

# 鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス、サルモネラ・エンテリティディス、サルモネラ・ティフィムリウム）（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

令和4年8月15日(告示第1287号)新規追加

## 1 定義

シードロット規格に適合したサルモネラ・インファンティス（以下この項において「SI」という。）、サルモネラ・エンテリティディス（以下この項において「SE」という。）及びサルモネラ・ティフィムリウム（以下この項において「ST」という。）のそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮したものに油性アジュバントを添加し、混合したワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 SI

##### 2.1.1.1 名称

SI I-178 株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.1.2 性状

SI 基準株に一致する生物学的性状を示す。

##### 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、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成し、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、凍結して－70℃以下で保存する。

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、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－70℃以下で保存する。

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、適当と認められた培地で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－70℃以下で保存する。

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 SE

#### 2.1.2.1 名称

SE E-926 株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2.2 性状

SE 基準株に一致する生物学的性状を示す。

#### 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成し、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、凍結して－ 70 ℃以下で保存する。

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－ 70 ℃以下で保存する。

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する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－ 70 ℃以下で保存する。

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 ST

#### 2.1.3.1 名称

ST T-023 株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.3.2 性状

ST 基準株に一致する生物学的性状を示す。

#### 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成し、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、凍結して－ 70 ℃以下で保存する。

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－ 70 ℃以下で保存する。

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する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－ 70 ℃以下で保存する。

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 製造用材料

## 2.2.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

## 2.3 原液

### 2.3.1 SI 原液

#### 2.3.1.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

#### 2.3.1.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加え不活化し、リン酸緩衝食塩液（付記 1。以下この項において「PBS」という。）を用いて菌体を洗浄し、濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.3.1.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

### 2.3.2 SE 原液

#### 2.3.2.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

#### 2.3.2.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加え不活化し、PBS を用いて菌体を洗浄し、濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.3.2.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

### 2.3.3 ST 原液

#### 2.3.3.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

#### 2.3.3.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加え不活化し、PBS を用いて菌体を洗浄し、濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.3.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

各原液を混合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、3.5 の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 製造用株の試験

#### 3.1.1 マスターシード菌の試験

##### 3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.4.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.1.2 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法 1 を準用して試験するとき、サルモネラ菌以外の発育を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

#### 3.1.2 ワーキングシード菌の試験

##### 3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.3 プロダクションシード菌の試験

##### 3.1.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2 培養菌液の試験

##### 3.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.2.2 生菌数試験

###### 3.2.2.1 試験材料

###### 3.2.2.1.1 試料

検体を生理食塩水で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.2.2.1.2 培地

適当と認められた寒天培地を用いる。

###### 3.2.2.2 試験方法

試料 1 mL ずつを混釈法によりそれぞれ 2 枚以上の培地に接種し、37 °C で 24 時間培養した後、集落数を数える。

###### 3.2.2.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、SI については 1 mL 中  $10^{7.9}$  個以上、SE については 1 mL 中  $10^{8.2}$  個以上、ST については 1 mL 中  $10^{7.6}$  個以上でなければならない。

#### 3.3 不活化菌液の試験

##### 3.3.1 不活化試験

###### 3.3.1.1 試験材料

###### 3.3.1.1.1 試料

検体を試料とする。

###### 3.3.1.1.2 培地

適当と認められた液状培地及び適当と認められた寒天培地を用いる。

###### 3.3.1.2 試験方法

液状培地 100mL に試料 1 mL を接種し、37 °C で 24 時間培養する。培養液 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚以上の寒天培地に接種して、37 °C で 24 時間培養する。

###### 3.3.1.3 判定

いずれの寒天培地上においても、菌の発育を認めてはならない。

##### 3.3.2 総菌数試験

###### 3.3.2.1 試験材料

###### 3.3.2.1.1 試料

検体又は検体を適当と認められた PBS で希釈したものを試料とする。

###### 3.3.2.2 試験方法

分光光度計を用い、試料の吸光度を測定する。

###### 3.3.2.3 判定

標準検量線、試料の吸光度値及び検体の希釈倍数から総菌数を算出するとき、検体の総菌数は、SI については 1 mL 中  $10^{8.2}$  個以上、SE については  $10^{8.5}$  個以上、ST については  $10^{7.9}$  個以上でなければならない。

### 3.4 原液の試験

#### 3.4.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.5 小分製品の試験

#### 3.5.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

#### 3.5.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.5.3 ホルマリン定量試験

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、0.2vol %以下でなければならない。

#### 3.5.4 安全試験

##### 3.5.4.1 試験材料

##### 3.5.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 3.5.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の 5 ～ 7 週齢の鶏を用いる。

##### 3.5.4.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

注射材料 1 羽分ずつを試験群の背側部皮下に注射し、対照群と共に 4 週間観察を行い、試験最終日に注射部位を剖検する。

##### 3.5.4.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したとき、注射部位に著しい異常を認めてはならない。

#### 3.5.5 力価試験

##### 3.5.5.1 SI 感染症力価試験

##### 3.5.5.1.1 試験材料

3.5.4 の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 3.5.5.1.2 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）抗原

組換え SI ベン毛抗原（付記 2）を用いる。

##### 3.5.5.1.3 試験方法

3.5.4 の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISA を行う。

試験群及び対照群の各血清、SI 参照陽性血清（付記 3）及び参照陰性血清（付記 4）を希釈・洗浄液（付記 5）で 400 倍希釈し、それぞれ組換え SI ベン毛抗原吸着プレート（付記 6）4 穴に 100  $\mu$  L ずつ加える。各プレートに、希釈・洗浄液のみの穴を 3 穴設け、ブランク穴とする。37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体（付記 7）を 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。基質液（付記 8）を 100  $\mu$  L ずつ加え、遮光して室温で 15 分間反応させた後、反応停止液（付記 9）を 50  $\mu$  L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長 492nm で測定する。

##### 3.5.5.1.4 判定

各穴の吸光度からブランク穴の平均吸光度を引いた値を各穴の吸光度値とする。それぞれの血清

の4穴の吸光度値を比較し、最高値と最低値を除いた2穴の平均吸光度値を、それぞれの血清の吸光度値とし、試験群及び対照群の各血清の吸光度値を SI 参照陽性血清の吸光度値で除した値を、それぞれの血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は、0.25 以上でなければならない、対照群の ELISA 抗体価は、いずれも 0.1 以下でなければならない。また、SI 参照陽性血清の吸光度値は、0.8 ～ 1.2 を示さなければならない、参照陰性血清の吸光度値は、0.1 以下でなければならない。

#### 3.5.5.2 SE 感染症力価試験

##### 3.5.5.2.1 試験材料

3.5.4 の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 3.5.5.2.2 ELISA 抗原

SE 精製べん毛抗原（付記 10）を用いる。

##### 3.5.5.2.3 試験方法

3.5.4 の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISA を行う。

試験群及び対照群の各血清、SE 参照陽性血清（付記 11）及び参照陰性血清を希釈・洗浄液で 800 倍希釈し、それぞれ SE 精製べん毛抗原吸着プレート（付記 12）4 穴に 100  $\mu$  L ずつ加える。各プレートに、希釈・洗浄液のみの穴を 3 穴設け、ブランク穴とする。37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。基質液を 100  $\mu$  L ずつ加え、遮光して室温で 15 分間反応させた後、反応停止液を 50  $\mu$  L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長 492nm で測定する。

##### 3.5.5.2.4 判定

各穴の吸光度からブランク穴の平均吸光度を引いた値を各穴の吸光度値とする。それぞれの血清の4穴の吸光度値を比較し、最高値と最低値を除いた2穴の平均吸光度値を、それぞれの血清の吸光度値とし、試験群及び対照群の各血清の吸光度値を SE 参照陽性血清の吸光度値で除した値を、それぞれの血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は、0.25 以上でなければならない、対照群の ELISA 抗体価は、いずれも 0.1 以下でなければならない。また、SE 参照陽性血清の吸光度値は、0.8 ～ 1.2 を示さなければならない、参照陰性血清の吸光度値は、0.1 以下でなければならない。

#### 3.5.5.3 ST 感染症力価試験

##### 3.5.5.3.1 試験材料

3.5.4 の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 3.5.5.3.2 ELISA 抗原

組換え ST べん毛抗原（付記 13）を用いる。

##### 3.5.5.3.3 試験方法

3.5.4 の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISA を行う。

試験群及び対照群の各血清、ST 参照陽性血清（付記 14）及び参照陰性血清を希釈・洗浄液で 400 倍希釈し、それぞれ組換え ST べん毛抗原吸着プレート（付記 15）4 穴に 100  $\mu$  L ずつ加える。各プレートに、希釈・洗浄液のみの穴を 3 穴設け、ブランク穴とする。37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。基質液を 100  $\mu$  L ずつ加え、遮光して室温で 15 分間反応させた後、反応停止液を 50  $\mu$  L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長 492nm で測定する。

##### 3.5.5.3.4 判定

各穴の吸光度からブランク穴の平均吸光度を引いた値を各穴の吸光度値とする。それぞれの血清の4穴の吸光度値を比較し、最高値と最低値を除いた2穴の平均吸光度値を、それぞれの血清の吸光度値とし、試験群及び対照群の各血清の吸光度値を ST 参照陽性血清の吸光度値で除した値を、それぞれの血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は、0.2 以上でなければならない、対照群の ELISA 抗体価は、いずれも 0.1 以下でなければならない。また、ST 参照陽性血清の吸光度値は、0.8 ～ 1.2 を示さなければならない、参照陰性血清の吸光度値は、0.1 以下でなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、3 年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

#### 5 その他

##### 5.1 添付文書等記載事項

- 1 本剤を鶏に使用する場合は、事前に最寄りの家畜保健衛生所に相談の上、指示を受け、標識した無注射鶏を 1 % 程度残す旨
- 2 本剤を投与した鶏はひな白痢の抗体検査で陽性を示す旨
- 3 本剤の投与と併せて、国が定めた鶏卵のサルモネラ総合対策指針に基づき、総合的な衛生管理対策を実施する旨

##### 付記 1 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.0 g
塩化カリウム	0.2 g
リン酸二水素カリウム	0.3 g
リン酸水素二ナトリウム	1.15 g
水	残 量

pH を 6.8 ～ 7.4 に調整する。

##### 付記 2 組換え SI ベン毛抗原

SI I-178 株の *fliC* 遺伝子の一部を挿入したプラスミドで形質転換した大腸菌を超音波で破碎し、ベン毛抗原をアフィニティークロマトグラフィーにより精製した後、PBS で透析したもので、 $-80^{\circ}\text{C}$  以下で保存する。SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析したとき、35 ～ 40kDa の位置にバンドを認める。3.5.5.1 の試験により ELISA を行うとき、SI 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ～ 1.2、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時のたん白質量が  $0.01 \sim 0.06 \mu\text{g}/\text{穴}$  になるように炭酸緩衝液（付記 16）で調整する。

##### 付記 3 SI 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏を SI I-178 株で免疫して得た血清で、3.5.5.1 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.8 ～ 1.2 を示し、3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.25 以下を示し、3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.2 以下を示す。凍結して  $-20^{\circ}\text{C}$  以下で保存する。

##### 付記 4 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏の血清で、3.5.5.1、3.5.5.2 及び 3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、いずれの試験においても吸光度値が 0.1 以下を示す。凍結して  $-20^{\circ}\text{C}$  以下で保存する。

##### 付記 5 希釈・洗浄液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.0 g
塩化カリウム	0.2 g

リン酸水素二ナトリウム	1.15 g
リン酸二水素カリウム	0.3 g
水	残 量

pH を 7.2 に調整後、ポリソルベート 20 を 0.5mL 添加する。

#### 付記 6 組換え SI ベン毛抗原吸着プレート

組換え SI ベン毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液（付記 17）を 200  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄したもの

#### 付記 7 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗鶏 IgG (H+L) 抗体で、3.5.5.1、3.5.5.2 及び 3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、SI 参照陽性血清、SE 参照陽性血清及び ST 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ～ 1.2 を示し、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示すように、希釈・洗浄液又は 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液で調整したもの

#### 付記 8 基質液

$\sigma$  -フェニレンジアミン二塩酸塩 10mg をリン酸クエン酸緩衝液（付記 18）10mL に遮光して溶解し、使用直前に過酸化水素水 10  $\mu$  L を添加したもの

#### 付記 9 反応停止液

1,000mL 中	
シュウ酸二水和物	28.02 g
水	残 量

#### 付記 10 SE 精製ベン毛抗原

SE E-926 株の培養菌液に塩酸を加えた後、硫酸アンモニウムで沈殿させたベン毛抗原を PBS で透析したもので、 $-80^{\circ}$ C 以下で保存する。3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、SE 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ～ 1.2、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時のたん白質量が 0.01 ～ 0.2  $\mu$  g/穴になるように炭酸緩衝液で調整する。

#### 付記 11 SE 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏を SE E-926 株で免疫して得た血清で、3.5.5.1 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.25 以下を示し、3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.8 ～ 1.2 を示し、3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.2 以下を示す。凍結して  $-20^{\circ}$ C 以下で保存する。

#### 付記 12 SE 精製ベン毛抗原吸着プレート

SE 精製ベン毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液を 200  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄したもの

#### 付記 13 組換え ST ベン毛抗原

ST T-023 株の fliC 遺伝子の一部を挿入したプラスミドで形質転換した大腸菌を超音波で破



碎し、べん毛抗原をアフィニティークロマトグラフィーにより精製した後、PBS で透析したもので、 $-80^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析したとき、35 ～ 40kDa の位置にバンドを認める。3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、ST 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ～ 1.2、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時のたん白質量が  $0.01 \sim 0.06 \mu\text{g}/\text{穴}$  になるように炭酸緩衝液で調整する。

#### 付記 14 ST 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏を ST T-023 株で免疫して得た血清で、3.5.5.1 及び 3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、いずれも吸光度値が 0.25 以下を示し、3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.8 ～ 1.2 を示す。凍結して  $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

#### 付記 15 組換え ST べん毛抗原吸着プレート

組換え ST べん毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に  $100 \mu\text{L}$  ずつ加え、 $37^{\circ}\text{C}$ で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 1 w/v %スキムミルク加希釈・洗浄液を  $200 \mu\text{L}$  ずつ加え、 $37^{\circ}\text{C}$ で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄したもの

#### 付記 16 炭酸緩衝液

1,000mL 中

炭酸ナトリウム 1.59 g

炭酸水素ナトリウム 2.93 g

水 残 量

pH を 9.6 に調整する。

#### 付記 17 1 w/v %スキムミルク加希釈・洗浄液

希釈・洗浄液にスキムミルクを 1 w/v %となるように加え、溶解したもの

#### 付記 18 リン酸クエン酸緩衝液

1,000mL 中

クエン酸一水和物 10.3 g

リン酸水素二ナトリウム 14.5 g

水 残 量

pH を 5.0 に調整する。