

「認定の基準」についての指針
- 分子生物学的試験 -

JAB RL358 : 2013

第2版：2013年9月1日
第1版：2008年2月1日

公益財団法人 日本適合性認定協会

目次

はじめに	3
序文	4
1 . 適用範囲	4
2 . 引用規格	4
3 . 用語及び定義	4
4 . 管理上の要求事項	5
4.1 組織	5
4.2 マネジメントシステム	5
4.3 文書管理	5
4.4 依頼、見積仕様書及び契約の内容の確認	5
4.5 試験の下請負契約	5
4.6 サービス及び供給品の購買	5
4.7 顧客へのサービス	5
4.8 苦情	5
4.9 不適合の試験業務の管理	5
4.10 改善	5
4.11 是正処置	5
4.12 予防処置	5
4.13 記録の管理	5
4.14 内部監査	5
4.15 マネジメントレビュー	5
5 . 技術的要求事項	5
5.1 一般	5
5.2 要員	5
5.3 施設及び環境条件	6
5.4 試験の方法及び方法の妥当性確認	7
5.5 設備	10
5.6 測定のトレーサビリティ	12
5.7 サンプルング	14
5.8 試験の取扱い	15
5.9 試験の品質の保証	16
5.10 結果の報告	18
付属書 A	19
付属書 B	22
付属書 C	24

「認定の基準」についての認定指針(案)

- 分子生物学的試験 -

はじめに

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」を分子生物学的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、分子生物学的試験分野に合わせて詳細化し、分子生物学的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、JAB RL355 (化学試験)、JAB RL359 (微生物試験)を試験所の認定に際しての技術指針として用いてきたが、近年、化学試験、微生物試験の範疇ではとらえきれない分子生物学的試験を使用する試験所が増加してきているため、今般 JAB RL358 (分子生物学的試験)を当該試験分野に対応した技術指針として取りまとめた。この文書が適用する分子生物学試験の範囲は、当面、遺伝子組換え体(GMO)検知のための分析法、遺伝子解析による生物種の同定/判別試験とするが、この適用範囲は必要に応じ、本文書の内容とともに見直すこととする。

本文書は、分子生物学的試験を使用する試験所を JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)に基づき認定するために、当該試験分野の特徴を解釈し要求事項を詳細化及び具体化するために必要であり、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)の要求を超えることがなく、かつ重複していない事項を ISO 24276:2006 “Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – General requirements and definitions”、CITAC/EURACHEM GUIDE “Guide to Quality in Analytical Chemistry, An Aid to Accreditation, Edition 2002”、AOAC INTERNATIONAL Guidelines for Laboratories Performing Microbiological and Chemical Analyses of Food and Pharmaceuticals:2006、CAC/GL 74-2010 “GUIDELINES ON PERFORMANCE CRITERIA AND VALIDATION OF METHODS FOR DETECTION, IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF SPECIFIC DNA SEQUENCES AND SPECIFIC PROTEINS IN FOODS*”、ISO/TS 21098:2005 “Foodstuffs – Nucleic acid based methods of analysis of genetically modified organisms and derived products – Information to be supplied and procedure for the addition of methods to ISO 21569, ISO 21570 or ISO 21571”から採用し、取りまとめたものである。

本文書において、序文以下 5.10.9 までの項番号は JIS Q 17025(ISO/IEC 17025)の項番号にそのまま対応する。その他の引用文献については該当する各項下に記載する。また、「...しなければならない。」と表現されている事項は JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)に基づく要求事項である。「...することが望ましい。」又は「...するのがよい。」と表現されている事項は、試験所が何らかの方法によって満たしていることを実証する必要がある。

なお、本指針は、JAB 食品・医薬品・微生物試験所認定プログラム分科会(現食品分科会)において監修され、JAB 試験所技術委員会において承認されたものである。

【引用文書について】

- ・ ISO 24276:2006 “Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – General requirements and definitions” :
該当する項番号のみを記載したので、内容については原文を参照されたい。
- ・ ISO/TS 21098 : 2005 Foodstuffs – Nucleic acid based methods of analysis of genetically modified organisms and derived products – Information to be supplied and procedure for the addition of methods to ISO 21569, ISO 21570 or ISO 21571
該当する項番号のみを記載したので、内容については原文を参照されたい。
- ・ CAC/GL 74-2010 : GUIDELINES ON PERFORMANCE CRITERIA AND VALIDATION OF METHODS FOR DETECTION, IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF SPECIFIC DNA SEQUENCES AND SPECIFIC PROTEINS IN FOODS* :
該当する項を記載したので、内容については原文を参照されたい。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE Edition 2002 : Guide to Quality in Analytical Chemistry, An Aid to Accreditation, Edition 2002
日本語訳は、JAB 化学分野技術委員会が監修したものである。日本語版の出版については、岡本研作氏（当時 CITAC Chairman）及びその作業部会の幹事から岡本氏を通じて許可されている。翻訳時より変更が必要と判断した箇所については、本文書改訂時に食品分科会が確認し、修正している。該当箇所については記号「*」を付けている。なお、原文（英文）及び日本語版は、JAB RL355（化学試験）の附属書を参照されたい。
- ・ AOAC INTERNATIONAL Guidelines for Laboratories Performing Microbiological and Chemical Analyses of Food and Pharmaceuticals:2006 :
「AOAC:2006」と略記し、該当する項番号、JAB の仮訳も併せて示した。
上記文書の該当する項番号と翻訳について疑義が生じた場合は、原文（英文）に戻って、その解消を図るものとする。

序文

- 1 . 適用範囲
- 2 . 引用規格
- 3 . 用語及び定義

4 . 管理上の要求事項

4.1 組織

4.2 マネジメントシステム

4.3 文書管理

4.4 依頼、見積仕様書及び契約の内容の確認

4.5 試験の下請負契約

4.6 サービスおよび供給品の購買

- ・ ISO 24276:2006 5.3.5 Material and reagents

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 14.2

- 使用する試薬（水を含む）の等級は、調製、保管及び使用において守るべき特別の注意事項に関する手引きと併せて、方法の中に明示することが望ましい。この注意事項には、毒性、可燃性、熱、空気及び光に対する安定性、他の化学薬品に対する反応性及びその他の危険を含める。

- 試験所で調製した試薬及び標準物質には、物質名、濃度、溶媒（水でない場合）特別の注意事項又は危険性、使用制限、調製日及び／又は使用期限を明示するためにラベルを付けることが望ましい。試薬の調製責任者を、ラベル又は記録から確認できること。

4.7 顧客へのサービス

4.8 苦情

4.9 不適合の試験業務の管理

4.10 改善

4.11 是正処置

4.12 予防処置

4.13 記録の管理

4.14 内部監査

4.15 マネジメントレビュー

5 . 技術的要求事項

5.1 一般

- ・ ISO 24276:2006 5 General laboratory and procedural requirements

- 5.1 General

5.2 要員

- ・ ISO 24276:2006 5.3.3 Personnel

- ・ CITEC Guide 1 10 1

- 試験は、学士のレベルまたはそれと試験所が同等のレベルであると認め、それに加えて、関係する専門の資格が必要な場合は、それを有し、かつ経験を有する分析者によって行われるか、またはその監督下で行わなければならない。

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 10.1

- 学士のレベルであると認定された職員は、通常は 2 年程度の関係する作業経験を持って、経験を有する分析者とみなされる。教育・訓練中の、又は関係する資格認定をもたない職員は、適切なレベルの教育・訓練を受講したことが明らかで、かつ適切な監督がある場合には分析を行ってよい。

5.2.2

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 10.3
 - 試験所は、全ての職員に試験の適正な実施及び装置の運転を適切に行うに相応しい教育・訓練を確実に受講させなければならない。
場合によっては、これには特別な技術の背景となる原理及び理論の教育・訓練を含む。
できれば、客観的な尺度を使用して、教育・訓練中の技能習得の達成度を評価することが望ましい。例えば、品質管理技法を使用して、能力が維持されていることを監視しなければならない。
 - 試験所の管理者は、適切な教育・訓練を確実に行う責任を持っているが、熟練した分析者には特に、自己啓発の重要性を強調しなければならない。
- ・ AOAC:2006 4.2.2
 - すべての要員は、品質システム及び品質システムを維持する上での役割及び責任に関する年次教育・訓練を受けなければならない。

5.2.5

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 10.4
 - 試験所は、職員の各メンバーが受講した教育・訓練の最新の記録を保管する。
 - 記録には、通常、以下を含むことが望ましい。
 - i) 学歴
 - ii) 参加した所内外の研修講座
 - iii) 関連する OJT(オンザジョブトレーニング)及び必要に応じて行われた再教育・訓練
 場合によっては：
 - iv) 品質管理及び/又は技能試験スキームへの参加(関連データを添付する)
 - v) 公刊された技術論文及び学協会での発表
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 10.5
 - 分析方法でなく特別な技術面での能力を記録することがより適切である場合がある。

5.3 施設及び環境条件

- ・ ISO 24276:2006 5.3.2 Laboratory design
- ・ ISO 24276:2006 5.3.3 Personnel

5.3.1

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 12.4
 - 新規の業務のために指定された区域を選定する時は、その区域の以前の使用について考慮しなければならない。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 12.6
 - 環境条件の限界からの逸脱は、システムを監視すること又は特定の分析の品質管理によっても判明することがある。環境条件からの逸脱の影響は、方法の妥当性確認時に堅牢性試験の一部として評価してもよく、適宜、緊急操作手順を確立する。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 12.7
 - 汚染除去手順書は、環境又は装置の用途が変更される場合、又は偶然に汚染が発生した場合に適切である。

5.3.4

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 12.3
 - 実施する作業の内容によっては、試験所の特定区域への立入を制限する必要がある。
代表的な例としては、爆薬、放射性物質、発癌性物質、法医学検査、PCR法及び微量分析に関わる作業がある。
立入制限が発効している場合、職員には下記のことを知らせることが望ましい
 - i) 特定の区域の使用目的
 - ii) かかる区域内での作業上の制限
 - iii) かかる制限を加える理由
 - iv) かかる制限が違反された時に従うべき処置

5.4 試験の方法及び方法の妥当性確認

5.4.1 一般

- ・ CITAC Guide 1 14.5
 - 試験所独特の分析方法についての文書には、*妥当性確認のデータ、適用性の限界、*内部品質管理の手順、校正、文書管理を含めること。

5.4.2 方法の選定

- ・ ISO 24276:2006 4.2 Guidance for the user on the selection of methods
- ・ ISO 24276:2006 4.3 Performance characteristics
- ・ ISO 24276:2006 5.2 Table 1 付属書 B 参照
- ・ CAC/GL 74-2010 ANNEX I PRACTICAL APPLICATION OF THE METHOD
(para. 27.~30.)
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 17.3
 - 規格または共同試験された方法が妥当性確認されて、その方法の来歴がいかに完全無欠であっても、それが絶対だと思い込んではいけない。試験所は、特定

の分析法の妥当性確認の程度が、求められている目的に対して適切であり、その分析法で試験所が指定された性能基準を検証できることを自分自身で納得できるようにしておくことが望ましい。

< 参考 >

- ・ 以下の関連分析法が、ISO 文書として規格化されている。
 - ISO 21569:2005, Foodstuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-Qualitative nucleic acid based methods
 - ISO 21570:2005, Foodstuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-Quantitative nucleic acid based methods
 - ISO 21571:2005, Foodstuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-Nucleic acid extraction
 - ISO 21572:2004, Foodstuffs-Methods for the detection of genetically modified organisms and derived products-Protein based methods
 - ISO/TS 21098:2005, Foodstuffs-Nucleic acid based methods of analysis of genetically modified organisms and derived products-Information to be supplied and procedure for the addition of methods to ISO 21569, ISO 21570 or ISO 21571

5.4.3 試験所が開発した方法

5.4.4 規格外の方法

5.4.5 方法の妥当性確認

5.4.5.1 ~ 5.4.5.3

- ・ ISO 24276:2006 6.6
- ・ ISO/TS 21098:2005 5

5.4.5.1

- ・ CAC/GL 74-2010 SECTION 1 – INTRODUCTION (par. 1. 2. 3.)
- ・ CAC/GL 74-2010 SECTION 1.1 – PURPOSE AND OBJECTIVES (par. 4. 5.)
- ・ CAC/GL 74-2010 SECTION 1.2 – SCOPE (par. 6.)

5.4.5.2

- ・ CAC/GL 74-2010 SECTION 2 – METHOD VALIDATION (par. 7.)
- ・ CAC/GL 74-2010 Section 2.1 – Criteria Approach (par. 8.)
- ・ CAC/GL 74-2010 Section 2.2 – General Method Criteria (par. 9.)
- ・ CAC/GL 74-2010 Section 2.3 – Validation Process (par. 10. 11.)

- CAC/GL 74-2010 Section 3.1.6 – Modular Approach to Method Validation (par. 25. 26.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.1 – General Information (par. 27. 28. 29.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.2 – Minimum Performance Requirements (par. 30. 31. 32.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.3 – Collaborative Trial Test Materials (par. 33. 34.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I DESCRIPTION OF THE METHOD (par. 1.~5.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I SPECIFIC INFORMATION REQUIRED FOR
DNA-BASED
METHODS (par. 6.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I Primer pairs (par. 7.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I Amplicon length(par. 8.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I SPECIFIC INFORMATION REQUIRED FOR
PROTEIN-BASED METHODS (par. 14.~17.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I INFORMATION ABOUT THE METHOD
PERFORMANCE (par. 18. ~ 26.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I PRACTICAL APPLICATION OF THE METHOD
(par. 27. ~ 30.)

5.4.5.3

- ISO 24276:2006 4.3 Performance characteristics
- CAC/GL 74-2010 Section 3.1 – Method Development to Formal Validation (par. 12.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.1.1 – Method Acceptance Criteria (Required condition for validation) (par. 13. 14.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.1.2 – Applicability of the Method (par. 15. 16.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.1.3 – Principle condition (par. 17. 18. 19. 20.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.4 – Specific Information on the Validation of
Methods
(par. 35. 36.)

5.4.6 測定の不確かさの推定

5.4.6.1

- CAC/GL 74-2010 Section 3.1.5 – Measurement Uncertainty (par. 23. 24.)

5.4.6.1, 5.4.6.3

- CITAC/EURACHEM GUIDE 16.3

- 方法と試料に関係する不確かさを見積もり又は推定をするときに、不確かさを生じる可能性のある全ての要因を明確に考慮すること及び重要な成分を評価することを確実にすることが不可欠である。例えば、*繰返し性又は再現性は、方法に固有な系統効果に関連するあらゆる不確かさ全てを考慮するものではないため、通常、全ての要因を考慮した不確かさの推定ではない。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 16.5
 - 洗い出した不確かさの個々の要因、各寄与率の値及びその値の出所（例えば、繰返し測定、文献の参照、認証標準物質のデータなど）の記録を保管することが望ましい。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 16.8
 - 不確かさの寄与率の大きさは、さまざまな方法で推定することができる。影響要因のランダムな変動に関連する不確かさの成分の値は、代表的な範囲の条件下で適切な回数測定を繰返し行い、結果の分散を*求めることによって、推定することがある（かかる検討において、測定回数は通常 10 回を下回らないことが望ましい）。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 16.17
 - 全ての試験及び試料の種類に対して、不確かさを評価する必要がないことが多い。通常は、特定の方法について不確かさを一度だけ調査し、その方法の適用範囲で行った全ての試験に対して測定の不確かさを推定するために、その情報を使用することで十分である。

5.4.7 データ管理

5.4.7.1, 5.4.7.2

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 22.4
 - 試験に関連するデータの収集及び処理のためにコンピュータを使用する場合、その機能の妥当性確認のためには、既知の分析値をインプットしてみて、コンピュータが予想通りの答を出すなら、正しい操作であるとする通常は十分である。計算を実行するコンピュータのプログラムは、手計算の結果と比較することによって妥当性確認することができる。特定のパラメータの一連の値をインプットする時は、入力ミスの発生に注意することが望ましい。
 - 測定標準又は標準物質を使用することによって、システム全体を一度に妥当性確認する方法は認められる。典型的な用途の実例を用いて、妥当性確認を説明することは実用的である。

5.5 設備

5.5.1

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 13.1.1
 - 試験所に通常存在する装置は、次のように分類することができる。

- i) 測定には使用しないか、又は測定には最小限の影響しか与えない汎用器具（例えば、攪拌機、非容積測定器具及びメスシリンダー等の大雑把な容積測定のために使用する器具）及び試験所の暖房又は換気システム
- ii) 体積計（例えば、フラスコ、ピペット）及び測定機器（例えば、温度計、タイマー、分光計、クロマトグラフ、電気化学的メーター、*はかり、PCR等）
- iii) 物理的測定標準（分銅、標準温度計）
- iv) コンピュータ及びデータ処理装置

5.5.2

- ISO 24276:2006 5.3.4 Apparatus and equipment
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I whether the method is instrument or chemistry specific
(par. 9. 10. 11.)
- CITAC/EURACHEM GUIDE 11.12.3
 - サンプリング、サブサンプリング、試料の取扱、試料の調製及び試料の抽出に使用する装置は、最終結果に影響を及ぼす試料の性状の予期しない変化を回避するように選定することが望ましい。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 13.3.5
 - 例えば、標準物質に対する検出器又はセンサーの応答レベル、分離システムによる成分混合物の分離能、測定標準の分光特性等を基にして、性能点検（システム適合性点検）を試験方法に組み入れることができることが多い。これらの点検は装置を使用する前にきちんと完了していなければならない。

5.5.6

- CITAC/EURACHEM GUIDE 13.2.1
 - 汎用器具は、代表的には必要に応じて洗浄及び安全点検によってのみ保守される。校正又は性能点検は、設定が試験又は分析結果に重大に影響しうる場合に必要である（例えば、マッフル炉または恒温槽の温度）。かかる点検は文書化する必要がある。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 13.3.3
 - 定期的な手入れ、洗浄及び校正を行った上で、正しく使用しても必ずしも機器が適切に動作することは保証されない。適宜、定期的な性能点検を行うことが望ましい（例えば、光源、センサー及び検出器の応答、安定性及び直線性、クロマトグラフシステムの分離効率、分光計の分解能、アライメント及び波長精確さ等）。付属書 A 参照。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 13.3.4
 - 性能点検の頻度は、マニュアル又は操作手順書の中で規定してもよい。規定さ

れていない場合は、経験によって、及び装置の必要性、形式及び過去の性能に基づいて決定される。点検する間隔は、実際に装置が許容範囲外にドリフトするのに要する時間より短いことが望ましい。

5.5.9

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 19.5
 - 意図的又はその他のいずれかに関わらず装置が停止した後、及びサービス又は他の本格的な保守後に、機器校正がなされていることを点検する必要がある。

5.5.10

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 19.5
 - 校正のレベル及び頻度は、従前の経験に基づくことが望ましく、少なくとも製造者が推奨したレベル及び頻度であることが望ましい。校正の手引きを付属書 A に示した。

5.6 測定のトレーサビリティ

5.6.1 一般

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 19.5
 - 校正を行う手順は、特定の分析方法の一部として又は一般的校正文書として、適切に文書化する。この文書には、校正の実施方法、校正が必要な頻度、校正失敗の場合に講じるべき措置を示すことが望ましい。物理的測定標準の再校正の頻度も示すことが望ましい。

5.6.2 特定要求事項

5.6.2.2 試験

5.6.2.2.1

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.1
 - ある分析試験では、重量法による重量測定及び滴定法による容積測定などの物理特性の測定に密接に依存する。これらの測定値は試験結果に重要な影響を及ぼすので、これらの量に関する適切な校正プログラムが不可欠である。加えて、化学標準の純度又は濃度を確定するために使用される測定器機の校正を考慮する必要がある。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.2
 - 試験が、引火点のような試料の実験値を測定するために行われる場合は、装置は国家又は国際標準方法に規定されていることが多く、入手できるならば、トレーサブルな標準物質を校正目的のために使用することが望ましい。

5.6.2.2.2

- CITAC/EURACHEM GUIDE 15.2
 - pH、温度等の測定式にない他の量も、結果に重大な影響を与えることがある。その場合は、これらの量を管理するために使用された測定のトレーサビリティにも適切な測定標準にトレーサブルである必要がある。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 15.4
 - 多くの分析では、抽出、温浸、誘導体化及びけん化が通常必要である場合は、主要な課題は、最終測定プロセスにある試料中の分析対象成分の量と比べて、元来の試料中の分析対象成分の量の良好な知見を得ることができるかである。このかたより（時に“回収率”と呼ばれる）は、プロセスでの損失、汚染又は妨害が原因である。これらの影響の幾つかは、再現性の不確かさの中で明白になるが、他は別途の考慮が必要である系統的な影響である。
方法のかたよりを扱うために利用できる戦略には、以下を含む。
 - 既知でかたよりの小さな一次法又は参照法の使用
 - 非常に類似したマトリクスを持つ認証組成標準物質との比較
 - 重量法を用いてスパイクされた試料及びブランクの測定
 - 損失、汚染、妨害及びマトリクス効果の検討
- CITAC/EURACHEM GUIDE 15.5
 - SI 単位系へのトレーサビリティを達成することの限界は、複雑なマトリクス中の分析対象成分の回収率のようなかたよりを評価する困難さ及びその不確かさに由来する。ここでの選択肢は、方法により測定量を定義すること及び参照法 / 標準物質を含む明示された標準物質へのトレーサビリティを確立することである。そのような測定はトレーサビリティの概念は貧弱で、決めた標準に対しては不確かさとしては小さくなる。代わりに、かたよりを推定し、補正できる。そして、かたよりによる不確かさも推定し、総合的不確かさの評価に含むことができる。これにより、SI 単位系へのトレーサビリティを主張できるだろう。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 19.2
 - 正規に指定された測定標準が使用できない場合は、適切な特性及び安定性をもつ物質を試験所が選定又は調製し、試験所測定標準として使用することが望ましい。この物質の必要な特性については、繰り返し試験により、好ましくは、2 つ以上の試験所によって、妥当性確認された種々の方法 (ISO ガイド 35:C6 参照) を使用して値付けすることが望ましい。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.3
 - 通常の測定操作の一部として校正が必要であるクロマトグラフと分光計等の機器は、既知組成の標準物質 (*純正化学品の溶液でも可) を使用して校正することが望ましい。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.4
 - 場合によっては、分析プロセス全体の校正は、試料の測定値と適切な標準物質

を試料と同じ全分析プロセスを通して得られた結果と比較することにより行うことができる。標準物質は、既知の（及び好ましくは認証された）純度の物質から試験所で調製した合成混合物、又は購入した認証組成標準物質のどちらでも良い。しかし、そのような場合は、マトリックスの性質の点で、測定用試料及び組成標準物質との間の密接な一致及び分析対象成分の濃度が保証されていなければならない。

5.6.3.2 標準物質

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 20.7
 - 認証標準物質の組成は、試料の組成に可能な限り近いことが望ましい。マトリックスの妨害がある場合には、理想的には、信頼できる方法で認証された同等の組成標準物質を使用して実証することが望ましい。かかる物質を入手できない場合には、標準物質としてスパイクされた試料を使用しても良い。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 20.8
 - 認証標準物質の使用者は、全ての物質が同じ厳密さの程度で妥当性確認されているとは限らないことを認識することが望ましい。*均質性試験、安定性試験、認証で使用された方法の詳細、及び指定された成分値の不確かさと変動値は、通常、製造者から入手できるので、系統を判定するために使用することが望ましい。*認証標準物質には、認証値の不確かさ見積もりを含む証明書を添付しなければならない。

5.6.3.4 輸送及び保管

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 20.9
 - 標準物質及び認証標準物質は、ラベルを付けて明確に識別し、添付された証明書又は他の文書と対照して参照し易くしておくことが望ましい。使用期限、保管条件、適用範囲、使用制限を示す情報も添付しておくことが望ましい。試験所内で調合した標準物質（例えば、溶液）は、ラベルを付ける時には試薬と同じ扱いをすることが望ましい。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 20.10
 - 標準物質及び測定標準は、汚染又は劣化を防ぐように取扱うことが望ましい。*要員の教育・訓練手順書には、これらの要求事項を反映することが望ましい。

5.7 サンプルング

5.7.1

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.5
 - 大量の物質から適切な1つの試料又は複数の試料を分取することは、極めて重要な操作である。得られた最終結果が全体を代表する値でなければならないのでサンプルングは、理想的には、その分析の全般的な背景を理解している熟練した試

料採取者によって、又はその指揮下で行うことが望ましい。

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.6
 - サンプルング手順を文書化する時、使用する全ての用語を明確に定義することを確実にすることが重要である。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.8
 - サブサンプル：選定又は分割によって得た試料の一部分、又は試料の一部として採取されたロットの個々の単位、若しくは多段階サンプルングの最終単位を指す。

5.7.2

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.14
 - 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とするように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し、分析報告書に記載する。

5.7.3

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.12.5
 - サンプルングプロセスを厳密に反復できるように、たどった手順の明確な記録を試料採取者が保管することは極めて重要である。

5.8 試験品目の取扱い

5.8.2

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.15
 - ラベリングは試料の包装にしっかりと貼り付けなければならない。また、適宜、退色、オートクレーブ処理、試料又は試薬のこぼれ、温度及び湿度の妥当な変化に耐えなければならない。
(JAB注：ラベリングはラベルを含む識別表示全体を意味する。)
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 12.1
 - 試料は、その完全性を確実にするように、保管されなければならない。特に、試料は交差汚染の可能性がない方法で保管しなければならない。試験所は、劣化、汚染がないように、しかも識別が維持されるようにこれらを保守することが望ましい。

5.8.3

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.16
 - ある試料、例えば、訴訟に関与する試料等は、ラベリング及び文書化に関して

特別な要求事項をもつ場合がある。ラベルには、試料採取者及び試料に関与した分析者を含む全ての担当者を識別することが要求される場合がある。これは、ある署名者（ラベル上に識別されている）が次の署名者に試料を手渡すというようにして、試料の連続性維持の証明を受領によって裏付けることがある。これは、一般に、“管理の連鎖”として知られている。

5.8.4

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.13
 - 試料の操作に使用する試料の包装材及び機器は、試料に接触するあらゆる表面が不活性であるものを選定することが望ましい。容器又はその栓から試料に溶出する金属又は可塑剤による試料の汚染の可能性に対して特別な注意を払うことが望ましい。試料が化学的な、微生物学的な、又は他の危険を引き起こすことなく取り扱うことができるように包装を確実なものとするのが望ましい。
- ・ AOAC:2006 5.8.4
 - すべての当事者が、サンプルがどれくらいの期間で再試験ができ、又は回収できるのかを分かるようにするために、最低限の保存期間及び保管条件を品質システムに文書化し顧客に伝えることが望ましい。

5.9 試験結果の品質の保証

5.9.1

- ・ ISO/IEC 24276:2006 6.2 Interpretation of controls
- ・ ISO/IEC 24276:2006 6.6 Quality assurance requirements
- ・ CAC/GL 74-2010 Section 4 – QUALITY CONTROL REQUIREMENTS (par. 37.~40.)
- ・ CAC/GL 74-2010 ANNEX I SPECIFIC INFORMATION REQUIRED FOR PROTEIN-BASED METHODS (par. 14.~17.)
- ・ CAC/GL 74-2010 ANNEX I INFORMATION ABOUT THE METHOD PERFORMANCE (par. 18. ~ 26.)
- ・ CAC/GL 74-2010 ANNEX I ANALYTICAL CONTROLS (par. 31. 32.)
- ・ CAC/GL 74-2010 ANNEX I METHOD PERFORMANCE (par. 33.)

5.9.1, 5.9.2

- ・ ISO/IEC 24276:2006 5.2 Use of controls
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.2
 - QC*(Quality Controlの略; 以下同様)のレベル及び種類は、重要性、分析の内容、分析の頻度、バッチの大きさ、自動化の程度及び試験の難易度と信頼性によって異なる。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3

- 内部 QC : これは、ブランク、測定標準、スパイクされた試料、ブラインド試料、繰返し分析及び QC 試料の使用を含む様々な実施形態をとる。特に*QC 試料をモニターするために管理図の使用を推奨する。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3.1
 - 採用する QC のレベルは、結果の妥当性を確実にするために十分でなければならない。プロセス内の各種変動値を監視するために各種の品質管理を使用することができる。試料のバッチにおいて間隔をおいて QC 試料を分析することにより、システムの変動傾向が分かる。種々のブランクを使用すれば、分析対象成分からの寄与に加えて機器への寄与も明らかになる。試料の 2 回分析は、ブラインド試料の分析と同様に繰返し性の点検となる。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3.2
 - QC 試料は、十分に安定であり、長期間にわたって分析のために利用できるほど十分な量を確保している代表的な試料である。長期間にわたる、分析プロセスの性能のランダムな変動値は、QC 試料の分析値をモニターし、通常、管理図にプロットすることにより監視できる。QC 試料の値が許容できる範囲内である限り、QC 試料と同じバッチの試料の結果は信頼できるとみなすことができる。QC 試料から得られた値が許容範囲内かどうかを分析プロセスで可能な限り早急に検証して、システム不具合の状態のまま、信頼性のない試料分析を続けるというような無駄な努力を少なくするようにすることが望ましい。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3.3
 - 方法の信頼性及び作業の重要性を考慮してリスクアセスメントに基づいて、品質管理の適切なレベルを設定し、妥当なものにすることは、分析者の責任である。ルーチン分析については、5_% の内部 QC のレベルが妥当と認められてきた。即ち、20 試料中 1 試料は QC 試料であることが望ましい。しかし、大量の試料処理量を扱う安定的なルーチン分析の場合は、QC のレベルを低くしても妥当である。より複雑な手順では、20_% のレベルは普通で、時には 50_% のレベルでさえ必要な場合がある。稀に実施する分析については、全面的なシステムの妥当性確認をその都度実施することが望ましい。これには、試料とスパイクされた試料（既知量の分析対象成分を意図的に添加した試料）の繰返し分析に従って、一般的に分析対象成分の濃度が認証された又は既知の標準物質の使用が必要である。より頻繁に実施する分析については、管理図及び検定用試料の使用を組み込んだ系統的な QC 手順に従うことが望ましい。
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.4
 - 技能試験（外部 QC）：自らの要求事項及び他の試験所の基準の双方に対して分析試験所の能力を監視する最善の方法の一つは、定期的に技能試験スキームに参加することである（C7 参照）。技能試験は、試験所間の繰返し性及び再現性だけでなく、系統誤差、即ち、かたよりを明確にすることにも役立つ。技能試験及び他の種類の相互比較分析は、国内及び国際レベルで*分析結果の質を監

視する重要な手段として受け入れられている。

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 21.5
 - 認定機関は、試験所の能力及び審査プロセス自体の有効性の客観的証拠として、これらのスキームの利点を認めている。可能な場合、試験所は、国際的な規格（C7 参照：ISO/IEC Guide43）に従って運営している技能試験スキームを選択し、*当該試験所で得る分析結果の質の明白な証拠を、例えば、認定又は他の同等性審査（B16 参照：ILAC G13）により持つことが望ましい。認定された試験所は、通常、*QA プロトコルの不可欠な部分として技能試験（適切なスキームがある場合）に参加することを要求している。力量のチェックの手段として技能試験の結果を監視し、必要に応じて是正処置を講じることは重要である。

5.10 結果の報告

5.10.1 一般

- ・ ISO 24276:2006 6 Interpretation and expression of results
 - 6.1 General
- ・ ISO 24276:2006 6.3 Expression of a negative result
- ・ ISO 24276:2006 6.4 Expression of a positive result
- ・ ISO 24276:2006 6.5 Expression of ambiguous result
- ・ CAC/GL 74-2010 Section 3.1.4 – Unit of Measurement and reporting of results
(par. 21. 22.)

5.10.2 試験報告書

- ・ ISO/IEC 24276:2006 7 Test report
- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.12.7
 - 試験所がサンプリング段階に責任がない場合、試料を受け取ったそのままを分析した旨、報告書の中に記述することが望ましい。

5.10.3 試験報告書

- ・ ISO/IEC 24276:2006 7 Test report

付属書 A

A1. -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 (ガラス製温度計)	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
精密はかり	トレーサブルの条件を満たした校正	1年毎
校正分銅	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
ガラス体積計	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

A2. -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、 *水浴、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) 空気流の監視	(b) 使用毎
設備の種類	要求事項	示唆される頻度
クリーンベンチ	性能の立証	据付時及び修理又は改善後
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
はかり	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
純水製造装置 (イオン交換装置及び逆浸透膜装置)	導電率のチェック	週毎
ピペッター又はピペット	分注量の精確さ ^(注) のチェック	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)
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
サーマルサイ클ラー	(a) 通常の方法に対する性能の立証	据付時及び1年毎
	(b) 温度及び時間の監視	1年毎
	(b) パフォーマンスチェック	使用毎

	(システム内蔵)	
リアルタイムPCR装置	(a) 通常の方法に対する性能の立証	据付時及び1年毎
	(b) パフォーマンスチェック (システム内蔵)	使用毎
シーケンサー	(a) 通常の方法に対する性能の立証	据付時及び1年毎
	(b) パフォーマンスチェック (システム内蔵)	使用毎
電気泳動装置 写真撮影装置を含む	(a) 通常の方法に対する性能の立証	据付時及び1年毎
	(b) 光源安定性	定期的(通常使用される 頻度及び使用方を考慮 して規定される)
	(c) 分離能、感度/解像度のチェック	使用毎
マイクロプレート リーダー	(a) 通常の方法に対する性能の立証	据付時及び1年毎
	(b) 光源安定性	定期的(通常使用される 頻度及び使用方を考慮 して規定される)
	(c) 検出器 (ゼロ点調整、安定性、精確さ ^(注))	使用毎

(注) 精確さ(accuracy) : 真度(trueness)と精度(precision)とを含めた総合的な良さ。

(出典 : JIS K 0211:2005)

付属書 B 一連の工程とコントロール使用の関係 (引用 : ISO 24276:2006 Table-1)

(Flow diagram showing intersection between successive steps and inclusion of controls)

管理工程 Control step	環境コントロール b Environment Control	抽出ブランクコントロール c Extraction blank control	陽性抽出コントロール d Positive extraction control	陽性 DNA 対象コントロール e Positive DNA target control	陰性 DNA 対象コントロール f Negative DNA target control	増幅試薬コントロール g Amplification reagent control	PCR 阻害コントロール h PCR inhibition control
均質化 Homogenization	推奨 recommended						
核酸抽出 Nucleic acid extraction	↓ ^a	一連の試験毎 One per series	一定の間隔で必須 Mandatory at regular intervals				
核酸品質の評価 Assessment of nucleic acid quality	↓	↓	↓				
核酸増幅 Nucleic acid amplification	↓	↓	↓	必須 mandatory	推奨 recommended	必須 mandatory	推奨 場合によっては必須 ⁱ recommended, but mandatory in certain cases
核酸増幅の結果の評価 Assessment of results of nucleic acid amplification	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
判定 Interpretation		↓	↓	↓	↓	↓	↓
試験報告書 Test report		↓	↓	↓	↓	↓	↓

- a 矢印は、このコントロールが後に続く分析工程にも適用されるのが望ましいことを示している。
The arrows indicate that this control should be applied in the subsequent analytical steps.
- b “環境コントロール”の用途は、試験所における初期の段階での汚染源の特定、また、汚染している作業区域の特定である。
The use of environment controls will help the laboratory to identify sources of contamination at an early stage and can even be used to identify in which work area the contamination is present.
- c 1つ以上の試料から DNA を抽出する毎に、少なくとも1つの“抽出ブランクコントロール”を必ず一連の試験の最後に実施する。
例えば 8 本掛けチューブラック又は自動抽出用の 96 穴マイクロプレートには、「抽出ブランクコントロール」を 1 つ実施することが適切である。
At least one extraction blank control shall be included each time DNA is extracted from one or more samples. The tube shall always be the last in each series. It may be appropriate to put one extraction blank on e. g. a rack of eight tubes or a microplate of 96 wells for automated extraction.
- d 「陽性抽出コントロール」は常に実施することが望ましく、また、新しいバッチの抽出試薬を使用する場合には必ず実施する。このコントロールは、試薬又は抽出プロトコルの抽出性能に不適切な点がないか明らかにする。
A positive extraction control should be included regularly, and always when a new batch of extraction reagents is used. This control will reveal if something is wrong with the reagents or the performance of the extraction of the extraction protocol.
- e 「陽性 DNA 対象コントロール」は、核酸増幅の手順が GMO 又は「対象生物種 (target taxon)」を代表する核酸を検出できることを実証する。
これは、適切な「陽性抽出コントロール」によっても同様に実証できる。
The positive DNA target control demonstrates the ability of the nucleic acid amplification procedure to detect the nucleic acid representative of the GMO or target taxon. This condition can also be fulfilled by an appropriate positive extraction control.
- f 「陰性 DNA 対象コントロール」は、核酸増幅の手順が、GMO 又は「対象生物種 (target taxon)」を代表する核酸が存在しない時に偽陽性とならないことを実証する。
The negative DNA target control demonstrates the ability of the nucleic acid amplification procedure to avoid false positive amplification in the absence of the nucleic acid representative of the GMO or target taxon.
- g 「増幅試薬コントロール」は、使用した PCR 試薬のバッチに核酸の汚染がないことを実証する。「抽出ブランクコントロール」が使用されている場合には、「増幅試薬コントロール」を省略できる。
The amplification reagent control demonstrates the absence of contaminating nucleic acid in the PCR reagent batches used. The amplification reagent control can be omitted when the extraction blank control is used.
- h 「PCR 阻害コントロール」は、可溶性妨害物質が存在しないことを実証するのに用いる。これは、鋳型核酸の連続した（段階的）希釈でも実証される。
しかしその場合であっても、試料の分析結果に対する可溶性妨害物質の影響について、何らかの評価を行うこと。
The PCR inhibition control may be used to demonstrate the absence of soluble inhibitors. This may also be demonstrated by serial dilutions of the template nucleic acid. However, some type of assessment of the effect of soluble inhibitors on the results of the analysis of the sample shall be made.
- i 試験品の PCR 結果が全て陰性の場合及び増幅可能な DNA 量が不明なマトリックスに対しては、「PCR 阻害コントロール」は必須である。
A PCR-inhibition control is mandatory, if all PCR-tests on the sample are negative and for matrices where the yield of amplifiable DNA is not known.

付属書 C (引用 : ISO 24276:2006 6.2)

コントロールの解釈

Interpretation of controls

それぞれのコントロールは、妥当であると実証された値を持ち、そしてそれぞれのコントロールに対し、その観測結果が異なる場合、分析を再度実施すること。

Each control has a valid value and, if the observed result for any control is different from the valid value, the analysis shall be repeated.

「環境コントロール」は、「陽性」(予想されるサイズの増幅産物が検出)又は「陰性」(検出しうる増幅産物がない)となるであろうが、「陽性」結果が出た場合は必ず試験所環境の汚染の除去及び防止のための手段を講じること。

Environmental controls may be positive (amplification product of expected size detected) or negative (no amplification product detectable), but a positive result shall always initiate measures to remove and prevent contamination of the laboratory environment.

その他のコントロールに対して妥当でない結果が繰り返し得られる場合、誤りを招いた原因を突き止め、その原因の除去/交換の手段を講じ、その後再度分析を実施すること。

If a non-valid result for any of the other controls is obtained repeatedly, measures shall be taken to locate and remove/replace the source(s) responsible for the error, and the analysis then repeated.

すべてのコントロールで妥当な結果を得た場合のみ分析結果を報告すること。各コントロールの妥当な結果とは以下の通り。

Analytical results shall only be reported when all controls yield valid values. The valid values for the controls are as follows:

- 陽性抽出コントロールは常にすべて陽性とならねばならない。
- positive extraction controls shall always be positive;
- 抽出ブランクコントロールは常にすべて陰性とならねばならない。
- extraction blank controls shall always be negative;
- 陽性 DNA 対象コントロールは常にすべて陽性とならねばならない。
- positive DNA target controls shall always be positive;
- 陰性 DNA 対象コントロールは常にすべて陰性とならねばならない。
- negative DNA target controls shall always be negative;
- 増幅試薬コントロールは常にすべて陰性とならねばならない。
- amplification reagent controls shall always be negative.

増幅反応において、PCR 阻害コントロールは有意な阻害効果を示してはならない(定性分

析においては、阻害の影響は定量分析ほど重要でないかもしれない)。

PCR-inhibition controls shall not show significant inhibitory effects on the reaction (for qualitative analysis, the effect of inhibition may be less important than for quantitative analysis).

起こり得る各コントロールの PCR 結果を表に示す。これらは試験結果の解釈 / 報告に利用される。Possible PCR results of the controls are listed in Table 2. These are used for interpreting/reporting the test sample result.

表： PCR 結果の例

試験品 Test sample	陽性抽出 コントロール Positive extraction control	抽出ブランク コントロール Extraction blank control	陰性 DNA 対象 コントロール Negative DNA target control	陽性 DNA 対象 コントロール Positive DNA target control	評価結果 Interpreted result
+ ^a	+	-	- ^b	+	陽性 positive
-	+	-	-	+	陰性 negative
+	+	+	-	+	判定不可 ^c inconclusive
-	-	+	-	-	判定不可 ^c inconclusive
-	-	-	-	-	判定不可 ^d inconclusive
<p>a PCR 産物を検出 PCR product is detectable.</p> <p>b PCR 産物不検出 No PCR product is detectable.</p> <p>c 抽出工程から操作をやり直す (コンタミネーションの可能性あり)。 The procedure is repeated beginning with the extraction step (possible contamination).</p> <p>d 他の抽出方法を用いるか又は精製工程を加えて再度操作を行う (妨害の可能性あり)。 The procedure is repeated using another extraction method or a further purification step (possible inhibition).</p>					

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

本協会に無断で記載内容を引用、転載及び複製することを固くお断り致します。