9㎎に相当するポリサッカライドを含む試料溶液を調製する。各試料溶液につき、日本薬局方一般試験法の核磁気共鳴スペクトル測定法（^{1}H）により試験を行うとき、C―ポリサッカライドの含量は次の表に掲げる値以下に、メチルペントース、O―アセチル基、N―アセチルヘキソサミン、N―アセチルグリコサミン、N―アセチルフコサミン及びピルビン酸の含量は次の表に掲げる値以上に、それぞれならなければならない。

莢膜血清型	C―ポリサッカライド含量（%）	メチルペントース含量(%)	O―アセチル基含量（%）	N―アセチルヘキソサミン含量(%)	N―アセチルグリコサミン含量（%）	N―アセチルフコサミン含量(%)	ピルビン酸含量*（mol／mol）
4	15				53	17	0.7
6B	5	16					
9V	9		4.5	18			
14	12			22			
18C	10	12	2.8				
19F	10	19		25			
23F	10	29					

*N―アセチルフコサミンに対するピルビン酸の比

3.2　精製CRM$_{197}$の試験

精製CRM$_{197}$について、次の試験を行う。

3.2.1　ADPリボシルトランスフェラーゼ活性試験

^{14}C標識したニコチンアミドアデニンジヌクレオチドを用いて、検体及びジフテリア毒素のADPリボシルトランスフェラーゼ活性を測定するとき、ジフテリア毒素に対する検体の活性は0.0135%以下でなければならない。

3.2.2　純度試験

サイズ排除クロマトグラフィーにより試験を行うとき、検体に含まれるCRM$_{197}$の割合は、95%以上でなければならない。

3.3　原液の試験

各莢膜血清型の原液について、次の試験を行う。

3.3.1　遊離サッカライド試験

適量の原液にアルミニウム塩を加えて試料原液とする。適量の試料原液を希釈したものを総サッカライド測定用試料溶液とする。また、残りの試料原液を遠心分離し、その上清を遊離サッカライド測定用試料溶液とする。3.3.4の試験法によりサッカライド含量を求めるとき、総サッカライドに対する遊離サッカライドの割合は、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値以下でなければならない。

莢膜血清型	遊離サッカライド（%）
4	40
6B	30
9V	35
14	35
18C	30
19F	35
23F	20

3.3.2　遊離たん白質試験

サイズ排除クロマトグラフィーにより試験を行うとき、各莢膜血清型の原液に含まれる遊離たん白質含量は1%以下でなければならない。

3.3.3　シアン化物試験

原液にリン酸二水素ナトリウム溶液、クロラミン溶液及びピリジン・バルビツール酸溶液を加えて調製した試料溶液につき、波長578nmにおける吸光度を測定することにより、各莢膜血清型の原液に含まれるシアン化物含量を求めるとき、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値以下でなければならない。

莢膜血清型	シアン化物含量［pg／μg（サッカライド）］
4	250
6B	150
9V	300
14	150
18C	150
19F	150
23F	150

3.3.4　サッカライド含量試験

原液にアントロン硫酸溶液を加え、90～100℃で加熱する。冷却後、波長625nmにおける吸光度を測定することにより、各莢膜血清型の原液に含まれるサッカライド含量を求めるとき、1mL中300μg以上でなければならない。

3.3.5　分子量分布試験

原液につき、サイズ排除クロマトグラフィーにより、0.9%塩化ナトリウム溶液を用いてKd値0.3以下に溶出する画分を分画し、3.3.4の試験法によりサッカライド含量を求めるとき、各莢膜血清型の原液のサッカライド含量は、それぞれ次の表に掲げる値以上でなければならない。

莢膜血清型	Kd値0.3以下のサッカライド含量（%）
4	40
6B	35
9V	40
14	50
18C	40
19F	30
23F	35