

出國報告（出國類別：開會）

參加

「國際公定分析化學家協會動物用藥檢驗方法專家評審會議」

報告

服務機關：行政院衛生署食品藥物管理局

姓名職稱：曾素香 科長

出國地區：美國

出國期間：100年9月18日至9月23日

報告日期：100年12月15日

## 摘要

國際公定分析化學家協會 (AOAC, International) 在美國紐奧良舉辦第 125 屆年會期間，於 9 月 20 日舉辦動物用藥檢驗方法專家評審 (Expert Review Panel, ERP) 會議，進行培林 (Ractopamine) 及孟寧素/那寧素 (Monesin/Narasin) 等動物用藥檢驗方法之確效資料審查。本人有幸受邀擔任該會議委員，其他與會委員則來自美國食品藥物管理局 (US FDA)、美國農業部 (USDA)、加拿大食品檢驗局 (CFIA)、荷蘭國家公共衛生及環境研究所 (RIKILT)、美國 Covance 實驗室及中國質檢總局等單位，計 7 人。委員們就 3 篇方法之單一實驗室確效(single laboratory validation, SLV)報告進行意見溝通、交流及投票，目的為決定該方法是否可成為 AOAC First Action Official Method of Analysis。此次會議係本人於 2009 年首次參與國際 AOAC 動物用藥 ERP 會議之後續會議，藉由實際參與國際 AOAC 研擬公定方法之過程，可更瞭解其實際運作過程並作為借鏡。建議本局進行公告方法之研擬、審查及指定等工作，可多方邀集學者、專家及相關實驗室參與，以進行方法回顧、評估、審查、方法確效及實驗室間比對等工作，除可增加方法之公信力，亦可加速檢驗方法之產出。未來仍應持續積極參與國際 AOAC 相關會議，提升研究檢驗水平及視野，並促進專家交流，以因應日益複雜之國際食品安全檢驗問題。

## 目次

壹、目的.....	1
貳、過程.....	2
參、心得.....	8
肆、建議.....	9
伍、附件	

附件一：動物用藥檢驗方法 ERP 會議邀請函及議程

附件二：國際 AOAC 第 125 屆議程

附件三：塑化劑事件簡報檔

附件四：2011 年 9 月 20 日 AOAC 動物用藥檢驗方法 ERP 會議紀錄

附件五：參加「國際公定分析化學家協會動物用藥檢驗方法專家評審會議」心得分享

簡報檔

## 壹、目的

2009 年國際 AOAC 於 6 月 15 日至 17 日於美國總部（位於馬里蘭州蓋茲堡市）舉辦培林等動物用藥檢驗方法專家評審（Expert Review Panel, ERP）會議，該會議 3 天之子題分別為孟寧素/那寧素（Monesin/Narasin）、泰黴素（Tylosin）及培林（Ractopamine），經委員進行文獻回顧、討論及投票評選出合適的檢驗方法進行後續確效實驗，指派實驗室經 2 年時間已完成培林及孟寧素/那寧素（Monesin/Narasin）檢驗方法之單一實驗室確效（single laboratory validation, SLV）報告，泰黴素檢驗方法之測試結果則不理想，已暫停相關評估活動。國際 AOAC 於今(2011)年 AOAC 125 屆年會期間 9 月 20 日舉辦動物用藥 ERP 會議，邀請原參與委員就完成之 3 項檢驗方法確效報告進行開會討論並投票，以決定該等方法是否可成爲 AOAC First Action Official Method of Analysis。本人於 2009 年有幸獲台灣 AOAC 孫璐西理事長及本局推薦，受邀擔任培林等動物用藥 ERP 會議委員，得有機會瞭解國際 AOAC 研擬公定方法之運作模式及程序，並提供專業上的協助，此次再次受邀參與後續會議，雖然參與該專家會議之壓力不小，但基於機會得來不易且與本局業務密切相關，故積極投入此項國際事務工作，期待對本局工作有所助益。

## 貳、過程

本人於今（2011）年 8 月間接獲國際 AOAC 邀請參加於 AOAC 125 屆年會期間 9 月 20 日舉辦之動物用藥檢驗方法 ERP 會議，邀請函及議程見附件一。擬就 2 項培林（Ractopamine）檢驗方法確效報告（SLVRAC-01 及 SLVRAC-02）及 1 項孟寧素/那寧素（Monesin/Narasin）檢驗方法確效報告（SLVMON:NAR-01）進行評估，以決定該等方法是否可進入 First Action。由於此動物用藥 ERP 會議係於 AOAC 125 屆年會期間（9 月 17 日至 9 月 22 日）舉辦（議程見附件二），而台灣 AOAC 協會於年會期間 9 月 19 日安排有業務會議，主題除會務介紹外亦分享台灣塑化劑事件經驗，故此行赴美除參加動物用藥 ERP 會議外，亦藉此機會參加 AOAC 125 屆年會部分活動及 AOAC 分會業務會議，可增廣檢驗新知並與國際專家交流。

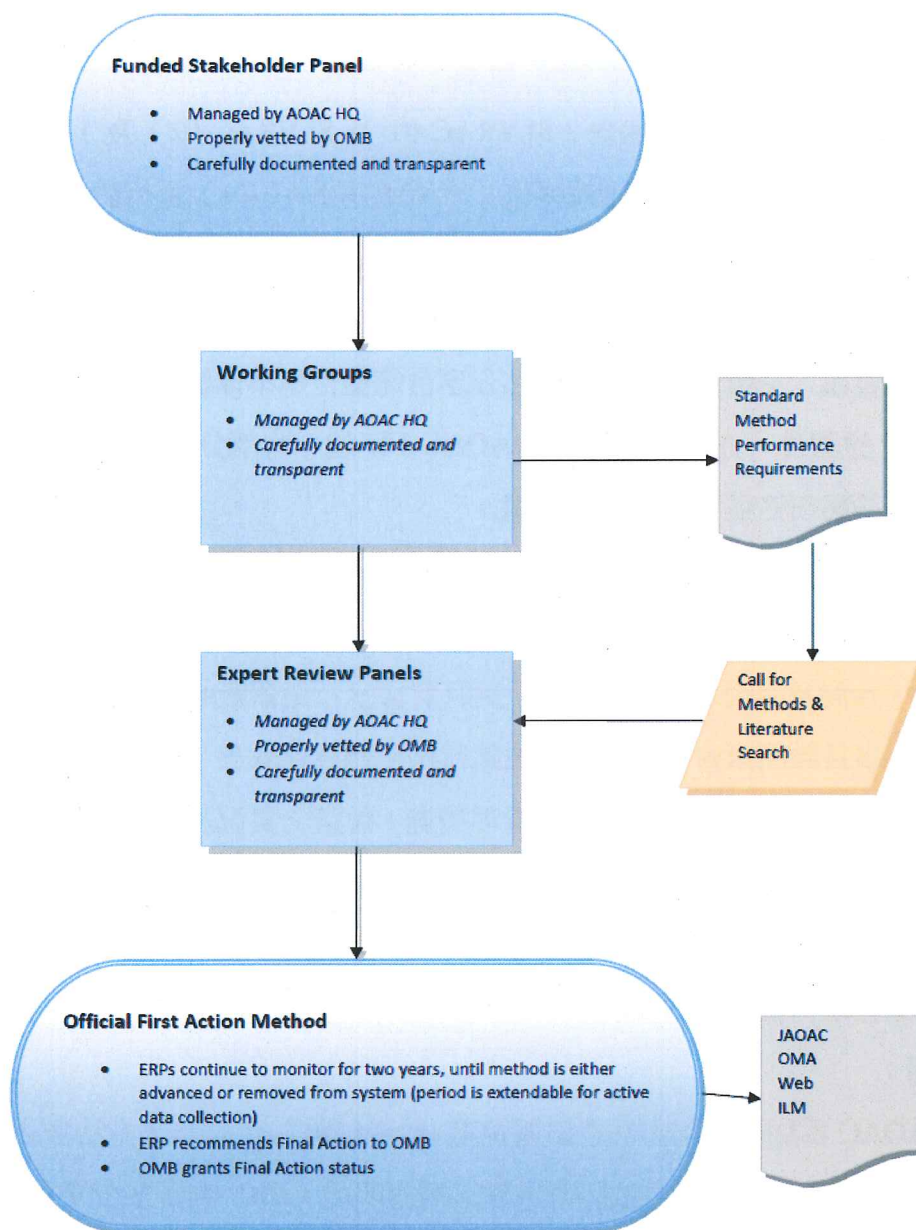
一、台灣分會業務會議（Taiwan Section Business Meeting）：9 月 20 日下午 6 點至 7 點為台灣分會時間，由台灣公定分析化學家協會理事長孫璐西教授主持，與會人士包括中國、台灣及美國 FDA 等官方、民間實驗室及儀器廠商人員，參與者主要為華人。孫理事長除簡單會務介紹外，並進行塑化劑事件報告。孫理事長詳細介紹事件發生之起源、處理過程及後續行政管理措施，會議之實況及塑化劑簡報資料見附圖及附件三。與會人士對台灣處理塑化劑事件多表達肯定之意，也理解相關人員之辛苦。大家皆認為未知非法添加物之檢驗，為未來期望突破之重點檢驗項目。

二、動物用藥檢驗方法 ERP 會議：

1. 背景說明：

國際 AOAC 為加快公定方法之研擬速度，於今（2011）年公布了方法進入 first action 之替代流程（圖一）。整個方法評審過程必需透明化，ERP 委員至少 7 位且必需具備代表性可代表關鍵之利害關係人，並求其平衡。以此次培林等動物用藥檢驗方法 ERP 成員為例，即包括了核可培林使用之美國及加拿大，亦包括了禁用培林之歐洲（荷蘭）及亞洲（台灣及中國）國家。在 ERP 開會之前，其實已經組成了所謂的出資關係人委員會（Funded Stakeholder Panel）及多個工作小組（Working Groups），決定優先品項及方法表現需求等。

### Alternate Pathway to Official First Action Method Status



Adopted 2011-5-25  
Revised 2011-6-27

圖一、國際 AOAC 於 2011 年公布成爲 first action 方法之替代流程

2009 年國際 AOAC 舉辦培林培林等動物用藥檢驗方法 ERP 會議之前，於 2008 年 10 月 2 日至 3 日即舉辦了出資關係人委員會議並進行 5 個工作小組會議，包括 WG1 (Missing People)—尋求尚未納入利害關係人及專家清單、WG2 (Fitness for Purpose)—擬訂需求的方法種類及建議方法表現要求，WG3 (Method Scope)—訂定優先目標分析物、

測試基質及濃度、WG4 (Government Requirements)—因應目前全球貿易議題，提出方法需求，WG5 (Reference Material)—針對確效及能力試驗需求所需對照參考物質，找出相關檢驗主題並提出建議。該會議 WG3 (Method Scope)即排定目標分析物之優先順序為 monensin, tylosin, ractopamine 及 narasin，故啟動了此動物用藥 ERP 會議相關作業。

針對專家評審會議 (Expert Review Panel, ERP) 施行策略及流程進行介紹，整理如下。

專家評審會議之啓動：由專案利害關係人 (Stakeholder) 或組織 (Stakeholder body) 向 AOAC 申請創立 ERP，並需提出討論主題、預期產出及建議專家名單。申請資料送 AOAC Chief Science Officer (CSO)，由 CSO 研擬 ERP 成員名單，由公定方法委員會 (Official Methods Board, OMB) 審核決定，並指定 ERP 會議主席。ERP 會議主席將負責規畫會議進行模式，以順利討論並作出建議，決定可進行進一步評估之方法及試驗材料等，會議後將所得結論及建議送交 OMB 及申請人 (單位)。ERP 會議參與成員可包括具投票權的成員 (專家委員) 及不具投票權的成員 (AOAC 職員、申請單位人員及觀查員)。

選擇方法過程：ERP 將就所收集之方法進行仔細評估，並選出適當的方法進行後續確效試驗，方法之基本要求為：符合目的、可應用於所需檢體範圍、方法描述清楚、方法表現滿意、具有單一實驗室評估數據 (single laboratory validation data)。ERP 委員將選出最好的方法 (一個或數個) 進行進一步確效及流程修正，並指定實驗測試之基質種類。

總結報告 (Summary Report)：ERP 主席於會議結束後完成之總結報告，必需包括委員建議、選出方法之修飾部分、確效實驗採用基質等內容，並及時送交 ERP 委員確認，ERP 委員必須於期限內回覆意見。最終總結報告將送申請者，副本送 OMB 主席。

ERP 會議後事宜 (Post-ERP Activities)：ERP 會議後，AOAC 仍可請委員會或廠商提供協助，協助事項包括：(1)取得測試用檢體或參與後續確效實驗，(2)研擬及評估確效試驗計畫，(3)評估確效試驗結果及檢驗方法草案。

## 2. 與會之前置作業

本人今 (2011) 年參與 9 月 20 日舉辦之 ERP 會議即為 2009 年 ERP 會議之後續事項，工作重點為協助評估確效試驗結果及檢驗方法草案。討論之動物用藥檢驗方法確效資料包括 SLVRAC-01 (Determination of Ractopamine in Swine, Bovine and Turkey Tissues by HPLC with Fluorescence Detection)、SLVRAC-02 (Determination of Parent and Total Ractopamine in Bovine, Swine and Turkey Tissues by Liquid Chromatography with Tandem

Mass Spectroscopy)及 SLVMON: NAR-01 (Determination of Narasin and Monensin in Bovine, Swine and Chicken Tissues by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectroscopy)等 3 篇，參與委員有 7 位，於會議前即進行工作分配，就指定之確效文件進行回顧 (review)，每篇方法至少 2 委員進行審查並評估其結果是否符合相關確效要求，於會議中陳述相關意見。本人負責 SLVRAC-01 及 SLVRAC-02 二篇檢驗方法，填報之評估報告包括方法摘要 (Summary of Method)、方法應用範圍 (Method Scope)、方法整體評論 (General comments about the method)、方法之優缺點 (Pros/Strengths; Cons/Weaknesses)、方法清楚度 (Method Clarity)、支持性數據 (Supporting Data) 及建議等。支持性數據包括有關方法最適化 (Method Optimization) 之一般評論及方法表現 (Performance Characteristics)，方法表現包括評估分析濃度範圍、定量極限、精確性/回收率、精密度及再現性等。評審時對方法之要求係依照 2009 年出資關係人委員會會議中各工作小組所得結論內容進行判定，其中 WG2 對定量方法做成之建議如表一。其要求包括方法之靈敏度測試、回收率、基質效應、分析範圍、選擇性及分析物穩定性試驗等，以精密度試驗為例，要求至少 3 個添加濃度、6 重複，平均回收率在濃度  $\geq 0.1$  ppm 時為 80~110%、RSD  $\leq 10\%$ ；濃度  $< 0.1$  ppm 時為 60~110%、RSD  $\leq 20\%$ 。

茲將 3 篇檢驗方法之確效報告整理如下：

- (1) 以液相層析串聯質譜法檢測牛、羊及雞組織中孟寧素 (Monensin) 及那寧素 (Narasin) 含量 (英國 Charles River 公司執行) (SLVMON:NAR-01)：檢體 1 g~5 g 添加內標 (nigericin) 後以 isooctane/ethyl acetate (9:1) 萃取 2 次，離心取上清液定容、經固相萃取管(SPE)淨化後以 LC/MS/MS 檢測。採基質匹配檢量線法進行定量，線性迴歸時並使用加權(1/x)模式。孟寧素回收率 89.1~105.1% (RSD 為 3.3~16.3%)，那寧素回收率為 86.2~103.5% (RSD 為 3.9~13.8%)。定量極限為 0.75 ppb (for most tissues) ~ 4.0 ppb (chicken fat)。進行耐變性試驗及穩定性試驗，結果良好。整體而言，方法表現符合出資關係人委員會訂定之確效要求。
- (2) 以液相層析附螢光檢出器檢測豬、牛及火雞組織中培林含量 (Convance 實驗室執行) (SLVRAC-01)：此方法係檢測 free (parent) ractopamine，測試檢體包括肌肉、內臟組織及油脂，回收率為 75.4~88.8% (RSD  $< 16\%$ ，大部分皆在 7%以下)。檢體以乙醇 (一般檢體) 或鹼化 MTBE (methyl-tert butyl ether) (油脂) 萃取，經液/液萃取、SPE 淨化，以 HPLC/FLD 偵測。此方法可使用准用培林而訂有 MRL 之國家，該方法估



算之 LOQ 爲 1.8~20.7 ppb，已可符合要求。

表一、WG2 (Fit-for-purpose)對定量方法之建議

### Recommendations

Table 1 presents the tabulated findings of the fit-for-purpose working group.

Table 1. Performance Criteria Guidelines (Minimum Requirements) for Quantitative Methods		
Parameter	Design	Requirement
Sensitivity	½, 1, and 2x MRL/tolerance	No overlap of values ± RSD
Precision	At least n = 6 (replicates) at 3 fortified levels plus blank (0, 1/2, 1, and 2x MRL/tolerance)*	<0.1 ppm, No more than 20% RSD
	1 incurred tissue 5 replicates if available	≥0.1 ppm, no more than 10% RSD
	Multilaboratory study should include worldwide participation	Accredited and/or AOAC-qualified
Linearity		$r^2 \geq 0.995$
		Residual <15% and <20% (for lowest point)
Calibration curve	7 Data points (including 0)**	During validation, run single curve at beginning and end of set to determine the need
Recovery (for spiked tissue)	n = 6 replicates	<0.1 ppm 60-110% for the average value at each level
		≥0.1 ppm 80-110% for the average value at each level
Matrix effects		Compare matrix-matched to solution standards  Slope should not be significantly different by using t-test with 95% confidence. If significantly different, improve cleanup or go to matrix-matched standards.
Analytical range	¼ MRL to 2x MRL for calibration curve range (method range may be larger)	
Selectivity/specificity		Absence of interference from matrix or other compounds
Ruggedness/robustness	Prior to or during SLV	
Stability	Standards solution	
	Stopping point	
	Final extract	
	Analyte in tissue	

\*Note: The larger stakeholder group later voted that an additional level at 1.5x MRL/tolerance should be added in the single lab validation.

\*\*Note: The larger stakeholder group later voted to remove zero from the calibration curve and instead include it as a negative control.

(3) 以液相層析串聯質譜儀檢測牛、豬及火雞組織中 parent 及總培林含量 (Convance 實驗室執行): 准用培林之國家, 方法檢測對象為 free form ractopamine (parent), 若經酵素水解流程 (以  $\beta$ -glucuronidase 水解), 則可檢測總培林含量 (parent and conjugates)。此方法包括兩種前處理流程, 故可定量 parent form 或總培林含量。流程中添加同位素內標 (Ractopamine-d6) 並採基質匹配檢量線法進行定量。總培林回收率 79.0~100.0% (RSD 為 4.97~15.0%), parent ractopamine 回收率為 79.7~102.2% (RSD 為 2.44~11.1%)。此方法定量極限可達 0.25 ppb。

## 2. 9 月 20 日動物用藥 ERP 會議情況及結論

此次動物用藥 ERP 會議排定在 AOAC 年會議程中, 時間為 2 個小時, 全程採開放式, 除了委員、AOAC 職員外, 出資的 Elanco 公司及其他有興趣的年會參加者皆可與會。由於此次委員僅 7 人, 剛好達最低人數要求, 故需等全部委員到齊才可開會, 此部分以後國際 AOAC 應會避免, 否則萬一有人臨時缺席, 將無法順利開會。此次主席為 Dr. Leender van Ginkel, 為來自荷蘭國家公共衛生及環境研究所 (RIKILT) 專家。會議首先宣讀會議目的及投票原則, 當投票結果通過做成決議時, 該方法即已成爲 AOAC first action 方法。此案 3 篇方法, 經討論及投票後皆通過決議可成爲 first action 方法, 會議紀錄詳附件四。會議中來自美國 FDA 之 Valerie Reeves 提出希望能看到來自不同實驗室之確效數據, 經主席裁示納入會議紀錄中, 建議可在方法觀察期間 (first action to final action status) 收集更多不同實驗室間確效數據。First action 方法之觀察期間約 2-3 年, 以累積各多實驗室數據, 最後 ERP 會決定是否同意該方法成爲正式生效的 AOAC 方法(final action)。

## 參、心得

本人有幸參與 2 次國際 AOAC 動物用藥檢驗方法專家評審會議，個人收獲良多，已於 100 年 11 月 11 日進行心得分享，簡報內容見附件五。參與此類專家會議，除了需具備專業能力外、語言溝通能力亦相當重要，個人深感尚需時時加強進修學習，機關單位亦需培植相關專才，以因應參與國際專業會議之需求。實際參與國際 AOAC 制定公定方法之過程，更深切體會其所耗費之人力、物力及時間皆相當多，且為跨國專業人士參與，而其確效資料亦相當嚴謹。檢驗方法要成為 AOAC 公定法，以目前改善之替代流程，恐怕亦需 3 年以上。以現有台灣 FDA 投注在檢驗方法研擬之資源來看，應有新的思維、其運作模式亦可思考改進，可適當納入外界資源及引用國際方法，始可應付目前檢驗方法需求量，以縮減作業時間並增加檢驗方法之公信力。

## 肆、建議

國際間貿易往來頻繁，各國進行食品衛生安全把關，必須以具有公信力之檢驗方法進行檢驗，始可減少國際貿易糾紛。針對現行食品中殘留藥物檢驗方法公告情形，建議如下：(1)研擬檢驗方法長期計畫，部分工作委外，進行公告方法之更新、研擬、審查及指定等工作。(2)邀集學者、專家及相關實驗室參與檢驗方法研究計畫，整合國內相關領域之研究檢驗量能，定期進行方法回顧、評估、審查及方法確效、實驗室間比對等工作，以增快檢驗方法公告及指定之速度，遇緊急事件時，亦可馬上啟動該系統。(3)持續積極參與國際 AOAC 相關會議，提升檢驗水平及視野，以因應日益複雜之國際食品安全檢驗問題。



附圖、2011 年國際 AOAC 年會期間台灣分會業務會議實況