

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

「認定の基準」についての指針

- 微生物試験 -

JAB RL359:-200313

第2版：2013年9月1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

37		
38		目次
39		
40	はじめに	3
41	序文	5
42	1 . 適用範囲	5
43	2 . 引用文書	5
44	3 . 用語及び定義.....	5
45	4 . 管理上の要求事項.....	5
46	5 . 技術的要求事項	5
47	5.1 一般	5
48	5.2 要員	5
49	5.3 施設及び環境条件.....	6
50	5.4 試験・校正の方法及び方法の妥当性確認.....	8
51	5.5 設備	11
52	5.6 測定のトレーサビリティ	15
53	5.7 サンプルング	15
54	5.8 試験・校正品目の取扱い	16
55	5.9 試験・校正結果の品質の保証	17
56	5.10 結果の報告	18
57	附属書 A (EA-4/10 の附属書 D に対応する).....	19
58	附属書 B (EA-4/10 の附属書 E に対応する).....	20
59	附属書 C (EA-4/10 の附属書 F に対応する).....	22
60	JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書	23
61	JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書	45
62		
63		
64		

「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。そうした要請に応じて、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。そうした要請に応じて、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。

109 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
 110 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()
 111 内に指針番号も記載した。

113 本指針本文書は、JAB が JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025) に基づき認定するにより認定
 114 した微生物試験を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
 115 合衛生管理製造過程 (HACCP システム) 及び業務の管理 (GLP システム) に基づく試
 116 験所の登録に影響を及ぼすものではない。

117 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
 118 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
 119 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
 120 えることがなく、また JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025) JAB RL100-2000と直接重複し
 121 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
 122 Accreditation for Microbiological Laboratories, Edition 2, April 2002」を翻訳したも
 123 のであり、附属書 は「EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories,
 124 Edition 2, April 2002」の原文 (英語) である。

125 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
 126 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
 127 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
 128 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
 129 いるものであるが、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
 130 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。翻
 131 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。

132 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
 133 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
 134 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。

136 ・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
 137 生物試験- は現在廃版である。当時の文書から引用しているが、その後変更が
 138 必要と判断した箇所については本文書改訂時に修正している。該当箇所につい
 139 ては記号「*」を付けている。文書番号「RL358」は 2013 年現在、分子生物学
 140 的試験の認定指針として使用している。

141 ・注 2) 「認定の基準」についての指針 -化学試験-

143 【その他引用文書について】

144 ・ ISO/TS 19036 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Guidelines for the
 145 estimation of measurement uncertainty for quantitative determination

146 内容については原文を参照されたい。

147 ・ CAC/GL 54-2004 GUIDELINES ON MEASUREMENT UNCERTAINTY

148 内容については原文を参照されたい。

149 ・ CITAC/EURACHEM GUIDE Edition 2002

150 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
 151 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
 152 通じて許可されている。なお、原文 (英文) 及び日本語版は、JAB RL355 (化学試験)

153 の附属書を参照されたい。

154

155 序文

156

157 1. 適用範囲

158

159 2. 引用規格

160

161 3. 用語及び定義

162

163 4. 管理上の要求事項

164

165 5. 技術的要求事項

166 5.1 一般

167 5.2 要員

168 5.2.1

169 ・ EA-4/10 2.1

170 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
171 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
172 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
173 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。
174 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。

176 ・ EA-4/10 2.3

177 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
178 の検証が必要である。

179 ・ 旧 RL358 5.2.1

180 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
181 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
182 検討を実行し文書化する。

183 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。

184 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
185 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
186 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
187 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
188 て確立すること。

189 ・ 旧 RL358 4.2.2

190 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
191 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。

192

193 5.2.2

194 ・ EA-4/10 2.3

195 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
196 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、

197 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
198 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
199 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
200 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。

201

202 5.2.5

203 ・EA-4/10 2.4

204 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
205 ことの方がより適切な場合もある。

206

207 5.3 施設及び環境条件

208 5.3.1

209 ・EA-4/10 3.1.1

210 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
211 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
212 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
213 い。

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

218 ・EA-4/10 3.1.2

219 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
220 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
221 に示される。

- 222 (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
223 設する。
- 224 (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
225 (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。
- 226 (c) 時間や空間によって活動を分離する。

227 ・EA-4/10 3.1.3

228 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
229 で、良好な実施とみなされる。

- 230 - 試料の受領と保管区域
- 231 - 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
232 れた区域が使用されることが望ましい。)
- 233 - 培養を含む試料の試験区域
- 234 - 標準微生物の調製区域
- 235 - 滅菌を含む培地と設備の準備区域
- 236 - 無菌的操作区域
- 237 - 汚染除去区域

238 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
239 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
240 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
241 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

242 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
243 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
244 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
245 ましい。

246 • EA-4/10 3.1.4

247 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
248 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
249 全体につり合っていることが望ましい。

250 • EA-4/10 3.1.5

251 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
252 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
253 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
254 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
255 い。

256 • EA-4/10 3.1.6

257 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。

258 -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
259 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
260 れない。

261 -床、壁、天井の間の接続をなめらかな凹状とする。

262 -試験が実施される間の窓、扉の開きを最小限にする。

263 -日よけは室外に設置する。

264 -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。

265 -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
266 だしのままにしないようにする。

267 -換気設備の吸気口には防塵フィルターを設置する。

268 -手洗い設備の分離、なるべく自動とする。

269 -戸棚は天井に至るまでの高さとする。

270 -未加工でむき出しの木製品の設備にしない。

271 -設備や備品の木製表面は相応の被覆をする。

272 -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。

273 -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。

274 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
275 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
276 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
277 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
278 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。

279 • EA-4/10 3.1.7

280 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
281 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
282 ることを証明することが望ましい。

283 • 旧 RL358 5.3

284 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
285 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**
286 **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

287 ましい。

288

289 5.3.2

290 ・ EA-4/10 3.2.1

291 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
292 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
293 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順を持つこ
294 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
295 しい。

296 ・ EA-4/10 3.3.1

297 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
298 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、
299 漏出の際の対処方法があることが望ましい。

300 ・ EA-4/10 3.3.2

301 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
302 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
303 られることが望ましい。

304 ・ EA-4/10 3.3.3

305 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
306 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
307 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
308 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、
309 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。

310 ・ 旧 RL358 5.3.3

311 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
312 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
313 的に分離する必要の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
314 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
315 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
316 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
317 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
318 理されることが望ましい。」

319

320 5.4 試験・校正の方法及び方法の妥当性確認

321 5.4.1 一般

322 ・ 旧 RL358 5.4.1

323 多くの場合、“公定法（Official Methods）”及び“法的に定められた標準法（Legal
324 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
325 しい。

326 ・ 旧 RL358 5.4.2

327 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
328 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
329 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
330 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

331 (FAO/ WHO CAC) 及び Standard Methods for the Examination of Water and
332 Wastewater の方法マニュアルにある。

333 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
334 な出版物を提供している。

335

336 5.4.5 方法の妥当性確認

337 ・ EA-4/10 4.1

338 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。
339 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
340 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
341 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
342 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、
343 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
344 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
345 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。

346 ・ EA-4/10 4.2

347 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
348 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、
349 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
350 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)、
351 ISO13843 (水)、ISO4831 を参考にする。

352

353 5.4.5.3

354 ・ EA-4/10 4.3

355 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
356 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
357 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
358 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、
359 適切な統計学的方法で評価されることが望ましい。

360 ・ EA-4/10 4.4

361 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
362 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
363 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データと
364 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
365 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。

366 ・ EA-4/10 4.5

367 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
368 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
369 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
370 当でなければならない。

371 ・ EA-4/10 4.6

372 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
373 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

374 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と
375 が望ましい。

376

377 5.4.6

378 ・ ISO/TS 19036

379 ・ CAC/GL 54-2004

380

381 5.4.6.2

382 ・ EA-4/10 5.1

383 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~~
384 ~~照)*TS Z 0032:2012「国際計量計測用語 – 基本及び一般概念並びに関連用語(VIM)」~~
385 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の評
386 価及び表現の一般的な取り組みは ~~Guide to the Expression of uncertainty in~~
387 ~~Measurement, 1995, ISO Geneva~~ に記述されているように国際度量衡委員会
388 ~~(International Committee for Weights and Measures: CIPM)~~ * TS Z 0033:2012
389 「測定における不確かさの表現のガイド」によって作成された提唱に基づいている。

390 ・ EA-4/10 5.2

391 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
392 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
393 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）
394 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
395 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
396 望ましい。

397 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
398 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
399 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
400 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
401 る重要性は、同様に、考慮に入れることが望ましい。

402

403 5.4.6.3

404 ・ EA-4/10 5.3

405 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
406 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。
407 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
408 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。
409 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
410 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、
411 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。

412 ・ EA-4/10 5.4

413 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
414 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、
415 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
416 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
417 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
418 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
419 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。

420 ・ 旧 RL358 5.4.6.3

421 できれば、標準物質又は*管理サンプル試料は、分析方法で日常的に試験されている
422 もの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
423 のため、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、
424 変動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
425 かさとして記述される。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
426 と同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
427 を見積もり、記載する。

428

429 5.5 設備

430 5.5.1

431 ・ EA-4/10 6

432 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
433 れた計画を運用することが要求される。

434 ・ EA-4/10 6.1.1

435 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
436 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
437 示す。

438 ・ EA-4/10 6.1.2

439 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
440 しい。

441 -使い捨て器具は、適宜消毒し滅菌する。

442 -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。

443 -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
444 い。

445 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
446 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
447 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。

448 ・ EA-4/10 6.1.3

449 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
450 適切な滅菌によって保全される。

451 -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
452 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
453 又は使い捨てプラスチック製器具等

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

456 -容量器具：ピペット、自動分注機、スパイラルプレーター等

457 -測定装置：温度計、タイマー、*天秤はかり、pH メーター、コロニーカウンター

458 等

459

460 5.5.2

461 ・ EA-4/10 6.2.1

462 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
463 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
464 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

465 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
466 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。

467 • EA-4/10 6.2.2

468 温度測定器

469 (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
470 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
471 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*精度真度を
472 達成するために適切な品質にする。

473 (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
474 ければならない。その*精度真度が許容される場合、装置は適切であり、用いら
475 れ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
476 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く
477 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ンキ
478 ュベータや*ウォーターバス水浴にもまた監視する目的で使用することができる。
479 こうした温度測定器は性能の検証が必要である。

480 • EA-4/10 6.2.3

481 インキュベータ、*ウォーターバス水浴、オープン

482 温度の安定性、温度分布の均一性及びインキュベータ、*ウォーターバス水浴、オー
483 プ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
484 表的な使用(例えば、位置、空き間隔、ペトリ皿の積重ね高さ)に配慮して最初に規定
485 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、重要な修理や改
486 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視し、記録を保
487 持する。

488 • EA-4/10 6.2.4

489 オートクレーブ(培地調製装置を含む)

490 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
491 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
492 るということは認められている。

493 (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
494 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
495 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。

496 (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
497 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。

498 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、
499 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
500 た場合には、繰り返さなければならない。

501 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
502 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
503 い。

504 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は、
505 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
506 のセンサーの使用が一般的に適切であると考えられる。

507 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
508 下時間の適切さを考慮することが望ましい。

509 (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
510 基づいた明確な操作手順が規定されるのが望ましい。

511 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
512 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。

513 (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。

514 (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

515 (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

516

517 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、
518 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
519 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
520 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
521 は望ましくない。

522 • EA-4/10 6.2.5

523 分銅及び*天秤はかり

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

525 • EA-4/10 6.2.6

526 容量器具

527 (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
528 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
529 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
530 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
531 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)
532 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
533 は、いくつかの異なる設定において)に対する供給容量の*精確さ真度を確認する
534 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ることが望ま
535 しい。

536 (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
537 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
538 確さ真度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
539 質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
540 ることが望ましい。

541 • EA-4/10 6.2.7

542 その他の設備

543 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
544 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
545 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
546 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
547 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
548 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
549 求される。

550 • EA-4/10 7.1

551 試薬

552 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
553 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、
554 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

- 555 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。
- 556 • EA-4/10 7.2.1 7.2
- 557 試験所内調製培地
- 558 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
- 559 して確認することが望ましい。
- 560 -対象とする微生物の回収率又は生育性
- 561 -非対象微生物の生育抑制性又は生育阻害性
- 562 -生化学的特性（選択性及び特徴）
- 563 -物理的特性（pH、量、無菌性など）
- 564 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
- 565 が優先される。
- 566 • EA-4/10 7.2.2
- 567 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
- 568 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
- 569 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
- 570 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・
- 571 抑制物質のっていない蒸留水、*脱イオンイオン交換或いは逆浸透（RO）水を調製
- 572 用に使することが望ましい。
- 573 • EA-4/10 7.2.3
- 574 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。
- 575 • EA-4/10 7.3.1
- 576 既成培地
- 577 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、
- 578 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
- 579 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。
- 580 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
- 581 とが望ましい。
- 582 • EA-4/10 7.3.2
- 583 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
- 584 製造者の製品規格書を入手しておく必要がある。
- 585 -培地の名称と添加成分を含む構成成分一覧
- 586 -使用期限と適用した承認基準
- 587 -保管条件
- 588 -培地の規格 / 純度
- 589 -滅菌性の確認
- 590 -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
- 591 生物）及び容認基準
- 592 -物理的性状確認と適用した容認基準
- 593 -製品規格書の発行日
- 594 • EA-4/10 7.3.3
- 595 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
- 596 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、
- 597 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。
- 598 • EA-4/10 7.4
- 599 ラベル貼付
- 600 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

601 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
602 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。
603 調製責任者が、記録から識別できることが望ましい。
604

605 5.6 測定のトレーサビリティ

606 5.6.3 参照標準及び標準物質

607 ・ EA-4/10 8.1

608 標準物質

609 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
610 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。

611 -結果の*精確さ真度を実証するため、

612 -装置の校正のため、

613 -試験所の能力を監視するため、

614 -試験方法の妥当性を確認するため、そして

615 -試験方法の比較を行うため。

616 可能ならば、標準物質は、妥当なマトリックスで使用する事が望ましい。

617 ・ EA-4/10 8.2 標準菌株 8.2.1

618 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
619 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
620 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
621 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
622 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
623 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
624 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。

625 ・ EA-4/10 8.2.2

626 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、
627 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
628 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。

629 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
630 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
631 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。

632 ・ EA-4/10 8.2.3

633 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
634 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ければ、
635 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
636 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
637 ことができる。

639 5.7 サンプリング

640 5.7.1

641 ・ EA-4/10 9.1

642 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
643 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
644 されることが強く推奨される。

645 ・ EA-4/10 9.2

646 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)
 647 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
 648 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
 649 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
 650 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。

651 ・ EA-4/10 9.3

652 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
 653 た器具を使用し、無菌的に実施されることが望ましい。

654 ・ ~~旧~~ RL358 5.7.1

655 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
 656 行う試験所は、この手順の一部分を実施する一方の当事者(サンプリング者、試験者)
 657 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。

658 ・ CITAC/EUROCHEM GUIDE 11.14

659 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
 660 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
 661 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
 662 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
 663 し、分析報告書に記載する。

664

665 5.8 ~~試験~~校正品目の取扱い

666 5.8.1

667 ・ EA-4/10 10.1

668 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
 669 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
 670 重要である。

671 ・ EA-4/10 10.2

672 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。

673 ・ EA-4/10 10.3

674 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。

675 (a) 受領の日付、適切な場合、時間

676 (b) 受領時の試料の状態及び必要に応じて温度

677 (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)

678 5.8.2

679 ・ EA-4/10 10.4

680 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
 681 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。

682 ・ EA-4/10 10.5

683 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
 684 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。

685 ・ EA-4/10 10.6

686 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
 687 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
 688 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
 689 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

690 る一般的指針) 5.8.4

691

692 5.8.4

693 ・EA-4/10 10.7

694 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
695 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
696 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
697 れることが望ましい(11.1を参照)。

698 ・EA-4/10 11.1

699 汚染した廃棄物の廃棄

700 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
701 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
702 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
703 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。

704

705 5.9 試験・校正結果の品質の保証

706 ・EA-4/10 12.1 内部品質管理 12.1.1

707 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
708 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
709 れた基準に適合していることを保証することである。

710 ・EA-4/10 12.2. 外部評価(技能試験) 12.2.1

711 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
712 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
713 ることがある。

714 ・EA-4/10 12.2.2

715 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
716 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。

717 ・旧RL358 5.9

718 食品化学及び食品微生物試験所は、*精確さ真度及び各試料のバッチに関連する精度
719 を決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
720 試料(QCS)を*適切な頻度(通常は20試料毎、又はそれ以下)でに実施する。また、
721 試験所は各試料のバッチと同時に管理試料又は*試料の繰返し試験を*適切な頻度(通
722 常は20試料毎、又はそれ以下)でに実施する。統計的プロセス管理図は品質管理試
723 料(QCS)分析及び繰返し分析に対して作成する。*精確さ真度及び/又は精度の合
724 否判定基準外である全ての管理試料に対して是正処置を取る。関係する試料バッチを
725 公表することで合否判定基準に対して、試験所は上限管理限界及び下限管理限界(±
726 標準偏差)を使用する。培地、及び毎日の工程管理チェックを含む日常ベースでの成
727 績を評価するために、CRM(Certified Reference Material)、RM(Reference Material)、
728 及びRC(Reference Culture)を使用する。試験前に入手できる文書化された手順に
729 従って試験結果の妥当性を評価するために、これらのデータを使用する。適用できる
730 場合、統計的工程管理(SPC)の手順を使用できる。すべての試験所は、毎日の試験
731 と同時に、利用できる場合CRC(+菌株)を、もしそうでなければRC(+菌株)を使
732 用した管理を行わなければならない。試験の有効性に関連がある場合、これらの結果
733 を解釈するために手順及び方針がなければならない。適切な管理及び文書がある場合、

734 この手順は、培地の許容性（試験と同時に）を検証するのに使用できる。適当な RM
735 がある場合、反復試験を使用しなければならない。これらの物質及び技能試験用物質
736 は、繰返し性（保存品目の再試験又は再校正）を改善するために使用する。品質管理
737 の試料は、長期間にわたって分析に利用できるように、十分に安定でしかも十分な量
738 が確保できる典型的な試料である。この期間での分析方法の能力変動は、QC 用試料
739 の分析結果値を追跡することによって、通常は管理図にプロットすることによって監
740 視できる。内部品質管理の試料分析の頻度は、結果の妥当性を確実にするのに、十分
741 であることが望ましい。

742 • 旧 RL358 技能試験 3

743 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
744 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
745 法に対するこの要求事項を達成するのに十分である。

746 • 旧 RL358 技能試験 4

747 試験所技能の評価

748 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
749 のスキームが、適切/実際のでない場合、試験所は適切な所内のスキームを開発し、方
750 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。

751 • 旧 RL358 指針備考

752 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
753 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。

754

755 5.10 結果の報告

756 • EA-4/10 13.1

757 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」
758 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
759 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
760 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
761 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
762 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」
763 として表現することがある。

764 • EA-4/10 13.2

765 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
766 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
767 に示さなければならない。

768
769
770
771
772
773
774
775

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
<u>*天秤はかり</u>	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

776

777
778
779
780
781
782
783
784

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、 <u>*ウォーターバス</u> <u>浴</u> 、 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
<u>*天秤はかり</u>	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
<u>*脱イオンイオン交換</u> 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 <u>*精確さ真度</u> 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)

スパイラルプレート	(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

785
786

787
788
789
790
791
792
793
794

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)
* <u>ウォーターバス</u> 水浴	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
* <u>天秤はかり</u> 、 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)
* <u>脱イオンイオン交換</u> 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

795
796 JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書
797

798 EA-4/10

799

微生物試験所における認定

800

801

802

803

804

805

806

807

808

809

810

811

812

813

814

815

816

817

818

819

820

821

822

823

824 公益財団法人 日本適合性認定協会

825 〒141-0032 東京都品川区大崎2丁目8番8号

826 大崎ウエストビル1F

827 Tel.03-5487-0546 Fax.03-5487-2050

828

829

830

831 ©—2003 JAB

832

833 JAB「認定の基準」についての指針 - 微生物試験 - 附属書

834

835 目次

836

837 1 序文及び文書の適用範囲 25

838 2 要員 26

839 3 環境 26

840 3.1 敷地・建物 26

841 3.2 環境監視 28

842 3.3 衛生 28

843 4 試験方法の妥当性確認 28

844 5. 測定の不確かさ 29

845 6. 設備-保全、校正及び性能の検証 30

846 7. 試薬及び培地 32

847 7.1 試薬 32

848 7.2 試験所内調製培地 32

849 7.3 既成培地 33

850 7.4 ラベル貼付 33

851 8. 標準物質及び標準培養株 33

852 8.1 標準物質 33

853 8.2 標準培養株 34

854 9. サンプルング 34

855 10. 試料の取り扱い及び識別 34

856 11. 汚染した廃棄物の廃棄 35

857 12. 結果の品質保証 / 性能の品質管理 35

858 13. 試験報告書 36

859 附属書 A 用語の定義 37

860 附属書 B 参照文書 39

861 附属書 C 標準培養株の一般的な使用 40

862 附属書 D 校正及び校正のチェックに関する指針 41

863 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

864 附属書 F 設備の保全に関する指針 44

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
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917

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。

918 2 要員 (JIS Q 17025 5.2)

919

920 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
921 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
922 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
923 る。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
924 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
925 が望ましい。

926 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。

927 (5.2.1 項)

928

929 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
930 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
931 する権限を与えられた要員によって実施する。

932

933 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
934 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
935 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
936 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
937 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
938 みサンプルの試験を実施できる。

939 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
940 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
941 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
942 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
943 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
944 ごとに監視されることが望ましい。(5.2.2 項)

945

946 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
947 けることの方がより適切な場合もある。(5.2.5 項)

948

949 3 環境 (JIS Q 17025 5.3)

950 3.1 敷地・建物

951 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
952 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
953 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。

954 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
955 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
956 は次のことを承知していることが望ましい。(5.3.1 項)

957 (a) 特定区域の使用目的

958 (b) 特定区域内での業務上の制限

959 (c) このような制限を課す理由

960 (d) 適切な封じ込めのレベル

961

962 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
963 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
964 ば、以下に示される。(5.3.1 項)

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

967 (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
968 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。

969 (c) 時間や空間によって活動を分離する。

970
 971 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
 972 ことで、良好な実施とみなされる。(5.3.1 項)

- 973 ・ 試料の受領と保管区域
- 974 ・ 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
 975 離された区域が使用されることが望ましい。)
- 976 ・ 培養を含む資料の試験区域
- 977 ・ 標準微生物の調整区域
- 978 ・ 滅菌を含む培地と設備の準備区域
- 979 ・ 無菌的操作区域
- 980 ・ 汚染除去区域

981 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
 982 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
 983 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
 984 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。

985 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
 986 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、
 987 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
 988 DNA 作業環境) 毎に設置されることが望ましい。(5.3.1 項)

989
 990 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
 991 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
 992 部組織全体にっり合っていることが望ましい。(5.3.1 項) 区域の広さは、利
 993 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。

994
 995 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
 996 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。
 997 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
 998 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
 999 ることが望ましい。(5.3.1 項)

1000
 1001 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)

- 1002 ・ 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
 1003 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
 1004 覆材料として推奨されない。
- 1005 ・ 床、壁、天井の間の接続をなめらかな凹状とする。
- 1006 ・ 試験が実施される間の窓、扉の開きを最小限にする。
- 1007 ・ 日よけは室外に設置する。
- 1008 ・ 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
 1009 にする。
- 1010 ・ 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
 1011 納し、むきだしのままにしないようにする。
- 1012 ・ 換気設備の吸気口には防塵フィルターを設置する。
- 1013 ・ 手洗い設備の分離、なるべく自動とする。
- 1014 ・ 戸棚は天井に至るまでの高さとする。
- 1015 ・ 未加工でむき出しの木製品の設備にしない。
- 1016 ・ 設備や備品の木製表面は相応の被覆をする。
- 1017 ・ 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。
- 1018 ・ 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。

1019 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
 1020 れるわけではない。

1021 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
 1022 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
 1023 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

- 1024 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。
- 1025
- 1026 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
- 1027 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
- 1028 れていることを証明することが望ましい。（ 5.3.1 項）
- 1029
- 1030 3.2 環境監視
- 1031 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
- 1032 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
- 1033 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
- 1034 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
- 1035 ることが望ましい。（ 5.3.2 項）
- 1036
- 1037 3.3 衛生
- 1038 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
- 1039 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。
- 1040 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）
- 1041 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
- 1042 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
- 1043 が取られることが望ましい。（ 5.3.2 項）
- 1044 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
- 1045 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
- 1046 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
- 1047 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
- 1048 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。（
- 1049 5.3.2 項）
- 1050 3.3.4 適切な手洗い設備が利用できることが望ましい。
- 1051
- 1052 4 試験方法の妥当性確認（[JIS Q 17025](#) 5.4.5）
- 1053 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。
- 1054 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
- 1055 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。
- 1056 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
- 1057 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
- 1058 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
- 1059 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
- 1060 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
- 1061 合には妥当性確認をする。（ 5.4.5 項）
- 1062
- 1063 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
- 1064 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、
- 1065 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
- 1066 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）。（
- 1067 5.4.5 項）
- 1068
- 1069 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
- 1070 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
- 1071 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
- 1072 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。
- 1073 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
- 1074 項）

- 1075
- 1076 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
1077 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
1078 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
1079 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
1080 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
1081 る責任がある。（ 5.4.5.3 項）
1082
- 1083 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
1084 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
1085 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
1086 的に妥当でなければならない。（ 5.4.5.3 項）
1087
- 1088 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
1089 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
1090 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
1091 することが望ましい。（ 5.4.5.3 項）
1092
- 1093 5. 測定の不確かさ（JIS Q 17025 5.4.6）
- 1094 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
1095 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
1096 かさの評価及び表現の一般的な取り組みは Guide to the Expression of
1097 uncertainty in Measurement, 1995, ISO Geneva に記述されているように国際度
1098 量衡委員会（International Committee for Weights and Measures ; CIPM）に
1099 よって作成された提唱に基づいている。（ 5.4.6.2 項）
1100
- 1101 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
1102 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、
1103 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
1104 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
1105 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
1106 つ証明されることが望ましい。（ 5.4.6.2 項）
1107 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
1108 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
1109 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
1110 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
1111 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）
1112
- 1113 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
1114 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
1115 まれる。
1116 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、
1117 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
1118 れない。
1119 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
1120 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
1121 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
1122 とが望ましい。（ 5.4.6.3 項）
1123
- 1124 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
1125 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、
1126 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、
1127 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

1128 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
 1129 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
 1130 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
 1131 とが望ましい。(5.4.6.3 項)
 1132

1133 6. 設備-保全、校正及び性能の検証 (JIS Q 17025 5.5)

1134 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
 1135 された計画を運用することが要求される。(5.5.1 項)

1136 6.1 保全

1137 (設備の保全の指針は、ISO 7218 に見ることができる。)

1138 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
 1139 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
 1140 Fに示す。(5.5.1 項)

1141 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
 1142 ましい。(5.5.1 項)

- 1143 ・ 使い捨て器具は、適宜消毒し滅菌する。
- 1144 ・ 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。
- 1145 ・ 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
 1146 とが望ましい。

1147
 1148 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
 1149 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
 1150 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。
 1151

1152 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、
 1153 そして適切な滅菌によって保全される。(5.5.1 項)

- 1154 ・ 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
 1155 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
 1156 耳、ステンレス製又は使い捨てプラスチック製器具等
- 1157 ・ *~~ウォーターバス~~水浴、インキュベータ、微生物用キャビネット、オートク
 1158 レーブ、ホモジナイザー、冷蔵庫、冷凍庫等
- 1159 ・ 容量器具 : ピペット、自動分注機、スパイラルプレーター等
- 1160 ・ 測定装置 : 温度計、タイマー、*~~天秤~~はかり、pHメーター、コロニーカ
 1161 ウンター等

1162
 1163 6.2 校正及び性能の検証

1164
 1165 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
 1166 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
 1167 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
 1168 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
 1169 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。(
 1170 5.5.2 項)
 1171

1172 6.2.2 温度測定器

1173
 1174 (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
 1175 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
 1176 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
 1177 真度を達成するために適切な品質にする。(5.5.2 項)
 1178

1179 (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
 1180 なければならない。その*精度真度が許容される場合、装置は適切であり、用い

1181 られ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
 1182 の 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
 1183 温度近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
 1184 してインキュベータや*ウォーターバス水浴にもまた監視する目的で使用す
 1185 ることができる。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）

1186

1187 6.2.3 インキュベータ、*ウォーターバス水浴、オープン

1188

1189 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、オーブ
 1190 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
 1191 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
 1192 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
 1193 な修理や改善の後には確認し、記録する。試験所は、この種の装置の作動温度を監
 1194 視し、記録を保持する。（ 5.5.2 項）

1195

1196 6.2.4 オートクレーブ（培地調製装置を含む）

1197

1198 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
 1199 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
 1200 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
 1201 保証を与えることになるということとは認められている。（ 5.5.2 項）

1202

1203 (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
 1204 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
 1205 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
 1206 能が検証されていることが要求される。（ 5.5.2 項）

1207

1208 (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
 1209 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
 1210 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
 1211 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
 1212 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
 1213 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
 1214 で満たされた容器に）置くことが望ましい。（ 5.5.2 項）

1215 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
 1216 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
 1217 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
 1218 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
 1219 考慮することが望ましい。（ 5.5.2 項）

1220

1221 (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
 1222 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
 1223 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
 1224 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）

1225

1226 (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）

1227 (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

1228 (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

1229

1230 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
 1231 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ーを用いて確
 1232 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
 1233 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
 1234 明するために使用されることは望ましくない。（ 5.5.2 項）

1235

- 1236 6.2.5 分銅及び*天秤はかり (5.5.2 項)
 1237 分銅及び*天秤はかりは定期的に(使用目的に応じて)トレーサブルな校正をする。
 1238
 1239
- 1240 6.2.6 容量器具 (5.5.2 項)
 1241 (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
 1242 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
 1243 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
 1244 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
 1245 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
 1246 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
 1247 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
 1248 さ真度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
 1249 測定することが望ましい。(5.5.2 項)
 1250 (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
 1251 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、
 1252 *精確さ真度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
 1253 た品質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
 1254 認することが望ましい。(5.5.2 項)
 1255
- 1256 6.2.7 その他の設備 (5.5.2 項)
 1257 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
 1258 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
 1259 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)
 1260 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、
 1261 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)
 1262 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
 1263 報によって妥当性確認されることが望ましい。
 1264 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
 1265 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。
 1266
- 1267 7. 試薬及び培地 (JIS Q 17025 4.6 及び 5.5)
 1268
- 1269 7.1 試薬 (5.5.2 項)
 1270 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
 1271 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
 1272 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
 1273 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。
 1274
- 1275 7.2 試験所内調製培地
 1276
- 1277 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
 1278 関して確認することが望ましい。(5.5.2 項)
 1279
 - 1280 ・ 対象とする微生物の回収率又は生育性
 - 1281 ・ 非対象微生物の生育抑制性又は生育阻害性
 - 1282 ・ 生化学的特性(選択性及び特徴)
 - 1283 ・ 物理学的特性(pH、量、無菌性など)
 1284 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
 1285 び 2 が優先される。(5.5.2 項)
 1286

1287 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
 1288 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
 1289 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は、使用されることは望ま
 1290 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・抑制物質の入っていない蒸留水、
 1291 *脱イオンイオン交換 或いは逆浸透
 1292 （RO）水を調製用に使用することが望ましい。（ 5.5.2 項）
 1293

1294 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。
 1295 （ 5.5.2 項）
 1296

1297 7.3 既成培地

1299 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）
 1300 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、客観的な基準により評価することが望ましい。（ 5.5.2 項）
 1301
 1302
 1303

1305 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）
 1306

- 1307 ・ 培地の名称と添加成分を含む構成成分一覧
- 1308 ・ 使用期限と適用した承認基準
- 1309 ・ 保管条件
- 1310 ・ 培地の規格 / 純度
- 1311 ・ 滅菌性の確認
- 1312 ・ 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生物）及び容認基準
- 1313 ・ 物理的性状確認と適用した容認基準
- 1314 ・ 製品規格書の発行日
- 1315

1317 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い。（ 5.5.2 項）
 1318
 1319
 1320
 1321

1322 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、受領した全てのバッチで適切な確認が必要となる。
 1323
 1324
 1325
 1326
 1327

1328 7.4 ラベル貼付

1329 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。調製責任者が、記録から識別できることが望ましい。
 1330
 1331
 1332
 1333

1334 8. 標準物質及び標準培養株 (JIS Q 17025 5.3)

1335 8.1 標準物質 (5.6.3 項)

1336 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。
 1337

- 1338 ・ 結果の*精確さ真度を実証するため、
- 1339 ・ 装置の校正のため、

- 1340 ・ 試験所の能力を監視するため、
 1341 ・ 試験方法の妥当性を確認するため、そして
 1342 ・ 試験方法の比較を行うため。
 1343 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。
 1344
- 1345 8.2 標準培養株 (5.6.3 項)
- 1346
- 1347 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
 1348 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
 1349 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
 1350 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、
 1351 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
 1352 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
 1353 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
 1354 い。(5.6.3 項)
 1355
- 1356 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
 1357 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
 1358 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
 1359 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
 1360 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
 1361 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)
 1362
- 1363 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
 1364 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
 1365 ければ、二次培養されるのは望ましくない。(5.6.3 項)
 1366 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
 1367 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)
 1368
- 1369 9. サンプリング (JIS Q 17025 5.7)
- 1370 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
 1371 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
 1372 バーされることが強く推奨される。(5.7.1 項)
 1373
- 1374 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
 1375 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
 1376 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
 1377 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
 1378 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
 1379 が望ましい。(5.7.1 項)
 1380
- 1381 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
 1382 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、
 1383 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
 1384 望ましい。
 1385
- 1386 10. 試料の取り扱い及び識別 (JIS Q 17025 5.7 及び 5.8)
- 1387 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
 1388 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
 1389 ることは重要である。
 1390 (5.8.1 項)

- 1391
- 1392 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
- 1393 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
- 1394 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
- 1395 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
- 1396 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)
- 1397
- 1398 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。
- 1399 (5.8.1 項)
- 1400 a) 受領の日付、適切な場合、時間
- 1401 b) 受領時の試料の状態及び必要に応じて温度
- 1402 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)
- 1403
- 1404 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
- 1405 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)
- 1406
- 1407 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
- 1408 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。(
- 1409 5.8.2 項)
- 1410
- 1411 10.6 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。
- 1412 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
- 1413 所内手順によって実施されることが望ましい。二次サンプリングの手順は、微生
- 1414 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
- 1415 7218 で与えられる一般的指針)(5.8.2 項)
- 1416
- 1417 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、
- 1418 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
- 1419 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
- 1420 汚染除去されることが望ましい(11.1 項を参照)。(5.8.4 項)
- 1421
- 1422 11. 汚染した廃棄物の廃棄
- 1423 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
- 1424 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
- 1425 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
- 1426 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
- 1427 い。(5.8.4 項)
- 1428
- 1429 12. 結果の品質保証 / 性能の品質管理(JIS Q 17025 5.9 項)
- 1430 12.1 内部品質管理
- 1431 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
- 1432 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
- 1433 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)
- 1434
- 1435 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
- 1436 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
- 1437 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。
- 1438
 - ・ 添加試料の使用
- 1439
 - ・ 標準物質の使用(技能試験計画物質を含む)
- 1440
 - ・ 反復試験
- 1441
 - ・ 試験結果の反復評価
- 1442 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。

- 1443 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
 1444 る。
 1445
- 1446 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
 1447 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
 1448 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
 1449 めの計画としてより適切であろうと認識される。
 1450
- 1451 12.2 外部評価（技能試験）
- 1452 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
 1453 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
 1454 必須になることがある。
 1455
- 1456 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
 1457 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。
 1458
- 1459 13. 試験報告書（[JIS Q 17025](#) 5.10）
- 1460 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
 1461 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
 1462 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
 1463 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
 1464 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
 1465 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
 1466 定された微生物数以下」として表現することがある。
 1467
- 1468 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
 1469 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
 1470 て明確に示さなければならない。
 1471

1472

1473 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* 精確正確 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* 精確さ真度 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

参照試験法	と手順を記述した、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* 精確さ真度 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]

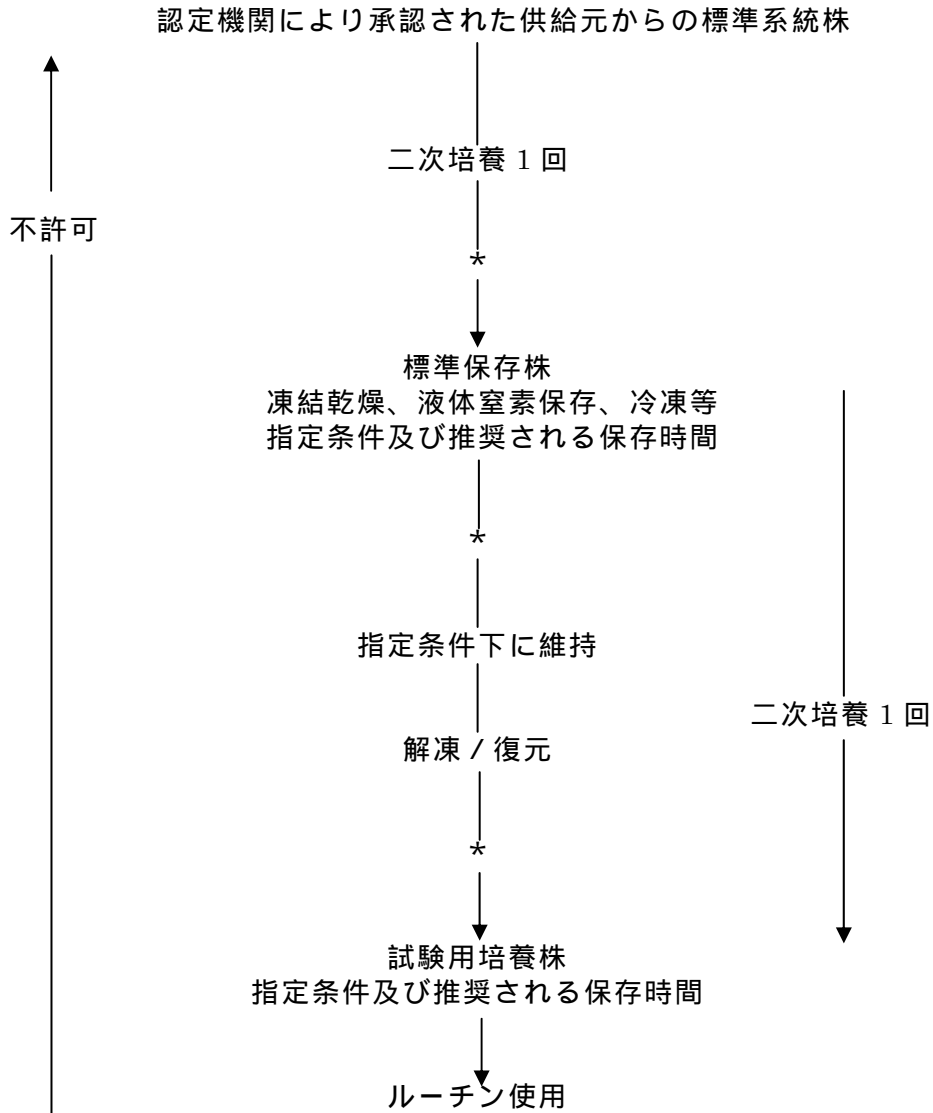
1474

1475

1476	
1477	付属書 B 参照文書
1478	
1479	1. ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration
1480	laboratories.
1481	
1482	2. ISO 7218, Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for
1483	microbiological examination.
1484	
1485	3. ISO 6887-1, Preparation of dilution.
1486	
1487	4. ISO Guide 30, Terms and definition used in connection with reference materials.
1488	
1489	5. ISO 9000, Quality management systems - fundamentals and vocabulary.
1490	
1491	6. VIM: 1993, ISO international vocabulary of basic and general terms in metrology.
1492	
1493	7. ISO(CIPM): 1995, Guide to the expression of uncertainty in measurements.
1494	
1495	8. Draft ISO/DIS 16140, Food microbiology. Protocol for the validation of alternative
1496	methods.
1497	
1498	9. ISO 13843, Water quality - Guidance on validation of microbiological methods.
1499	
1500	10. ISO 11133-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on
1501	preparation and production of culture media. Part 1-General guidelines on quality
1502	assurance for the preparation of media in laboratory.
1503	
1504	11. Draft ISO/FDIS 11133-2, Microbiology of food and animal feeding stuffs.
1505	Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2-Practical
1506	guidelines on performance testing on culture media.
1507	
1508	12. EN 12741, Biotechnology- Laboratories for research, development and analysis
1509	-Guidance for biotechnology laboratory operations.
1510	

1511
1512 付属書 C 標準培養株の一般的な使用

1513
1514
1515
1516
1517
1518
1519
1520
1521
1522
1523
1524
1525
1526
1527
1528
1529
1530
1531
1532
1533
1534
1535
1536
1537
1538
1539
1540
1541
1542
1543
1544
1545
1546
1547
1548
1549
1550
1551
1552
1553
1554
1555
1556
1557



* 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。

1558

1559 付属書 D 校正及び校正のチェックに関する指針

1560

1561 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
 1562 備の要求や種類及び以前の性能に基づいている。
 1563

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
* <u>天秤はかり</u>	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

1564

1565

1566

1567
1568
1569
1570
1571
1572

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
* <u>天秤はかり</u>	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
* <u>脱イオンイオン交換</u> 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* <u>精確さ真度</u> 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

1573
1574

1575
1576
1577
1578
1579
1580

付属書 F 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)
* <u>ウォーターバス水浴</u>	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
* <u>天秤はかり</u> 、 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)
* <u>脱イオンイオン交換</u> 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

1581
1582
1583
1584
1585
1586

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

1587 *Publication*

1588 *Reference*

EA-4/10

1589

1590

1591

Accreditation for Microbiological Laboratories

1592

1593
1594
1595
1596
1597
1598
1599
1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607

PURPOSE

1609 This document has been produced by a joint EA/EURACHEM Working
1610 Group. It supplements ISO/IEC 17025 and provides specific guidance on
1611 the accreditation of laboratories performing microbiological testing, for
1612 both assessors and laboratories preparing for accreditation. ISO/IEC
1613 17025 remains the authoritative documents and, in case of dispute, the
1614 individual accreditation bodies will adjudicate on unresolved matters. The
1615 guidance given in this document may be also of use to those working
1616 towards certification to the ISO 9000 series of standards.

1617
1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628
1629
1630
1631
1632
1633
1634
1635
1636
1637
1638
1639
1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652

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 : -----

1653
1654
1655
1656
1657
1658
1659
1660
1661
1662
1663
1664
1665
1666
1667
1668
1669
1670
1671
1672
1673
1674
1675
1676
1677
1678
1679
1680
1681
1682
1683
1684
1685
1686
1687
1688
1689
1690
1691
1692
1693
1694
1695

EA - 4/10 . Accreditation in Microbiological Laboratories

(目次)

1 Introduction and scope of document	48
2 Personnel	48
3 Environment	49
3.1 Premises	49
3.2 Environmental monitoring	51
3.3 Hygiene.....	51
4 Validation of test methods	52
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。 56
7.1 Reagents	エラー! ブックマークが定義されていません。 56
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。 56
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。 57
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。 58	
8.1 Reference materials	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。 60	
12.1 Internal quality control	60
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。 60
Appendix A Glossary of Terms	エラー! ブックマークが定義されていません。 62
Appendix B References	エラー! ブックマークが定義されていません。 64
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。 65
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
Appendix E Guidance on equipment validation and verification of Performance	エラー! ブックマー
Appendix F Guidance on maintenance of equipment	69

1697
 1698
 1699
 1700
 1701
 1702
 1703
 1704
 1705
 1706
 1707
 1708
 1709
 1710
 1711
 1712
 1713
 1714
 1715
 1716
 1717
 1718
 1719
 1720
 1721
 1722
 1723
 1724
 1725
 1726
 1727
 1728
 1729
 1730
 1731
 1732
 1733
 1734
 1735
 1736
 1737
 1738
 1739
 1740

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

1741 **2.1** Microbiological testing should be either performed or supervised by an experienced
 1742 person, qualified to degree level in microbiology or equivalent. Alternative
 1743 qualifications may meet requirements where staff have extensive relevant
 1744 experience relating to the laboratory's scope of accreditation. Staff should have
 1745 relevant practical work experience before being allowed to perform work covered by
 1746 the scope of accreditation without supervision or before being considered as
 1747 experienced for supervision of accredited work. Specific national regulations may
 1748 override the guidance given in this document.

1749 **2.2** If the laboratory includes opinions and interpretations of test results in reports,
 1750 this shall be done by authorised personnel with suitable experience and relevant
 1751 knowledge of the specific application, including, for example, legislative and
 1752 technological requirements and acceptability criteria.

1753 **2.3** The laboratory management shall ensure that all personnel have received adequate
 1754 training for the competent performance of tests and operation of equipment. This
 1755 should include training in basic techniques, e.g. plate pouring, counting of colonies,
 1756 aseptic technique, etc., with acceptability determined using objective criteria.
 1757 Personnel may only perform tests on samples if they are either recognised as
 1758 competent to do so, or if they do so under adequate supervision. On-going
 1759 competence should be monitored objectively with provision for retraining where
 1760 necessary. Where a method or technique is not in regular use, verification of
 1761 personnel performance before testing is undertaken may be necessary. The critical
 1762 interval between performance of tests should be established and documented. The
 1763 interpretation of test results for identification and verification of micro-organisms
 1764 is strongly connected to the experience of the performing analyst and should be
 1765 monitored for each analyst on a regular basis.

1766 **2.4** In some cases, it may be more appropriate to relate competence to a particular
 1767 technique or instrument rather than to methods.
 1768

1769 **3 Environment**

1770 **ISO 17025, paragraph 5.2**

1771 **3.1 Premises**

1772 **3.1.1** The typical laboratory is comprised of the testing facilities (where specific
 1773 microbiological testing and associated activities are carried out) and ancillary
 1774 facilities (entrances, corridors, administration blocks, cloak rooms and toilets,
 1775 storage rooms, archives, etc). In general there are specific environmental
 1776 requirements for the testing facilities. Depending on the type of testing being
 1777 carried out, access to the microbiological laboratory should be restricted to
 1778 authorised personnel. Where such restrictions are in force, personnel should be
 1779 made aware of:

- 1780 (a) the intended use of a particular area;
- 1781 (b) the restrictions imposed on working within such areas;
- 1782 (c) the reasons for imposing such restrictions;
- 1783 (d) the appropriate containment levels.

1784 **3.1.2** The laboratory should be arranged so as to minimise risks of crosscontamination,

1785 where these are significant to the type of test being performed. The ways to
 1786 achieve these objective are, for example:
 1787 (a) to construct the laboratory to the 'no way back' layout principle;
 1788 (b) to carry out procedures in a sequential manner using appropriate precautions
 1789 to ensure test and sample integrity (e.g. use of sealed containers);
 1790 (c) to segregate activities by time or space.

1791 **3.1.3** It is generally considered as good practice to have separate locations, or clearly
 1792 designated areas, for the following:

- 1793 • sample receipt and storage areas;
- 1794 • sample preparation (e.g. a segregated location should be used for the
 1795 preparation of powdery products likely to be highly contaminated);
- 1796 • examination of samples, including incubation;
- 1797 • maintenance of reference organisms;
- 1798 • media and equipment preparation, including sterilisation;
- 1799 • sterility assessment;
- 1800 • decontamination.

1801 The area for washing (after decontamination) may be shared with other parts of
 1802 the laboratory providing that the necessary precautions are taken to prevent
 1803 transfer of traces of substances which could adversely affect microbial growth.
 1804 The need for physical separation should be judged on the basis of the activities
 1805 specific to the laboratory (eg number and type of tests carried out).

1806 Laboratory equipment should not routinely be moved between areas to avoid
 1807 accidental cross-contamination. In the molecular biology laboratory, dedicated
 1808 pipettes, tips, centrifuges, tubes, etc. should be located in each work area
 1809 (low-medium-high DNA working environments).

1810 **3.1.4** Space should be sufficient to allow work areas to be kept clean and tidy.

1811 The space required should be commensurate with the volume of analyses handled
 1812 and the overall internal organisation of the laboratory. The space should be as
 1813 required according to the national regulations when available.

1814 **3.1.5** Workrooms should be appropriately ventilated and at a suitable temperature.

1815 This may be done by natural or forced ventilation, or by the use of an air
 1816 conditioner. Where air conditioners are used, filters should be appropriate,
 1817 inspected, maintained and replaced according to the type of work being carried
 1818 out.

1819 **3.1.6** Reduction of contamination may be achieved by having:

- 1820 • smooth surfaces on walls, ceilings, floors and benches (the smoothness of a
 1821 surface is judged on how easily it may be cleaned).
- 1822 Tiles are not recommended as bench covering material;
- 1823 • concave joints between the floor, walls and ceiling;
- 1824 • minimal opening of windows and doors while tests are being carried out;
- 1825 • sun shades placed on the outside;
- 1826 • easy access for cleaning of internal sun shades if it is impossible to fit them
 1827 outside;
- 1828 • fluid conveying pipes not passing above work surfaces unless placed in

- 1829 hermetically sealed casings;
- 1830 • a dust-filtered air inlet for the ventilation system;
- 1831 • separate hand-washing arrangements, preferably non-manually controlled;
- 1832 • cupboards up to the ceiling;
- 1833 • no rough and bare wood;
- 1834 • wooden surfaces of fixtures and fittings adequately sealed;
- 1835 • stored items and equipment arranged to facilitate easy cleaning;
- 1836 • no furniture, documents or other items other than those strictly necessary for
- 1837 testing activities.

1838 This list is not exhaustive, and not all examples will apply in every situation.
 1839 Ceilings, ideally, should have a smooth surface with flush lighting. When this is
 1840 not possible (as with suspended ceilings and hanging lights), the laboratory
 1841 should have documented evidence that they control any resulting risks to hygiene
 1842 and have effective means of overcoming them, e.g. a surface-cleaning and
 1843 inspection programme.

1844 **3.1.7** Where laboratories are on manufacturing premises, personnel must be aware of
 1845 the potential for contamination of production areas, and should demonstrate that
 1846 they have taken appropriate measures to avoid any such occurrence.

1848 **3.2 Environmental monitoring**

1849 **3.2.1** An appropriate environmental monitoring programme should be devised,
 1850 including, for example, use of air settlement plates and surface swabbing.
 1851 Acceptable background counts should be assigned and there should be a
 1852 documented procedure for dealing with situations in which these limits are
 1853 exceeded. Analysis of data should enable trends in levels of contamination to be
 1854 determined.

1856 **3.3 Hygiene**

1857 **3.3.1** There should be a documented cleaning programme for laboratory fixtures,
 1858 equipment and surfaces. It should take into account the results of environmental
 1859 monitoring and the possibility of cross-contamination. There should be a
 1860 procedure for dealing with spillages.

1861 **3.3.2** Measures should be taken to avoid accumulation of dust, by the provision of
 1862 sufficient storage space, by having minimal paperwork in the laboratory and by
 1863 prohibiting plants and personal possessions from the laboratory work area.

1864 **3.3.3** Clothing appropriate to the type of testing being performed (including, if
 1865 necessary, protection for hair, beard, hands, shoes, etc) should be worn in the
 1866 microbiological laboratory and removed before leaving the area. This is
 1867 particularly important in the molecular biology laboratory, where for example,
 1868 movement from an area of high DNA load to one of low DNA load may unwittingly
 1869 introduce cross-contamination. In many laboratories a laboratory coat may
 1870 suffice.

1871 **3.3.4** Adequate hand washing facilities should be available.

1872

1873 **4 Validation of test methods**

1874 **4.1** The validation of microbiological test methods should reflect actual test conditions.

1875 This may be achieved by using naturally contaminated products or products spiked
 1876 with a predetermined level of contaminating organisms. The analyst should be
 1877 aware that the addition of contaminating organisms to a matrix only mimics in a
 1878 superficial way the presence of the naturally occurring contaminants. However, it is
 1879 often the best and only solution available. The extent of validation necessary will
 1880 depend on the method and the application. The laboratory shall validate standard
 1881 methods applied to matrices not specified in the standard procedure.

1882 **4.2** Qualitative microbiological test methods, such as where the result is expressed in
 1883 terms of detected / not detected and confirmation and identification procedures,
 1884 should be validated by determining, if appropriate, the specificity, relative trueness,
 1885 positive deviation, negative deviation, limit of detection, matrix effect,
 1886 repeatability and reproducibility (see Appendix A for definitions).

1887 **4.3** For quantitative microbiological test methods, the specificity, sensitivity, relative
 1888 trueness, positive deviation, negative deviation, repeatability, reproducibility and
 1889 the limit of determination within a defined variability should be considered and, if
 1890 necessary, quantitatively determined in assays. The differences due to the matrices
 1891 must be taken into account when testing different types of samples. The results
 1892 should be evaluated with appropriate statistical methods.

1893 **4.4** Laboratories shall retain validation data on commercial test systems (kits) used in
 1894 the laboratory. These validation data may be obtained through collaborative testing
 1895 and from validation data submitted by the manufacturers and subjected to third
 1896 party evaluation (e.g. AOAC). If the validation data are not available or not wholly
 1897 applicable, the laboratory shall be responsible for completing the validation of the
 1898 method.

1899 **4.5** If a modified version of a method is required to meet the same specification as the
 1900 original method, then comparisons should be carried out using replicates to ensure
 1901 that this is the case. Experimental design and analysis of results must be
 1902 statistically valid.

1903 **4.6** Even when validation is complete, the user will still need to verify on a regular
 1904 basis that the documented performance can be met, e.g. by the use of spiked
 1905 samples or reference materials incorporating relevant matrices.

1906

1907 **5 Uncertainty of measurement**

1908 **5.1** The international definition for uncertainty of measurement is given in ISO
 1909 International vocabulary of basic and general terms in metrology: 1993 (see
 1910 Appendix B). The general approach to evaluating and expressing uncertainty in
 1911 testing expected by European accreditation bodies is one based on the
 1912 recommendations produced by the International Committee for Weights and
 1913 Measures (CIPM), as described in the *Guide to the Expression of uncertainty in*
 1914 *Measurement*, 1995, ISO Geneva.

1915 **5.2** Microbiological tests generally come into the category of those that preclude the
 1916 rigorous, metrologically and statistically valid calculation of uncertainty of

1917 measurement. It is generally appropriate to base the estimate of uncertainty on
 1918 repeatability and reproducibility data alone, but ideally including bias (e.g. from
 1919 proficiency testing scheme results). The individual components of uncertainty
 1920 should be identified and demonstrated to be under control and their contribution to
 1921 the variability of results evaluated. Some components (e.g. pipetting, weighing and
 1922 dilution effects) may be readily measured and easily evaluated to demonstrate a
 1923 negligible contribution to overall uncertainty. Other components (e.g. sample
 1924 stability and sample preparation) cannot be measured directly and their
 1925 contribution cannot be evaluated in a statistical manner but their importance to
 1926 the variability of results should be considered also.

1927 **5.3** It is expected that accredited microbiological testing laboratories will have an
 1928 understanding of the distributions of organisms within the matrices they test and
 1929 take this into account when sub-sampling. However, it is not recommended that
 1930 this component of uncertainty is included in estimates unless the client's needs
 1931 dictate otherwise. The principal reasons for this are that uncertainty due to
 1932 distribution of organisms within the product matrix is not a function of the
 1933 laboratory's performance and may be unique to individual samples tested and
 1934 because test methods should specify the sample size to be used taking into account
 1935 poor homogeneity.

1936 **5.4** The concept of uncertainty cannot be applied directly to qualitative test results
 1937 such as those from detection tests or the determination of attributes for
 1938 identification. Nevertheless, individual sources of variability, e.g. consistency of
 1939 reagent performance and analyst interpretation, should be identified and
 1940 demonstrated to be under control. Additionally, for tests where the limit of
 1941 detection is an important indication of suitability, the uncertainty associated with
 1942 the inocula used to determine the limit should be estimated and its significance
 1943 evaluated. Laboratories should also be aware of the incidence of false positive and
 1944 false negative results associated with the qualitative tests they use.

1945

1946 **6 Equipment - maintenance, calibration and performance verification**

1947 **ISO 17025, paragraph 5.5**

1948 As part of its quality system, a laboratory is required to operate a documented
 1949 programme for the maintenance, calibration and performance verification of its
 1950 equipment.

1951 **6.1 Maintenance**

1952 (Guidance on maintenance of equipment can be found in ISO 7218.)

1953 **6.1.1** Maintenance of essential equipment shall be carried out at specified intervals as
 1954 determined by factors such as the rate of use. Detailed records shall be kept.

1955 Examples of maintenance of equipment and intervals are given in Appendix F.

1956 **6.1.2** Attention should be paid to the avoidance of cross-contamination arising from
 1957 equipment, e.g.:

- 1958 • disposable equipment should be clean and sterile when appropriate;
- 1959 • re-used glassware should be properly cleaned and sterilised when appropriate;
- 1960 • ideally, laboratories should have a separate autoclave for decontamination.

1961 However, one autoclave is acceptable provided that adequate precautions are
 1962 taken to separate decontamination and sterilisation loads, and a documented
 1963 cleaning programme is in place to address both the internal and external
 1964 environment of the
 1965 autoclave.

1966 **6.1.3** Typically, the following items of equipment will be maintained by cleaning and
 1967 servicing, inspecting for damage, general verification and, where relevant,
 1968 sterilising:

- 1969 • general service equipment - filtration apparatus, glass or plastic containers
 1970 (bottles, test tubes), glass or plastic Petri dishes, sampling instruments, wires
 1971 or loops of platinum, nickel/chromium or disposable plastic;
- 1972 • water baths, incubators, microbiological cabinets, autoclaves, homogenisers,
 1973 fridges, freezers;
- 1974 • volumetric equipment - pipettes, automatic dispensers, spiral platers;
- 1975 • measuring instruments - thermometers, timers, balances, pH meters, colony
 1976 counters.

1977

1978 **6.2 Calibration and performance verification**

1979 **6.2.1** The laboratory must establish a programme for the calibration and performance
 1980 verification of equipment which has a direct influence on the test results. The
 1981 frequency of such calibration and performance verification will be determined by
 1982 documented experience and will be based on need, type and previous performance
 1983 of the equipment. Intervals between calibration and verification shall be shorter
 1984 than the time the equipment has been found to take to drift outside acceptable
 1985 limits. Examples of calibration intervals and typical performance checks for
 1986 various laboratory instruments are given in Appendix D and Appendix E.

1987 **6.2.2 Temperature measurement devices**

1988 (a) Where temperature has a direct effect on the result of an analysis or is critical
 1989 for the correct performance of equipment, temperature measuring devices, e.g.
 1990 liquid-in-glass thermometers, thermocouples and platinum resistance
 1991 thermometers (PRTs) used in incubators and autoclaves, shall be of an
 1992 appropriate quality to achieve the accuracy required.

1993 (b) Calibration of devices shall be traceable to national or international
 1994 standards for temperature. Where the accuracy permits, devices that can be
 1995 demonstrated to conform to an appropriate and nationally or internationally
 1996 accepted manufacturing specification may be used (e.g. ISO 1770 for
 1997 liquid-in-glass thermometers). Such devices may, for example, be used for
 1998 monitoring storage fridges and freezers and also incubators and water baths
 1999 where acceptable tolerance around the target temperature permits.

2000 Verification of the performance of such devices is necessary.

2001 **6.2.3 Incubators, water baths, ovens**

2002 The stability of temperature, uniformity of temperature distribution and time
 2003 required to achieve equilibrium conditions in incubators, water baths, ovens and
 2004 temperature-controlled rooms shall be established initially and documented, in

2005 particular with respect to typical uses (for example position, space between, and
 2006 height of, stacks of Petri dishes). The constancy of the characteristics recorded
 2007 during initial validation of the equipment shall be checked and recorded after
 2008 each significant repair or modification.Laboratories shall monitor the operating
 2009 temperature of this type of equipment and retain records.

2010 **6.2.4 Autoclaves, including media preparators**

2011 The following outlines the generally expected approach to calibration and the
 2012 establishment and monitoring of performance. However, it is recognised that
 2013 quantitative testing of materials and items processed by autoclaving, able to
 2014 comment suitably on variation within and between batches may also provide
 2015 equivalent assurance of quality.

- 2016 (a) Autoclaves should be capable of meeting specified time and temperature
 2017 tolerances. Pressure cookers fitted only with a pressure gauge are not
 2018 acceptable. Sensors used for controlling or monitoring operating cycles
 2019 require calibration and the performance of timers verified.
- 2020 (b) Initial validation should include performance studies (spatial temperature
 2021 distribution surveys) for each operating cycle and each load configuration
 2022 used in practice. This process must be repeated after significant repair or
 2023 modification (e.g. replacement of thermo-regulator probe or programmer,
 2024 loading arrangements, operating cycle) or where indicated by the results of
 2025 quality control checks on media. Sufficient temperature sensors should be
 2026 positioned within the load (e.g. in containers filled with liquid/medium) to
 2027 enable location differences to be demonstrated. In the case of media
 2028 preparators, where uniform heating cannot be demonstrated by other means,
 2029 the use of two sensors, one adjacent to the control probe and one remote from
 2030 it, would generally be considered appropriate. Validation and re-validation
 2031 should consider the suitability of come-up and come-down times as well as
 2032 time at sterilisation temperature.
- 2033 (c) Clear operating instructions should be provided based on the heating profiles
 2034 determined for typical uses during validation/re-validation.
 2035 Acceptance/rejection criteria should be established and records of autoclave
 2036 operations, including temperature and time, maintained for every cycle.
- 2037 (d) Monitoring may be achieved by one of the following:
 2038 (i) using a thermocouple and recorder to produce a chart or printout;
 2039 (ii) direct observation and recording of maximum temperature achieved and
 2040 time at that temperature.

2041 In addition to directly monitoring the temperature of an autoclave, the
 2042 effectiveness of its operation during each cycle may be checked by the use of
 2043 chemical or biological indicators for sterilisation/decontamination purposes.
 2044 Autoclave tape or indicator strips should be used only to show that a load has
 2045 been processed, not to demonstrate completion of an acceptable cycle.

2046 **6.2.5 Weights and balances**

2047 Weights and balances shall be calibrated traceably at regular intervals
 2048 (according to their intended use).

2049 6.2.6 Volumetric equipment

2050 (a) Volumetric equipment such as automatic dispensers, dispenser/diluters,
2051 mechanical hand pipettes and disposable pipettes may all be used in the
2052 microbiology laboratory. Laboratories should carry out initial verification of
2053 volumetric equipment and then make regular checks to ensure that the
2054 equipment is performing within the required specification. Verification
2055 should not be necessary for glassware which has been certified to a specific
2056 tolerance. Equipment should be checked for the accuracy of the delivered
2057 volume against the set volume (for several different settings in the case of
2058 variable volume instruments) and the precision of the repeat deliveries
2059 should be measured.

2060 (b) For 'single-use' disposable volumetric equipment, laboratories should
2061 obtain supplies from companies with a recognised and relevant quality
2062 system. After initial validation of the suitability of the equipment, it is
2063 recommended that random checks on accuracy are carried out. If the supplier
2064 has not a recognised quality system, laboratories should check each batch of
2065 equipment for suitability.

2066 6.2.7 Other equipment

2067 Conductivity meters, oxygen meters, pH meters and other similar instruments
2068 should be verified regularly or before each use. The buffers used for verifications
2069 purposes should be stored in appropriate conditions and should be marked with
2070 an expiry date. Where humidity is important to the outcome of the test,
2071 hygrometers should be calibrated, the calibration being traceable to national or
2072 international standards. Timers, including the autoclave timer, should be
2073 verified using a calibrated timer or national time signal. Where centrifuges are
2074 used in test procedures, an assessment should be made of the criticality of the
2075 centrifugal force. Where it is critical, the centrifuge will require calibration.
2076

2077 7 Reagents and culture media

2078 ISO 17025, paragraph 4.6 and 5.5

2079 7.1 Reagents

2080 Laboratories should ensure that the quality of reagents used is appropriate for
2081 the test concerned. They should verify the suitability of each batch of reagents
2082 critical for the test, initially and during its shelf life, using positive and negative
2083 control organisms which are traceable to recognised national or international
2084 culture collections.
2085

2086 7.2 In – house prepared media

2087 7.2.1 The suitable performance of culture media, diluents and other suspension fluids
2088 prepared in-house should be checked, where relevant, with regard to:

- 2089 • recovery or survival maintenance of target organisms,
- 2090 • inhibition or suppression of non-target organisms,
- 2091 • biochemical (differential and diagnostic) properties,
- 2092 • physical properties (e.g. pH, volume and sterility).

2093 Quantitative procedures for evaluation of recovery or survival are to be preferred
 2094 (see also ISO 11133 Part 1 and 2).

2095 **7.2.2** Raw materials (both commercial dehydrated formulations and individual
 2096 constituents) should be stored under appropriate conditions, e.g. cool, dry and
 2097 dark. All containers, especially those for dehydrated media, should be sealed
 2098 tightly. Dehydrated media that are caked or cracked or show a colour change
 2099 should not be used. Distilled deionised, or reverse osmosis produced water, free
 2100 from bactericidal, inhibitory or interfering substances, should be used for
 2101 preparation unless the test method specifies otherwise.

2102 **7.2.3** Shelf life of prepared media under defined storage conditions shall be determined
 2103 and verified.

2104

2105 **7.3 Ready – to – use – media**

2106 **7.3.1** All media (and diluents and other suspension fluids) procured ready to use or
 2107 partially complete require validating before use. Evaluation of performance in
 2108 recovery or survival of target organisms and the inhibition or suppression of
 2109 non-target organisms needs to be fully quantitative; attributes (e.g. physical and
 2110 biochemical properties) should be evaluated using objective criteria.

2111 **7.3.2** As part of the validation, the user laboratory needs to have adequate knowledge
 2112 of the manufacturer's quality specifications, which include at least the following:
 2113 • Name of the media and list of components, including any supplements
 2114 • Shelf life and the acceptability criteria applied
 2115 • Storage conditions
 2116 • Sample regime / rate
 2117 • Sterility check
 2118 • Check of growth of target and non-target control organisms used (with their
 2119 culture collection references) and acceptability criteria
 2120 • Physical checks and the acceptability criteria applied
 2121 • Date of issue of specification

2122 **7.3.3** Batches of media should be identifiable. Each one received should be
 2123 accompanied by evidence that it meets the quality specification. The user
 2124 laboratory should ensure that it will be notified by the manufacturer of any
 2125 changes to the quality specification.

2126 **7.3.4** Where the manufacturer of media procured ready to use or partially complete is
 2127 covered by a recognised quality system (e.g. ISO 9000-series registered), checks
 2128 by the user laboratory of conformance of supplies with the specification defined
 2129 through initial validation may be applied in accordance with the expectation of
 2130 consistency. In other circumstances, adequate checks would be necessary on
 2131 every batch received.

2132

2133 **7.4 Labelling**

2134 Laboratories shall ensure that all reagents (including stock solutions), media,
 2135 diluents, and other suspending fluids are adequately labelled to indicate, as
 2136 appropriate, identity, concentration, storage conditions, preparation date,

2137 validated expiry date and /or recommended storage periods. The person
2138 responsible for preparation should be identifiable from records.

2139

2140 **8 Reference materials and reference cultures**

2141 **ISO 17025, paragraph 5.6.3**

2142

2143 **8.1 Reference materials**

2144 Reference materials and certified reference materials (see definition in Appendix
2145 A) provide essential traceability in measurements and are used, for example;

- 2146 · to demonstrate the accuracy of results,
- 2147 · to calibrate equipment,
- 2148 · to monitor laboratory performance,
- 2149 · to validate methods, and
- 2150 · to enable comparison of methods.

2151 If possible, reference materials should be used in appropriate matrices.

2152

2153 **8.2 Reference cultures**

2154 **8.2.1** Reference cultures are required for establishing acceptable performance of media
2155 (including test kits), for validating methods and for assessing/evaluating
2156 on-going performance. Traceability is necessary, for example, when establishing
2157 media performance for test kit and method validations. To demonstrate
2158 traceability, laboratories must use reference strains of microorganisms obtained
2159 directly from a recognised national or international collection, where these exist.
2160 Alternatively, commercial derivatives for which all relevant properties have been
2161 shown by the laboratory to be equivalent at the point of use may be use

2162 **8.2.2** Following the guidance in ISO 11133-1, reference strains may be sub-cultured
2163 once to provide reference stocks. Purity and biochemical checks should be made
2164 in
2165 parallel as appropriate. It is recommended to store reference stocks in aliquots
2166 either deep-frozen or lyophilised. Working cultures for routine use should be
2167 primary subcultures from the reference stock (see Appendix C on preparation of
2168 working stocks). If reference stocks have been thawed, they must not be re-frozen
2169 and re-used.

2170 **8.2.3** Working stocks should not be sub-cultured unless it is required and defined by a
2171 standard method or laboratories can provide documentary evidence that there
2172 has been no change in any relevant property. Working stocks shall not be
2173 sub-cultured to replace reference stocks. Commercial derivatives of reference
2174 strains may only be used as working cultures.

2175

2176 **9 Sampling**

2177 **ISO 17025, paragraph 5.7**

2178 **9.1** In many cases, testing laboratories are not responsible for primary sampling to
2179 obtain test items. Where they are responsible, it is strongly recommended that
2180 this sampling be covered by quality assurance and ideally by accreditation.

2181 **9.2** Transport and storage should be under conditions that maintain the integrity of

2182 the sample (e.g. chilled or frozen where appropriate). The conditions should be
 2183 monitored and records kept. Where appropriate, responsibility for transport,
 2184 storage between sampling and arrival at the testing laboratory shall be clearly
 2185 documented. Testing of the samples should be performed as soon as possible after
 2186 sampling and should conform to relevant standards and/or national/international
 2187 regulations.

2188 **9.3** Sampling should only be performed by trained personnel. It should be carried out
 2189 aseptically using sterile equipment. Environmental conditions for instance air
 2190 contamination and temperature should be monitored and recorded at the
 2191 sampling site. Time of sampling should be recorded.

2192
 2193 **10 Sample handling and identification**

2194 **ISO 17025, paragraphs 5.7 and 5.8**

2195 **10.1** Microbial flora may be sensitive to factors such as temperature or duration of
 2196 storage and transport, so it is important to check and record the condition of the
 2197 sample on receipt by the laboratory.

2198 **10.2** The laboratory should have procedures that cover the delivery of samples and
 2199 sample identification. If there is insufficient sample or the sample is in poor
 2200 condition due to physical deterioration, incorrect temperature, torn packaging or
 2201 deficient labelling, the laboratory should consult with the client before deciding
 2202 whether to test or refuse the sample. In any case, the condition of the sample
 2203 should be indicated on the test report.

2204 **10.3** The laboratory should record all relevant information and particularly the
 2205 following information:

- 2206 (a) date and, where relevant, the time of receipt;
- 2207 (b) condition of the sample on receipt and, when necessary, temperature;
- 2208 (c) characteristics of the sampling operation (sampling date, sampling conditions,
 2209 etc).

2210 **10.4** Samples awaiting test shall be stored under suitable conditions to minimize
 2211 changes to any microbial population present. Storage conditions should be
 2212 defined and recorded.

2213 **10.5** The packaging and labels from samples may be highly contaminated and should
 2214 be handled and stored with care so as to avoid any spread of contamination.

2215 **10.6** Sub-sampling by the laboratory immediately prior to testing is considered as part
 2216 of the test method. It should be performed according to national or international
 2217 standards, where they exist, or by validated in-house methods. Sub-sampling
 2218 procedures should be designed to take account uneven distribution of
 2219 micro-organisms (general guidance given in ISO 6887 and ISO 7218).

2220 **10.7** A procedure for the retention and disposal of samples shall be written. Samples
 2221 should be stored until the test results are obtained, or longer if required.
 2222 Laboratory sample portions that are known to be highly contaminated should be
 2223 decontaminated prior to being discarded (see 11.1).

2224
 2225 **11 Disposal of contaminated waste**

2226 **11.1** The correct disposal of contaminated materials may not directly affect the quality

2227 of sample analysis, although procedures should be designed to minimise the
 2228 possibility of contaminating the test environment or materials. However, it is a
 2229 matter of good laboratory management and should conform to
 2230 national/international environmental or health and safety regulations (see also
 2231 ISO 7218).

2232

2233 **12 Quality assurance of results/quality control of performance**

2234 **ISO 17025, paragraph 5.9**

2235 **12.1 Internal quality control**

2236 **12.1.1** Internal quality control consists of all the procedures undertaken by a
 2237 laboratory for the continuous evaluation of its work. The main objective is to
 2238 ensure the consistency of results day-to-day and their conformity with defined
 2239 criteria.

2240 **12.1.2** A programme of periodic checks is necessary to demonstrate that variability (i.e.
 2241 between analysts and between equipment or materials etc.) is under control. All
 2242 tests included in the laboratory's scope of accreditation need to be covered. The
 2243 programme may involve:

- 2244 • the use of spiked samples
- 2245 • the use of reference materials (including proficiency testing scheme

2246 materials)

- 2247 • replicate testing

- 2248 • replicate evaluation of test results

2249 The interval between these checks will be influenced by the construction of the
 2250 programme and by the number of actual tests. It is recommended that, where
 2251 possible, tests should incorporate controls to monitor performance.

2252 **12.1.3** In special instances, a laboratory may be accredited for a test that it is rarely
 2253 called on to do. It is recognised that in such cases an ongoing internal quality
 2254 control programme may be inappropriate and that a scheme for demonstrating
 2255 satisfactory performance which is carried out in parallel with the testing, may
 2256 be more suitable.

2257

2258 **12.2 External quality assessment (proficiency testing)**

2259 **12.2.1** Laboratories should regularly participate in proficiency testing which are
 2260 relevant to their scope of accreditation, preference should be given to proficiency
 2261 testing schemes which use appropriate matrices. In specific instances,
 2262 participation may be mandatory.

2263 **12.2.2** Laboratories should use external quality assessment not only to assess
 2264 laboratory bias but also to check the validity of the whole quality system.

2265

2266 **13 Test reports**

2267 **ISO 17025, paragraph 5.10**

2268 **13.1** If the result of the enumeration is negative, it should be reported as “not detected
 2269 for a defined unit” or “less than the detection limit for a defined unit”. The result
 2270 should not be given as “zero for a defined unit” unless it is a regulatory
 2271 requirement.

2272 Qualitative test results should be reported as “detected/not detected in a defined
2273 quantity or volume”. They may also be expressed as “less than a specified
2274 number of organisms for a defined unit” where the specified number of organisms
2275 exceeds the detection limit of the method and this has been agreed with the
2276 client.

2277 **13.2** Where an estimate of the uncertainty of the test result is expressed on the test
2278 report, any limitations (particularly if the estimate does not include the
2279 component contributed by the distribution of micro-organisms within the sample)
2280 have to be made clear to the client.

2281
2282
2283

Appendix A Glossary of Terms

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 l	<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]

2285
2286
2287

2288
2289

2290
2291

2292

2293

2294

2295

2296

2297
2298

2299

2300
2301
2302

2303
2304

2305

2306

2307

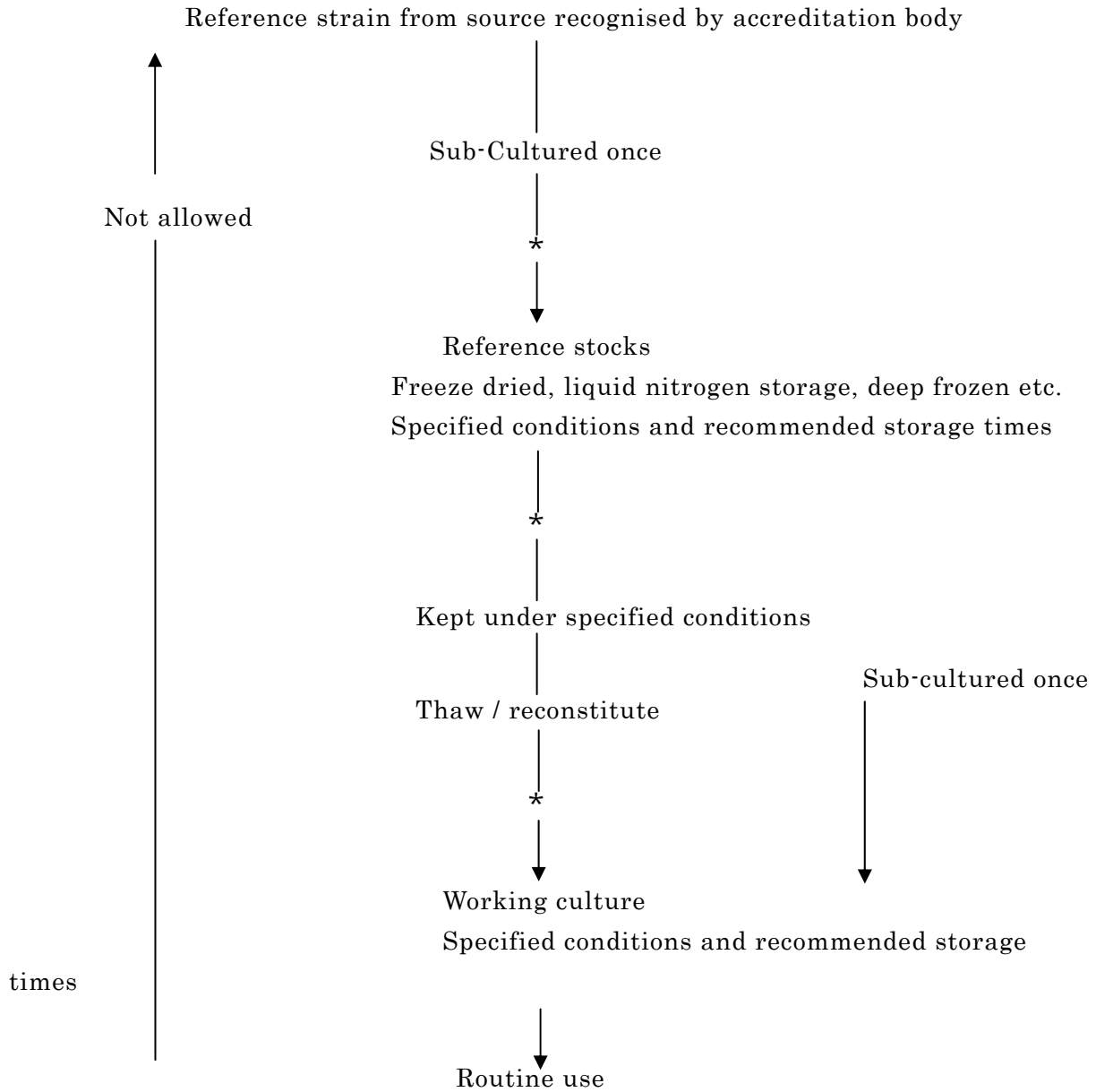
2308
2309
2310

Appendix B References

1. ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
2. ISO 7218, Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations.
3. ISO 6887-1, Preparation of dilutions.
4. ISO Guide 30, Terms and definitions used in connection with reference materials.
5. ISO 9000, Quality management systems - fundamentals and vocabulary.
6. VIM: 1993, ISO international vocabulary of basic and general terms in metrology.
7. ISO (CIPM):1995, Guide to the expression of uncertainty in measurements.
8. Draft ISO/DIS 16140, Food microbiology. Protocol for the validation of alternative methods.
9. ISO 13843, Water quality – Guidance on validation of microbiological methods.
10. ISO 11133-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1- General guidelines on quality assurance for the preparation of media in the laboratory.
11. Draft ISO/FDIS 11133-2, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2- Practical guidelines on performance testing on culture media.
12. EN 12741, Biotechnology- Laboratories for research, development and analysis – Guidance for biotechnology laboratory operations.

2311
2312
2313
2314
2315
2316
2317
2318
2319
2320
2321
2322
2323
2324
2325
2326
2327
2328
2329
2330
2331
2332
2333
2334
2335
2336
2337
2338
2339
2340
2341
2342
2343
2344
2345
2346
2347
2348
2349
2350
2351
2352
2353
2354
2355
2356
2357

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

2358
2359
2360
2361
2362
2363

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

2364
2365

2366 **Appendix E Guidance on equipment validation and verification of**
 2367 **performance**
 2368

2369 This information is provided for guidance purposes and the frequency will be based on
 2370 the need, type and previous performance of the equipment.
 2371

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

2372

2373

2374
2375
2376
2377
2378

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

**(c) Clean and disinfect other
surfaces**

2379

2380

2381

2382

2383

2384

2385

2386

2403
2404
2405
2406
2407
2408
2409
2410
2411
2412
2413
2414
2415
2416
2417
2418
2419
2420
2421
2422
2423
2424
2425
2426
2427
2428
2429
2430
2431
2432
2433

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

2438
2439
2440

2441 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。

2442