2.3　最終バルク

1mL中に各葵膜血清型の髄膜炎菌多糖体―ジフテリアトキソイド結合体が、多糖体として8μgずつ含まれるように、各葵膜血清型の原液を0.85％塩化ナトリウム溶液で希釈混合し、さらにリン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液を加えて、最終バルクとする。

3　試験

3.1　髄膜炎菌由来誘導化多糖体の試験

検体にクロラミンＴ溶液及びピリジン・バルビツール酸溶液を加えて呈色反応を行い、シアン化物の量を求めるとき、10μg／mL以下でなければならない。

3.2　精製ジフテリアトキソイドの試験

3.2.1　無毒化試験

検体を100Lf／mLに希釈し、体重300～400ｇのモルモット４匹以上に、１匹当たり５mLを皮下に注射して30日間以上観察する。この間、いずれの動物も毒素による中毒死、浮腫、壊死、副腎及び肺の炎症並びに剖検による胸膜滲出液の増加によって確認される中毒症状を示してはならない。

3.2.2　純度試験

ネスラー法によりたん白窒素含量を測定し、フロキュレーション試験によりトキソイド含量を測定するとき、たん白窒素１mgにつきトキソイド1500Lf以上を含まなければならない。

3.2.3　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。

3.3　原液の試験

各葵膜血清型の原液について、次の試験を行う。

3.3.1　総多糖体含量試験

3.3.1.1　葵膜血清型Ａ

適量の原液（葵膜血清型Ａ）及びリン酸標準溶液を無機化処理し、適当な方法で呈色した液につき、波長750nmにおける吸光度を測定し、原液中のリン含量を求める。このリン含量より多糖体含量を計算して求めるとき、100.0～2200.0μg／mLでなければならない。

3.3.1.2　葵膜血清型Ｃ、Ｙ及びW―135

適量の原液（葵膜血清型Ｃ、Ｙ及びW―135）及び*N*―アセチルノイラミン酸標準溶液を適当な方法で呈色した液につき、波長580nmにおける吸光度を測定し、原液中のシアル酸含量を求める。このシアル酸含量より多糖体含量を計算して求めるとき、いずれの葵膜血清型も100.0～1150.0μg／mLでなければならない。

3.3.2　*O*―アセチル含量試験

適量の原液に水を加えて試料溶液とする。アルカリ条件下において、試料溶液に塩化ヒドロキシルアンモニウム及び塩化鉄を加えて波長540nmにおける吸光度を測定するとき、葵膜血清型Ａ、Ｃ、Ｙ及びW―135の原液に含まれる*O*―アセチル含量は、3.3.1で求めた多糖体１mgにつき、それぞれ1.5μmol、1.5μmol、0.3μmol及び0.3μmol以上でなければならない。

3.3.3　遊離多糖体試験

適量の原液に硫酸アンモニウムを加えて試料溶液とする。試料溶液の適量につき疎水性相互作用クロマトグラフィーで分離し、溶出分画中の遊離多糖体含量を3.3.1の試験法により求めるとき、総多糖体に対する遊離多糖体の割合は、15％以下でなければならない。

3.3.4　多糖体／たん白質比試験

ローリー溶液及び希フォリン―シオカルト溶液を加えて試験を行い、波長750nmにおける吸光度を測定し、各葵膜血清型の原液中のたん白質含量を求める。葵膜血清型Ａ、Ｃ、Ｙ及びW―135の原液に含まれるたん白質含量に対する、3.3.1で得られた多糖体の含量の比率は、それぞれ0.20～0.60、0.10～0.50、0.20～0.60及び0.20～0.60でなければならない。

3.3.5　遊離たん白質試験

キャピラリー電気泳動法により試験を行い、各葵膜血清型の原液に含まれる遊離タンパク質含量を求めるとき、3.3.4で求めたたん白質含量に対する割合は、10％以下でなければならない。

3.3.6　硫酸アンモニウム試験

適量の原液に塩化ナトリウム溶液を加えて試料溶液とする。２―ケトグルタル酸二ナトリウム及びβ―ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド―２'―リン酸四ナトリウム（還元型）を含む溶液を加えて波長340nmにおける吸光度を測定する。これにＬ―グルタミン酸デヒドロゲナーゼ溶液を加え、波長340nmにおける吸光度を測定する。Ｌ―グルタミン酸デヒドロゲナーゼ溶液添加前後の吸光度の変化量より各葵膜血清型の原液に含まれる硫酸アンモニウム量を求めるとき、300μg／mL以下でなければならない。

3.3.7　分子サイズ試験

適量の原液に移動相を加えて試料溶液とし、サイズ排除クロマトグラフィーにより試験を行うとき、各葵膜血清型の原液の*K*d値は0.8以下でなければならない。

3.3.8　エンドトキシン試験

日本薬局方一般試験法のエンドトキシン試験法を準用して試験するとき、3.3.1で求めた多糖体１μgにつき0.75ＥＵ以下でなければならない。

3.3.9　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。

3.3.10　血清学的同定試験

各葵膜血清型多糖体及びジフテリアトキソイドに特異性を示す抗体を用いてＥＬＩＳＡ法を行い、検体中の髄膜炎菌（葵膜血清型Ａ、Ｃ、Ｙ及びW―135）多糖体ジフテリアトキソイド結合体を同定する。

3.4　小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3.4.1　pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.3～7.3でなければならない。

3.4.2　エンドトキシン試験

一般試験法のエンドトキシン試験法を準用して試験するとき、24ＥＵ／mL以下でなければならない。

3.4.3　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。

3.4.4　異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定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。

3.4.5　たん白質含量

ローリー法を準用してたん白質含量を求めるとき、64～200μg／mLでなければならない。

3.4.6　多糖体含量試験

トリフルオロ酢酸で加水分解した後、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて、検体中の各葵膜血清型多糖体含量を求めるとき、いずれも5.4～11.8μg／mLでなければならない。

3.4.7　表示確認試験

ＥＬＩＳＡ法により、各葵膜血清型の髄膜炎菌多糖体―ジフテリアトキソイド結合体の確認を行う。

4　貯法及び有効期間

貯法は、２～８℃とする。

有効期間は、承認された期間とする。