

Evaluation of the accuracy of laboratories in measuring aflatoxins in foods

Jalili, M.^{1*}, Hashemi Shaad, E.², Alaei Roozbahani, Z³

1. Assistant Professor, Faculty of Food Industries and Agriculture, Standard Research Institute, Karaj, Iran

2. Technical manager of proficiency test center, Institute for Quality Assessment and Management Systems, Standard Research Institute, Karaj, Iran

3. Lecturer, Faculty of Food Industries and Agriculture, Standard Research Institute, Karaj, Iran

(Received: 2025/1/12 Accepted: 2025/3/10)

Abstract

The accuracy—encompassing both precision and trueness—of laboratory performance in measuring food toxins, particularly aflatoxins due to their significant impact on human health, is critically important. Proficiency testing, conducted by an independent and impartial body, is a recognized method for assessing the accuracy of laboratory results. A proficiency test was conducted to evaluate laboratory performance in aflatoxin analysis. The assigned value of aflatoxins in the test samples and the proficiency test standard deviation (σ_{pt}) were determined based on consensus values derived from participant results. Laboratory performance was evaluated and compared using Z-scores. Results indicated that 22 out of 26 participating laboratories (85%) achieved acceptable results for aflatoxin B₁, while 4 laboratories were flagged as unacceptable (action signal). For aflatoxins B₂ and G₁, 22 (88%) and 19 (76%) out of 25 laboratories demonstrated acceptable performance, respectively. The highest rate of unacceptable results was observed in the analysis of aflatoxin B₁. The findings suggest that although most laboratories are equipped with advanced analytical instruments, there remains a significant gap in the technical knowledge and expertise of some operators.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Proficiency test, Aflatoxins, Food laboratories, Accuracy

بررسی درستی عملکرد آزمایشگاه‌ها در اندازه‌گیری آفاتوکسین‌ها در مواد غذایی

درستی عملکرد آزمایشگاه‌ها برای اندازه‌گیری آفاتوکسین‌ها

مریم جلیلی^{۱*}، الهام هاشمی‌شاد^۲، زهرا علایی‌روزبهانی^۳

۱- استادیار گروه پژوهشی مواد غذایی، حلال و کشاورزی، پژوهشکده صنایع غذایی و فراورده‌های کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

۲- مدیر فنی مرکز آزمون مهارت، پژوهشکده ارزیابی کیفیت و سامانه‌های مدیریت، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

۳- مربی گروه پژوهشی مواد غذایی، حلال و کشاورزی، پژوهشکده صنایع غذایی و فراورده‌های کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: jalili@standard.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۰)

چکیده

درستی (دقت و صحت) عملکرد آزمایشگاه در اندازه‌گیری سموم مواد غذایی به‌ویژه آفاتوکسین‌ها (با توجه به اهمیت آن‌ها در سلامتی انسان)، اهمیت زیادی دارد. اجرای آزمون مهارت روشی معتبر برای ارزیابی درستی نتایج آزمایشگاه‌ها است، که توسط یک نهاد بی‌طرف انجام می‌شود. لذا با هدف بررسی درستی عملکرد آزمایشگاه‌ها در اندازه‌گیری آفاتوکسین‌ها، با استفاده از نمونه آرد ذرت، که به‌طور طبیعی به آفاتوکسین‌های B₁, B₂, G₁, G₂ آلوده بود، یک آزمون مهارت برای آزمایشگاه‌های فعال در سراسر کشور برگزار شد. نمونه‌های همگن و پایدار آرد ذرت آلوده به آفاتوکسین‌ها به آزمایشگاه‌های متقاضی در سراسر کشور ارسال شد. مقدار آفاتوکسین‌ها در نمونه (AV) و انحراف استاندارد آزمون مهارت (σ_{pt}) براساس نتایج آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده تعیین و برای ارزیابی درستی نتایج آزمایشگاه‌ها از آماره عملکرد Z استفاده شد. نتایج نشان داد براساس نمره Z، از بین ۲۶ آزمایشگاه که در آزمون مشارکت کرده‌بودند، تعداد ۲۲ آزمایشگاه (۸۵ درصد) در اندازه‌گیری آفاتوکسین B₁ عملکرد رضایت‌بخش داشته و نتایج آن‌ها قابل قبول بود و ۴ آزمایشگاه عملکرد غیرقابل قبول داشته و نتایج آن‌ها غیرقابل اعتماد بود. برای آفاتوکسین‌های B₂ و G₁، به ترتیب تعداد ۲۳ (۸۹ درصد) و ۲۰ (۷۷ درصد) عملکرد رضایت‌بخش داشتند. این بررسی نشان داد که علیرغم وجود تجهیزات کافی در آزمایشگاه‌ها، یکی از مهم‌ترین نقاط ضعف آن‌ها عدم اشراف کافی آزمون‌کنندگان به نحوه اجرای صحیح روش اندازه‌گیری آفاتوکسین‌ها است.

واژه‌های کلیدی: آزمون مهارت، آفاتوکسین‌ها، آزمایشگاه‌های مواد غذایی، درستی عملکرد

مقدمه

آفاتوکسین‌ها مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که به‌طور عمده توسط سه گونه مهم کپک‌ها به نام *آسپرژیلوس فلاووس*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و به‌ندرت *آسپرژیلوس نومیوس* تولید شده و دارای انواع مختلفی هستند که مهم‌ترین آن‌ها B_1 ، B_2 ، G_1 و G_2 است (Achaglinkame et al., 2018). آفاتوکسین‌ها بر روی مواد غذایی مختلف از جمله انواع غلات، مغزها (مانند پسته و بادام‌زمینی)، پنبه‌دانه، انواع خشکبار (مانند کشمش)، قهوه، ادویه‌جات، خوراک دام و غیره رشد می‌کنند (Liu et al., 2016). این سموم به علت ایجاد اثرات سرطان‌زایی، جهش‌زایی، قابلیت اتصال به DNA در هسته و میتوکندری کبد و ایجاد مسمومیت حاد، نسبت به سایر سموم قارچی، از اهمیت بیشتری برخوردار هستند (Hsieh and Wong, 1994). با توجه به اثرات نامطلوب آفاتوکسین‌ها بر روی سلامت انسان و حیوان، نهادهای مسئول در همه کشورها، مواد غذایی و خوراک دامی را که در داخل کشور تولید می‌شود و یا از سایر کشورها وارد می‌شود، مورد کنترل قرار داده و میزان این سموم را در آن‌ها به دقت اندازه‌گیری و با حدود مجاز تعیین شده توسط استانداردهای ملی و بین‌المللی مطابقت داده و در صورتی که مقدار این سموم در ماده غذایی از حد استاندارد تعیین شده بیشتر باشد، از توزیع و مصرف آن در جامعه ممانعت می‌نمایند. بنابراین دقت و درستی عملکرد آزمایشگاه در صدور نتایج آزمون انجام شده، اهمیت زیادی دارد (Jarvis, 2014). لذا ارزیابی درستی عملکرد (دقت و صحت) آزمایشگاه‌ها توسط مراجع مستقل به عنوان

ابزاری مهم در راستای اطمینان از نتایج اندازه‌گیری‌ها و به عنوان بخشی از راهبرد کیفیت، همواره توسط مراجع معتبر بین‌المللی نظیر ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) پیشنهاد شده است. یکی از رویکردهای علمی و تخصصی برای ارزیابی آزمایشگاه‌ها، به‌کارگیری الگوهای آزمون مهارت (PT: Proficiency Testing) می‌باشد (Massih, 2016).

آزمون مهارت در واقع، روشی برای ارزیابی درستی نتایج آزمایشگاه‌ها، در مقایسه با یک مقدار مرجع و یا مقایسه با عملکرد آزمایشگاه‌های مشابه است، که توسط یک نهاد بی‌طرف و دارای صلاحیت انجام می‌شود (ISOIEC 17043, 2010).

نتایج حاصل از مشارکت در این آزمون به یکی از سه حالت عملکرد رضایت‌بخش، عملکرد مشکوک (Questionable) و عملکرد غیرقابل قبول بیان می‌شود. حالت دوم و سوم معمولاً به دلیل مشکلات احتمالی موجود در آزمایشگاه‌ها ایجاد شده و مستلزم شروع فرآیند بررسی ریشه‌ای خطا و اجرای چرخه Plan-Do-Check-Act (PDCA) در آزمایشگاه می‌باشد. انجام این فرآیند در بهبود عملکرد آتی آزمایشگاه‌ها نقش به‌سزایی ایفا می‌کند. بدون مشارکت در آزمون مهارت، ممکن است منابع خطا، کشف نشده باقی مانده و آزمایشگاه قادر به انجام اقدام اصلاحی مناسب و به موقع نباشد. در نهایت چنین خطاهایی می‌تواند منجر به ارائه نتایج نادرست به مشتریان و یا دیگر ذینفعان، از دست دادن حسن شهرت و حتی لغو مجوز قانونی فعالیت آزمایشگاه شود (ISOIEC 17043, 2010).

در نتیجه آن بانک اطلاعاتی شامل بیش از ۱۲۰۰۰ نتایج آزمون آفت‌کش‌ها به‌دست آمد که منجر به‌دستاوردهای بسیار مهمی در زمینه آزمون‌ها شد (Medina-Pastor *et al.*, 2010).

شرکت فاپاس (FAPAS)، که یکی از مهم‌ترین برگزارکنندگان آزمون‌های مهارت در جهان است، از زمان آغاز به کار خود به سرعت گسترش یافته و از اواسط سال ۱۹۹۸، سالانه حدود ۶۰۰ آزمایشگاه شرکت‌کننده از ۵۰ کشور جهان در آزمون‌های آن مشارکت داشته‌اند (Key *et al.*, 1997). آزمون‌های مهارت همچنین توسط سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization (WHO)) تحت برنامه جهانی نظارت بر محیط زیست (Global: GEMS Environmental Management Services) برگزار می‌گردد (Weigert *et al.*, 1997).

یک برنامه برگزاری آزمون مهارت در میکروبیولوژی مواد غذایی، در سال ۱۹۸۸ ایجاد شده و در حال حاضر شامل ۴۴۰ آزمایشگاه شرکت‌کننده است و همواره دو مرتبه در سال، ۵ نمونه به شرکت‌کنندگان ارسال می‌کند تا دقت و صحت آن‌ها را برای شمارش و تشخیص میکروارگانیسم‌ها ارزیابی کند (Christophe and Carlier, 2002). در ایران نیز مرکز آزمون مهارت پژوهشگاه استاندارد، وابسته به سازمان ملی استاندارد، از سال ۱۳۹۳ اقدام به برگزاری آزمون‌های مهارت نموده و هر سال ۳ تا ۴ آزمون را در خصوص آزمون‌های میکروبیولوژی، نوشیدنی‌ها، فراورده‌های غلات و آلاینده‌ها در سطح کشور اجرا می‌کند.

با توجه به اهمیت درستی نتایج آزمایشگاه‌ها، سالانه در سراسر دنیا آزمون‌های مهارت بسیار زیادی برای آزمایشگاه‌هایی که در زمینه ایمنی فعالیت نموده و ارتباط بیشتری با سلامتی انسان دارند (به‌ویژه برای آزمایشگاه‌های فعال در زمینه صنایع غذایی)، برگزار می‌شود که ازجمله می‌توان به اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها، باقی‌مانده آفت‌کش‌ها، آزمون‌های میکروبیولوژی، اندازه‌گیری فلزات سنگین، هیستامین و غیره اشاره نمود. اولین برنامه آزمون مهارت در سال ۱۹۴۶ در زمینه بالینی و با هدف اثبات قابلیت اطمینان نتایج تحلیلی آزمایشگاهی انجام شد (Belk and Sunderman, 1947). در ابتدا، نتایج آزمون مهارت نشان داد آزمایشگاه‌ها به روش آزمون تسلط کافی نداشتند و به آموزش‌های بیشتر نیاز داشتند (Sunderman, 1992).

امروزه پس از نیم قرن تکامل، از آزمون‌های مهارت و مقایسه‌های بین آزمایشگاهی به‌عنوان ابزارهای خارجی مفید برای کنترل سیستم کیفیت آزمایشگاه استفاده می‌شود. درواقع پس از مشارکت در آزمون مهارت، آزمایشگاه‌ها دانش بیشتری درمورد روش‌های تحلیلی که به‌طور معمول از آن‌ها استفاده می‌کنند، به‌دست می‌آورند و ارزیابی روش‌های اندازه‌گیری آن‌ها (از نظر دقت، صحت و عدم قطعیت اندازه‌گیری)، بهتر امکان‌پذیر می‌گردد (Heyden and Smeyers-Verbeke, 2007). آزمون‌های مهارت کمیته اروپا توسط آزمایشگاه مرجع میوه و سبزی و آزمایشگاه‌های مرجع اروپا برای کنترل باقیمانده آفت‌کش‌ها برگزار می‌شود. در بین سال‌های ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۸ (۱۲ سال)، این آزمون‌های مهارت برگزار شد و

به‌طور کلی در استاندارد بین‌المللی ISO/IEC 17025:2017 مشارکت در آزمون‌های مهارت به‌عنوان یکی از روش‌های تضمین کیفیت نتایج توصیه شده است. این آزمون می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مدیریت ریسک و بهبود کیفیت آزمایشگاه‌ها در نظر گرفته شود (ISO/IEC 17025, 2017). علیرغم موارد اشاره شده، در ایران اجرای آزمون‌های مهارت قدمت چندانی نداشته و به قدر کافی به آن پرداخته نشده است. بنابراین شایسته است که از طرق مختلف از جمله انتشار منابع علمی، بر ضرورت اجرای آن‌ها تاکید گردد.

هدف از اجرای این پروژه، تعیین میزان دقت و صحت آزمایشگاه‌هایی بود که آزمون اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌های B_1 , B_2 , G_1 و G_2 و مجموع آن‌ها را در مواد غذایی انجام می‌دهند. این بررسی از طریق اجرای آزمون مهارت و براساس الزامات استاندارد بین‌المللی برگزار شد.

مواد و روش‌ها

- تهیه اقلام آزمون

به‌منظور اجرای آزمون مهارت، حدود ۲۰ کیلوگرم آرد ذرت، که به‌طور طبیعی به آفلاتوکسین‌های B_1 , B_2 , G_1 , G_2 آلوده بود، تهیه شد. این نمونه‌ها در آزمایشگاه مرجع میکوتوکسین پژوهشگاه استاندارد آزمون شده و آلودگی آن‌ها تایید شده بود. برای اطمینان از این‌که تا حد امکان نمونه‌های توزیع شده بین مشارکت‌کنندگان حاوی مقادیر یکسان آفلاتوکسین‌ها باشد، همگن‌سازی آرد ذرت با استفاده از مخلوط‌کن دوچرخشی انجام شد.

ابتدا نمونه‌ها با استفاده از مخلوط‌کن دوچرخشی به مدت یک ساعت با سرعت ۸/۵ دور بر دقیقه مخلوط شدند و سپس از الک با مش ۵۰۰ میکرون عبور داده شدند. درنهایت نمونه‌های غربال شده مجدداً در مخلوط‌کن دوچرخشی به مدت یک ساعت با همان سرعت قبل مخلوط شدند. با توجه به این‌که هر آزمایشگاه مشارکت‌کننده در این بررسی موظف بود آزمون اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها را ۳ مرتبه تکرار کند، برای هر آزمایشگاه حدود ۱۷۰ گرم نمونه آرد ذرت ارسال شد. این نمونه‌ها ابتدا در پاکت‌های پلاستیکی سفید مات و سپس در پاکت‌های آلومینیومی بسته‌بندی شدند، تا اطمینان حاصل شود که در طی اجرای آزمون، از رطوبت در امان خواهند بود. نمونه‌ها با دقت کدگذاری شدند و به هر آزمایشگاه یک کد مشخص تعلق گرفت. نمونه‌ها به‌طور هم‌زمان برای آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده در آزمون مهارت ارسال و از آن‌ها درخواست شد آفلاتوکسین‌های B_1 , B_2 , G_1 و G_2 و مجموع آفلاتوکسین‌ها را براساس روش ارائه شده در استاندارد ملی ایران (ISIRI 6872, 2011) اندازه‌گیری نموده و نتایج را براساس نانوگرم بر گرم گزارش نمایند. برای اطمینان از همگن بودن نمونه‌ها، آزمون‌های همگنی (بند ۳-۲) و برای اطمینان از پایداری نمونه‌ها، آزمون پایداری (بند ۳-۳) بر روی نمونه‌ها انجام شد.

- آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده در آزمون مهارت

مطابق جدول (۱)، در مجموع ۲۷ آزمایشگاه از سراسر کشور در این آزمون مشارکت نمودند. برای هر مشارکت‌کننده یکی از نمونه‌های کدگذاری شده به‌طور تصادفی انتخاب و ارسال شد.

جدول (۱) - تعداد مشارکت کنندگان در آزمون مهارت به تفکیک استان محل استقرار

استان	تعداد آزمایشگاه‌ها	استان	تعداد آزمایشگاه‌ها
آذربایجان شرقی	۳	قزوین	۱
اصفهان	۱	قم	۱
البرز	۴	کرمان	۱
تهران	۲	گیلان	۱
چهارمحال و بختیاری	۱	مازندران	۱
خراسان رضوی	۱	هرمزگان	۴
خوزستان	۳	یزد	۱
شیراز	۲	جمع کل مشارکت کنندگان	۲۷

- ارزیابی همگنی نمونه‌ها

هدف از ارزیابی همگنی این است که اطمینان حاصل شود نمونه‌ها به قدر کافی همگن بوده و به عبارتی ناهمگنی نمونه‌ها منجر به بروز اختلاف در نتایج آزمون آزمایشگاه‌ها نگردد. برای ارزیابی همگنی، قبل از ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده، ۱۰ نمونه به‌طور تصادفی، از بین نمونه‌های ذرت بسته‌بندی‌شده انتخاب و مقدار آفلاتوکسین‌ها در آن‌ها اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که هر یک از ۱۰ نمونه ابتدا به دو قسمت مساوی تقسیم و هر قسمت جداگانه آزمون شد ($n=20$).

مقدار توان دو انحراف استاندارد میان نمونه‌ای (Ss) برای هر آفلاتوکسین مطابق فرمول شماره (۱) تعیین شد که برای محاسبه آن از فرمول‌های ۲ تا الی ۸ استفاده شد. مقدار انحراف استاندارد میان نمونه‌ای (Ss) از محاسبه ریشه دوم فرمول شماره (۱) به‌دست آمد. سپس مقدار Ss با انحراف استاندارد آزمون مهارت (σ_{pt}) مربوط به همان آفلاتوکسین (فرمول شماره ۱۱) مقایسه شد. اگر Ss، از $0/3$ انحراف استاندارد آزمون مهارت مربوط کمتر باشد، نمونه‌ها همگن تلقی می‌شوند (ISOIEC 13528, 2022).

$$s_s^2 = s_{s,w}^2 - s_w^2 = \frac{1}{(g-1)} \sum_{t=1}^g (\bar{x}_t - \bar{x})^2 - \frac{1}{m} s_w^2 \quad (1)$$

که در آن، نحوه محاسبه هریک از مقادیر در فرمول‌های زیر نشان داده شده است

$$\bar{x}_t = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m x_k \quad (2) \quad \text{میانگین‌های نمونه‌ها}$$

$$s_t^2 = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m (x_k - \bar{x}_t)^2 \quad (3) \quad \text{انحراف استاندارد میانگین‌های نمونه‌ها}$$

$$w_t^2 = \frac{1}{(m-1)} \sum_{k=1}^m (x_k - \bar{x}_t)^2 \quad (4) \quad \text{گستره بین آزمون بخشی}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{g} \sum_{t=1}^g \bar{x}_t \quad (5) \quad \text{میانگین کلی نمونه‌ها}$$

$$s_x^2 = \frac{1}{(g-1)} \sum_{t=1}^g (\bar{x}_t - \bar{x})^2 \quad (6) \quad \text{انحراف استاندارد میانگین‌های کلی نمونه‌ها}$$

$$s_w^2 = \frac{1}{g} \sum_{t=1}^g s_t^2 \quad (7) \quad \text{انحراف استاندارد درون نمونه‌ای}$$

$$s_{s,w}^2 = \frac{1}{(g-1)} \sum_{t=1}^g (\bar{x}_t - \bar{x})^2 + (1 - \frac{1}{m}) s_w^2 = s_s^2 + s_w^2 \quad (8) \quad \text{انحراف استاندارد میان نمونه‌ای}$$

g = تعداد نمونه انتخاب شده (۱۰ نمونه).

- ارزیابی پایداری

ارزیابی پایداری هنگامی انجام می‌شود، که نتایج تمامی آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده در آزمون دریافت شده باشد، تا اطمینان حاصل گردد که نمونه‌ها در طول زمان اجرای آزمون مهارت (از ارسال نمونه به آزمایشگاه تا دریافت نتایج از آزمایشگاه) پایدار بوده‌اند.

برای انجام آزمون‌های مربوط به پایداری از بین نمونه‌های ذرت بسته‌بندی شده، ۶ نمونه به‌طور تصادفی انتخاب شد که سه نمونه آن در شرایط محیط آزمایشگاه و سه نمونه دیگر در دمای ۲۴- درجه سلسیوس نگهداری شد و بعد از دریافت نتایج مشارکت‌کنندگان، مقدار آفلاتوکسین‌ها در این ۶ نمونه اندازه‌گیری شد و هر آزمون ۲ بار تکرار و سپس میانگین آن‌ها محاسبه شد ($\bar{Y}$). پایداری نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر تعیین شد.

$$|\bar{Y} - \bar{X}| \leq 0.3 \sigma_{pt} \quad (9)$$

که در آن $\bar{X}$ میانگین نتایج آزمون همگنی است.

به این ترتیب که اگر اختلاف بین میانگین کلی نتایج آزمون همگنی ($\bar{X}$) و میانگین کلی نتایج آزمون پایداری ($\bar{Y}$) هر آفلاتوکسین از ۰/۳ انحراف استاندارد

آزمون مهارت (σ_{pt}) مربوطه کمتر باشد، نمونه‌ها پایدار تلقی می‌گردند (ISOIEC 13528, 2022).

- روش اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها

اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و دتکتور فلورسنس انجام شد (ISIRI 6872, 2011). از مشارکت‌کنندگان درخواست شد که مقدار آفلاتوکسین‌ها را به روش معتبر مندرج در استاندارد ملی (ISIRI 6872, 2011) و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و دتکتور فلورسنس اندازه‌گیری نموده و هر آزمون را ۳ مرتبه تکرار نمایند. به‌طور خلاصه برای استخراج آفلاتوکسین‌ها ابتدا مقدار ۵۰ گرم نمونه، ۵ گرم کلرید سدیم و ۲۰۰ میلی لیتر محلول متانول-آب (۴۵:۵۵)، حجمی/حجمی) به مخلوط‌کن انتقال یافته و به مدت ۳ دقیقه مخلوط شد. سپس مخلوط سانتریفیوژ شده و فاز متانولی آن با استفاده کاغذ صافی فیلتر شد. عصاره حاصل با آب مقطر رقیق و با سرعت یک قطره در ثانیه از ستون ایمینوآفینیته، عبور داده شد. پس از آن حجم ۲۰ میکرولیتر از محلول صاف‌شده به دستگاه تزریق شد. آشکارساز فلورسانس روی طول موج تحریک ۳۶۵ نانومتر و طول موج انتشار ۴۳۵ نانومتر تنظیم شد.

- تعیین مقدار تخصیص یافته (Av : Assigned Value)

آفلاتوکسین‌ها و عدم قطعیت آن‌ها (u_x)

منظور از مقدار تخصیص یافته (Av)، مقدار نسبت داده شده به یک ویژگی مشخص (در اینجا آفلاتوکسین‌های G_1 , G_2 , B_1 , B_2 و مجموع آفلاتوکسین‌ها) در یک آزمون مهارت است. معمولاً مقدار تخصیص یافته از میانگین نتایج همه مشارکت‌کنندگان به دست می‌آید اما در برخی مواقع آزمایش‌کنندگان، نتایجی را تولید می‌کنند که برخلاف انتظار، از اکثریت نتایج (نتایج سایر آزمایش‌کنندگان) فاصله دارد. این موضوع می‌تواند به علل گوناگونی ایجاد شود، به طور مثال می‌تواند ناشی از تجربه ناکافی مشارکت‌کنندگان، دقت کمتر، استفاده از روش‌های متفاوت و یا ناشی از عدم درک مناسب دستورالعمل آزمون باشد. این موارد منجر به تولید داده پرت می‌شود و فنون آماری مرسوم شامل میانگین و انحراف استاندارد را غیرقابل اعتماد می‌سازد. در این مواقع بهتر است، به جای میانگین، از روش‌های آماری استوار (مقاوم به داده پرت) استفاده نمود، که از آن جمله می‌توان به میانه، دامنه چارکی نرمال شده ($niQR$)، الگوریتم A ، روش همپل و غیره اشاره نمود. نحوه عملکرد و روش‌های آماری این روش‌ها به دلیل پیچیدگی در این مقاله ذکر نشده است و برای اطلاع از آن‌ها رفرنس ذکر شده قابل استفاده است (ISO 13528, 2022). در این بررسی Av هریک از سموم براساس نتایج مشارکت‌کنندگان و با استفاده از روش آماری الگوریتم A محاسبه شد (ISO 13528, 2022).

فاز متحرک شامل مخلوطی از استونیتریل، متانول و آب بود که با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه از ستون عبور داده شد. مقدار آفلاتوکسین‌ها با استفاده از منحنی کالیبراسیون محاسبه شد.

مشارکت‌کنندگان موظف بودند حداکثر ظرف مدت ۳ روز نتایج خود را ارسال نموده و علاوه بر آن، از آن‌ها درخواست شد اطلاعات مربوط به آزمون نمونه از قبیل درصد بازیافت، حد تشخیص (LOD : Limit of Detection)، حد اندازه‌گیری (LOQ : Limit of Quantification)، نوع ستون مورد استفاده، مشخصات پیش ستون، سرعت جریان فاز متحرک، حجم تزریق نمونه، غلظت‌های مورد استفاده برای رسم منحنی کالیبراسیون و مقدار نمونه در هر تکرار آزمون (هر آزمایشگر انجام آزمون را سه بار تکرار نمود) را نیز به همراه انحراف استاندارد و عدم قطعیت آزمون را محاسبه و ارسال نمایند. کلیه اطلاعات مربوط به مشارکت‌کنندگان محرمانه تلقی شد.

- بررسی مقدماتی داده‌ها

پس از دریافت نتایج مشارکت‌کنندگان بررسی‌های آماری شامل تعیین داده‌های پرت (با استفاده از آزمون گرابز)، بررسی نرمال بودن داده‌ها (آزمون نرمالیت) و توزیع داده‌ها (با رسم نمودار هیستوگرام) بر روی آفلاتوکسین‌های G_1 , G_2 , B_1 , B_2 و مجموع آفلاتوکسین‌ها انجام شد. بررسی مقدماتی نمونه‌ها با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۸ (Minitab Inc., PA, USA) و نرم افزار Microsoft Excel (Excel, 2013) انجام شد.

مقدار عدم قطعیت آزمون مهارت (u_x) برای هریک از آفلاتوکسین‌ها و برای مجموع آن‌ها، با استفاده از معادله زیر محاسبه شد.

$$u_x = \frac{1.25 \times S^*}{\sqrt{P}}$$

که در آن:

u_x عدم قطعیت؛

S^* : انحراف استاندارد نتایج مشارکت‌کنندگان؛

P : تعداد مشارکت‌کنندگان،

- تعیین انحراف استاندارد آزمون مهارت (σ_{Pt})

انحراف استاندارد آزمون مهارت برای هریک از سموم (B_1, B_2, G_1, G_2) و مجموع آفلاتوکسین‌ها) به‌طور جداگانه و با استفاده از روش هورویتز (Horwitz) محاسبه شد (ISOIEC 13528, 2022).

$$RSD_R \% = 2^{(1 - 0.5 \log C)} \quad (11)$$

که در آن، C ، غلظت آنالیت مورد بررسی است.

- تعیین نمره Z مشارکت‌کنندگان

به‌منظور تعیین درستی عملکرد آزمایشگاه‌ها و مقایسه آن‌ها با یکدیگر، نتایج هر آزمایشگاه باید به یک آماره عملکردی مناسب (نمره Z) تبدیل گردد. در این بررسی، نمره Z مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

$$(ISOIEC 13528, 2022)$$

$$Z = \frac{x - \bar{X}}{\sigma_{pt}} \quad (12)$$

که در آن

x : میانگین نتیجه آزمایشگاه برای هر یک از آفلاتوکسین‌ها (با ۳ تکرار)؛

$\bar{X}$: مقدار تخصیص یافته (A_v) هر یک از آفلاتوکسین‌ها

σ_{Pt} : انحراف استاندارد آزمون مهارت

سپس نمره Z به‌دست آمده برای هریک از مشارکت‌کنندگان به شرح زیر تفسیر شد:

$|Z| \leq 2$ بیانگر عملکرد « قابل قبول »؛

$2 < |Z| < 3$ بیانگر عملکرد « مشکوک »؛

$|Z| \geq 3$ بیانگر عملکرد « غیر قابل قبول »

- تعیین رده کیفی مشارکت‌کنندگان

در این بررسی، با توجه به نمره‌های Z به‌دست آمده برای هر آزمایشگاه یک رده کیفی به شرح زیر تعیین شد.

$|Z| \leq 2$ رده کیفی A (بالاترین رده کیفی)؛

$1 < |Z| \leq 2$ رده کیفی B؛

$2 < |Z| < 3$ رده کیفی C؛

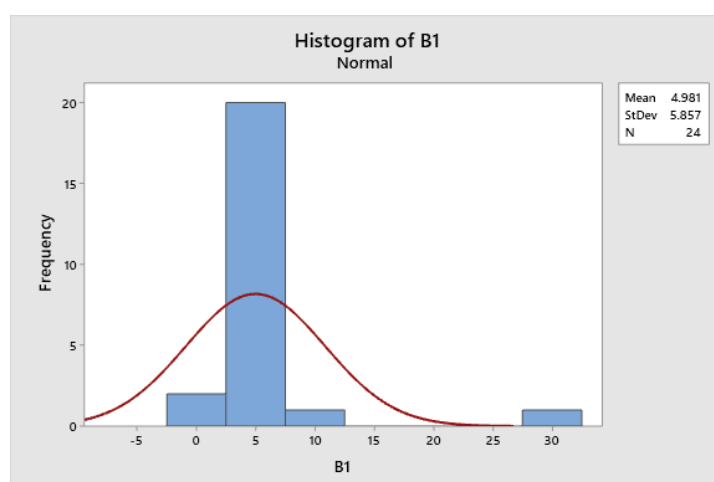
$|Z| \geq 3$ رده کیفی D (پایین‌ترین رده کیفی)؛

یافته‌ها

- بررسی مقدماتی داده‌ها

پس از جمع‌آوری داده‌ها،

تجزیه و تحلیل آماری شامل تعیین داده‌های پرت، بررسی نرمال بودن داده‌ها و بررسی نحوه توزیع داده‌ها انجام شد. نتیجه ارائه‌شده توسط یکی از مشارکت‌کنندگان بسیار بیشتر از سایر آزمایشگاه‌ها بود. این آزمایشگاه مقدار B_1 را ۳۰/۸۰ نانوگرم بر گرم گزارش نموده بود (تقریباً ۱۰ برابر سایر آزمایشگاه‌ها)، که این مقدار با نتایج سایر آزمایشگاه‌ها اختلاف زیادی داشت و لذا از محاسبات آماری حذف شد (نمودار ۱). نتایج آزمون گرابز نمونه‌ها در سطح اطمینان ۹۹ درصد نیز نتیجه این آزمایشگاه را به‌عنوان داده پرت نشان داد.



نمودار (۱) - نمودار هیستوگرام برای آفلاتوکسین B1

- بررسی همگنی نمونه‌ها

براساس الزامات استاندارد بین‌المللی ISOIEC 17043 باید اثبات شود نمونه‌های آزمون مهارت، که به‌دست مشارکت‌کنندگان می‌رسد، به اندازه کافی همگن و پایدار هستند و در غیراین‌صورت، باید مقدار ناهمگنی در ارزیابی عملکرد مشارکت‌کنندگان لحاظ گردد (ISOIEC 17043, 2010). این آزمون‌ها بر روی چهار آفلاتوکسین B_1 , B_2 , G_1 , G_2 و مجموع

آفلاتوکسین‌ها انجام شد که نتایج آن در جدول (۲) نشان داده شده است. چنان‌که مشاهده می‌شود، مقدار انحراف استاندارد بین‌نمونه‌ای برای هریک از آفلاتوکسین‌ها از $0.3 \sigma_{pt}$ انحراف استاندارد آزمون مهارت آن آفلاتوکسین کمتر بود ($S_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$) که این نشان می‌داد نمونه‌ها همگن بودند.

جدول (۲) - نتایج ارزیابی آزمون‌های همگنی

کنترل همگنی			انحراف استاندارد	اندازه ده
$S_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$	$S_s=0$	S_s	آزمون مهارت (σ_{pt})	(نانوگرم بر گرم)
✓	-	۰/۱۲۴۹	۰/۸۱۲	B1
✓	✓	<۰	۰/۲۷۶	G1
✓	-	۰/۰۶۱۲	۰/۱۰۲	B2
✓	✓	۰	-	G2
✓	-	۰/۱۳۳۸	۱/۱۸۸	مجموع آفلاتوکسین‌ها

S_s : انحراف استاندارد بین‌نمونه‌ای، σ_{pt} : انحراف استاندارد آزمون مهارت،

- بررسی پایداری نمونه‌ها

براساس الزامات استاندارد بین‌المللی ISOIEC 7043 باید اثبات شود نمونه‌های آزمون مهارت به اندازه کافی پایدار هستند زیرا در صورت ناپایدار بودن، باید مقدار ناپایداری در ارزیابی عملکرد مشارکت-کنندگان لحاظ گردد (ISOIEC17043, 2010). این آزمون‌ها بر روی چهار آفلاتوکسین B_1 , B_2 , G_1 , G_2 و مجموع آفلاتوکسین‌ها انجام شد که نتایج آن در جدول

(۳) آورده شده است. چنان‌که مشاهده می‌شود، اختلاف بین میانگین کلی نتایج آزمون همگنی و میانگین کلی نتایج آزمون پایداری هر یک از آفلاتوکسین‌ها از $0/3$ انحراف استاندارد آزمون مهارت همان آفلاتوکسین کمتر بود که نشان می‌داد نمونه‌ها پایدار بوده‌اند (جدول ۳).

جدول (۳)- نتایج ارزیابی آزمون‌های پایداری

آفلاتوکسین (نانوگرم بر گرم)	(σ_{pt})	X	Y	کنترل پایداری
				$ X-Y \leq 0.3\sigma_{pt}$
B1	0/812	3/8355	3/8417	✓
G1	0/276	1/3205	1/2233	✓
B2	0/102	0/5255	0/4925	✓
G2	-	ND	ND	✓
مجموع آفلاتوکسین‌ها	1/188	5/6815	5/5575	✓

σ_{pt} : انحراف استاندارد آزمون مهارت، X: میانگین نتایج آزمون همگنی ($n=20$)، Y: میانگین نتایج آزمون پایداری ($n=12$)، ND: غیر قابل تشخیص

- مقدار تخصیص یافته و انحراف استاندارد آزمون مهارت

نتایج مربوط به تعیین مقدار تخصیص یافته (A_v) آفلاتوکسین‌ها (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) و مجموع آفلاتوکسین‌ها و عدم قطعیت آن‌ها (u_x) و انحراف استاندارد آزمون مهارت (σ_{pt}) در جدول (۴) نشان داده شده است. نتایج بررسی آماری نشان داد مقدار آفلاتوکسین B_1 و B_2 و مقدار آفلاتوکسین کل که براساس اجماع نتایج مشارکت‌کنندگان و به روش همپل (Hampel)، که یکی از روش‌های آماری استوار می‌باشد محاسبه شده بود، به ترتیب $3/691$ و $0/462$ و $5/40$ نانوگرم برگرم بود. مقدار G_1 نیز که براساس

اجماع مشارکت‌کنندگان و با استفاده از الگوریتم A محاسبه شده بود، $1/216$ نانوگرم بر گرم به‌دست آمد. مقدار انحراف استاندارد آزمون مهارت نیز برای آفلاتوکسین B_1 و B_2 و مقدار آفلاتوکسین کل به روش هورویتز و برای G_1 با استفاده از الگوریتم A محاسبه شد (جدول ۴).

معادله هورویتز (Horwitz)، یک روش عمومی رایج برای تعیین تجدیدپذیری روش‌های آزمون می‌باشد و در آزمایشگاه‌ها برای تعیین انحراف استاندارد کاربرد گسترده‌ای دارد. مرکز آزمون مهارت و کنترل آفلاتوکسین در آفریقا (Aflatoxin: APTECA: Proficiency Testing and Control in Africa)، که

سال ۲۰۱۵ (شامل ۷، ۱۲ و ۱۶ آزمایشگاه) برگزار نمود و در همه آزمون‌ها برای تعیین انحراف استاندارد آزمون مهارت (σ_{pt}) از معادله هورویتز استفاده کرد (Herrman et al., 2020).

برگزارکننده پنج دوره برنامه آزمون مهارت در کشور کنیا بود، برای بررسی میزان دقت آزمایشگاه‌ها در اندازه‌گیری آفلاتوکسین دو دوره آزمون مهارت در سال ۲۰۱۴ (شامل ۵ و ۸ آزمایشگاه) و سه دوره در

جدول (۴) - انحراف استاندارد آزمون مهارت، مقدار تخصیص یافته و عدم قطعیت آن برای آفلاتوکسین‌ها

آفلاتوکسین (نانوگرم بر گرم)	عدم قطعیت (u_x)	مقدار تخصیص یافته (A_v)	انحراف استاندارد آزمون مهارت (σ_{pt})
B1	۰/۲۱	۳/۶۹۱	۰/۸۱۲
G1	۰/۰۲۸	۱/۲۱۶	۰/۲۷۶
B2	۰/۰۸۱	۰/۴۶۲	۰/۱۰۲
G2	-	<۲	-
مجموع آفلاتوکسین‌ها	۰/۳۴	۵/۴۰	۱/۱۸۸

- تعیین نمره Z مشارکت‌کنندگان

نمره عملکرد مشارکت‌کنندگان در همه آفلاتوکسین‌ها (به استثناء آفلاتوکسین G_2) براساس نمره Z محاسبه شد که نتایج آن در جدول (۵) نشان داده شده است. نتایج نشان داد نمره Z مشارکت‌کنندگان بین ۰/۰۴ تا ۳۳/۸ برای آفلاتوکسین B_1 متغیر بود. به‌طور کلی از بین ۲۶ آزمایشگاه مشارکت‌کننده در این آزمون مهارت، نمره Z مربوط به ۴ آزمایشگاه بزرگتر از ۳ یا کوچکتر از ۳- بود (۱۵/۳۸ درصد)، که عملکرد آن‌ها غیرقابل قبول بود. این دسته از مشارکت‌کنندگان دارای عدم انطباق‌های جدی در سیستم آزمایشگاه هستند و باید بلافاصله جهت

شناسایی و رفع آن‌ها اقدامات اصلاحی مناسب را انجام دهند. تعداد ۲۲ آزمایشگاه (۸۴ درصد) در اندازه‌گیری آفلاتوکسین B_1 عملکرد رضایت‌بخش داشتند. در مورد سم B_2 نیز نتایج نشان داد، ۲۱ آزمایشگاه نمره Z بین ۲- تا ۲+ داشتند (عملکرد مطلوب)، ۱ آزمایشگاه نمره Z ۲/۷۷۹- دریافت کرد (عملکرد مشکوک و علامت هشدار) و ۳ آزمایشگاه نمره Z بزرگتر از ۳ یا کوچکتر از ۳- داشتند و عملکردشان غیرقابل قبول بود و علامت اقدام دریافت نمودند.

جدول (۵) - تعیین نمره Z آزمایشگاه‌ها براساس نتایج آزمون اندازه‌گیری آفاتوکسین‌های G1, B1, B2, G2 و آفاتوکسین کل

آفاتوکسین	دامنه گزارش نتایج آزمون آزمایشگاه‌ها	نمره Z		
		$ Z \leq 2$	$2 < Z < 3$	$ Z \geq 3$
AFB ₁	۰/۱۲-۱۳/۰۱	۲۲	۰	۴
AFB ₂	۰/۳-۱۹۴/۱۳۱	۲۳	۰	۳
AFG ₁	۰/۵-۰۴۳/۹۶۸	۱۹	۳	۴
AFG ₂	nd-۰/۳۹۹۲	-		
مجموع آفاتوکسین‌ها	۱/۴۰-۲۰۰/۲۹۴	۲۲	۰	۴

$|Z| \leq 2$ بیانگر عملکرد « قابل قبول »؛ $2 < |Z| < 3$ بیانگر عملکرد « مشکوک »؛ $|Z| \geq 3$ بیانگر عملکرد « غیر قابل قبول »

- تعیین رده کیفی آزمایشگاه‌ها

مجموع آفاتوکسین‌ها گزارش شده بود. با توجه به تحلیل‌های صورت گرفته و بررسی عملکرد مشارکت-کنندگان بیشترین درصد نتایج غیر قابل قبول مربوط به آفاتوکسین G₁ بود. آزمون G₂ از این قسمت از بررسی حذف شد.

رده کیفی مشارکت‌کنندگان براساس نمره Z آن‌ها محاسبه که نتایج آن در جدول (۶) نشان داده شده است. به‌طور کلی بین ۱۵ تا ۱۹ آزمایشگاه رده کیفی A و بین ۳ تا ۴ آزمایشگاه نیز رده کیفی D را دریافت نمودند. بهترین نتایج برای اندازه‌گیری B₁ و

جدول (۶) - تعیین رده کیفی آزمایشگاه‌ها براساس نتایج آزمون اندازه‌گیری آفاتوکسین‌های G1, B1, B2, G2 و آفاتوکسین کل

رده کیفی	آزمایشگاه‌ها (تعداد)			
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	مجموع آفاتوکسین‌ها
A	۱۹	۱۷	۱۸	۱۷
B	۳	۵	۴	۵
C	--	--	۱	--
D	۴	۳	۲	۴

۱ $|Z| < 1$ رده کیفی A (بالاترین رده کیفی)؛ ۲ $|Z| \leq 2$ رده کیفی B؛ ۳ $2 < |Z| < 3$ رده کیفی C؛ ۴ $|Z| \geq 3$ رده کیفی D (پایین‌ترین رده کیفی)؛

بحث و نتیجه‌گیری

با عدد گزارش کرده بودند. بنابراین، برای این سم امکان تعیین مقدار تخصیص‌یافته (Av) و انحراف استاندارد وجود نداشت و تنها به ذکر نتایج اشاره شد. برای تحلیل این آزمون، از مشارکت‌کنندگان درخواست شده بود مقدار بازیافت و LOQ را نیز به همراه نتایج آزمون گزارش نمایند. درصد بازیافت مشارکت‌کنندگان

در این بررسی، مقدار آفاتوکسین G₂ در نمونه‌ها کمتر از حد اندازه‌گیری بود و آزمایشگاه‌ها نتایج را با عبارت‌های متفاوتی مانند کوچکتر از LOD، کوچکتر از LOQ و یا غیر قابل تشخیص (ND: Not Detectable) و برخی از آزمایشگاه‌ها نیز مقدار G₂ را

بین ۱۱/۷۰ تا ۱۰۴/۸۵ درصد برای آفلاتوکسین B₁ متغیر بود. این در حالی است که براساس استاندارد اتحادیه اروپا مقدار بازیافت (درغلظت ۱ تا ۱۰ نانوگرم بر گرم) باید بین حداقل ۷۰ درصد تا حداکثر ۱۱۰ درصد باشد (EC 401, 2006). به استثناء دو آزمایشگاه، مقدار بازیافت سایر آزمایشگاه‌ها در این بازه قرار داشت. محاسبه درصد بازیافت در آزمایشگاه‌ها باید در هر روز کاری، همراه با انجام آزمون‌های روزانه تعیین شود. در صورتی که درصد بازیافت در محدوده اعلام شده نباشد، به صحت نتایج آزمون اطمینانی نیست و باید نسبت به تکرار آزمون اقدام شود. علاوه بر آن، نتایج نهایی باید براساس درصد بازیافت و ضریب رقت تصحیح و محاسبه شود. نتایج نشان داد که ۳ آزمایشگاه مشارکت‌کننده در آزمون، درصد بازیافت را در نتایج خود اثر نداده بودند. مقدار LOQ نیز که توسط مشارکت‌کنندگان گزارش شده بود، بین ۰/۰۳ تا ۱/۲۵ نانوگرم بر گرم برای B₁ متغیر بود. اختلاف در مقدار حد قابل تشخیص به چند عامل بستگی دارد که از آن جمله می‌توان به روش تعیین آن و حساسیت دستگاه اشاره نمود.

به‌طور کلی، تعداد ۱۹ آزمایشگاه (۷۶ درصد) در اندازه‌گیری G₁ عملکرد رضایت‌بخش داشته، ۳ آزمایشگاه علامت هشدار و ۳ آزمایشگاه علامت اقدام دریافت نمودند. علامت هشدار (عملکرد مشکوک)، نشان‌دهنده وجود اشکالاتی در سیستم آزمایشگاه است و باید با انجام اقدامات پیشگیرانه موثر و بررسی روش‌های اندازه‌گیری نسبت به رفع آن اقدام شود. کمترین درصد اندازه‌گیری رضایت‌بخش در مورد سم G₂ بود. با توجه به این‌که نتایج آزمایشگاه‌ها

برای سم G₂ به طرق مختلف گزارش شده بود، نمره Z برای این سم قابل گزارش نبود و تنها به ذکر نتایج مشارکت‌کنندگان اکتفا شد البته این نتایج چندان دور از انتظار نبود. چون مقدار سم G₂ براساس نتایج همگنی و پایداری در حد غیر قابل اندازه‌گیری گزارش شد و از حد LOQ کمتر بود. مشارکت‌کنندگانی که داده‌های کوچکتر از مقدار LOD گزارش نمودند، عملکردشان غیرقابل قبول گزارش شد (۶ آزمایشگاه).

در مورد آفلاتوکسین کل نیز تعداد ۲۲ آزمایشگاه (حدود ۸۵ درصد) نمره Z بین ۲- تا ۲+ داشتند (عملکرد مطلوب). سایر آزمایشگاه‌ها عملکرد غیرقابل قبول داشته و هیچ‌کدام مشکوک نبودند.

با توجه به اهمیت درستی نتایج آزمون اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها که در آزمایشگاه‌ها انجام می‌شود، هرساله آزمون‌های مهارت متفاوتی برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها در سرتاسر جهان برگزار می‌شود. در یک آزمون مهارت که به‌طور مشترک بین آمریکا و تایلند انجام شد، نمونه‌های ذرت و بادام‌زمینی عاری از آفلاتوکسین و ذرت و بادام‌زمینی که به‌طور طبیعی آلوده به آفلاتوکسین‌ها بودند، به‌عنوان اقلام آزمون مهارت انتخاب شده و به آزمایشگاه‌ها ارسال و از آن‌ها درخواست شد مقدار مجموع آفلاتوکسین‌ها را اندازه‌گیری نمایند. نتایج نشان داد از بین ۱۹ آزمایشگاه که اقلام آلوده را دریافت نموده بودند، ۱۳ آزمایشگاه (۶۸ درصد) و از بین ۲۱ آزمایشگاه که نمونه‌های عاری از آفلاتوکسین دریافت کرده بودند، ۱۰ آزمایشگاه (۴۸ درصد) عملکرد رضایت‌بخشی داشتند و سایر آزمایشگاه‌ها نتایج درستی ارائه ننموده بودند (Vongbuddhapitak et al., 1992).

در آزمون مهارت مشابهی که در چین برگزار شد، نمونه‌های بادام‌زمینی که به‌طور طبیعی به آفلاتوکسین‌ها آلوده بودند برای آزمایشگاه‌ها ارسال شد. این نمونه‌ها حاوی تقریباً ۱۰ نانوگرم بر گرم آفلاتوکسین B₁ و ۱۸ نانوگرم بر گرم از مجموع آفلاتوکسین‌ها بودند. عملکرد هر آزمایشگاه توسط یک امتیاز Z تعیین شد. از بین ۷۳ آزمایشگاه که نتایج مربوط به آفلاتوکسین B₁ را گزارش کرده بودند، ۶۶ آزمایشگاه (۹۰/۴ درصد) و از بین ۳۲ آزمایشگاه که کل آفلاتوکسین‌ها (B₁ + B₂ + G₁ + G₂) را اندازه‌گیری کرده بودند، ۳۰ آزمایشگاه (۹۳/۸ درصد) عملکرد رضایت‌بخش داشتند (Bao et al., 2009).

نتایج آزمون مهارت پروژه حاضر نشان داد عملکرد آزمایشگاه‌ها در این بررسی، از آنچه در کشور تايلند گزارش شده بود، بهتر بوده و تقریباً مشابه نتایج کشور چین بود. گرچه، در هیچ‌یک از دو بررسی مذکور عملکرد آزمایشگاه‌ها در اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌های B₁، G₁ و G₂ مورد بررسی قرار نگرفته بود در حالی که در پروژه حاضر هر ۴ آفلاتوکسین و مجموع آفلاتوکسین‌ها بررسی شدند. یکی از وظایف اصلی مرکز تحقیقات مشترک (JRC: Joint Research Center) اتحادیه اروپا، که وظیفه اداره آزمایشگاه‌های مرجع اتحادیه اروپا (EURL: European Union Reference Laboratories) برای میکوتوکسین‌ها را به عهده دارد، برگزاری آزمون‌های مهارت (PT) در بین آزمایشگاه‌های مرجع ملی کشورهاست. این مرکز در اواسط اکتبر ۲۰۱۶ دو نمونه پودر بادام‌زمینی آلوده به آفلاتوکسین (حدود ۵۵ گرم) برای شرکت‌کنندگان ارسال نمود. نمونه الف حاوی

۲/۸±۰/۱۹ و نمونه ب حاوی ۳/۲±۰/۲ نانوگرم بر گرم آفلاتوکسین B₁ بود. در مجموع ۵۶ آزمایشگاه از ۳۰ کشور در این آزمون شرکت کردند. نتایج آن‌ها، که با استفاده از آزمون Z بررسی شد، نشان داد ۹۶ درصد از آزمایشگاه‌ها در آزمون نمونه الف و ۹۲ درصد در آزمون نمونه ب عملکرد رضایت‌بخش داشتند. این محققین گزارش نمودند که معدود شرکت‌کنندگانی که دارای امتیازات Z بالاتر از حد مطلق ۲ هستند، باید دلایل انحراف از نتایج صحیح را بررسی کنند و اقدامات اصلاحی برنامه‌ریزی‌شده را به آزمایشگاه‌های مرجع اتحادیه اروپا گزارش دهند (Bouten et al., 2016).

پیش از این، در سال ۹۴، آزمون مهارت مشابهی برای اندازه‌گیری ۵ ویژگی در آرد برنج در کشور ایران برگزار شد. به‌طور متوسط ۹۰ درصد آزمایشگاه‌ها در آن سال نتایج قابل قبول گزارش کرده بودند در حالی که در سال ۹۸ کمتر از ۸۰ درصد آزمایشگاه‌ها نتیجه قابل قبول گزارش نمودند. علاوه بر آن، ۱۰۰ درصد آزمایشگاه‌ها مقدار آفلاتوکسین G₂ را به‌درستی گزارش کرده بودند در حالی که در سال ۹۸ حدود ۷۰ درصد آزمایشگاه‌ها نتایج G₂ را به‌درستی گزارش کرده بودند. در هر دو آزمون مهارت مقدار G₂ کمتر از حد قابل تشخیص بود. مقایسه این دو آزمون نشان می‌دهد که برگزاری آزمون مهارت به تنهایی کافی نیست بلکه نتایج آزمون باید ملاک سیاستگذاری برای بهبود عملکرد آزمایشگاه‌ها قرار گیرد. نتایج ارائه شده در این مقاله تنها براساس عملکرد مشارکت‌کنندگان در این آزمون است و اطمینان از درستی عملکرد آزمایشگاه‌ها، مستلزم تکرار آزمون مهارت در فواصل زمانی معین

می‌باشد. لذا پیشنهاد می‌شود هر آزمون مهارت ۲ تا ۳ مرتبه در سال و در غلظت‌های متفاوت برگزار گردد. مطالعه حاضر نشان داد که در آزمایشگاه‌های مواد غذایی، تجهیزات کافی وجود داشته و یکی از مهم‌ترین نقاط ضعف آن‌ها عدم اشراف کافی آزمون‌کننده به نحوه اجرای صحیح آزمون و نحوه انجام محاسبات می‌باشد. بنابراین، برگزاری دوره‌های آموزشی در خصوص کار با دستگاه‌های حساس و روش‌های تضمین کیفیت در آزمایشگاه‌ها توصیه می‌شود.

این بررسی همچنین نشان داد که اجرای آزمون مهارت یک روش کاملاً مقرون به صرفه در ارزیابی عملکرد آزمایشگاه‌ها و تضمین کیفیت نتایج آزمون آن‌ها، به خصوص در شرایط تحریم بوده و نسبت به تهیه نمونه مرجع (RM: Reference material) و یا نمونه مرجع گواهی‌شده (CRM: Certified Reference Material) به صرفه‌تر است و هزینه کمتری را به آزمایشگاه‌ها تحمیل می‌کند.

موضوع قابل توجه دیگر این‌که، علیرغم اهمیت بسیار زیاد نتایج آزمون در ایمنی مواد غذایی، در حال حاضر آزمون‌های مهارت به‌ویژه در حوزه مواد غذایی در کشور بسیار محدود بوده و به تعداد کافی برگزار نمی‌شوند و در برخی موارد نیز هیچ آزمون مهارتی اجرا نمی‌شود، درحالی‌که در کشورهای پیشرفته مشارکت در آزمون مهارت الزامی بوده و باید در برنامه

تضمین کیفیت آزمایشگاه وجود داشته باشد. با توجه به این‌که گزارش میزان آفلاتوکسین در محصولات غذایی از جمله پسته، بر صادرات این محصول به اتحادیه اروپا موثر است، درستی نتیجه آزمون آزمایشگاه‌ها در اندازه‌گیری آفلاتوکسین اهمیت ویژه‌ای می‌یابد.

به‌نظر می‌رسد الزام نمودن آزمایشگاه‌ها به مشارکت مستمر در آزمون‌های مهارت، به‌منظور پایش عملکرد و بهبود مداوم آن‌ها، باید در دستور کار ارگان‌های نظارتی و قانونگذار (مانند سازمان ملی استاندارد و سازمان غذا و دارو) قرار گیرد و آزمایشگاه باید برنامه سالانه خود را برای مشارکت در آزمون‌های مهارت تنظیم و مطابق آن اقدام نماید. در همین رابطه مراکز برگزارکننده آزمون‌های مهارت نیز باید تقویت شده و مشارکت بخش خصوصی در این زمینه جلب گردد.

سیاسگزاری

نویسندگان این مقاله از همکاری سازمان ملی استاندارد، پژوهشگاه استاندارد و شرکت صنعتی زرماکارون، که در اجرای این پروژه کمک و یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند. این مقاله مستخرج از داده‌های پروژه تحقیقاتی با شناسه ۹۸۰۹۵ است.

منابع

- Achaglinkame, M.A., Opoku, N. and Amagloh, F.K. (2018). Aflatoxin contamination in cereals and legumes to reconsider usage as complementary food ingredients for Ghanaian infants: A review. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 10 (2017): 1-7
- Bao, L., Bao, Z., Zhang, Y., Liang C., Lu N., Liu, X. *et al.*, (2009). Aflatoxin testing in peanuts: a proficiency assessment scheme for Chinese analytic laboratories. *Journal of AOAC International*, 92(2): 481-486.
- Belk, W.P. and Sunderman, F.W. (1947). A survey of the accuracy of chemical analyses in clinical laboratories. *American Journal of Clinical Pathology*, 17: 853-861
- Bouten, K., Cubero-Leon, E., Breidbach, A., Mischke, C. and Stroka, J. (2016). Report on the 2016 Proficiency Test of the European Union Reference Laboratory for Mycotoxins for the network of National Reference Laboratories: Determination of aflatoxin B1 in defatted peanut powder, EUR 28740 EN, Publications Office of the European Union, Luxembourg, ISBN 978-92-79-72215-8.
- Christophe, J. A. and Carlier, V. (2002). French Laboratory Proficiency Testing Program for Food Microbiology, *Journal of AOAC International*, 85(4): 952-9
- Commission Regulation (EC), (2006). Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. EC No. 401. Available at: <https://www.europa.eu>
- Herrman, T.J., Hoffmann, V., Muiruri, A. and McCormick, C. (2020). Aflatoxin Proficiency Testing and Control in Kenya. *Journal of Food Protection*, 83 (1): 142-146
- Heyden, Y.V. and Smeyers-Verbeke, J. (2007). Set-up and evaluation of inter-laboratory studies (Review). *Journal of Chromatography A*, 1158: 158-167
- Hsieh, D. and Wong, J.J. (1994). In: Eaton, D.L. and Groopman J.D. (Editors), *Pharmacokinetics and Excretion of Aflatoxins. The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. 1st edition, Academic Press, New York, pp 100-110
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI), (2011). Food and feed stuffs Determination of aflatoxins BandG by HPLC method using immunoaffinity column cleanup-Test method. 1st Revision, ISIRI No. 6872. [In Persian]
- International Organization for Standardization/ International Electrotechnical Commission (ISO/IEC), (2010). Conformity assessment - General requirements for proficiency testing. 1st edition ISO/IEC No. 17043. Available at: <https://www.iso.org/standard/29366>.
- International Organization for Standardization/ International Electrotechnical Commission (ISO/IEC), (2017). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. 3rd edition. ISO/IEC No. 17025. Available at: <https://www.iso.org/standard/66921>.
- International Organization for Standardization/ International Electrotechnical Commission (ISO/IEC) (2022). Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. 3rd edition. ISO/IEC No. 13528. Available at: <https://www.iso.org/standard/78879>.
- Jarvis, B. (2014). Proficiency Testing Schemes - A European Perspective. In: Batt, C.A., Tortorello, M.L. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*, vol 3. Elsevier Ltd, Academic Press, pp. 226-231
- Key, P.E., Patey, A.L., Rowling, S., Wilbourn, A. and Worner, F.M. (1997). International proficiency testing of analytical laboratories for foods and feeds from 1990 to 1996: The experiences of the United Kingdom food analysis performance assessment scheme. *Journal of AOAC International*, 80: 895-899
- Liu, J., Sun, L., Zhang, N., Zhang, J., Guo, J., Li, C. and *et al.*, (2016). Effects of nutrients in substrates of different grains on aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. *BioMed Research International*, 2016:1-10

- Massih, A. M., Planchon, V., Polet, M., Dierick, K. and Mahillon, J. (2016). Analytical performances of food microbiology laboratories - critical analysis of 7 years of proficiency testing results. *Journal of Applied Microbiology*, 120(2): 346-54
- Medina-Pastor, P., Fernández-Alba, A. R., Andersson, A. and Rodríguez, C. (2010). European Commission proficiency tests for pesticide residues in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry*, 29: 70-83
- Sunderman, F.W. (1992). The history of proficiency testing/quality control. *Clinical Chemistry*, 38: 1205-1209
- Vongbuddhapitak, A., Trucksess, M.W., Atisook, K., Suprasert, D. and Horwitz, W. (1992). Laboratory proficiency testing of aflatoxins in corn and peanuts--a cooperative project between Thailand and the United States. *Journal of AOAC International*, 82(2): 259-263.
- Weigert, P., Gilbert, J., Patey, A.L., Key, P., Wood, R. and Barylko-Pikielna, N. (1997). Analytical quality assurance for the WHO GEMS/Food-EURO programme - results of 1993/94 laboratory proficiency testing. *Food Additives and Contaminants*, 14: 399-410