

「認定の基準」についての指針

－生物科学試験－

JAB RL354 : 2019

(案)

第1版：2018年 月 日

公益財団法人 日本適合性認定協会

「認定の基準」についての指針(案)

－ 生物科学試験 －

はじめに

本文書は、公益財団法人日本適合性認定協会（以下 JAB）が JIS Q 17025: (ISO/IEC 17025) 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」を生物科学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、生物科学試験分野に合わせて詳細化し、生物科学試験を実施する試験所及び審査員が審査の際に考慮すべき内容を示したものである。従って、ここに示す指針は、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)の要求事項を超えるものではない。

従来、JAB では、JAB RL355 (化学試験)、JAB RL359 (微生物試験)を試験所の認定に際しての技術指針として用いてきたが、近年、化学試験、微生物試験の範疇ではとらえきれない生物科学試験を使用する試験所が増加してきているため、今般 JAB RL354 (生物科学試験)を当該試験分野に対応した技術指針として取りまとめた。

本文書は、生物科学試験を使用する試験所を JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)に基づき認定するために、当該試験分野の特徴を解釈し要求事項を詳細化及び具体化するために必要であり、JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)の要求を超えることがなく、かつ重複していない事項を EURACHEM/CITAC GUIDE “Guide to Quality in Analytical Chemistry, An Aid to Accreditation, Edition 2002”、CAC/GL 74-2010 “GUIDELINES ON PERFORMANCE CRITERIA AND VALIDATION OF METHODS FOR DETECTION, IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF SPECIFIC DNA SEQUENCES AND SPECIFIC PROTEINS IN FOODS*”、から採用し、取りまとめたものである。

さらに、生体試料を分析するに際して特有な解釈は ISO 15189:2012 「臨床検査室－品質と能力に関する要求事項」から採用し、取りまとめた。

本文書において、項番号は JIS Q 17025 (ISO/IEC 17025)の項番号にそのまま対応する。その他の引用文献については該当する各項下に記載する。

なお、本指針は、生物科学試験分科会において監修され、JAB 試験所技術委員会において承認されたものである。

【引用文書について】

- ・ CITAC/EURACHEM GUIDE Edition 2002 : Guide to Quality in Analytical Chemistry, An Aid to Accreditation, Edition 2002

日本語訳は、JAB 化学分野技術委員会が監修したものである。日本語版の出版については、岡本研作氏（当時 CITAC Chairman）及びその作業部会の幹事から岡本氏を通じて許可されている。翻訳時より変更が必要と判断した箇所については、本文書改訂時に食品分科会が確認し、修正している。該当箇所については記号「*」を付けている。なお、原文（英文）及び日本語版は、JAB RL355（化学試験）の附属書を参照されたい。

上記文書の該当する項番号と翻訳について疑義が生じた場合は、原文（英文）に戻って、その解消を図るものとする。

- ISO 15189:2012 「臨床検査室—品質と能力に関する要求事項」

目次

はじめに	2
序文	6
1. 適用範囲	6
2. 引用規格	6
3. 用語及び定義	6
4. 一般要求事項	6
4.1 公平性	6
4.2 機密保持	6
5. 組織構成に関する要求事項	6
6. 資源に関する要求事項	7
6.1 一般	7
6.2 要員	7
6.3 施設及び環境条件	8
6.4 設備	9
6.5 計量計測トレーサビリティ	10
6.6 外部から提供される製品及びサービス	12
7. プロセス要求事項	13
7.1 依頼、見積仕様書及び契約のレビュー	13
7.2 方法の選定、検証及び妥当性確認	13
7.2.1 方法の選定及び検証	13
7.2.2 方法の妥当性確認	13
7.3 サンプルング	14
7.4 試験・校正品目の取り扱い	15
7.5 技術的記録	16
7.6 測定不確かさの評価	16
7.7 結果の妥当性の保証	17
7.8 結果の報告	19
7.9 苦情	19
7.10 不適合業務	20
7.11 データの管理及び情報マネジメント	20
8. マネジメントシステムに関する要求事項	20
8.1 選択肢	20
8.2 マネジメントシステムの文書化	20
8.3 マネジメントシステム文書の管理	20

8.4 記録	20
8.5 リスク及び機構に取り組むための処置	20
8.6 改善	20
8.7 是正処置	20
8.8 内部監査	20
8.9 マネジメントレビュー	20
附属書 A 申請にあたっての確認事項	21

はじめに

序文

1. 適用範囲
2. 引用規格
3. 用語及び定義
4. 一般要求事項
- 4.1 公平性
- 4.2 機密保持

《ヒトゲノム・遺伝子解析：機密保持》

・当該施設は、内部および外部の保管およびシーケンスデータの転送に関して患者の機密性およびセキュリティを維持することを確実にするためのプロセスを記述する方針および手順が必要であり、以下を確実にする。

- ①当該施設は、この情報の保護とプライバシーを確保するための厳格なプロセスを確立する必要がある。
- ②試験所では、ゲノム情報を他のヘルスケア機関やクラウドベースのコンピュータ関連サービスや衛生検査所サービスを提供する第三者ベンダーに転送する際の頑健な方針が必要である。
- ③機密性を確保するための手順には、データの暗号化、安全なデータ転送、保護された医療情報へのアクセスを制限したユーザー認証、受領者側および/またはユーザーと共にデータ送信を追跡する監査証跡が含まれる。
- ④大規模なゲノムシーケンシング分析を行っている試験所は、NGS の偶発的な結果を返す医学的および倫理的な意義に関する研究の活動状況に留意すべきであり、それらの成果について報告方針を策定するときに考慮すべきである。

5. 組織構成に関する要求事項

- ・医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン(平成 22 年 9 月 17 日 厚生労働省)
- ・ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 20 年 12 月 1 日一部改正 文部科学省、厚生労働省、経済産業省)
- ・ISO 15189:2012 4.1.1.3 倫理的行為
 検査室管理主体は、以下を確実にするための取り決めに有していなければならない：
 - a) 検査室の能力、公平性、判断、又は業務上の統合性(完全に整っている状態)に対する信頼を損なうおそれのある如何なる活動にも関与しない。
 - b) 管理主体及び要員は、業務の品質に悪影響を与えるおそれがある不当な営利上、財務上又はその他の圧力又は影響を受けない。
 - c) 競合する利害の衝突の可能性がある場合、それらは公然かつ適切に宣言されなければならない

い。

d) 適切な法的要求事項に従い、スタッフがヒトサンプル（試料）、組織、又は残余物を処理することを確実にするための適切な手順がある。

e) 情報の機密が維持管理されている

《ヒトゲノム・遺伝子解析：個人情報保護》

- ・ 遺伝子関連試験を外部委託する場合、個人情報保護の観点から各種安全管理措置（組織的・人的・物理的・技術的安全管理措置等）を講じたうえで、個人名を匿名化するとともに、サンプル（試料）採取から試験結果の報告に至るすべての過程においてサンプル（試料）および試験情報の取扱いに十分な注意が必要である。
- ・ 単一遺伝子疾患の診断を目的とした遺伝学的試験では匿名化や親展報告書などにより、個人遺伝情報が保護される。
- ・ すでに発症している患者の診断を目的として行われた遺伝学的試験の結果は、原則として他の臨床検査の結果と同様に患者の診断に関係する医療者が共有する情報として診療録に記載することができるなど方針を持つ必要がある。
- ・ 遺伝学的試験のための試料は厳格に保管し、また個人識別情報及び試験結果としての個人遺伝学的情報はその機密性を保護しなければならない。

6. 資源に関する要求事項

6.1 一般

6.2 要員

・ CITEC Guide 1 10 1

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

・ EURCHEM/CITAC GUIDE 10.1

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

・ EURCHEM/CITAC GUIDE 10.3

- 試験所は、全ての職員に試験の適正な実施及び装置の運転を適切に行うに相応しい教育・訓練を確実に受講させなければならない。

場合によっては、これには特別な技術の背景となる原理及び理論の教育・訓練を含む。

できれば、客観的な尺度を使用して、教育・訓練中の技能習得の達成度を評価することが望ましい。例えば、品質管理技法を使用して、能力が維持されていることを監視しなければならない。

- 試験所の管理者は、適切な教育・訓練を確実に行う責任を持っているが、熟練した分析者には特に、自己啓発の重要性を強調しなければならない。

• EURCHEM/CITAC GUIDE 10.4

- 試験所は、職員の各メンバーが受講した教育・訓練の最新の記録を保管する。
- 記録には、通常、以下を含むことが望ましい。

i) 学歴

ii) 参加した所内外の研修講座

iii) 関連する OJT(オンザジョブトレーニング)及び必要に応じて行われた再教育・訓練
場合によっては：

iv) 品質管理及び/又は技能試験スキームへの参加(関連データを添付する)

v) 公刊された技術論文及び学協会での発表

• EURCHEM/CITAC GUIDE 10.5

- 分析方法でなく特別な技術面での能力を記録することがより適切である場合がある。

《ヒトゲノム・遺伝子解析：安全衛生・倫理教育》

- バイオリスク評価に基づくバイオセーフティの考え方の理解に関するトレーニング(教育・訓練)の実施が必要である。

- 倫理の理解を助けるトレーニング(教育・訓練)を実施する。

【注記】倫理には、医療倫理が含まれる。医療倫理に関する国際宣言や協定には「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言」、「ヒト遺伝情報に関する国際宣言」、「生命倫理と人権に関する世界宣言」、「医療における遺伝学的試験・診断に関するガイドライン. 日本医学会. 2011年2月」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関わる倫理指針. 文部科学省、厚生労働省、経済産業省」「Ethical, Legal and Social Implications (CDC:米国疾病管理予防センター)」、「ヒトを対象とする医学系研究に関する倫理指針(文部科学省、厚生労働省、経済産業省)」がある。

6.3 施設及び環境条件

6.3 設備

6.3.1

• CITAC/EURACHEM GUIDE 12.4

- 新規の業務のために指定された区域を選定する時は、その区域の以前の使用について考慮しなければならない。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 12.6

- 環境条件の限界からの逸脱は、システムを監視すること又は特定の分析の品質管理によっても判明することがある。環境条件からの逸脱の影響は、方法の妥当性確認時に堅牢性試験の一部として評価してもよく、適宜、緊急操作手順を確立する。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 12.7

- 汚染除去手順書は、環境又は装置の用途が変更される場合、又は偶然に汚染が発生した場合

に適切である。

6.3.4

・CITAC/EURACHEM GUIDE 12.3

- 実施する作業の内容によっては、試験所の特定区域への立入を制限する必要がある。
代表的な例としては、爆薬、放射性物質、発癌性物質、法医学検査、PCR 法及び微量分析が関わる作業がある。

立入制限が発効している場合、職員には下記のことを知らせることが望ましい

- i) 特定の区域の使用目的
- ii) かかる区域内での作業上の制限
- iii) かかる制限を加える理由
- iv) かかる制限が違反された時に従うべき処置

《ヒトゲノム・遺伝子解析：環境条件》

- ・遺伝子関連当該施設は、核酸増幅産物によるコンタミネーションが起らないように最低限、「核酸抽出・増幅用試薬の調製部屋」と「増幅・検出部屋」の2つに分かれていることが望ましい。また全自動化された遺伝子試験装置の場合には装置内部の構造などによってそれに準じたコンタミネーション対策が取られている事を担保する必要がある。
- ・部屋を分けられない場合は、紫外線照射ができる卓上の安全キャビネットを用いて「核酸抽出エリア」と「増幅用試薬の調製エリア」とを分ける。
- ・紫外線照射装置の整備されたフードがない場合、測定する場所を変え、使用前後に実験台とピペットを0.5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液などで十分に拭き取る。
- ・ピペット、フィルター付きチップ、チューブは各エリア専用とし、使用前後に紫外線照射してDNAを破壊する。ピペットは試薬用、サンプル用に2セット用意することが望ましい。
- ・新規の業務のために指定された区域を選定するときは、その区域の以前の使用について考慮しなければならない。

《ヒトゲノム・遺伝子解析：試薬及び消耗品》

- ・多くの遺伝子関連試験の項目では標準物質が存在しない。認証標準物質は「測定プロセスにおいて意図された用途に適合するように確立された、1つまたは複数の特定の特性に関して十分に均質かつ安定している物質」と定義される。特定の方法に関連する偏り（バイアス）を最小にするよう異なる手順を用いて特性を決めなければならない。NGSの場合、異なるNGS技術またはサンガー配列決定および定量PCR (qPCR) などの直交法を用いた特性付けを必要とする可能性がある。そうすることで、遺伝型などのコンセンサス値を認証標準物質に割り当てることができる。

用途に適合するためには、サンプル（試料）と同等に機能しなければならない。

コミュニティは、ライブラリーの調整、配列決定および分析中に患者のゲノムDNA (gDNA) と同様に機能するための臨床的DNAスタンダードを必要とする。コミュニティの低い

認証標準物質を使用すると校正された測定値に偏りが生じ、不正確な診断が行われる。コミュニティが確立された場合、認証標準物質を利用して、試料からの測定を校正することができる。試料中の DNA 配列の存在量は、この測定に関連する不確実性ととともに、既知の存在量の認証標準物質との比較によって決定することができる。これにより、複数の試料にわたって測定値を標準化することができ、診断閾値を認証標準物質に固定することが可能になる。

6.5 計量計測トレーサビリティ

• CITAC/EURACHEM GUIDE 19.5

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

6.5.1

• CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.1

- ある分析試験では、重量法による重量測定及び滴定法による容積測定などの物理特性の測定に密接に依存する。これらの測定値は試験結果に重要な影響を及ぼすので、これらの量に関する適切な校正プログラムが不可欠である。加えて、化学標準の純度又は濃度を確定するために使用される測定器機の校正を考慮する必要がある。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.2

- 試験が、引火点のような試料の実験値を測定するために行われる場合は、装置は国家又は国際標準方法に規定されていることが多く、入手できるならば、トレーサブルな標準物質を校正目的のために使用することが望ましい。

6.5.3

• CITAC/EURACHEM GUIDE 15.2

- pH、温度等の測定式にない他の量も、結果に重大な影響を与えることがある。その場合は、これらの量を管理するために使用された測定のトレーサビリティにも適切な測定標準にトレーサブルである必要がある。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 15.4

- 多くの分析では、抽出、温浸、誘導体化及びけん化が通常必要である場合は、主要な課題は、最終測定プロセスにある試料中の分析対象成分の量と比べて、元来の試料中の分析対象成分の量の良好な知見を得ることができるかである。このかたより（時に“回収率”と呼ばれる）は、プロセスでの損失、汚染又は妨害が原因である。これらの影響の幾つかは、再現性の不確かさの中で明白になるが、他は別途の考慮が必要である系統的な影響である。方法のかたよりを扱うために利用できる戦略には、以下を含む。

- 既知でかたよりの小さな一次法又は参照法の使用
- 非常に類似したマトリックスを持つ認証組成標準物質との比較
- 重量法を用いてスパイクされた試料及びブランクの測定
- 損失、汚染、妨害及びマトリックス効果の検討

• CITAC/EURACHEM GUIDE 15.5

- SI 単位系へのトレーサビリティを達成することの限界は、複雑なマトリックス中の分析対象成分の回収率のようなかたよりを評価する困難さ及びその不確かさに由来する。ここでの選択肢は、方法により測定量を定義すること及び参照法／標準物質を含む明示された標準物質へのトレーサビリティを確立することである。そのような測定はトレーサビリティの概念は貧弱で、決めた標準に対しては不確かさとしては小さくなる。代わりに、かたよりを推定し、補正できる。そして、かたよりによる不確かさも推定し、総合的不確かさの評価に含むことができる。これにより、SI 単位系へのトレーサビリティを主張できるだろう。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 19.2

- 正規に指定された測定標準が使用できない場合は、適切な特性及び安定性をもつ物質を試験所が選定又は調製し、試験所測定標準として使用することが望ましい。この物質の必要な特性については、繰り返し試験により、好ましくは、2つ以上の試験所によって、妥当性確認された種々の方法 (ISO ガイド 35:C6 参照) を使用して値付けすることが望ましい。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.3

- 通常の測定操作の一部として校正が必要であるクロマトグラフと分光計等の機器は、既知組成の標準物質 (*純正化学品の溶液でも可) を使用して校正することが望ましい。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 19.3.4

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

• CITAC/EURACHEM GUIDE 20.7

- 認証標準物質の組成は、試料の組成に可能な限り近いことが望ましい。マトリックスの妨害がある場合には、理想的には、信頼できる方法で認証された同等の組成標準物質を使用して実証することが望ましい。かかる物質を入手できない場合には、標準物質としてスパイクされた試料を使用しても良い。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 20.8

- 認証標準物質の使用者は、全ての物質が同じ厳密さの程度で妥当性確認されているとは限らないことを認識することが望ましい。*均質性試験、安定性試験、認証で使用された方法の詳細、及び指定された成分値の不確かさと変動値は、通常、製造者から入手できるので、系統

を判定するために使用することが望ましい。*認証標準物質には、認証値の不確かさ見積もりを含む証明書を添付しなければならない。

・用途/目的に合った標準物質が市販されていない場合の対応

自社でワーキングスタンダードを準備する場合には、標準物質の持つ値のトレーサビリティを担保すること。

また、標準物質が市販されていない場合、代りとなる物質に自社で値付けを実施する。値付けの手法は、「受け入れられた」という意味で国際的コンセンサスがある方法を使用する。

自身のラボで値付けのための SOP を作成し、繰り返し測定を実施して、値や不確かさを求める。

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 20.9

－ 標準物質及び認証標準物質は、ラベルを付けて明確に識別し、添付された証明書又は他の文書と対照して参照し易くするようにしておくことが望ましい。使用期限、保管条件、適用範囲、使用制限を示す情報も添付しておくことが望ましい。試験所内で調査した標準物質（例えば、溶液）は、ラベルを付ける時には試薬と同じ扱いをすることが望ましい。

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 20.10

－ 標準物質及び測定標準は、汚染又は劣化を防ぐように取扱うことが望ましい。*要員の教育・訓練手順書には、これらの要求事項を反映することが望ましい。

《ヒトゲノム・遺伝子解析：計量計測トレーサビリティ》

計量計測トレーサビリティは、可能な限り上位計量の標準物質又は基準操作法にトレーサブルでなければならない。

これらが不可能又は関係しない場合、結果の信頼を提供するその他の方法が、少なくとも以下を含め適用されなければならない。：

— 認証標準物質の使用

— 他の手順による検査又は校正

— 明確に確立、特定、特性づけられており、すべての関係者によって合意されている基準及び方法

・ 当該施設は、遺伝子関連試験用の認証標準物質を収集、開発、検証して、利用可能にするために国内外の関連施設と協力すべきである。

・ 当該施設は、入手可能な限り、標準物質や家族固有の変異対照を使用すべきである。

6.6 外部から提供される製品及びサービス

《ヒトゲノム・遺伝子解析：外部委託》

・ ゲノム医療における検体検査の品質確保に関する提言 2017年11月 日本臨床検査医学会

「解析プロセスとバイオインフォマティクス・プロセスの合算で得られた結果が精密かつ正確に提供されなければならない。」

従って、バイオインフォマティクス・プロセス (FASTQ ファイル処理) を外部委託している場合は、委託先が品質をどのように担保しているかを確認する必要がある。

注：医療機関又は衛生検査所等で行われる遺伝子関連・染色体検査によって得られた遺伝子の配列データを受領し、専用のソフトウェア、プログラム又はデータベース等を利用して当該遺伝子の配列データについて解析することにより、遺伝子変異の詳細情報等を付加する場合は、臨検法に規定する検体検査に該当しないため、衛生検査所登録は要しないが、あらかじめ遺伝子の配列データの提出条件及び付加する情報の信頼性等について、解析を依頼する医療機関又は衛生検査所等の関係者に周知しておくとともに、その他、作業書の作成及び情報セキュリティ対策等について、必要に応じて衛生検査所指導要領を参考にすることが望ましい。(医療機関、衛生検査所等における検体検査に関する疑義解釈資料 (Q&A) 平成 30 年 11 月 29 日)

7. プロセス要求事項

7.1 依頼、見積仕様書及び契約のレビュー

7.1.2

・CITAC/EURACHEM GUIDE 17.3

- 規格または共同試験された方法が妥当性確認されて、その方法の来歴がいかに完全無欠であっても、それが絶対だと思いついてはいけません。試験所は、特定の分析法の妥当性確認の程度が、求められている目的に対して適切であり、その分析法で試験所が指定された性能基準を検証できることを自分自身で納得できるようにしておくことが望ましい。

7.2 方法の選定、検証及び妥当性確認

7.2.1 方法の選定及び検証

7.2.1.6

《ヒトゲノム・遺伝子解析：試験所・校正機関が開発した方法》

・Method Validation の適用

選択した試験方法の意図した利用目的/用途を明確にするレベルとしては下記のような項目が考えられるが、試験方法に対する要求事項が明確になるレベルまで詳細に記載する。

- 健康状態の判断指標の提供
- ゲノム上の特定の遺伝子型の報告
- 特定のプラットフォームで実施した生データの提供

7.2.2 方法の妥当性確認

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

7.2.2.1

- ・CAC/GL 74-2010 SECTION 2 - METHOD VALIDATION (par. 7.)

- CAC/GL 74-2010 Section 2.1 - Criteria Approach (par. 8.)
- CAC/GL 74-2010 Section 2.2 - General Method Criteria (par. 9.)
- CAC/GL 74-2010 Section 2.3 - Validation Process (par. 10. 11.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.1.6 - Modular Approach to Method Validation (par. 25. 26.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.1 - General Information (par. 27. 28. 29.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.2 - Minimum Performance Requirements (par. 30. 31. 32.)
- CAC/GL 74-2010 Section 3.2.3 - Collaborative Trial Test Materials (par. 33. 34.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I DESCRIPTION OF THE METHOD (par. 1.~5.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I SPECIFIC INFORMATION REQUIRED FOR DNA-BASED METHODS (par. 6.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I Primer pairs (par. 7.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I Amplicon length(par. 8.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I SPECIFIC INFORMATION REQUIRED FOR PROTEIN-BASED METHODS (par. 14.~17.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I INFORMATION ABOUT THE METHOD PERFORMANCE (par. 18.~26.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I PRACTICAL APPLICATION OF THE METHOD (par. 27.~30.)

7.2.2.3

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

7.3 サンプルリング

7.3.1

- CITAC/EURACHEM GUIDE 11.5
 - 大量の物質から適切な1つの試料又は複数の試料を分取することは、極めて重要な操作である。得られた最終結果が全体を代表する値でなければならないのでサンプルリングは、理想的には、その分析の全般的な背景を理解している熟練した試料採取者によって、又はその指揮下で行うことが望ましい。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 11.6
 - サンプルリング手順を文書化する時、使用する全ての用語を明確に定義することを確実にする

ことが重要である。

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.8

- サブサンプル：選定又は分割によって得た試料の一部分、又は試料の一部として採取されたロットの個々の単位、若しくは多段階サンプリングの最終単位を指す。

7.3.3

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.14

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

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.12.5

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

7.4 試験・校正品目の取り扱い

7.4.2

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.15

- ラベリングは試料の包装にしっかりと貼り付けなければならない。また、適宜、退色、オートクレーブ処理、試料又は試薬のこぼれ、温度及び湿度の妥当な変化に耐えなければならない。

(JAB注：ラベリングはラベルを含む識別表示全体を意味する。)

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 12.1

- 試料は、その完全性を確実にするように、保管されなければならない。特に、試料は交差汚染の可能性がない方法で保管しなければならない。試験所は、劣化、汚染がないように、しかも識別が維持されるようにこれらを保守することが望ましい。

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.13

- 試料の操作に使用する試料の包装材及び機器は、試料に接触するあらゆる表面が不活性であるものを選定することが望ましい。容器又はその栓から試料に溶出する金属又は可塑剤による試料の汚染の可能性に対して特別な注意を払うことが望ましい。試料が化学的な、微生物学的な、又は他の危険を引き起こすことなく取り扱うことができるように包装を確実なものとするのが望ましい。

7.4.3

・ CITAC/EURACHEM GUIDE 11.16

- ある試料、例えば、訴訟に関与する試料等は、ラベリング及び文書化に関して特別な要求事

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

《ヒトゲノム・遺伝子解析：サンプリング》

・一次サンプル（試料）採取及び取扱い

-試験の目的に応じた代表的な一次試料を下記に示す。

- ① 病原体核酸試験：血清、血漿、尿、喀痰、糞便など
- ② ヒト体細胞遺伝子試験：組織、血液（白血球）、血漿、骨髄、尿（沈渣）、喀痰
- ③ ヒト遺伝学的試験：血液（白血球）、口腔粘膜、毛髪、爪、血痕、臍帯（へその緒）

・サンプル（試料）採取、試験の性能や結果解釈に影響を与える、又は関連する臨床情報（例 薬物投与歴）

・腫瘍細胞の染色体試験において抗がん剤投与前に採取する等のサンプル（試料）採取時期の指示が必要である。

-試験前要求事項を患者が満たしているかの検証

[例 絶食状態、薬物療法状態（最終投与時間、中断）、規定採取時間又は時間間隔、など]

-病原体核酸試験（ウイルス試験）においては、試験を的確に実施するために適切な病期に適切な検体材料を採取することが重要である。

・採取されたサンプル（試料）が試験室に引き渡されるまでの適切な保存条件の指示

-遺伝子関連試験サンプル（試料）の適切な一次保存方法（温度、保存容器）を確立しているか。抽出されたRNAは保存安定性が非常に悪いいため保存容器は核酸の吸着を考慮する。

7.5 技術的記録

7.6 測定不確かさの評価

・CITAC/EURACHEM GUIDE 16.3

- 方法と試料に関係する不確かさを見積もり又は推定をするときに、不確かさを生じる可能性のある全ての要因を明確に考慮すること及び重要な成分を評価することを確実にすることが不可欠である。例えば、*繰返し性又は再現性は、方法に固有な系統効果に関連するあらゆる不確かさ全てを考慮するものではないため、通常、全ての要因を考慮した不確かさの推定ではない。

・CITAC/EURACHEM GUIDE 16.5

- 洗い出した不確かさの個々の要因、各寄与率の値及びその値の出所（例えば、繰返し測定、文献の参照、認証標準物質のデータなど）の記録を保管することが望ましい。

・CITAC/EURACHEM GUIDE 16.8

- 不確かさの寄与率の大きさは、さまざまな方法で推定することができる。影響要因のランダムな変動に関連する不確かさの成分の値は、代表的な範囲の条件下で適切な回数測定を繰返

し行い、結果の分散を*求めることによって、推定することがある（かかる検討において、測定回数は通常 10 回を下回らないことが望ましい）。

- CITAC/EURACHEM GUIDE 16.17
 - 全ての試験及び試料の種類に対して、不確かさを評価する必要がないことが多い。通常は、特定の方法について不確かさを一度だけ調査し、その方法の適用範囲で行った全ての試験に対して測定の不確かさを推定するために、その情報を使用することで十分である。

7.7 結果の妥当性の保証

- CAC/GL 74-2010 ANNEX I SPECIFIC INFORMATION REQUIRED FOR PROTEIN-BASED METHODS (par. 14. ~17.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I INFORMATION ABOUT THE METHOD PERFORMANCE (par. 18. ~26.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I ANALYTICAL CONTROLS (par. 31. 32.)
- CAC/GL 74-2010 ANNEX I METHOD PERFORMANCE (par. 33.)
- CITAC/EURACHEM GUIDE 21.2
 - QC*(Quality Control の略; 以下同様)のレベル及び種類は、重要性、分析の内容、分析の頻度、バッチの大きさ、自動化の程度及び試験の難易度と信頼性によって異なる。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3
 - 内部 QC：これは、ブランク、測定標準、スパイクされた試料、ブラインド試料、繰返し分析及び QC 試料の使用を含む様々な実施形態をとる。特に*QC 試料をモニターするために管理図の使用を推奨する。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3.1
 - 採用する QC のレベルは、結果の妥当性を確実にするために十分でなければならない。プロセス内の各種変動値を監視するために各種の品質管理を使用することができる。試料のバッチにおいて間隔をおいて QC 試料を分析することにより、システムの変動傾向が分かる。種々のブランクを使用すれば、分析対象成分からの寄与に加えて機器への寄与も明らかになる。試料の 2 回分析は、ブラインド試料の分析と同様に繰返し性の点検となる。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3.2
 - QC 試料は、十分に安定であり、長期間にわたって分析のために利用できるほど十分な量を確保している代表的な試料である。長期間にわたる、分析プロセスの性能のランダムな変動値は、QC 試料の分析値をモニターし、通常、管理図にプロットすることにより監視できる。QC 試料の値が許容できる範囲内である限り、QC 試料と同じバッチの試料の結果は信頼できるとみなすことができる。QC 試料から得られた値が許容範囲内かどうかを分析プロセスで可能な限り早急に検証して、システム不具合の状態のまま、信頼性のない試料分析を続けるというような無駄な努力を少なくすることが望ましい。
- CITAC/EURACHEM GUIDE 21.3.3
 - 方法の信頼性及び作業の重要性を考慮してリスクアセスメントに基づいて、品質管理の適切

なレベルを設定し、妥当なものにすることは、分析者の責任である。ルーチン分析については、5 % の内部 QC のレベルが妥当と認められてきた。即ち、20 試料中 1 試料は QC 試料であることが望ましい。しかし、大量の試料処理量を扱う安定的なルーチン分析の場合は、QC のレベルを低くしても妥当である。より複雑な手順では、20 % のレベルは普通で、時には 50 % のレベルでさえ必要な場合がある。稀に実施する分析については、全面的なシステムの妥当性確認をその都度実施することが望ましい。これには、試料とスパイクされた試料（既知量の分析対象成分を意図的に添加した試料）の繰返し分析に従って、一般的に分析対象成分の濃度が認証された又は既知の標準物質の使用が必要である。より頻繁に実施する分析については、管理図及び検定用試料の使用を組み込んだ系統的な QC 手順に従うことが望ましい。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 21.4

- 技能試験（外部 QC）：自らの要求事項及び他の試験所の基準の双方に対して分析試験所の能力を監視する最善の方法の一つは、定期的に技能試験スキームに参加することである（C7 参照）。技能試験は、試験所間の繰返し性及び再現性だけでなく、系統誤差、即ち、かたよりを明確にすることにも役立つ。技能試験及び他の種類の相互比較分析は、国内及び国際レベルで*分析結果の質を監視する重要な手段として受け入れられている。

• CITAC/EURACHEM GUIDE 21.5

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

《ヒトゲノム・遺伝子解析：妥当性確認》

以下の由来に基づく試験手順の妥当性確認をしなければならない。

- 妥当性の基盤とは、試験によって目標のゲノム領域全域で信頼できるシーケンス分析を確立することである。
- 試験の妥当性とは、疾患と変異ゲノム領域を関連づける正しい同定システムを確立することである。
- インフォマティク・パイプラインの妥当性とは、信頼できる分析基盤のデータから正確なシーケンスが見つけられるアルゴリズムを確立することである。

《ヒトゲノム・遺伝子解析：試験所間比較又は技能試験プログラムへの参加が不可能な場合》

- JIS Q 17025 7.7.1 項の b) f) k) を代替のアプローチとすることができる。
- ISO 15189:2012 5.6.3.2 代替のアプローチ

試験所間比較が不可能な場合はいかなるときも、当該施設は、その他のアプローチを開発し、試験結果の許容性の決定に関する客観的証拠を提供しなければならない。

可能な限り、この手法では適切な材料を利用しなければならない。

注記 材料の例には以下が含まれる：

- － 認証標準物質
- － 過去に試験したサンプル（試料）
- － 保管細胞又は組織からの材料
- － 他の試験室とのサンプル（試料）の交換
- － 試験室間比較プログラムで日常的に試験される管理物質

7.8 結果の報告

・CAC/GL 74-2010 Section 3.1.4 - Unit of Measurement and reporting of results (par. 21. 22.)

・CITAC/EURACHEM GUIDE 11.12.7

- － 試験所がサンプリング段階に責任がない場合、試料を受け取ったそのままを分析した旨、報告書の中に記述することが望ましい。

《ヒトゲノム・遺伝子解析：試験の遂行及び結果解釈》

- ・試験所は、試験依頼が適正であることを確認し、必要な場合、試験結果を正確に解釈するためには、被検者・家族の情報が必要であることを被検者に知らせる必要がある。
- ・当該施設は、内部および外部の保管およびシーケンズデータの転送に関して患者の機密性およびセキュリティを維持することを確実にするためのプロセスを記述する方針および手順が必要であり、以下を確実にする。

①当該施設は、この情報の保護とプライバシーを確保するための厳格なプロセスを確立する必要がある。

②試験所では、ゲノム情報を他のヘルスケア機関やクラウドベースのコンピュータ関連サービスや衛生試験所サービスを提供する第三者ベンダーに転送する際の頑健な方針が必要である。

③機密性を確保するための手順には、データの暗号化、安全なデータ転送、保護された医療情報へのアクセスを制限したユーザー認証、受領者側および/またはユーザーと共にデータ送信を追跡する監査証跡が含まれる。

④大規模なゲノムシーケンシング分析を行っている当該施設は、NGS の偶発的な結果を返す医学的および倫理的な意義に関する研究の活動状況に留意すべきであり、それらの成果について報告方針を策定するときに考慮すべきである。

《ヒトゲノム・遺伝子解析：結果の報告》

○Accuracy(精確さ)のうち、precision(精度)としての reproducibility(再現性)は保証できているが、trueness(真度、正確さ)が保証されない場合

- a. 複数の学術団体発行の学術論文で紹介されていること。
- b. 「試験所は受託するにあたり、試験依頼者に、試験方法の特徴（リスクを含むを十分に説明し、試験依頼者はこのリスクを理解した上で試験依頼をしている。」

- c. 測定機器番号、解析パラメータを報告書に添付する。
を条件とする。

7.9 苦情

《ヒトゲノム・遺伝子解析：二次的所見》

- ・次世代シーケンサにおいて見いだされる解析結果には、試験の主たる目的である「一次的 所見」と「二次的所見」がある。試験の主たる目的については、時間をかけて 詳細に被検者に説明される必要があるが、二次的所見が発生しうることも必ず事前に説明し、理解を得る必要がある

7.10 不適合業務

7.11 データの管理及び情報マネジメント

・CITAC/EURACHEM GUIDE 22.4

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

8. マネジメントシステムに関する要求事項

8.1 選択肢

8.2 マネジメントシステムの文書化

8.3 マネジメントシステム文書の管理

8.4 記録

8.5 リスク及び機構に取り組むための処置

8.6 改善

8.7 是正処置

8.8 内部監査

8.9 マネジメントレビュー

附属書 A 申請にあたっての確認事項

申請にあたっての確認事項		
項番	内容	例
6.5	標準物質	標準物質は、妥当性確認や日々の精度管理、結果の妥当性の確保などにとっても重要です。 用途/目的に合った標準物質が市販されていない、購入したサンプルが高価であるなどの理由から、自身のラボでワーキングスタンダードを準備する場合には、標準物質の持つ値(分銅なら重さ、物差しなら長さ)のトレーサビリティに注意してください。
	使っている標準物質を記載してください。	
6.5	標準物質の値付け	認証標準物質など、値付けされた標準物質を使用していますか? 用途/目的にあった標準物質が市販されていない場合には、自身のラボで値付けを実施することになります。 自身のラボで値付けのための SOP を作成し、繰り返し測定を実施して、値や不確かさを求めることも 1 つの方法です。 値付けの手法は、「受け入れられた」という意味で論文等に記載され、よく知られた方法を使ってください。
	標準物質の値付けの状況を記載してください。	
6.5	計量計測トレーサビリティ	SI 単位に対する計量トレーサビリティが技術的に不可能である場合として、6.5.3 b)には、「明確に記述され、意図した用途に合致した測定結果を提供するものとして受け入れられており、適切な比較によって確認がなされた標準測定手順、規定された方法又は合意標準の結果」による、適切な計量参照への計量トレーサビリティの実証が要求されています。
	トレーサビリティの証拠についてご準備状況を記載してください。	
7.2	意図した用途/目的	妥当性確認の定義は、「規定された要求事項が意図した用途に十分であることの検証」です。 審査対象とする試験方法の意図した用途は、文書にし、明確にしてください。
	選択した試験方法の意図した用途/目的を記載してください。レベルとしては下記のような項目が考えられますが、試験方法に対する要求事項が明確になるレベルまで詳細に記載してください。 - 健康状態の判断指標の提供 - ゲノム上の特定の遺伝子型の報告	

	- 特定のプラットフォームで実施した生データの提供	
7.2	<p>方法の選定と検証</p> <p>新しい方法の場合には、その旨を、すでに意図した用途に対して使える手法として製造者から提供されている方法や、国際規格、地域標準で規定されている手法の場合には、その旨記載し、検証の状況をご説明ください。</p>	<p>既に確立している手法を選択する場合には、その手法が、マニュアル等に規定された要求事項を満たしているという事を確認してください。</p> <p>このプロセスを検証といい、「与えられたアイテムが規定された要求事項を満たしているという客観的証拠の提示」と定義されています。</p>
7.2	<p>妥当性確認</p> <p>ラボ自身が新しく開発した方法、変更された方法については、妥当性確認が必要です。妥当性確認の状況を記載してください。</p>	<p>妥当性確認は、「規定された要求事項が意図した用途に十分であることの検証」と定義されています。意図した用途を明確にし、その上で方法が妥当であるかどうかを客観証拠で示してください。</p> <p>また、採用した方法のロバストネス(頑健性)も考慮してください。</p>
7.6	<p>不確かさの評価</p> <p>不確かさ評価の手順や結果を記載してください。</p>	<p>選択した方法について、不確かさを評価してください。</p> <p>厳密な測定の不確かさの評価が出来ない場合には、7.6.3 に示されているように、原理の理解又は試験方法の実施に関する実際の経験に基づいた推定が必要です。不確かさの要因を整理するためは、特性要因図(フィッシュボーン図)が用いられることがあります。また、不確かさの求め方に関しては、JCCLS の下記の Web ページに参考になる記載があります。</p> <p>http://www.jccls.org/active/calculation_soft.html</p>
7.7	<p>結果の妥当性の確保(精度管理)</p> <p>結果の妥当性をどのように監視しているのか記載してください。</p> <p>技能試験の対象とならない手法についても、試験所間比較への参加を検討する必要があります。</p>	<p>結果の妥当性の監視は、標準物質や品質管理物質の使用、試験の反復、保留された品目の再試験等により監視する必要があります。</p> <p>また、”利用可能で適切な場合”、技能試験か試験所間比較、またはその両方に参加しなければなりません。</p>