精度管理試験‐試験計画書

目的：

1. 自施設の試験結果の経時変化を観察し，試験方法，手技の安定を確認する．
2. 自施設の試験結果と他施設の試験結果を比較し，試験法，手技の精度向上を図る．

試験の概要：

1. *S.* Typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537及び*E. coli* WP2 *uvrA*を使用し，代謝活性化しない場合，代謝活性化する場合について標準物質（陽性対照物質）を用いてプレインキュベーション法により実施する．

2. 他の菌株（TA102, TA97, TA97a, WP2 *uvrA*/pKM101）は，精度管理試験の対象としない．指定する菌株のうち，施設で利用していない菌株は除外しても良い．

3. 陽性対照物質は「ポジコンAMマルチセット」（和光純薬工業）を各施設で購入，使用する．

4. 用量は「ポジコンAMマルチセット」の原液を最高用量とし，以下公比2の計3用量とする．陰性対照には，各施設で保有している日本薬局方注射用水（NaN3の場合），DMSO（その他の陽性対照物質の場合）を使用する．

5. 試験への参加はBMS会員であることとし，会員でない場合は事前にBMSに入会する．

6. 「ポジコンAMマルチセット」の購入はBMSが参加施設（1施設1セット）を取りまとめ，同一ロットを一括して予約する．参加施設は，和光純薬工業へ個別に発注，購入する．

7. 参加を応募した施設は，責任を持って「ポジコンAMマルチセット」を購入する．

8. 参加募集締め切り後に参加を希望する場合または追加購入は，各施設で対応する．

9. 参加施設にはBMSから施設ごとにパスワードを指定する．試験結果は，「データ入力シート」への入力により行う．参加施設は，BMS HP（会員専用サイト）から「データ入力シート」を各自ダウンロードし，入力した後試験結果を代表世話人（加藤雅之　masayuki-kato@cmic.co.jp ）にメールに添付して送付する．送付された試験結果は，世話人のもとで参加施設が特定できないようブラインド化して集計し，各参加施設に配布する．

試験材料及び試験方法：

1. 陽性対照物質と使用菌株：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| -S9 mix |  |  |  |
| 陽性対照物質 | ｾｯﾄ濃度(µg/mL) | 用　　量(µg/plate) | 使用菌株 |
| AF-2 | 0.1 | 0.0025, 0.005, 0.01 | TA100, WP2 *uvrA* |
| 1.0 | 0.025, 0.05, 0.1 | TA98 |
| NaN3 | 5.0 | 0.125, 0.25, 0.5 | TA1535 |
| 9AA | 800 | 20, 40, 80 | TA1537 |
| +S9 mix |  |  |  |
| 2AA | 5 | 0.125, 0.25, 0.5 | TA98 |
| 10 | 0.25, 0.5, 1.0 | TA100 |
| 20 | 0.5, 1.0, 2.0 | TA1535, TA1537 |
| 100 | 2.5, 5.0, 10.0 | WP2 *uvrA* |

使用菌株の前培養条件，前培養終了後の保存条件，生菌数（濁度）は，各施設の規定（SOP）に従う．

2. 希釈方法：

陽性対照物質溶液は，菌株，S9 mixの有無ごとにセラムチューブ1本（計10本）が用意されている．セラムチューブには陽性対照物質溶液が0.7 mL分注，凍結されており，これを解凍した後0.3 mLで段階希釈し，所定の濃度の陽性対照物質液（1/4希釈液，1/2希釈液，原液）とする．NaN3の溶媒は日本薬局方注射用水，その他の陽性対照物質溶液の溶媒はDMSOとする．DMSOのグレード，脱水の有無は各施設の規定（SOP）に従う．

3. その他の試験材料：

最少グルコース寒天平板培地，S9，リン酸緩衝液などその他の試験材料は，各施設が通常の試験で使用しているものを用いる．

4. 試験管あたりの液量と用量あたりの試験管数：

陰性対照及び陽性対照； 試験管あたり0.1 ml，用量あたり2本（duplicate）

5. 試験操作：

試験は，37℃，20分間のプレインキュベーション法により実施．最少グルコース寒天平板培地は，用量あたり2枚（duplicate）．プレインキュベーションの振盪幅，振盪回数は，各施設の規定（SOP）に従う．最小グルコース寒天平板培地の培養は37℃で48時間とする．復帰変異コロニー数の計数は，各施設の規定（SOP）に従う．

6. 計数及び観察：

37℃で48時間培養した後復帰変異コロニー数を計数し，合わせて生育阻害の有無を観察する．計数値，生育阻害が観察された場合は，その旨を「データ入力シート」に入力する．

7. 計数及び観察：

各施設から入力，送付された「データ入力シート」から，下記の事項を集計する

1. 施設ごとの計数値（生育阻害が認められた場合はその旨）及び用量反応曲線

2. 全参加施設の，用量ごとの計数値の平均，標準偏差

3. 全参加施設の，用量ごとの計数値の平均の散布図，ヒストグラム