

ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理の手引き（生物検定法） （案）

平成 17 年 月 日
環 境 省

本手引きは、ダイオキシン類の環境測定における的確な精度管理を実現するため、ダイオキシン類の環境測定を担当する機関等が自ら講ずべき措置等を定めたものである。

第 1 部 総括的事項

第 1 章 品質管理システム

1. 組織

ダイオキシン類の環境測定を実施する機関は、以下に示す統括責任者、品質管理者、技術管理者及び測定担当者を置き、品質管理システムの適正な運営を確保する。

(1) 統括責任者

統括責任者は、ダイオキシン類の環境測定業務全体について責任を負う。統括責任者は、(2)の品質管理者、(3)の技術管理者及び(4)の測定担当者を指名し、指名した者の氏名、担当する業務及び当該業務・関連業務に関する経験（担当年月、研修の受講歴等）等を記載した組織に関する文書及び組織の機構図を作成する。また、品質管理者から提出される第 2 章 1 の標準作業手順書案、第 3 章 1 の品質保証・品質管理計画書案及び第 3 章 2 の品質保証・品質管理結果報告書案等を審査し、承認する。

なお、品質管理者については、技術管理者及び測定担当者とは別の者を指名する。

(2) 品質管理者

品質管理者は、ダイオキシン類の環境測定に関する品質管理について、優れた能力を有する者をもってあてる。品質管理者は、ダイオキシン類の環境測定に関する品質管理に責任を持ち、技術管理者から提出される第 2 章 1 の標準作業手順書案、第 3 章 1 の品質保証・品質管理計画書案及び第 3 章 2 の品質保証・品質管理結果報告書案等を審査し、統括責任者に提出する。また、本章 3 に規定する内部監査を実施する。

(3) 技術管理者

技術管理者は、ダイオキシン類の環境測定について、豊かな知見と優れた技術を有する者をもってあてる。技術管理者は、ダイオキシン類の環境測定に係る技術的な管理について責任を持ち、測定担当者による業務の実施に関して、技術的指示を行うとともに、測定担当者から提出された記録等の内容を確認し、保存する。

また、第 2 章 1 の標準作業手順書案、第 3 章 1 の品質保証・品質管理計画書案及び第 3 章 2 の品質保証・品質管理結果報告書案等を作成し、品質管理者に提出する。

(4) 測定担当者

測定担当者は、ダイオキシン類の環境測定に係る試料採取、前処理、生物検定法による測定等に関する教育・訓練を受け、その業務を的確に処理することができる者をもってあてる。測定担当者

は、本手引きの規定に基づき、必要な記録等を作成・整理した上で、技術管理者に提出する。

2.不適切な操作等が行われた場合の対処方法

技術管理者は、測定担当者から提出される記録等の確認の方法及び確認の際に品質管理上問題があると認めた場合の対処方法に関する文書（以下、「対処方法書」（備考））案を作成し、品質管理者に提出する。

品質管理者は、対処方法書案を審査し、必要に応じ修正した対処方法書案を統括責任者に提出する。

統括責任者は、品質管理者より提出された対処方法書案を審査し、必要に応じ修正の指示を行い、修正後の対処方法書案を承認する。

技術管理者は、本手引きの品質管理に関する規定から逸脱した操作が行われたと認める場合には、当該対処方法書に基づき適切な措置を講じる。

3.内部監査

品質管理者は、ダイオキシン類の環境測定に関する品質保証・品質管理が適切に行われていることを確認するための監査を実施し、結果を文書（以下、「内部監査報告書」（備考））にして統括責任者に提出する。監査の頻度は、使用する施設、装置、技術管理者等に特段の変更がない場合には、1年に1度以上とし、これらの事項について変更があった場合（軽微なものを除く。）には、変更後の測定が定常的に行われるようになった段階で実施する。

統括責任者は、提出された内部監査報告書に基づき、必要がある場合には、品質の改善等を技術管理者に文書（以下、「品質改善指示書」（備考））で指示する。

技術管理者は、品質改善指示書に基づき、品質改善の実行方法を記載した文書（以下、「品質改善実行書」（備考））案を作成し、品質管理者に提出する。

品質管理者は、品質改善実行書案を審査し、必要に応じ修正した品質改善実行書案を統括責任者に提出する。

統括責任者は、品質管理者より提出された品質改善実行書案を審査し、必要に応じ修正の指示を行い、修正後の品質改善実行書案を承認する。

技術管理者は、当該品質改善実行書に基づき業務改善のための適切な措置を講じる。

4.教育、訓練等

統括責任者は、測定担当者に対し、教育、訓練等（外部機関での研修、技能試験・試験所間比較試験等への参加を含む。）を行う。また、職務の遂行に当たり必要があると認める場合には、品質管理者、技術管理者に対しても、教育、訓練等を行う。その際、行った教育、訓練等の内容、期間、成果等について、教育、訓練等を受けた者より報告書を提出させ、これを整理・保存するとともに、1(1)の組織に関する文書にその内容を追加する。

生物検定法の技術習得のための技術開発機関における研修、濃度既知試料の測定など、測定結果に対する精度維持のための教育及び訓練に関する記録を作成し、測定担当者の適用業務範囲を明確にする。

5. 文書の管理等

統括責任者は、本手引きに規定のある文書・記録の作成及び維持管理の手順を明らかにした文書(以下、「文書・記録の作成及び維持管理手順書」(備考))を作成し、これに基づき当該文書・記録の適切な作成及び維持管理が行われるよう、品質管理者、技術管理者及び測定担当者に指示する。

これらの文書・記録には、作成日を明記する。別表2の1に示す基本文書については、最新版を維持・管理し、更新された旧版を原則として5年間保存する。別表2の2に示す計画書・報告書等及び別表2の3に示す記録については、原則として3年間保存する。

全ての記録については、その変更が行われた場合、その履歴がトレースできることを確実にしておく。

なお、電子記憶媒体に保存しているデータは、バックアップを作成するとともに、その他の方法により作成された記録についても、その変更履歴が明確となるような措置を講じなければならない。

6. 他機関との業務の分担

試料採取等の業務を他機関が分担して実施する場合には、業務分担の内容及び責任の所在を明確にし、これを第3章1の品質保証・品質管理計画書に記述する。なお、下請負契約等により試料採取等の一部の業務を他機関に発注する場合には、発注する業務の内容、発注先についても記述するとともに、本手引きの要求事項が確実に実施されるよう措置する。

生物検定法による測定の場合、サンプリングスパイクやクリーンアップスパイクなどの従来使用されてきた内標準を添加することが困難であるため、試料採取、抽出あるいは前処理などの業務の分担において、それぞれが精度を担保し、その責任の所在が記録などによって明確にされていることが必要である。

(備考)当該文書が特定できるものであれば、その名称にはこだわらない。ただし、当該文書の名称は、本手引きとの対応が明確であり、かつ、その内容を代表している必要がある。

第2章 品質保証・品質管理に関する共通的事項

1. 標準作業手順書

技術管理者は、測定方法（平成17年環境省告示第92号（別表1参照）等。以下同じ。）及び第2部に規定されている事項等に基づき、試薬等の管理及び試料採取から結果の報告等に至る作業のうち、当該機関が実施する作業について具体的な操作手順を記述した標準作業手順書案を作成し、品質管理者に提出する。

品質管理者は、標準作業手順書案を審査し、必要に応じ技術管理者と協議した上で修正した標準作業手順書案を統括責任者に提出する。

統括責任者は、品質管理者より提出された標準作業手順書案を審査し、必要に応じ修正の指示を行い、修正後の標準作業手順書案を承認する。

2. 業務の進行管理

技術管理者は、ダイオキシン類の測定業務が開始された後は、測定担当者の報告等に基づき業務の進行状況を把握し、その適切な管理に努めるとともに、進行状況に係る記録を作成する。

なお、測定担当者の作成する記録を技術管理者が確認することによって、進行状況等に係る記録としても良い。

また、技術管理者は、自機関が実施する一連のダイオキシン類の環境測定業務について、実施計画書案を作成する。

第3章 品質保証・品質管理に関する計画及び結果報告

1. 品質保証・品質管理計画書

技術管理者は、必要に応じて個別の依頼者から受けた調査業務等のために自機関が実施する一連のダイオキシン類の環境測定業務について、別紙1に示す品質保証・品質管理計画書案を作成し、品質管理者に提出する。

品質管理者は、必要に応じ修正した品質保証・品質管理計画書案を統括責任者に提出する。

統括責任者は、品質管理者より提出された品質保証・品質管理計画書案を審査し、必要に応じ修正の指示を行い、修正後の品質保証・品質管理計画書案を承認する。

2. 品質保証・品質管理結果報告書

技術管理者は、必要に応じて1の品質保証・品質管理計画書に基づき実施したダイオキシン類の環境測定業務について、別紙2に示す品質保証・品質管理結果報告書案を作成し、品質管理者に提出する。

品質管理者は、品質保証・品質管理結果報告書案を審査し、不備等の問題があった場合には、技術管理者に品質保証・品質管理結果報告書案の修正について指示する。また、品質管理上の問題があった場合には、第1章2の対処方法書に基づく措置の実施及びこれに基づく品質保証・品質管理結果報告書案の修正について技術管理者に指示する。品質管理者は、必要に応じ修正した品質保証・品質管理結果報告書案を統括責任者に提出する。

統括責任者は、品質管理者より提出された品質保証・品質管理結果報告書案を審査し、必要に応じ修正等の指示を行い、修正後の品質保証・品質管理結果報告書案を承認する。

なお、当初案からの修正が行われた場合には、品質管理者はその経過を記録する。

第2部 各論

第1章 試薬、器具、装置及び施設の管理

測定担当者は、以下の事項について記録等を作成・整理した上で、技術管理者に提出する。技術管理者は提出された記録等の内容を確認し、保存する。

1. 試薬等

使用する試薬について、使用目的に応じて整理した上で、測定方法に定められたものであることを確認し、メーカー、製品名、ロット番号、購入日、購入量、開封日、有効期限、保存方法等を記録する。また、精製・洗浄、その他の調製を行ったものについては、調製作業を行った者、作業日及び作業の内容及び調製等に使用した試薬のトレーサビリティを確実にする情報を記録する。なお、有効期限の定められていないものについては、開封あるいは調製後の使用有効な期間を定め、それを記録する。

キット化されている試薬等については、そのキットに同梱されている試薬等をキット間で流用せず、使い切ること。

また、キットや細胞については、停電や液体窒素漏れといった万が一の事態に備えて、分散保管する等の対策を講じることが望ましい。

2. 標準物質（溶液）

標準物質（溶液）については、1に加え、使用日、使用量を記録する。なお、標準溶液を購入した場合には、購入時の濃度（複数の標準物質を含むものにあつては各々の濃度）を記録する。

3. 器具

使用する器具について、使用目的に応じて整理した上で、測定方法に定められたものであることを確認し、メーカー、製品名、洗浄等の処理（作業を行った者、作業日及びその内容）、保管方法を記録する。また、マイクロピペットの吸い込みによるピペット本体内部汚染防止等、器具の汚染防止に関する記録を作成する。なお、必要に応じて高濃度試料測定用器具と低濃度試料測定用器具とを区別し、両者が明確に識別できるように措置し、その内容を記録する。校正が必要な器具については、定期的に校正の実施に関する記録を作成する。

4. 装置

使用する装置について、使用目的に応じて整理した上で、測定方法に定められたものであることを確認し、メーカー、製品名、校正の実施状況、日常の測定における管理状況を記録する。装置の修理等を行った場合には、修理伝票の保存とともに修理等の状況を記録する。

5. 施設

試料搬入後の一連の業務がどのような作業環境で実施されているかを判断できる文書を作成する。特に試料の前処理及び生物検定法による測定の作業環境については、品質管理の観点からどのよう

な配慮がなされているかを記述する。例えば、定期的に温度、湿度、差圧等の条件について記録を取っておく。

また、前処理と測定に関しては施設が独立していることが望ましい。

同一施設で高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いた方法(以下、「HRGC/HRMS法」)によるダイオキシン類分析を行っている場合は、内標準物質による汚染が生じないような対策を講じる。

なお、作業環境については、以下の要件を満たす施設を有することとし、精度(品質)管理の観点からどのような配慮がなされているかを記述する。

(1) 遺伝子組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイによる試験実施施設

試験施設は、培養細胞の保存、継代培養、試験操作等を行うため、必要に応じ分離された区域を有し、試験実施中に使用される試薬の調製、保管、また、器具及び機器の滅菌、維持管理及び保管等が可能であること。

当該施設は、コンタミネーション等により培養細胞に与える影響を最小限に抑制されていること。自治体等によって、遺伝子組み換え培養細胞の使用に当たっての運用規則などが定められていることがありうるため、その場合は該当する規則を遵守すること。

(2) 抗原抗体反応を利用したキットによる試験実施施設

試料搬入後の一連の業務がどのような作業環境で実施されているかを判断できる文書を作成する。特に試料の前処理及びキットに対するピペティング操作やプレートリーダー等による測定の作業環境については、精度(品質)管理の観点からどのような配慮がなされているかを記述する。

第 2 章 試料採取

1. 試料採取計画

(1) 事前調査

技術管理者は、事前調査の必要性について検討し、必要と認める時は、事前調査の計画を測定担当者より提出させ、必要に応じその修正を行った上で、測定担当者に事前調査の実施を指示する。

測定担当者は、その計画に基づき事前調査を行い、その結果を記録し、技術管理者に提出するとともに、事前調査結果を(2)の試料採取計画案の作成に反映させる。

技術管理者は、提出された記録の内容を確認し、保存する。

(2) 試料採取計画

測定担当者は、試料採取計画案を作成し、技術管理者に提出する。

技術管理者は、提出された案を必要に応じ修正した上で、第 1 部第 3 章 1 の品質保証・品質管理計画書案に試料採取計画として記述する。

2. 試料採取の実行に係る判断

測定担当者は、前日及び当日の天候（項目によっては数日前の天候についても考慮する。）その他の状況を踏まえ、試料採取の実行の可否について判断し、結果を技術管理者に連絡して、その了承を得る。可とした場合には試料採取を実施し、不可とした場合には、その経過を記録する。

3. 試料採取の記録

測定担当者は、試料採取計画に基づき、試料採取を実施し、以下の記録を作成・整理した上で、技術管理者に提出する。技術管理者は、提出された記録の内容を確認し、保存する。

(1) 共通的事項

試料の名称

試料採取者

試料採取日時

試料採取地点名

採取地点・場所に係る地図及びその状況に関する記述（必要に応じて、全地球測位システム（GPS）等により求めた試料採取地点の緯度・経度）

試料採取の実行に係る判断等

採取期間内の天候

試料採取時の写真（周辺の状況がわかる遠景写真及び試料採取状況がわかる近景写真の 2 種類。ただし、写真撮影が不可の場合には、必要としない。）

試料に影響を与えている可能性のある事項

試料採取量

試料採取後の輸送方法

(2) 測定項目別の特記事項

以下の事項等については、測定項目別に別紙 3～4 に規定する。

試料採取器具・装置及び使用した試薬等

試料採取操作

試料容器

4. トラベルブランク試験及び二重測定

試料採取を行う測定担当者は、試料採取に当たって、測定方法に規定された方法により、トラベルブランク試験のための操作及び二重測定のための試料採取を行い、その実施状況を記録する。

トラベルブランク試験は、移送中に汚染が考えられる場合(電気集じん機で集められた灰などによる汚染)には必ず測定し、十分に低値であることを確認しなければならないが、それ以外の場合には、その管理を十分しておけば毎回測定しなくてもよい。二重測定についても、二重測定の実施が困難である場合を除き、測定試料数の10%程度の頻度で行い、同一の生物検定法における定量下限以上の測定量(毒性等量)について、その平均値を求め、個々の測定量(毒性等量)が平均値の $\pm 30\%$ 以内であることを確認する。なお、二重測定用の試料採取を行わない場合には、試料採取の操作について十分な管理を行うことが必要である。

トラベルブランク試験又は二重測定を行わない場合には、試料採取における信頼性について十分検討しておき、必要があればそのデータが提示できるようにしておく。

第3章 試料の前処理

1. 試料前処理計画

測定担当者は試料前処理計画の案を作成し、技術管理者に提出する。

技術管理者は提出された案を必要に応じ修正した上で、第1部第3章1の品質保証・品質管理計画書案に試料前処理計画として記述する。

2. 試料の前処理に係る共通的事項

試料の前処理を行う測定担当者は、試料前処理計画に基づき次の作業を実施し、作成した記録を整理した上で、技術管理者に提出する。技術管理者は提出された記録の内容を確認し、保存する。

なお、生物検定法による測定は、特殊事情のある場合を除き「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」に従うものとし、方法の変更を認めない。

(1) 試料の受入検査

採取された試料が測定機関に搬入された段階で試料の状態等に関する受入検査を実施し、以下の事項について記録を作成する。

試料が搬入された日時及び受入検査を実施した日時

受入検査の実施者

試料搬入の手段及び状態

試料容器の種類及び大きさ

試料の性状

その他特記事項

(2) 抽出操作を行うまでの試料の保存・管理

受入検査を行った試料について、(3)の抽出操作を行うまでの間、以下の記録を作成した上で適切な保存・管理を行う。

試料の管理番号

試料の保存・管理の場所、方法及び期間

(3) 試料からの抽出

試料からの抽出操作を行い、以下の記録を作成し、その内容が測定方法に定められた方法・条件により行われたことを確認する。なお、特殊事情により特別の方法を講じた場合には、その理由、内容及び妥当性（比較検討結果、引用文献等）を記録する。

また、抽出操作時の他試料による汚染を判断するための参考資料として、同時期に処理を行った試料のリストを作成する。

操作を行った者

操作を行った日時

抽出に供した試料の性状及び量

抽出のために使用した器具並びにその洗浄の実施状況及び使用するまでの保管の状況

抽出操作の方法・条件（溶媒の種類、量、抽出時間等）

(4) 試料抽出液のクリーンアップ

試料抽出液のクリーンアップ操作を行い、以下の記録を作成し、その内容が測定方法に定められ

た方法・条件により行われたことを確認する。なお、特殊事情により特別の方法を講じた場合には、その理由、内容及び妥当性（比較検討結果、引用文献等）を記述する。

また、クリーンアップ操作時の他試料による汚染を判断するための参考資料として、同時期に処理を行った試料のリストを作成する。

操作を行った者

操作を行った日時

操作のために使用した試料抽出液の量

操作の方法及び条件

使用試薬の種類

ア.前処理に、硫酸シリカゲルカラム及び活性炭カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6.1c2 を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(環境省平成 17 年告示第 92 号第 1 の 1)

(ア)硫酸シリカゲル/活性炭カラムクロマトグラフ操作

- ・シリカゲルの材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・活性炭の材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・溶出のために使用した溶媒の種類、溶出液の量

イ.前処理に、硫酸シリカゲルカラム及び活性炭カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 101L を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(環境省平成 17 年告示第 92 号第 1 の 2)

(ア)硫酸シリカゲル/活性炭カラムクロマトグラフ操作

- ・シリカゲルの材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・活性炭の材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・溶出のために使用した溶媒の種類、溶出液の量

ウ.前処理に、多層カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(環境省平成 17 年告示第 92 号第 1 の 3)

(ア)多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作

- ・シリカゲルの材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・溶出のために使用した溶媒の種類、溶出液の量

(イ)アルミナカラムクロマトグラフ操作の場合

- ・アルミナの材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・溶出のために使用した溶媒の種類、溶出液の量

エ.前処理に、多層シリカゲルカラム及びカーボンカラムを使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体と、検量線作成用標準品及びプレート固相抗原を用いた抗原固相化-酵素免疫反応を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(環境省平成 17 年告示第 92 号第 2)

(ア)硫酸処理

- ・ヘキサンの使用量
- ・硫酸の添加量及び添加回数

(イ)多層シリカゲル/活性炭カラムクロマトグラフ操作

- ・シリカゲルの材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・活性炭の材質・商品名、活性化条件及び充填量
- ・溶出のために使用した溶媒の種類、溶出液の量

3. 試料の前処理に係る測定項目別の特記事項

試料の前処理に係る測定項目別の特記事項については、必要に応じ、別紙 3～4 に規定する。

4. 測定用試料に併せて測定を行う試料の調製

測定担当者は、ダイオキシン類の測定に係る品質が確保されていることの確認等を行うため、以下の試料について必要な前処理等を行い、第 4 章 5 において測定を行う試料として調製するとともに、調製を行った測定担当者の氏名、調製の日時及び調製操作の概要を記録し、技術管理者に提出する。

(1) 操作ブランク試験のための試料

一連の測定業務において用意する試料である。操作時の汚染に対して十分な管理がなされており、その値が十分低値であれば毎回行わなくてもよいが、前処理操作に大きな変更があった場合、試料間汚染が予想されるような高濃度試料を測定した場合にも試料を調製する。

(2) トラベルブランク試験のための試料

第 2 章 4 に基づきトラベル試験のための操作を行った試料について、前処理操作を行い調製した試料である。

(3) 二重測定のための試料

第 2 章 4 に基づき試料採取を行った二重測定用の試料について、前処理操作を行い調製した試料である。

(4) 濃度既知試料

標準的な濃度既知試料であり、適切な頻度（例えば、一連の分析操作ごと）において、品質管理上の問題が発生していないことを定期的に確認するために使用する試料である。問題が発生していると認められる場合は、濃度既知試料を用いて、前処理及び測定操作等工程ごとに濃度既知試料を用いて確認し、原因の究明を行う。

(5) 換算係数の確認のための試料

換算係数の確認のために調製する試料であり、HRGC/HRMS 法による測定のための公定法の手順に従い抽出を行った抽出試料(ただし抽出工程でのクリーンアップスパイクの添加は行わない)を分割し、片方は HRGC/HRMS 法に定められた方法によりクリーンアップを行い、残りは生物検定法に定められた方法によりクリーンアップを行って試料を調製する。

第4章 生物検定法による測定

1. 生物検定法による試料の測定計画

測定担当者は、生物検定法による試料の測定計画の案を作成し技術管理者に提出する。技術管理者は提出された案を必要に応じ修正した上で、第1部第3章1の品質保証・品質管理計画書案に生物検定法による試料の測定計画として記述する。

2. 計測機器の点検

技術管理者は、計測機器の点検に関する実施基準を作成し、品質管理者の承認を得た上で統括責任者に提出し、その承認を得る。測定担当者は、この基準に基づき点検等を行い以下の記録を作成し、技術管理者に提出する。なお、(2)の定期点検は、日常点検の範疇を超える点検、調整等であり、外部に委託することができる。また、停電や故障等の問題が発生した場合には、どのような処置を講じたかを記録する。

(1) 日常点検

点検を行った者及び点検を行った日時
各種消耗品に関する基本的な事項

(2) 定期点検

点検を行った者及び点検を行った日時
点検の実施状況

(3) メンテナンス

光源等の点検・交換
インキュベータ等の温度制御機能の点検・修理
その他

(4) 問題が発生した時の処置

問題の内容及び講じた処置

3. 測定系の準備

測定担当者は、以下の4から8の操作を行うに当たり、培養細胞又はキットの準備を行い、これらの測定系が使用可能であることを確認した上で以下の記録を作成し、技術管理者に提出する。

このときの操作は、「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」を遵守すること。

また、遺伝子組み換え培養細胞ならびに抗ダイオキシン類抗体の活性がダイオキシン類の測定に必要とされる状態にあることについても「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」あるいは測定系の製造者あるいは販売者によって提示される要求事項を満たしていること。

(1) 凍結保存されているもの

解凍作業を行った者及び日時
凍結保存されている培養細胞又はキットの解凍操作
操作が測定に使用する上で問題がないことの確認記録

(2) 冷蔵保存されているもの

開封等作業を行った者及び日時

開封等の操作

測定に使用する上で問題がないことの確認記録

(3) 常温保存されているもの

開封等作業を行った者及び日時

開封等の操作

測定に使用する上で問題がないことの確認記録

(4) 細胞の管理状況

遺伝子組換え培養細胞を用いたレポータージーンアッセイにおいては、下記に示す細胞の管理状況についても確認及び記録を作成し、技術管理者に提出する。

活性確認

培養条件及びコンタミネーション等の有無

継代等の操作

4. 検量線の作成

測定担当者は、検量線作成用標準液について、測定時の同一ロット内において測定を行い、必要なデータを求める。得られたデータが測定方法に定められた条件に合致していることを確認し、以下の記録を作成する。

(1) 検量線の作成者

(2) 検量線の作成日

(3) 測定条件

(4) 計測値

(5) 測定方法で定められている近似式及びその算出過程

5. 試料の測定

測定担当者は、生物検定法による試料の測定計画に基づき、検量線作成用標準液、測定用試料及び第3章4で調製した試料について測定操作を実施し、必要なデータを集め、以下の記録を作成する。

(1) 測定操作を行った者

(2) 測定を行った日

(3) 測定条件

(4) 測定の順番

(5) 測定に供した試料量

6. 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認

定量操作が適切に行われているかどうかを確認するため、測定担当者は、「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」に従い、検量線作成用標準液の測定操作により得られたデータから、測定量（毒性等量）を求め、感度管理図に記録し保存する。管理図による処置基準は、管理限界（ $\mu \pm 2\sigma$ ）からの逸脱状況及び図の傾向等に応じて下記のとおりとする。（ μ ：工程平均、 σ ：測定量（毒性等量）の標準偏差）

なお、管理限界は十分なサンプル数から を導出することとし、変動係数 (CV%) で 20%以内に収まることが望ましい。

1点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明と改善を行うとともに、再測定する。改善のために講じた措置及び再測定の結果について、記録をする。また、管理限界内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った測定量が続くような状態においては、原因の究明を行い、必要に応じ、改善を行うとともに、再測定する。

管理図より明らかとなる原因についての考察を例示する。

(1) 良好な結果

管理限界内

(2) 注意を要する結果(管理限界内)

中心線より下または上に偏在傾向

- a. 発色基質の劣化や酵素活性の低下などの発色感度低下
- b. プラスミドの欠落などの細胞劣化
- c. 試薬の汚染

一定の増加または減少傾向

- a. 発色基質の劣化や酵素活性の低かなどの発色感度低下
- b. プラスミドの欠落などの細胞劣化
- c. 試薬の汚染

(3) 改善を要する結果

1点以上が管理限界超過

- a. ピペッティング操作の不備 (不良なチップ使用、チップ取り付け不備によるリークなど)
- b. 添加忘れなどの操作ミス

全ての点が管理限界超過

- a. ピペッティング操作の不備 (不良なチップ使用、チップ取り付け不備によるリークなど)
- b. 試薬や試料の混合不良
- c. 反応温度不適・反応時間間違い

7. 測定

測定担当者は、測定用試料及び第 3 章 4 で調製した試料に係る本章 5 の操作より得られたデータについて測定に係る作業を行い、以下の記録を作成する。

(1) 作業を行った者及び日時

(2) 発光、吸光、蛍光等の強度

8. 検出下限等算出用検量線の作成

測定担当者は、少なくとも 6 ヶ月に 1 回、検出下限等算出用標準液について検量線を作成し、必要な測定量 (毒性等量) を求める。得られたデータが測定方法に定められた条件に合致していることを確認し、以下の記録を作成する。また、測定条件が大幅に変わった場合 (機器、試薬、施設等の大幅な変更、測定担当者の変更によるピペット操作誤差の変化等) にも、確認を行い、記録を作成する。

- (1)検出下限等算出用検量線の作成者
- (2)検出下限等算出用検量線の作成日
- (3)測定条件
- (4)測定量（毒性等量）

第5章 生物検定法における定量結果の確定と結果の報告

測定担当者は、以下の1~4の作業を行い、作成した記録及び第4章4~8の記録を整理した上で技術管理者に提出する。技術管理者は提出された記録を審査し、以下の3で算出した濃度の精度(品質)に問題がないと認める場合には、その旨を測定担当者に連絡する。問題を認めた場合には、第1部第1章2の規定に基づき、適切な措置を講じる。

技術管理者より以下の3で算出された濃度の精度(品質)に問題がないと認める旨の連絡を受けた測定担当者は、以下の5~11の作業を行い、作成した記録を技術管理者に提出する。

技術管理者は提出された記録を確認し、問題がないと認める場合には、測定用試料の定量結果を確定する。さらに、技術管理者は提出された記録等を確認し、保存するとともに、第1部第3章2の品質保証・品質管理結果報告書案を作成し、品質管理者に提出する。

1. 検出下限、定量範囲

(1) 標準品についての検出下限、定量範囲の算出

検出下限等算出用検量線の測定操作により得られた測定量(毒性等量)の定量値の変動係数(CV%)が30%以下となる点を検出下限、20%以下となる点を定量下限とし、この定量下限と「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」に記載されている方法により算出された定量上限の間を定量範囲とする方法で算出し、結果を記録しておく。

この標準品についての検出下限、定量範囲は、少なくとも6ヶ月に1回十分な性能が得られていることを確認する。また、測定条件が大幅に変わった場合(機器、試薬、施設等の大幅な変更、測定担当者の変更によるピペット操作誤差の変化等)にも、確認する。

(2) 試料についての検出下限及び定量下限

基本的には試料量と前処理を経た最終検液量の数値と、標準品についての検出下限及び定量下限から理論的に算出する。試料についての検出下限及び定量下限は、試料採取量や最終検液量などにより異なってくるため、「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」に従い試料ごとに求める。

2. 実測濃度の算出

「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」に定められた方法により、実測濃度を算出し、その結果を記録する。また、実測濃度の算出に至った計算過程を説明できる資料を作成する。

3. 測定量(毒性等量)の算出

「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」に定められた方法により、測定量(毒性等量)を算出し、その結果を記録する。また、使用した換算係数等も含め、測定量(毒性等量)の算出に至った計算過程を説明できる資料を作成する。

4. 再測定

記録の不備、操作ミス及び定量範囲の逸脱等、再測定の必要が生じた場合、その理由を記して再測定を行うとともに、その原因を追究して理由を明確にする。

5. 操作ブランク試験

操作ブランク値を求め、結果が十分に低値であることを確認し、記録する。

6. トラベルブランク試験

トラベルブランク値を求め、結果が十分に低値であることを確認し、記録する。

7. 二重測定

二重測定用試料の測定量（毒性等量）を求め、結果を比較検討し、記録する。

8. 濃度既知試料の測定

濃度既知試料の測定量（毒性等量）を求め、これまでに同一試料について測定した結果と比較検討し、記録する。なお、濃度既知試料を測定した結果が一定の範囲（例えば、当該濃度の $\pm 30\%$ 以内、又は標準偏差の2倍以内）を逸脱していた場合は、濃度既知試料を用いて、前処理及び測定操作等工程ごとに濃度既知試料を用いて確認し、原因の究明を行う。

9. 換算係数の確認

少なくとも6ヶ月に1回、HRGC/HRMS法によって測定された試料について、本測定法による測定を行い、HRGC/HRMS法により得られた測定量（毒性等量）と本測定法で得られた実測濃度より換算係数を算出し、「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」記載の換算係数と比較し記録する。また、測定条件が大幅に変わった場合（例：機器、試薬、施設等の大幅な変更した場合）にも、確認を行い、比較結果を記録する。

「ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル」記載の換算係数と大きく換算係数が乖離する場合又は相関が悪い場合には、原因の究明を行い、その結果及び講じた措置を記録する。

なお、HRGC/HRMS法を用いる場合は、「ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理指針」及び「ダイオキシン類の環境測定を外部に委託する場合の信頼性の確保に関する指針」に留意することとする。

10. 異常値・欠測値の発生原因等

本章1～9でデータの確定ができなかった異常値・欠測値については、その原因等を検討し、その結果を記録する。また、異常値・欠測値について、品質管理上問題がある場合については、第1部第1章2に従い必要な措置を講じる。

11. 試料等の保存

品質保証・品質管理計画書に基づき、再測定に備えた試料等の保存・管理を行い、その管理番号、保存・管理の方法及び期間を記録する。

別表1 本手引きの対象となるダイオキシン類の環境測定的项目及び測定方法

項目	測定方法
排出ガスの汚染状況の調査測定	平成17年環境省告示第92号（ダイオキシン類対策特別措置法施行規則第2条第1項第4号の規定に基づき環境大臣が定める方法）
ばいじん及び焼却灰その他の燃え殻の汚染状況の測定	平成17年環境省告示第92号（ダイオキシン類対策特別措置法施行規則第2条第1項第4号の規定に基づき環境大臣が定める方法）

別表2 作成及び維持管理が必要な文書・記録

1. 基本文書	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 組織に関する文書 ・ 組織の機構図 ・ 対処方法書 ・ 文書・記録の作成及び維持管理手順書 ・ 標準作業手順書 ・ 施設の作業環境に関する文書 ・ 計測機器の点検に関する実施基準 	第1部第1章1(1) 同上 第1部第1章2 第1部第1章5 第1部第2章1 第2部第1章5 第2部第4章2
2. 計画書・報告書等	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 内部監査報告書 ・ 品質改善指示書 ・ 品質改善実行書 ・ 教育・訓練に関する報告書 ・ 品質保証・品質管理計画書 ・ 品質保証・品質管理結果報告書 	第1部第1章3 同上 同上 第1部第1章4 第1部第3章1 第1部第3章2
3. 記録	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 業務の進行状況に関する記録 ・ 試薬等に関する記録 ・ 標準物質（溶液）に関する記録 ・ 器具に関する記録 ・ 装置に関する記録 ・ 施設に関する記録 ・ 試料採取に係る事前調査結果 ・ 試料採取を不可とした経過に関する記録 ・ 試料採取に関する記録 ・ トラベルブランク試験及び二重測定のための試料採取の実施状況に関する記録 ・ 試料の受入検査に関する記録 ・ 試料の保存・管理に関する記録 ・ 試料からの抽出に関する記録等 ・ 試料抽出液のクリーンアップに関する記録等 ・ 測定用試料に併せて測定を行う試料の調製に関する記録 ・ 計測機器の点検に関する記録 ・ 測定系の準備に関する記録 ・ 検量線の作成に関する記録 ・ 試料の測定に関する記録 ・ 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認に関する記録 ・ 測定に関する記録 	第1部第2章2 第2部第1章1 第2部第1章2 第2部第1章3 第2部第1章4 第2部第1章5 第2部第2章1(1) 第2部第2章2 第2部第2章3 第2部第2章4 第2部第3章2(1) 第2部第3章2(2) 第2部第3章2(3) 第2部第3章2(4) 第2部第3章4 第2部第4章2 第2部第4章3 第2部第4章4 第2部第4章5 第2部第4章6 第2部第4章7

・検出下限等算出用検量線に関する記録	第2部第4章8
・検出下限、定量範囲の測定及び算出に関する記録	第2部第5章1
・操作ブランク試験に関する記録	第2部第5章5
・トラベルブランク試験に関する記録	第2部第5章6
・二重測定に関する記録	第2部第5章7
・濃度既知試料の測定に関する記録	第2部第5章8
・換算係数の確認に関する記録	第2部第5章9
・実測濃度の算出に関する記録	第2部第5章2
・測定量（毒性等量）の算出に関する記録	第2部第5章3
・再測定に関する記録	第2部第5章4
・異常値、欠測値の発生原因等に関する記録	第2部第5章10
・試料等の保存に関する記録	第2部第5章11

別紙 1 品質保証・品質管理計画書

第 1 部第 3 章 1 の品質保証・品質管理計画書には、以下の事項について記述する。

第 1 一般的事項

1. 表題及び計画書の管理番号
2. 目次
3. 計画書の性格等に関する説明
4. 業務を実施する機関の名称及び住所
5. 実施するダイオキシン類測定業務の概要
6. 統括責任者の職名及び氏名並びにその署名及び署名を行った日付
7. 業務の工程毎の予定実施期間
8. 品質管理者、技術管理者及び測定担当者の職名・氏名
9. 依頼者の名称及び住所
10. 他機関との業務分担及び責任の所在（該当する場合）

第 2 試料採取計画（第 2 部第 2 章 1）

1. 試料採取者
2. 試料採取予定日時
3. 試料採取地点
4. 事前調査の有無（有の場合にはその概要）
5. 試料採取器具・装置、使用する試薬等
6. 試料採取操作の概要
7. 試料容器
8. 採取後の輸送方法
9. トラベルブランク試験及び二重測定の実施計画

第 3 試料前処理計画（第 2 部第 3 章 1）

1. 試料の受入検査（実施者、実施予定日時及び内容）
2. 抽出操作を行うまでの試料の保存・管理（場所、方法、期間）
3. 抽出操作（実施者、開始予定日時、方法及び条件）
4. 試料抽出液のクリーンアップ（実施者、開始予定日時、方法及び条件）
5. 測定用試料に併せて測定を行う試料の調製

第 4 生物検定法による試料の測定計画（第 2 部第 4 章 1）

1. 計測機器の点検
2. 測定系の準備
3. 検量線の作成
4. 試料の測定

5. 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認に係る作業
6. 測定に係る作業
7. 検出下限等算出用検量線の作成

第5 生物検定法における定量結果の確定と結果の報告（第2部第5章）

1. 検出下限、定量範囲の算出に係る作業
2. 算出された濃度の品質確認に係る作業
3. 実測濃度及び測定量（毒性等量）の算出結果の確認に係る作業
4. 操作ブランク試験、トラベルブランク試験、二重測定及び濃度既知試料の測定結果の算出並びにその確認及び換算係数の確認に係る作業
5. 異常値・欠測値の処理
6. 試料等の保存

別紙 2 品質保証・品質管理結果報告書

第 1 部第 3 章 2 の品質保証・品質管理結果報告書には、以下の事項について記述する。

第 1 一般的事項

1. 表題及び報告書の管理番号
2. 目次
3. 報告書の性格等に関する説明
4. 業務を実施した機関の名称及び住所
5. 実施したダイオキシン類測定業務の概要
6. 統括責任者の職名及び氏名並びにその署名及び署名を行った日付
7. 業務の工程毎の実施期間
8. 品質管理者、技術管理者及び測定担当者の職名・氏名
9. 依頼者の名称及び住所
10. 他機関との業務の分担（該当する場合）
11. ページの脱落がないことが確認できる各ページの表記
12. 最終ページに関する表記

第 2 試料採取

1. 事前調査の記録（第 2 部第 2 章 1(1)）
2. 試料採取の記録（第 2 部第 2 章 3）
3. トラベルブランク試験及び二重測定のための試料採取の実施状況（第 2 部第 2 章 4）

第 3 試料の前処理

1. 試料の受入検査（第 2 部第 3 章 2(1)）
2. 抽出操作を行うまでの試料の保存・管理（第 2 部第 3 章 2(2)）
3. 試料からの抽出（第 2 部第 3 章 2(3)）
4. 試料抽出液のクリーンアップ（第 2 部第 3 章 2(4)）
5. 測定用試料に併せて測定する試料の調製（第 2 部第 3 章 4）

第 4 生物検定法による測定

1. 計測機器の点検（第 2 部第 4 章 2）
2. 測定系の準備（第 2 部第 4 章 3）
3. 検量線の作成（第 2 部第 4 章 4）
4. 試料の測定（第 2 部第 4 章 5）
5. 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認（第 2 部第 4 章 6）
6. 測定（第 2 部第 4 章 7）
7. 検出下限等算出用検量線の作成（第 2 部第 4 章 8）

第5 生物検定法における定量結果の確定及び結果の報告（第2部第5章）

1. 検出下限、定量範囲を算出するための測定データ及びその算出の過程（第2部第5章1）
2. 実測濃度（第2部第5章2）
3. 測定量（毒性等量）（第2部第5章3）
 - (1) 使用した換算係数
 - (2) 測定量（毒性等量）の算出結果
4. 再測定の記録（第2部第5章4）
5. 操作ブランク試験の実施状況及び結果並びにその評価（第2部第5章5）
6. トラベルブランク試験の実施状況及び結果並びにその評価（第2部第5章6）
7. 二重測定の実施状況及び結果並びにその評価（第2部第5章7）
8. 濃度既知試料の測定による確認（第2部第5章8）
 - (1) 濃度既知試料の由来等
 - (2) 今回の測定結果と過去の測定結果との比較
9. 換算係数の確認（第2部第5章9）
10. 異常値・欠測値（第5の1～9で確定できないとされた結果について、その原因等の記述）（第2部第5章10）
11. 試料等の保存（第2部第5章11）

第6 添付文書

1. 組織図
2. 全測定の生データ（測定機器からの出力）
3. プレートなどへの試料測定時の配置図など

別紙3 排出ガスに係る個別事項

第2部第2章3(2)及び同第3章3について、以下の事項を記録する。

第1 試料採取

1. 試料採取器具・装置、使用した試薬等

- (1) メーカー、形式及び模式図
- (2) 採取管部（材質、ノズルの内径及び冷却装置の有無）
- (3) フィルターの材質
- (4) 液体捕集部（吸収瓶本数、容量、吸収液の種類・量等）
- (5) 吸着捕集部（吸着剤カラムの形状及び吸着剤の材質・商品名・量）
- (6) 吸引ポンプ（形式及びメーカー名）
- (7) 流量計（種類、形式、メーカー名及び校正結果）

2. 試料採取操作

- (1) 事前調査（採取場所の地上からの高さ・測定孔の状況・送排風機の位置等、ダクトの形状等）
- (2) 設定した試料ガスの採取量、採取時間及び等速吸引流量
- (3) 漏れ試験の実施状況及び結果
- (4) ガスメータの温度及び圧力
- (5) フィルター捕集部及び液体捕集部の温度
- (6) 等速吸引流量、吸引時間及び吸引ガス量
- (7) 試料ガス採取量
- (8) 排ガスの温度・流速・組成・圧力・水分量等

3. 試料容器

- (1) 試料回収の方法
- (2) 試料保存の方法（試料容器の材質・容量等）

4. その他の追加事項

- (1) 採取試料に係る発生源の規模及び稼働状況
- (2) 酸素濃度による補正（対象：廃棄物焼却炉等）

第2 試料の前処理

1. 捕集ダストの塩酸処理

別紙 4 ばいじん及び焼却灰その他の燃え殻に係る個別事項

第 2 部第 2 章 3(2)及び同第 3 章 3 について、以下の事項を記録する。

第 1 試料採取の記録

1. 試料採取器具・装置、使用した試薬等

(1) 採取器具の種類及び材質

2. 試料採取操作

(1) 試料の採取場所

(2) 試料採取操作の概要

(3) 試料採取量

3. 試料容器

(1) 試料保存の方法（試料容器の種別及び材質）

4. その他の追加事項

(1) 試料の状況

(2) 採取試料に係る発生源（焼却施設）の規模及び稼働状況

第 2 試料の前処理

1. 試料の調製方法（粉碎情報、粒径等）