

## 分析メンブレンバンドの 微生物の回収能力と捕捉能力の評価

本テクニカルノートでは、Thermo Scientific™分析メンブレンバンドの微生物の回収能力と捕捉能力を、ISO 7704:1985<sup>1)</sup>とASTM F838<sup>2)</sup>の基準に基づいて評価しました。この評価により、本製品がこれらの基準に定められた微生物の回収能力と捕捉能力に関する要件を満たすことを確認しました。

### はじめに

メンブレンフィルターは、水質試験において微生物の回収と計数によく用いられます。ISO 7704:1985は水サンプル中の微生物の回収と計数に使われるメンブレンフィルターの性能評価に関する規格です。この規格では、コロニー形成単位 (CFU: Colony Forming Unit) がコントロールプレートの80%以上であるメンブレンフィルターを合格とみなします。本試験では、ISO 7704:1985の要件に基づき、分析メンブレンバンドの微生物回収能力が水質試験に適しているかどうかを評価しました。

孔径0.2 µmのメンブレンフィルターは、緩衝液、水、抗生物質などの溶液を滅菌するために広く使用されています。ASTM F838は液体の滅菌ろ過に使用されるメンブレンフィルターシステムの評価に使われる標準的なチャレンジ条件下で、メンブレンフィルターの微生物捕捉能力を検証する標準試験法です。この試験法では、*Brevundimonas diminuta*という均一に増殖する微生物が使用されます。本試験では、この標準試験法に従って、*B. diminuta*を用いて分析メンブレンバンドの微生物捕捉能力もテストしました。

### 材料と方法

微生物の回収能力を評価するために、3種の微生物を使用しました。孔径0.2 µm および0.45 µmのメンブレンフィルターには、*Escherichia coli* (ATCC 11775) および*Klebsiella aerogenes* (ATCC 35029)を、孔径0.8 µmのメンブレンフィルターには*Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 7754)を使用しました。それぞれの微生物について、同じ濃度の微生物を含む10枚の試験プ



レートと5枚のコントロールプレートを準備しました。微生物をろ過した後、適切な寒天培地上にメンブレンフィルターを置きました。その後、コントロールプレートと試験プレート（微生物をろ過したメンブレンフィルターを含む）を28~32 °Cで約24時間培養しました。培養後、全てのプレートのCFUを数え、回収率を計算しました。

$$\text{回収率} = \frac{\text{試験プレートの平均 CFU}}{\text{コントロールプレートの平均CFU}} \times 100\%$$

微生物の捕捉能力を評価するために、*B. diminuta* をSaline Lactose Broth (SLB) 中で $10 \times 10^6$  CFU/mLまで増殖させました。培養物のreplicate (n = 32) を0.2 µmのメンブレンフィルターでろ過しました。ろ液を $30 \pm 2$  °Cで7日間培養した後、SLB溶液の濁度を調べ、微生物の増殖を評価しました。

1. ISO 7704:1985: Water quality - Evaluation of membrane filters used for microbiological analyses (水質-微生物学的分析に使用されるメンブレンフィルターの評価)  
2. ASTM F838 Standard Test Method for Determining Bacterial Retention of Membrane Filters Utilized for Liquid Filtration (液体ろ過に使用されるメンブレンフィルターの細菌捕捉率を測定するための標準試験法)

## 結果

### 微生物の回収

各微生物をろ過した3つの孔径のメンブレンフィルターは、ISO 7704:1985の合格基準（回収率が80%以上）を満たしました（表1）。0.2 µmおよび0.45 µmフィルターの*E. coli*回収率はそれぞれ111%および108%であり、0.2 µmおよび0.45 µmフィルターの*K. aerogenes*回収率はそれぞれ108%および109%、0.8 µmフィルターの*S. cerevisiae*回収率は102%でした。

表1. メンブレンフィルターの微生物回収率

フィルター孔径 (µm)	測定した微生物	平均回収率 (n=10)	許容基準	結果
0.2 µm	<i>E. coli</i>	111%	≥80%	適合
	<i>K. aerogenes</i>	108%	≥80%	適合
0.45 µm	<i>E. coli</i>	108%	≥80%	適合
	<i>K. aerogenes</i>	109%	≥80%	適合
0.8 µm	<i>S. cerevisiae</i>	102%	≥80%	適合

### 微生物の捕捉

*B. diminuta*を $10 \times 10^6$  CFU/mLになるように調整した32個のサンプルを使用し、孔径0.2 µmのフィルターの微生物捕捉試験を行いました。その結果、 $30 \pm 2$  °Cで7日間培養したSLB溶液のろ液に濁りは見られませんでした（表2）。

表2. 孔径が0.2 µmのメンブレンフィルターの微生物捕捉試験の結果

フィルター孔径 (µm)	測定した微生物	濁ったサンプル/全てのサンプル	許容基準	結果
0.2 µm	<i>B. diminuta</i>	0/32	0	適合

## まとめ

当社の分析メンブレンバンドは、試験に使用した3種の微生物（*E. Coli*、*K. aerogenes*、*S. cerevisiae*）に対してISO 7704:1985の基準に従って機能することが確認されました。各微生物は、それぞれの孔径のメンブレンフィルターでISO 7704:1985が定める回収率である80%以上の要件を満たしました。また、孔径0.2 µmのフィルターは、測定した全ての微生物を捕捉可能であり、32個のサンプルのうち $30 \pm 2$  °Cで7日間培養した後に微生物の増殖を示すサンプルはありませんでした。したがって、0.2 µmフィルターはASTM F838の標準試験法に従った微生物捕捉試験に合格したといえます。

詳細はこちらをご覧ください [thermofisher.com/filtration](https://thermofisher.com/filtration)

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。これらの製品は一般的なラボでの使用を目的としています。製品の性能がお客様の用途やアプリケーションに適しているかどうかはお客様自身でご確認ください。  
© 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.  
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.  
実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。  
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。  
標準販売条件はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/jp-tc](https://thermofisher.com/jp-tc) LSP100-A2402OB

## サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jpotech@thermofisher.com](mailto:jpotech@thermofisher.com)  
オーダーサポート TEL: 03-6832-9260 FAX: 03-6832-9261  
営業部 TEL: 03-6832-9270 FAX: 03-6832-9271

[thermofisher.com](https://thermofisher.com)

## その他の製品基準

### 繊維脱離がないメンブレン

本製品は、繊維脱離の問題がない（Non-fiber releasing membrane）混合セルロースエステル微多孔膜を使用して製造されています。これは、米国連邦食品医薬品法の食品添加物修正条項（21 CFR 210.3 (b) (6)）で定義されている“nonfibrous releasing”フィルターの基準を満たしています。

### 水質試験

本製品は、米国公衆衛生協会（APHA）、米国水道協会（AWWA）および水環境連盟（WEF）によって確立された標準水質検査法23版（Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Ed., Part 9020, Section 5i）に記載されている微生物の回収能力についてテストされています。また、メンブレンフィルターはISO 7704:1985に従って微生物の回収についてもテスト済みであり、これらの要件を満たしています。

### 滅菌グレード

孔径0.2 µmのメンブレンフィルターは、*B. diminuta*の7桁減少（ $10^7$ 個除去）を達成しており、ASTM F838による滅菌グレード基準を満たしています。

### 微生物の回収

- 孔径0.2 µmおよび0.45 µm: *E. coli* (ATCC 11775) および *K. aerogenes* (ATCC 35029) の回収についてISO 7704:1985に適合
- 孔径0.8 µm: *S. cerevisiae* (ATCC 7754) の回収についてISO 7704:1985に適合

### 滅菌バリデーション

本製品は、ガンマ線照射により滅菌されており、ISO 11137-1:2006で定義されている滅菌保証レベル（SAL  $10^{-6}$ ）に基づいて製品の出荷が認められています。

**注意事項:** 本製品は分析および研究目的のみに設計/製造されており、液体の滅菌や製造、または臨床（直接的な患者治療や診断）での使用を目的としたものではありません。