

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

「認定の基準」についての指針

- 微生物学的試験 -

JAB RL359:-200313

第2版：2013年8月XX日

第1版：2004年2月1日

公益財団法人 日本適合性認定協会

〒141-0032 東京都品川区大崎2丁目8番8号

大崎ウエストビル1F

Tel.03-5487-0546 — Fax.03-5487-2050

~~© 2003 JAB~~

38		
39		目次
40		
41	はじめに	3
42	序文	4
43	1 . 適用範囲	4
44	2 . 引用文書	4
45	3 . 用語及び定義.....	4
46	4 . 管理上の要求事項.....	4
47	5 . 技術的要求事項	5
48	5.1 一般	5
49	5.2 要員	5
50	5.3 施設及び環境条件.....	5
51	5.4 試験・校正の方法及び方法の妥当性確認.....	8
52	5.5 設備	10
53	5.6 測定のトレーサビリティ	14
54	5.7 サンプリング	15
55	5.8 試験・校正品目の取扱い	16
56	5.9 試験・校正結果の品質の保証	16
57	5.10 結果の報告	18
58	附属書 A (EA-4/10 の附属書 D に対応する).....	19
59	附属書 B (EA-4/10 の附属書 E に対応する).....	20
60	附属書 C (EA-4/10 の附属書 F に対応する).....	22
61	JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書	23
62	JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書	45
63		
64		
65		

「認定の基準」についての指針(案)

- 微生物試験 -

はじめに

本指針は JAB RL100-2000「試験所及び校正機関に対する認定の一般基準」の微生物試験分野の試験所の認定への適用に際しての指針を示すものである。この指針は、JAB RL100-2000「試験所及び校正機関に対する認定の一般基準」の要求事項を、微生物試験分野の特殊性に合わせて具体的に詳細化し、微生物試験を適正に実施する試験所および審査員が審査の際に考慮すべき内容を示したものであり、JAB RL100 の要求事項を越えるものではない。

当初、財団法人日本適合性認定協会（以下、JAB という）は、JIS Q 17025 に準拠した JAB RL100-2000（注 1）に基づく試験所の認定に際し、微生物試験を行う試験所に対しては、技術指針として JAB RL358-2001（注 2）に加えて、JAB RL355-1998（注 3）を適用してきた。しかし、最近の試験所認定分野の拡大と多様化に伴い、JAB RL 358-2001 に替わる独立した微生物試験についての指針の必要性が生じてきた。そうした要請に応えて、本文書は微生物分野に対し適用する指針として作成された。

・注 1) 試験所及び校正機関に対する認定の一般基準

・注 2) 「認定の基準」についての指針—食品及び医薬品における化学試験並びに食品微生物試験—

・注 3) 「認定の基準」についての指針—化学試験—

本文書は、公益財団法人日本適合性認定協会（以下 JAB）が JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025) 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」を微生物試験分野の試験所認定に適用するに際しての指針を示すものである。

この文書は、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)の要求事項を、微生物試験分野に合わせて詳細化し、微生物試験を実施する試験所及び審査員が審査の際に考慮すべき内容を示したものである。従って、ここに示す指針は、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)の要求事項を超えるものではない。

従来、JAB では、微生物試験を行う試験所に対しては、技術指針として JAB RL358-2001（注 1）に加えて、JAB RL355-1998（注 2）を適用してきたが、最近の試験所認定分野の拡大と多様化に伴い、JAB RL 358-2001 に替わる独立した微生物試験についての指針の必要性が生じてきた。そうした要請に応えて、本文書は微生物分野に対し適用する指針として作成された。現在文書番号 RL358 を分子生物学的試験の認定指針で使用している。区別するため、本文書では JAB RL358-2001 を「旧 358」と記載する。

本文書は、欧州各国の認定機関の協力機構である欧州認定協力機構（European co-operation for Accreditation : EA ）(1998 年設立)が微生物試験を行う試験所に対して作成した指針 「EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories, Edition 2, April 2002」が根幹である。更に、JAB RL355 の改定（1998 年版から 2003 版への移行）並びに JAB RL358-2001 を廃止する機会に、これら 2 種類の指針の中から JAB RL359 の指針とするものを付け加えている。

本文書において、序文以下 5.10.9 までの項番号は JIS Q 17025 の項番号にそのまま対応する。その他の文献については該当する各項下に記載する。

110 ~~下線付き番号は JAB-RL100-2000 の項目番号であり、() 付き番号は附属書の項~~
111 ~~目番号 並びに 他の指針から採用された項目番号に相当し、採用元が分かるように()~~
112 ~~内に指針番号も記載した。~~

114 本指針本文書は、JAB が JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)により認定した微生物試験を
115 行う試験所に対して適用する指針であり、食品衛生法で規定された総合衛生管理製造過
116 程 (HACCP システム) 及び業務の管理 (GLP システム) に基づく試験所の登録に影響
117 を及ぼすものではない。

118 本文書は本文 (指針) 及び附属書で構成されている。本文は微生物試験を行う試験所
119 及び認定審査をする審査員が、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)JAB-RL100-2000を解釈
120 する上で必要であり、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)JAB-RL100-2000の要求事項を超
121 えることがなく、また JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)JAB-RL100-2000と直接重複し
122 ていないものを微生物試験分野の指針として定めたものである。附属書 は、「EA-4/10
123 Accreditation for Microbiological Laboratories, Edition 2, April 2002」を翻訳したも
124 のであり、附属書 は「EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories,
125 Edition 2, April 2002」の原文 (英語) である。

126 本指針本文書は、JAB 食品・医薬品・微生物試験所認定プログラム分科会 - 細菌検査
127 試験所認定プログラム小委員会 (現食品分科会)の監修を経て、JAB 食品・医薬品・微生物
128 試験所認定プログラム分科会において JAB 試験所技術委員会において承認されたも
129 のである。また、日本語版の出版については、欧州認定協力機構 (EA) から許可を得て
130 いる。翻訳について疑義が生じた場合は、原文に戻って、その解消を図るものとする。

131 本文書の指針は、「shall」及び「should」を含む欧州認定協力機構 (EA) の認定指針
132 を翻訳し、それに準じているが、「shall」及び「should」については、「…する。」及
133 び「…することが望ましい。」と読み替えて適用するものとする。

135 ・注 1) 「認定の基準」についての指針 -食品及び医薬品における化学試験並びに食品微
136 生物試験-

137 廃版。文書番号「RL358」は分子生物学的試験の認定指針として使用している。

138 ・注 2) 「認定の基準」についての指針 -化学試験-

142 序文

144 1 . 適用範囲

146 2 . 引用規格

148 3 . 用語及び定義

150 4 . 管理上の要求事項

152 5. 技術的要求事項153 5.1 一般154 5.2 要員

155 5.2.1

156 ・ EA-4/10 2.1

157 微生物試験は、微生物学に関連する学科を修了し、かつ知識、技能を持つ者、或い
158 はその者の監督下で実施することが望ましい。別の資格として、試験所の認定範囲に
159 関係する広範囲の妥当な経験を持つ職員であれば、要求を満たしているであろう。要
160 員は、監督なしで認定範囲を扱う業務を実施することを許可される前に、或いは認定
161 範囲の監督の経験があると見なされる前に、広範囲な実践経験を持つことが望ましい。
162 特定の国家法令は、この文書で与えられる指針に優先させることができる。

163 ・ EA-4/10 2.3

164 ある試験方法や操作技術が通常実施されていない場合は、着手する前に要員の技能
165 の検証が必要である。

166 ・ ~~旧~~ RL358 5.2.1

167 教育・訓練記録、現在の分析能力（即ち、管理図等）及び教育・訓練の要求内容の
168 レビューは定期的に行う。その時、再検討の必要性を審査すること。必要ならば、再
169 検討を実行し文書化する。

170 備考:再検証の必要性は、長期間特定の分析を行っていない個々の要員に必要である。

171 備考:プロセスに従事する各要員は、教育・訓練及び経験があること。即ち、与えら
172 れた業務に適切であること。試験業務及び品質手順の監視は、品質システムに矛盾の
173 ない操作を実施するために必要な適切なレベルの経営資源を供給するように開発する
174 こと。監督者及び経営者に報告する要員の数は、組織内の仕事の流れの変化に基づい
175 て確立すること。

176 ・ ~~旧~~ RL358 4.2.2

177 この指針の下で活動しているすべての要員は、毎年品質システムの教育・訓練を受
178 け、品質システムを維持する上での役割及び責任を持たなければならない。

179

180 5.2.2

181 ・ EA-4/10 2.3

182 試験所の管理主体は、すべての要員が試験に適切な技能と設備の操作のための相応
183 の訓練を受けることを確実にする。これには、例えば、無菌操作、平板培地への注入、
184 コロニーの計数等、客観的条件を用いて決定された受け入れ可能な程度の基礎技術の
185 訓練を含めるべきである。試験の能力を確認する間隔の条件は、確立され文書化され
186 ることが望ましい。微生物の同定や確認のための試験結果の解釈は、実施試験者の経
187 験が強く関係しており、定期的に試験者ごとに監視されることが望ましい。

188

189 5.2.5

190 ・ EA-4/10 2.4

191 要員の能力評価は、試験方法よりもむしろ特定の技術や装置毎の能力と関係づける
192 ことの方がより適切な場合もある。

193

194 5.3 施設及び環境条件

195 5.3.1

196 ・ EA-4/10 3.1.1

197 一般に試験施設に対して特定の環境要求事項がある。実施する試験のタイプによっ
198 て微生物学的試験所への立入は、権限が付与された要員に制限するのが望ましい。こ
199 のような制限が実施されるところでは、要員は次のことを承知していることが望まし
200 い。

- 201 (a) 特定区域の使用目的
- 202 (b) 特定区域内での業務上の制限
- 203 (c) このような制限を課す理由
- 204 (d) 適切な封じ込めのレベル

205 ・ EA-4/10 3.1.2

206 試験所は実施する試験のタイプによって重大となる交差汚染のリスクを最小限にす
207 るように整備されることが望ましい。これらの目的を達成する方法は、例えば、以下
208 に示される。

- 209 (a) 試験所を「人、空気、物の流れを逆行させない (no way back)」の原則で建
210 設する。
- 211 (b) 試験及び試料の完全さを確実なものとするために適切な予防措置を講じて
212 (例えば、密閉コンテナの使用) 順序だった方法で手順を実施する。
- 213 (c) 時間や空間によって活動を分離する。

214 ・ EA-4/10 3.1.3

215 一般的に以下に示す分離した場所、或いは明確に指定された区域の設計を持つこと
216 で、良好な実施とみなされる。

- 217 - 試料の受領と保管区域
- 218 - 試料調製区域 (例えば、高濃度汚染しやすい粉末製品の調製のためには隔離さ
219 れた区域が使用されることが望ましい。)
- 220 - 培養を含む試料の試験区域
- 221 - 標準微生物の調製区域
- 222 - 滅菌を含む培地と設備の準備区域
- 223 - 無菌的操作区域
- 224 - 汚染除去区域

225 洗浄のための区域 (汚染除去後) は、もし微生物の成育に悪い影響をもたらす微量
226 の物質の移動を防ぐ必要な予防措置がとられるならば、試験所の他の部署と共有して
227 も良い。物理的な分離の必要性は、試験所の活動の特殊性 (例えば、試験実施の数量
228 や種類) を基礎にして判断することが望ましい。試験所の設備は、不慮の交差汚染を
229 避けるために区域間を日常的に移動しないことが望ましい。分子生物学的手法を用い
230 る試験所においては、専用ピペット、チップ、遠心分離器、チューブ、PCR (核酸増
231 幅装置) 等は、業務区域 (低 - 中 - 高濃度 DNA 作業環境) 毎に設置されることが望
232 ましい。

233 ・ EA-4/10 3.1.4

234 区域の広さは、清潔さと整理が維持される業務区域として、許容される十分な広さ
235 があることが望ましい。要求される区域の広さは、試験所が扱う分析の量や内部組織
236 全体につり合っていることが望ましい。

237 ・ EA-4/10 3.1.5

238 試験室は、適切に換気がされ、また適温であることが望ましい。これは、自然換気
239 でも強制換気、或いはエアコンディショナーの使用によってであっても良い。エアコ
240 ンディショナーが使用される場合には、フィルターは適切であると共に検査され、保
241 全が持続的であり、さらに実施される業務の種類によっては交換されることが望まし

242 い。

243 ・ EA-4/10 3.1.6

244 汚染防止は、以下の事項等を実践することによって達成できる。

245 -壁、天井、床及び作業台における滑らかな表面（表面の滑らかさは、いかに容易に清
246 掃できるかにより判断される）とする。タイルは、作業台の被覆材料として推奨さ
247 れない。

248 -床、壁、天井の間の接続をなめらかな凹状とする。

249 -試験が実施される間の窓、扉の開きを最小限にする。

250 -日よけは室外に設置する。

251 -日よけの室外設置が無理な場合、室内の日よけの清掃は容易にできるようにする。

252 -流体用の配管類を作業場所の上を通さないようにし、通す場合には被覆収納し、むき
253 だしのままにしないようにする。

254 -換気設備の吸気口には防塵フィルターを設置する。

255 -手洗い設備の分離、なるべく自動とする。

256 -戸棚は天井に至るまでの高さとする。

257 -未加工でむき出しの木製品の設備にしない。

258 -設備や備品の木製表面は相応の被覆をする。

259 -保管された物や設備は、容易に清掃できるように整理、整頓する。

260 -試験業務に直接必要のない什器や文書又はその他の物を置かない。

261 このリストは、完全なものではなく、そして全ての例があらゆる場合に適用されるわ
262 けではない。天井は、理想的には平面照明で滑らかな表面にすることが望ましい。こ
263 れが無理な場合（つり天井やつり下げ照明のように）には、試験所は、結果への衛生
264 学的リスクを管理する文書化した証拠を持ち、その衛生学的リスクを克服する効果的
265 手段（例えば、表面の清掃や検査の計画）を持つことが望ましい。

266 ・ EA-4/10 3.1.7

267 試験所が工場構内にある場合には、要員は生産区域からの汚染の可能性を承知して
268 いなければならない。また、このような事態を避けるために妥当な処置がとられてい
269 ることを証明することが望ましい。

270 ・ 旧 RL358 5.3

271 化学薬品、試薬及び設備の保管、使用並びに処分の手順は、適用される法的規制に
272 従わなければならない。試験所で使用される化学薬品の安全データシート（Material
273 Safety Data Sheets ; MSDS）は、試験所要員すべてが利用できるようにするのが望
274 ましい。

275

276 5.3.2

277 ・ EA-4/10 3.2.1

278 適正な環境監視計画は、例えば、落下微生物検査用プレートの使用や表面拭き取り
279 等を含んだ計画が工夫されることが望ましい。その際には、許容できるバックグランド
280 値を明らかにし、さらに限度を超えた場合を扱うための文書化された手順を持つこ
281 とが望ましい。データの解析は、汚染レベルにおける傾向を明確にできることが望ま
282 しい。

283 ・ EA-4/10 3.3.1

284 試験所の備品、設備及び作業面のための文書化された清浄計画があることが望まし
285 い。それには、環境監視の結果や交差汚染の可能性を考慮することが望ましい。また、

286 漏出の際の対処方法があることが望ましい。

287 ・ EA-4/10 3.3.2

288 十分な保管場所を準備し、試験所において文書業務を最小限とすることや試験所業
289 務区域から植物や個人の所有物を禁止することによって、塵の蓄積を避ける対策が取
290 られることが望ましい。

291 ・ EA-4/10 3.3.3

292 実施される試験の種類に応じた着衣（必要な場合は、髪の毛、あごひげ、手、靴等
293 の覆いを含める）は、微生物試験所内で身につけ、そして区域を去る前に脱ぐことが
294 望ましい。これは、分子生物学試験所にとって、例えば気づかない交差汚染を引き起
295 こすかもしれない高濃度 DNA の区域から低濃度 DNA 区域に移動するような場合は、
296 特に重要である。多くの試験所では、実験用着衣で十分であろう。

297 ・ 旧 RL358 5.3.3

298 備考「他の作業からの汚染を受け易いか、又は特定の問題若しくは危険を惹起する
299 ある種の作業は、日常的に隔離する必要がある。例えば、高レベルの発生源から物理
300 的に分離する必要がある菌株培地の調製、微量分析など、及び発がん性物質の分析で
301 ある。特別な作業に指定する区域の選択に当たっては、その区域が以前何に使用され
302 ていたかを考慮しなければならない。使用の前に、その区域が汚染されていないこと
303 を確実にするためにチェックすることが望ましい。作業を開始した時は、その区域へ
304 のアクセスは規制されることが望ましい。そこで引き受ける作業の種類は注意深く管
305 理されることが望ましい。」

306

307 5.4 試験・校正の方法及び方法の妥当性確認

308 5.4.1 一般

309 ・ 旧 RL358 5.4.1

310 多くの場合、“公定法（Official Methods）”及び“法的に定められた標準法（Legal
311 Reference Methods）”は法律で公布され、条文のとおりそのまま採用されるのが望ま
312 しい。

313 ・ 旧 RL358 5.4.2

314 備考：食品及び医薬品の方法の大部分は、AOAC インターナショナル（AOAC）、米
315 国農務省（USDA）、米国食品医薬品局（FDA）、米国環境保護局（EPA）、米国油化学
316 会（AOCS）、米国穀物化学会（AACC）、国際標準化機構（ISO）、国際純正応用化学
317 連合（IUPAC）、米国薬局方（USP）、米国食品添加物規格（FCC）、食品規格委員会
318 （FAO/WHO CAC）及び Standard Methods for the Examination of Water and
319 Wastewater の方法マニュアルにある。

320 多くの業界団体、例えば国際酪農連盟（IDF）は、団体自身の方法を開発し、有用
321 な出版物を提供している。

322

323 5.4.5 方法の妥当性確認

324 ・ EA-4/10 4.1

325 微生物学的試験方法の妥当性確認は、実際の試験状態を反映することが望ましい。
326 これは、自然に汚染された製品や前もって汚染微生物数が確定されたものをスパイク
327 した製品を用いることによって達成されると言って差し支えない。マトリックスに対
328 する汚染微生物の添加は、自然に生息している汚染微生物の存在を単に見かけ上模倣
329 しているにすぎないことを分析者は、承知していることが望ましい。しかしながら、

330 この方法は、しばしば最良の方法であり唯一有効な解決法である。妥当性確認の必要
331 性の程度は、試験方法とその適用法による。試験所は、標準試験法が標準の手順に明
332 示されていないマトリックスに適用される場合には妥当性確認をする。

333 ・ EA-4/10 4.2

334 結果が検出 / 不検出や確認及び同定の手順によって表現されるような定性的な微生物
335 学的試験方法は、もし適切であるならば、特異性、相対真度、正の偏差、負の偏差、
336 検出限界、マトリックス効果、繰返し性及び再現性を決定することによって妥当性確
337 認されることが望ましい（定義は EA-4/10 の付属書 A を参照）。ISO16140（食品）、
338 ISO13843（水）、ISO4831 を参考にする。

339

340 5.4.5.3

341 ・ EA-4/10 4.3

342 定量的な微生物学的試験方法の場合、特異性、感度、相対真度、正の偏差、負の偏
343 差、繰返し性、再現性及び決められた変動の範囲で定量限界が考慮され、また必要な
344 場合には、分析結果において定量的に決定されることが望ましい。マトリックスに起
345 因する相違は、別の種類の試料を試験する時には考慮しなければならない。結果は、
346 適切な統計学的方法で評価されることが望ましい。

347 ・ EA-4/10 4.4

348 試験所は、試験所において使用した市販の微生物検出キットにおける妥当性確認デ
349 ータを保持する。これらの妥当性確認データは、共同試験を通して、また製造業者によ
350 って提出され、第三者機関（例えば、AOAC）の評価を受けた妥当性確認データと
351 して入手できる。もし、妥当性確認データが入手できないか、或いは全面的には適用
352 できないならば、その試験所は、試験の妥当性確認を完全に仕上げる責任がある。

353 ・ EA-4/10 4.5

354 もし、試験方法の変更版が、原法と同様の仕様であることを論証する必要があるな
355 らば、その際の比較は、論証の証拠事例であることを確実にするために繰返し試験用
356 の試料を用いて実施されることが望ましい。試験計画や結果の解析は、統計学的に妥
357 当でなければならない。

358 ・ EA-4/10 4.6

359 たとえ妥当性確認が完全であっても、その利用者は日常業務の中でさらに、文書化
360 した性能が通常の業務下でも満たされていることを、例えば、スパイクされた試料或
361 いは関連するマトリックスに混ぜ込んだ標準物質を用いることによって検証するこ
362 とが望ましい。

363

364 5.4.6.2

365 ・ EA-4/10 5.1

366 測定の不確かさのための国際定義は、ISO 国際計量基本用語集 1993（付属書 B 参
367 照）に規定されている。欧州認定機関によって推奨されている試験における不確かさ
368 の評価及び表現の一般的な取り組みは Guide to the Expression of uncertainty in
369 Measurement, 1995, ISO Geneva に記述されているように国際度量衡委員会
370 （International Committee for Weights and Measures ; CIPM ）によって作成され
371 た提唱に基づいている。

372 ・ EA-4/10 5.2

373 微生物学的試験は、一般的に、厳密で計量学的及び統計学的に意味のある測定の不

374 確かさの計算ができない試験の部類に入る。一般的に不確かさの見積りには、繰返し
375 性や再現性のデータだけでなく、理論的にはかたより（例えば、技能試験結果から）
376 を含めたデータを基づかせるのが適切である。不確かさの個々の構成成分は、識別さ
377 れていること並びに評価結果の変動に対する寄与が確認され、かつ証明されることが
378 望ましい。

379 いくつかの構成成分（例えば、ピペット操作、秤量操作及び希釈の影響）は、直ぐ
380 に測定でき、不確かさ全体に対しての寄与が無視できることを容易に証明することが
381 できる。他の構成要素（例えば、試料の安定性や試料調製）は、直接には測定できな
382 いし、それらの寄与は統計学的方法においても評価できないが、結果の変動性に対す
383 る重要性は、同様に、考慮に入れることが望ましい。

384

385 5.4.6.3

386 ・EA-4/10 5.3

387 微生物学的試験を認定された試験所は、試験するマトリックス中の微生物の分布に
388 ついての知識を持ち、サブサンプリングにおいてこれを考慮に入れることが望まれる。
389 JAB は不確かさにおけるサブサンプリングの要因を検討することを要求するが、顧客
390 からの特別な要求指示がなければ、不確かさの見積りに含めることは勧められない。
391 その主な理由は、製品マトリックス中の微生物分布に起因する不確かさが、試験所能
392 力の作用ではなく、試験した個々の試料に特有なものであるかもしれないからであり、
393 試験方法は、不均一性を考慮して、用いられる試料量を指定することが望ましい。

394 ・EA-4/10 5.4

395 不確かさの概念は、例えば検出試験或いは同定試験のための属性決定などの定性的
396 な試験結果には、直接には適用できない。とはいっても、変動の個々の原因、例えば、
397 試薬の性能の整合性や分析者の解釈が管理されていることが確認され、かつ証明され
398 ることが望ましい。さらに試験にとって検出限界が適合の重要な指標となっている場
399 合には、限界を決定するために用いられた接種菌と関連した不確かさが見積られ、そ
400 の有意性が評価されることが望ましい。試験所は、用いる定性試験に関連した結果の
401 偽陽性及び偽陰性結果の発生率もまた承知していることが望ましい。

402 ・旧 RL358 5.4.6.3

403 できれば、標準物質又は管理サンプルは、分析方法で日常的に試験されているもの
404 と同じマトリックスか又はよく似たマトリックスのものでなければならない。そのた
405 め、あるクラスのマトリックスに対する方法の不確かさを見積もることができ、変動
406 は検出される分析対象成分の平均的な値で特定のマトリックスでの試験で、不確かさ
407 として記述される。標準物質又は管理サンプルは、日常的に試験されているものと同
408 じマトリックスか又はよく似たマトリックスを用い、マトリックス毎に不確かさを見
409 積もり、記載する。

410

411 5.5 設備

412 5.5.1

413 ・EA-4/10 6

414 品質システムの一部として、試験所は、保全、校正及び設備の性能検証の文書化さ
415 れた計画を運用することが要求される。

416 ・EA-4/10 6.1.1

417 主要設備の保全は、使用頻度のような要素によって決定され、定期的な間隔で実施
418 する。その際の詳細な記録は保存する。設備の保全やその間隔の事例は、付属書 F に

419 示す。

420 ・ EA-4/10 6.1.2

421 器具に起因する交差汚染を避けるために、例えば以下の注意が払われることが望ま
422 しい。

423 -使い捨て器具は、適宜消毒し滅菌する。

424 -繰り返し使用するガラス器具は、適宜適切に消毒・洗浄し、滅菌する。

425 -理想的には、試験所は、汚染除去のために別々のオートクレーブを持つことが望まし
426 い。

427 しかしながら、汚染除去及び滅菌した物を分離するためにとられる適切な予防措置
428 やオートクレーブの内外周囲での処理する場所を定める文書化された清潔操作プログ
429 ラム等が準備されるならば、1台のオートクレーブが容認される。

430 ・ EA-4/10 6.1.3

431 代表的な、以下の設備は消毒・洗浄、取扱い、損傷の検査、一般的な確認、そして
432 適切な滅菌によって保全される。

433 -一般使用器具：ろ過装置、ガラス又はプラスチック容器（ビン、試験管）、ガラ
434 ス又はプラスチックペトリ皿、試料採取装置、白金線又は白金耳、ステンレス製
435 又は使い捨てプラスチック製器具等

436 -ウォーターバス、インキュベータ、微生物用キャビネット、オートクレーブ、ホモジ
437 ナイザー、冷蔵庫、冷凍庫等

438 -容量器具：ピペット、自動分注機、スパイラルプレーター等

439 -測定装置：温度計、タイマー、天秤、pHメーター、コロニーカウンター等

440

441 5.5.2

442 ・ EA-4/10 6.2.1

443 試験所は、試験結果に直接影響を及ぼす設備の校正及び性能の検証のための計画を
444 規定する。このような校正及び性能の検証の頻度は、記録された経験や必要性及び設
445 備の種類と以前の性能に基づいて決定する。校正及び性能の検証の間隔は、設備の性
446 能が許容限度を外れるのが発見されるより短い期間とする。校正の間隔と種々の試験
447 所装置の代表的な性能確認の例は、付属書 D 及び付属書 E に示す。

448 ・ EA-4/10 6.2.2

449 温度測定器

450 (a)温度が試験結果に直接影響する場合、或いは設備の性能校正のために重要である
451 場合には、温度測定器、例えばインキュベータやオートクレーブに使用されるガ
452 ラス液体温度計、熱電対及び白金抵抗温度計(PRTs)は、要求された精度を達成
453 するために適切な品質にする。

454 (b)温度測定器の校正は、温度のための国家又は国際標準に対してトレーサブルでな
455 なければならない。その精度が許容される場合、装置は適切であり、用いられる国
456 家又は国際的に認められた製造規格（例えば、ガラス液体温度計のための ISO
457 1770）に適合していることを証明できる。このような装置は目的温度近くで許
458 容誤差が容認される場合には、例えば、保管用冷蔵庫や冷凍庫そしてインキュベ
459 ータやウォーターバスにもまた監視する目的で使用することができる。こうした
460 温度測定器は性能の検証が必要である。

461 ・ EA-4/10 6.2.3

462 インキュベータ、ウォーターバス、オープン

463 温度の安定性、温度分布の均一性及びインキュベータ、ウォーターバス、オープン
464 そして温度管理された試験室が平衡状態に達するまでに必要な時間は、特に代表的な

465 使用（例えば、位置、空き間隔、ペトリ皿の積重ね高さ）に配慮して最初に規定し文
 466 書化する。装置の初期妥当性確認における特性記録の恒久性は、重要な修理や改善の
 467 後は確認し、記録する。試験所は、この種の装置の作動温度を監視し、記録を保持す
 468 る。

469 ・EA-4/10 6.2.4

470 オートクレーブ（培地調製装置を含む）

471 オートクレーブ処理された原料や物の定量的試験が、バッチ内及びバッチ間で一定
 472 の変動内にあることが適切に説明できれば、それも同等の品質保証を与えることにな
 473 るということは認められている。

474 (a)オートクレーブは、指定した時間と温度についての許容範囲を満足する性能を有し
 475 ているべきである。操作過程を制御し監視するために使用されるセンサーは、校
 476 正及びタイマーの性能が検証されていることが要求される。

477 (b)初期妥当性確認は、操作の際に用いられるそれぞれの操作過程や滅菌品の装填の仕
 478 方に即した性能調査（空間温度分布測定）を含むのが望ましい。

479 この工程は、重要な修理又は改善（例えば、温度調節端子の交換、プログラム、
 480 装填装置、操作周期）後、又は培地の品質管理チェックの結果により必要とされ
 481 た場合には、繰り返さなければならない。

482 初期妥当性確認に際しては、十分な数の温度センサーを可能な限り異なった位
 483 置の滅菌品中に（例えば、液体又は培地で満たされた容器に）置くことが望まし
 484 い。

485 均一な加熱が他の方法によって証明することができない培地調製装置の場合に
 486 は、一つは制御端子の付近に、もう一つは、それから離れた位置に配置した二つ
 487 のセンサーの使用が一般的に適切であると考えられる。

488 妥当性確認及び再妥当性確認は、滅菌温度での時間と同様に温度の上昇及び降
 489 下時間の適切さを考慮することが望ましい。

490 (c)妥当性確認 / 再妥当性確認の際には、代表的な使用に対して決定された加熱方法に
 491 基づいた明確な操作手順が規定されるのが望ましい。

492 受け入れる / 受け入れない培地の基準が、立証されると共に、操作毎の温度や
 493 時間及び保全を含むオートクレーブ操作の記録をすることが望ましい。

494 (d)監視は、以下のうち的一方により達成することができる。

495 (i)熱電対及びチャート作成やプリントアウト用レコーダーを使用

496 (ii)直接観測し、到達した最高温度とその温度に到達するまでの時間を記録

497
 498 オートクレーブの温度を直接監視することに加えて、各サイクルの操作の有効性は、
 499 滅菌 / 汚染除去確認用の化学的、生物学的インジケータを用いて確認することがで
 500 きる。オートクレーブテープ又は試験紙は、単に負荷をかけられていることを見るた
 501 めに使用されるべきであり、受け入れ可能の完全さを証明するために使用されること
 502 は望ましくない。

503 ・EA-4/10 6.2.5

504 分銅及び天秤

505 分銅及び天秤は定期的に（使用の状況に応じて）トレーサブルな校正をする。

506 ・EA-4/10 6.2.6

507 容量器具

508 (a)自動分注器、希釈型分注器、自動ハンドピペット及び使い捨てピペットのような容
 509 量器具は、おそらく全て微生物試験所で使用されるであろう。試験所は、器具が要
 510 求される規格内に収まっていることを保証するために、最初に容量器具の検証を実

511 施し、そして定期的な確認をすることが望ましい。検証は、許容誤差を保証された
 512 ガラス器具には必要とされない。但し、マイクロバイオアッセイ(含有抗生物質等)
 513 の場合は、検証したガラス器具を使用する。器具は、設定容量(可変容量の器具で
 514 は、いくつかの異なる設定において)に対する供給容量の精確さを確認することが
 515 望ましい。そして、繰返しの供給容量の精度についても測定することが望ましい。

- (b)「一回使用」の使い捨て容量器具の場合、試験所は承認された適切な品質システム
 517 を持つ会社からの供給を得ることが望ましい。器具の適合性の初期確認後は、精
 518 確さの無作為チェックを実施することが推奨される。供給者が承認された品質シ
 519 ステムを持っていないのならば、試験所は適正さを器具のバッチ毎に確認するこ
 520 とが望ましい。

521 • EA-4/10 6.2.7

522 その他の設備

523 導電率計、酸素メーター、pH メーター及びその他の同様な装置は定期的に或いは
 524 各々の使用前に検証されるべきである。検証の目的に使用される緩衝液は、適切な条
 525 件下で保存され、期限日が記入されることが望ましい。湿度は、試験結果にとって重
 526 要である場合、湿度計は校正され、その校正値は、国家又は国際標準に対してトレー
 527 サブルであることが望ましい。遠心分離機が試験手順の中で使用される場合、遠心力
 528 の重要性が評価されることが望ましい。それが重要であれば、遠心分離機は校正が要
 529 求される。

530 • EA-4/10 7.1

531 試薬

532 試験所は、用いる試薬の品質が試験に対して適切である事を確実にすることが望ま
 533 しい。試験結果を左右する試薬は、バッチごとに使用開始時と使用期限内において、
 534 承認された国或いは国際的微生物株保存機関の保存株にトレーサブルな陽性及び陰性
 535 対照微生物を用いて、その妥当性を確認することが望ましい。

536 • EA-4/10 7.2.1 7.2

537 試験所内調製培地

538 試験所内で調製した培地、希釈液及びその他の懸濁液の妥当性を、以下の事項に関
 539 して確認することが望ましい。

- 540 -対象とする微生物の回収率又は生育性
- 541 -非対象微生物の生育抑制性又は生育阻害性
- 542 -生化学的特性(選択性及び特徴)
- 543 -物理的特性(pH、量、無菌性など)

544 回収率又は生育性の評価のための定量方法については、ISO 11133 パート 1 及び 2
 545 が優先される。

546 • EA-4/10 7.2.2

547 原料(市販の乾燥製品及び個々の構成成分)は、冷蔵、乾燥及び遮光等の適切な条
 548 件下で保存されることが望ましい。全ての容器、特に乾燥培地の容器はしっかりと密
 549 閉されることが望ましい。固まったり、ひび割れたり、又は変色した乾燥培地は、使
 550 用されることは望ましくない。また、試験方法に指定がない限り、殺菌剤や生育阻害・
 551 抑制物質のっていない蒸留水、脱イオン或いは逆浸透(RO)水を調製用を使用する
 552 ことが望ましい。

553 • EA-4/10 7.2.3

554 調製済培地の使用期限は、保存条件を規定し、妥当性を確認した上で設定する。

555 • EA-4/10 7.3.1

556 既成培地

557 調達した全ての市販の既成又は半既成培地(希釈液及び他の懸濁液についても)は、
558 使用前に妥当性確認が要求される。回収率における性能の評価又は対象微生物の生育
559 性及び非対象微生物の成育抑制性又は生育阻害性は、十分に定量的である必要がある。
560 また、属性(例えば、物理的及び生化学的特性)は、客観的な基準により評価するこ
561 とが望ましい。

562 ・EA-4/10 7.3.2

563 妥当性確認の一部として、ユーザーである試験所は、最低限、以下の情報を含んだ
564 製造者の製品規格書を入手しておく必要がある。

565 -培地の名称と添加成分を含む構成成分一覧

566 -使用期限と適用した承認基準

567 -保管条件

568 -培地の規格/純度

569 -滅菌性の確認

570 -陽性及び陰性対照の生育試験に使用した微生物(培地メーカーの使用している標準微
571 生物)及び容認基準

572 -物理的性状確認と適用した容認基準

573 -製品規格書の発行日

574 ・EA-4/10 7.3.3

575 培地のバッチは、識別可能とする。受領された各々の培地は、検査成績書が添付さ
576 れていることが望ましい。試験所のユーザーは、製品規格書に変更があった場合には、
577 製造者によって確実に通知されるように手段を講じておくことが望ましい。

578 ・EA-4/10 7.4

579 ラベル貼付

580 試験所は、すべての試薬(保存溶液を含む)培地、希釈液及びその他の懸濁液につ
581 いて、妥当性、識別、濃度、保存条件、調製日、妥当性確認された有効期限及び/又
582 は推奨される保管期限等の表示のため、適切なラベルを貼付することを確実にする。
583 調製責任者が、記録から識別できることが望ましい。

584

585 5.6 測定の特リサビリティ

586 5.6.3 参照標準及び標準物質

587 ・EA-4/10 8.1

588 標準物質

589 標準物質及び認証標準物質(付属書Aにおける定義を参照)は、以下のような目的
590 で使用する場合、測定において基本的にトレーサビリティを与える。

591 -結果の精確さを実証するため、

592 -装置の校正のため、

593 -試験所の能力を監視するため、

594 -試験方法の妥当性を確認するため、そして

595 -試験方法の比較を行うため。

596 可能ならば、標準物質は、妥当なマトリックスで使用することが望ましい。

597 ・EA-4/10 8.2 標準菌株 8.2.1

598 標準培養株は、培地(試験キットを含む)の受け入れ可能な性能を立証するためや
599 方法の妥当性を確認するため、そして進行中の試験技能を査定/評価するために必要
600 とされる。トレーサビリティは、例えば、試験キット及び方法の妥当性確認のため培

601 地性能を立証する場合に必要である。トレーサビリティを証明するためには、試験所
602 は、現存する国家又は国際的に承認された所蔵品から直接得られる微生物の標準系統
603 株を用いなければならない。代替法として、使用間際にすべての関連特性が同等であ
604 ることを試験所によって示される場合には、市販のものを使用してもよい。

605 ・ EA-4/10 8.2.2

606 ISO 11133-1 における指針に従って、標準系統株は、標準保存株を準備するために、
607 二次培養される。純度及び生化学的確認は、適切に並行して実施されることが望まし
608 い。冷凍か真空凍結乾燥のどちらかで標準保存株を保存することが推奨される。

609 ルーチン使用される試験用培養株は標準保存株からの最初の二次培養株であるべき
610 である（試験用保存株の調製については EA-4/10 の付属書 C を参照）。もし、標準保
611 存株が解凍された場合は、再凍結や再使用をしてはならない。

612 ・ EA-4/10 8.2.3

613 試験用保存株は、それが必要とされており、そして標準試験法によって或いは関連
614 特性に変化がないという証明書を提出できる試験所によって確認されるのでなければ、
615 二次培養されるのは望ましくない。標準保存株の代わりに二次培養した試験用保存株
616 を使用してはならない。標準系統株の市販のものは試験用培養株としてのみ使用する
617 ことができる。

618

619 5.7 サンプリング

620 5.7.1

621 ・ EA-4/10 9.1

622 多くの場合、試験所は試験品を得るための一次サンプリングに対処できない。対処
623 できる試験所では、このサンプリングは品質保証及び理想的には認定によってカバー
624 されることが強く推奨される。

625 ・ EA-4/10 9.2

626 輸送と保管は、試料の保全性を維持する条件下（例えば、適切なチルド或いは冷凍）
627 で行われるべきである。条件は、監視され、記録が維持されることが望ましい。サン
628 プリングと試験所に到着するまでの間の輸送や保管のための適切な責任の所在につい
629 て、明確に文書化する。試料の試験は、サンプリングの後できるだけ速やかに実施さ
630 れ、そして関連指針及び / 又は、国家又は国際法規に従うことが望ましい。

631 ・ EA-4/10 9.3

632 サンプリングは、訓練された要員によってのみ実施されることが望ましい。滅菌し
633 た器具を使用し、無菌的に実施されることが望ましい。

634 ・ 旧 RL358 5.7.1

635 サンプリング及び分析法は、ともに分析評価の重要な構成要素であるので、試験を
636 行う試験所は、この手順の一部を実施する一方の当事者（サンプリング者、試験者）
637 が、この指針に基づいて行っているかどうか注意しなければならない。

638 ・ RL355 付属書 11.14

639 封入は、容器から試料の漏れがないこと及び試料が汚染されないことを確実なもの
640 とするよう適切であることが望ましい。例えば、試料が法的な目的のために採取さ
641 れた場合には、試料へのアクセスが封印シールを破ることによってのみ可能であるよ
642 うに、試料を封印することがある。通常、封印シールが満足な状態であることを確認
643 し、分析報告書に記載する。

644

645 5.8 試験・校正品目の取扱い

646 5.8.1

647 ・EA-4/10 10.1

648 微生物叢は、温度や保管及び輸送の継続時間のようなファクターに感受性があるか
649 もしれない。そこで、試験所による受領時での試料の状態を確認し、記録することは
650 重要である。

651 ・EA-4/10 10.2

652 どんな場合においても、試料の状態は、試験報告書に表示されることが望ましい。

653 ・EA-4/10 10.3

654 試験所は、すべての関係ある情報及び特に次の情報を記録することが望ましい。

655 (a) 受領の日付、適切な場合、時間

656 (b) 受領時の試料の状態及び必要に応じて温度

657 (c) サンプリング操作の特記事項（サンプリング日、サンプリング条件等）

658 5.8.2

659 ・EA-4/10 10.4

660 試験待機にある試料は、存在する微生物数の変化を最小限とするために適切な条件
661 下で保存する。保存条件は、規定され記録されることが望ましい。

662 ・EA-4/10 10.5

663 一度使用したパッケージとラベルは、高度に汚染されているかもしれないので、汚
664 染の拡大を避けるために、相応の注意で取扱い、保管がされることが望ましい。

665 ・EA-4/10 10.6

666 試験直前の試験所による二次サンプリングは、試験方法の一部と考えられる。実在
667 するならば、国家又は国際的な指針によって、或いは妥当性確認された試験所内手順
668 によって実施されることが望ましい。二次サンプリングの手順は、微生物の一樣でな
669 い分布を考慮して設計されることが望ましい。（ISO 6887 及び ISO 7218 で与えられ
670 る一般的指針）5.8.4

671

672 5.8.4

673 ・EA-4/10 10.7

674 試料の保存及び廃棄の手順は、文書化する。試料は、試験結果が得られるまで、或
675 いはもし必要とされたならば、より長期間保管されることが望ましい。試験所の試料
676 の一部が高度に汚染されていることが判っている場合には、廃棄する前に汚染除去さ
677 れることが望ましい（11.1を参照）。

678 ・EA-4/10 11.1

679 汚染した廃棄物の廃棄

680 汚染した物質の正しい廃棄は、試料分析の精度に直接の悪影響もたすことはない
681 であろうが、手順は試験環境や物質の汚染の可能性を最小限にするための設計を行う
682 ことが望ましい。しかしながら、それは GLP に関する問題であり、環境又は衛生及
683 び安全のための国家又は国際法規（ISO 7218 参照）に従うことが望ましい。

684

685 5.9 試験・校正結果の品質の保証

686 ・EA-4/10 12.1 内部品質管理 12.1.1

687 内部品質管理は、試験所業務の継続的な評価をするために、試験所が責任を負って
688 いるすべての手順より成り立っている。主要な目的は、日々の結果の堅実さや規定さ
689 れた基準に適合していることを保証することである。

- 690 ・ EA-4/10 12.2. 外部評価（技能試験） 12.2.1
691 試験所は、認定範囲に関連した技能試験へ定期的に参加し、技能試験計画のマトリ
692 ックスから適切なものを選択することが望ましい。特別な場合には、参加が必須にな
693 ることがある。
- 694 ・ EA-4/10 12.2.2
695 試験所は、単に試験所のかたよりを評価するだけでなく、品質システム全体の有効
696 性を確認するために外部評価を利用することが望ましい。
- 697 ・ 旧 RL358 5.9
698 食品化学及び食品微生物試験所は、精確さ及び各試料のバッチに関連する精度を決
699 定するために品質管理手順をもつ。試験所は、各試料のバッチと同時に品質管理試料
700 （QCS）を（通常は 20 試料毎、又はそれ以下）に実施する。また、試験所は各試料
701 のバッチと同時に管理試料又は繰返し試料を（通常は 20 試料毎、又はそれ以下）に
702 実施する。統計的プロセス管理図は品質管理試料（QCS）分析及び繰返し分析に対し
703 て作成する。精確さ及び / 又は精度の合否判定基準外である全ての管理試料に対して
704 是正処置を取る。関係する試料バッチを公表することで合否判定基準に対して、試験
705 所は上限管理限界及び下限管理限界（±標準偏差）を使用する。培地、及び毎日の工
706 程管理チェックを含む日常ベースでの成績を評価するために、CRM（Certified
707 Reference Material）、RM（Reference Material）及び RC（Reference Culture）を
708 使用する。試験前に入手できる文書化された手順に従って試験結果の妥当性を評価す
709 るために、これらのデータを使用する。適用できる場合、統計的工程管理（SPC）の
710 手順を使用できる。すべての試験所は、毎日の試験と同時に、利用できる場合 CRC
711 （+菌株）を、もしそうでなければ RC（+菌株）を使用した管理を行わなければならない。
712 試験の有効性に関連がある場合、これらの結果を解釈するために手順及び方針
713 がなければならない。適切な管理及び文書がある場合、この手順は、培地の許容性（試
714 験と同時に）を検証するのに使用できる。適当な RM がある場合、反復試験を使用し
715 なければならない。これらの物質及び技能試験用物質は、繰返し性（保存品目の再試
716 験又は再校正）を改善するために使用する。品質管理の試料は、長期間にわたって分
717 析に利用できるように、十分に安定でしかも十分な量が確保できる典型的な試料であ
718 る。この期間での分析方法の能力変動は、QC 用試料の分析結果値を追跡することによ
719 って、通常は管理図にプロットすることによって監視できる。内部品質管理の試料
720 分析の頻度は、結果の妥当性を確実にするのに、十分であることが望ましい。
- 721 ・ 旧 RL358 技能試験 3
722 特定のマトリクスによる認定が、関与する産業及び/又は政府機関次第で要求される
723 ことがある。依頼者及び/又は政府機関に受け入れられれば、単一のマトリクスで、方
724 法に対するこの要求事項を達成するのに十分である。
- 725 ・ 旧 RL358 技能試験 4
726 試験所技能の評価
727 外部のスキームが、その物質若しくは試験/方法にとって利用できないか、又は現存
728 のスキームが、適切/実地的でない場合、試験所は適切な所内のスキームを開発し、方
729 法を実施する力量及び許容できる結果を得る能力を実証しなければならない。
- 730 ・ 旧 RL358 指針備考
731 所内技能サンプルを準備するのに使われる手順、頻度、結果を分析する方法、及び
732 それらの許容差を評価するのに使われる所内基準を明確に定義しなければならない。

733

734 5.10 結果の報告

735 ・ EA-4/10 13.1

736 もし、微生物数の測定の結果が陰性であった場合、「表示単位に対して、検出せず」
737 或いは「表示単位に対して、検出限界以下」として報告されることが望ましい。結果
738 は、一定の条件を付けずに、「表示単位に対して、0」として報告することは望まし
739 くない。定性試験の結果は、「表示数量或いは容量に対して、検出又は不検出」として
740 報告することが望ましい。また、規定微生物数が測定方法の検出限界より高く検出さ
741 れた場合には、顧客の同意のもとに「表示単位に対して、規定された微生物数以下」
742 として表現することがある。

743 ・ EA-4/10 13.2

744 試験結果の不確かさの推定を、試験報告書に記載する場合には、制限（推定の中に
745 試料中の微生物の分布が関与した要因を含まない場合は特に）を、顧客に対して明確
746 に示さなければならない。

747
748
749
750
751
752
753
754

付属書 A (EA-4/10 の付属書 D に対応する)

- 校正及び校正のチェックに関する指針 -

この情報は、指針の目的のために準備され、そして校正及びチェックの頻度は、その設備の要求や種類及び以前の性能に基づいている。

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
参照温度計 (ガラス液体温度計)	トレーサブルの条件を満たした再校正	5年毎
	一点(例、氷点での確認)	1年毎
参照用熱電対	トレーサブルの条件を満たした再校正	3年毎
	参照温度計に対するチェック	1年毎
実用温度計及び 実用熱電対	氷点温度及び/又は試験実施温度範囲 における参照温度計を用いたチェック	1年毎
天秤	トレーサブルの条件を満たした校正	1年毎
校正された分銅	トレーサブルの条件を満たした校正	5年毎
確認用分銅	校正された分銅を用いたチェック又は トレーサブルな校正をされた後の秤量 材を用いたチェック	1年毎
容量ガラス器具	要求される許容限度に対する重量測定 による校正	1年毎
顕微鏡	ステージマイクロメーターのトレーサ ブルな校正(適切な場合)	据付時
湿度計	トレーサブルな校正	1年毎
遠心分離機	トレーサブルな校正又は適切な場合、 独立した回転計を用いたチェック	1年毎

755

756
757
758
759
760
761
762
763

付属書 B (EA-4/10 の付属書 E に対応する)

- 設備の妥当性確認及び性能の検証に関する指針 -

この情報は、指針の目的のために準備され、そして設備の妥当性確認及び性能の検証の頻度は、その設備の要求や種類及び以前の性能に基づいている。

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
温度制御された装置 (インキュベータ、 ウォーターバス、 冷蔵庫、冷凍庫)	(a) 温度の安定性及び均一性の立証	(a) 据付時、2年毎及び 修理又は改善後
	(b) 温度の監視	(b) 日毎又は使用毎
滅菌器	(a) 温度の安定性及び均一性の立証	(a) 据付時、2年毎及び 修理又は改善後
	(b) 温度の監視	(b) 使用毎

764
765

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
オートクレーブ	(a) 稼働 / 周期の特性を立証	(a) 据付時、2年毎及び 修理又は改善後
	(b) 温度及び時間の監視	(b) 使用毎
安全キャビネット	(a) 性能の立証	(a) 据付時、1年毎及び 修理又は改善後
	(b) 微生物学的監視	(b) 週毎
	(c) 空気流の監視	(c) 使用毎
ラミナーエアフロー キャビネット	(a) 性能の立証	(a) 据付時、及び修理 又は改善後
	(b) 滅菌プレートでチェック	(b) 週毎
タイマー	国家標準時報に対してチェック	1年毎
顕微鏡	光軸調整のチェック	日毎又は使用毎
pHメーター	適切な品質の少なくとも2種の緩衝液 を用いて調整	日毎又は使用毎
天秤	ゼロ点確認及び確認用分銅による読 みの チェック	日毎又は使用毎
脱イオン装置及び 逆浸透装置	(a) 導電率のチェック	(a) 週毎
	(b) 微生物汚染のチェック	(b) 月毎
重量測定式希釈装置	(a) 分注量の重量チェック	(a) 日毎
	(b) 希釈率のチェック	(b) 日毎
培地分注器	分注量のチェック	調整又は交換時

ピペッター又は ピペット	分注量の精確さと精度チェック	定期的(通常使用される 頻度及び使われ方を考 慮して規定される)
スパイラルプレーター	(a) 通常の方法に対する性能の立証	(a) 据付時及び1年毎
	(b) 開始時、終了時の注入針のチェック	(b) 日毎又は使用毎
	(c) 分注量のチェック	(c) 月毎
コロニーカウンター	人手で計数した数に対するチェック	1年毎
遠心分離機	校正された独立した回転計による回 転速度のチェック	1年毎
嫌気培養器又は インキュベータ	嫌気インジケーターによるチェック	使用毎
試験所環境	例えば、エアーサンプラー、固定培地 、接触培地又は拭き取り綿を用いて空 気及び表面の微生物汚染の監視	週毎

766

767
768
769
770
771
772
773
774

付属書 C (EA-4/10 の付属書 F に対応する)

- 設備の保全に関する指針 -

この情報は、指針の目的のために準備され、そして設備の保全の頻度は、その設備の要求や種類及び以前の性能に基づいている。

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
(a) インキュベータ	清潔及び内部表面の消毒	(a) 月毎
(b) 冷蔵庫		(b) 必要に応じて (例: 3ヶ月毎)
(c) 冷凍庫、乾燥器		(c) 必要に応じて (例: 1年毎)
ウォーターバス	空、清潔、消毒及び再補充	毎月、又は殺菌剤が使用された場合6ヶ月毎
遠心分離機	(a) 専門業者による保全	(a) 1年毎
	(b) 清潔及び消毒	(b) 使用毎
オートクレーブ	(a) ガスケットの目視チェック、チャンパーの清潔/排水のチェック	(a) 製造者推奨の定期
	(b) 専門業者による全面的保全	(b) 1年毎又は 製造者の推奨に従う
	(c) 圧力容器の安全チェック	(c) 1年毎
安全キャビネット ラミナーフローキャビネット	専門業者による全面的保全及び機械的な部分のチェック	1年毎又は製造者推奨に従う
顕微鏡	専門業者による全面的保全	1年毎
pHメーター	電極の掃除	使用毎
天秤、 重量測定式希釈装置	(a) 清潔	(a) 使用毎
	(b) 専門業者による保全	(b) 1年毎
蒸留装置	清潔及びスケール除去	必要に応じて (例、3ヶ月毎)
脱イオン装置、 逆浸透装置	カートリッジ又は膜の交換	製造者の推奨に従う
嫌気培養器	清潔又は消毒	使用後
培地分注器、 容量器具、ピペット、 一般試験器具	適宜の汚染除去、清潔及び滅菌	使用毎
スパイラルプレーター	(a) 専門業者による保全	(a) 1年毎
	(b) 汚染除去、清潔及び滅菌	(b) 使用毎
試験所	(a) 作業面の清潔及び消毒	(a) 日毎及び使用中
	(b) 床の清潔、流し台及び洗い桶の消毒	(b) 週毎
	(c) 清潔及びその他表面の消毒	(c) 3ヶ月毎

775
776 JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書
777

778 EA-4/10

779

780

781 微生物試験所における認定

782

783

784

785

786

787

788

789

790

791

792

793

794

795

796

797

798

799

800 公益財団法人日本適合性認定協会

801 〒141-0032 東京都品川区大崎2丁目8番8号

802 大崎ウエストビル1F

803 Tel.03-5487-0546 — Fax.03-5487-2050

804

805

806

807 ©2003 JAB

808

809 JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書

810

811 目次

812

813 1 序文及び文書の適用範囲 25

814 2 要員 26

815 3 環境 26

816 3.1 敷地・建物 26

817 3.2 環境監視 28

818 3.3 衛生 28

819 4 試験方法の妥当性確認 28

820 5. 測定の不確かさ 28

821 6. 設備-保全、校正及び性能の検証 29

822 7. 試薬及び培地 32

823 7.1 試薬 32

824 7.2 試験所内調製培地 32

825 7.3 既成培地 33

826 7.4 ラベル貼付 33

827 8. 標準物質及び標準培養株 33

828 8.1 標準物質 33

829 8.2 標準培養株 34

830 9. サンプルング 34

831 10. 試料の取り扱い及び識別 34

832 11. 汚染した廃棄物の廃棄 35

833 12. 結果の品質保証 / 性能の品質管理 35

834 13. 試験報告書 36

835 附属書 A 用語の定義 37

836 附属書 B 参照文書 39

837 附属書 C 標準培養株の一般的な使用 40

838 附属書 D 校正及び校正のチェックに関する指針 41

839 附属書 E 設備の妥当性確認及び性能の検証に関する指針 42

840 附属書 F 設備の保全に関する指針 44

841

842

843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893

JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書□

(公財)日本適合性認定協会(以下 JAB と略す)注:下線部は試験所がこの表現通りに実施することを本協会として必ずしも要求するものではないが、試験所がこの表現の意図する機能を何らかの方法によって満たしていることを必要とする JAB 指針に相当している。

1 序文及び文書の適用範囲

1.1 認定のための一般要求事項は、国際規格 JIS Q 17025(ISO/IEC 17025) General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (ISO/IEC 17025 1st Ed. 1999)(これ以後 ISO 17025 として引用する)に規定されている。これらすべての要求事項は、認定を得ようとする試験所によって満たされなければならない。

1.2 この文書は、審査員と微生物試験を実施しようとする試験所の両者のために特定の指針を提供することによって、JIS Q 17025(ISO/IEC 17025) ISO 17025を補足している。

この文書は、原料、製品、物質の試験を請け負う場合に JIS Q 17025(ISO/IEC 17025) ISO 17025を解釈する上で詳細な指針となるものである。指針は、ルーチンでも、ノンルーチンであっても、或いは研究及び開発の一部であっても、すべての目的とする測定の実施に適用できる。たとえ、主に食品及び環境微生物試験のために記述されていたとしても、一般的原則は他の分野でもたぶん適用できるであろう。

JIS Q 17025(ISO/IEC 17025) ISO 17025は、権威ある規格のままであり、異議を唱えられた場合に、認定機関は、この規格により未解決案件を裁定する。この文書で与えられる指針は、また GLP、GMP、GCP のような他の品質標準に基づく登録に対する業務においても使用できるであろう。

1.3 この文書は、JIS Q 17025(ISO/IEC 17025) ISO 17025の附属書 B に規定されている微生物試験のための”適用文書”とみなすことができる。この文書は、とりわけ EA 相互承認に参画する EA メンバー間での試験所認定に対して整合した取り組みを促進させる手段として、EURACHEM 及び EA の協同で作成された。

1.4 微生物試験には、異なる原料や製品中の微生物(ウイルス、細菌、真菌類及び原生動物)及びその代謝産物の無菌試験、検出、分離、計数及び同定が含まれており、或いは生態学的試験のための微生物の利用というばかりでなく、検出手段の一部として微生物を利用する各種試験も含まれる。従って、この文書のいくつかの指針、例えば、試験所の環境においては、それ相応の解釈が必要となる。

この文書は、また生化学、分子生物学及び細胞培養のような微生物学に関連する分野の技術を用いる試験所に対して、追加要求事項がたぶんあるだろうが、指針の提供が可能である。

1.5 この文書は、試験結果の質には配慮しているが、衛生や安全事項には特段には配慮をしていない。しかしながら、試験所の業務実施にあたっては、国家の衛生や安全法令に従うことが望ましい。この衛生、安全上の問題が試験の質に影響を及ぼすかもしれない場合には、注意することが重要であり、試験所はこれを考慮することが要求される。

1.6 用語の定義は、附属書 A に提示されている。

894 2 要員 (JIS Q 17025 5.2)

895

896 2.1 微生物試験は、微生物学に関連する学科を修了し、かつ知識、技能を持つ者、或
 897 いはその者の監督下で実施することが望ましい。別の資格として、試験所の認定範
 898 囲に関係する広範囲の妥当な経験を持つ職員であれば、要求を満たしているであ
 899 らう。要員は、監督なしで認定範囲を扱う業務を実施することを許可される前に、或
 900 いは認定範囲の監督の経験があると見なされる前に、広範囲な実践経験を持つこと
 901 が望ましい。

902 特定の国家法令は、この文書で与えられる指針に優先させることができる。

903 (5.2.1 項)

904

905 2.2 試験所が報告書に試験結果の意見や解釈を含めたい場合は、適切な経験と特定の
 906 適用文書、例えば、法律及び技術的要求事項、そして許容条件に対応する知識を有
 907 する権限を与えられた要員によって実施する。

908

909 2.3 試験所の管理主体は、すべての要員が試験に適切な技能と設備の操作のための相
 910 応の訓練を受けることを確実にする。これには、例えば、無菌操作、平板培地へ
 911 の注入、コロニーの計数等、客観的条件を用いて決定された受け入れ可能な程度
 912 の基礎技術の訓練を含めるべきである。(5.2.2 項) 要員は、試験の実施に対
 913 し相応に認められた場合か、或いは相応の監督下で実施する場合のどちらかでの
 914 みサンプルの試験を実施できる。

915 修得中の技能は、必要な場合、再訓練のための計画とともに客観的に監視される
 916 ことが望ましい。ある試験方法や操作技術が通常実施されていない場合は、着手
 917 する前に要員の技能の検証が必要である。(5.2.1 項) 試験の能力を確認する
 918 間隔の条件は、確立され文書化されることが望ましい。微生物の同定や確認のため
 919 の試験結果の解釈は、実施試験者の経験が強く関係しており、定期的に試験者
 920 ごとに監視されることが望ましい。(5.2.2 項)

921

922 2.4 要員の能力評価は、試験方法よりもむしろ特定の技術や装置毎の能力と関係づ
 923 けることの方がより適切な場合もある。(5.2.5 項)

924

925 3 環境 (JIS Q 17025 5.3)

926 3.1 敷地・建物

927 3.1.1 典型的な試験所は、試験施設（そこで特定の微生物学的試験及び関連活動が実
 928 施される）や付属施設（玄関、廊下、管理区域、更衣室、トイレ、保管室、資料
 929 室等）より構成されている。一般に試験施設に対して特定の環境要求事項がある。

930 実施する試験のタイプによって微生物学的試験所への立入は、権限が付与され
 931 た要員に制限するのが望ましい。このような制限が実施される場所では、要員
 932 は次のことを承知していることが望ましい。(5.3.1 項)

933 (a) 特定区域の使用目的

934 (b) 特定区域内での業務上の制限

935 (c) このような制限を課す理由

936 (d) 適切な封じ込めのレベル

937

938 3.1.2 試験所は実施する試験のタイプによって重大となる交差汚染のリスクを最小限
 939 にするように整備されることが望ましい。これらの目的を達成する方法は、例え
 940 ば、以下に示される。(5.3.1 項)

941 (a) 試験所を「人、空気、物の流れを逆行させない (no way back)」の原
 942 則で建設する。

943 (b) 試験及び試料の完全さを確実なものとするために適切な予防措置を講じ
 944 て（例えば、密閉コンテナの使用）順序だった方法で手順を実施する。

945 (c) 時間や空間によって活動を分離する。

946
947 3.1.3 一般的に以下に示す分離した場所、或いは明確に指定された区域の設計を持つ
948 ことで、良好な実施とみなされる。(5.3.1 項)

- 949 ・ 試料の受領と保管区域
- 950 ・ 試料調製区域 (例えば、高濃度汚染しやすい粉末製品の調製のためには隔
951 離された区域が使用されることが望ましい。)
- 952 ・ 培養を含む資料の試験区域
- 953 ・ 標準微生物の調整区域
- 954 ・ 滅菌を含む培地と設備の準備区域
- 955 ・ 無菌的操作区域
- 956 ・ 汚染除去区域

957 洗浄のための区域 (汚染除去後) は、もし微生物の成育に悪い影響をもたらす微
958 量の物質の移動を防ぐ必要な予防措置がとられるならば、試験所の他の部署と共
959 有しても良い。物理的な分離の必要性は、試験所の活動の特殊性 (例えば、試験
960 実施の数量や種類) を基礎にして判断することが望ましい。

961 試験所の設備は、不慮の交差汚染を避けるために区域間を日常的に移動しないこと
962 が望ましい。分子生物学的手法を用いる試験所においては、専用ピペット、チップ、
963 遠心分離器、チューブ、PCR (核酸増幅装置) 等は、業務区域 (低 - 中 - 高濃度
964 DNA 作業環境) 毎に設置されることが望ましい。(5.3.1 項)

965
966 3.1.4 区域の広さは、清潔さと整理が維持される業務区域として、許容される十分な広
967 さがあることが望ましい。要求される区域の広さは、試験所が扱う分析の量や内
968 部組織全体に符合していることが望ましい。(5.3.1 項) 区域の広さは、利
969 用可能ならば国家規制に従って要求に沿うことが望ましい。

970
971 3.1.5 試験室は、適切に換気がされ、また適温であることが望ましい。これは、自然換
972 気でも強制換気、或いはエアコンディショナーの使用によってであっても良い。
973 エアコンディショナーが使用される場合には、フィルターは適切であると共に検
974 査され、保全が持続的であり、さらに実施される業務の種類によっては交換され
975 ることが望ましい。(5.3.1 項)

976
977 3.1.6 汚染防止は、以下の事項等を実践することによって達成できる。(5.3.1 項)

- 978 ・ 壁、天井、床及び作業台における滑らかな表面 (表面の滑らかさは、いか
979 に容易に清掃できるかにより判断される) とする。タイルは、作業台の被
980 覆材料として推奨されない。
- 981 ・ 床、壁、天井の間の接続をなめらかな凹状とする。
- 982 ・ 試験が実施される間の窓、扉の開きを最小限にする。
- 983 ・ 日よけは室外に設置する。
- 984 ・ 日よけの室外設置が無理な場合、室内の日よけの清掃は容易にできるよう
985 にする。
- 986 ・ 流体用の配管類を作業場所の上を通さないようにし、通す場合には被覆収
987 納し、むきだしのままにしないようにする。
- 988 ・ 換気設備の吸気口には防塵フィルターを設置する。
- 989 ・ 手洗い設備の分離、なるべく自動とする。
- 990 ・ 戸棚は天井に至るまでの高さとする。
- 991 ・ 未加工でむき出しの木製品の設備にしない。
- 992 ・ 設備や備品の木製表面は相応の被覆をする。
- 993 ・ 保管された物や設備は、容易に清掃できるように整理、整頓する。
- 994 ・ 試験業務に直接必要のない什器や文書又はその他の物を置かない。

995 このリストは、完全なものではなく、そして全ての例があらゆる場合に適用さ
996 れるわけではない。

997 天井は、理想的には平面照明で滑らかな表面にすることが望ましい。これが無
998 理な場合 (つり天井やつり下げ照明のように) には、試験所は、結果への衛生学
999 的リスクを管理する文書化した証拠を持ち、その衛生学的リスクを克服する効果

- 1000 的手段（例えば、表面の清掃や検査の計画）を持つことが望ましい。
- 1001
- 1002 3.1.7 試験所が工場構内にある場合には、要員は生産区域からの汚染の可能性を承知し
- 1003 ていなければならない。また、このような事態を避けるために妥当な処置がとら
- 1004 れていることを証明することが望ましい。（ 5.3.1 項）
- 1005
- 1006 3.2 環境監視
- 1007 3.2.1 適正な環境監視計画は、例えば、落下微生物検査用プレートの使用や表面拭き取
- 1008 り等を含んだ計画が工夫されることが望ましい。その際には、許容できるバック
- 1009 グランド値を明らかにし、さらに限度を超えた場合を扱うための文書化された手
- 1010 順を持つことが望ましい。データの解析は、汚染レベルにおける傾向を明確にで
- 1011 ることが望ましい。（ 5.3.2 項）
- 1012
- 1013 3.3 衛生
- 1014 3.3.1 試験所の備品、設備及び作業面のための文書化された清浄計画があることが望ま
- 1015 しい。それには、環境監視の結果や交差汚染の可能性を考慮することが望ましい。
- 1016 また、漏出の際の対処方法があることが望ましい。（ 5.3.2 項）
- 1017 3.3.2 十分な保管場所を準備し、試験所において文書業務を最小限とすることや試験所
- 1018 業務区域から植物や個人の所有物を禁止することによって、塵の蓄積を避ける対策
- 1019 が取られることが望ましい。（ 5.3.2 項）
- 1020 3.3.3 実施される試験の種類に応じた着衣（必要な場合は、髪の毛、あごひげ、手、靴
- 1021 等の覆いを含める）は、微生物試験所内で身につけ、そして区域を去る前に脱ぐこ
- 1022 とが望ましい。これは、分子生物学試験所にとって、例えば気づかない交差汚染を
- 1023 引き起こすかもしれない高濃度 DNA の区域から低濃度 DNA 区域に移動するよう
- 1024 な場合は、特に重要である。多くの試験所では、実験用着衣で十分であろう。（
- 1025 5.3.2 項）
- 1026 3.3.4 適切な手洗い設備が利用できることが望ましい。
- 1027
- 1028 4 試験方法の妥当性確認（[JIS Q 17025](#) 5.4.5）
- 1029 4.1 微生物学的試験方法の妥当性確認は、実際の試験状態を反映することが望ましい。
- 1030 これは、自然に汚染された製品や前もって汚染微生物数が確定されたものをスパイ
- 1031 クした製品を用いることによって達成されると言って差し支えない。
- 1032 マトリックスに対する汚染微生物の添加は、自然に生息している汚染微生物の存
- 1033 在を単に見かけ上模倣しているにすぎないことを分析者は、承知していることが
- 1034 望ましい。しかしながら、この方法は、しばしば最良の方法であり唯一有効な解
- 1035 決法である。妥当性確認の必要性の程度は、試験方法とその適用法による。試験
- 1036 所は、標準試験法が標準の手順に明示されていないマトリックスに適用される場
- 1037 合には妥当性確認をする。（ 5.4.5 項）
- 1038
- 1039 4.2 結果が検出 / 不検出や確認及び同定の手順によって表現されるような定性的な
- 1040 微生物学的試験方法は、もし適切であるならば、特異性、相対真度、正の偏差、
- 1041 負の偏差、検出限界、マトリックス効果、繰返し性及び再現性を決定することに
- 1042 よって妥当性確認されることが望ましい（定義のための付属書 A を参照）。（
- 1043 5.4.5 項）
- 1044
- 1045 4.3 定量的な微生物学的試験方法の場合、特異性、感度、相対真度、正の偏差、負の
- 1046 偏差、繰返し性、再現性及び決められた変動の範囲で定量限界が考慮され、また
- 1047 必要な場合には、分析結果において定量的に決定されることが望ましい。マト
- 1048 リックスに起因する相違は、別の種類の試料を試験する時には考慮しなければならない。
- 1049 結果は、適切な統計学的方法で評価されることが望ましい。（ 5.4.5.3
- 1050 項）

- 1051
- 1052 4.4 試験所は、試験所において使用した市販の微生物検出キットにおける妥当性確認
1053 データを保持する。これらの妥当性確認データは、共同試験を通して、また製造
1054 業者によって提出され、第三者機関（例えば、AOAC）の評価を受けた妥当性確認
1055 データとして入手できる。もし、妥当性確認データが入手できないか、或いは全
1056 面的には適用できないならば、その試験所は、試験の妥当性確認を完全に仕上げ
1057 る責任がある。（ 5.4.5.3 項）
1058
- 1059 4.5 もし、試験方法の変更版が、原法と同様の仕様であることを論証する必要がある
1060 ならば、その際の比較は、論証の証拠事例であることを確実にするために繰返し試
1061 験用の試料を用いて実施されることが望ましい。試験計画や結果の解析は、統計学
1062 的に妥当でなければならない。（ 5.4.5.3 項）
1063
- 1064 4.6 たとえ妥当性確認が完全であっても、その利用者は日常業務の中でさらに、文書
1065 化した性能が通常の業務下でも満たされていることを、例えば、スパイクされた試
1066 料或いは関連するマトリックスに混ぜ込んだ標準物質を用いることによって検証
1067 することが望ましい。（ 5.4.5.3 項）
1068
- 1069 5. 測定の不確かさ（JIS Q 17025 5.4.6）
- 1070 5.1 測定の不確かさのための国際定義は、ISO 国際計量基本用語集 1993（付属書 B
1071 参照）に規定されている。欧州認定機関によって推奨されている試験における不確
1072 かさの評価及び表現の一般的な取り組みは Guide to the Expression of
1073 uncertainty in Measurement, 1995, ISO Geneva に記述されているように国際度
1074 量衡委員会（International Committee for Weights and Measures ; CIPM）に
1075 よって作成された提唱に基づいている。（ 5.4.6.2 項）
1076
- 1077 5.2 微生物学的試験は、一般的に、厳密で計量学的及び統計学的に意味のある測定の
1078 不確かさの計算ができない試験の部類に入る。一般的に不確かさの見積りには、
1079 繰返し性や再現性のデータだけでなく、理論的にはかたより（例えば、技能試験
1080 結果から）を含めたデータを基づかせるのが適切である。不確かさの個々の構成
1081 成分は、識別されていること並びに評価結果の変動に対する寄与が確認され、か
1082 つ証明されることが望ましい。（ 5.4.6.2 項）
1083 いくつかの構成成分（例えば、ピペット操作、秤量操作及び希釈の影響）は、直
1084 ぐに測定でき、不確かさ全体に対しての寄与が無視できることを容易に証明するこ
1085 とができる。他の構成要素（例えば、試料の安定性や試料調製）は、直接には測定
1086 できないし、それらの寄与は統計学的方法においても評価できないが、結果の変動
1087 性に対する重要性は、同様に、考慮に入れることが望ましい。（ 5.4.6.2 項）
1088
- 1089 5.3 微生物学的試験を認定された試験所は、試験するマトリックス中の微生物の分布
1090 についての知識を持ち、サブサンプリングにおいてこれを考慮に入れることが望
1091 まれる。
1092 JAB は不確かさにおけるサブサンプリングの要因を検討することを要求するが、
1093 顧客からの特別な要求指示がなければ、不確かさの見積りに含めることは勧めら
1094 れない。
1095 その主な理由は、製品マトリックス中の微生物分布に起因する不確かさが、試
1096 験所能力の作用ではなく、試験した個々の試料に特有なものであるかもしれない
1097 からであり、試験方法は、不均一性を考慮して、用いられる試料量を指定するこ
1098 とが望ましい。（ 5.4.6.3 項）
1099
- 1100 5.4 不確かさの概念は、例えば検出試験或いは同定試験のための属性決定などの定性
1101 的な試験結果には、直接には適用できない。とはいっても、変動の個々の原因、
1102 例えば、試薬の性能の整合性や分析者の解釈が管理されていることが確認され、
1103 かつ証明されることが望ましい。さらに試験にとって検出限界が適合の重要な指

1104 標となっている場合には、限界を決定するために用いられた接種菌と関連した不
 1105 確かさが見積られ、その有意性が評価されることが望ましい。試験所は、用いる
 1106 定性試験に関連した結果の偽陽性及び偽陰性結果の発生率もまた承知しているこ
 1107 とが望ましい。(5.4.6.3 項)
 1108

1109 6. 設備-保全、校正及び性能の検証 (JIS Q 17025 5.5)

1110 品質システムの一部として、試験所は、保全、校正及び設備の性能検証の文書化
 1111 された計画を運用することが要求される。(5.5.1 項)

1112 6.1 保全

1113 (設備の保全の指針は、ISO 7218 に見ることができる。)

1114 6.1.1 主要設備の保全は、使用頻度のような要素によって決定され、定期的な間隔で実
 1115 施する。その際の詳細な記録は保存する。設備の保全やその間隔の事例は、付属書
 1116 F に示す。(5.5.1 項)

1117 6.1.2 器具に起因する交差汚染を避けるために、例えば以下の注意が払われることが望
 1118 ましい。(5.5.1 項)

- 1119 ・ 使い捨て器具は、適宜消毒し滅菌する。
- 1120 ・ 繰り返し使用するガラス器具は、適宜適切に消毒・洗浄し、滅菌する。
- 1121 ・ 理想的には、試験所は、汚染除去のために別々のオートクレーブを持つこ
 1122 とが望ましい。

1123
 1124 しかしながら、汚染除去及び滅菌した物を分離するためにとられる適切な予防措
 1125 置やオートクレーブの内外周囲での処理する場所を定める文書化された清潔操作
 1126 プログラム等が準備されるならば、1台のオートクレーブが容認される。
 1127

1128 6.1.3 代表的な、以下の設備は消毒・洗浄、取扱い、損傷の検査、一般的な確認、
 1129 そして適切な滅菌によって保全される。(5.5.1 項)

- 1130 ・ 一般使用器具 : ろ過装置、ガラス又はプラスチック容器(ビン、試験
 1131 管)、ガラス又はプラスチックペトリ皿、試料採取装置、白金線又は白金
 1132 耳、ステンレス製又は使い捨てプラスチック製器具等
- 1133 ・ ウォーターバス、インキュベータ、微生物用キャビネット、オートクレー
 1134 ブ、ホモジナイザー、冷蔵庫、冷凍庫等
- 1135 ・ 容量器具 : ピペット、自動分注機、スパイラルプレーター等
- 1136 ・ 測定装置 : 温度計、タイマー、天秤、pH メーター、コロニーカウンタ
 1137 ー等

1138
 1139 6.2 校正及び性能の検証
 1140

1141 6.2.1 試験所は、試験結果に直接影響を及ぼす設備の校正及び性能の検証のための計画
 1142 を規定する。このような校正及び性能の検証の頻度は、記録された経験や必要性及
 1143 び設備の種類と以前の性能に基づいて決定する。校正及び性能の検証の間隔は、設
 1144 備の性能が許容限度を外れるのが発見されるより短い期間とする。校正の間隔と
 1145 種々の試験所装置の代表的な性能確認の例は、付属書 D 及び付属書 E に示す。(
 1146 5.5.2 項)

1147
 1148 6.2.2 温度測定器
 1149

1150 (a) 温度が試験結果に直接影響する場合、或いは設備の性能校正のために重要であ
 1151 る場合には、温度測定器、例えばインキュベータやオートクレーブに使用され
 1152 るガラス液体温度計、熱電対及び白金抵抗温度計(PRTs)は、要求された精度を
 1153 達成するために適切な品質にする。(5.5.2 項)
 1154

1155 (b) 温度測定器の校正は、温度のための国家又は国際標準に対してトレーサブルで
 1156 なければならない。その精度が許容される場合、装置は適切であり、用いられ

1157 る国家又は国際的に認められた製造規格（例えば、ガラス液体温度計のための
 1158 ISO 1770）に適合していることを証明できる。このような装置は、目的温度近
 1159 くで許容誤差が容認される場合には、例えば、保管用冷蔵庫や冷凍庫そしてイ
 1160 ンキュベータやウォーターバスにもまた監視する目的で使用することができる。
 1161 こうした温度測定器は性能の検証が必要である。（ 5.5.2 項）

1162

1163 6.2.3 インキュベータ、ウォーターバス、オープン

1164

1165 温度の安定性、温度分布の均一性及びインキュベータ、ウォーターバス、オープ
 1166 ンそして温度管理された試験室が平衡状態に達するまでに必要な時間は、特に代
 1167 表的な使用（例えば、位置、空き間隔、ペトリ皿の積重ね高さ）に配慮して最初
 1168 に規定し文書化する。装置の初期妥当性確認における特性記録の恒久性は、重要
 1169 な修理や改善の後は確認し、記録する。試験所は、この種の装置の作動温度を監
 1170 視し、記録を保持する。（ 5.5.2 項）

1171

1172 6.2.4 オートクレーブ（培地調製装置を含む）

1173

1174 以下の概略は、校正及び性能の検証や監視に対して一般的に期待される事項であ
 1175 る。しかしながら、オートクレーブ処理された原料や物の定量的試験が、バッチ内
 1176 及びバッチ間で一定の変動内にあることが適切に説明できれば、それも同等の品質
 1177 保証を与えることになるということでは認められている。（ 5.5.2 項）

1178

1179 (a) オートクレーブは、指定した時間と温度についての許容範囲を満足する性能を
 1180 有しているべきである。圧力ゲージのみ備えた圧力釜は、認められない。操
 1181 作過程を制御し監視するために使用されるセンサーは、校正及びタイマーの性
 1182 能が検証されていることが要求される。（ 5.5.2 項）

1183

1184 (b) 初期妥当性確認は、操作の際に用いられるそれぞれの操作過程や滅菌品の装填
 1185 の仕方に即した性能調査（空間温度分布測定）を含むのが望ましい。この工程
 1186 は、重要な修理又は改善（例えば、温度調節端子の交換、プログラム、装填装
 1187 置、操作周期）後、又は培地の品質管理チェックの結果により必要とされた場
 1188 合には、繰り返さなければならない。初期妥当性確認に際しては、十分な数の
 1189 温度センサーを可能な限り異なった位置の滅菌品中に（例えば、液体又は培地
 1190 で満たされた容器に）置くことが望ましい。（ 5.5.2 項）

1191 均一な加熱が他の方法によって証明することができない培地調製装置の場合
 1192 には、一つは制御端子の付近に、もう一つは、それから離れた位置に配置した
 1193 二つのセンサーの使用が一般的に適切であると考えられる。妥当性確認及び再
 1194 妥当性確認は、滅菌温度での時間と同様に温度の上昇及び降下時間の適切さを
 1195 考慮することが望ましい。（ 5.5.2 項）

1196

1197 (c) 妥当性確認 / 再妥当性確認の際には、代表的な使用に対して決定された加熱方
 1198 法に基づいた明確な操作手順が規定されるのが望ましい。受け入れる / 受け入
 1199 れない培地の基準が、立証されると共に、操作毎の温度や時間及び保全を含む
 1200 オートクレーブ操作の記録をすることが望ましい。（ 5.5.2 項）

1201

1202 (d) 監視は、以下のうちの一方により達成することができる。（ 5.5.2 項）

1203 (i) 熱電対及びチャート作成やプリントアウト用レコーダーを使用

1204 (ii) 直接観測し、到達した最高温度とその温度に到達するまでの時間を記録

1205

1206 オートクレーブの温度を直接監視することに加えて、各サイクルの操作の有
 1207 効性は、滅菌 / 汚染除去確認用の化学的、生物学的インジケータを用いて確
 1208 認することができる。オートクレーブテープ又は試験紙は、単に負荷をかけら
 1209 れていることを見るために使用されるべきであり、受け入れ可能の完全さを証
 1210 明するために使用されることは望ましくない。（ 5.5.2 項）

1211

1212 6.2.5 分銅及び天秤 (5.5.2 項)

1213 分銅及び天秤は定期的に (使用目的に応じて) トレーサブルな校正をする。

1214

1215

1216 6.2.6 容量器具 (5.5.2 項)

1217 (a) 自動分注器、希釈型分注器、自動ハンドピペット及び使い捨てピペットのよう
 1218 な容量器具は、おそらく全て微生物試験所で使用されるであろう。試験所は、器
 1219 具が要求される規格内に収まっていることを保証するために、最初に容量器具の
 1220 検証を実施し、そして定期的な確認をすることが望ましい。検証は、許容誤差を
 1221 保証されたガラス器具には必要とされない。但し、マイクロバイオアッセイ (含
 1222 有抗生物質等) の場合は、検証したガラス器具を使用する。器具は、設定容量 (可
 1223 変容量の器具では、いくつかの異なる設定において) に対する供給容量の精確さ
 1224 を確認することが望ましい。そして、繰返しの供給容量の精度についても測定す
 1225 ることが望ましい。(5.5.2 項)

1226 (b) 「一回使用」の使い捨て容量器具の場合、試験所は承認された適切な品質シス
 1227 テムを持つ会社からの供給を得ることが望ましい。器具の適合性の初期確認後は、
 1228 精確さの無作為チェックを実施することが推奨される。供給者が承認された品質
 1229 システムを持っていないのならば、試験所は適正さを器具のバッチ毎に確認する
 1230 ことが望ましい。(5.5.2 項)

1231

1232 6.2.7 その他の設備 (5.5.2 項)

1233 導電率計、酸素メーター、pHメーター及びその他の同様な装置は定期的に或い
 1234 は各々の使用前に検証されるべきである。検証の目的に使用される緩衝液は、適
 1235 切な条件下で保存され、期限日が記入されることが望ましい。(5.5.2 項)

1236 湿度は、試験結果にとって重要である場合、湿度計は校正され、その校正値は、
 1237 国家又は国際標準に対してトレーサブルであることが望ましい。(5.5.2 項)

1238 オートクレーブタイマーを含むタイマーは、校正済みタイマー或いは国家標準時
 1239 報によって妥当性確認されることが望ましい。

1240 遠心分離機が試験手順の中で使用される場合、遠心力の重要性が評価されること
 1241 が望ましい。それが重要であれば、遠心分離機は、校正が要求される。

1242

1243 7. 試薬及び培地 (JIS Q 17025 4.6 及び 5.5)

1244

1245 7.1 試薬 (5.5.2 項)

1246 試験所は、用いる試薬の品質が試験に対して適切であることを確実にすることが望
 1247 ましい。試験結果を左右する試薬は、バッチごとに使用開始時と使用期限内におい
 1248 て、承認された国或いは国際的微生物株保存機関の保存株にトレーサブルな陽性及
 1249 び陰性対照微生物を用いて、その妥当性を確認することが望ましい。

1250

1251 7.2 試験所内調製培地

1252

1253 7.2.1 試験所内で調製した培地、希釈液及びその他の懸濁液の妥当性を、以下の事項に
 1254 関して確認することが望ましい。(5.5.2 項)

- 1255 ・ 対象とする微生物の回収率又は生育性
- 1256 ・ 非対象微生物の生育抑制性又は生育阻害性
- 1257 ・ 生化学的特性 (選択性及び特徴)
- 1258 ・ 物理学的特性 (pH、量、無菌性など)

1259

1260 回収率又は生育性の評価のための定量方法については、ISO 11133 パート 1 及
 1261 び 2 が優先される。(5.5.2 項)

1262

1263 7.2.2 原料（市販の乾燥製品及び個々の構成成分）は、冷蔵、乾燥及び遮光等の適切な
 1264 条件下で保存されることが望ましい。全ての容器、特に乾燥培地の容器はしっかりと密閉される
 1265 ことが望ましい。固まった、ひび割れた、又は変色した乾燥培地
 1266 は、使用されることは望ましくない。また、試験方法に指定がない限り、殺菌剤
 1267 や生育阻害・抑制物質の入っていない蒸留水、脱イオン或いは逆浸透（RO）水を
 1268 調製用を使用することが望ましい。（ 5.5.2 項）

1270 7.2.3 調製済培地の使用期限は、保存条件を規定し、妥当性を確認した上で設定する。
 1271 （ 5.5.2 項）

1273 7.3 既成培地

1275 7.3.1 調達した全ての市販の既成又は半既成培地（希釈液及び他の懸濁液についても）
 1276 は、使用前に妥当性確認が要求される。回収率における性能の評価又は対象微生物
 1277 の生育性及び非対象微生物の成育抑制性又は生育阻害性は、十分に定量的である
 1278 必要がある。また、属性（例えば、物理的及び生化学的特性）は、客観的な基
 1279 準により評価することが望ましい。（ 5.5.2 項）

1281 7.3.2 妥当性確認の一部として、ユーザーである試験所は、最低限、以下の情報を含ん
 1282 だ製造者の製品規格書を入手しておく必要がある。（ 5.5.2 項）

- 1283 ・ 培地の名称と添加成分を含む構成成分一覧
- 1284 ・ 使用期限と適用した承認基準
- 1285 ・ 保管条件
- 1286 ・ 培地の規格 / 純度
- 1287 ・ 滅菌性の確認
- 1288 ・ 陽性及び陰性対照の生育試験に使用した微生物（培地メーカーの使用して
 1289 いる標準微生物）及び容認基準
- 1290 ・ 物理的性状確認と適用した容認基準
- 1291 ・ 製品規格書の発行日

1293 7.3.3 培地のバッチは、識別可能とする。受領された各々の培地は、検査成績書が添付
 1294 されていることが望ましい。試験所のユーザーは、製品規格書に変更があった場
 1295 合には、製造者によって確実に通知されるように手段を講じておくことが望まし
 1296 い。（ 5.5.2 項）

1298 7.3.4 市販の既成品又は半既成培地を調達した培地の製造者が、ISO 9000 シリーズな
 1299 どの品質システムにより保証されている場合には、供給された培地が製品規格に
 1300 適合していることを試験所ユーザーが確認する際に、導入時の妥当性確認をその
 1301 まま有効であるとして適用しても良い。それ以外の場合では、受領した全てのバ
 1302 ッチで適切な確認が必要となる。

1304 7.4 ラベル貼付

1305 試験所は、すべての試薬（保存溶液を含む）、培地、希釈液及びその他の懸濁液
 1306 について、妥当性、識別、濃度、保存条件、調製日、妥当性確認された有効期限
 1307 及び / 又は推奨される保管期限等の表示のため、適切なラベルを貼付することを
 1308 確実にする。調製責任者が、記録から識別できることが望ましい。

1310 8. 標準物質及び標準培養株 (JIS Q 17025 5.3)

1311 8.1 標準物質 (5.6.3 項)

1312 標準物質及び認証標準物質（付属書 A における定義を参照）は、以下のような
 1313 目的で使用する場合、測定において基本的にトレーサビリティを与える。

- 1314 ・ 結果の精確さを実証するため、
- 1315 ・ 装置の校正のため、

- 1316 ・ 試験所の能力を監視するため、
 1317 ・ 試験方法の妥当性を確認するため、そして
 1318 ・ 試験方法の比較を行うため。
 1319 可能ならば、標準物質は、妥当なマトリックスで使用することが望ましい。
 1320
- 1321 8.2 標準培養株 (5.6.3 項)
- 1322
- 1323 8.2.1 標準培養株は、培地 (試験キットを含む) の受け入れ可能な性能を立証するため
 1324 や方法の妥当性を確認するため、そして進行中の試験技能を査定 / 評価するために
 1325 必要とされる。トレーサビリティは、例えば、試験キット及び方法の妥当性確認の
 1326 ため培地性能を立証する場合に必要である。トレーサビリティを証明するためには、
 1327 試験所は、現存する国家又は国際的に承認された所蔵品から直接得られる微生物の
 1328 標準系統株を用いなければならない。代替法として、使用間際にすべての関連特性
 1329 が同等であることを試験所によって示される場合には、市販のものを使用してもよ
 1330 い。(5.6.3 項)
 1331
- 1332 8.2.2 ISO 11133-1 における指針に従って、標準系統株は、標準保存株を準備するため
 1333 に、二次培養される。純度及び生化学的確認は、適切に並行して実施されることが
 1334 望ましい。冷凍か真空凍結乾燥のどちらかで標準保存株を保存することが推奨され
 1335 る。ルーチン使用される試験用培養株は標準保存株からの最初の二次培養株である
 1336 べきである (試験用保存株の調製については付属書 C を参照)。もし、標準保存株
 1337 が解凍された場合は、再凍結や再使用をしてはならない。(5.6.3 項)
 1338
- 1339 8.2.3 試験用保存株は、それが必要とされており、そして標準試験法によって或いは関
 1340 連特性に変化がないという証明書を提供できる試験所によって確認されるのでな
 1341 ければ、二次培養されるのは望ましくない。(5.6.3 項)
 1342 標準保存株の代わりに二次培養した試験用保存株を使用してはならない。標準系
 1343 統株の市販のものは試験用培養株としてのみ使用することができる。(5.6.3 項)
 1344
- 1345 9. サンプリング (JIS Q 17025 5.7)
- 1346 9.1 多くの場合、試験所は試験品を得るための一次サンプリングに対処できない。対
 1347 処できる試験所では、このサンプリングは品質保証及び理想的には認定によってカ
 1348 バーされることが強く推奨される。(5.7.1 項)
 1349
- 1350 9.2 輸送と保管は、試料の保全性を維持する条件下 (例えば、適切なチルド或いは冷
 1351 凍) で行われるべきである。条件は、監視され、記録が維持されることが望まし
 1352 い。サンプリングと試験所に到着するまでの間の輸送や保管のための適切な責任
 1353 の所在について、明確に文書化する。試料の試験は、サンプリングの後できるだ
 1354 け速やかに実施され、そして関連指針及び / 又は、国家又は国際法規に従うこと
 1355 が望ましい。(5.7.1 項)
 1356
- 1357 9.3 サンプリングは、訓練された要員によってのみ実施されることが望ましい。滅菌
 1358 した器具を使用し、無菌的に実施されることが望ましい。(5.7.1 項) 環境条件、
 1359 例えば空気汚染や温度は、サンプリング場所において、監視され記録されることが
 1360 望ましい。
 1361
- 1362 10. 試料の取り扱い及び識別 (JIS Q 17025 5.7 及び 5.8)
- 1363 10.1 微生物叢は、温度や保管及び輸送の継続時間のようなファクターに感受性がある
 1364 かもしれない。そこで、試験所による受領時での試料の状態を確認し、記録す
 1365 ることは重要である。
 1366 (5.8.1 項)

- 1367
1368 10.2 試料の由来が判り容易に識別できる手順を持つことが望ましい。もし、不十分
1369 な試料、又は物理的劣化、不適切な温度、破れたパッケージ或いは不完全なラベ
1370 リングによる不完全な条件にある試料が存在したならば、試験所は、試料を試験
1371 するか断るかを決定する前に、顧客と協議することが望ましい。どんな場合にお
1372 いても、試料の状態は、試験報告書に表示されることが望ましい。(5.8.1 項)
1373
- 1374 10.3 試験所は、すべての関係ある情報及び特に次の情報を記録することが望ましい。
1375 (5.8.1 項)
1376 a) 受領の日付、適切な場合、時間
1377 b) 受領時の試料の状態及び必要に応じて温度
1378 c) サンプルング操作の特記事項(サンプルング日、サンプルング条件等)
1379
- 1380 10.4 試験待機にある試料は、存在する微生物数の変化を最小限とするために適切な条
1381 件下で保存する。保存条件は、規定され記録されることが望ましい。(5.8.2 項)
1382
- 1383 10.5 一度使ったパッケージとラベルは、高度に汚染されるかもしれないので、汚染の
1384 拡大を避けるために、相応の注意で取扱い、保管がされることが望ましい。(
1385 5.8.2 項)
1386
- 1387 10.6 試験直前の試験所による二次サンプルングは、試験方法の一部と考えられる。
1388 実在するならば、国家又は国際的な指針によって、或いは妥当性確認された試験
1389 所内手順によって実施されることが望ましい。二次サンプルングの手順は、微生物
1390 物の一様でない分布を考慮して設計されることが望ましい。(ISO 6887 及び ISO
1391 7218 で与えられる一般的指針)(5.8.2 項)
1392
- 1393 10.7 試料の保存及び廃棄の手順は、文書化する。試料は、試験結果が得られるまで、
1394 或いはもし必要とされたならば、より長期間保管されることが望ましい。試験所
1395 の試料の一部が高度に汚染されていることが判っている場合には、廃棄する前に
1396 汚染除去されることが望ましい(11.1 項を参照)。(5.8.4 項)
1397
- 1398 11. 汚染した廃棄物の廃棄
- 1399 11.1 汚染した物質の正しい廃棄は、試料分析の精度に直接の悪影響もたらずことはな
1400 いであろうが、手順は試験環境や物質の汚染の可能性を最小限にするための設計
1401 を行うことが望ましい。しかしながら、それは GLP に関する問題であり、環境又
1402 は衛生及び安全のための国家又は国際法規(ISO 7218 参照)に従うことが望まし
1403 い。(5.8.4 項)
1404
- 1405 12. 結果の品質保証 / 性能の品質管理(JIS Q 17025 5.9 項)
- 1406 12.1 内部品質管理
- 1407 12.1.1 内部品質管理は、試験所業務の継続的な評価をするために、試験所が責任を負っ
1408 ているすべての手順より成り立っている。主要な目的は、日々の結果の堅実さや規
1409 定された基準に適合していることを保証することである。(5.9 項)
1410
- 1411 12.1.2 定期的な確認の計画は、変動性(分析者間、装置間、物質間等)が正常な管理下
1412 にあることを証明するために必要である。試験所の認定範囲に含まれるすべての
1413 試験は、証明される必要がある。計画には以下のことを含める。
1414 ・ 添加試料の使用
1415 ・ 標準物質の使用(技能試験計画物質を含む)
1416 ・ 反復試験
1417 ・ 試験結果の反復評価
1418 これらの確認の間隔は、計画の構成及び実施試験の回数によって左右される。

- 1419 可能な場合、試験は、実施能力を監視するための管理を組み入れることが推奨され
 1420 る。
 1421
- 1422 12.1.3 特殊な事例では、試験所は、まれにしか実施を求められない試験について認定さ
 1423 れるかもしれない。このような場合には、進めている定期的な内部品質管理計画
 1424 は不適切であろうし、試験に並行して実施される方が、十分な能力を立証するた
 1425 めの計画としてより適切であろうと認識される。
 1426
- 1427 12.2 外部評価（技能試験）
- 1428 12.2.1 試験所は、認定範囲に関連した技能試験へ定期的に参加し、技能試験計画のマ
 1429 トリックスから適切なものを選択することが望ましい。特別な場合には、参加が
 1430 必須になることがある。
 1431
- 1432 12.2.2 試験所は、単に試験所のかたよりを評価するだけでなく、品質システム全体の有
 1433 効性を確認するために外部評価を利用することが望ましい。
 1434
- 1435 13. 試験報告書（JIS Q 17025 5.10）
- 1436 13.1 もし、微生物数の測定の結果が陰性であった場合、「表示単位に対して、検出せ
 1437 ず」或いは「表示単位に対して、検出限界以下」として報告されることが望まし
 1438 い。結果は、一定の条件を付けずに、「表示単位に対して、0」として報告するこ
 1439 とは望ましくない。定性試験の結果は、「表示数量或いは容量に対して、検出又は
 1440 不検出」として報告することが望ましい。また、指定微生物数が測定方法の検出
 1441 限界より高く検出された場合には、顧客の同意のもとに「表示単位に対して、規
 1442 定された微生物数以下」として表現することがある。
 1443
- 1444 13.2 試験結果の不確かさの推定を、試験報告書に記載する場合には、制限（推定の中
 1445 に試料中の微生物の分布が関与した要因を含まない場合は特に）を、顧客に対し
 1446 て明確に示さなければならない。
 1447

1448

1449 付属書 A 用語の定義

Calibration 校正	計器又は測定システムによって指示される量の値、若しくは、実量器又は標準物質によって表される値と、標準によって実現される対応する値との間の関係を特定の条件下で確定する一連の作業。 注1. 校正の結果は、指示に対する測定量の値の指定、又は、指示に関する補正の決定を可能にする。 注2. 校正はまた影響量の効果のような他の計量特性を決定できる。 注3. 校正の結果は、校正証明書 (calibration certificate) 又は、校正成績書 (calibration report) と呼ばれる文書に記録することがある。 [VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology] ; ISO 国際計量基本用語集 1993
Certified reference material 認証標準物質	特性値の表現に用いられている単位の正確な現示へのトレーサビリティが確立され、かつ表記された信頼の水準での不確かさが各認証値に付されるという手続きによって、その一つ又は複数の特性値が認証された認証書付きの標準物質。 [ISO Guide 30 : 1992]
Limit of Determination 定量限界	定量的微生物試験に適用される、評価済み方法の試験条件の下で、規定された変動の範囲内で決定できる微生物の最小数のこと。
Limit of Detection 検出限界	定量的微生物試験に適用される、検出できる微生物の最小数のことであるが、その数は精確には算定できない。
Negative deviation 負の偏差	標準試験法では陽性結果を与えるのに、別の方法で確認はないが陰性結果を与える時に生じる。この偏差は、真の結果が陽性になることを証明できる時は、偽陰性の結果となる。
Positive deviation 正の偏差	標準試験法では陰性結果を与えるのに、別の方法で確認はないが陽性結果を与える時に生じる。この偏差は、真の結果が陰性になることが証明できる時は、偽陽性の結果となる。
Reference cultures 標準培養株	標準系統株、標準保存株及び試験用培養株に対する総称。
Reference strains 標準系統株	特性に従ってカタログに載せられ記述された、少なくとも属、種まで明らかにされた、なるべく起源が記述された微生物。 [ISO 11133-1:2000] 一般的には、国家或いは国際的に認められた所蔵品から得られる。
Reference material 標準物質	機器の校正、測定法の評価、又は物質の値付けに用いるために、単一又は複数の特性値が十分に均一で良く確定された物質又は材料。 [ISO Guide 30:1992]
Reference method	使用目的に相応した精確さと精度を持つことが示される一つ又は複数の特性値を測定するために、明確かつ正確に必要な条件と手

参照試験法	順を記述した、完全に研究された試験方法のこと。通常は、国家又は国際規格の試験法を指す。その結果、特に標準物質の値付けを可能とする。それゆえに、同じ測定に対する他の試験法の精確さを評価するために用いることができる。
Reference stocks 標準保存株	標準系統株から一回の二次培養により得られた分離同一性培養株。[ISO 11133-1:2000]
Relative trueness 相対真度	認められた標準試験法を用いて得られた結果と評価をする方法による 結果との一致の度合い。
Repeatability 繰返し性	同一測定条件の下で、同一の測定を繰返し測定したとき、ほとんど同様の指示を与える計器の能力。 [VIM:1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]
Reproducibility 再現性	測定の条件を変えて同一の測定を繰返し測定したとき、ほとんど同様の指示を与える計器の能力。 [VIM:1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]
Sensitivity 感度	推定検査において正しく値付けされた陽性である培養株又はコロニーの全数に対する比。[ISO 13843:2000]
Specificity 特異性	推定検査において正しく値付けされた陰性である培養株又はコロニーの全数に対する比。[ISO 13843:2000]
Working culture 試験用培養株	標準保存株からの最初の二次培養株のこと。[ISO 11133-1:2000]
Validation 妥当性確認	客観的証拠を提示することによって、特定の意図された用途又は適用に関する要求事項が満たされていることを確認すること。 [ISO 9000:2000]
Verification 検証	指定された要求を満たす客観的証拠を用意して確認すること。 [ISO 9000:2000]

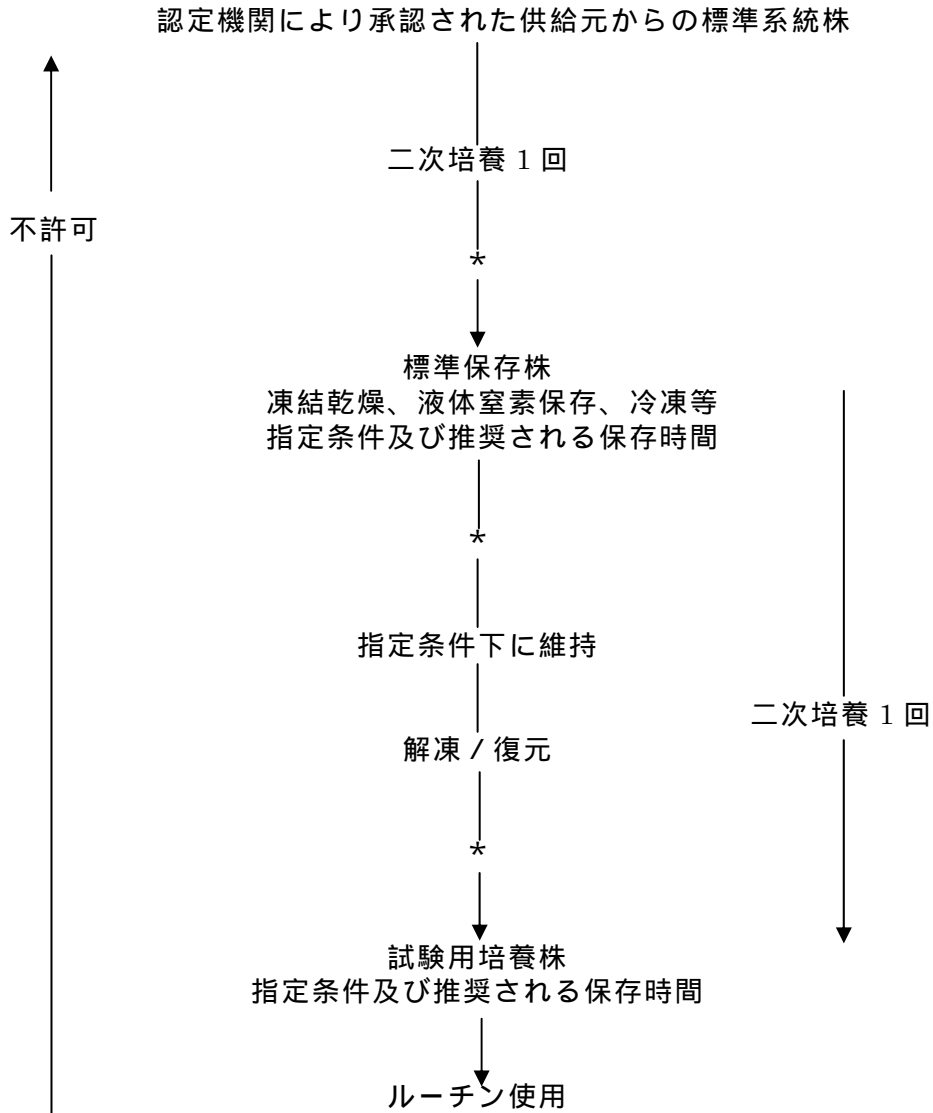
1450

1451

1452	
1453	付属書 B 参照文書
1454	
1455	1. ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration
1456	laboratories.
1457	
1458	2. ISO 7218, Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for
1459	microbiological examination.
1460	
1461	3. ISO 6887-1, Preparation of dilution.
1462	
1463	4. ISO Guide 30, Terms and definition used in connection with reference materials.
1464	
1465	5. ISO 9000, Quality management systems - fundamentals and vocabulary.
1466	
1467	6. VIM: 1993, ISO international vocabulary of basic and general terms in metrology.
1468	
1469	7. ISO(CIPM): 1995, Guide to the expression of uncertainty in measurements.
1470	
1471	8. Draft ISO/DIS 16140, Food microbiology. Protocol for the validation of alternative
1472	methods.
1473	
1474	9. ISO 13843, Water quality - Guidance on validation of microbiological methods.
1475	
1476	10. ISO 11133-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on
1477	preparation and production of culture media. Part 1-General guidelines on quality
1478	assurance for the preparation of media in laboratory.
1479	
1480	11. Draft ISO/FDIS 11133-2, Microbiology of food and animal feeding stuffs.
1481	Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2-Practical
1482	guidelines on performance testing on culture media.
1483	
1484	12. EN 12741, Biotechnology- Laboratories for research, development and analysis
1485	-Guidance for biotechnology laboratory operations.
1486	

1487
1488 付属書 C 標準培養株の一般的な使用

1489
1490
1491
1492
1493
1494
1495
1496
1497
1498
1499
1500
1501
1502
1503
1504
1505
1506
1507
1508
1509
1510
1511
1512
1513
1514
1515
1516
1517
1518
1519
1520
1521
1522
1523
1524
1525
1526
1527
1528
1529
1530
1531
1532
1533



* 適切な場合、並行純度確認及び固有の生化学的試験

工程のすべての部分が文書化され、すべての段階の記録が維持されなければならない。

1534
1535
1536
1537
1538
1539

付属書 D 校正及び校正のチェックに関する指針

この情報は、指針の目的のために準備され、そして校正及びチェックの頻度は、その設備の要求や種類及び以前の性能に基づいている。

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
参照温度計 (ガラス液体温度計)	トレーサブルの条件を満たした再校正	5年毎
	一点(例、氷点での確認)	1年毎
参照用熱電対	トレーサブルの条件を満たした再校正	3年毎
	参照温度計に対するチェック	1年毎
実用温度計及び 実用熱電対	氷点温度及び/又は試験実施温度範囲 における参照温度計を用いたチェック	1年毎
天秤	トレーサブルの条件を満たした校正	1年毎
校正された分銅	トレーサブルの条件を満たした校正	5年毎
確認用分銅	校正された分銅を用いたチェック又は トレーサブルな校正をされた後の秤量 材を用いたチェック	1年毎
容量ガラス器具	要求される許容限度に対する重量測定 による校正	1年毎
顕微鏡	ステージマイクロメーターのトレーサ ブルな校正(適切な場合)	据付時
湿度計	トレーサブルな校正	1年毎
遠心分離機	トレーサブルな校正又は適切な場合、 独立した回転計を用いたチェック	1年毎

1540
1541
1542

1543
1544
1545
1546
1547
1548

付属書 E 設備の妥当性確認及び性能の検証に関する指針

この情報は、指針の目的のために準備され、そして設備の妥当性確認及び性能の検証の頻度は、その設備の要求や種類及び以前の性能に基づいている。

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
温度制御された装置 (インキュベータ、 ウォーターバス、 冷蔵庫、冷凍庫)	(a) 温度の安定性及び均一性の立証	(a) 据付時、2年毎及び 修理又は改善後
	(b) 温度の監視	(b) 日毎又は使用毎
滅菌器	(a) 温度の安定性及び均一性の立証	(a) 据付時、2年毎及び 修理又は改善後
	(b) 温度の監視	(b) 使用毎
オートクレーブ	(a) 稼働 / 周期の特性を立証	(a) 据付時、2年毎及び 修理又は改善後
	(b) 温度及び時間の監視	(b) 使用毎
安全キャビネット	(a) 性能の立証	(a) 据付時、1年毎及び 修理又は改善後
	(b) 微生物学的監視	(b) 週毎
	(c) 空気流の監視	(c) 使用毎
ラミナーエアフロー キャビネット	(a) 性能の立証	(a) 据付時、及び修理 又は改善後
	(b) 滅菌プレートでチェック	(b) 週毎
タイマー	国家標準時報に対してチェック	1年毎
顕微鏡	光軸調整のチェック	日毎又は使用毎
pHメーター	適切な品質の少なくとも2種の緩衝液 を用いて調整	日毎又は使用毎
天秤	ゼロ点確認及び確認用分銅による読み の チェック	日毎又は使用毎
脱イオン装置及び 逆浸透装置	(a) 導電率のチェック	(a) 週毎
	(b) 微生物汚染のチェック	(b) 月毎
重量測定式希釈装置	(a) 分注量の重量チェック	(a) 日毎
	(b) 希釈率のチェック	(b) 日毎
培地分注器	分注量のチェック	調整又は交換時
ピペッター又は ピペット	分注量の精確さと精度チェック	定期的 (通常使用され る頻度及び使われ方を 考慮して規定される)
スパイラルプレーター	(a) 通常の方法に対する性能の立証	(a) 据付時及び1年毎
	(b) 開始時、終了時の注入針のチェック	(b) 日毎又は使用毎
	(c) 分注量のチェック	(c) 月毎

コロニーカウンター	人手で計数した数に対するチェック	1年毎
遠心分離機	校正された独立した回転計による回転速度のチェック	1年毎
嫌気培養器又は インキュベータ	嫌気インジケーターによるチェック	使用毎
試験所環境	例えば、エアーサンプラー、固定培地、 接触培地又は拭き取り綿を用いて空気 及び表面の微生物汚染の監視	週毎

1549
1550

1551
 1552 付属書 F 設備の保全に関する指針

1553
 1554 この情報は、指針の目的のために準備され、そして設備の保全の頻度は、その設備の要
 1555 求や種類及び以前の性能に基づいている。
 1556

設備の種類	要求事項	示唆される頻度
(a) インキュベータ	清潔及び内部表面の消毒	(a) 月毎
(b) 冷蔵庫		(b) 必要に応じて (例：3ヶ月毎)
(c) 冷凍庫、乾燥器		(c) 必要に応じて (例：1年毎)
ウォーターバス	空、清潔、消毒及び再補充	毎月、又は殺菌剤が使用された場合6ヶ月毎
遠心分離機	(a) 専門業者による保全	(a) 1年毎
	(b) 清潔及び消毒	(b) 使用毎
オートクレーブ	(a) ガスケットの目視チェック、チャンパーの清潔/排水のチェック	(a) 製造者推奨の定期
	(b) 専門業者による全面的保全	(b) 1年毎又は 製造者の推奨に従う
	(c) 圧力容器の安全チェック	(c) 1年毎
安全キャビネット ラミナーフローキャビネット	専門業者による全面的保全及び機械的な部分のチェック	1年毎又は製造者推奨に従う
顕微鏡	専門業者による全面的保全	1年毎
pHメーター	電極の掃除	使用毎
天秤、重量測定式希釈装置	(a) 清潔	(a) 使用毎
	(b) 専門業者による保全	(b) 1年毎
蒸留装置	清潔及びスケール除去	必要に応じて (例、3ヶ月毎)
脱イオン装置、逆浸透装置	カートリッジ又は膜の交換	製造者の推奨に従う
嫌気培養器	清潔又は消毒	使用後
培地分注器、容量器具、ピペット、一般試験器具	適宜の汚染除去、清潔及び滅菌	使用毎
スパイラルプレーター	(a) 専門業者による保全	(a) 1年毎
	(b) 汚染除去、清潔及び滅菌	(b) 使用毎
試験所	(a) 作業面の清潔及び消毒	(a) 日毎及び使用中
	(b) 床の清潔、流し台及び洗い桶の消毒	(b) 週毎
	(c) 清潔及びその他表面の消毒	(c) 3ヶ月毎

1557
1558
1559
1560
1561
1562

JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書

EA - 4/10 . Accreditation in Microbiological Laboratories

1563 *Publication*

1564 *Reference*

EA-4/10

1565

1566

Accreditation

1567

for Microbiological

1568

Laboratories

1569

1570

1571

1572

1573

1574

1575

1576

1577

1578

1579

1580

1581

1582

1583

1584 ***PURPOSE***

1585 This document has been produced by a joint EA/EURACHEM Working
1586 Group. It supplements ISO/IEC 17025 and provides specific guidance on
1587 the accreditation of laboratories performing microbiological testing, for
1588 both assessors and laboratories preparing for accreditation. ISO/IEC
1589 17025 remains the authoritative documents and, in case of dispute, the
1590 individual accreditation bodies will adjudicate on unresolved matters. The
1591 guidance given in this document may be also of use to those working
1592 towards certification to the ISO 9000 series of standards.

1593
1594
1595
1596
1597
1598
1599
1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607
1608
1609
1610
1611
1612
1613
1614
1615
1616
1617
1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628

EA - 4/10 . Accreditation in Microbiological Laboratories

Authorship

The publication has been prepared by the working group food of the EA Laboratory Committee in collaboration with Eurachem.

Official language

The text may be translated into other languages as required. The English language version remains the definitive version.

Copyright

The copyright of this text is held by EA. The text may not be copied for resale.

Further information

For further information about this publication, contact your national member of EA or the Chairman of the EA Laboratory Committee, M. Hans Peter Ischi:
hanspeter.ischi@metas.ch or the convenor of the EA working group food, Mrs Elisa Gredilla egredilla@enac.es.

Please check our website for up-to-date information

<http://www.europeanaccreditation.org/>

Date of endorsement : June 2002

Date of implementation : June 2002

Transitional period : -----

1629
1630
1631
1632
1633
1634
1635
1636
1637
1638
1639
1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652
1653
1654
1655
1656
1657
1658
1659
1660
1661
1662
1663
1664
1665
1666
1667
1668
1669
1670
1671

EA - 4/10 . Accreditation in Microbiological Laboratories

(目次)

1 Introduction and scope of document	48
2 Personnel	48
3 Environment	48
3.1 Premises	48
3.2 Environmental monitoring	51
3.3 Hygiene.....	51
4 Validation of test methods	51
5 Uncertainty of measurement	52
6 Equipment - maintenance, calibration and performance verification.....	53
6.1 Maintenance	エラー! ブックマークが定義されていません。
6.2 Calibration and performance verification.....	エラー! ブックマークが定義されていません。
7 Reagents and culture media	エラー! ブックマークが定義されていません。
7.1 Reagents	エラー! ブックマークが定義されていません。
7.2 In - house prepared media	エラー! ブックマークが定義されていません。
7.3 Ready - to - use - media	エラー! ブックマークが定義されていません。
7.4 Labelling.....	エラー! ブックマークが定義されていません。 57
8 Reference materials and reference cultures	エラー! ブックマークが定義されていません。 57
8.1 Reference materials	エラー! ブックマークが定義されていません。 58
8.2 Reference cultures	エラー! ブックマークが定義されていません。 58
9 Sampling	58
10 Sample handling and identification	58
11 Disposal of contaminated waste	エラー! ブックマークが定義されていません。 59
12 Quality assurance of results/quality control of performance	エラー! ブックマークが定義されていません。 59
12.1 Internal quality control	59
12.2 External quality assessment (proficiency testing).....	エラー! ブックマークが定義されていません。
13 Test reports	エラー! ブックマークが定義されていません。
Appendix A Glossary of Terms	エラー! ブックマークが定義されていません。
Appendix B References	エラー! ブックマークが定義されていません。
Appendix C General use of reference cultures.....	エラー! ブックマークが定義されていません。
Appendix D Guidance of calibration and calibration checks.....	エラー! ブックマークが定義されていません。
Appendix E Guidance on equipment validation and verification of Performance.....	エラー! ブックマークが定義されていません。
Appendix F Guidance on maintenance of equipment.....	エラー! ブックマークが定義されていません。 63

1673
 1674
 1675
 1676
 1677
 1678
 1679
 1680
 1681
 1682
 1683
 1684
 1685
 1686
 1687
 1688
 1689
 1690
 1691
 1692
 1693
 1694
 1695
 1696
 1697
 1698
 1699
 1700
 1701
 1702
 1703
 1704
 1705
 1706
 1707
 1708
 1709
 1710
 1711
 1712
 1713
 1714
 1715
 1716

EA - 4/10 . Accreditation in Microbiological Laboratories

- 1 Introduction and scope of document
- 1.1 The general requirements for accreditation are laid down in the International Standard *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories* (ISO/IEC 17025 1st Ed., 1999), hereafter referred to as ISO 17025. All of these requirements must be met by laboratories seeking accreditation.
- 1.2 This document supplements ISO 17025 by providing specific guidance for both assessors and for laboratories carrying out microbiological testing. It gives detailed guidance on the interpretation of ISO 17025 for those undertaking the examination of materials, products and substances. The guidance is applicable to the performance of all objective measurements, whether routine, non-routine, or as part of research and development. Although it is written primarily for food and environmental microbiological testing, the general principles may be applied to other areas. ISO 17025 remains the authoritative document and, in cases of dispute, accreditation bodies will adjudicate on unresolved matters. The guidance given in this document may also be of use to those working towards registration under other quality standards such as GLP, GMP, GCP.
- 1.3 This document can be considered as the “Application Document” for microbiological testing as set out in Annex B of ISO 17025. This document has been produced jointly by EURACHEM and EA as a means of promoting a consistent approach to laboratory accreditation amongst EA member bodies, particularly those participating in the EA Multilateral Agreement.
- 1.4 Microbiological testing is taken to include sterility testing, detection, isolation, enumeration and identification of micro-organisms (viruses, bacteria, fungi and protozoa) and their metabolites in different materials and products, or any kind of assay using micro-organisms as part of a detection system as well as the use of micro-organisms for ecological testing. It follows that some of the guidance in this document, e.g. on laboratory environment, will need to be interpreted accordingly. This document can also provide guidance to laboratories using techniques in areas related to microbiology, such as biochemistry, molecular biology and cell culture, although there may be additional requirements for such laboratories.
- 1.5 This document is concerned with the quality of test results and is not specifically concerned with health and safety matters. However, laboratory practices should conform to national health and safety regulations. It is important to note that in some cases health and safety issues may have an effect on quality of testing and the laboratory will be required to take this into account.
- 1.6 Definitions of the terms used are given in Appendix A.

2 Personnel
ISO 17025, paragraph 5.2

1717 **2.1** Microbiological testing should be either performed or supervised by an experienced
 1718 person, qualified to degree level in microbiology or equivalent. Alternative
 1719 qualifications may meet requirements where staff have extensive relevant
 1720 experience relating to the laboratory's scope of accreditation. Staff should have
 1721 relevant practical work experience before being allowed to perform work covered by
 1722 the scope of accreditation without supervision or before being considered as
 1723 experienced for supervision of accredited work. Specific national regulations may
 1724 override the guidance given in this document.

1725 **2.2** If the laboratory includes opinions and interpretations of test results in reports,
 1726 this shall be done by authorised personnel with suitable experience and relevant
 1727 knowledge of the specific application, including, for example, legislative and
 1728 technological requirements and acceptability criteria.

1729 **2.3** The laboratory management shall ensure that all personnel have received adequate
 1730 training for the competent performance of tests and operation of equipment. This
 1731 should include training in basic techniques, e.g. plate pouring, counting of colonies,
 1732 aseptic technique, etc., with acceptability determined using objective criteria.
 1733 Personnel may only perform tests on samples if they are either recognised as
 1734 competent to do so, or if they do so under adequate supervision. On-going
 1735 competence should be monitored objectively with provision for retraining where
 1736 necessary. Where a method or technique is not in regular use, verification of
 1737 personnel performance before testing is undertaken may be necessary. The critical
 1738 interval between performance of tests should be established and documented. The
 1739 interpretation of test results for identification and verification of micro-organisms
 1740 is strongly connected to the experience of the performing analyst and should be
 1741 monitored for each analyst on a regular basis.

1742 **2.4** In some cases, it may be more appropriate to relate competence to a particular
 1743 technique or instrument rather than to methods.
 1744

1745 **3 Environment**

1746 **ISO 17025, paragraph 5.2**

1747 **3.1 Premises**

1748 **3.1.1** The typical laboratory is comprised of the testing facilities (where specific
 1749 microbiological testing and associated activities are carried out) and ancillary
 1750 facilities (entrances, corridors, administration blocks, cloak rooms and toilets,
 1751 storage rooms, archives, etc). In general there are specific environmental
 1752 requirements for the testing facilities. Depending on the type of testing being
 1753 carried out, access to the microbiological laboratory should be restricted to
 1754 authorised personnel. Where such restrictions are in force, personnel should be
 1755 made aware of:

- 1756 (a) the intended use of a particular area;
- 1757 (b) the restrictions imposed on working within such areas;
- 1758 (c) the reasons for imposing such restrictions;
- 1759 (d) the appropriate containment levels.

1760 **3.1.2** The laboratory should be arranged so as to minimise risks of crosscontamination,

1761 where these are significant to the type of test being performed. The ways to
 1762 achieve these objective are, for example:
 1763 (a) to construct the laboratory to the 'no way back' layout principle;
 1764 (b) to carry out procedures in a sequential manner using appropriate precautions
 1765 to ensure test and sample integrity (e.g. use of sealed containers);
 1766 (c) to segregate activities by time or space.

1767 **3.1.3** It is generally considered as good practice to have separate locations, or clearly
 1768 designated areas, for the following:

- 1769 • sample receipt and storage areas;
- 1770 • sample preparation (e.g. a segregated location should be used for the
 1771 preparation of powdery products likely to be highly contaminated);
- 1772 • examination of samples, including incubation;
- 1773 • maintenance of reference organisms;
- 1774 • media and equipment preparation, including sterilisation;
- 1775 • sterility assessment;
- 1776 • decontamination.

1777 The area for washing (after decontamination) may be shared with other parts of
 1778 the laboratory providing that the necessary precautions are taken to prevent
 1779 transfer of traces of substances which could adversely affect microbial growth.
 1780 The need for physical separation should be judged on the basis of the activities
 1781 specific to the laboratory (eg number and type of tests carried out).

1782 Laboratory equipment should not routinely be moved between areas to avoid
 1783 accidental cross-contamination. In the molecular biology laboratory, dedicated
 1784 pipettes, tips, centrifuges, tubes, etc. should be located in each work area
 1785 (low-medium-high DNA working environments).

1786 **3.1.4** Space should be sufficient to allow work areas to be kept clean and tidy.

1787 The space required should be commensurate with the volume of analyses handled
 1788 and the overall internal organisation of the laboratory. The space should be as
 1789 required according to the national regulations when available.

1790 **3.1.5** Workrooms should be appropriately ventilated and at a suitable temperature.

1791 This may be done by natural or forced ventilation, or by the use of an air
 1792 conditioner. Where air conditioners are used, filters should be appropriate,
 1793 inspected, maintained and replaced according to the type of work being carried
 1794 out.

1795 **3.1.6** Reduction of contamination may be achieved by having:

- 1796 • smooth surfaces on walls, ceilings, floors and benches (the smoothness of a
 1797 surface is judged on how easily it may be cleaned).
- 1798 Tiles are not recommended as bench covering material;
- 1799 • concave joints between the floor, walls and ceiling;
- 1800 • minimal opening of windows and doors while tests are being carried out;
- 1801 • sun shades placed on the outside;
- 1802 • easy access for cleaning of internal sun shades if it is impossible to fit them
 1803 outside;
- 1804 • fluid conveying pipes not passing above work surfaces unless placed in

- 1805 hermetically sealed casings;
- 1806 • a dust-filtered air inlet for the ventilation system;
- 1807 • separate hand-washing arrangements, preferably non-manually controlled;
- 1808 • cupboards up to the ceiling;
- 1809 • no rough and bare wood;
- 1810 • wooden surfaces of fixtures and fittings adequately sealed;
- 1811 • stored items and equipment arranged to facilitate easy cleaning;
- 1812 • no furniture, documents or other items other than those strictly necessary for
- 1813 testing activities.

1814 This list is not exhaustive, and not all examples will apply in every situation.
 1815 Ceilings, ideally, should have a smooth surface with flush lighting. When this is
 1816 not possible (as with suspended ceilings and hanging lights), the laboratory
 1817 should have documented evidence that they control any resulting risks to hygiene
 1818 and have effective means of overcoming them, e.g. a surface-cleaning and
 1819 inspection programme.

1820 **3.1.7** Where laboratories are on manufacturing premises, personnel must be aware of
 1821 the potential for contamination of production areas, and should demonstrate that
 1822 they have taken appropriate measures to avoid any such occurrence.

1824 **3.2 Environmental monitoring**

1825 **3.2.1** An appropriate environmental monitoring programme should be devised,
 1826 including, for example, use of air settlement plates and surface swabbing.
 1827 Acceptable background counts should be assigned and there should be a
 1828 documented procedure for dealing with situations in which these limits are
 1829 exceeded. Analysis of data should enable trends in levels of contamination to be
 1830 determined.

1832 **3.3 Hygiene**

1833 **3.3.1** There should be a documented cleaning programme for laboratory fixtures,
 1834 equipment and surfaces. It should take into account the results of environmental
 1835 monitoring and the possibility of cross-contamination. There should be a
 1836 procedure for dealing with spillages.

1837 **3.3.2** Measures should be taken to avoid accumulation of dust, by the provision of
 1838 sufficient storage space, by having minimal paperwork in the laboratory and by
 1839 prohibiting plants and personal possessions from the laboratory work area.

1840 **3.3.3** Clothing appropriate to the type of testing being performed (including, if
 1841 necessary, protection for hair, beard, hands, shoes, etc) should be worn in the
 1842 microbiological laboratory and removed before leaving the area. This is
 1843 particularly important in the molecular biology laboratory, where for example,
 1844 movement from an area of high DNA load to one of low DNA load may unwittingly
 1845 introduce cross-contamination. In many laboratories a laboratory coat may
 1846 suffice.

1847 **3.3.4** Adequate hand washing facilities should be available.
 1848

1849 **4 Validation of test methods**

1850 **4.1** The validation of microbiological test methods should reflect actual test conditions.

1851 This may be achieved by using naturally contaminated products or products spiked
 1852 with a predetermined level of contaminating organisms. The analyst should be
 1853 aware that the addition of contaminating organisms to a matrix only mimics in a
 1854 superficial way the presence of the naturally occurring contaminants. However, it is
 1855 often the best and only solution available. The extent of validation necessary will
 1856 depend on the method and the application. The laboratory shall validate standard
 1857 methods applied to matrices not specified in the standard procedure.

1858 **4.2** Qualitative microbiological test methods, such as where the result is expressed in
 1859 terms of detected / not detected and confirmation and identification procedures,
 1860 should be validated by determining, if appropriate, the specificity, relative trueness,
 1861 positive deviation, negative deviation, limit of detection, matrix effect,
 1862 repeatability and reproducibility (see Appendix A for definitions).

1863 **4.3** For quantitative microbiological test methods, the specificity, sensitivity, relative
 1864 trueness, positive deviation, negative deviation, repeatability, reproducibility and
 1865 the limit of determination within a defined variability should be considered and, if
 1866 necessary, quantitatively determined in assays. The differences due to the matrices
 1867 must be taken into account when testing different types of samples. The results
 1868 should be evaluated with appropriate statistical methods.

1869 **4.4** Laboratories shall retain validation data on commercial test systems (kits) used in
 1870 the laboratory. These validation data may be obtained through collaborative testing
 1871 and from validation data submitted by the manufacturers and subjected to third
 1872 party evaluation (e.g. AOAC). If the validation data are not available or not wholly
 1873 applicable, the laboratory shall be responsible for completing the validation of the
 1874 method.

1875 **4.5** If a modified version of a method is required to meet the same specification as the
 1876 original method, then comparisons should be carried out using replicates to ensure
 1877 that this is the case. Experimental design and analysis of results must be
 1878 statistically valid.

1879 **4.6** Even when validation is complete, the user will still need to verify on a regular
 1880 basis that the documented performance can be met, e.g. by the use of spiked
 1881 samples or reference materials incorporating relevant matrices.

1882
 1883 **5 Uncertainty of measurement**

1884 **5.1** The international definition for uncertainty of measurement is given in ISO
 1885 International vocabulary of basic and general terms in metrology: 1993 (see
 1886 Appendix B). The general approach to evaluating and expressing uncertainty in
 1887 testing expected by European accreditation bodies is one based on the
 1888 recommendations produced by the International Committee for Weights and
 1889 Measures (CIPM), as described in the *Guide to the Expression of uncertainty in*
 1890 *Measurement*, 1995, ISO Geneva.

1891 **5.2** Microbiological tests generally come into the category of those that preclude the
 1892 rigorous, metrologically and statistically valid calculation of uncertainty of

1893 measurement. It is generally appropriate to base the estimate of uncertainty on
 1894 repeatability and reproducibility data alone, but ideally including bias (e.g. from
 1895 proficiency testing scheme results). The individual components of uncertainty
 1896 should be identified and demonstrated to be under control and their contribution to
 1897 the variability of results evaluated. Some components (e.g. pipetting, weighing and
 1898 dilution effects) may be readily measured and easily evaluated to demonstrate a
 1899 negligible contribution to overall uncertainty. Other components (e.g. sample
 1900 stability and sample preparation) cannot be measured directly and their
 1901 contribution cannot be evaluated in a statistical manner but their importance to
 1902 the variability of results should be considered also.

1903 **5.3** It is expected that accredited microbiological testing laboratories will have an
 1904 understanding of the distributions of organisms within the matrices they test and
 1905 take this into account when sub-sampling. However, it is not recommended that
 1906 this component of uncertainty is included in estimates unless the client's needs
 1907 dictate otherwise. The principal reasons for this are that uncertainty due to
 1908 distribution of organisms within the product matrix is not a function of the
 1909 laboratory's performance and may be unique to individual samples tested and
 1910 because test methods should specify the sample size to be used taking into account
 1911 poor homogeneity.

1912 **5.4** The concept of uncertainty cannot be applied directly to qualitative test results
 1913 such as those from detection tests or the determination of attributes for
 1914 identification. Nevertheless, individual sources of variability, e.g. consistency of
 1915 reagent performance and analyst interpretation, should be identified and
 1916 demonstrated to be under control. Additionally, for tests where the limit of
 1917 detection is an important indication of suitability, the uncertainty associated with
 1918 the inocula used to determine the limit should be estimated and its significance
 1919 evaluated. Laboratories should also be aware of the incidence of false positive and
 1920 false negative results associated with the qualitative tests they use.

1921

1922 **6 Equipment - maintenance, calibration and performance verification**

1923 **ISO 17025, paragraph 5.5**

1924 As part of its quality system, a laboratory is required to operate a documented
 1925 programme for the maintenance, calibration and performance verification of its
 1926 equipment.

1927 **6.1 Maintenance**

1928 (Guidance on maintenance of equipment can be found in ISO 7218.)

1929 **6.1.1** Maintenance of essential equipment shall be carried out at specified intervals as
 1930 determined by factors such as the rate of use. Detailed records shall be kept.

1931 Examples of maintenance of equipment and intervals are given in Appendix F.

1932 **6.1.2** Attention should be paid to the avoidance of cross-contamination arising from
 1933 equipment, e.g.:

- 1934 • disposable equipment should be clean and sterile when appropriate;
- 1935 • re-used glassware should be properly cleaned and sterilised when appropriate;
- 1936 • ideally, laboratories should have a separate autoclave for decontamination.

1937 However, one autoclave is acceptable provided that adequate precautions are
 1938 taken to separate decontamination and sterilisation loads, and a documented
 1939 cleaning programme is in place to address both the internal and external
 1940 environment of the
 1941 autoclave.

1942 **6.1.3** Typically, the following items of equipment will be maintained by cleaning and
 1943 servicing, inspecting for damage, general verification and, where relevant,
 1944 sterilising:

- 1945 • general service equipment - filtration apparatus, glass or plastic containers
 1946 (bottles, test tubes), glass or plastic Petri dishes, sampling instruments, wires
 1947 or loops of platinum, nickel/chromium or disposable plastic;
- 1948 • water baths, incubators, microbiological cabinets, autoclaves, homogenisers,
 1949 fridges, freezers;
- 1950 • volumetric equipment - pipettes, automatic dispensers, spiral platers;
- 1951 • measuring instruments - thermometers, timers, balances, pH meters, colony
 1952 counters.

1953

1954 **6.2 Calibration and performance verification**

1955 **6.2.1** The laboratory must establish a programme for the calibration and performance
 1956 verification of equipment which has a direct influence on the test results. The
 1957 frequency of such calibration and performance verification will be determined by
 1958 documented experience and will be based on need, type and previous performance
 1959 of the equipment. Intervals between calibration and verification shall be shorter
 1960 than the time the equipment has been found to take to drift outside acceptable
 1961 limits. Examples of calibration intervals and typical performance checks for
 1962 various laboratory instruments are given in Appendix D and Appendix E.

1963 **6.2.2 Temperature measurement devices**

1964 (a) Where temperature has a direct effect on the result of an analysis or is critical
 1965 for the correct performance of equipment, temperature measuring devices, e.g.
 1966 liquid-in-glass thermometers, thermocouples and platinum resistance
 1967 thermometers (PRTs) used in incubators and autoclaves, shall be of an
 1968 appropriate quality to achieve the accuracy required.

1969 (b) Calibration of devices shall be traceable to national or international
 1970 standards for temperature. Where the accuracy permits, devices that can be
 1971 demonstrated to conform to an appropriate and nationally or internationally
 1972 accepted manufacturing specification may be used (e.g. ISO 1770 for
 1973 liquid-in-glass thermometers). Such devices may, for example, be used for
 1974 monitoring storage fridges and freezers and also incubators and water baths
 1975 where acceptable tolerance around the target temperature permits.

1976 Verification of the performance of such devices is necessary.

1977 **6.2.3 Incubators, water baths, ovens**

1978 The stability of temperature, uniformity of temperature distribution and time
 1979 required to achieve equilibrium conditions in incubators, water baths, ovens and
 1980 temperature-controlled rooms shall be established initially and documented, in

1981 particular with respect to typical uses (for example position, space between, and
 1982 height of, stacks of Petri dishes). The constancy of the characteristics recorded
 1983 during initial validation of the equipment shall be checked and recorded after
 1984 each significant repair or modification.Laboratories shall monitor the operating
 1985 temperature of this type of equipment and retain records.

1986 **6.2.4 Autoclaves, including media preparators**

1987 The following outlines the generally expected approach to calibration and the
 1988 establishment and monitoring of performance. However, it is recognised that
 1989 quantitative testing of materials and items processed by autoclaving, able to
 1990 comment suitably on variation within and between batches may also provide
 1991 equivalent assurance of quality.

- 1992 (a) Autoclaves should be capable of meeting specified time and temperature
 1993 tolerances. Pressure cookers fitted only with a pressure gauge are not
 1994 acceptable. Sensors used for controlling or monitoring operating cycles
 1995 require calibration and the performance of timers verified.
- 1996 (b) Initial validation should include performance studies (spatial temperature
 1997 distribution surveys) for each operating cycle and each load configuration
 1998 used in practice. This process must be repeated after significant repair or
 1999 modification (e.g. replacement of thermo-regulator probe or programmer,
 2000 loading arrangements, operating cycle) or where indicated by the results of
 2001 quality control checks on media. Sufficient temperature sensors should be
 2002 positioned within the load (e.g. in containers filled with liquid/medium) to
 2003 enable location differences to be demonstrated. In the case of media
 2004 preparators, where uniform heating cannot be demonstrated by other means,
 2005 the use of two sensors, one adjacent to the control probe and one remote from
 2006 it, would generally be considered appropriate. Validation and re-validation
 2007 should consider the suitability of come-up and come-down times as well as
 2008 time at sterilisation temperature.
- 2009 (c) Clear operating instructions should be provided based on the heating profiles
 2010 determined for typical uses during validation/re-validation.
 2011 Acceptance/rejection criteria should be established and records of autoclave
 2012 operations, including temperature and time, maintained for every cycle.
- 2013 (d) Monitoring may be achieved by one of the following:
 2014 (i) using a thermocouple and recorder to produce a chart or printout;
 2015 (ii) direct observation and recording of maximum temperature achieved and
 2016 time at that temperature.

2017 In addition to directly monitoring the temperature of an autoclave, the
 2018 effectiveness of its operation during each cycle may be checked by the use of
 2019 chemical or biological indicators for sterilisation/decontamination purposes.
 2020 Autoclave tape or indicator strips should be used only to show that a load has
 2021 been processed, not to demonstrate completion of an acceptable cycle.

2022 **6.2.5 Weights and balances**

2023 Weights and balances shall be calibrated traceably at regular intervals
 2024 (according to their intended use).

2025 **6.2.6 Volumetric equipment**

- 2026 (a) Volumetric equipment such as automatic dispensers, dispenser/diluters,
 2027 mechanical hand pipettes and disposable pipettes may all be used in the
 2028 microbiology laboratory. Laboratories should carry out initial verification of
 2029 volumetric equipment and then make regular checks to ensure that the
 2030 equipment is performing within the required specification. Verification
 2031 should not be necessary for glassware which has been certified to a specific
 2032 tolerance. Equipment should be checked for the accuracy of the delivered
 2033 volume against the set volume (for several different settings in the case of
 2034 variable volume instruments) and the precision of the repeat deliveries
 2035 should be measured.
- 2036 (b) For 'single-use' disposable volumetric equipment, laboratories should
 2037 obtain supplies from companies with a recognised and relevant quality
 2038 system. After initial validation of the suitability of the equipment, it is
 2039 recommended that random checks on accuracy are carried out. If the supplier
 2040 has not a recognised quality system, laboratories should check each batch of
 2041 equipment for suitability.

2042 **6.2.7 Other equipment**

2043 Conductivity meters, oxygen meters, pH meters and other similar instruments
 2044 should be verified regularly or before each use. The buffers used for verifications
 2045 purposes should be stored in appropriate conditions and should be marked with
 2046 an expiry date. Where humidity is important to the outcome of the test,
 2047 hygrometers should be calibrated, the calibration being traceable to national or
 2048 international standards. Timers, including the autoclave timer, should be
 2049 verified using a calibrated timer or national time signal. Where centrifuges are
 2050 used in test procedures, an assessment should be made of the criticality of the
 2051 centrifugal force. Where it is critical, the centrifuge will require calibration.
 2052

2053 **7 Reagents and culture media**

2054 **ISO 17025, paragraph 4.6 and 5.5**

2055 **7.1 Reagents**

2056 Laboratories should ensure that the quality of reagents used is appropriate for
 2057 the test concerned. They should verify the suitability of each batch of reagents
 2058 critical for the test, initially and during its shelf life, using positive and negative
 2059 control organisms which are traceable to recognised national or international
 2060 culture collections.
 2061

2062 **7.2 In – house prepared media**

2063 **7.2.1** The suitable performance of culture media, diluents and other suspension fluids
 2064 prepared in-house should be checked, where relevant, with regard to:

- 2065 • recovery or survival maintenance of target organisms,
- 2066 • inhibition or suppression of non-target organisms,
- 2067 • biochemical (differential and diagnostic) properties,
- 2068 • physical properties (e.g. pH, volume and sterility).

2069 Quantitative procedures for evaluation of recovery or survival are to be preferred
 2070 (see also ISO 11133 Part 1 and 2).

2071 **7.2.2** Raw materials (both commercial dehydrated formulations and individual
 2072 constituents) should be stored under appropriate conditions, e.g. cool, dry and
 2073 dark. All containers, especially those for dehydrated media, should be sealed
 2074 tightly. Dehydrated media that are caked or cracked or show a colour change
 2075 should not be used. Distilled deionised, or reverse osmosis produced water, free
 2076 from bactericidal, inhibitory or interfering substances, should be used for
 2077 preparation unless the test method specifies otherwise.

2078 **7.2.3** Shelf life of prepared media under defined storage conditions shall be determined
 2079 and verified.

2080

2081 **7.3 Ready – to – use – media**

2082 **7.3.1** All media (and diluents and other suspension fluids) procured ready to use or
 2083 partially complete require validating before use. Evaluation of performance in
 2084 recovery or survival of target organisms and the inhibition or suppression of
 2085 non-target organisms needs to be fully quantitative; attributes (e.g. physical and
 2086 biochemical properties) should be evaluated using objective criteria.

2087 **7.3.2** As part of the validation, the user laboratory needs to have adequate knowledge
 2088 of the manufacturer's quality specifications, which include at least the following:
 2089 • Name of the media and list of components, including any supplements
 2090 • Shelf life and the acceptability criteria applied
 2091 • Storage conditions
 2092 • Sample regime / rate
 2093 • Sterility check
 2094 • Check of growth of target and non-target control organisms used (with their
 2095 culture collection references) and acceptability criteria
 2096 • Physical checks and the acceptability criteria applied
 2097 • Date of issue of specification

2098 **7.3.3** Batches of media should be identifiable. Each one received should be
 2099 accompanied by evidence that it meets the quality specification. The user
 2100 laboratory should ensure that it will be notified by the manufacturer of any
 2101 changes to the quality specification.

2102 **7.3.4** Where the manufacturer of media procured ready to use or partially complete is
 2103 covered by a recognised quality system (e.g. ISO 9000-series registered), checks
 2104 by the user laboratory of conformance of supplies with the specification defined
 2105 through initial validation may be applied in accordance with the expectation of
 2106 consistency. In other circumstances, adequate checks would be necessary on
 2107 every batch received.

2108

2109 **7.4 Labelling**

2110 Laboratories shall ensure that all reagents (including stock solutions), media,
 2111 diluents, and other suspending fluids are adequately labelled to indicate, as
 2112 appropriate, identity, concentration, storage conditions, preparation date,

2113 validated expiry date and /or recommended storage periods. The person
2114 responsible for preparation should be identifiable from records.

2115

2116 **8 Reference materials and reference cultures**

2117 **ISO 17025, paragraph 5.6.3**

2118

2119 **8.1 Reference materials**

2120 Reference materials and certified reference materials (see definition in Appendix
2121 A) provide essential traceability in measurements and are used, for example;

2122 • to demonstrate the accuracy of results,

2123 • to calibrate equipment,

2124 • to monitor laboratory performance,

2125 • to validate methods, and

2126 • to enable comparison of methods.

2127 If possible, reference materials should be used in appropriate matrices.

2128

2129 **8.2 Reference cultures**

2130 **8.2.1** Reference cultures are required for establishing acceptable performance of media
2131 (including test kits), for validating methods and for assessing/evaluating

2132 on-going performance. Traceability is necessary, for example, when establishing

2133 media performance for test kit and method validations. To demonstrate

2134 traceability, laboratories must use reference strains of microorganisms obtained

2135 directly from a recognised national or international collection, where these exist.

2136 Alternatively, commercial derivatives for which all relevant properties have been

2137 shown by the laboratory to be equivalent at the point of use may be use

2138 **8.2.2** Following the guidance in ISO 11133-1, reference strains may be sub-cultured

2139 once to provide reference stocks. Purity and biochemical checks should be made

2140 in

2141 parallel as appropriate. It is recommended to store reference stocks in aliquots

2142 either deep-frozen or lyophilised. Working cultures for routine use should be

2143 primary subcultures from the reference stock (see Appendix C on preparation of

2144 working stocks). If reference stocks have been thawed, they must not be re-frozen

2145 and re-used.

2146 **8.2.3** Working stocks should not be sub-cultured unless it is required and defined by a

2147 standard method or laboratories can provide documentary evidence that there

2148 has been no change in any relevant property. Working stocks shall not be

2149 sub-cultured to replace reference stocks. Commercial derivatives of reference

2150 strains may only be used as working cultures.

2151

2152 **9 Sampling**

2153 **ISO 17025, paragraph 5.7**

2154 **9.1** In many cases, testing laboratories are not responsible for primary sampling to
2155 obtain test items. Where they are responsible, it is strongly recommended that

2156 this sampling be covered by quality assurance and ideally by accreditation.

2157 **9.2** Transport and storage should be under conditions that maintain the integrity of

2158 the sample (e.g. chilled or frozen where appropriate). The conditions should be
 2159 monitored and records kept. Where appropriate, responsibility for transport,
 2160 storage between sampling and arrival at the testing laboratory shall be clearly
 2161 documented. Testing of the samples should be performed as soon as possible after
 2162 sampling and should conform to relevant standards and/or national/international
 2163 regulations.

2164 **9.3** Sampling should only be performed by trained personnel. It should be carried out
 2165 aseptically using sterile equipment. Environmental conditions for instance air
 2166 contamination and temperature should be monitored and recorded at the
 2167 sampling site. Time of sampling should be recorded.
 2168

2169 **10 Sample handling and identification**

2170 **ISO 17025, paragraphs 5.7 and 5.8**

2171 **10.1** Microbial flora may be sensitive to factors such as temperature or duration of
 2172 storage and transport, so it is important to check and record the condition of the
 2173 sample on receipt by the laboratory.

2174 **10.2** The laboratory should have procedures that cover the delivery of samples and
 2175 sample identification. If there is insufficient sample or the sample is in poor
 2176 condition due to physical deterioration, incorrect temperature, torn packaging or
 2177 deficient labelling, the laboratory should consult with the client before deciding
 2178 whether to test or refuse the sample. In any case, the condition of the sample
 2179 should be indicated on the test report.

2180 **10.3** The laboratory should record all relevant information and particularly the
 2181 following information:

- 2182 (a) date and, where relevant, the time of receipt;
- 2183 (b) condition of the sample on receipt and, when necessary, temperature;
- 2184 (c) characteristics of the sampling operation (sampling date, sampling conditions,
 2185 etc).

2186 **10.4** Samples awaiting test shall be stored under suitable conditions to minimize
 2187 changes to any microbial population present. Storage conditions should be
 2188 defined and recorded.

2189 **10.5** The packaging and labels from samples may be highly contaminated and should
 2190 be handled and stored with care so as to avoid any spread of contamination.

2191 **10.6** Sub-sampling by the laboratory immediately prior to testing is considered as part
 2192 of the test method. It should be performed according to national or international
 2193 standards, where they exist, or by validated in-house methods. Sub-sampling
 2194 procedures should be designed to take account uneven distribution of
 2195 micro-organisms (general guidance given in ISO 6887 and ISO 7218).

2196 **10.7** A procedure for the retention and disposal of samples shall be written. Samples
 2197 should be stored until the test results are obtained, or longer if required.
 2198 Laboratory sample portions that are known to be highly contaminated should be
 2199 decontaminated prior to being discarded (see 11.1).
 2200

2201 **11 Disposal of contaminated waste**

2202 **11.1** The correct disposal of contaminated materials may not directly affect the quality

2203 of sample analysis, although procedures should be designed to minimise the
 2204 possibility of contaminating the test environment or materials. However, it is a
 2205 matter of good laboratory management and should conform to
 2206 national/international environmental or health and safety regulations (see also
 2207 ISO 7218).

2208

2209 **12 Quality assurance of results/quality control of performance**

2210 **ISO 17025, paragraph 5.9**

2211 **12.1 Internal quality control**

2212 **12.1.1** Internal quality control consists of all the procedures undertaken by a
 2213 laboratory for the continuous evaluation of its work. The main objective is to
 2214 ensure the consistency of results day-to-day and their conformity with defined
 2215 criteria.

2216 **12.1.2** A programme of periodic checks is necessary to demonstrate that variability (i.e.
 2217 between analysts and between equipment or materials etc.) is under control. All
 2218 tests included in the laboratory's scope of accreditation need to be covered. The
 2219 programme may involve:

- 2220 • the use of spiked samples
- 2221 • the use of reference materials (including proficiency testing scheme

2222 materials)

- 2223 • replicate testing
- 2224 • replicate evaluation of test results

2225 The interval between these checks will be influenced by the construction of the
 2226 programme and by the number of actual tests. It is recommended that, where
 2227 possible, tests should incorporate controls to monitor performance.

2228 **12.1.3** In special instances, a laboratory may be accredited for a test that it is rarely
 2229 called on to do. It is recognised that in such cases an ongoing internal quality
 2230 control programme may be inappropriate and that a scheme for demonstrating
 2231 satisfactory performance which is carried out in parallel with the testing, may
 2232 be more suitable.

2233

2234 **12.2 External quality assessment (proficiency testing)**

2235 **12.2.1** Laboratories should regularly participate in proficiency testing which are
 2236 relevant to their scope of accreditation, preference should be given to proficiency
 2237 testing schemes which use appropriate matrices. In specific instances,
 2238 participation may be mandatory.

2239 **12.2.2** Laboratories should use external quality assessment not only to assess
 2240 laboratory bias but also to check the validity of the whole quality system.

2241

2242 **13 Test reports**

2243 **ISO 17025, paragraph 5.10**

2244 **13.1** If the result of the enumeration is negative, it should be reported as “not detected
 2245 for a defined unit” or “less than the detection limit for a defined unit”. The result
 2246 should not be given as “zero for a defined unit” unless it is a regulatory
 2247 requirement.

2248 Qualitative test results should be reported as “detected/not detected in a defined
2249 quantity or volume”. They may also be expressed as “less than a specified
2250 number of organisms for a defined unit” where the specified number of organisms
2251 exceeds the detection limit of the method and this has been agreed with the
2252 client.

2253 **13.2** Where an estimate of the uncertainty of the test result is expressed on the test
2254 report, any limitations (particularly if the estimate does not include the
2255 component contributed by the distribution of micro-organisms within the sample)
2256 have to be made clear to the client.

2257

2258 Appendix A Glossary of Terms

2259

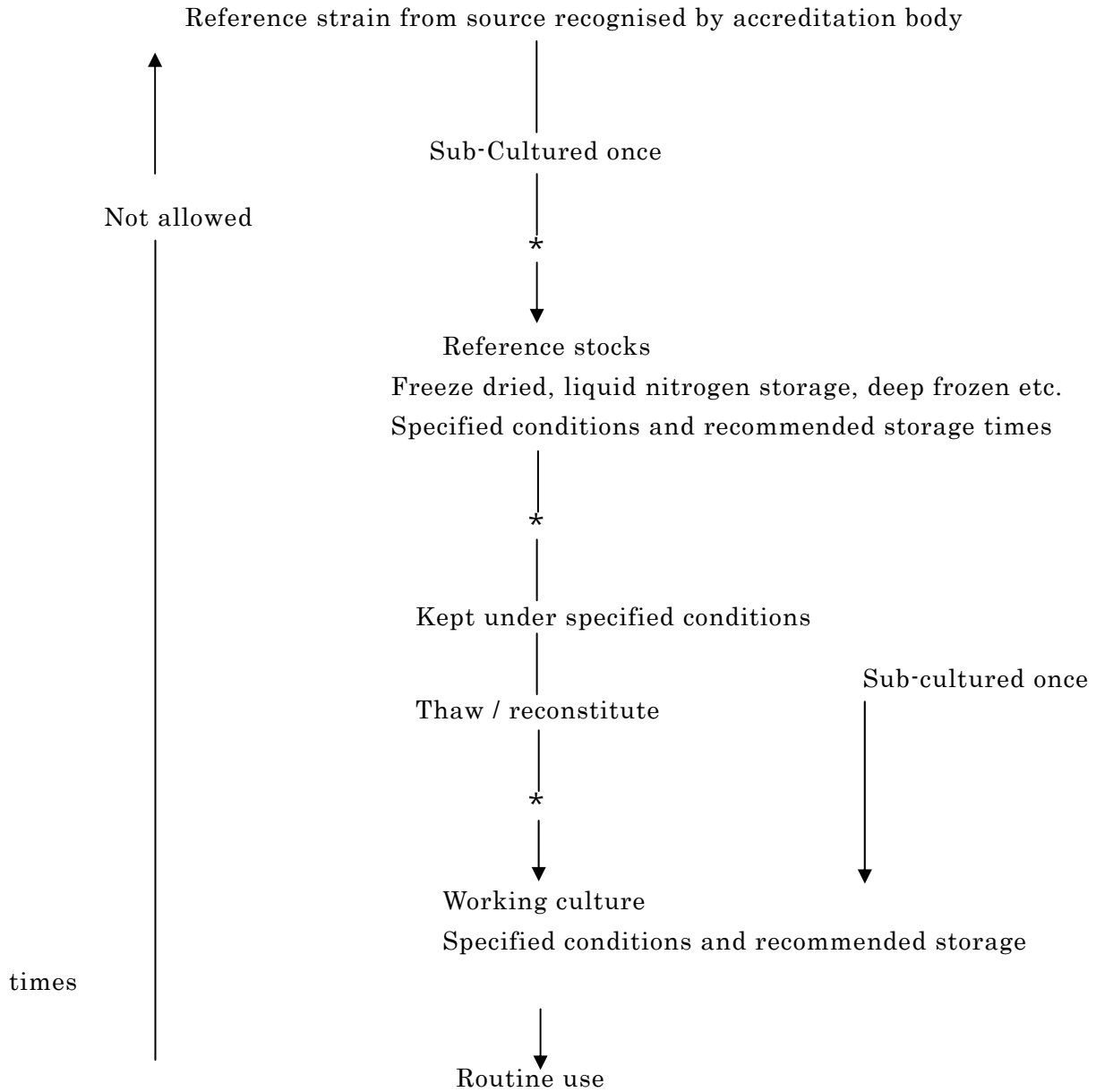
Calibration	<p>Set of operations that establish, under specified conditions, the relationship between values of quantities indicated by a measuring instrument or measuring system, or values represented by a material measure or a reference material, and the corresponding values realized by standards</p> <p>NOTES</p> <p>1 The result of a calibration permits either the assignment of values of measurands to the indications or the determination of corrections with respect to indications.</p> <p>2 A calibration may also determine other metrological properties such as the effect of influence quantities.</p> <p>3 The result of a calibration may be recorded in a document, sometimes called a calibration certificate or a calibration report.</p> <p>[VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]</p>
Certified reference materia 1	<p>Reference material, accompanied by a certificate, one or more of whose property values are certified by a procedure, which establishes traceability to an accurate realisation of the unit in which the property values are expressed, and for which each certified value is accompanied by an uncertainty at a stated level of confidence.</p> <p>[ISO Guide 30:1992]</p>
Limit of determination	<p>Applied to quantitative microbiological tests - The lowest number of microorganisms within a defined variability that may be determined under the experimental conditions of the method under evaluation</p>
Limit of detection	<p>Applied to qualitative microbiological tests- The lowest number of microorganisms that can be detected, but in numbers that cannot be estimated accurately.</p>
Negative deviation	<p>Occurs when the alternative method gives a negative result without confirmation when the reference method gives a positive result. This deviation becomes a false negative result when the true result can be proved as being positive.</p>
Positive deviation	<p>Occurs when the alternative method gives a positive result without confirmation when the reference method gives a negative result. This deviation becomes a false positive result when the true result can be proved as being negative.</p>
Reference cultures	<p>Collective term for reference strain, reference stocks and working cultures.</p>
Reference strains	<p>Microorganisms defined at least to the genus and species level, catalogued and described according to its characteristics and preferably stating its origin.</p> <p>[ISO 11133-1:2000] Normally obtained from a recognised</p>

	national or international collection.
Reference material	Material or substance one or more of whose property values are sufficiently homogeneous and well established to be used for the calibration of an apparatus, the assessment of a measurement method, or for assigning values to materials. [ISO Guide 30:1992]
Reference method	Thoroughly investigated method, clearly and exactly describing the necessary conditions and procedures, for the measurement of one or more property values that has been shown to have accuracy and precision commensurate with its intended use and that can therefore be used to assess the accuracy of other methods for the same measurement, particularly in permitting the characterisation of a reference material. Normally a national or international standard method.
Reference stocks	A set of separate identical cultures obtained by a single sub-culture from the reference strain. [ISO 11133-1:2000]
Relative trueness	The degree of correspondence of the results of the method under evaluation to those obtained using a recognised reference method.
Repeatability	Closeness of the agreement between the results of successive measurements of the same measurand under the same conditions of measurement. [VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]
Reproducibility	Closeness of the agreement between the results of measurements of the same measurand carried out under changed conditions of measurement. [VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]
Sensitivity	The fraction of the total number of positive cultures or colonies correctly assigned in the presumptive inspection. [ISO 13843:2000]
Specificity	The fraction of the total number of negative cultures or colonies correctly assigned in the presumptive inspection. [ISO 13843:2000]
Working culture	A primary sub-culture from a reference stock. [ISO 11133-1:2000]
Validation	Confirmation, through the provision of objective evidence, that the requirements for a specific intended use or application have been fulfilled. [ISO 9000: 2000]

2261	
2262	Appendix B References
2263	
2264	1. ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration
2265	laboratories.
2266	2. ISO 7218, Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for
2267	microbiological examinations.
2268	3. ISO 6887-1, Preparation of dilutions.
2269	4. ISO Guide 30, Terms and definitions used in connection with reference materials.
2270	5. ISO 9000, Quality management systems - fundamentals and vocabulary.
2271	6. VIM: 1993, ISO international vocabulary of basic and general terms in metrology.
2272	7. ISO (CIPM):1995, Guide to the expression of uncertainty in measurements.
2273	8. Draft ISO/DIS 16140, Food microbiology. Protocol for the validation of alternative
2274	methods.
2275	9. ISO 13843, Water quality – Guidance on validation of microbiological methods.
2276	10. ISO 11133-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on
2277	preparation and production of culture media. Part 1- General guidelines on quality
2278	assurance for the preparation of media in the laboratory.
2279	11. Draft ISO/FDIS 11133-2, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines
2280	on preparation and production of culture media. Part 2- Practical guidelines on
2281	performance testing on culture media.
2282	12. EN 12741, Biotechnology- Laboratories for research, development and analysis –
2283	Guidance for biotechnology laboratory operations.
2284	
2285	
2286	

2287
2288
2289
2290
2291
2292
2293
2294
2295
2296
2297
2298
2299
2300
2301
2302
2303
2304
2305
2306
2307
2308
2309
2310
2311
2312
2313
2314
2315
2316
2317
2318
2319
2320
2321
2322
2323
2324
2325
2326
2327
2328
2329
2330
2331
2332
2333

Appendix C General use of reference cultures



* Parellel purity checks and biochemical tests as appropriate

All parts of the process shall be fully documented and detailed records of all stages must be maintained

2334
2335
2336
2337
2338
2339

Appendix D Guidance of calibration and calibration checks

This information is provided for guidance purposes and the frequency will be based on the need, type and previous performance of the equipment.

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
Reference thermometers (liquid-in-glass)	Full traceable re-calibration Single point (e.g. ice-point check)	Every 5 years Annually
Reference thermocouples	Full traceable re-calibration Check against reference thermometer	Every 3 years Annually
Working thermometers & Working thermocouples	Check against reference thermometer at ice-point and/or working temperature range	Annually
Balances	Full traceable calibration	Annually
Calibration weights	Full traceable calibration	Every 5 years
Check weight(s)	Check against calibrated weight or check on balance immediately following traceable calibration	Annually
Volumetric glassware	Gravimetric calibration to required tolerance	Annually
Microscopes	Traceable calibration of stage micrometer (where appropriate)	Initially
Hygrometers	Traceable calibration	Annually
Centrifuges	Traceable calibration or check against an independent tachometer, as appropriate	Annually

2340
2341

2342 **Appendix E Guidance on equipment validation and verification of**
 2343 **performance**
 2344

2345 This information is provided for guidance purposes and the frequency will be based on
 2346 the need, type and previous performance of the equipment.
 2347

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
Temperature controlled equipment (incubators, baths, fridges, freezers)	(a) Establish stability and uniformity of temperature	(a) Initially, every 2 years and after repair/modification
	(b) Monitor temperature	(b) Daily/each use
Sterilising ovens	(a) Establish stability and uniformity of temperature	(a) Initially, every 2 years and after repair/modification
	(b) Monitor temperature	(b) Each use
Autoclaves	(a) Establish characteristics for loads/cycles	(a) Initially, every 2 years and after repair/modification
	(b) Monitor temperature/time	(b) Each use
Safety cabinets	(a) Establish performance	(a) Initially, every year and after repair/modification
	(b) Microbiological monitoring	(b) Weekly
	(c) Air flow monitoring	(c) Each use
Laminar air flow cabinets	(a) Establish performance	(a) Initially, and after repair/modification
	(b) Check with sterility plates	(b) Weekly
Timers	Check against national time signal	Annually
Microscopes	Check alignment	Daily/each use
pH meters	Adjust using at least two buffers of suitable quality	Daily/each use
Balances	Check zero, and reading against check weight	Daily/each use
De-ionisers and reverse osmosis units	(a) Check conductivity	(a) Weekly
	(b) Check for microbial contamination	(b) Monthly
Gravimetric diluters	(a) Check weight of volume dispensed	(a) Daily
	(b) Check dilution ratio	(b) Daily
Media dispensers	Check volume dispensed	Each adjustment or replacement
Pipettors/pipettes	Check accuracy and precision of volume dispensed	Regularly (to be defined by taking account of the frequency and nature of

use)

Spiral platers	(a) Establish performance against conventional method (b) Check stylus condition and the start and end points (c) Check volume dispensed	(a) Initially and annually (b) Daily/each use (c) Monthly
Colony counters	Check against number counted manually	Annually
Centrifuges	Check speed against a calibrated and independent tachometer	Annually
Anaerobic jars /incubators	Check with anaerobic indicator	Each use
Laboratory environment	Monitor for airborne and surface microbial contamination using, e.g. air samplers, settle plates, contact plates or swabs	Weekly

2348

2349

2350
2351
2352
2353
2354

Appendix F Guidance on maintenance of equipment
This information is provided for guidance purposes and the frequency will be based on the need, type and previous performance of the equipment.

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
(a) Incubators	Clean and disinfect internal surfaces	(a) Monthly
(b) Fridges		(b) When required (e.g. every 3 months)
(c) Freezers, ovens		(c) When required (e.g. annually)
Water baths	Empty, clean, disinfect and refill	Monthly, or every 6 months if biocide used
Centrifuges	(a) Service	(a) Annually
	(b) Clean and disinfect	(b) Each use
Autoclaves	(a) Make visual checks of gasket, clean/drain chamber	(a) Regularly, as recommended by manufacturer
	(b) Full service	(b) Annually or as recommended by manufacturer
	(c) Safety check of pressure vessel	(c) Annually
Safety cabinets	Full service and mechanical check	Annually
Laminar flow cabinets		or as recommended by manufacturer
Microscopes	Full maintenance service	Annually
pH meters	Clean electrode	Each use
Balances, gravimetric diluters	(a) Clean	(a) Each use
	(b) Service	(b) Annually
Stills	Clean and de-scale	As required (e.g. every 3 months)
De-ionisers, reverse osmosis units	Replace cartridge/membrane	As recommended by manufacturer
Anaerobic jars	Clean/disinfect	After each use
Media dispensers, volumetric equipment, pipettes, and general service equipment	Decontaminate, clean and sterilise as appropriate	Each use
Spiral platers	(a) Service	(a) Annually
	(b) Decontaminate, clean and sterilise	(b) Each use
Laboratory	(a) Clean and disinfect working surfaces	(a) Daily, and during use
	(b) Clean floors, disinfect sinks and basins	(b) Weekly
		(c) Every 3 months

(c) Clean and disinfect other
surfaces

2355

2356

2357

2358

2359

2360

2361

2362

2371
2372
2373
2374
2375
2376
2377
2378
2379
2380
2381
2382
2383
2384
2385
2386
2387
2388
2389
2390
2391
2392
2393
2394
2395
2396
2397
2398
2399
2400
2401
2402
2403
2404
2405
2406
2407

公益財団法人 日本適合性認定協会
〒141-0022 東京都品川区東五反田 1 丁目 22-1
五反田 AN ビル 3F
Tel.03-3442-1217 Fax.03-5475-2780