

参考 2

**第十四改正日本薬局方 第二追補（案）
新旧対照表**

平成16年12月24日
薬事分科会

一般試験法 7. エンドトキシン試験法を次のように改める。[フォーラム 12-3 に収載]

新	旧
<p>ゲル化法</p> <p>(2) 限度試験法</p> <p>(ii) 判定</p> <p>B 及び C 液の 2 回の試験結果がいずれも陽性で、D 液の 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、試験は有効とする。</p> <p>A 液の 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、被検試料はエンドトキシン規格に適合とし、いずれも陽性のとき、不適とする。</p> <p>A 液の 2 回の試験結果において、1 回が陰性で他の 1 回が陽性のとき、この 2 回の試験を繰り返し行う。その 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、被検試料はエンドトキシン規格に適合とする。両方若しくは一方が陽性の場合には不適とする。</p> <p>ただし、陽性の結果が得られたいずれの場合でも、<u>試料溶液の希釈倍数が最大有効希釈倍数未満の場合、最大有効希釈倍数あるいはそれを越えない希釈倍数で試験をやり直すことができる。</u></p>	<p>ゲル化法</p> <p>(2) 限度試験法</p> <p>(ii) 判定</p> <p>B 及び C 液の 2 回の試験結果がいずれも陽性で、D 液の 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、試験は有効とする。</p> <p>A 液の 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、被検試料はエンドトキシン規格に適合とする。</p> <p>A 液の 2 回の試験結果において、1 回が陰性で、他の 1 回が陽性のとき、試験を更に 2 回行う。この 2 回の試験結果がいずれも陰性でないとき、被検試料はエンドトキシン規格に不適とする。</p> <p>A 液の 2 回の試験結果がいずれも陽性のとき、A 液が最大有効希釈倍数で希釈された試料溶液で調製されている場合、被検試料はエンドトキシン規格に不適とし、A 液の試料溶液の希釈倍数が最大有効希釈倍数未満の場合、最大有効希釈倍数で希釈した試料溶液で試験を行う。</p>

新	旧
<p>8. 核磁気共鳴スペクトル測定法</p> <p>核磁気共鳴 (以下「NMR」という.) スペクトル測定法は、<u>静磁場に置かれた物質の構成原子核がその核に特有の周波数のラジオ波に共鳴して低エネルギーの核スピン状態から高エネルギーの核スピン状態に遷移することに伴ってラジオ波を吸収する現象を利用したスペクトル測定法であり、測定対象とする核は主に ^1H, ^{13}C, ^{15}N, ^{19}F, ^{31}P などである.</u></p> <p>原子核の核スピン I は、$0, 1/2, 1, 3/2, \dots, n/2$ (ただし、n は整数) などの値 (^1H 及び ^{13}C では $I = 1/2$) をとる. 核を磁場の中に置くと、核モーメントは磁気量子数 m_I に従って $2I+1$ (^1H, ^{13}C などでは 2) 個の方向に配向する. 配向したエネルギー準位間に遷移を起こさせるには次式の周波数 ν のラジオ波を与える必要がある. すなわち、磁気回転比 γ の核を外部磁場 H_0 の中に置いたとき</p> $\nu = \gamma \cdot \frac{H_0}{2\pi}$ <p>γ: 磁気回転比 H_0: 外部磁場</p> <p>であるから、周波数 ν のラジオ波の照射によって共鳴条件が満たされ、その周波数のラジオ波の吸収 (NMR シグナル) が観測される. どのような環境の核に対しても吸収の係数 (遷移の確率) は一定であるので、得られた NMR シグナル強度は基本的に共鳴核の数に比例する. このような遷移によって高エネルギー準位に偏った核スピンは、一定時間後に再び熱平衡分布にもどる (緩和する) が、これに要する時間を緩和時間という.</p> <p>分子を磁場の中に置くと分子内の電子が核を外部磁場から遮へいする. 分子内での核の環境が異なるとその遮へいの度合も異なるので、それぞれの異なる環境の核の共鳴周波数も異なることになり、別々のシグナルとして観測される. このシグナルの位置は化学シフト δ として表現される. <u>共鳴周波数は磁場に比例して変化するので、磁場によらない量として、化学シフトを次式のとおりに定義する.</u></p> $\delta = \frac{\nu_S - \nu_R}{\nu_R} + \delta_R$ <p>ν_S: 試料核の共鳴周波数 ν_R: 基準核の共鳴周波数 δ_R: 基準核の化学シフト (0 でない場合)</p> <p>化学シフトは、通例、基準物質 (基準核) のシグナルの位置を 0 とした ppm 単位で表すが、<u>基準物質のシグナル位置が 0 とできない場合は、その基準物質の予め定められている化学シフトを用いて補正する.</u></p> <p>分子内の各核における磁場は、周囲の電子の寄与</p>	<p>8. 核磁気共鳴スペクトル測定法 (^1H)</p> <p>核磁気共鳴 (以下「NMR」という.) スペクトル測定法 (^1H) は、<u>磁場内に置かれた物質の構成原子核 ^1H がその核に特有の周波数のラジオ波に共鳴して低エネルギーの核スピン状態から高エネルギーの核スピン状態に遷移することに伴ってラジオ波を吸収する現象を利用したスペクトル測定法である.</u></p> <p>原子核の核スピン I は、$0, 1/2, 1, 3/2, \dots, n/2$ (ただし、n は整数) などの値 (^1H では $I = 1/2$) をとる. 核を磁場の中に置くと、核モーメントは磁場量子数 m_I に従って $2I+1$ (^1H では 2) の方向に配向する. 配向したエネルギー準位間に遷移を起こさせるには次式の周波数 ν のラジオ波を与える必要がある. すなわち、磁気回転比 γ の核を外部磁場 H_0 の中に置いたとき</p> $\nu = \gamma \cdot \frac{H_0}{2\pi}$ <p>γ: 磁気回転比 H_0: 外部磁場</p> <p>であるから、周波数 ν のラジオ波の照射によって共鳴条件が満たされ、その周波数のラジオ波の吸収 (NMR シグナル) が観測される. どのような環境の核 (^1H) に対しても吸収の係数 (遷移の確率) は一定であるので、得られた NMR シグナルは核 (^1H) の数に比例する. このような遷移によって高エネルギー準位に偏った核スピンは、一定時間後に再び熱平衡分布にもどる (緩和する) が、これに要する時間を緩和時間という.</p> <p>分子を磁場の中に置くと分子内の電子が核 (^1H) を外部磁場から遮へいする. 分子中での核 (^1H) の環境が異なるとその遮へいの度合も異なるので、それぞれの異なる環境の核 (^1H) の共鳴周波数も異なることになり、別々のシグナルとして観測される. このシグナルの位置は化学シフト δ として表現される. <u>化学シフトの定義は次式のとおりにである.</u></p> $\delta \text{ ppm} = \frac{\nu_S - \nu_R}{\omega} \times 10^6$ <p>ω: 発振器の周波数 (60 MHz, 100 MHz など) ν_S: 試料核の共鳴周波数 ν_R: 基準核の共鳴周波数</p> <p>化学シフトは、通例、基準物質 (基準核) のシグナルの位置を 0 とした ppm 単位で表す.</p> <p>分子内の各核 (^1H) における磁場は、周囲の電子の寄与 (核遮へい) だけでなく分子中の他の核磁石 (核スピンをもっている核は、それ自身が一つの磁石である) の影響下にもあるので、核磁石間の相互作用によってシグナルは分裂する. この分裂の間隔をスピン-スピン結合定数 J という. J はヘルツ</p>

(核遮蔽)だけでなく分子中の他の核磁石(核スピンの持っている核は、それ自身が一つの磁石である)の影響下にもあるので、核磁石間の化学結合によるカップリングによってシグナルは分裂する。この分裂の間隔をスピンスピン結合定数 J という。 J はヘルツ(Hz)単位で表す。 J は外部磁場の大きさに依存せず、分裂のパターンは相互作用する核の数が増すにつれ複雑になる。

NMR スペクトルからは基本的には化学シフト、スピンスピン結合定数、シグナル面積強度(^1H 核では数に比例するが、 ^{13}C 核などでは核オーバーハウザー効果(NOE)及び緩和などの影響を受ける)、緩和時間の4つのパラメータが得られ、これらを利用して物質の構造解析、確認又は定量を行うことができる。

構造解析のために、デカップリング、NOE、二次元NMRなどの種々の手法を用いることができる。

装置

NMR スペクトルの測定は次のいずれかの装置による。

(1) パルスフーリエ変換 NMR (FT-NMR) スペクトル測定装置

強力なラジオ周波数パルスで観測核を全周波数領域にわたって同時に励起する。パルスを切った後のFID (free induction decay, 自由誘導減衰)を観測し、強度の時間関数であるFIDをフーリエ変換により周波数関数に変換してスペクトルを得る(図1)。FT-NMRでは、観測周波数に応じたデータポイント数、パルス角、取り込み時間、遅延時間及び積算回数などを適切に設定する。

最近では、(2)に示す連続波 NMR スペクトル測定装置よりも、高感度及び高度な測定が可能であるFT-NMRが通常使用される。

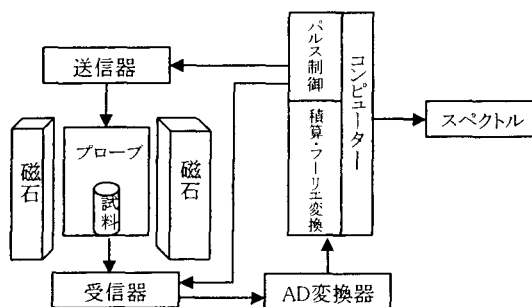


図1 FT-NMR 装置

(2) 連続波 NMR (CW-NMR) スペクトル測定装置

CW 法は、磁場又はラジオ周波数を連続的に変化させて、観測核の化学シフトの範囲を掃引する(図2)。

(Hz) 単位で表す。 J は外部磁場の大きさに依存せず、分裂のパターンは相互作用する核(^1H)の数が増すにつれ複雑になる。

NMR スペクトルからは基本的には以上の4つのパラメータが得られる。すなわち、化学シフト、スピンスピン結合定数、シグナル面積強度(^1H の数)、緩和時間である。これらを利用して物質の構造解析、確認又は定量を行うことができる。

構造解析のために、デカップリング、核オーバーハウザー効果、二次元NMRなどの種々の手法を用いることができる。

装置

NMR スペクトルの測定は次のいずれかの装置による。

(1) 連続波 NMR スペクトル測定装置

(2) パルスフーリエ変換 NMR スペクトル測定装置

操作法

装置の感度及び分解能をエチルベンゼン、 o -ジクロロベンゼン又はアセトアルデヒドのNMR測定用重水素化溶媒又は四塩化炭素溶液などを用いて至適条件に調整した後、通例、次の方法でスペクトルを測定する。

(1) 試料を溶媒に溶かし、少量の基準物質を加え、その溶液をNMR試料管に注入する内部基準法か、又は基準物質の溶液を封入した細管を試料溶液とともにNMR試料管に入れる外部基準法かのいずれかの方法で用意した試料管をNMRプローブに設置して測定する。試料溶液は完全に均一な溶液であることが望ましい。特に、固形の異物の混入があると良いスペクトルが得られない。 ^1H のNMRスペクトルの測定用溶媒としては、各種のNMR測定用重水素化溶媒又は四塩化炭素などを用いる。溶媒の選択に当たっては、(i)試料のシグナルと重なるシグナルを示さないこと、(ii)試料をよく溶かすこと、(iii)試料と反応しないことなどを考慮する必要がある。更に、溶媒の種類、溶液の濃度、重水素イオン濃度などにより化学シフトが変化することがあり、また、試料溶液の粘度が高い場合には分解能が低下するので注意する。

(2) 基準物質としては、通例、溶媒として有機溶媒を用いた場合はテトラメチルシランを、重水を用いた場合は3-トリメチルシリルプロパンスルホン酸ナトリウム又は3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 を用いる。

(3) 標準試料のスペクトルと照合して物質の確認を行う場合には、できるだけ装置の発振器の周波数、溶媒の種類、試料の濃度などを標準試料のスペクトルの測定条件に一致させる。

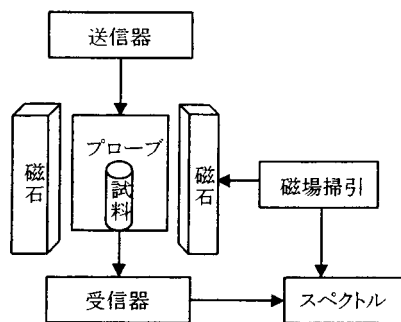


図2 CW-NMR 装置

操作法

装置の感度及び分解能をエチルベンゼン、1,2-ジクロロベンゼン又はアセトアルデヒドの NMR 測定用重水素化溶媒溶液などを用いて至適条件に調整した後、通例、次の方法でスペクトルを測定する。

(1) 試料を溶媒に溶かし、少量の基準物質を加え、その溶液を NMR 試料管に注入する内部基準法、又は基準物質の溶液を封入した細管を試料溶液とともに NMR 試料管に入れる外部基準法のいずれかの方法で用意した試料管を NMR プローブに設置して測定する。試料溶液は完全に均一な溶液であることが望ましい。特に、固形の異物の混入があると良いスペクトルが得られない。測定溶媒としては、通例 NMR 測定用重水素化溶媒を用いる。溶媒の選択に当たっては、(i) 試料のシグナルと重なるシグナルを示さないこと、(ii) 試料をよく溶かすこと、(iii) 試料と反応しないことなどを考慮する必要がある。更に、溶媒の種類、溶液の濃度、重水素イオン濃度などにより化学シフトが変化することがあり、また、試料溶液の粘度が高い場合には分解能が低下するので注意する。

(2) 基準物質としては、NMR 測定用試薬を用いる。通例、 ^1H 、 ^{13}C いずれも測定溶媒として有機溶媒を用いた場合はテトラメチルシラン (TMS) を、重水を用いた場合は 3-トリメチルシリルプロパンスルホン酸ナトリウム (DSS) 又は 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 (TSP) を用いる。その他の核では、 ^{15}N はニトロメタン、 ^{19}F はトリクロロフルオロメタン、 ^{31}P はリン酸などを用いる。また、基準物質を入れずに、重水素化溶媒中の残留プロトンや測定溶媒の ^{13}C の化学シフトを用いることもできる。

装置及び測定条件の記載

測定条件の違いによりスペクトルは異なるので、スペクトルの比較などを適切に行うために、測定に用いた装置名、装置の周波数、測定溶媒、測定温度、試料濃度、基準物質、測定手法などの測定条件を記載する。

確認方法

医薬品各条に規定する方法により試料溶液を調製し、操作法の項に規定する方法により試験を行う。
通例、 ^1H NMR の場合、次に示す方法により確認を

行う。

(1) 化学シフト、多重度及び面積強度比による確認

確認しようとする物質の化学シフト、多重度、各シグナルの面積強度比が医薬品各条で定められている場合、規定されたすべてのシグナルの化学シフト、多重度及び各シグナルの面積強度比が適合するとき、試料と確認しようとする物質の同一性が確認される。

(2) 標準品による確認

同一測定条件での試料スペクトルと標準品スペクトルを比較し、両者のスペクトルが同一化学シフトのところに同様の多重度のシグナルを与え、同様の各シグナルの面積強度比を与えるとき、試料と標準品の同一性が確認される。

^1H NMR 及び ^{13}C NMR の各種測定法

NMR 測定法には一次元 NMR 及び二次元 NMR 更には三次元以上の多次元 NMR があり、種々の目的に応じて使われている。

一次元 ^1H NMR では、カップリングの相関を帰属できるスピンドカップリング及び空間的に近接する ^1H 間の相関が観測され、立体配置や立体配座を解析できる NOE がある。

一次元 ^{13}C NMR では、スペクトルを単純化するとともに、NOE による感度向上を得ることができる広帯域デカップリング、観測核に直接結合している磁気モーメントの大きい ^1H からの分極移動を利用して感度を向上させる INEPT (分極移動による低感度核の感度増大法) 及び DEPT (分極移動による無歪感度増大法) が通常用いられ、1 級、2 級、3 級及び 4 級炭素の決定に利用できる。

二次元 NMR では、スピン結合又は NOE により相関している核間の相関ピークを一度の測定ですべて観測することが可能であり、同核種間、異核種間で多くの測定法がある。代表的な測定法を以下に示す。

COSY (相関分光法)、HOHAHA (Hartmann-Hahn 効果分光法) 又は TOCSY (全相関分光法) : スピン結合している ^1H 間の相関が得られ、分子内の水素の化学結合関係がわかる。

NOESY (二次元 NOE 及び化学交換分光法) : NOE 効果を二次元で測定し、空間的に近い距離にある水素原子間のおおよその距離が得られ、立体構造の知見を得ることができる。

INADEQUATE (天然存在比での二量子遷移分光法) : 天然存在比での ^{13}C - ^{13}C のスピン結合による二量子遷移によるので、感度が非常に悪いが、隣接した ^{13}C 核間の相関が得られ、炭素骨格を直接解析できる。

HMOC (異核種間多量子コヒーレンス分光法) : 直接スピン結合した ^1H と ^{13}C 間の相関を ^1H 検出で高感度に観測する測定法であり、分子内の水素と炭素の直接の化学結合がわかる。

HMBC (異核種間遠隔相関分光法) : 遠隔スピン結合している ^1H と ^{13}C 間の相関を ^1H 検出で高感度に観測でき、水素と炭素の化学結合関係がわかる。

その他に、J 分解二次元スペクトル、DQF-COSY (二量子フィルター相関分光法)、HSQC (異核種間

一量子コヒーレンス分光法)等数多くの手法があり、
更に、高分子化合物では多次元 NMR も利用される。

一般試験法 16. 強熱残分試験法を次のように改める。[フォーラム 13-1 に収載]

新	旧
<p>16. 強熱残分試験法</p> <p>操作法</p> <p>あらかじめ、<u>適切なるつぼ（シリカ製，白金製，石英製又は磁製）</u>を $600 \pm 50^\circ\text{C}$ で 30 分間強熱し，<u>デシケーター（シリカゲル又は他の適切な乾燥剤）</u> 中で放冷後，その質量を精密に量る。</p> <p>医薬品各条に規定する量の試料を採取してこのつぼに入れ，その質量を精密に量る。ただし，採取量が容量で示されているときは医薬品各条に規定する量を正確に量り，前記のつぼに入れる。蒸発後と規定されているものは，そのまま適度に加熱して，液を蒸発させる。</p> <p>次に，試料に硫酸少量，通例，1 mL を加えて潤し，なるべく低温で徐々に加熱して，試料を完全に炭化させる。いったん放冷した後，再び硫酸少量，<u>通例，1 mL</u> で潤して，白煙が生じなくなるまで徐々に加熱し，更に $600 \pm 50^\circ\text{C}$ で強熱して，残留物を灰化する。操作中は，炎をあげて燃焼しないように注意する。つぼをデシケーター（シリカゲル又は他の<u>適切な乾燥剤</u>）中で放冷し，その質量を精密に量り，残分の百分率を計算する。</p> <p>上記の操作によって得た残分の百分率が各条中に規定された限度値を超える場合には，別に規定するもののほか，上記と同様の硫酸による湿潤，加熱並びに強熱の操作を残分が恒量に達するか，残分の百分率が各条中に規定された限度値に適合するまで続ける。</p>	<p>16. 強熱残分試験法</p> <p>操作法</p> <p>あらかじめ，<u>白金製，石英製又は磁製のつぼ</u>を $600 \pm 50^\circ\text{C}$ で 30 分間強熱し，<u>デシケーター（シリカゲル）</u> 中で放冷後，その質量を精密に量る。</p> <p>医薬品各条に規定する量の試料を採取してこのつぼに入れ，その質量を精密に量る。ただし，採取量が容量で示されているときは医薬品各条に規定する量を正確に量り，前記のつぼに入れる。蒸発後と規定されているものは，そのまま適度に加熱して，液を蒸発させる。</p> <p>次に，試料に硫酸少量，通例，1 mL を加えて潤し，なるべく低温で徐々に加熱して，試料を完全に炭化させる。いったん放冷した後，再び硫酸少量で潤して，白煙が生じなくなるまで徐々に加熱し，更に $600 \pm 50^\circ\text{C}$ で強熱して，残留物を灰化する。操作中は，炎をあげて燃焼しないように注意する。つぼをデシケーター（シリカゲル）中で放冷し，その質量を精密に量り，残分の量を計算する。</p> <p>上記の操作によって得た残分の量が各条中に規定された限度値を超える場合には，別に規定するもののほか，上記の強熱操作を恒量に達するまで続ける。</p>

新	旧
<p>47. 発熱性物質試験法</p> <p>発熱性物質試験法は、発熱性物質の存在をウサギを用いて試験する方法である。</p> <p>試験動物 体重 1.5 kg 以上の健康なウサギで、使用前 1 週間以上は一定飼料で飼育し、体重の減少を見なかったものを試験動物として使用する。ウサギは個別ケージに入れ、興奮させないよう刺激のない環境で飼育する。試験前 48 時間以上及び試験中は室温を 20 ～ 27℃ の範囲内で一定に保つ。初めて試験に用いるウサギは、試験前 1 ～ 3 日間以内に注射を除く全操作を含む偽試験を行い、試験に馴化する。試験に用いたウサギを再使用する場合には、48 時間以上休養させる。ただし、発熱性物質陽性と判定された試料を投与されたウサギ、又は以前に被検試料と共通な抗原物質を含む試料を投与されたウサギは再使用しない。</p> <p>装置及び器具 (1) 温度計 測定精度 ±0.1℃ 以内の直腸体温計又は体温測定装置を用いる。 (2) 注射筒及び注射針 発熱性物質除去処理として、通例 250℃ で 30 分間以上乾熱処理したものを用いる。又は滅菌済みの注射針を含むプラスチック製の注射筒で、発熱性物質が検出されないこと及び発熱性物質試験に対する干渉作用のないことが確認されたものを用いることができる。</p> <p>操作法 (1) 試験用量 別に規定するもののほか、試験動物体重 1 kg につき試料 10 mL を投与する。 (2) 方法 試験は、飼育室と同じ室温に保った部屋で、刺激のない環境で行う。飼料は対照体温測定の数時間前から試験終了まで与えない。試験動物は、通例、自然な座姿勢のとれる緩やかな首枷固定器に固定する。体温は、直腸体温計又は測定装置の測温部分を直腸内に 60 ～ 90 mm の範囲内で一定の深さに挿入して測定する。試料注射の 40 分前から注射までの間に、30 分の間隔をとって 2 回測温し、それらの平均値を対照体温とする。これら 2 回の体温測定値の間に 0.2℃ を超える差がある動物、又は対照体温が 39.8℃ を超える動物は試験に用いない。 試料は 37 ± 2℃ に加温し、試験動物の耳静脈に徐々に注射する。ただし 1 匹への注射は 10 分以内に完了させる。低張な試料には、発熱性物質を含まない塩化ナトリウムを加えて等張としてもよい。注射後 3 時間まで、30 分以内の間隔で体温を測定する。対照体温と最高体温との差を体温上昇度とする。体温が対照体温より低下した場合、体温上昇度を 0℃ とする。</p> <p>判定 3 匹の試験動物を用いて試験を行い、3 匹の体温上</p>	<p>47. 発熱性物質試験法</p> <p>発熱性物質試験法は、発熱性物質の存在をウサギを用いて試験する方法である。</p> <p>試験動物 体重 1.5 kg 以上の栄養状態の良い健康なウサギで、使用前 1 週間以上は一定飼料で飼育し、体重の減少を見なかったものを試験動物として使用する。試験に用いたウサギを再び使用するには、休養期間をできるだけ長くし、また、発熱性物質陽性と判定された試験に用いたウサギは、再び使用しない。 試験動物は、試験前 1 ～ 3 日間、2 時間ごとに体温を 4 回測定する。この期間、試験動物 1 匹ずつをおりに入れ、できるだけ興奮しないようにし、試験日には特に注意する。 試験室の温度は、試験前 48 時間以上及び試験中 20 ～ 27℃ で、なるべく恒温恒湿に保つ。</p> <p>装置 (1) 温度計 直腸体温計又はこれと同一感度の記録計を用いる。ただし、あらかじめ、試験動物の直腸体温測定に必要な時間を計測する。 (2) 注射筒及び注射針 あらかじめ 250℃ で 30 分間以上加熱して、発熱性物質を除く。</p> <p>操作法 (1) 試験用量 別に規定するもののほか、試験動物体重 1 kg につき、試料 10 mL とする。 (2) 方法 試験は、試験動物が入れられていた部屋と同一温度の部屋で行う。試験動物は、通例、適当な固定器に固定する。直腸体温測定は、温度計を直腸内に 60 ～ 90 mm の範囲内で一定の深さにじゅうぶんな時間挿入した後、読みとる。第 1 回体温測定の数時間前から、その日の最終体温測定まで飼料を与えない。試料の注射前、体温を 1 時間間隔で 3 回測定し、第 2 回及び第 3 回の測定体温が、ほとんど一致したとき、第 3 回の値を対照体温とする。第 2 回及び第 3 回の測定体温が、一致しない場合、又は一致してもその値が 39.8℃ を超えるときは、その試験動物を試験から除外する。試料は 37℃ に加温し、第 3 回の体温を測定した後 15 分間以内に、耳静脈に注射する。注射用水を除く他の低張な薬液には、必要ならば試験する前に、発熱性物質を含まない塩化ナトリウムを加えて等張としてもよい。注射後の体温測定は、注射後 1 時間間隔で 3 回行う。 対照体温と最高体温との差を体温上昇とする。</p> <p>判定 第 1 回の試験には、試験動物 3 匹を用いる。注</p>

昇度の合計により判定する。ただし、試験結果により試験動物を3匹単位で追加する。初めの3匹の体温上昇度の合計が1.3℃以下のとき発熱性物質陰性、2.5℃以上のとき発熱性物質陽性とする。体温上昇度の合計が1.3℃と2.5℃の間にあるとき、3匹による試験を追加する。計6匹の体温上昇度の合計が3.0℃以下のとき発熱性物質陰性、4.2℃以上のとき発熱性物質陽性とする。6匹の体温上昇度の合計が3.0℃と4.2℃の間にあるとき、更に3匹による試験を追加する。計9匹の体温上昇度の合計が5.0℃未満のとき発熱性物質陰性、5.0℃以上のとき発熱性物質陽性とする。

発熱性物質陰性のとき、被検試料は発熱性物質試験に適合する。

射後の体温上昇0.6℃以上の試験動物が、2匹又は3匹のときは、発熱性物質陽性と判定する。また、体温上昇0.6℃以上の試験動物が1匹であるとき、又は3匹の体温上昇の合計が、1.4℃を超えるときは、更に試験を行う。第2回の試験には試験動物5匹を用い、体温上昇0.6℃以上の試験動物が2匹以上のときは、発熱性物質陽性と判定する。

発熱性物質陽性のときは、不適とする。