

SLV, CSに関する用語の問題

	AOAC2012ガイド	ISO16140:2003	和訳例
Qualitative methods	Method developer validation study	Methods comparison study	単一試験所バリデーション (SLV)
	Single laboratory validation study		
	Independent validation study		
	Collaborative validation study	Interlaboratory study	コラボスタディ (CS)
Quantitative methods	Method developer validation study	Methods comparison study	単一試験所バリデーション (SLV)
	Single laboratory validation study		
	Independent validation study		
	Collaborative validation study	Interlaboratory study	コラボスタディ (CS)

OMAの前段としてのPTM

- ・PTMをOMAの前段として位置づける考え方は以前から実施されていたが、今回の改訂ではより明確に示されている。
- ・付記された章の番号からわかるように、ガイドラインの中での記述の順番からしてPTMが先に来ている。
- ・PTMは、最初が試験法開発者自身によるバリデーション (Method developer validation study、自主バリデーション) で、次が外部の単一試験所によるバリデーション (Independent validation study、外部委託バリデーション) であり、それで終わる。
- ・一方、OMAでは、自主バリデーションは当然あるはずであり、かつては、その次に共同試験のための予備的バリデーション (Precollaborative validation study、プレコラボ) がきて、最後が共同試験 (Collaborative study、コラボスタディ) であった。
- ・しかし2012版では、自主バリデーションとプレコラボが一緒になり、コラボの前に外部委託バリデーションがくる。

注2、注9: 包含性と排他性

評価項目	試験すべき菌の種類の数	検出対象としたい菌のカテゴリーと、その場合の菌種の選び方	
包含性試験 (Inclusivity)	標的菌 50 pure cultures (<i>Salmonella</i> の場合 は血清型を含め100*)	ある科 (Family, ex. <i>Enterobacteriaceae</i>) に対する検出法	その科に属する属の範囲から50株。代表的な属を含むように。
		ある属 (Genus, ex. <i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Listeria</i>) に対する検出法	その属に属する種の範囲から50株。可能なら、その属の全ての種を含むように。
		ある種 (Species, ex. <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>) に対する検出法	その種に属する50株。株の定義は、 <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> では血清型。 <i>Listeria</i> spp.ではファージ型も。将来は遺伝子型も。
	1 (特に記載はないが)	特定の株に対する検出法	その株
排他性試験 (Exclusivity)	非標的菌 30 pure culture	ある科 (Family, ex. <i>Enterobacteriaceae</i>) に対する検出法	その科に属する複数の株を含まなければならない。
		ある属 (Genus, ex. <i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Listeria</i>) に対する検出法	その属に似ている属の株を含まなければならない。
		ある種 (Species, ex. <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>) に対する検出法	同じ属内の他の種を含まなければならない。
		特定の株に対する検出法	同じ種の他の株を含まなければならない

*) AOAC2012版ガイドラインでの提言値

13

ISO 16140における適用食品分類

Annex B

食品カテゴリー

①肉製品 (Meat products)、②家禽 (Poultry)、③魚およびシーフード製品 (Fish and seafood products)、④果物及び野菜を主体とした製品 (Fruits and vegetable based products)、⑤乳製品 (Dairy products)、⑥チョコレート/パン製品 (Chocolate/bakery products)、⑦その他の製品 (Other products: ビール、ドレッシング、香辛料、マヨネーズ、パスタ、鶏卵および卵製品、シリアル、米)、⑧飼料 (Animal feeds)。

食品タイプ

例えば、肉製品では、生 (Raw)、熱処理品 (Heat processed)、冷凍品 (Frozen)、発酵させたもの (Fermented)、燻製品 (Cured)、その他 (Others)。

14

注3:定性試験での食品マトリクスの選定

試験法を適用させたい食品の種類	食品カテゴリーの数	食品タイプの数/食品カテゴリー	試験試料数/食品タイプ	試験試料数/食品カテゴリー(N)
全ての食品	5	3	20	60
特定の食品カテゴリーのみ	1	3	20	60

【AOAC2012版】

- 適用できる食品は、最初の段階の自主バリデーション(PTMの場合)、あるいはプレコラボ(OMAの場合)で試験したものだけに限る。
- Matrix Extensionは認めない。
- どの程度までを「同一種類の食品マトリクス」と考えるか、という議論は残る。
- 基本的な考え方としては合理的と思われるが・・・

15

注4、注5: 定性試験における菌濃度と繰返し数

バリデーションの種類		食品マトリクスの有無	AOAC2012		ISO 16140	
定性試験	単一試験室バリデーション	無	包含性、排他性	LOD ₅₀ の100倍 (POD=50%となる濃度)	包含性、排他性	最低検出レベルの10~100倍
		有	PODの95%信頼区間	POD= 0, 0.25~0.75, 1.0	相対精確さ、相対特異性、相対感度	陽性率50%
					相対検出レベル	3レベル以上、5レベルが望ましい(ex. L ₀ (ネガコン), L ₁ (検出閾値), L ₂ (検出閾値のすぐ上), L ₃ (L ₂ の3倍以上), L ₄ (L ₃ の3倍以上))
コラボスタディ	有	併行精度、室間再現精度、平均検出確率	無菌、中間濃度、高濃度	精確さ、特異性、感度	0, 0近傍	3レベル(ex. 0, 3, 30 cells/25g)

16

注4、注5: 定性試験における菌濃度と繰返し数

•AOAC2012では POD= 0、0.25~0.75から1以上(ここでは2とする)、1.0で4通りの濃度。

•繰返し数は濃度によって異なる。POD 0, 中間値, 1に対してそれぞれ、5, 20, 5なので、試料数は次のようになる。

$$1\text{食品} \times (5+20+20+5)\text{繰返し数} \times 2\text{試験法の数} = 100$$

→ 各濃度におけるPOD_R, POD_A

•ただし、AOAC2012版の付録Appendix X-Dに掲載された事例では、高濃度用試料、無菌試料の場合も繰返し数は5ではなく、20になっている。5以上であれば問題ないというだけであって、実際に試験する場合はむしろ、無用な混乱を避けるために、全て20としたのかも知れない。

注6: 定性試験コラボスタディでの試験所の数

•10とされていたが、AOAC2012版では、プロトコール通りに結果が得られない試験所があるかも知れないリスクを考え、最初から、食品マトリクスごとに12にすべきである、と明記。

•規則通りではなかなか上手くいかない、というこれまでの「実績」に基づき、どうせ余裕を見て行う場合がほとんどであるなら、むしろそのように明記しておくべきであろう、ということが背景にあるのかもしれない・・・

注7:定性試験コラボスタディでの食品マトリクスを選定

- 従来はプレコラボで試験した食品の中から1種類選べばよかった。
- ISO16140でも1種類。

- AOAC2012版では、「最低1種類」という表記になっている。
- 場合によって、2種類以上の食品マトリクスでの試験も要求されるということ。
- 最初の1種類を選ぶのも、matrix extensionをどこまで認めるか、を決めるのも、AOACI本部で決められるジェネラルレフェリーであり、コラボスタディディレクターと相談して決める、としている。
- 試料調製に際して振らなければならない条件としては、試験試料のサイズ、増菌培養で使用する培地の種類や培養条件、希釈容量、ホモジナイザーの種類、などが挙げられているが、具体的なことは記載されていないので、ケースバイケースで議論して決めなければならない。
- 実際、コラボだけでなく、プレコラボなどの前段階での結果と合わせて、どの食品マトリクスまで認めるかの最終判断は、結局は、ジェネラルレフェリー、統計学アドバイザー、コラボスタディプロトコルのレビューアー、が下すとしている。

19

注8:定性試験コラボスタディでの菌濃度と繰返し数

- 高濃度、中間濃度、無菌の3レベルで行う、としており、繰返し数は、何れの濃度に対しても同じく12としている。
- ISO 16140の定性試験では3レベル(0、3、30 cell/d/25g)であることは同じであるが、繰返し数は何れの濃度も8であった。
- AOACでは、かつては6であった！

20

注10: 定量試験における食品の選定

- Matrix extensionを認めないことは、定性試験の場合と同様。

注11: 定量試験における菌濃度と繰返し数

- 菌濃度は高、中、低の3通り、それに無菌条件が加わる。
- 低レベルとは検出限度 (Limit of detection) 近傍。
- 中濃度と高濃度は、適用範囲を十分カバーするように決める。ただし、適用範囲が 10^4 以上である場合は、中間レベルを加えることができる。

- 繰返し数は各濃度レベルで5。
- 繰返し数は、ISO16140でも、ほぼ同じ。

すなわち、0(ネガコン)、中間値1、中央値、中間値2、最大値(例えば、0.5LOD, 1.0LOD, 1.5LOD, 2.0LOD)と設定し、各濃度で繰返し数は5~10。

21

注11: 定量試験における菌濃度

バリデーションの種類		食品マトリックスの有無	AOAC2012		ISO 16140	
定量試験	単一試験室バリデーション	有	線形性、併行精度	無菌、低濃度(検出限度LOD近傍)、中濃度、高濃度	線形性、相対精確さ	0, 中間値1, 中央値, 中間値2, 最大値(ex. 最大値を3LOD, 10LOD, 100LODなどに設定, 10LODに設定した場合は、0, 2.5LOD, 5LOD, 7.5LOD, 10LOD)
	コラボスタディ	有	併行精度、室間再現精度	無菌、低濃度(検出限度LOD近傍)、中濃度、高濃度	検出限界LOD、定量限界LOQ	6以上のブランク測定値から s_0 , 陽性率95%程度をLOD, 例えばLOD=ブランク平均値+3.3 s_0 , 具体的濃度が決められる最低濃度がLOQ
					空間再現精度	0, 中間値1, 中央値, 中間値2, 最大値

22

注12:定量試験コラボスタディでの試験所数

- 最低8か所。
- 最初から10-12試験所で実施した方が良いのではないかと記載。
- 余裕を見て試験所の数を増やしておくように、という点では定性試験の場合と同じではあるが、原文のニュアンスは大分違う。
- 定性試験の場合は「At least 12 laboratories per matrix should be included due to potential failure to follow protocol.」に対して、定量試験では「It is suggested that at least 10-12 laboratories begin the analysis.」という表現。

23

注13:定量試験コラボスタディでの食品マトリクスの選定

- 定性試験の場合と同様

注14:定量試験コラボスタディでの菌濃度と繰返し数

- 菌濃度は上記の注11と同様であるが、繰返し数は2。
これらの条件はISO16140とほぼ同じ。

24

