つに結合する効果がある。2成分繊維は、例えば、コア-シース構造、並列(サイド-バイ-サイド)構造、海島(アイランド-イン-ザ-シー)構造、又は分割バイ(セグメンテッド-バイ)構造などを有し得る。並列2成分繊維の例には、チッソ株式会社(日本、大阪)からCHISSO(例えば、CHISSO ES)という商品名で市販されているポリオレフィン熱融着2成分繊維がある。コア-シース2成分繊維の例には、ユニチカ株式会社(日本、大阪)からメルティ(例えば、メルティ4080)の商品名で市販されているもの、及びMinifibers, Inc. (Johnson City, TN) から市販されている、エチルビニルアセテート(シース)及びポリプロピレン(コア)から作られたもの、又はポリエステルとポリエチレンテレフタレート(PET)のコポリエステル(シース)及びポリエステル(コア)から作られたものがある。

【0044】

10

20

30

40

50

不織纖維性多孔質マトリックスは、複数の異なる種類の纖維を含有する。いくつかの実施形態において、多孔質マトリックスは、3、4種類、又は更にはより多くの異なる種類の纖維を使用して形成され得る。例えば、強度及び一体性をもたせるためにファイバーグラス纖維を加えることができる一方、粒子を閉じ込めるためにフィブリル化ポリ(エチレン)を加えることができる。加えて、ナイロン纖維が親水性特性をもたらすのに対して、フィブリル化ポリ(エチレン)纖維は疎水性特性を多孔質マトリックスにもたらす。フィブリル化纖維及び非フィブリル化纖維を組み合わせて使用した場合、フィブリル化纖維と非フィブリル化纖維との重量比は、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。いくつかの実施形態では、疎水性及び親水性ポリマー纖維の混合物が使用される。例えば、纖維性多孔質マトリックスは、ポリオレフィンのような疎水性纖維とポリスルファンのような親水性纖維との混合物を含み得る。いくつかの具体例において、ポリマー纖維は、ポリオレフィン纖維、2成分纖維、及びファイバーグラス纖維を含む。10

【0045】

特定の実施形態において、纖維性多孔質マトリックスはポリアミド纖維を含まない。以下の実施例で考察するように、纖維性多孔質マトリックスにナイロン纖維を含むと、生物発光ATP検出法で、ナイロン纖維を含まない纖維性多孔質マトリックスよりも低発光になり得ることが発見された。

【0046】

好ましくは、不織纖維性多孔質マトリックスの形成に使用される纖維は非捲縮である。非捲縮纖維と対照的に、捲縮纖維は、反復する形体を呈する(例えば、波状、ぎざぎざした、正弦波形状等の纖維の外観が顕在化する)、螺旋形の外観(例えば、特に2成分纖維の熱活性化によって得られる捲縮纖維の場合)を有する等で識別することができ、当業者には容易に認識できる。例示的な捲縮纖維は、米国特許第4,118,531号(Hauser)、及び同第5,597,645号(Pike et al.)、及びカナダ特許第2612854号(Sommer et al.)に記載されている。20

【0047】

不織纖維性多孔質マトリックスの形成に用いられる纖維は、特定用途(例えば、流体試料をマトリックスに通すこと)に十分な構造的一体性及び十分な多孔性を有する多孔質マトリックスを提供できる長さ及び直径のものであり得る。纖維の長さは、多くの場合、少なくとも約0.5mm、少なくとも1mm、少なくとも2mm、少なくとも3mm、少なくとも4mm、少なくとも6mm、少なくとも8mm、少なくとも10mm、少なくとも15mm、少なくとも20mm、及び最大50mm、最大40mm、最大30mm、又は最大25mmである。纖維の直径は、例えば、少なくとも10μm、少なくとも20μm、又は少なくとも30μmであり得る。纖維の長さ及び直径は、纖維の性質及び用途の種類などの要因に応じて変動するであろう。30

【0048】

不織纖維性多孔質マトリックスは、多くの場合、ポリオレフィン纖維、ガラス纖維、及び2成分纖維の混合物を含む。いくつかの特定の実施形態において、不織纖維性多孔質マトリックスは、フィブリル化ポリエチレン纖維、ガラス纖維、及びシース-コア2成分纖維の混合物を含有する。いくつかの実施例では、不織纖維性多孔質マトリックスは、40~80重量%のフィブリル化ポリエチレン纖維、5~20重量%のガラス纖維、及び5~20重量%の2成分纖維を含有する。いくつかの実施例では、不織纖維性多孔質マトリックスは、40~80重量%のフィブリル化ポリエチレン纖維、10~30重量%のナイロン纖維、5~20重量%のガラス纖維、及び5~20重量%の2成分纖維を含有する。その他の実施例では、不織纖維性多孔質マトリックスは、50~70重量%のフィブリル化ポリエチレン纖維、5~15重量%のガラス纖維、及び5~20重量%の2成分纖維を含有する。更に他の例では、纖維性多孔質マトリックスは、55~65重量%のフィブリル化ポリエチレン纖維、0~20重量%のナイロン纖維、5~15重量%のガラス纖維、及び10~20重量%の2成分纖維を含有する。40

【0049】

上記のように、纖維性多孔質マトリックスは、無機纖維及びポリマー纖維から本質的になる。したがって、大部分の実施形態において、纖維性多孔質マトリックスは、纖維のみを含有する。例えば、乾燥纖維性多孔質マトリックスの少なくとも90重量%、少なくとも95重量%、少なくとも98重量%、少なくとも99重量%、又は少なくとも99.5重量%は纖維である。特定の実施形態において、不織布物品は、少なくとも0.1mm、又は少なくとも0.15mm、又は少なくとも0.2mm、又は少なくとも0.3mm、又は少なくとも0.4mm、又は少なくとも0.5mm、又は少なくとも0.6mmの厚さを備える。不織布物品は、通常、最大1mm、又は最大0.9mm、又は最大0.8mm、又は最大0.7mm、又は最大0.55mmの厚さを備える。別の言い方をすれば、不織布物品は、0.15mm~1mm、又は0.15mm~0.8mm、又は0.1mm~0.7mmの厚さを備えてよい。特定の実施形態において、不織布物品内に試薬が拡散するために必要な時間を短縮する、又は発生した検出信号の阻害を低減するなど、微生物及び/又は細胞検体の検出への干渉を最小限に抑えるために、上記の厚さの範囲の下限に近い厚さを有する不織布物品が選択される。10

【0050】

不織布物品は、典型的には、纖維性多孔質マトリックスと、当該纖維性多孔質マトリックス内に分散された濃縮剤粒子との両方を含む。大部分の実施形態において、不織布物品は、不織布物品の総乾燥重量に基づいて少なくとも10重量%の濃縮剤粒子を含有する。濃縮剤粒子の量が約10重量%未満の場合、不織布物品は、微生物又は細胞検体を流体試料から有効に捕捉するのに十分な濃縮剤粒子を含有しない可能性がある。いくつかの実施例では、不織布物品は、不織布物品の総乾燥重量に基づいて少なくとも15重量%、少なくとも20重量%、少なくとも25重量%、又は少なくとも30重量%の濃縮剤粒子を含有する。20

【0051】

他方、不織布物品は、通常、不織布物品の総乾燥重量に基づいて55重量%以下の濃縮剤粒子を含有する。濃縮剤粒子の量が約55重量%を超える場合、不織布物品は、十分な量の纖維性多孔質マトリックスを含有しない可能性がある。つまり、不織布物品の強度が、微生物株及び/又は標的細胞検体を捕捉するために使用したときに、一体を保持にするには不十分となる可能性がある。いくつかの実施例において、不織布物品は、不織布物品の総重量に基づいて50重量%以下、45重量%以下、又は40重量%以下の濃縮剤粒子を含有する。30

【0052】

言い方をえれば、不織布物品は、多くの場合、10~55重量%の濃縮剤粒子と45~90重量%の纖維性多孔質マトリックス、15~50重量%の濃縮剤粒子と50~85重量%の纖維性多孔質マトリックス、20~50重量%の濃縮剤粒子と50~80重量%の纖維性多孔質マトリックス、20~45重量%の濃縮剤粒子と55~80重量%の纖維性多孔質マトリックス、25~40重量%の濃縮剤粒子と60~75重量%の纖維性多孔質マトリックス、又は30~40重量%の濃縮剤粒子と60~70重量%の纖維性多孔質マトリックスを含有する。この量は、不織布物品の総乾燥重量に基づく。40

【0053】

多くの実施形態において、不織布物品(乾燥時)は、濃縮剤粒子及び纖維性多孔質マトリックスのみを含有する。例えば、不織布物品は、乾燥時、濃縮剤粒子と纖維性多孔質マトリックスとを合せて、少なくとも90重量%、少なくとも95重量%、少なくとも98重量%、少なくとも99重量%、又は少なくとも99.5重量%含有する。

【0054】

濃縮剤粒子は、微生物及び/又は細胞検体を含有する流体試料と接触したときに、微生物株、細胞検体、又はこれらの組み合わせを非特異的に捕捉するために使用してきた非水溶性粒子状物質である。濃縮剤粒子は、典型的には、微粒子を含む。濃縮剤粒子は、典型的には、非晶質金属ケイ酸塩、グアニジン官能化金属ケイ酸塩、珪藻土、表面改質珪藻50

土、グアニジン官能化珪藻土、 γ -FeO(OH)、金属炭酸塩、金属リン酸塩、シリカ、パーライト、グアニジン官能化パーライト、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される粒子を含む。

【0055】

一実施形態において、濃縮剤粒子は、非晶質金属ケイ酸塩の粒子、例えば、非晶質球状化ケイ酸マグネシウム、非晶質球状化ケイ酸アルミニウム、又はこれらの組み合わせを含む。非晶質で、少なくとも部分的に溶融した粒子形態の金属ケイ酸塩は、比較的小さいフィード粒子（例えば、平均粒径が約25μmまでのもの）を、概ね橢円体又は球状の粒子（すなわち、真に又は実質的に円及び橢円の形状及び任意の他の丸い又は曲がった形状を含む、概ね丸く、鋭利な角又は縁を含まない、拡大された二次元像を有する粒子）を作製するための制御された条件下で融解又は軟化させる既知の任意の方法によっても調製可能である。このような方法には微粒化、ファイアポリッシュ、直接溶融などが挙げられる。好ましい方法は火焰溶融であり、この方法では固体フィード粒子の直接溶融又はファイアポリッシュにより、少なくとも部分的に溶融した、実質的にガラス状の粒子が形成される（例えば、米国特許第6,045,913号（Castle et al.）に述べられている方法のように）。最も好ましくは、このような方法を使用して、不規則形状のフィード粒子のかなりの部分（例えば、約15～約99体積%、好ましくは、約50～約99体積%、より好ましくは、約75～約99体積%、最も好ましくは、約90～約99体積%）を、概ね橢円体又は球状粒子に変換することによって非晶質の球状化金属ケイ酸塩を製造できる。

10

20

【0056】

いくつかの非晶質金属ケイ酸塩は市販されている。例えば、非晶質球状化ケイ酸マグネシウムは、化粧品の処方における使用を目的として市販されている（例えば、3M Company (St. Paul, MN) より販売される「3M COSMETIC MICRO SPHERES CM-111」など）。3M COSMETIC MICRO SPHERES CM-111は、2.3g/ccの粒子密度、3.3m²/gの表面積を有し、粒径は：90%が11μm未満（すなわち、D₉₀ = 11）、50%が5μm未満、かつ10%が2μm未満である。非晶質球状ケイ酸アルミニウムは、ペンキ、プライマー、粉末コーティング、及び他のコーティングでの使用向けに市販されており、例えば、3M Company (St. Paul, MN) 製の「3M CERAMIC MICRO SPHERES」などがある。この3M CERAMIC MICRO SPHERESは、粒子密度2.4g/ccの中実の球体として成形されたアルカリアルミニノシリケート系セラミック微小球であり、W-210、W-410、及びW0610の3つの等級で市販されている。W-210粒子は、表面積が5m²/ccで、粒径は：95%が約12μm未満（すなわち、D₉₅ = 12）、90%が約9μm未満、50%が約3μm未満、10%が約1μm未満である。W-410粒子は、表面積が3m²/ccで、粒径は：95%が約24μm未満（すなわち、D₉₅ = 24）、90%が約15μm未満、50%が約4μm未満、10%が約1μm未満である。W-610粒子は、表面積が3m²/ccで、粒径は：95%が約40μm未満（すなわち、D₉₅ = 40）、90%が約28μm未満、50%が約10μm未満、10%が約1μm未満である。

30

40

【0057】

特定の実施形態において、濃縮剤粒子はパーライト粒子を含む。パーライトは、天然の非晶質火山ガラスで、約70～75%の二酸化ケイ素、12～15%の酸化アルミニウム、及びそれより少量のその他の金属酸化物、例えば、酸化ナトリウム、酸化カリウム、酸化鉄、酸化マグネシウム、及び酸化カルシウムを含有する。パーライトは、熱によって膨張すると、軽量の凝集体を形成する。好適なパーライト粒子の例としては、全てDicaliper Minerals Corporation (Crawfordsville, IN) から市販されている4106グレード材料、4156グレード材料、及び476グレード材料が挙げられる。

【0058】

50

特定の実施形態において、濃縮剤粒子は、グアニジン官能化金属ケイ酸塩粒子、グアニジン官能化珪藻土粒子、又はグアニジン官能化パーライト粒子を含む。グアニジン官能化粒子は、例えば、本願と同一譲受人に譲渡された国際出願 P C T / U S 2 0 1 4 / 0 4 0 8 6 1 号 (K sh i r s a g a r e t a l.) に開示されている方法によって調製できる。グアニジン官能化金属ケイ酸塩粒子、グアニジン官能化珪藻土粒子、又はグアニジン官能化パーライト粒子は、少なくとも 1 つのグアニジン含有リガンドを含む。このグアニジン含有リガンドは、金属ケイ酸塩又はパーライト粒子を、次の式 1 に示される構造を有するグアニジン含有シランで改質することによって、形成される。

【化 1】

X_{3-n}R^a_nS i - Y - G 式 1

10

【0059】

式 1 において、S i は、ケイ素原子であり、G は、式 - N H - C (= N H) - N H₂ で表されるグアニジン基を示す。Y は、一端においてケイ素原子と共有結合し、他端において G 基と共有結合する 2 値の基である。各 R^a 基は、存在する場合には、独立してアルキル基、アラルキル基、又はアリール基であり、ケイ素原子と結合している。各 X は、ケイ素原子と共有結合した脱離基であり、かつ独立してアルコキシ又はアシルオキシであり、n は、0、1、又は 2 である。典型的なアルキレンは、2 値の基の末端原子を含めて、最大 20 個、最大 16、12、10、8、7、6、5、4 個、又は最大 3 個の炭素原子、又は 2 個の炭素原子を有していてよい。いくつかの実施形態において、Y は、3 ~ 6 個の炭素原子を有するアルキレンを含む 2 値の基である。好ましい一実施形態において、Y は、3 個の炭素原子を有する 2 値の基（すなわち、プロピル）である。

20

【0060】

式 1 において、各脱離基 X は、独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9 個、若しくは最大 10 個の炭素原子を有するアルコキシ基である、又は 2 個の炭素原子、若しくは 3、4、5、6、7、8、9 個、若しくは最大 10 個の炭素原子を有するアシルオキシ基であり、アルコキシ基、又はアシルオキシ基は、酸素原子を介してケイ素原子と結合している。

【0061】

いくつかの実施形態において、n は 0 である。n が 0 のとき、R^a 基は存在しないため、式 1 は、式 2 に示すように、より単純化することができる（ここで、S i、G、Y、及び X は、式 1 で定義したとおりである）。

30

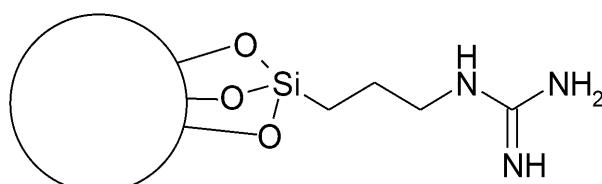
【化 2】

X₃S i - Y - G 式 2

式 1（又は式 2）で表されるシランが金属ケイ酸塩、珪藻土、又はパーライト粒子の表面上の - O H 基と反応するとき、少なくとも 1 つの脱離基 X が、ケイ素原子と金属ケイ酸塩又はパーライト粒子の表面上の酸素原子との間の共有結合によって置き換えられる。式 1 で表される一般形態のうち、n = 0（すなわち、式 2 におけるように）の場合の、特定の例示的なグアニジン含有リガンドを含むグアニジン官能化金属ケイ酸塩、珪藻土又はパーライト粒子の実施形態を、式 3 に示す（式 3 の円は金属ケイ酸塩又はパーライト粒子を表す）。

40

【化 3】



式 3

50

【0062】

式3は、nが3であり、かつYが3個の炭素原子を有するアルキレンである2価の基である場合の特定の実施形態を表すものであることが理解されるであろう。各式1～3では、グアニジン基のイオン化状態は省略されているが、様々な環境により、例えば、グアニジン基が存在する液状媒体のpHに応じて、このようなグアニジン基は、荷電していてもよいし、荷電していないてもよい（例えば、プロトン化していてもよいし、脱プロトン化していてもよい）ことが理解されるであろう。

【0063】

例えば、グアニジン含有前駆体のSiに結合した加水分解性基を粒子のヒドロキシル基と反応させることにより、リガンドの1個又は複数の酸素と粒子との間に、1つ又は複数の共有結合を簡便に得ることができる。式3の例示的な構造では、結合したこのような酸素原子が3個示されている（すなわち、式1においてn=3）が、様々な実施形態において、結合したこのような酸素原子は1個であっても、2個であっても、又は3個であってもよいことが理解されるであろう。ケイ素原子に結合するこのような酸素原子が3個未満の場合、ケイ素原子には他の置換基が存在し得る（例えば、粒子と結合しない置換基など、この置換基は式1に示されていない）。例えば、グアニジン含有リガンドは、2つ以上のグアニジン含有リガンド前駆体の間で形成されるSi-O結合に起因する、Si-O-Si（すなわち、シロキサン）基の形成を含むポリマー構造を含み得る。理論に束縛されるものではないが、添加した水、又は他の水性溶媒、又はSi-O-R基の結合を加水分解できる他の作用剤の存在下では、Si-O-Si基が形成され、粒子に結合した、より複雑なグアニジン含有リガンド構造を生じる可能性があると考えられる。

10

【0064】

重合したグアニジン含有リガンドのネットワークは、金属ケイ酸塩、珪藻土、又はパーライト粒子の表面上にコーティングを形成し得る。いくつかの実施形態において、金属ケイ酸塩、珪藻土、又はパーライト粒子の表面上への、窒素含有グアニジン基の付与を増加させる手段として、重合したグアニジン含有リガンドで官能化された粒子（例えば、重合したグアニジン含有リガンド内に少なくとも1つのSi-O-Si基を有するもの）を得ることが望ましい場合がある。少なくともこれらの種類の重合では、金属ケイ酸塩、珪藻土、又はパーライト粒子の表面上への窒素含有グアニジン基の付与により、表面窒素含有量は、例えば、X線光電子分光法により測定可能な場合に、1～10原子%の水準に達し得る。

20

【0065】

本開示のグアニジン官能化粒子は、金属ケイ酸塩粒子、珪藻土粒子、及びパーライト粒子を含む。有用な金属ケイ酸塩としては、マグネシウム、カルシウム、亜鉛、アルミニウム、鉄、チタンなど（好ましくは、マグネシウム及びアルミニウム）、及びこれらの組み合わせなどの金属のケイ酸塩が挙げられる。好ましいのは、少なくとも部分的に溶融した粒子の形態の非晶質金属ケイ酸塩である。特定の実施形態においては、非晶質の球状化金属ケイ酸塩がより好ましく、更には非晶質の球状化ケイ酸マグネシウムがより好ましい。特定の実施形態においては、非晶質ケイ酸アルミニウムがより好ましい。金属ケイ酸塩は既知であり、公知の方法によって化学的に合成する、又は天然に生じる未加工鉱石の採鉱及び処理によって入手することができる。金属ケイ酸塩粒子、例えば、ケイ酸マグネシウム粒子は、表面に十分なヒドロキシル基（典型的には、Si-OH基）を有しており、所望の数のグアニジン含有リガンドを粒子に共有結合することが可能である。有用なパーライトとしては、Dicaperl Minerals Corporation (Crawfordsville, IN) の4106、4156、及び476グレード材料が挙げられる。有用な珪藻土粒子は、天然源から得ることができ、Alfa Aesar (A Johnson Matthey Company (Ward Hill, MA)) 又はDicaperl Minerals Corporation (Crawfordsville, IN) から市販されている。

30

【0066】

40

50

本開示の不織布物品に使用されるグアニジン官能化金属ケイ酸塩、珪藻土、又はパーライト粒子は、纖維とブレンドして本開示の不織布物品を形成することができる、本質的に任意の微粒子形態（好ましくは、比較的乾燥している、又は揮発性成分を含まない形態）で使用することができる。好ましくは、グアニジン官能化粒子は、粉末形態で使用される。有用な粉末としては、微小粒子（好ましくは、約 1 μm（より好ましくは約 2 μm、更により好ましくは約 3 μm、最も好ましくは約 4 μm）～約 100 μm（より好ましくは約 50 μm、更により好ましくは約 25 μm、最も好ましくは約 15 又は 20 μm、上記に述べた範囲の任意の下限値を任意の上限値と組み合わせることができる）の範囲の粒径を有する微粒子）を含む粉末が挙げられる。

【0067】

10

XPS は、固体表面上に存在する元素濃度及び化学（酸化状態及び / 又は官能基）濃度に関する情報を提供することが可能な技術である。XPS は、典型的には、試験片表面の最も外側の 3 ~ 10 ナノメートル (nm) の分析を提供する。XPS は、水素及びヘリウムを除く周期表の全ての元素に対して感受性があり、ほとんどの種について 0.1 ~ 1 原子 % の濃度範囲の検出限界を有する。一部の場合、例えば CM - 111 粒子の場合、XPS の好ましい表面組成評価条件には、受光立体角 ± 10 度で試料表面に対して測定される取り出し角度 90 度が含まれ得る。当業者であれば、本開示の粒子の分析のために好適な機器のセッティングを選択できる。

【0068】

20

本開示の実施形態において、グアニジン官能化金属ケイ酸塩粒子は、XPS で測定した際の、表面窒素含有量が 1 原子 % ~ 20 原子 % の範囲である。いくつかの実施形態において、グアニジン官能化金属ケイ酸塩粒子は、XPS で測定した際の表面窒素含有量が、少なくとも 1 原子 %、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、又は更には少なくとも 5 原子 % である。いくつかの実施形態において、グアニジン官能化金属ケイ酸塩粒子は、XPS で測定した際の表面窒素含有量が、最大 20 原子 %、最大 15、最大 10、最大 9、最大 8、最大 7、又は更には最大 6 原子 % である。グアニジン官能化金属ケイ酸塩粒子の表面窒素含有量は、XPS によって測定したときに、上記の下方値と上方値との任意の組み合わせ（これらの値を含む）であってもよい。当業者であれば、いくつかの実施形態においては、所望の用途に応じて、これらの範囲内にてより高い又はより低い表面窒素含有量を選択することが好ましい場合があることを理解するであろう。本開示による使用に好適なグアニジン官能化パーライト粒子としては、パーライトを含み、XPS によって測定したときの表面窒素含有量が 2 を超え約 12 以下のものが挙げられる。本開示による使用に好適なグアニジン官能化珪藻土粒子としては、珪藻土を含み、表面窒素含有量が 2 を超え約 12 以下の表面組成を有するものが挙げられる。

【0069】

30

いくつかの実施形態においては、グアニジン官能化ケイ酸マグネシウム粒子が特に好ましい。本開示による使用に好適なグアニジン官能化ケイ酸マグネシウム粒子としては、非晶質ケイ酸マグネシウムを含み、かつ、X 線光電子分光法（「XPS」、化学分析用電子分光法（「ESCA」）としても知られる）によって測定したときに、金属原子対ケイ素原子の比が 0.01 を超え約 0.5 以下（好ましくは約 0.4 以下、より好ましくは約 0.3 以下、最も好ましくは約 0.2 以下）の表面組成を有するものが挙げられる。いくつかの実施形態において、グアニジン官能化ケイ酸アルミニウム粒子が特に好ましい。本開示による使用に好適なグアニジン官能化ケイ酸アルミニウム粒子としては、非晶質ケイ酸アルミニウムを含み、かつ、XPS（ESCA としても知られる）によって測定したときに、金属原子対ケイ素原子の比が 6.7 を超え約 17.3 以下の表面組成を有するものが挙げられる。いくつかの実施形態において、グアニジン官能化パーライト粒子が特に好ましい。

【0070】

40

一実施形態において、濃縮剤粒子は、珪藻土の粒子、例えば、表面改質珪藻土の粒子を含む。珪藻土（別名キーゼルグール）は、海生微生物綱である珪藻の残存物から生じた、

50

天然のシリカ物質である。つまり、珪藻土は天然資源から取得することができ、市販もされている（例えば、Alfa Aesar, A Johnson Matthey Company (Ward Hill, MA) より）。珪藻土粒子は一般に、対称な立方体、円筒形、球形、プレート状、矩形の箱形などの形態の小さな開放網状構造のシリカを含む。これらの粒子の細孔構造は、概ね、非常に均一であり得る。

【0071】

珪藻土は、原材料として、粉碎した材料として、又は精製して所望により粉碎した粒子として、本発明のプロセスの実施に使用することができる。好ましくは、珪藻土は、直径約1 μm～約50 μm（より好ましくは約3 μm～約10 μm）の範囲のサイズの粉碎粒子の形態である。珪藻土は、所望により、使用前に加熱処理を行って有機残留物の痕跡を除去することができる。加熱処理を使用する場合は、高温になるほど好ましくない結晶シリカが高比率で生じ得るため、加熱処理は500℃以下で行うことが望ましい。

【0072】

表面改質珪藻土は、二酸化チタン、酸化第二鉄、微細ナノスケール金若しくは白金、又はこれらの組み合わせを含む表面処理剤をその表面の少なくとも一部の上に有する珪藻土を含む。有用な表面改質剤としては、微細ナノスケール金；微細ナノスケール白金；微細ナノスケール金と少なくとも1つの金属酸化物（好ましくは二酸化チタン、酸化第二鉄、又はこれらの組み合わせ）との組み合わせ；二酸化チタン；二酸化チタンと少なくとも1つの他の（つまり、二酸化チタン以外の）金属酸化物との組み合わせ；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。好ましい表面改質剤としては、微細ナノスケール金；微細ナノスケール白金；微細ナノスケール金と少なくとも酸化第二鉄又は二酸化チタンとの組み合わせ；二酸化チタン；二酸化チタンと少なくとも酸化第二鉄との組み合わせ；及びこれらの組み合わせが挙げられる。表面改質珪藻土は、例えば、本願と同一譲受人に譲渡された国際公開第2009/046191号（Kshirsagar et al.）に開示されている方法によって調製できる。

【0073】

一実施形態において、濃縮剤粒子は、-FeO(OH)（鱗鉄鉱としても知られる）の粒子を含む。このような濃縮剤粒子の具体例は、本願と同一譲受人に譲渡された国際公開第2009/046183号（Kshirsagar et al.）に開示されている。-FeO(OH)粒子は、ヒトの細菌感染において重大な問題となり得るグラム陰性菌の捕捉において、他の鉄含有濃縮剤粒子よりも驚くほど効果的であることが見出されている。

【0074】

-FeO(OH)は既知の物質であり、公知の方法によって化学的に合成することができる（例えば、米国特許第4,729,846号（Matsui et al.）（この記載内容を参照により本明細書に援用する）に磁気テープ製造を目的として述べられているように、中性又は弱酸性pHで水酸化第一鉄の酸化によって）。-FeO(OH)は市販もされている（例えば、Johnson Matthey Company (Ward Hill, Mass) グループの一企業であるAlfa Aesar及びSigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO) より）。

【0075】

一実施形態において、濃縮剤粒子はシリカの粒子を含む。濃縮剤シリカ粒子の具体例は、PolySciences, Inc. (Warrington, PA) から市販されている、平均直径が約2.5 μmの二酸化ケイ素微小球である。

【0076】

一実施形態において、濃縮剤粒子は、金属炭酸塩の粒子を含む。濃縮剤の金属炭酸塩粒子の具体例は、炭酸カルシウム、例えば、Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) から市販されている、直径が2.5～10 μmの範囲の炭酸カルシウム粒子である。

【0077】

10

20

30

40

50

一実施形態において、濃縮剤粒子は金属リン酸塩の粒子を含む。濃縮剤の金属リン酸塩粒子の具体例は、ヒドロキシアパタイト、例えば、Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) 及び Bioread (Hercules, CA) から市販されている、粒径が 2 ~ 8 μm の 1 型ヒドロキシアパタイト粒子である。

【0078】

1 つの特定の方法では、不織布物品は、湿式積層又は「ウェットレイド」プロセスを使用して調製される。このプロセスでは、(a) 複数の纖維、(b) 複数の濃縮剤粒子、(c) ポリマーバインダー纖維（例えば、2 成分纖維）、及び (d) 水、水混和性有機溶剤、又はこれらの混合物などの分散液を含有する分散体が形成される。纖維及び濃縮剤粒子は、共に分散液中に分散され得る。いくつかの実施形態において、纖維（例えば、疎水性纖維）は、分散液中の纖維の分散を容易にする添加剤、表面処理剤、又は化学基を有する。例えば、ポリオレフィン系纖維は、無水マレイン酸若しくは無水コハク酸官能基を有することができ、又はポリオレフィン系纖維を調製するための溶解プロセス中に、好適な界面活性剤を添加することができる。

【0079】

ウェットレイドプロセスは、更に脱水を含み、その後脱水を終了するため及び任意に纖維の一部を結合するための加熱を含む。

【0080】

1 種類以上の補助剤又は添加剤がこの種の不織布物品を調製する際に任意選択的に使用される。有用な補助剤としては、加工助剤、界面活性剤、溶媒、分散剤、凝集助剤、歩留まり向上剤、又は得られる不織布物品の全体的性能を増強し得るその他の材料が挙げられる。そのような補助剤（使用した場合）の存在し得る量は、例えば、不織布物品（例えば、纖維及び濃縮剤粒子）の総乾燥重量に基づいて 5 重量%、最大 4 重量%、最大 3 重量%、最大 1 重量%、又は最大 0.5 重量% の量であり得る。不織布物品中に含まれ得る濃縮剤粒子の量を最大限にするように、補助剤の総量は、典型的には、可能な限り少量に抑えられるように選択される。

【0081】

もう 1 つの特定のウェットレイドプロセスでは、纖維（例えば、短纖維）を、分散液（例えば、水、アルコールなどの水混和性有機溶剤、又はこれらの混合物）の存在下で容器内でブレンドして、スラリーを形成することができる。スラリーが形成された後、濃縮剤粒子及び任意の沈降剤（例えば、ミョウバンのような pH 調整剤）をスラリーに添加してもよい。

【0082】

ウェットレイドプロセスが当該技術分野において既知のハンドシート法 (hand - sheet method) を用いて実行されるとき、構成成分（すなわち、纖維及び濃縮剤粒子）を分散体に添加する順序が濃縮デバイスの最終的な性能に重大な影響を及ぼすことは見出されなかつた。形成後、分散混合物は、型に注がれてもよく、この型の底部はスクリーンで被覆されてもよい。分散液は、（湿潤シートの形態の）混合物からスクリーンを通して排出させることができる。十分な量の液体を排出させた後、通常、この湿潤シートを金型から取り外して、加圧、加熱、又はこの 2 つの組み合わせによって乾燥させることができる。一般的に、圧力は、約 300 ~ 約 600 kPa の範囲である。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、湿潤シートの乾燥に用いることができる。乾燥によって、多くの場合、全て又は大部分の分散液（例えば、分散体を形成するために加えられた分散液の量に基づいて最大 85 重量%、最大 90 重量%、最大 95 重量%、最大 98 重量%、又は最大 99 重量% の分散液）が除去される。

【0083】

結果として得られる不織布物品は、少なくとも 0.1 mm、少なくとも 0.2 mm、少なくとも 0.5 mm、少なくとも 0.8 mm、少なくとも 1 mm、少なくとも 2 mm、少なくとも 4 mm、又は少なくとも 5 mm の平均厚さを有する乾燥シートである。平均厚さ

10

20

30

40

50

は、多くの場合、最大 20 mm、最大 15 mm、最大 12 mm、又は最大 10 mm である。所望される場合、カレンダ加工を用いることにより、乾燥シートの加圧又は溶着を更に行うことが可能である。不織布物品（シート材料の形態）の坪量は、約 100 ~ 約 350 グラム每平方メートル (g / m²) の範囲、好ましくは約 200 ~ 約 300 g / m² の範囲、例えば、約 250 g / m² であり得る。

【0084】

不織布物品において、濃縮剤粒子は、利用される纖維の性質に応じて、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、吸着若しくは機械的捕捉）のいずれかにより、纖維性多孔質マトリックス内に捕捉することができる。濃縮剤粒子は、多くの場合、不織布物品内の纖維性多孔質マトリックス全体に本質的に均一に分散されることが好ましい。

10

【0085】

一般に、乾燥不織布物品の平均細孔径は、走査電子顕微鏡 (SEM) で測定したときに、0.1 ~ 10 μm の範囲であり得る。20 ~ 80 体積% の範囲又は 40 ~ 60 体積% の範囲のボイド体積が有用となり得る。乾燥不織布物品の多孔性は、直径又は剛性がより大きい纖維を纖維混合物に使用することによって変更する（増大させる）ことができる。

【0086】

有利には、本開示の少なくとも特定の態様による不織布物品は、不織布物品への損傷が極小で又は損傷なく、滅菌プロセスで処理することができる。好適な滅菌方法は当業者に既知であり、例えば、限定するものではないが、不織布物品の 121 の温度で少なくとも 15 分間の蒸気処理、エチレンオキシド曝露、及び 線照射が挙げられる。

20

【0087】

本開示の不織布物品及び方法を使用することによって、種々の微生物を濃縮及び検出することができ、当該微生物としては、例えば、細菌、真菌、酵母、原生動物、ウイルス（非エンベロープ型ウイルス及びエンベロープ型ウイルスの両方を含む）、真菌胞子、細菌内生胞子（例えば、バチルス属（炭疽菌 *Bacillus anthracis*）、セレウス菌 *Bacillus cereus*）、及び枯草菌 *Bacillus subtilis* など）及びクロストリジウム属（ボツリヌス菌 *Clostridium botulinum*）、クロストリジウム・ディフィシル *Clostridium difficile*、及びウェルシュ菌 *Clostridium perfringens* など）など、及びこれらの組み合わせ、例えば、グラム陰性菌、グラム陽性菌、酵母、真菌、及びこれらの組み合わせが挙げられる。本開示の方法を用いて濃縮及び検出できる標的細胞検体としては、核酸、タンパク質、アデノシン三リン酸 (ATP)、又はこれらの組み合わせが挙げられる。

30

【0088】

微生物、細胞検体、又はこれらの組み合わせの捕捉又は拘束は、流体試料を不織布物品と接触させることによって達成される。特定の実施形態において、接触させる工程は、流体試料を不織布物品に通す濾過を含む。選択された実施形態において、接触させる工程は、例えば、濾過液を不織布物品に 2 回送ることによって又は不織布物品をある量の流体試料内に定置し、試料が不織布物品を複数回通過するように流体試料を攪拌することによって、流体試料を不織布物品に少なくとも 2 回通すことを含む。当該方法は、任意に、流体試料を不織布物品に接触させる前に、流体試料を粗フィルタに通すことを更に含む。かかるフィルタの使用は、除去しなければ不織布物品を閉塞する可能性のある粒子状物質を流体試料から除去し得る。好適な粗フィルタとしては、例えば、限定するものではないが、少なくとも 1 μm、少なくとも 5 μm、少なくとも 10 μm、少なくとも 25 μm、又は少なくとも 50 μm の孔径を備えるフィルタが挙げられる。

40

【0089】

有利な点として、本開示の不織布物品は、流体試料を不織布物品に効果的に通過させるうえで不織布物品の前後に極めて低い差圧しか必要としない。この特徴は、環境、例えば、フィールド環境において、及び / 又は流体試料の移送に使用できるポンプがないか低出力である場合に、特に有益である。本開示の一実施形態では、接触させる工程は、流体試料を 14.7 ポンド / 平方インチ (psi) (101.3 キロパスカル (kPa)) 以下

50

、又は4.0ポンド／平方インチ(psi)(27.58キロパスカル(kPa))以下、又は3.0psi(20.68kPa)、又は2.0psi(13.79kPa)、又は1.0psi(6.9kPa)、又は0.9psi(6.21kPa)、又は0.8psi(5.52kPa)、又は0.7psi(4.83kPa)、又は0.6psi(4.14kPa)、又は更には0.5psi(3.45kPa)以下の圧力、及び少なくとも0.4psi(2.76kPa)、又は少なくとも0.5psi(3.45kPa)の圧力で不織布物品に通過させることを含む。

【0090】

特定の実施形態において、少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を少なくとも1種の検出試薬と接触させて定置する前に、少なくとも1種の微生物株又は細胞検体を拘束した不織布物品を洗浄することを更に含む。残留試料マトリックスのような汚染物質を、拘束又は捕捉された微生物及び／又は細胞検体の大きな損失なく不織布物品から除去できることが発見された。特定の実施形態において、洗浄は、例えば、限定するものではないが、滅菌脱イオン水又はボトル入り飲料水ですすぐこと、又は塩若しくは緩衝剤水溶液ですすぐことを含む。不織布物品の洗浄は、使用する具体的な検出方法に応じて、除去しなければ拘束された微生物及び／又は細胞検体の存在の検出に干渉する可能性のある構成成分を除去する傾向がある。

【0091】

特定の実施形態において、微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を試薬と接触させて定置する工程は、検出信号を検出できる材料を含む受け部内に不織布物品を定置することを含み、この受け部は少なくとも1種の試薬を収容している。例えば、微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を試薬と接触させて定置する工程は、任意に、ルミノメータと動作可能に接続するように構成された受け部内に不織布物品を定置することを含み、この受け部は少なくとも1種の試薬を収容している。したがって、このような実施形態において、検出は、拘束された微生物株及び／又は標的細胞検体と少なくとも1種の試薬との反応から発生する光を測定するためのルミノメータ内に受け部を配置することによって容易になる。同様に、受け部は、具体的な検出方法に応じて、他の種類の装置と連携接続されてもよい。特定の実施形態において、微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を試薬と接触させて定置する工程は、不織布物品を、少なくとも1種の試薬を収容した受け部に押し込むことを含む。微生物株及び／又は標的細胞検体は、不織布物品によって捕捉されている状態からの除去を必要とすることなく検出できることが発見された。不織布物品に付着した微生物株及び／又は標的細胞検体を検出できることは、検出前に微生物株及び／又は標的細胞検体を不織布物品から溶出する必要がある方法と比較して、必要な方法工程の数が減ることから、有利である。更に、不織布物品は、微生物株及び／又は標的細胞検体を物品の体積まで濃縮し、当該体積は、一般的に、不織布物品と接触する流体試料の体積よりもかなり小さい。本開示の不織布物品との使用に好適なデバイス及び／又は方法は、米国同時係属出願第62/208,316号に開示されている。

【0092】

不織布物品によって捕捉又は拘束された（例えば、吸着、吸収、又は篩い分けによって）微生物及び／又は細胞検体は、現在知られている又は今後開発される本質的に任意の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、顕微鏡（例えば透過光型顕微鏡又はエピ蛍光顕微鏡（蛍光染料で標識した微生物を可視化するために使用できる））及びその他の撮像方法、免疫学的検出方法、並びに遺伝子学的検出方法が挙げられる。微生物及び／又は細胞検体の捕捉の後に続く検出プロセスは、任意に、試料マトリックス構成成分を除去するための洗浄、染色、煮沸又は細胞検体を濃縮デバイスから放出させるための溶出緩衝液若しくは溶解剤の使用などを含み得る。

【0093】

免疫学的検出は、標的生物に由来する抗原物質の検出であり、これは一般的に、細菌又はウイルス粒子の表面にあるマーカーとして作用する生物学的分子（例えばタンパク質又はプロテオグリカン）である。抗原物質の検出は、典型的には、抗体、ファージディスプ

10

20

30

40

50

レイなどの方法から選択されるポリペプチド、又はスクリーニング方法から得られたアプタマーによるものであり得る。

【0094】

免疫学的検出方法は周知であり、例えば、免疫沈降及び酵素結合免疫吸着検査法（ELISA）が挙げられる。抗体結合は、様々な方法で（例えば一次抗体又は二次抗体のいずれかを、蛍光染料で、量子ドットで、又は化学発光若しくは着色基質を生成し得る酵素で標識し、かつプレートリーダー又はラテラルフローデバイスのいずれかを使用することによって）検出され得る。

【0095】

検出は、遺伝子学的アッセイによって（例えば核酸ハイブリッド形成又はプライマーを用いた増幅によって）実行することもできる。捕捉又は拘束された微生物を溶解して、それらの遺伝子学的物質（例えば、細胞検体）をアッセイに利用可能なものにできる。溶解方法は周知であり、例えば、超音波処理、浸透圧ショック、高温処理（例えば約50～約100）、及びリゾチーム、グルコラーゼ、チモラーゼ（zymolose）、リチカーゼ、プロテイナーゼK、プロテイナーゼE、及び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ションすることが挙げられる。

10

【0096】

多くの一般的に使用されている遺伝子学的検出アッセイは、DNA及び/又はRNAを含む、特定の微生物の核酸を検出する。遺伝子学的検出方法に使用される条件の厳密性は、検出される核酸配列の変異レベルに相関する。塩濃度及び温度の非常に厳密な条件は、検出を標的の正確な核酸配列に限定することができる。このように、標的核酸配列において小さな変異を有する微生物株は、非常に厳密な遺伝子学的アッセイを使用して区別することができる。遺伝子学的検出は、一本鎖核酸プローブが微生物の変性核酸にハイブリッド化してプローブ鎖を含む二本鎖核酸が生成される、核酸ハイブリダイゼーションに基づいて行われ得る。当業者であれば、ゲル電気泳動、細管式電気泳動、又はその他の分離方法の後でハイブリッドを検出するための、放射性、蛍光、及び化学発光標識などのプローブ標識に精通している。

20

【0097】

特に有用な遺伝子学的検出方法は、プライマー指向型核酸増幅に基づくものである。プライマー指向型核酸増幅方法としては、例えば、熱サイクル方法（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））、並びに等温方法及び鎖置換増幅（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。増幅された生成物を検出するための方法としては、例えばゲル電気泳動分離及び臭化工チジウム染色、並びに生成物中に組み込んだ蛍光標識又は放射性標識の検出が挙げられるが、これらに限定されない。増幅生成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又はホモジニアス検出法）も使用することができる。

30

【0098】

生物発光検出法は周知であり、例えば米国特許第7,422,868号（Fan et al.）に記述されているものを含むアデノシン三リン酸（ATP）検出法が挙げられる。ATPの生物発光検出法は、多くの場合、ルシフェラーゼ酵素がATP及び2価の力チオン（例えば、マグネシウム又はカルシウム）の存在下でルシフェリンの酸化を触媒する、既知のルシフェリン-ルシフェラーゼ系を含む。他の発光に基づく検出方法も利用され得る。

40

【0099】

多くの実施形態において、検出は、培養による検出方法、撮像検出手法、蛍光による検出方法、比色検出方法、免疫学的検出方法、遺伝子学的検出方法、生物発光による検出方法、又はこれらの組み合わせを含む。

【0100】

特定の実施形態において、接触させる工程は、試料送達システムを使用して流体試料を

50

不織布物品に通すことを含む。好適な試料送達システムの1つは、第1の収容容器を含む自立容器と、自立容器の第1の収容容器に収容されるように寸法決定され、第2の収容容器を備える変形可能な自己支持型受け部と、を含む。自立容器は、変形可能な自己支持型受け部よりも剛直であり、自立容器は、その中に形成された開口を備えるベース部を含み、それを通じて変形可能な自己支持型受け部にアクセスできる。したがって、自立容器内の開口を介して変形可能な自己支持型受け部に外圧をかけて流体試料を不織布物品に通すことによって、流体試料は不織布物品を通過する。

【0101】

第2の態様において、流体試料中の微生物及び/又は細胞検体を検出する方法が提供される。当該方法は、a) 第1の態様による不織布物品を提供する工程と、b) 少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を含有すると疑われる流体試料を提供する工程と、を含む。方法は、c) 少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の少なくとも一部が不織布物品に拘束されるように流体試料を不織布物品に接触させる工程と、d) 拘束された少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の存在を検出する工程と、を更に含む。

10

【0102】

特定の実施形態において、流体試料を不織布物品と接触させるのに好適なデバイスは、米国特許同時係属仮出願第62/135,266号（整理番号第76252US002号）に記載のとおりである。デバイスは、試料容器、フィルタホルダ、不織布物品、及びフィルタホルダと受け部を連携接続するように構成された第1のアダプタを含む。不織布物品は、纖維性多孔質マトリックスと、纖維性多孔質マトリックスに捕らえられた複数の濃縮剤粒子と、を含む。多くの実施形態において、第1のアダプタは、不織布物品がその上に載置される出っ張りを有する中空形状（例えば、中空シリンド）を備える。

20

【0103】

好適な受け部、例えば少なくとも1種の試薬を収容する受け部の非限定的な例としては、3M Company (St. Paul, Minn.) より入手可能な3M CLEAN-TRACE Surface ATP Swab, Hygiene (Camarillo, Calif.) より入手可能なAQUASNAP ATP Water Test、Neogen Corporation (Lansing, Mich.) より入手可能なACCUPOINT 2 ATP Sanitation Monitoring System、及びHygieneより入手可能なPRO-CLEAN Rapid Protein Residue Testが挙げられる。

30

【0104】

有利には、比較的大量の流体試料が、標的微生物及び/又は標的細胞検体を濃縮するために任意に不織布物品に通される。容器は、少なくとも50mL、又は少なくとも100mL、又は少なくとも150mL、又は少なくとも300mL、又は少なくとも500mL、又は最大1Lの容積を備える。

【0105】

流体試料を不織布物品と接触させた後、不織布物品は、そのまま少なくとも1種の検出試薬と接触して定置される。特定の実施形態において、不織布物品をピンセットを用いて移動することができるが、他の実施形態では、不織布物品を受け部に押し込み、それによつて受け部に収容された1種以上の検出試薬と接触させることができる。

40

【0106】

内視鏡手技は、複雑で再利用可能な可撓性装置を使用して実施され、これは身体に挿入されると、患者の生体材料及び微生物（病原体を含む）で重度に汚染される可能性がある。交差感染のリスク及び病原体の伝播の可能性を低減するため、患者と次の患者との間に可撓性内視鏡を慎重に再処理することが極めて重要である。これらのデバイスの清浄化は、典型的には、目に見える汚れ（例えば、有機物質及び無機物質）の物体及び表面からの除去として定義され、水を洗剤又は酵素製品と共に使用して手作業で又は機械的に実施される。適切な清浄化が実施できないと、消毒プロセスに干渉する可能性のある有機残渣及び無機残渣が残り、再処理不良及び患者感染のリスクが増大する。したがって、清浄化及

50

び消毒の効率を評価する必要性は、可撓性内視鏡再処理の重要な部分として認識されている。しかし、目視による検証方法は、可撓性内視鏡に適用した場合、デバイスの複雑で狭い管腔を直接目視検査できないことから、大きな制限がある。本開示による方法は、リアルタイムで実施してもよく、清浄化後に装置のすすぎ液を試験するために使用すると、再清浄化及び再処理などの必要な措置を講じる機会をもたらす。

【0107】

本開示の方法の特定の実施形態において、流体試料は、管腔又はカニューレを有するデバイスからのすすぎ液を含み、接触させる工程は、管腔又はカニューレを有するデバイスが不織布物品と流体連通して配置された一体型アセンブリ内で起こる。例えば、一体型アセンブリは、任意に、管腔又はカニューレを有するデバイスを不織布物品と流体連通して定置する管を含む。一実施形態において、一体型アセンブリ内で、管腔又はカニューレを有するデバイスは不織布物品と接続される。このような実施形態において、すすぎ液は、デバイスから管を通じて不織布物品へと流れてもよい。好適な管腔又はカニューレを有するデバイスとしては、例えば、限定するものではないが、可撓性内視鏡、半剛性内視鏡、剛性内視鏡、腹腔鏡手術器具、又はカニューレを有するロボット手術器具が挙げられる。

10

【0108】

不織布物品及び方法を含む様々な実施形態が提供される。

【0109】

実施形態1は、a) 繊維性多孔質マトリックスと、b) 繊維性多孔質マトリックスに捕らえられた複数の濃縮剤粒子と、を含む不織布物品である。繊維性多孔質マトリックスは、無機纖維及びポリマー纖維から本質的になる。

20

【0110】

実施形態2は、ポリマー纖維がポリオレフィン、ポリスルファン、ポリアミド、又はこれらの組み合わせを含む、実施形態1に記載の不織布物品である。

【0111】

実施形態3は、ポリマー纖維が2成分纖維を含む、実施形態1又は2に記載の不織布物品である。

【0112】

実施形態4は、ポリマー纖維がフィブリル化ポリオレフィン纖維を含む、実施形態1～3のいずれかに記載の不織布物品である。

30

【0113】

実施形態5は、無機纖維がガラス纖維、セラミック纖維、又はこれらの組み合わせを含む、実施形態1～4のいずれかに記載の不織布物品である。

【0114】

実施形態6は、無機纖維がガラス纖維を含む、実施形態5に記載の不織布物品である。

【0115】

実施形態7は、無機纖維及びポリマー纖維が50mm未満の平均長さを有する、実施形態1～6のいずれかに記載の不織布物品である。

【0116】

実施形態8は、不織布物品が、不織布物品の総乾燥重量に基づいて5～60重量%の濃縮剤粒子と、不織布物品の総乾燥重量に基づいて40～95重量%の繊維性多孔質マトリックスと、を含む、実施形態1～7のいずれかに記載の不織布物品である。

40

【0117】

実施形態9は、不織布物品が、不織布物品の総乾燥重量に基づいて20～50重量%の濃縮剤粒子と、不織布物品の総乾燥重量に基づいて50～80重量%の繊維性多孔質マトリックスと、を含む、実施形態1～8のいずれかに記載の不織布物品である。

【0118】

実施形態10は、繊維性多孔質マトリックスが、非捲縮ポリマー纖維を含む不織纖維層である、実施形態1～9のいずれかに記載の不織布物品である。

【0119】

50

実施形態 11 は、纖維性多孔質マトリックスが不織纖維層であり、濃縮剤粒子が不織纖維層内全体に分散されている、実施形態 1 ~ 10 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0120】

実施形態 12 は、不織纖維層がポリオレフィン纖維及びガラス纖維を含む、実施形態 1 1 に記載の不織布物品である。

【0121】

実施形態 13 は、纖維性多孔質マトリックスがポリアミド纖維を含まない、実施形態 1 ~ 12 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0122】

実施形態 14 は、濃縮剤粒子が、非晶質金属ケイ酸塩、グアニジン官能化金属ケイ酸塩 10 、珪藻土、表面改質珪藻土、グアニジン官能化珪藻土、 FeO(OH) 、金属炭酸塩、金属リン酸塩、シリカ、パーライト、グアニジン官能化パーライト、又はこれらの組み合わせを含む、実施形態 1 ~ 13 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0123】

実施形態 15 は、濃縮剤粒子が、非晶質球状化金属ケイ酸塩の粒子を含む、実施形態 1 ~ 14 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0124】

実施形態 16 は、濃縮剤粒子が、非晶質球状化ケイ酸マグネシウムの粒子を含む、実施形態 14 又は 15 に記載の不織布物品である。

【0125】

実施形態 17 は、濃縮剤粒子が非晶質球状ケイ酸アルミニウムの粒子を含む、実施形態 14 ~ 16 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0126】

実施形態 18 は、濃縮剤粒子がグアニジン官能化金属ケイ酸塩の粒子を含む、実施形態 14 ~ 17 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0127】

実施形態 19 は、濃縮剤粒子がグアニジン官能化ケイ酸マグネシウムの粒子を含む、実施形態 18 に記載の不織布物品である。

【0128】

実施形態 20 は、濃縮剤粒子がグアニジン官能化ケイ酸アルミニウムの粒子を含む、実施形態 18 に記載の不織布物品である。

【0129】

実施形態 21 は、濃縮剤粒子が珪藻土の粒子を含む、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0130】

実施形態 22 は、濃縮剤粒子が、表面改質珪藻土、グアニジン官能化珪藻土、又はこれらの組み合わせの粒子を含む、実施形態 1 ~ 21 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0131】

実施形態 23 は、表面改質珪藻土が、二酸化チタン、酸化第二鉄、微細ナノスケール金 40 若しくは白金、又はこれらの組み合わせを含む表面処理剤をその表面の少なくとも一部の上に有する珪藻土を含む、実施形態 22 に記載の不織布物品である。

【0132】

実施形態 24 は、濃縮剤粒子が FeO(OH) の粒子を含む、実施形態 1 ~ 23 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0133】

実施形態 25 は、濃縮剤粒子がパーライトの粒子を含む、実施形態 1 ~ 24 のいずれかに記載の不織布物品である。

【0134】

実施形態 26 は、濃縮剤粒子がグアニジン官能化パーライトの粒子を含む、実施形態 1 ~ 25 のいずれかに記載の不織布物品である。

10

20

30

40

50

【0135】

実施形態27は、濃縮剤粒子がヒドロキシアパタイトの粒子を含む、実施形態1～26のいずれかに記載の不織布物品である。

【0136】

実施形態28は、粒子が微小粒子である、実施形態1～27のいずれかに記載の不織布物品である。

【0137】

実施形態29は、纖維性多孔質マトリックスが0.15mm～1mmの厚さを有する、実施形態1～28のいずれかに記載の不織布物品である。

【0138】

実施形態30は、ポリマー纖維がフィブリル化ポリエチレン纖維と2成分纖維とを含み、無機纖維がガラス纖維を含む、実施形態1～29のいずれかに記載の不織布物品である。更に、濃縮剤粒子は、非晶質金属ケイ酸塩、グアニジン官能化金属ケイ酸塩、珪藻土、表面改質珪藻土、グアニジン官能化珪藻土、-FeO(OH)、金属炭酸塩、金属リン酸塩、シリカ、パーライト、グアニジン官能化パーライト、又はこれらの組み合わせを含む。

10

【0139】

実施形態31は、2成分纖維がエチレンビニルアセテートとポリプロピレンとを含む、実施形態30に記載の不織布物品である。

【0140】

実施形態32は、流体試料中の微生物又は標的細胞検体を検出する方法である。該方法は、a)実施形態1～31のいずれかによる不織布物品を提供する工程と、b)少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を含有すると疑われる流体試料を提供する工程と、を含む。方法は、c)少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の少なくとも一部が不織布物品に拘束されるように流体試料を不織布物品に接触させる工程と、d)拘束された少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の存在を検出する工程と、を更に含む。

20

【0141】

実施形態33は、拘束された少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体の存在を検出する工程の前に、少なくとも1種の微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を少なくとも1種の検出試薬と接触させて定置することを更に含む、実施形態32に記載の方法である。

30

【0142】

実施形態34は、検出する工程が、培養による検出方法、撮像方法、免疫学的検出方法、遺伝子学的検出方法、生物発光法、又はこれらの組み合わせを含む、実施形態32又は33に記載の方法である。

【0143】

実施形態35は、検出する工程が生物発光法を含む、実施形態32～34のいずれかに記載の方法である。

【0144】

実施形態36は、拘束された少なくとも1種の微生物株を溶解剤と接触させることを更に含む、実施形態32～35のいずれかに記載の方法である。

40

【0145】

実施形態37は、拘束された標的細胞検体が、核酸、タンパク質、細胞壁構成成分、ATP、又はこれらの組み合わせを含む、実施形態32～36のいずれかに記載の方法である。

【0146】

実施形態38は、拘束された標的細胞検体がATPを含む、実施形態32～37のいずれかに記載の方法である。

【0147】

実施形態39は、接触させる工程が、流体試料を不織布物品に少なくとも1回通過させ

50

ることを含む、実施形態 32～38 のいずれかに記載の方法である。

【0148】

実施形態 40 は、接触させる工程が、流体試料を、4.0 ポンド／平方インチ (psi) (27.58 キロパスカル (kPa)) 以下の圧力で不織布物品に通すことを含む、実施形態 32～39 のいずれかに記載の方法である。

【0149】

実施形態 41 は、接触させる工程が、流体試料を、0.5 psi (3.4 kPa) 以下の圧力で不織布物品に通すことを含む、実施形態 32～40 のいずれかに記載の方法である。

【0150】

実施形態 42 は、試薬ガルシフェラーゼを含む、実施形態 33 に記載の方法である。

10

【0151】

実施形態 43 は、接触させる工程が、流体試料を不織布物品に通す濾過を含む、実施形態 32～42 のいずれかに記載の方法である。

【0152】

実施形態 44 は、少なくとも 1 種の微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を少なくとも 1 種の検出試薬と接触させて定置する前に、少なくとも 1 種の微生物株又は細胞検体を拘束した不織布物品を洗浄することを更に含む、実施形態 32～43 のいずれかに記載の方法である。

【0153】

実施形態 45 は、少なくとも 1 種の微生物株又は標的細胞検体を拘束した不織布物品を、検出信号を検出できる材料を含む受け部内に定置することを更に含み、受け部が少なくとも 1 種の試薬を収容する、実施形態 32～44 のいずれかに記載の方法である。

20

【0154】

実施形態 46 は、微生物株が、細菌、真菌、原生動物、ウイルス、細菌内生胞子、及びこれらの組み合わせの株から選択される、実施形態 32～45 のいずれかに記載の方法である。

【0155】

実施形態 47 は、流体試料が管腔又はカニューレを有するデバイスからのすすぎ液であり、接触させる工程が管腔又はカニューレを有するデバイスが不織布物品と流体連通している一体型アセンブリ内で起こる、実施形態 32～46 のいずれかに記載の方法である。

30

【0156】

実施形態 48 は、管腔又はカニューレを有するデバイスが、可撓性内視鏡、半剛性内視鏡、剛性内視鏡、腹腔鏡手術器具、又はカニューレを有するロボット手術器具である、実施形態 47 に記載の方法である。

【0157】

実施形態 49 は、一体型アセンブリが、管腔又はカニューレを有するデバイスを不織布物品と流体連通して定置する管を含む、実施形態 47 又は 48 に記載の方法である。

【0158】

実施形態 50 は、実施形態 1～31 のいずれかによる不織布物品と、検出信号を検出できる材料を含む受け部と、を含むシステムである。

40

【0159】

実施形態 51 は、受け部が少なくとも 1 種の試薬を収容する、実施形態 50 に記載のシステムである。

【0160】

実施形態 52 は、試薬が溶解試薬を含む、実施形態 50 又は 51 に記載のシステムである。

【0161】

実施形態 53 は、ルミノメータを更に含み、受け部が任意選択的にルミノメータに接続するように構成されている、実施形態 50～52 のいずれかに記載のシステムである。

50

【0162】

実施形態54は、不織布物品が、約150～約350グラム每平方メートル(g/m²)の範囲の坪量を有する、実施形態50～53のいずれかに記載のシステムである。

【0163】

実施形態55は、不織布物品が、約150～約350グラム每平方メートル(g/m²)の範囲の坪量を有する、実施形態1～31のいずれかに記載のデバイスである。

【0164】

実施形態56は、不織布物品が、約150～約350グラム每平方メートル(g/m²)の範囲の坪量を有する、実施形態32～49のいずれかに記載の方法である。

【実施例】

【0165】

特に指示がない限り、実施例において使用される全ての化学物質はSigma-Aldrich Corp. (Saint Louis, MO) から得ることができる。別途記載のない限り、全ての微生物学的な補給品及び試薬は、Sigma-Aldrich又はVWRのいずれかから標準製品として購入されたものである。

【表1】

材料	供給業者
繊維1—SHORT STUFF E380F 平均長さ約0.7mm、直径15μmのポリエチレン繊維	MiniFIBERS, Inc.(Johnson City, TN)
繊維2—6デニール、長さ2インチのナイロン短繊維	MiniFIBERS, Inc.(Johnson City, TN)
繊維3—1デニールのエチレンビニルアセテート／ポリプロピレン2成分繊維	MiniFIBERS, Inc.(Johnson City, TN)
繊維4—長ガラス繊維(MICRO—STRAND 106—475 Glass Fiberglas)Schuller Inc.	Johns Mansville(Denver, CO)
繊維5—0.06デニール、直径2.5μm、長さ1.5mmのポリエステル／コポリエステル繊維	Eastman Co.(Kingsport, TN)の Cyphrex 10001 繊維
繊維6—2デニール、5mmの、コアとしてのポリエステルとシースとしてのPETで製造された2成分コポリエステル繊維	MiniFIBERS, Inc.(Johnson City, TN)
繊維7—代表的長さ4.3mm(範囲4.5～7.5mm)、比重1.17のアクリロニトリル繊維	Sterling Fibers(Inc. Pace, FL)の CFFフィブリル化繊維114—3
CM—111—非晶質球状化ケイ酸マグネシウム: Cosmetic Microspheres(CM—111)	3M Company(St. Paul, MN)
G—CM—111 國際出願PCT／US2014／040861の実施例E1～Dの方法に従って調製されたグアニル化CM—111	3M Company(St. Paul, MN)
G—Perlite 米国同時係属出願第62／135,303号(整理番号76251US002)に従って調製されたグアニル化パーライト	3M Company(St. Paul, MN)
ヒドロキシアバタイト—製品番号289396、平均直径20μm	Sigma Aldrich(St.Louis, MO)
ヒドロキシアバタイト-II型、グレードCHT、平均直径20μm	BioRad(Hercules, CA)
DI水—Milli-Q Gradient Systemからの脱イオン濾過した18MΩ水	Millipore(Waltham, MA)
ATPフリー水—HYPURE 分子生物学用水、カタログ番号SH30538.02	Thermo Fisher Scientific(Waltham, MA)
クリートレース溶解試薬—生物発光アッセイ用試薬	3M Company(Bridgend, UK)
クリートレース・ルシフェリンールシフェラーゼ酵素試薬—生物発光アッセイ用試薬	3M Company(Bridgend, UK)
トリプチックソイプロスーDIFCOトリプチックソイプロス、製造業者の指示に従って濃度3%に調製	Becton Dickenson(Sparks MD)
大腸菌(E. coli)プレート—3M ベトリフィルムE coli／大腸菌群数測定用プレート	3M Company(St. Paul MN)
遠藤寒天プレート—調製済み寒天プレート、カタログ番号254016	Becton Dickenson(Sparks MD)
TSAプレート—製造業者の指示に従って3重量%のトリプチックソイ寒天末を用いて調製したプレート	Becton Dickenson(Sparks MD)
YPD寒天プレート—製造業者の指示に従って5重量%の酵母エキスペプトンデキストロースと1.5重量%の寒天とを用いて調製したプレート	Becton Dickenson(Sparks MD)
PAC—3M ベトリフィルム生菌数測定用プレート	3M Company(St. Paul MN)
BBL緩衝液—バターフィールド緩衝液、pH7.2±0.2、リン酸二水素カリウム緩衝液(VWRカタログ番号83008—093)	VWR(West Chester, PA)
3M クリートレースNGルミノーメタ	3M Company(Bridgend, UK)
キュベット—Greiner Bio-One ポリスチレン 4mL管	VWR(West Chester, PA)
微量遠心管—1.5mL BrandTech ポリプロピレン管	VWR(West Chester, PA)

【0166】

焼成ケイ酸マグネシウムを含有する不織繊維性多孔質マトリックスの調製

実施例1、2及び3：下の表1に示すように、様々な量の繊維1、繊維2、繊維3、及

10

20

30

40

50

び纖維4を混合することによって3種類の纖維プレミックスを調製した。4Lのブレンダ(VWR(Radnor, PA)より「WARNING COMMERCIAL HEAVY DUTY BLENDER、モデル37BL84」の商品名で入手可能)中で、3Lの冷脱イオン水に纖維を加え、低速で30秒間ブレンドした。この混合物を塊(nit)又は凝集(clump)のない均一な纖維分散体となっているかどうかについて検査した。添加剤粒子CM-111を、更に1Lの脱イオン水と共に加え、低速で15秒間混合した。

【0167】

底部に細かいメッシュスクリーンとドレーンバルブを備えた、約30cm(12インチ)四方、高さ30cm(約12インチ)の箱を有するパッド作製装置(William Apparatus(Watertown, NY)より「TAPPI」の商品名で入手)を使用して、不織纖維性多孔質フェルトを調製した。このスクリーン上に、約14インチ(36cm)×12インチ(30cm)のポリエチレンスパンボンド片(Fiberweb(Cincinnati, OH)より入手したPET Lutradur 7240)をスクリーン上のスクリムとして堆積させた。この箱のスクリーンの上方約1cmの高さにまで水道水を満たした。各纖維及び粒子混合物を箱に注ぎ入れ、バルブを開くと直ちに真空が形成され、これにより箱から水が引き出された。

【0168】

この纖維性不織布フェルトを、それぞれ装置から20cm四方の吸収紙のシート(Anchor Paper(St. Paul, MN)より入手した96ポンド白色紙)上に移した。各フェルトを2~4層の吸収紙の間に挟み、余分な水を吸い取らせた。続いて、プレスしたフェルトを新たな吸収紙の上に移し、110℃に設定したオーブン(SPX Thermal Product Solutions(White Deer, PA)から商品名「BLUE M STABIL-THERM OVEN, MODEL OV-560A2」で入手)内に約3時間置いて残留水分を除去し、不織纖維性多孔質マトリックスを形成した。得られた実施例1及び2の纖維性多孔質マトリックスは、およそ0.8~1mmの厚さであった。実施例3の纖維性多孔質マトリックスは、およそ0.8~0.9mmの厚さであった。

【0169】

図1~図3は、それぞれ、実施例1~3の例示的不織布物品の走査電子顕微鏡(SEM)画像である。

【表2】

表1: 実施例1~3の組成

材料(g)	実施例1	実施例2	実施例3
纖維1	11.08	10.98	8.83
纖維2	3.01	0	2.44
纖維3	2.30	2.29	1.82
纖維4	0	1.8	1.4
CM-111	5.15	5.07	5.03
坪量(g/m ²)	196.66	203.44	197.74

【0170】

グアニル化ケイ酸マグネシウムを含有する不織纖維性多孔質マトリックスの調製
実施例4、5、6、7及び8:実施例4、5、6、7及び8の不織纖維性多孔質マトリックスを、上記の手順を用いて調製した。配合を、下の表2に示す。

【表3】

表2：実施例4～8の組成

材料(g)	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7	実施例8
纖維1	11.03	11.05	11.08	11.05	11.01
纖維2	0	0	3.02	3.03	3.01
纖維3	2.25	2.26	2.27	2.25	2.26
纖維4	2.25	0	1.76	0	1.76
グアニル化CM-111	5.00	5.00	5.01	5.00	5.00
坪量(g/m ²)	217.07	166.30	238.32	199.02	229.82

【0171】

10

実施例4の纖維性多孔質マトリックスの厚さは、およそ0.8～0.9mmであり、実施例5はおよそ0.6～0.8mmの厚さであり、実施例6～8はそれぞれおよそ0.8～1.0mmの厚さであった。

【0172】

実施例9：実施例に使用した細菌

実施例で使用した様々な細菌（下の表3参照）は、ATCC（Manassas, VA）から入手した。

【表4】

表3. 実施例に使用した細菌

細菌	ATCC番号
大腸菌(Escherichia coli)	51813
黄色ブドウ球菌(Staphylococcus aureus)	6538
エンテロバクター・エロゲネス(Enterobacter aerogenes)	29007
緑膿菌(Pseudomonas aeruginosa)	9027

【0173】

20

細菌株の純粋培養物をトリプチックソイプロス（TSB、Becton, Dickinson and Company (Franklin Lakes, NJ)）に接種し、37℃で一晩増殖させた。この培養物をバターフィールドリン酸緩衝液（3M Co. (St. Paul, MN)）で連続希釈し、水試料にスパイクするための所望量のコロニー形成単位（cfu）/mLを得た。大腸菌(E.coli)及びE.エロゲネス(E. aerogenes)は、製造業者の指示に従って適切な希釈液を3MペトリフィルムE.coli/大腸菌群測定用プレート（3M Company）に接種し、37℃で一晩インキュベートすることによって定量した。黄色ブドウ球菌(S. aureus)及び緑膿菌(P. aeruginosa)は、適切な希釈液を3Mペトリフィルム生菌数測定用プレート（3M Company）に接種し、37℃で一晩インキュベートすることによって定量した。プレートは、3Mペトリフィルムプレートリーダー（3M Co.）を使用して読み取り、コロニー形成単位（cfu）を決定した。

30

【0174】

実施例10：不織纖維性多孔質マトリックスの細菌捕捉効率

中和した水道水又は18M二重脱イオン水のいずれか100mLに、種々の細菌をスパイクして、100cfu/mL（合計で100mL中に10,000cfu）とした。14mmのディスクを上記の種々の不織纖維性多孔質マトリックスから切り取り、ディスクをSWINNEX 13フィルタホールダ（カタログ番号SX0001300、EMD Millipore (Billerica, MA)）に定置した。フィルタホールダを閉じて、BDルアーロックチップを備えた60mLのBDシリジ（製品番号309653、Becton, Dickinson and Company）に取り付けた。フィルタホールダを取り付ける前に、シリジからプランジャーを外した。シリジを、12ポートWaters Millipore SEP-PAK真空マニホールド（Waters Corporation (Milford, MA)）に接続した。シリジのそれから濾過液を回収するために、回収管を試料ラックに定置した。真空マニホールドを、Air

40

50

Cadet Vacuum/Pressure Station (型番420-390 1、Barnant Company (Barrington, IL))に取り付け、溶液を、纖維性多孔質マトリックス材料に約15インチ水銀の減圧で通して濾過した。濾過に要した時間は1分未満であった。手作業での濾過の場合、シリンジのプランジャーをバレル内に押すことによっても試料を濾過した。

【0175】

濾過のそれぞれで得られた濾過液を滅菌管に回収し、溶液中に残った細菌の量を計数するため、それぞれ1mLをペトリフィルムプレートに接種した。プレートを37度一晩インキュベートし、プレート上で増殖したコロニーを計数した。試料中の細菌の量を測定するために、入力試料を、濾過の前にも接種した。試料は、最低3枚のプレートに接種し、実験を数回繰り返した。入力溶液中の細菌の数と、濾過液中に残った細菌の数を用いて、次式により捕捉効率(%)を計算した：

捕捉効率(%) = (試験不織纖維性多孔質ディスクからのRLU / 100%対照からのRLU) × 100

【0176】

細菌捕捉率は、材料に応じて、32~95%の範囲(下の表4、5、6及び7参照)であった。ファイバーグラス(纖維4)なしの不織纖維性多孔質マトリックスは、32~70%の範囲であった。ナイロンなしの不織纖維性多孔質マトリックスの捕捉率は90~95%の範囲であった。下の表4及び表6にも示すように、*E.エロゲネス*(*E. aerogenes*)と緑膿菌(*P. aeruginosa*)とで、同様の結果が認められた。

【0177】

纖維2(ナイロン)なしの不織纖維性多孔質マトリックスの細菌捕捉率は、この纖維が細菌捕捉に不可欠ではないことを示した。しかし、纖維4(ファイバーグラス)は、纖維4を除去したときに捕捉率が32~70%に低下したことから、より重要であった。これは、いずれかの種類の粒子(焼成ケイ酸マグネシウム又はグアニル化ケイ酸マグネシウム)を含有する不織纖維性多孔質マトリックスの場合である。

【0178】

実施例11：ATP生物発光による不織纖維性多孔質マトリックス中の細菌の検出

拘束された細菌を含有する各不織纖維性多孔質マトリックスを、SWINNEXフィルタホルダから外し、1.5mL微量遠心管(Plastibrandマイクロチューブ、Brand GmbH & Co. KG (Wertheim, Germany))に無菌的に移した。細菌溶解試薬を含有するクリーントレース溶解試薬200μLを遠心管に加え、1分間ボルテックスし、室温で更に1分間静置した。クリーントレース・ルシフェリン-ルシフェラーゼ酵素試薬250μLを遠心管に加え、混合した。遠心管を直ちに卓上ルミノメータ(20/20nシングルチューブルミノメータ、Turner Biosystems (Sunnyvale, CA))に定置し、RLUの測定値を記録した。発光量の測定値は、ルミノメータと共に提供されたスプレッドシートインターフェースPCソフトウェアを使用して、ルミノメータから得た。10,000cfuの細菌を含有する緩衝液100μLを、1.5mL微量遠心管(Plastibrandマイクロチューブ)にピペットで移し、溶解剤混合物(200μL)及びATP試薬(250μL)を添加すると同時に発光を測定した。10,000cfuから得た相対発光単位を使用して、不織纖維性多孔質マトリックス中のATPの回収率を計算した(下の表4及び表5参照)。ATP回収率は、未切断材料の場合に30~68%で変動し、纖維2を含まないマトリックスで最も高い回収率(60~68%)が得られた。

【表5】

表4. 焼成ケイ酸マグネシウムを含有する未切断不織繊維性多孔質マトリックスの細菌捕捉効率及びATP回収率

マトリックス	EC_10,000 cfu 合計		SA_10,000 cfu 合計	
	捕捉率%	ATP回収率%	捕捉率%	ATP回収率%
実施例1	60	32	32	30
実施例2	94	62	92	60
実施例3	77	48	85	45
マトリックス	EA_10,000 cfu 合計		PA_10,000 cfu 合計	
	捕捉率%	ATP回収率%	捕捉率%	ATP回収率%
実施例1	48	35	38	30
実施例2	95	55	90	58
実施例3	65	35	62	30

10

【表6】

表5. グアニル化ケイ酸マグネシウムを含有する未切断不織繊維性多孔質マトリックスの細菌捕捉効率及びATP回収率

マトリックス	EC_10,000 cfu 合計		SA_10,000 cfu 合計	
	捕捉率%	ATP回収率%	捕捉率%	ATP回収率%
実施例4	60	56	70	55
実施例5	93	65	95	68
実施例6	85	46	91	49

20

【0179】

別の実験では、不織繊維性多孔質マトリックスを無菌的に小片に切断した後、1.5 mL微量遠心管(Plastibrandマイクロチューブ)に移した。細菌溶解試薬を含有する溶解混合物200 μLを遠心管に加え、1分間ボルテックスし、室温で更に1分間静置した。ルシフェリン及びルシフェラーゼを含有するATP試薬250 μLを遠心管に加え、混合した。発光を上記のとおり測定した。不織繊維性多孔質マトリックスにおけるATP回収率を、下の表6及び表7に示す。ATP回収率は、未切断材料の場合55~77%で変動し、繊維2を含まないウェットレイドで最も高い回収率(70~77%)が得られた。

【表7】

30

表6. 焼成ケイ酸マグネシウムを含有する切断繊維性多孔質マトリックスの細菌捕捉効率及びATP回収率

マトリックス	EC_10,000 cfu 合計		SA_10,000 cfu 合計	
	捕捉率%	ATP回収率%	捕捉率%	ATP回収率%
実施例1	55	60	45	55
実施例2	92	77	90	70
実施例3	75	65	82	72
マトリックス	EA_10,000 cfu 合計		PA_10,000 cfu 合計	
	捕捉率%	ATP回収率%	捕捉率%	ATP回収率%
実施例1	45	55	35	40
実施例2	90	68	90	65
実施例3	68	52	65	55

40

【表8】

表7. グアニル化ケイ酸マグネシウムを含有する切断繊維性多孔質マトリックスの細菌捕捉効率及びATP回収率

マトリックス	EC_10,000 cfu 合計		SA_10,000 cfu 合計	
	捕捉率%	ATP回収率%	捕捉率%	ATP回収率%
実施例4	62	55	68	57
実施例5	91	68	90	70
実施例6	83	52	88	45

【0180】

50

実施例13：種々の配合の纖維性多孔質マトリックスの濾過による水試料からの大腸菌(E.coli)除去に関する試験

T S A 上の大腸菌(E.coli)(ATCC 11229)の画線培養物を37度で一晩インキュベートした。このプレートから、単離コロニーを取り出し、標準的な微生物学用ループを使用して5mLのT S B中に接種し、振盪培養器(INNOVA 44、New Brunswick Scientificより)内で37度20~22時間インキュベートした。約2~3×10⁹cfu/mLを含有する一晩培養物を、バターフィールド緩衝液で連続希釀して、およそ1×10⁶cfu/mLを有する接種材料を得た。

【0181】

200mLの脱イオン水(Millipore, Millipore, Ma)に10⁶cfu/mLの接種材料の1:100希釀物を接種することによって試験試料を調製し、およそ10⁴cfu/mL(約4Log cfu/mL)を含有する水試験試料を得た。

【0182】

実施例1に記載の不織纖維性多孔質マトリックスから直径47mmのディスクをダイパンチして、ポリカーボネート製特注デバイスである試料ホルダ内に定置した。このデバイスは3つの部分を有し、直径約60cm、高さ約45cmの円筒状であった。下部には、フィルタディスク用の支持スクリーン及び試料出口が含まれていた。頂部は、PVCチューブを介してCole Parmer製蠕動ポンプに接続された試料入口を除いて取り囲まれてあり、空気を抜くことができるよう上流側に通気孔を有していた。上流側及び下流側の両方で、漏れを防ぐためにOリング型のシールを使用した。雌ねじによって閉鎖圧を与えた。上記の47mmディスクを支持スクリーンの上に置き、Oリングを上に加えて、ホルダを閉じた。

【0183】

纖維性多孔質マトリックスは、反復なしで個別に試験した。壁厚1/8インチ(0.32cm)のPVCチューブ(VWRカタログ番号60985-522)を用いたCole Parmer製蠕動ポンプ(型番7553-70)を使用して、濾過前試料を不織布マトリックスディスクの入った試料ホルダに通して圧送した。スパイクした水を、纖維性多孔質マトリックスを通して12mL/分の流速で圧送した。濾過液を250mLの滅菌ガラスビンに回収した。1回目の100mLの濾過液は、回収して廃棄した。2回目の100mLの濾過液は、更なる処理のために回収した。各濾過試験の後、ホルダを分解し、滅菌済ピンセットを使用して、纖維性多孔質マトリックスを取り出した。マトリックスの試験と試験との間に、濾過器具を500mLの濾過滅菌脱イオン水ですすぎた。

【0184】

2回目の100mLの濾過液のうち体積10mLを、バターフィールド緩衝液の入った100mLのフリップトップボトルに加えて、1:10希釀液を得た。ボトルに蓋をして、10秒間振ることによって手作業で混合した。体積10mLを取り出し、他のフリップトップボトルに加えて、1:100希釀液を得た。同様にして、濾過液を1:1000及び1:10000に更に希釀した。これらの100mLの希釀濾過液を0.45μmフィルタに通して真空濾過した。毎回の濾過後に、真空装置を500mLの濾過滅菌脱イオン水ですすぎ、キムワイプで吸い取って乾燥した。

【0185】

滅菌済ピンセットプレートを用いて、装置からマトリックスを取り出し、格子側を上に向けて遠藤寒天プレート上に定置した。プレートを37度で18~20時間インキュベートした。手作業で計数することによって、プレートのコロニー数を得た。濾過前試料も、上記の手順により希釀及び濾過した。cfu/mLでのコロニー数をLog cfu/mL値に変換した。対数減少値(LRV)は、接種した濾過液及び濾過前試料から得られたコロニー数に基づき、次式を用いて計算した。

$$LRV = (\text{濾過前試料中の cfu/mL の対数}) - (\text{濾過液試料中の cfu/mL の対数})$$

10

20

30

40

50

【0186】

濾過試験を、実施例4、5、7、及び8のマトリックスの47mmディスクで実施した。結果を下の表8に示す。

【表9】

表8. 焼成ケイ酸マグネシウムを含有する纖維性多孔質マトリックスを使用した大腸菌(E. coli)の対数減少値

マトリックス	濾過前試料のLog cfu	LRV
実施例4	4.53	3.53
実施例5	4.53	3.53
実施例7	4.53	3.53
実施例8	4.53	4.53

10

【0187】

金属リン酸塩を含有する不織纖維性多孔質マトリックスの調製

実施例14、15、及び16：下の表9に示すように、様々な量の纖維1、纖維2、纖維3、纖維4、及び金属リン酸塩濃縮剤としてのヒドロキシアパタイト(HA、BiORadより)を使用することによって、3種類の纖維プレミックスを調製した。不織纖維性多孔質マトリックスは、上記実施例1～3の手順に従って調製した。得られた実施例14の不織纖維性多孔質マトリックスは、およそ0.8～1mmの厚さであった。実施例15及び16の不織纖維性多孔質マトリックスは、それぞれ0.6～0.9mm及び0.5～0.8mmの厚さであった。

20

【表10】

表9：実施例14～16の組成

材料(g)	実施例14	実施例15	実施例16
纖維1	11.03	11.02	11.10
纖維2	3.00	3.04	0
纖維3	2.24	2.26	2.28
纖維4	1.76	0	1.83
HA	5.00	5.02	5.09
坪量(g/m ²)	242.61	196.85	209.94

30

【0188】

実施例17：ヒドロキシアパタイトを有する不織纖維性多孔質マトリックスの細菌捕捉率及びATP検出に関する試験

大腸菌(E. coli)(ATCC 51813、グラム陰性菌)画線培養物から、1つのコロニーを10mLのTSB(トリプチックソイプロス、3重量%、Difcoより)に接種し、37℃で一晩(約20時間)インキュベートした。得られた細菌ストックは約1×10⁹ cfu/mLを含有した。このストックをDI水で連続希釈して、1×10⁻⁴ cfu/mLの作業用ストックを調製した。

【0189】

実施例14の不織纖維性多孔質マトリックスの14mmディスクを、ダイパンチし、13mmフィルタホルダ(Milliporeから入手したSWINNEXホルダ)に挿入した。上記の作業用ストック1mLを、1ccのシリンジを用いて、ディスクに通して濾過した。濾過液を廃棄した。ディスクをホルダから取り出し、キュベット内に定置した。100μLの体積のクリーントレース溶解試薬をディスクに加え、10秒間ボルテックスした。300μLの体積のクリーントレース・ルシフェリン-ルシフェラーゼ酵素試薬をキュベットに加え、10秒間ボルテックスした。キュベットをアダプタ(3M machine shopで特注生産、長さ12cm、直径1cm、DELTRIN材(DuPont Co. (Wilmington, DE)製)に接続し、NGルミノメータで読み取った。バックグラウンドATP信号用に、1mLの非スパイクDI水の濾過に使用したディスクも試験した。ディスクの別の組を、1×10⁻⁵ cfu/mL希釈液から体積100μL

40

50

Lをディスクにスパイクすることによって、バックグラウンド対照と同じように調製した。このスパイクしたディスクを、ATP信号(RLU単位)について試験した。これを「100%対照」試料とした。捕捉効率を、上記の実施例10の式を使用して計算した。実施例15及び16のマトリックスからの14mmディスクを、上記実施例14のように試験した。実施例14～16の結果を下の表10に示す。

【表11】

表10：金属リン酸塩を含有する不織繊維性多孔質マトリックスにおけるATPの大腸菌(E. coli)細菌捕捉効率

試料	実施例14	実施例15	実施例16
試験ディスク内のATP信号(RLU)	572	747	612
100%対照(ATP信号、RLU)	855	1699	1081
捕捉効率%	62	39(45)	53(20)

n=2、標準偏差の%が10%を超える場合、括弧内に示している。実施例14、15、及び16のマトリックスのバックグラウンドATP信号は、それぞれ36、83及び42RLUであり、これをそれぞれ、スパイクしたディスクの信号から減算した。

【0190】

実施例15は、最も大きいばらつきを示し、生物発光による細菌検出におけるファイバーグラスの重要な役割を示唆する。実施例15の不織繊維性多孔質マトリックスは、生物発光よりも、培養による検出又は免疫学的検出の実施形態に好適となり得る。

【0191】

実施例18：ヒドロキシアパタイトを有する不織繊維性多孔質マトリックスの随伴水試料の迅速微生物モニタリングに関する試験

随伴水試料は、カナダの油井から得た。試料は、BBLで連続希釈し、1mLずつPCAプレートに接種した。プレートを製造業者の指示に従って37～48時間インキュベートした。プレートを、3Mペトリフィルムプレートトリーダーを使用して、細菌数について分析した。試料のそれぞれから体積100μLをキュベットに加え、145μLのクリーントレース溶解試薬と混合し、10秒間ボルテックスした。450μLの体積のクリーントレース・ルシフェリン・ルシフェラーゼ酵素試薬を加えた後、10秒間混合した。アダプタ(上の実施例17に記載)を使用して、キュベットをNGルミノメータに挿入して、ATP信号を測定した。

【0192】

コロニー数及びATP値に基づき、実施例1～3のマトリックスを試験するために2つの試料を更に選択した。試料D(比較例1)は、およそ 6.2×10^4 cfu/mLで、ATP信号は1148RLUであったが、試料G(比較例2)は 1.2×10^5 cfu/mLで、ATP信号は243RLUであった。

【0193】

実施例14の不織繊維性多孔質マトリックスの14mmディスクを、ダイパンチし、13mmフィルタホルダ(Milliporeから入手したSWINNEXホルダ)に挿入した。10mLの随伴水試料D(比較例1)を、10ccのシリジンを用いてディスクに通して濾過した。この濾過液は、廃棄した。1枚のディスクをホルダから取り出してキュベット内に定置し、145μLのクリーントレース溶解試薬と混合した。キュベットを10秒間ボルテックスした。450μLの体積のクリーントレース・ルシフェリン・ルシフェラーゼ酵素試薬を加えた後、10秒間混合した。キュベットをアダプタに接続し、NGルミノメータで読み取った。これを、実施例18aとした。2枚目のディスクを5mLのDI水で洗浄し、1枚目のディスクと同様に、ATP信号を分析した。これを、実施例8bとした。バックグラウンドATP信号用に、1mLの非スパイクDI水の濾過に使用したディスクを試験した。バックグラウンド信号は50RLU未満であり、試験読取値から減算しなかった。捕捉細菌からのATP信号のクリーントレース試験(不織繊維性多孔質マトリックス中の細菌の濃縮なし)に対する改善度を、次式を用いて計算した。同じ手順を、実施例14～16の不織繊維性多孔質マトリックスを使用した実施例19a～23b

10

20

30

40

50

及び随伴水試料D(比較例1)又は随伴水試料G(比較例2)のいずれかに使用した。データを下の表11に示す。

クリーントレース試験に対するATP信号の倍率=(濾過後の不織布マトリックスディスクからのRLU/未濾過試料100μLからのRLU)

【表12】

表11. 金属リン酸塩を含有する不織布多孔質マトリックスで濾過した随伴水試料からのATP信号

実施例番号	マトリックス	試験ディスク	平均ATP信号	クリーントレース試験に対する倍率
実施例18a	実施例14	未洗浄	5026.7	4
実施例18b	実施例14	洗浄	8290.4	7
実施例19a	実施例15	未洗浄	8928.7	8
実施例19b	実施例15	洗浄	19762.0	17
実施例20a	実施例16	未洗浄	7005.9	6
実施例20b	実施例16	洗浄	8467.3	7
比較例1	N/A	N/A	1148	N/A
実施例21a	実施例14	未洗浄	741.4	3
実施例21b	実施例14	洗浄	1127.8	5
実施例22a	実施例15	未洗浄	587.2	2
実施例22b	実施例15	洗浄	1030.0	4
実施例23a	実施例16	未洗浄	1084.6	4
実施例23b	実施例16	洗浄	1637.6	7
比較例2	N/A	N/A	242	N/A

N=2、特記のない限り、標準偏差は10%未満。

10

【0194】

洗浄後にATP信号が改善していることは、阻害物質の持越しの低減を示し、これにより、ATPアッセイを工業サンプルの迅速モニタリングに使用できる。

【0195】

実施例24、25、26、27、及び28:下の表12に示すように、様々な量の纖維1、纖維2、纖維3、纖維4、及び金属リン酸塩濃縮剤としてのヒドロキシアパタイト(HA、Sigma Aldrichより)を使用することによって、5種類の纖維プレミックスを調製した。不織纖維性多孔質マトリックスは、上記実施例1~3の手順に従って調製した。

【表13】

20

表12: 実施例24~28の組成

材料(g)	実施例24	実施例25	実施例26	実施例27	実施例28
纖維1	11.00	11.05	11.02	11.07	11.01
纖維2	3.02	3.01	3.01	3.08	0
纖維3	2.25	2.25	2.25	2.32	2.26
纖維4	1.76	1.75	1.75	0	1.79
HA	10.03	10.2	20.03	5.00	5.00
厚さ(mm)	0.8~1.0	1.0~1.3	1.0~1.4	1.0~1.6	0.8~1.2

30

【0196】

40

実施例27及び28の不織纖維性多孔質マトリックスは、シートが数個の孔を含むことから一体性が損なわれており、そのため、測定は形の良い部分で実施した。ヒドロキシアパタイトを有する不織纖維性多孔質マトリックスの随伴水試料の迅速微生物モニタリングに関する試験

【0197】

随伴水試料は、カナダの油井から得た。試料Gは、BBLで連続希釈し、1mLずつPACプレートに接種した。プレートを製造業者の指示に従って37度で48時間インキュベートした。プレートを、3Mペトリフィルムプレートリーダーを使用して、細菌数について分析した。各試料から体積100μLをキュベットに加え、145μLのクリーントレース水中ATP測定用試薬プラス(Water-Plus Total ATP)抽出

50

剤と混合し、10秒間ボルテックスした。体積450μLのクリーントレース水中ATP測定用試薬プラスの酵素を添加し、10秒間混合した。アダプタ（上の実施例14に記載）を使用して、キュベットを3MクリーントレースNGルミノメータに挿入して、ATP信号を測定した。試料G（比較例3）は、 1.2×10^5 cfu/mLを含有した。

【0198】

実施例14の不織繊維性多孔質マトリックスの14mmディスクを、ダイパンチし、13mmフィルタホールダ（Milleiporeから入手したSWINNEXホールダ）に挿入した。ディスクを、上記の実施例18の手順に従って試験した。不織繊維性多孔質マトリックスは2連で試験した。各マトリックスの平均バックグラウンド信号を、試験読取値から減算した。同じ手順を、実施例24～28の不織繊維性多孔質マトリックスを使用した実施例30a～34b及び随伴水試料D（比較例3）又は随伴水試料G（比較例4）のいずれかに使用した。捕捉細菌からのATP信号のクリーントレース試験（不織繊維性多孔質マトリックスによる細菌濃縮なし）に対する改善度を、上記実施例18の式を用いて計算した。データを下の表13に示す。

【表14】

表13：金属リン酸塩を含有する不織布多孔質マトリックスで濾過した随伴水試料からのATP信号

実施例番号	マトリックス	平均全ATP信号(RLU)	クリーントレース全ATPに対する倍率
比較例3	N/A	964	N/A
実施例29a 未洗浄	14	7279	7.55
実施例29b 洗浄	14	3954	4.1
実施例30a 未洗浄	24	15548	16.1
実施例30b 洗浄	24	12690	13.1
比較例4	N/A	1790	N/A
実施例31a 未洗浄	25	36401(13)	20
実施例31b 洗浄	25	35235	19.6
実施例32a 未洗浄	26	49454	28
実施例32b 洗浄	26	50348	28
実施例33a 未洗浄	27	55174(21)	31
実施例33b 洗浄	27	51525(17)	29
実施例34a 未洗浄	28	73667	41
実施例34b 洗浄	28	52473(11)	29

N=2、括弧内に記載のない限り、標準偏差は10%未満。実施例14のマトリックスは84RLUのバックグラウンド信号を有し、実施例24のマトリックスは233RLU、実施例25のマトリックスは90RLU、実施例26のマトリックスは247RLU、実施例27のマトリックスは149RLU、実施例28のマトリックスは207RLUであった。

【0199】

不織繊維性多孔質マトリックスは、別々の日に試験し、オリジナルの試料からのATP信号は日によって異なっていた。この試験のばらつきは、マトリックスの干渉を示す。洗浄後にATP信号が改善していることは、阻害物質の持越しの低減を示し、これにより、ATPアッセイを随伴水試料の迅速モニタリングに使用できる。

【0200】

ヒドロキシアパタイトを有する不織繊維性多孔質マトリックスの大腸菌（E. coli）及び黄色ブドウ球菌（S. aureus）の迅速微生物モニタリングに関する試験

実施例35：大腸菌（E. coli）（ATCC 51813、グラム陰性菌）の画線培養物から、1つのコロニーを10mLのTSB（トリプチックソイプロス、3重量%、Difcoより）に接種し、37℃で一晩（約20時間）インキュベートした。得られた細菌ストックは約 1×10^9 cfu/mLを含有した。このストックをDI水で連続希釈して、 1×10^5 cfu/mLの作業用ストックを調製した。

【0201】

実施例24の不織繊維性多孔質マトリックスの14mmディスクを、ダイパンチし、13mmフィルタホールダ（Milleiporeから入手したSWINNEXホールダ）に挿入した。上記の作業用ストック1mLを、1ccのシリンジを用いて、ディスクに通して濾

10

20

30

40

50

過した。この濾過液は、廃棄した。ディスクをホルダから取り出し、キュベット内に定置した。体積 $145\text{ }\mu\text{L}$ のクリーントレース水中 ATP 測定用試薬プラスの抽出剤。キュベットを 10 秒間ボルテックスした。体積 $450\text{ }\mu\text{L}$ のクリーントレース水中 ATP 測定用試薬プラスの酵素を添加し、10 秒間混合した。キュベットをアダプタに接続し、NG ルミノメータで読み取った。バックグラウンド ATP 信号用に、 1 mL の非スパイク DI 水の濾過に使用したディスクも試験した。このバックグラウンド信号を試験結果から減算した。 $1 \times 10^6\text{ cfu/mL}$ のストックから $100\text{ }\mu\text{L}$ の体積を、ATP 信号について試験した。これを「100% 対照」とした。捕捉効率を、上記の実施例 10 の式を使用して計算した。実施例 27 及び 28 のマトリックスを実施例 24 と同様に試験した。実施例 24、27 及び 28 の結果を下の表 14 に示す。

【表 15】

表 14 金属リン酸塩を含有する不織繊維性多孔質マトリックスにおける ATP の大腸菌 (E. coli) 細菌捕捉効率

マトリックス	実施例24	実施例27	実施例28
試験ディスク内の ATP 信号 (RLU)	4092	3505	4568
100% 対照 (ATP 信号、RLU)	13002	13002	13002
捕捉効率 %	31	27	35

$N=2$ 、括弧内に特記のない限り、標準偏差は 10% 未満。実施例 24 のマトリックスのバックグラウンド値は 395 RLU であったが、実施例 27 のマトリックスのバックグラウンド値は 278 RLU であり、実施例 28 のマトリックスのバックグラウンドは 212 RLU であった。

【0202】

黄色ブドウ球菌 (S. aureus) (ATCC 6538、グラム陽性菌) の画線培養物から、1 つのコロニーを 10 mL の TSB (トリプチックソイプロス、3 重量%、Difco より) に接種し、37 度で一晩 (約 20 時間) インキュベートした。得られた細菌ストックは $1 \times 10^9\text{ cfu/mL}$ を含有した。このストックを DI 水で連続希釈して、 $1 \times 10^5\text{ cfu/mL}$ の作業用ストックを調製した。実施例 24、27 及び 28 の不織繊維性多孔質マトリックスからの 14 mm ディスクを上記のように試験した。結果を下の表 15 に示す。

【表 16】

表 15. 金属リン酸塩を含有する不織繊維性多孔質マトリックスにおける ATP の黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 細菌捕捉効率

マトリックス	実施例24	実施例27	実施例28
試験ディスク内の ATP 信号 (RLU)	1003	514	2050
100% 対照 (ATP 信号、RLU)	4136	4136	4136
捕捉効率 %	24(36)	12(23)	50(26)

$N=2$ 、括弧内に特記のない限り、標準偏差は 10% 未満。実施例 24 のマトリックスのバックグラウンド値は 395 RLU であったが、実施例 27 のマトリックスのバックグラウンド値は 278 RLU であり、実施例 28 のマトリックスのバックグラウンドは 212 RLU であった。

【0203】

金属ケイ酸塩を含有する不織繊維性多孔質マトリックスの調製

実施例 36 のマトリックス：下の表 16 に示すように、異なる量の纖維 1、纖維 2、纖維 3、及び纖維 4 を混合することによって纖維プレミックスを調製した。不織繊維性多孔質マトリックスは、上記実施例 1 ~ 3 の手順に従って調製した。得られた不織繊維性多孔質マトリックスの厚さは、 $0.8 \sim 1.0\text{ mm}$ であった。

10

20

30

40

【表17】

表16：実施例36の組成

材料(g)	実施例36
繊維1	11.00
繊維2	3.00
繊維3	2.25
繊維4	1.75
CM-111	5.00

【0204】

焼成金属ケイ酸塩を有する不織繊維性多孔質マトリックスのビールの迅速微生物モニタリングに関する試験 10

ATP生物発光試験は、ビールのライン洗浄確認方法として使用されており、洗浄完了後の最終すすぎ水の試験に基づく。すすぎ水の試料をラインの分注側から採取し、次いで、ATP生物発光試験を用いて試験する。この試験は洗浄確認に関しては有用であるが、ビールライン内のビール又は製品試料を直接試験できることも有利と考えられる。

【0205】

ビール自体の品質を評価できるだけでなく、ビール製品の直接試験は、ビールラインの衛生状態を間接的に示し、ビールラインの洗浄が必要か否かを示す可能性がある。ライン洗浄にはビールの排出が必要であり、大量の製品損失を招くことから、必要なときだけ洗浄できることは、必要なときだけ洗浄が実施される場合に金銭的損失が削減される可能性がある。更に、ATP生物発光試験はマイクロリットル量のすすぎ水の試料を使用するのに対し、濾過試験は50～100mL又はそれ以上の最終製品をサンプリングすることができ、試験の感度が増大する可能性がある。 20

【0206】

実施例37：ビール製造ライン出口から2種のビール試料を得た。各試料から体積50mLを0.45μmメンブレン(VWRから入手した、Corningの50mLチューブトップフィルタ)で濾過して内在する微生物汚染を除去した。各試料から体積100μLを1.5mL微量遠心管に加え、110μLのクリーントレース表面ATP測定用試薬(CLEAN-TRACE Surface ATP)抽出剤と混合し、10秒間ボルテックスした。体積250μLのクリーントレース表面ATP測定用試薬の酵素を添加し、10秒間混合した。内容物を、ボルテックスミキサ(VWR Fixed Speedボルテックスミキサ；VWR(West Chester, PA))上で約3200rpmで5秒間ボルテックスすることによって混合した。卓上ルミノメータ(Turner Biosystems(Sunnyvale, CA)の20/20nシングルチューブルミニメータ)を使用して相対光単位(RLU)を10秒おきに1分間測定することにより、ATP信号を測定した。発光量の値は、ルミノメータと共に提供される20/20nSISソフトウェアを使用してルミノメータから得た。これを「非スパイクビール対照」とした。 30

【0207】

30でインキュベートしたYPD寒天プレートからのS.セレビジアエ(S.cerevisiae)(ATCC201390)の画線培養物を使用して、biomerieux, Inc.(Durham NC)のDENSICHEK密度計を用いて、3mLの脱イオン水中で0.5マクファーランド標準を調製した。得られた酵母ストックはおよそ 10^8 cfu/mLを含有し、これを濾過したビールで連続希釈して、 10^5 cfu/mLを含有する酵母懸濁液を得た。懸濁液の1:10希釈物を50mLのビールに接種して、 10^4 cfu/mLを得た(合計で5mL中におよそ 5×10^4 CFU)。スパイクしたビールを、実施例36からダイパンチした14mmの不織繊維性多孔質マトリックスを収容したSWINNEXフィルタホルダに、10ccのシリンジを使用して送達した。5mLの試料全てがマトリックスを通過した後、フィルタホルダを分解し、表面滅菌ピンセットを使用して、ディスクを空の滅菌1.5mL微量遠心管に移した。ディスク上のATP信号を上記 40

のように読み取った。これが「濃縮試料」の信号である。

【0208】

5×10^5 c f u / mL のストックから $100 \mu L$ を使用して「100%対照」を調製した。5 mL の濾過ビールの処理に使用したディスクを、同様にしてバックグラウンド ATP 信号（ディスクバックグラウンド）について試験した。スパイクしたビールストックから体積 $100 \mu L$ を使用して、「スパイクビール対照」を調製した。不織繊維性多孔質マトリックスは2連で試験した。ATP 信号の%を次式を使用して計算した。

$$\text{ATP 信号 (\%)} = (\text{濃縮試料の RLU} / 100\% \text{対照ビールの RLU}) \times 100$$

【0209】

両方のビール試料で、*S. cerevisiae* (S. cerevisiae) について同じ手順を実施した。結果を下の表17に示す。

【表18】

表17. 金属ケイ酸塩を含有する不織繊維性多孔質マトリックスにおけるATPの黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細菌捕捉効率

試料	ATP信号(RLU)	% ATP
非スパイク濾過ビール-1	47437	N/A
100%対照ビール-1	351504	100%
スパイクビール-1対照	45808	13%
実施例36 ビール-1	192031	55%
実施例36 バックグラウンドビール-1	32659	N/A
非スパイク濾過ビール-2	41664	N/A
100%対照ビール-2	340974	100%
スパイクビール-2対照	43363	12%
実施例36 ビール-2	116579(20)	34%
実施例36 バックグラウンドビール-2	31065	N/A

N=2、括弧内に記載のない限り、標準偏差は10%未満不織繊維性多孔質マトリックスのバックグラウンド信号は、ビールマトリックスのバックグラウンドATP信号以下であったため、試験信号から減算しなかった。

【0210】

実施例36のマトリックスを通過した試料では、スパイクビール対照の10倍大きい信号が観察され、これは非スパイクビール試料の信号に非常に近かった。

【0211】

実施例38～40：焼成ケイ酸マグネシウムを有する不織繊維性多孔質マトリックスの調製

下の表18に示すように、様々な量の纖維1、纖維2、纖維4、纖維5及び纖維6を混合することによって3種類の纖維プレミックスを調製した。

【0212】

実施例38については、4 Lのブレンダ(VWR (Radnor, PA) より「W A R I N G C O M M E R C I A L H E A V Y D U T Y B L E N D E R, M O D E L 3 7 B L 8 4」の商品名で入手可能)中で、纖維を3 Lの冷脱イオン水に加え、低速で30秒間ブレンドした。この混合物を塊(nit)又は凝集(clump)のない均一な纖維分散体となっているかどうかについて検査した。添加剤粒子CM-111を、更に1 Lの脱イオン水と共に加え、低速で15秒間混合した。

【0213】

実施例39及び40については、纖維5を、3 Lの冷脱イオン水中で中速で30秒間ブレンドした。他の纖維を全て加え、低速で30秒間ブレンドした。添加剤粒子CM-111を、更に1 Lの脱イオン水と共に加え、低速で15秒間混合した。

【0214】

底部に細かいメッシュスクリーンとドレーンバルブを備えた、約30 cm (12インチ)四方、高さ30 cm (12インチ)の箱を有するパッド作製装置(W i l l i a m s A p p a r a t u s (Watertown, NY) より「T A P P I」の商品名で入手)を使用して、不織繊維性多孔質フェルトを調製した。このスクリーン上に、約14インチ

10

20

30

40

50

(36 cm) × 12インチ(30 cm)のポリエチレンスパンボンド片(Fiberweb(Cincinnati, OH)より入手したPET Lutradur 7240)をスクリーン上のスクリムとして堆積させた。この箱のスクリーンの上方約1 cmの高さにまで水道水を満たした。各繊維及び添加剤混合物を箱に注ぎ入れ、バルブを開くと直ちに真空が形成され、これにより箱から水が引き出された。

【0215】

この繊維性不織布フェルトを、装置から20 cm四方の吸収紙のシート(Anchor Paper(St. Paul, MN)より入手した96ポンド白色紙)上に移した。各フェルトを2~4層の吸収紙の間に挟み、余分な水を吸い取らせた。続いて、プレスした実施例38のフェルトを、新しい吸収紙の上に移し、130 に設定したオーブン(Thermo Fisher Scientific(Waltham, MA)から入手したHERATHERMオーブンシリーズOMS100)内に約3時間置いて残留水分を除去し、不織繊維性多孔質マトリックスを形成した。実施例39及び40のフェルトを125で約3時間乾燥して、残留水分を除去し、不織繊維性多孔質マトリックスを形成した。得られた実施例38及び40の繊維性多孔質マトリックスは、およそ1.30~1.40 mmの厚さであった。実施例39の繊維性多孔質マトリックスは、1.45~1.55 mmの厚さであった。

【表19】

表18：実施例38~40の組成

材料(g)	実施例38	実施例39	実施例40
繊維1	11.00	7.74	7.70
繊維2	3.00	3.06	3.0
繊維4	1.75	1.78	1.75
繊維5	0	8.06	0
繊維6	2.25	2.28	2.30
繊維7	0	0	11.78
CM-111	10.00	10.00	10.01
坪量(g/m ²)	275.02	261.89	276.20

20

【0216】

金属ケイ酸塩を有する不織繊維性多孔質マトリックスの大腸菌(E. coli)の細菌捕捉の試験

30

大腸菌(E. coli)(ATCC11229、グラム陰性菌)の画線培養物から、1つのコロニーを10 mLのTSB(トリプチックソイプロス、3重量%、Diffcoより)に接種し、37 で一晩(約20時間)インキュベートした。得られた細菌ストックは約1 × 10⁹ cfu/mLを含有した。このストックを脱イオン水で連続希釈して、1 × 10² cfu/mLの作業用ストックを調製した。

【0217】

実施例41~43：実施例38~40の不織繊維性多孔質マトリックスの14 mmディスクを、それぞれダイパンチし、13 mmフィルタホールダ(Milliporeから入手したSwinnexホールダ)に挿入した。上記の作業用ストック10 mLを、10 ccのシリジを用いて、ディスクに通して濾過した。濾過後、ディスクを廃棄した。濾過液を、滅菌15 mLポリプロピレンチューブに回収した。各濾過液の1 mL体積を、PACプレートに接種し、大腸菌(E. coli)捕捉について試験した。

40

【0218】

ストック溶液もPACに接種した。これを「100%対照」とした。ペトリフィルムプレートリーダーを使用し、製造業者の指示に従ってプレートを計数した。捕捉効率を次式を用いて計算した。結果を表19に示す。

$$\text{対照\%} = (\text{接種した濾過液のCFU}) \times 100 / 100\% \text{対照のCFU}$$

$$\text{捕捉効率\%} = 100 - \text{対照\%}$$

【表20】

表19 大腸菌 (E. coli) の捕捉

試料	実施例41	実施例42	実施例43
捕捉効率%	71.7(13)	52.7(11)	95.1

$n=3$ 、括弧内に記載のない限り、標準偏差は10%未満。接種した100%対照は、平均で16

3.5cfu/mL(標準偏差26%、10mL中合計1635cfu)を有した。

【0219】

金属ケイ酸塩を有する不織布纖維性多孔質マトリックスの黄色ブドウ球菌 (S.aureus) の細菌捕捉の試験

黄色ブドウ球菌 (S. aureus) (ATCC 6538、グラム陽性菌) の画線培養物から、1つのコロニーを10mLのTSB(トリプチックソイプロス、3重量%、Difcoより)に接種し、37度で一晩(約20時間)インキュベートした。得られた細菌ストックは約 1×10^9 cfu/mLを含有した。このストックを脱イオン水で連続希釈して、 1×10^2 cfu/mLの作業用ストックを調製した。 10

【0220】

実施例44～46：実施例38～40のそれぞれの不織纖維性多孔質マトリックスの14mmディスクを、それぞれダイパンチし、13mmフィルタホルダ(Milliporeから入手したSwinnexホルダ)に挿入した。上記の作業用ストック10mLを、10ccのシリンジを用いて、ディスクに通して濾過した。濾過後、ディスクを廃棄した。濾過液を、滅菌15mLポリプロピレンチューブに回収した。各濾過液の1mL体積を、PACプレートに接種した。各ディスクを、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 捕捉について試験した。 20

【0221】

ストック溶液もPACに接種した。これを「100%対照」とした。ペトリフィルムプレートリーダーを使用し、製造業者の指示に従ってプレートを計数した。捕捉効率を、次式を用いて計算した。結果を表20に示す。

$$\text{対照\%} = (\text{接種した濾過液のCFU}) \times 100 / 100\% \text{対照のCFU}$$

$$\text{捕捉効率\%} = 100 - \text{対照\%}$$

【表21】

表20：黄色ブドウ球菌 (S. aureus) の捕捉

試料	実施例44	実施例45	実施例46
捕捉効率%	99.36	100	99.36

$n=3$ 、括弧内に記載のない限り、標準偏差は10%未満。接種した100%対照は、平均で15

6cfu/mL(10mL中合計1566cfu)を有した。

【0222】

実施例47及び48：焼成ケイ酸マグネシウムを含有する薄い不織纖維性多孔質マトリックスの調製

下の表21に示すように、様々な量の纖維1、纖維4、纖維5及び纖維6を混合することによって2種類の纖維プレミックスを調製した。

【0223】

実施例47については、4Lのブレンダ(VWR(Radnor, PA)より「WARING COMMERCIAL HEAVY DUTY BLENDER, MODEL 37BL84」の商品名で入手可能)中で、纖維6を3Lの冷脱イオン水に加え、中速で30秒間ブレンドした。他の纖維を全て加え、低速で更に1分間ブレンドした。この混合物を塊(nit)又は凝集(clump)のない均一な纖維分散体となっているかどうかについて検査した。粒子添加剤CM-111を、更に1Lの脱イオン水と共に加え、低速で15秒間混合した。 40

【0224】

底部に細かいメッシュクリーンとドレンバルブを備えた、約30cm(12インチ)四方、高さ30cm(12インチ)の箱を有するパッド作製装置(Williams)

Apparatus (Watertown, NY) より「TAPPI」の商品名で入手) を使用して、不織繊維性多孔質フェルトを調製した。このスクリーン上に、約14インチ (36 cm) × 12インチ (30 cm) のポリエチレンスパンボンド片 (Fiberweb (Cincinnati, OH) より入手したPET Lutradur 7240) をスクリーン上のスクリムとして堆積させた。この箱のスクリーンの上方約1 cmの高さにまで水道水を満たした。繊維及び粒子添加剤混合物を箱に注ぎ入れ、バルブを開くと直ちに真空が形成され、これにより箱から水が引き出された。

【0225】

この繊維性不織布フェルトを、装置から20 cm四方の吸取紙のシート (Anchor Paper (St. Paul, MN) より入手した96ポンド白色紙) 上に移した。このフェルトを2~4層の吸取紙の間に挟み、余分な水を吸い取らせた。続いて、プレスした実施例29のフェルトを、新しい吸取紙の上に移し、125に設定したオープン (Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA) から入手したHERATHERMオープンシリーズOMS100) 内に約3時間置いて残留水分を除去し、不織繊維性多孔質マトリックスを形成した。得られた実施例47の繊維性多孔質マトリックスは、およそ0.8~0.90 mmの厚さであった。

【0226】

実施例48では、繊維混合物を、下の表16に示す量を使用したことを除き、実施例29に記載のように調製した。パッド作製装置に更に4 Lの冷脱イオン水を充填した。装置のスクリーンにはスパンボンドスクリムを使用しなかった。バルブを開放し、水を排出しながら、繊維及び粒子添加剤混合物を装置に注いだ。約14インチ (36 cm) × 12インチ (30 cm) のポリエチレンスパンボンド片を濡れたフェルト上に押し当て、スクリムを持ち上げることによって、繊維性不織布フェルトをスクリーンから外した。得られた乾燥不織繊維性多孔質マトリックスは、およそ0.8~0.90 mmの厚さであった。

【表22】

表21

材料(g)	実施例47	実施例48
繊維1	6.02	6.02
繊維4	1.07	1.06
繊維5	1.30	1.32
繊維6	1.05	2.05
CM-111	4.03	4.08
坪量(g/m ²)	126.05	122.17

【0227】

金属ケイ酸塩を有する不織繊維性多孔質マトリックスの大腸菌 (E. coli) の細菌捕捉に関する試験

大腸菌 (E. coli) (ATCC 11229、グラム陰性菌) の画線培養物から、1つのコロニーを10 mLのTSB (トリプチックソイプロス、3重量%、Difcoより) に接種し、37で一晩 (約20時間) インキュベートした。得られた細菌ストックは約 1×10^9 cfu/mLを含有した。このストックを脱イオン水で連続希釈して、10 cfu/mL、 1×10^2 cfu/mL、及び 1×10^3 cfu/mLの作業用ストックを調製した。

【0228】

実施例49: 実施例47の不織繊維性多孔質マトリックスの14 mmディスクを、ダイパンチし、13 mmフィルタホールダ (Milliporeから入手したSWINNEXホールダ) に挿入した。10 cfu/mLの作業用ストック10 mLを、10 ccのシリンジを用いて、各ディスクに通して濾過した。濾過後、ディスクを廃棄した。濾過液を、滅菌15 mLポリプロピレンチューブに回収した。濾過液の1 mL体積を、PACプレートに接種した。

【0229】

10

20

30

40

50

実施例 5 0 : 実施例 4 7 の不織纖維性多孔質マトリックスの 14 mm ディスクを、ダイパンチし、13 mm フィルタホールダ (M i l l i p o r e から入手した S W I N N E X ホルダ) に挿入し、10 mL の 1×10^2 c f u / mL 作業ストックを使用して、実施例 4 9 と同じ手順により、大腸菌 (E. coli) 捕捉について試験した。

【0230】

実施例 5 1 : 実施例 4 7 の不織纖維性多孔質マトリックスの 14 mm ディスクを、ダイパンチし、13 mm フィルタホールダ (M i l l i p o r e から入手した S W I N N E X ホルダ) に挿入し、10 mL の 1×10^3 c f u / mL 作業ストックを使用して、実施例 4 9 と同じ手順により、大腸菌 (E. coli) 捕捉について試験した。

【0231】

実施例 5 2 ~ 5 4 : 実施例 4 8 の不織纖維性多孔質マトリックスの 14 mm ディスクを、実施例 4 9、5 0、及び 5 1 と同じ手順に従って試験し、それぞれ実施例 5 2、5 3 及び 5 4 を調製した。

【0232】

大腸菌 (E. coli) ストック溶液も P A C に接種した。これらを「100%対照」試料とした。ペトリフィルムプレートリーダーを使用し、製造業者の指示に従ってプレートを計数した。捕捉効率を、次式を用いて計算した。結果を表 2 2 に示す。

$$\text{対照 \%} = (\text{接種した濾過液の C F U}) \times 100 / 100 \% \text{ 対照の C F U}$$

$$\text{捕捉効率 \%} = 100 - \text{対照 \%}$$

【表 2 3】

表 2 2. 大腸菌 (E. coli) の捕捉率

試料	実施例49	実施例50	実施例51	実施例52	実施例53	実施例54
捕捉効率 %	70.7(48)	53.4(11)	67.1(13)	78.8(26)	71.3	82.8

n=3、括弧内に記載のない限り、標準偏差は10%未満接種した100%対照は、合計205 c f u / mL (24%標準偏差)、1895 c f u 及び18450 c f u であった。

【0233】

金属ケイ酸塩を有する不織纖維性多孔質マトリックスの黄色ブドウ球菌 (S. aureus) の細菌捕捉に関する試験

黄色ブドウ球菌 (S. aureus) (A T C C 6 5 3 8、グラム陽性菌) の画線培養物から、1つのコロニーを 10 mL の T S B (トリプチクソイプロス、3重量%、D i f c o より) に接種し、37 ℃ で一晩 (約 20 時間) インキュベートした。得られた細菌ストックは約 1×10^9 c f u / mL を含有した。このストックを脱イオン水で連続希釈して、10 c f u / mL、 1×10^2 c f u / mL、及び 1×10^3 c f u / mL の作業用ストックを調製した。

【0234】

実施例 5 5 : 実施例 4 7 の不織纖維性多孔質マトリックスの 14 mm ディスクを、ダイパンチし、13 mm フィルタホールダ (M i l l i p o r e から入手した S W I N N E X ホルダ) に挿入した。10 c f u / mL の作業用ストック 10 mL を、10 c c のシリンジを用いて、各ディスクに通して濾過した。濾過後、ディスクを廃棄した。濾過液を、滅菌 15 mL ポリプロピレンチューブに回収した。濾過液の 1 mL 体積を、P A C プレートに接種した。

【0235】

実施例 5 6 : 実施例 4 7 の不織纖維性多孔質マトリックスの 14 mm ディスクを、ダイパンチし、13 mm フィルタホールダ (M i l l i p o r e から入手した S w i n n e x ホルダ) に挿入し、10 mL の 1×10^2 c f u / mL 作業ストックを使用して、実施例 5 5 と同じ手順により、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 捕捉について試験した。

【0236】

実施例 5 7 : 実施例 4 7 の不織纖維性多孔質マトリックスの 14 mm ディスクを、ダイパンチし、13 mm フィルタホールダ (M i l l i p o r e から入手した S w i n n e x ホルダ) に挿入し、10 mL の 1×10^3 c f u / mL 作業ストックを使用して、実施例 5

10

20

30

40

50

5と同じ手順により、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 捕捉について試験した。

【0237】

実施例58～60：実施例48の不織纖維性多孔質マトリックスの14mmディスクを、実施例55、56、及び57と同じ手順に従って試験し、それぞれ実施例58、59及び60を調製した。

【0238】

黄色ブドウ球菌 (S. aureus) ストック溶液もPACに接種した。これらを「100%対照」試料とした。ペトリフィルムプレートリーダーを使用し、製造業者の指示に従ってプレートを計数した。捕捉効率を、次式を用いて計算した。結果を表23に示す。

$$\text{対照\%} = (\text{接種した濾過液のCFU}) \times 100 / 100\% \text{対照のCFU}$$

$$\text{捕捉効率\%} = 100 - \text{対照\%}$$

【表24】

表23. 黄色ブドウ球菌 (S. aureus) の捕捉

試料	実施例55	実施例56	実施例57	実施例58	実施例59	実施例60
捕捉効率%	96.6	95.2	96.5	98.3	95.7	96.5

n=3、括弧内に記載のない限り、標準偏差は10%未満。接種した100%対照は、合計195

cfu/mL(40%標準偏差)、1380cfu(12%標準偏差)及び15950cfuであった。

【0239】

本明細書では、特定の例示的実施形態が詳細に説明されてきたが、当業者には、上述の説明を理解した上で、これらの実施形態の代替物、変更物、及び等価物を容易に想起することができる点が、理解されるであろう。更には、本明細書で参照される全ての刊行物及び特許は、個々の刊行物又は特許を参照により組み込むことが、詳細かつ個別に指示されている場合と同じ程度で、それらの全容が参照により組み込まれる。様々な例示的実施形態が説明されてきた。これらの実施形態及び他の実施形態は、以下の特許請求の範囲に含まれるものである。

10

20

【図1】

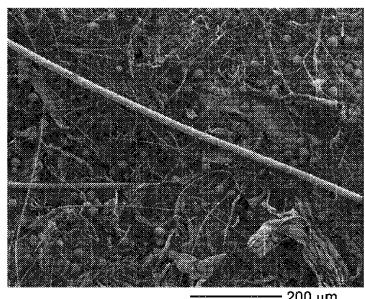


FIG. 1

【図3】



FIG. 3

【図2】

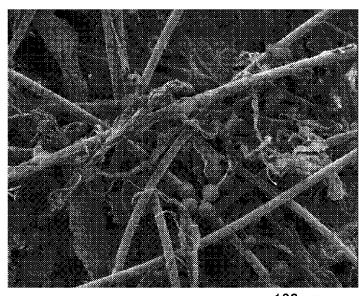


FIG. 2

フロントページの続き

(72)発明者 クシャーサガー, 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 ラジャゴバル, ラジ

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

審査官 川口 裕美子

(56)参考文献 特表2014-506118 (JP, A)

特表2014-503201 (JP, A)

特表2012-513763 (JP, A)

特表2018-509910 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

D04H 1/413

C12Q 1/04