

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加える。

改正後	改正前
ワクチン（シードロット製剤）の部 豚大腸菌性下痢症不活化・クロストリジウム・パーフリンゲンストキソイド混合（アジュバント加）ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 K88 線毛抗原保有大腸菌 2.1.1.1・2.1.1.2 （略） 2.1.1.3 マスターシード菌 2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、<u>適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。</u> 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。</u> 2.1.1.4 ワーキングシード菌 2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、<u>適当と認められた培地で増殖及び継代する。</u> ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して 2～7℃で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。 2.1.1.5 プロダクションシード菌 2.1.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、<u>適当と認められた培地で増殖させる。</u>	ワクチン（シードロット製剤）の部 豚大腸菌性下痢症不活化・クロストリジウム・パーフリンゲンストキソイド混合（アジュバント加）ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 K88 線毛抗原保有大腸菌 2.1.1.1・2.1.1.2 （略） 2.1.1.3 マスターシード菌 2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、<u>適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。</u> 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。 2.1.1.4 ワーキングシード菌 2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、<u>適当と認められた培地で増殖及び継代する。</u> ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。 2.1.1.5 プロダクションシード菌 2.1.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、<u>適当と認められた培地で増殖させる。</u>

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 K99 線毛抗原保有大腸菌

2.1.2.1・2.1.2.2 (略)

2.1.2.3 マスターシード菌

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して2～7℃で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

2.1.2.4 ワーキングシード菌

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシード菌

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 987P 線毛抗原保有大腸菌

2.1.3.1・2.1.3.2 (略)

2.1.3.3 マスターシード菌

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍

結乾燥して2～7℃で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 K99 線毛抗原保有大腸菌

2.1.2.1・2.1.2.2 (略)

2.1.2.3 マスターシード菌

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して2～7℃で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.2.4 ワーキングシード菌

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシード菌

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 987P 線毛抗原保有大腸菌

2.1.3.1・2.1.3.2 (略)

2.1.3.3 マスターシード菌

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍

結乾燥して2～7℃で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

2.1.3.4 ワーキングシード菌

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシード菌

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.4 K99 及び F41 線毛抗原保有大腸菌

2.1.4.1・2.1.4.2 (略)

2.1.4.3 マスターシード菌

2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して2～7℃で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

2.1.4.4 ワーキングシード菌

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

結乾燥して2～7℃で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.3.4 ワーキングシード菌

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシード菌

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う

2.1.4 K99 及び F41 線毛抗原保有大腸菌

2.1.4.1・2.1.4.2 (略)

2.1.4.3 マスターシード菌

2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して2～7℃で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.4.4 ワーキングシード菌

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.4.5 プロダクションシード菌

2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.5 易熱性エンテロトキシン B サブユニット成分（以下この項において「LT_B」という。）

2.1.5.1・2.1.5.2 （略）

2.1.5.3 マスターシード菌

2.1.5.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.5.4 ワーキングシード菌

2.1.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5.5 プロダクションシード菌

2.1.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.6 クロストリジウム・パーフリンゲンス C 型菌

2.1.6.1・2.1.6.2 （略）

2.1.6.3 マスターシード菌

2.1.6.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程によ

2.1.4.5 プロダクションシード菌

2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.5 易熱性エンテロトキシン B サブユニット成分（以下この項において「LT_B」という。）

2.1.5.1・2.1.5.2 （略）

2.1.5.3 マスターシード菌

2.1.5.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.5.4 ワーキングシード菌

2.1.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5.5 プロダクションシード菌

2.1.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して $2\sim 7^{\circ}\text{C}$ で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.6 クロストリジウム・パーフリンゲンス C 型菌

2.1.6.1・2.1.6.2 （略）

2.1.6.3 マスターシード菌

2.1.6.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分

り作製し、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して2～7℃で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。 2.1.6.4 ワーキングシード菌 2.1.6.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。 2.1.6.5 プロダクションシード菌 2.1.6.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。 2.2・2.3 (略) 2.4 最終バルク 各原液を混合し、濃度調整し、アルミニウムゲルアジュバントを添加したものを最終バルクとする。 最終バルクにおいて力価試験を実施する場合について 3.5 の試験を行う。 2.5 小分製品 最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。 小分製品について、<u>3.6</u> の試験を行う。 3 試験法 3.1～3.4 (略) 3.5 最終バルクの試験 3.5.1 力価試験 <u>小分製品において力価試験を実施する場合には、この試験を行わなくてもよい。</u> 3.5.1.1 大腸菌線毛抗原及び大腸菌 LT_B 成分の力価試験 3.5.1.1.1 又は 3.5.1.1.2 の試験を行う。	注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して2～7℃で保存する。 マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。 2.1.6.4 ワーキングシード菌 2.1.6.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。 ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。 2.1.6.5 プロダクションシード菌 2.1.6.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して2～7℃で保存する。 プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。 2.2・2.3 (略) 2.4 最終バルク 各原液を混合し、濃度調整し、アルミニウムゲルアジュバントを添加したものを最終バルクとする。 2.5 小分製品 最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。 小分製品について、<u>3.5</u> の試験を行う。 3 試験法 3.1～3.4 (略) (新設)
--	---

3.5.1.1.1 相対力価（付記 13）による力価試験

3.5.1.1.1.1 大腸菌線毛抗原 K88 の力価試験

3.5.1.1.1.1.1 試験材料

3.5.1.1.1.1.1.1 試料

検体を、必要に応じて希釈・洗浄液 1 で希釈したものを試料とする。

3.5.1.1.1.1.2 試験方法

線毛抗原 K88 成分の参照品（付記 14）を、必要に応じて希釈・洗浄液 1 で希釈後、希釈した参照品及び試料の希釈・洗浄液 2 による 2 倍階段希釈液を作製し、抗体固相化プレート 1（付記 15）の各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、ペルオキシダーゼ標識抗大腸菌線毛抗原 K88 マウスモノクローナル抗体（付記 16）を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、基質液 2（付記 17）を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させる。主波長 405nm、副波長 490nm で参照品の最低希釈倍率の吸光度を測定し、その値が参照品毎に規定された値となった時点を反応終了とし、全穴の吸光度を測定する。

3.5.1.1.1.1.3 判定

参照品中の K88 線毛抗原量を 1.0 として、試料の K88 線毛抗原量の相対量を統計学的計算方法（付記 18）により算出するとき、相対力価は、1.0 以上でなければならない。

3.5.1.1.1.2 大腸菌線毛抗原 K99 の力価試験

3.5.1.1.1.2.1 試験材料

3.5.1.1.1.2.1.1 試料

検体を、希釈・洗浄液 1 で希釈した後、又は適当と認められた温度で凍結し融解した後、等量の溶出緩衝液（付記 19）を加え、常温で 60 分間振とうする。

3.5.1.1.1.2.2 試験方法

線毛抗原 K99 成分の参照品（付記 20）を、凍結乾燥品の場合は溶出緩衝液で再溶解し、凍結保存品の場合は融解して等量の溶出緩衝液を加え、常温で 1 時間振とうした後、希釈・洗浄液 2 で希釈したもの及び試料の希釈・洗浄液 2 による 2 倍階段希釈液を作製し、抗体固相化プレート 2（付記 21）の各穴に 100 μ L ずつ加え、15～30℃で 15±2 分間静置し、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、ペルオキシダーゼ標識抗大腸菌線毛抗原 K99 マウスモノクローナル抗体（付記 22）を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させる。主波長 405nm、副波長 490nm で参照品の最低希釈倍率の吸光度を測定し、その値が 1.1～1.5

となった時点を反応終了とし、全穴の吸光度を測定する。

3.5.1.1.1.2.3 判定

参照品中の K99 線毛抗原量を 1.0 として、試料の K99 線毛抗原量の相対量を統計学的計算方法により算出するとき、相対力価は、1.0 以上でなければならない。

3.5.1.1.1.3 大腸菌線毛抗原 987P の力価試験

3.5.1.1.1.3.1 試験材料

3.5.1.1.1.3.1.1 試料

検体を、希釈・洗浄液 2 で希釈した後、又は適当と認められた温度で凍結し融解した後、等量の溶出緩衝液を加え、常温で 60 分間振とうする。

3.5.1.1.1.3.2 試験方法

線毛抗原 987P 成分の参照品（付記 23）を希釈・洗浄液 2 で希釈したもの及び試料の希釈・洗浄液 2 による 2 倍階段希釈液を作製し、抗体固相化プレート 3（付記 24）の各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 15 分間静置した後、30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、抗大腸菌線毛抗原 987P マウスモノクローナル抗体 1（付記 25）を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、標識抗体 2（付記 26）を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させる。30 秒間振とうした後、主波長 405nm、副波長 490nm で参照品の最低希釈倍率の吸光度を測定し、その値が 1.1～1.5 となった時点を反応終了とし、全穴の吸光度を測定する。

3.5.1.1.1.3.3 判定

参照品中の 987P 線毛抗原量を 1.0 として、試料の 987P 線毛抗原量の相対量を統計学的計算方法により算出するとき、相対力価は、1.1 以上でなければならない。

3.5.1.1.1.4 大腸菌線毛抗原 F41 成分の力価試験

3.5.1.1.1.4.1 試験材料

3.5.1.1.1.4.1.1 試料

検体を、希釈・洗浄液 1 で希釈した後、又は適当と認められた温度で凍結し融解した後、等量の溶出緩衝液を加え、常温で 60 分間振とうする。

3.5.1.1.1.4.2 試験方法

線毛抗原 F41 成分の参照品（付記 27）を、凍結乾燥品の場合は溶出緩衝液で再溶解し、凍結保存品の場合は融解して等量の溶出緩衝液を加え、常温で 1 時間振とうした後、希釈・洗浄液 2 で希釈したもの及び試料の希釈・洗浄液 2 による 2 倍階段希釈液を作製し、抗体固相化プレート 4（付記 28）の各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で

洗浄した後、抗大腸菌線毛抗原 F41 マウスモノクローナル抗体 1 (付記 29) を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、標識抗体 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 30 分間振とうする。希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させる。主波長 405nm、副波長 490nm で参照品の最低希釈倍率の吸光度を測定し、その値が 1.1~1.5 となった時点を反応終了とし、全穴の吸光度を測定する。

3.5.1.1.1.4.3 判定

参照品中の F41 線毛抗原量を 1.0 として、試料の F41 線毛抗原量の相対量を統計学的計算方法により算出するとき、相対力価は、1.0 以上でなければならない。

3.5.1.1.1.5 大腸菌 LT_B の力価試験

3.5.1.1.1.5.1 試験材料

3.5.1.1.1.5.1.1 試料

検体を滅菌精製水で希釈し、水酸化ナトリウム溶液 (付記 30) で pH を 12.0 に調整した後、硫酸アンモニウム溶液 (付記 31) を混合して中和する。この混合液を遠心し、その上清を試料とする。

3.5.1.1.1.5.2 試験方法

大腸菌 LT_B 成分の参照品を滅菌精製水で再溶解したもの及び試料の希釈・洗浄液 1 による 2 倍階段希釈液を作製し、氷槽で保存する。ガングリオシド固相化プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間加温する。希釈・洗浄液 2 で 1 回、希釈・洗浄液 1 で 2 回洗浄した後、抗 LT_B 抗原兔ポリクローナル抗体を各穴に 50 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間加温する。洗浄液 3 で洗浄した後、標識抗体 1 を各穴に 50 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間加温する。洗浄液 3 で洗浄した後、基質液 1 を各穴に 200 μ L ずつ加え、常温で反応させる。主波長 490nm、副波長 630nm で参照品の最低希釈倍率の吸光度を測定し、その値が 0.9~1.1 となった時点を反応終了とし、全ての穴の吸光度を測定する。

3.5.1.1.1.5.3 判定

参照品中の LT_B 抗原量を 1.0 として、試料の LT_B 抗原量の相対量を統計学的計算方法により算出するとき、相対力価は、1.0 以上でなければならない。

3.5.1.1.2 抗体測定法による力価試験

3.5.1.1.2.1 大腸菌線毛抗原 K88 の力価試験

3.5.1.1.2.1.1 試験材料

3.5.1.1.2.1.1.1 注射材料

検体を水酸化アルミニウムゲル (付記 32) で 10 倍に希釈したものを注

射材料とする。

3.5.1.1.2.1.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

3.5.1.1.2.1.2 試験方法

試験動物 7 匹を用い、5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。注射材料の 1.0mL ずつを試験群の皮下に注射し、非注射群を対照群とする。注射後 3 週目に両群から得られた各個体の血清について、次の方法により抗体価を測定する。

試験群血清及び線毛抗原 K88 参照陽性血清 1 (付記 33) については 512 倍から、対照群血清については 2 倍から、希釈液 3 (付記 34) で 2 倍階段希釈を行う。各希釈血清及び線毛抗原 K88 参照陽性血清 2 (付記 35) を希釈液 3 で 1,024 倍に希釈したものを抗原吸着プレート 1 (付記 36) の穴に 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。各穴にペルオキシダーゼ標識 2 次抗体液 1 (付記 37) を 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させる。その後、洗浄液 2 で 3 回洗浄する。基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させ、主波長 405nm、副波長 490nm で各穴の吸光度を測定し、1,024 倍希釈した線毛抗原 K88 参照陽性血清 2 の平均吸光度値が 0.9~1.1 である時点を反応終了として、全穴の吸光度を測定する。

得られた被検血清の吸光度値が 0.9 以上を示した血清の最大希釈倍数の逆数を抗体価とする。

3.5.1.1.2.1.3 判定

試験群の血清は、80%以上が抗体価 2,048 倍以上でなければならない。また、対照群の血清は、全て抗体価 2 倍以下でなければならない。

線毛抗原 K88 参照陽性血清 1 は、抗体価 2,048~4,096 倍を示さなければならない。

3.5.1.1.2.2 大腸菌線毛抗原 K99 の力価試験

3.5.1.1.2.2.1 試験材料

3.5.1.1.2.2.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.5.1.1.2.2.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

3.5.1.1.2.2.2 試験方法

試験動物 7 匹を用い、5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。注射材料の 1.0mL ずつを試験群の皮下に注射し、非注射群を対照群とする。2 週間隔で 2 回注射後 2 週目に両群から得られた各個体の血清について、次の方法により抗体価を測定する。

試験群血清及び線毛抗原 K99 参照陽性血清 1 (付記 38) については 8 倍から、対照群血清については 2 倍から、希釈液 3 で 2 倍階段希釈を行う。各希釈血清及び線毛抗原 K99 参照陽性血清 2 (付記 39) を希釈液 3 で 512 倍に希釈したものを抗原吸着プレート 2 (付記 40) の各穴に 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。各穴にペルオキシダーゼ標識 2 次抗体液 1 を 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させる。その後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させ、主波長 405nm、副波長 490nm で各穴の吸光度を測定し、512 倍希釈した線毛抗原 K99 参照陽性血清 2 の平均吸光度値が 0.9～1.1 である時点を反応終了として、全穴の吸光度を測定する。得られた被検血清の吸光度値が 0.9 以上を示した血清の最大希釈倍数の逆数を抗体価とする。

3.5.1.1.2.2.3 判定

試験群の血清は、80%以上が抗体価 32 倍以上でなければならない。また、対照群の血清は、全て抗体価 2 倍以下でなければならない。線毛抗原 K99 参照陽性血清 1 は、抗体価 32～64 倍を示さなければならない。

3.5.1.1.2.3 大腸菌線毛抗原 987P の力価試験

3.5.1.1.2.3.1 試験材料

3.5.1.1.2.3.1.1 試験動物

3.5.1.1.2.2 の試験に用いた動物を用いる。

3.5.1.1.2.3.2 試験方法

3.5.1.1.2.2 の試験で得られた各個体の血清について、次の方法により抗体価を測定する。

試験群血清については 4 倍から、対照群血清及び線毛抗原 987P 参照陽性血清 1 (付記 41) については 2 倍から、希釈液 3 で 2 倍階段希釈を行う。各希釈血清及び線毛抗原 987P 参照陽性血清 2 (付記 42) を希釈液 3 で 128 倍に希釈したものを抗原吸着プレート 3 (付記 43) の穴に 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させた後、洗浄液 2 で 3 回洗浄する。各穴にペルオキシダーゼ標識 2 次抗体液 1 を 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させる。その後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させ、主波長 405nm、副波長 490nm で各穴の吸光度を測定し、128 倍希釈した線毛抗原 987P 参照陽性血清 2 の平均吸光度値が 0.9～1.1 である時点を反応終了として、全穴の吸光度を測定する。

得られた被検血清の吸光度値が 0.9 以上を示した血清の最大希釈倍数の逆数を抗体価とする。

3.5.1.1.2.3.3 判定

試験群の血清は、80%以上が抗体価 8 倍以上でなければならない。また、対照群の血清は、全て抗体価 2 倍以下でなければならない。

線毛抗原 987P 参照陽性血清 1 は、抗体価 8 ～16 倍を示さなければならない。

3.5.1.1.2.4 大腸菌線毛抗原 F41 の力価試験

3.5.1.1.2.4.1 試験材料

3.5.1.1.2.4.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.5.1.1.2.4.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

3.5.1.1.2.4.2 試験方法

試験動物 7 匹を用い、5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。注射材料の 1.0mL ずつを試験群の皮下に注射し、非注射群を対照群とする。注射後 3 週目に両群から得られた各個体の血清について、次の方法により抗体価を測定する。

試験群血清及び線毛抗原 F41 参照陽性血清 1（付記 44）については 64 倍から、対照群血清については 2 倍から、希釈液 3 で 2 倍階段希釈を行う。各希釈血清及び線毛抗原 F41 参照陽性血清 2（付記 45）を希釈液 3 で 512 倍に希釈したものを抗原吸着プレート 4（付記 46）の穴に 100 μ L ずつ加え、37℃で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。各穴にペルオキシダーゼ標識 2 次抗体液 1 を 100 μ L ずつ加え、37℃で 1 時間反応させる。その後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させ、主波長 405nm、副波長 490nm で各穴の吸光度を測定し、512 倍希釈した線毛抗原 F41 参照陽性血清 2 の平均吸光度値が 0.9～1.1 である時点を反応終了として、全穴の吸光度を測定する。

得られた被検血清の吸光度値が 0.9 以上を示した血清の最大希釈倍数の逆数を抗体価とする。

3.5.1.1.2.4.3 判定

試験群の血清は、80%以上が抗体価 256 倍以上でなければならない。また、対照群の血清は、全て抗体価 2 倍以下でなければならない。

線毛抗原 F41 参照陽性血清 1 は、抗体価 256～512 倍を示さなければならない。

3.5.1.1.2.5 大腸菌 LT_B の力価試験

3.5.1.1.2.5.1 試験材料

3.5.1.1.2.5.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.5.1.1.2.5.1.2 試験動物

約6週齢の雄 ddY 系マウスを用いる。

3.5.1.1.2.5.2 試験方法

試験動物 15 匹を用い、10 匹を試験群、5 匹を対照群とする。注射材料の 0.5mL ずつを試験群の皮下に注射し、非注射群を対照群とする。注射後 3 週目に両群から得られた各個体の血清について、次の方法により抗体価を測定する。

試験群血清及び LT_B 参照陽性血清 1（付記 47）については 128 倍から、対照群血清については 8 倍から、希釈液 4（付記 48）で 2 倍階段希釈を行う。各希釈血清及び LT_B 参照陽性血清 2（付記 49）を希釈液 4 で 512 倍に希釈したものを抗原吸着プレート 5（付記 50）の穴に 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液 1 で 3 回洗浄する。各穴にペルオキシダーゼ標識 2 次抗体液 2（付記 51）を 100 μ L ずつ加え、37°C で 1 時間反応させる。その後、希釈・洗浄液 2 で 3 回洗浄する。基質液 2 を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で反応させ、主波長 405nm、副波長 490nm で各穴の吸光度を測定し、512 倍希釈した LT_B 参照陽性血清 2 の平均吸光度値が 0.9～1.1 である時点反応終了として、全穴の吸光度を測定する。

得られた被検血清の吸光度値が 0.9 以上を示した血清の最大希釈倍数の逆数を抗体価とする。

3.5.1.1.2.5.3 判定

試験群の血清は、70%以上が抗体価 256 倍以上でなければならない。また、対照群の血清は、全て抗体価 8 倍以下でなければならない。

LT_B 参照陽性血清 1 は、抗体価 256～512 倍を示さなければならない。

3.5.1.2 クロストリジウム・パーフリンゲンストキソイドの力価試験

3.5.1.2.1 試験材料

3.5.1.2.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.5.1.2.1.2 試験動物

体重 1.8～3.6kg の SPF ニュージーランドホワイト種の兔及び約 5 週齢の ICR 系又は適当と認められたマウスを用いる。

3.5.1.2.2 試験方法

注射材料の 1 mL を、3 週間隔で 2 回、8 匹の兔の皮下に注射する。第 2 回注射後 2 週目に得られた血清について、抗毒素抗体価を測定する。試験動物 8 匹から得られた血清を等量混合する。ブール血清の 1、2、3、4 及び 5 倍希釈液をバクト-ペプトン液（付記 52）で作製する。10L₀ 量（付記 53）に濃度を調整したクロストリジウム・パーフリンゲンス C 型 β 毒素液（付記 54）と各希釈血清を等量混合後、25°C で 1 時間反応させ、氷中に保存する。各混合液を 1 群 5 匹のマウスに 0.2mL ずつ尾静脈内接種し、

24 時間後に観察する。同時に、試験に用いた 10L₀ 量及び 10L₊ 量 (付記 55) 毒素液 1 mL と 10 国際抗毒素単位 (付記 56。以下「IAU」という。) の標準抗毒素 (付記 57) 1 mL との混合液を同様にマウスに接種し毒素量を定量するとき、10L₀ 群では全マウスが生存し、10L₊ 群では 80% 以上のマウスが死亡しなければならない。	
3.5.1.2.3 判定 マウスが全数生存している群の最大希釈倍数を 10 倍した値を抗毒素抗体価とし、IAU で表すとき、プール血清の抗毒素抗体価は、10IAU 以上でなければならない。	
3.6 小分製品の試験	3.5 小分製品の試験
3.6.1～3.6.8 (略)	3.5.1～3.5.8 (略)
3.6.9 力価試験 試験品について 3.5.1 に準じて試験するとき、適合しなければならない。ただし、最終バルクにおいて力価試験を実施する場合には、この試験を行わなくてもよい。	3.5.9 力価試験
3.6.9.1～3.6.9.2 (略)	3.5.9.1～3.5.9.2 (略)
4 (略)	4 (略)
付記 1～8 (略)	付記 1～8 (略)
付記 9 <u>抗 LT_B 抗原兔ポリクローナル抗体</u>	付記 9 <u>抗 LT_B 抗原兔ポリクローナル抗体</u>
付記 10～13 (略)	付記 10～13 (略)
(削る)	付記 14 <u>溶出緩衝液</u> リン酸二水素カリウム 8.2 g 水 94 mL pH を 9.3 に調整する。
付記 14 (略)	付記 15 (略)
付記 15 抗体固相化プレート 1 希釈液 5 (付記 60) で適当な濃度に希釈した抗大腸菌抗原 K88 マウスモノクローナル抗体 1 (付記 61) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。	付記 16 抗体固相化プレート 1 希釈液 5 (付記 60) で適当な濃度に希釈した抗大腸菌抗原 K88 マウスモノクローナル抗体 1 (付記 61) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。
付記 16 <u>ペルオキシダーゼ標識抗大腸菌線毛抗原 K88 マウスモノクローナ</u>	付記 17 <u>ペルオキシダーゼ標識抗大腸菌線毛抗原 K88 マウスモノクローナ</u>

<u>ル抗体</u> (略) 付記 17・付記 18 (略) 付記 19 <u>溶出緩衝液</u> リン酸二水素カリウム $\frac{8.2}{94} \frac{\text{g}}{\text{mL}}$ 水 pH を 9.3 に調整する。 付記 20 (略) 付記 21 抗体固相化プレート 2 希釈液 5 で適当な濃度に希釈した抗大腸菌線毛抗原 K99 マウスモノクローナル抗体 1 (付記 63) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。 付記 22 <u>ペルオキシダーゼ標識抗大腸菌線毛抗原 K99 マウスモノクローナル抗体</u> (略) 付記 23 (略) 付記 24 抗体固相化プレート 3 希釈液 5 で適当な濃度に希釈した抗大腸菌線毛抗原 987P 兎ポリクローナル抗体 (付記 64) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。 付記 25 <u>抗大腸菌線毛抗原 987P マウスモノクローナル抗体 1</u> (略) 付記 26・付記 27 (略) 付記 28 抗体固相化プレート 4 希釈液 5 で適当な濃度に希釈した抗大腸菌線毛抗原 F41 兎ポリクローナル抗体 (付記 68) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。	<u>ル抗体</u> (略) 付記 18・付記 19 (略) (新設) 付記 20 (略) 付記 21 抗体固相化プレート 2 希釈液 5 で適当な濃度に希釈した抗大腸菌抗原 K99 マウスモノクローナル抗体 1 (付記 63) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。 付記 22 <u>ペルオキシダーゼ標識抗大腸菌線毛抗原 K99 マウスモノクローナル抗体</u> (略) 付記 23 (略) 付記 24 抗体固相化プレート 3 希釈液 5 で適当な濃度に希釈した抗大腸菌抗原 987P 兎ポリクローナル抗体 (付記 64) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。 付記 25 <u>抗大腸菌線毛抗原 987P マウスモノクローナル抗体 1</u> (略) 付記 26・付記 27 (略) 付記 28 抗体固相化プレート 4 希釈液 5 で適当な濃度に希釈した抗大腸菌抗原 F41 兎ポリクローナル抗体 (付記 68) を 96 穴プレートに分注し、反応させた後、希釈・洗浄液 2 で洗浄したもの。
---	---

付記 29 抗大腸菌線毛抗原 F41 マウスモノクローナル抗体 1
(略)

付記 30～付記 35 (略)

付記 36 抗原吸着プレート 1

希釈液 5 で $0.5 \mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 K88 マウスモノクローナル抗体 2 (付記 70) $100 \mu\text{L}$ ずつを 96 穴プレートの各穴に加えて反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 K88 を希釈・洗浄液 2 で希釈したものを各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 1 時間反応させたもの。

なお、精製線毛抗原 K88 の至適濃度は、線毛抗原 K88 参照陽性血清 2 を 1,024 倍に希釈したものをを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9～1.1 となる濃度とする。

付記 37～付記 39 (略)

付記 40 抗原吸着プレート 2

希釈液 5 で $1 \mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 K99 マウスモノクローナル抗体 2 (付記 72) $100 \mu\text{L}$ ずつを 96 穴プレートの各穴に加えて反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 K99 を希釈・洗浄液 2 で希釈し、プレートに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 1 時間反応させたもの。

なお、至適の精製線毛抗原 K99 濃度は、線毛抗原 K99 参照陽性血清 2 を 512 倍に希釈したものをを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9～1.1 となる濃度とする。

付記 41・付記 42 (略)

付記 43 抗原吸着プレート 3

希釈液 5 で $1 \mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 987P マウスモノクローナル抗体 2 (付記 74) $100 \mu\text{L}$ ずつを 96 穴プレートの各穴に加えて反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 987P を洗浄液 2 で希釈し、プレートに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 1 時間反応させたもの。

なお、至適の精製線毛抗原 987P 濃度は、線毛抗原 987P 参照陽性血

付記 29 抗大腸菌線毛抗原 F41 マウスモノクローナル抗体 1
(略)

付記 30～付記 35 (略)

付記 36 抗原吸着プレート 1

希釈液 5 で $0.5 \mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 K88 マウスモノクローナル抗体 2 (付記 70) $100 \mu\text{L}$ ずつを 96 穴プレートの各穴に加えて反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 K88 を希釈・洗浄液 2 で希釈したものを各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 1 時間反応させたもの。

なお、精製線毛抗原 K88 の至適濃度は、線毛抗原 K88 参照陽性血清 2 を 1,024 倍に希釈したものをを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9～1.1 となる濃度とする。

付記 37～付記 39 (略)

付記 40 抗原吸着プレート 2

希釈液 5 で $1 \mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 K99 マウスモノクローナル抗体 2 (付記 72) $100 \mu\text{L}$ ずつを 96 穴プレートの各穴に加えて反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 K99 を希釈・洗浄液 2 で希釈し、プレートに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 1 時間反応させたもの。

なお、至適の精製線毛抗原 K99 濃度は、線毛抗原 K99 参照陽性血清 2 を 512 倍に希釈したものをを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9～1.1 となる濃度とする。

付記 41・付記 42 (略)

付記 43 抗原吸着プレート 3

希釈液 5 で $1 \mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 987P マウスモノクローナル抗体 2 (付記 74) $100 \mu\text{L}$ ずつを 96 穴プレートの各穴に加えて反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 987P を洗浄液 2 で希釈し、プレートに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 37°C で 1 時間反応させたもの。

なお、至適の精製線毛抗原 987P 濃度は、線毛抗原 987P 参照陽性血

清 2 を 128 倍に希釈したものを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9 ～1.1 となる濃度とする。 付記 44・付記 45 （略） 付記 46 抗原吸着プレート 4 希釈液 5 で 1 $\mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 F41 マウスモノクローナル抗体 2（付記 76）100 μL ずつを 96 穴プレートの各穴に加え反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 987P を洗浄液 2 で希釈し、プレートに 100 μL ずつ加え、37°C で 1 時間反応させたもの。 なお、至適の精製線毛抗原 F41 濃度は、線毛抗原 F41 参照陽性血清 2 を 512 倍に希釈したものを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9 ～1.1 となる濃度とする。 付記 47～付記 80 （略）	清 2 を 128 倍に希釈したものを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9 ～1.1 となる濃度とする。 付記 44・付記 45 （略） 付記 46 抗原吸着プレート 4 希釈液 5 で 1 $\mu\text{g/mL}$ に希釈した抗大腸菌線毛抗原 F41 マウスモノクローナル抗体 2（付記 76）100 μL ずつを 96 穴プレートの各穴に加え反応させ、希釈・洗浄液 2 で洗浄した後、精製線毛抗原 987P を洗浄液 2 で希釈し、プレートに 100 μL ずつ加え、37°C で 1 時間反応させたもの。 なお、至適の精製線毛抗原 F41 濃度は、線毛抗原 F41 参照陽性血清 2 を 512 倍に希釈したものを用いて反応させた場合の吸光度が 0.9 ～1.1 となる濃度とする。 付記 47～付記 80 （略）
--	--