INSO
20293
1st Edition
2020
Identical with
ISO 22117 :2019

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران
Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۲۰۲۹۳
چاپ اول
۱۳۹۹

میکروبیولوژی زنجیره غذایی – الزامات ویژه و راهنمایی برای آزمون مهارت از طریق مقایسه بین آزمایشگاهی

Microbiology of the food chain - Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison

ICS: 07.100.20

استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۲۰۲۹۳ (چاپ اول): ۱۳۹۹

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران،ضلع جنوب‌غربی میدان ونک،خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق‌پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن:۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱(۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴(۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.org.gov.ir

وبگاه: http://www.isiri.gov.ir

Iranian National Standardization Organization (INSO)

No.2592 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.org.gov.ir

Website: http://www.isiri.gov.ir

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفهٔ تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استانداردملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد(ISO)[1]،کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی(OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی(CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت میکند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization
2- International Electrotechnical Commission
3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
4- Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«میکروبیولوژی زنجیره غذایی – الزامات ویژه و راهنمایی برای آزمون مهارت از طریق مقایسه بین آزمایشگاهی»

رئیس:	**سمت و/یا محل اشتغال:**
رحیمی‌فرد، ناهید (دکتری تخصصی میکروبیولوژی)	وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی – سازمان غذا و دارو- اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا و دارو
دبیر:	
اطهری‌نیا، معصومه (دکتری تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی)	پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی
اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
ابراهیمی، بهاره (دکترای حرفه‌ای DBA)	شرکت پارس مینو (سهامی عام)
ابراهیمی امام، غلامحسن (کارشناسی صنایع غذایی)	کارشناس استاندارد- بازنشسته سازمان ملی استاندارد
باقری، مهناز (کارشناسی ارشد شیمی)	سازمان ملی استاندارد- مرکز ملی تائید صلاحیت
جابری، احمد رضا (دکتری دامپزشکی)	سازمان دامپزشکی کشور- مرکز ملی آزمایشگاه‌های مرجع
حسین زاده، آمنه (کارشناسی ارشد صنایع غذایی)	گروه صنایع غذایی شیرین عسل
خضری، محمد (دکتری دامپزشکی)	وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی – سازمان غذا و دارو- اداره کل آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو مشهد
داورزنی، ساره (دکتری تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی)	پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	**سمت و/یا محل اشتغال:**
دهناد، حمیدرضا (کارشناسی مهندسی صنایع)	شرکت پیشگامان کیفیت پاسارگاد
شهرودی، نرگس (کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی)	پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده سیستم های مدیریت کیفیت
صمیعی، بیتا (کارشناسی ارشد بیوشیمی)	اداره کل استاندارد استان تهران
عرب‌وند، امیر حسین (کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)	شرکت راما مهر آریا
غلامی، سپیده (کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی)	شرکت پارس مینو (سهامی عام)
غلامی نژاد، پریا (کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)	شرکت آموزشی تحقیقاتی مرجعان خاتم
قاضی خانی، مرتضی (کارشناسی ارشد شیمی)	مرکز فنون آزمایشگاهی خاورمیانه
کهن نیا، ناصر (دکتری تخصصی علوم و صنایع غذایی)	گروه تولیدی مهرام (سهامی عام)
نوذری، فرناز (کارشناسی ارشد صنایع غذایی)	شرکت لبنیات پاستوریزه پاک (سهامی عام)
هاشمی شاد، الهام (کارشناسی ارشد مهندسی برق)	پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده سیستم‌های مدیریت کیفیت
یمینی، سپهر (کارشناسی ارشد مهندسی مواد)	مرکز فنون آزمایشگاهی خاورمیانه

ویراستار:	
مهرپور، رامش (کارشناسی صنایع، کنترل کیفیت و استاندارد)	پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
پیش‌گفتار	ز
مقدمه	ح
۱ هدف و دامنه کاربرد	۱
۲ مراجع الزامی	۱
۳ اصطلاحات و تعاریف	۲
۴ هدف و الگوی طرح	۴
۵ الزامات فنی و راهنمایی در مورد طراحی و محتوای نمونه	۶
۶ تصدیق نمونه توسط مجری	۹
۷ مدیریت رفتار با نمونه	۱۴
۸ ارزیابی‌های عملکرد	۱۵
پیوست الف (آگاهی دهنده) نمونه‌ای از جزئیات گنجانده شده در یک طرح الگو PT	۳۲
پیوست ب (آگاهی دهنده) آماده‌سازی سوسپانسیون‌های اسپور قارچی	۳۴
پیوست پ (آگاهی دهنده) روش‌های آزمون برای تفاوت بین اجزای مواد آزمایشی	۳۶
پیوست ت (آگاهی دهنده) نمونه‌ای از برگ اطلاعات ایمنی	۴۱
پیوست ث (آگاهی دهنده) یک روش عملی برای ارزیابی عملکرد بلندمدت مشارکت‌کنندگان در الگوهای PT با استفاده از روش‌های شمارش	۴۴
کتاب‌نامه	۴۷

پیش‌گفتار

استاندارد «میکروبیولوژی زنجیره غذایی– الزامات ویژه و راهنمایی برای آزمون مهارت از طریق مقایسه بین آزمایشگاهی» که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی به‌عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تهیه و تدوین شده، در پانصد و چهل و یکمین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۱۳۹۹/۵/۱ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوهٔ نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم وخدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهند شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط، مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

این استاندارد ملی بر مبنای پذیرش استاندارد بین‌المللی زیر به‌روش «معادل یکسان» تهیه و تدوین شده و شامل ترجمه تخصصی کامل متن آن به زبان فارسی می‌باشد و معادل یکسان استاندارد بین‌المللی مزبور است:

ISO 22117: 2019, Microbiology of the food chain - Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison

مقدمه

الزامات کلی جهت سازماندهی انواع الگوهای آزمون مهارت[۱] (PT) توسط ISO/CASCO (کمیته ارزیابی انطباق[۲]) در استاندارد ISO/IEC 17043 ارائه شده است. همچنین رهنمودهای کلی توسط اتحادیه بین‌المللی شیمی محض و کاربردی[۳] (IUPAC) در منبع شماره [۱۲] ارائه شده در کتاب‌نامه این استاندارد قابل دسترس می‌باشد. اما ممکن است این توصیه‌ها به‌طور مستقیم برای همه موارد قابل اجرا نباشد و در جائی‌که الگوهای PT سازماندهی شده است، باید به‌طور اختصاصی برای بخش‌های مختلف آزمایشگاهی تفسیر شوند. به همین دلیل برای تعیین معیارهایی برای احراز مجری (و همکاران مربوطه) الگوهای PT آزمایش‌های میکروبیولوژی، به یک سند نیاز است. آن سند به‌خصوص در زمینه الزامات فنی خاص در ارتباط با میکروارگانیسم‌ها مانند همگنی و پایداری نمونه و همچنین در زمینه تفسیر آزمون‌های جستجو و شناسایی که به‌وسیله یک مستند موجود پوشش داده نمی‌شود، کاربرد دارد.

الگوهای PT آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی عمدتاً برای ارزیابی عملکرد بخصوص صحت[۴] (بایاس[۵]) و در بعضی موارد دقت[۶] آزمایش‌های میکروبیولوژی مواد غذایی در آزمایشگاه‌های خاص استفاده می‌شوند.

همچنین از داده‌های الگوهای PT می‌توان در موارد زیر استفاده کرد:

a) ارائه اطلاعات به سازمان‌های مسئول در زمینه تائید آزمایشگاهی در چارچوب نظارت رسمی برای مجوز پایش مستمر؛

b) کمک به اعتباربخشی آزمایشگاه در یک چارچوب کلی مدیریت کیفیت؛

c) اطلاع رسانی این مسئولیت برای کیفیت در آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده به‌عنوان بخشی از عناصر آموزشی ارزیابی کیفیت خارجی صحت (بایاس).

اطلاعات مربوط به الگوهای PT ممکن است در موارد زیر نیز مورد استفاده قرار گیرد:

- شناسایی منابع احتمالی خطاها، به‌خصوص مولفه بایاس عدم قطعیت به منظور بهبود عملکرد؛
- برآورد عدم قطعیت نتایج آزمون همراه با نتایج روزمره برای روش‌های کمّی (شمارش) (به استاندارد ISO/TS 19036 مراجعه کنید) و جستجو و شناسایی برای روش‌های کیفی (جستجو)؛
- نشان دادن صلاحیت کارکنان برای انجام آزمایش میکروبیولوژیکی تخصصی؛
- ارزیابی یا صحه‌گذاری[۷] یک روش مشخص شده با بررسی صحت، دقت و استواری[۸]؛

1- Proficiency testing
2- Commit tee on Conformit y Assessment
3- International Union of Pure and Applied Chemistry
4- Trueness
5- Bias
6- Precision
7- Validation
8- Robustness

- شناسایی تغییرپذیری[1] در نتایج آزمون بین تک تک آزمایشگاه‌ها؛
- تعیین مقدار «هدف» برای میکروارگانیسم موجود در یک ماده به‌منظور ایجاد یک ماده مرجع (به استاندارد ISO 17034 مراجعه کنید).

البته این جنبه‌ها به‌طور اختصاصی در این استاندارد پوشش داده نشده‌اند.

بنابراین می‌توان گفت الگوهای PT جهت تحقق معیارهای خاص و برنامه آزمون (تناوب[2]، تعداد نمونه‌ها، تعداد تکرارها و غیره)، طراحی شده‌اند تا الزامات نوع روش استفاده شده برای فرآورده آزمایش شده و دست‌یابی به سطح کنترل مورد نیاز توسط همه طرفین به‌دست آید.

1- Variability
2- Frequency

میکروبیولوژی زنجیره غذایی – الزامات ویژه و راهنمایی برای آزمون مهارت از طریق مقایسه بین آزمایشگاهی

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد تعیین الزامات و راهنماهایی برای سازماندهی الگوهای آزمون مهارت (PT) جهت آزمایش‌های میکروبیولوژی می‌باشد. این استاندارد در موارد زیر کاربرد دارد:

a) غذاها و نوشیدنی‌ها؛

b) خوراک دام؛

c) نمونه‌های محیطی از تولید و مدیریت رفتار با نمونه[1] مواد غذایی و خوراک دام؛

d) نمونه‌های مراحل تولید اولیه.

این استاندارد همچنین برای آزمایش میکروبیولوژی آبی که در تولید مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد یا در قوانین ملی به‌عنوان یک ماده غذایی در نظر گرفته می‌شود نیز، کاربرد دارد.

این استاندارد به سازماندهی فنی و پیاده‌سازی الگوهای PT و همچنین به تحلیل آماری نتایج حاصل از آزمایش‌های میکروبیولوژی مربوط است.

این استاندارد برای استفاده با استانداردهای ISO/IEC 17043 و ISO 13528 طراحی شده است و تنها با موضوعاتی سر و کار دارد که در آن‌ها جزئیات خاص یا بیشتری مربوط به الگوهای PT مربوط به آزمایش‌های میکروبیولوژی موضوعات مشخص شده در دامنه کاربرد ضروری دانسته می‌شود.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی به آنها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می شود. درصورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدید نظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آنها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آنها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

1- Handeling

2-1 ISO 3534-1, Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: General statistical terms and terms used in probability

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱-۹۴۰: ۱۳۷۱، واژه‌ها و نمادهای آماری، قسمت ۱- واژه‌های عمومی آمار

2-2 ISO 3534-2, Statistics - Vocabulary and symbols - Part 2: Applied statistics

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۲-۹۴۰: ۱۳۶۳، واژه ها و نمادهای آماری، قسمت ۲- واژه های نمونه گیری و کنترل فرآیند

2-3 ISO 5725-1, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and def initions

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱-۷۴۴۲ : ۱۳۸۳، درستی (صحت و دقت) روشها و نتایج اندازه گیری - بخش ۱: اصول و تعاریف عمومی، با استفاده از استاندارد ISO 5725-1 تدوین شده است.

2-4 ISO 13528:2015, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۲۸۳: ۱۳۹۶، روش های آماری برای کاربرد در آزمون مهارت از طریق مقایسه مهارت با مقایسه بین میان آزمایشگاهی، با استفاده از استاندارد ISO 13528:2015 تدوین شده است.

2-5 ISO/IEC 17043:2010, Conformit y assessment - General requirements for proficiency testing

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۰۴۳: ۱۳۹۳، ارزیابی انطباق - الزامات عمومی آزمون مهارت، با استفاده از استاندارد ISO/IEC 17043:2010 تدوین شده است.

۳ اصطلاحات و تعاریف

اصطلاحات و تعاریف ارائه شده در استانداردهای ISO 3534-1، ISO 3534-2، ISO 5725-1، ISO 13528، ISO/ IEC 17043 و موارد زیر در راستای اهداف این استاندارد مورد استفاده قرار می‌گیرند.

یادآوری ۱- برخی اصطلاحات به‌کار رفته در متن، معانی متفاوتی در میکروبیولوژی و آمار دارند برای مثال: می‌توان به کلمات homogeneity, heterogeneity, test, sample, distribution اشاره کرد. متن مشخص می‌کند که این اصطلاحات به نمونه‌های آزمون میکروبیولوژی اشاره دارند یا در مورد مجموعه داده‌های تجزیه و تحلیل آماری می‌باشند.

یادآوری ۲- برخی از مجریان آزمون مهارت از اصطلاح «ارزیابی کیفیت خارجی[1]» (EQA) برای نشان دادن طرح‌های دارای کاربرد گسترده‌تر در همه زمینه‌های کار آزمایشگاه و مأموریت آموزشی خاص بهره می‌گیرند. الزامات این استاندارد شامل آن دسته از فعالیت‌های EQA می باشد که تعریف آزمون مهارت را محقق می‌کنند.

1- External quality assessment

۳-۱

ارگانیسم هدف

target organism

میکروارگانیسمی که به‌عنوان آنالیت[1] تعیین شده برای نمونه آزمون مهارت در نظر گرفته می‌شود.

۳-۲

فلور زمینه

background flora

میکروارگانیسم‌های موجود در یک نمونه آزمون مهارت که به‌طور طبیعی وجود دارند یا می‌توانند برای رقابت با یا تقلید از میکروارگانیسم هدف معرفی شوند.

۳-۳

ماتریکس

matrix

تمام اجزای نمونه

[منبع: استاندارد ISO 16140-1: 2016، 2.38 ، اصلاح شده - در اصطلاحات، «(فرآورده)» حذف شده است.]

۳-۴

سویه مرجع

reference strain

میکروارگانیسم به‌دست آمده به‌صورت مستقیم از یک کلکسیون کشت رسمی یا آزمایشگاه مرجع و تعیین شده با حداقل سطح جنس و گونه‌ها، فهرست بندی و توضیح داده شده طبق ویژگی‌های خود و ترجیحاً از مواد غذایی، مناطق تولید مواد غذایی، مراحل اولیه تولید، حیوانات یا آب طبق کاربرد، به‌دست آمده است.

[منبع: زیربند ۳-۴-۲ استاندارد ISO 11133: 2014، اصلاح شده – در اصطلاحات، عبارت «یک کلکسیون کشت رسمی یا آزمایشگاه مرجع» جایگزین «کلکسیون کشت مرجع، یعنی یک کلکسیون کشت که عضو فدراسیون جهانی کلکسیون‌های کشت[2] (WFCC) یا سازمان کشت اروپا[3] (ECCO) است و عبارت «مناطق تولید مواد غذایی، مراحل تولید اولیه، حیوانات» جایگزین «خوراک دام، محیط تولید غذا یا خوراک» شده است.]

1- Analyte
2- World Federation of Culture Collections
3- European Culture Collections' Organisation

۵-۳

درصد بازیابی

recovery percentage

نسبت مقدار تخصیص‌یافته ارگانیسم هدف (طبق زیربند ۳-۱) بازیابی شده توسط مشارکت‌کننده.

یادآوری ۱- درصد بازیابی با ضرب تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی (cfu) بازیابی شده در هر حجم یا در هر جرم در ۱۰۰ و تقسیم بر مقدار تخصیص‌یافته محاسبه می‌شود.

یادآوری ۲- هنگامی‌که میکروفلور رقابتی و اثرات ماتریکس در نمونه آزمون مهارت وجود داشته باشد درصد بازیابی ممکن است به‌طور معنی‌داری کمتر از ٪۱۰۰ باشد.

۴ هدف و الگوی طرح

۴-۱ کلیات

الزامات کلی برای تدوین الگوهای PT در استاندارد ISO/IEC 17043 ارائه شده است. این بند در مورد این اصول کلی، حوزه‌هایی که نیاز به توجه خاص برای الگوهای PT میکروبیولوژی دارند را مورد بحث قرار می‌دهد.

۴-۲ اهداف الگو

هدف اولیه هر الگوی PT تهیه اطلاعاتی است که آزمایشگاه‌ها بتوانند از اعتبار نتایج خود اطمینان داشته باشند. الزامات دقیق برای طرح مستند الگوی PT در زیربند ۴-۴-۱-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010، ارائه شده است و این طرح همچنین بهتر است شامل مرجعی برای هر قانون مربوطه باشد. نمونه‌ای از یک طرح برای یک الگوی آزمایش میکروبیولوژی مواد غذایی در پیوست الف ارائه شده است.

مطالعات مورد نیاز برای استقرار الگوی جدید PT گسترده می‌باشند و باید به روشنی در اهداف الگو تعیین شوند. توصیه می‌شود این موارد حداقل الزامات فهرست شده در بند ۵ را شامل شوند. الزامات برای بررسی دوره‌های جداگانه آزمون‌ها، از جمله آزمون همگنی و پایداری نیز بهتر است در زمینه طراحی الگو مقرر شده و برای اهداف الگو مناسب باشد.

۴-۳ الزامات آزمایشگاهی برای الگوها

الزامات کلی برای تسهیلات آزمایشگاهی مناسب برای به‌کار بردن تمام جنبه‌های الگوهای PT در زیربند ۴-۳-۱ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010، ارائه شده است و الزامات ایمنی در زیربند ۴-۶-۲-۴ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 بیان شده است.

در مورد الگوهای میکروبیولوژی، مجریان باید خط مشی مستند شده‌ای داشته باشند تا مشارکت‌کنندگان را از خطرات آگاه کنند و اطمینان حاصل کنند که توصیه‌های مربوط به ایمنی ارائه شده است. (به بند ۷ مراجعه

کنید). برای مثال: آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی مواد غذایی باید تسهیلاتی برای مقابله با میکروارگانیسم‌های دارای سطح ایمنی زیستی ۱ و ۲ داشته باشند (به استاندارد ISO 7218 مراجعه کنید).

۴-۴ انتخاب ماتریکس آزمون

الزامات کلی برای مستندسازی ماتریکس آزمون در طرح الگو در زیربند ۴-۴-۱-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 در ارائه شده است و انتخاب ماتریکس برای انعکاس انواع نمونه روتین در زیربند ۴-۴-۲-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 ارائه شده است.

بهتر است دلایل انتخاب نوع ماتریکس بیان شود (برای مثال برای فراهم آوردن سطوح پایداری و همگنی نمونه که برای هدف در نظر گرفته شده در این الگو مناسب هستند).

در توضیح آیتم[1] باید ماتریکس نمونه مشخص شود (طبیعی یا شبیه سازی شده)؛ به‌طور مصنوعی و/ یا طبیعی آلوده شده باشد؛ منبع و کشور مبداء برای مطابقت با مقررات بین‌المللی حمل و نقل؛ و هر روش نگهداری مورد استفاده (برای مثال: خشک‌کردن انجمادی[2] و خشک کردن با هوا[3]).

۴-۵ اطلاعاتی در مورد روش‌های آزمون استفاده شده توسط مجری PT

الزامات کلی مربوط به روش‌های مورد استفاده توسط مجری PT در زیربند ۴-۴-۱-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 ارائه شده است.

چنانچه الگو یک یا چند آزمون مشخص شده یا الزام شده در قانون را هدف قرار دهد، آزمون‌های روتین کنترل کیفیت روی نمونه‌های الگو (برای مثال: همگنی و پایداری) باید طبق روش‌های مقرر در آن قانون انجام شود و باید بیان شده باشد (زیربند ۴-۵-۱ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010).

مشارکت‌کنندگان باید تشویق شوند از روش‌های معمول خود استفاده کنند، مگر جایی‌که آنها مطابق قانون در حال انجام آزمون باشند، باید تا حدودی از راهنمایی برخوردار شوند، برای مثال: در زمینه ارجاع به روش‌های ISO، متون قانون‌گذاری یا مقالات بررسی شده توسط متخصصان همان رشته (زیربند ۴-۵-۱ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010)

۴-۶ طراحی آماری

الزامات کلی مربوط به طراحی آماری در زیربند ۴-۴-۴ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 ارائه شده است.

1- Items
2- Freeze-dried
3- Air-dried

یک طرح کلی از طراحی آماری الگوهای PT برای میکروبیولوژی باید این نکته را نشان دهد که آزمون‌های آماری مورد استفاده تحت تأثیر سطح همگنی مواد آزمون قرار می‌گیرند که به نوبه خود تحت تأثیر تغییر تصادفی در توزیع میکروارگانیسم‌ها است.

توزیع لگاریتمی نرمال به جز در شمارش‌های پایین، معمولاً در داده‌های آزمون کمّی انتظار می‌رود و روش‌های تحلیل آماری مناسب باید برای چنین داده‌هایی استفاده شود [پیوست ب، زیربند ۳-۱-۴ ردیف ت استاندارد ISO/IEC 17043: 2010]. جایی که شمارش پایین در موارد آزمون کمّی لازم باشد (برای مثال: آزمایش آب یا نوشیدنی)، توزیع پواسون کاربردی‌تر است، زیرا تغییر در تعداد ارگانیسم‌ها بین واحدهای مختلف مواد نسبتاً زیاد می‌شود و می‌تواند تغییرات در عملکرد را پنهان نماید.

همگنی نمونه باید کافی باشد، به‌صورتی‌که تاثیر معنی‌داری در تغییر مشاهده شده بین آزمایشگاه‌ها نداشته باشد.

آزمون‌های شمارش نیمه کمّی و آزمون‌های تشخیص کیفی به روش‌های آماری متفاوتی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها نیاز دارند و در زیربندهای ۸-۳ و ۸-۴ بیشتر مورد بحث قرار گرفته‌اند.

در طرح الگو باید تمایزهای بین آزمون عملکرد برای روش‌های جستجو، شناسایی و روش‌های شمارش (یا تعیین کمیّت ویروس‌ها) میکروارگانیسم‌های هدف شفاف شود.

۵ الزامات فنی و راهنمایی در مورد طراحی و محتوای نمونه

۵-۱ منابع، مشخصات و قابلیت ردیابی ارگانیسم‌ها

مشخصات ارگانیسم‌های هدف باید به‌منظور ارزیابی عملکرد به‌طور قابل اعتماد قبل از استفاده مشخص شود، به‌خصوص در الگوهایی که مشارکت‌کنندگان ممکن است از روش‌های مختلفی استفاده کنند.

ویروس‌های هدف هنگام آزمون با روش‌های مرجع باید نتایج مورد انتظار را به‌دست آورند. انگل‌های هدف را با توجه به اندازه و یا خصوصیات دیگر آن‌ها می‌توان با روش‌های میکروسکوپی یا مولکولی شناسایی کرد.

دو سویه شاخص و غیرشاخص باکتری‌های هدف باید در راستای به چالش کشیدن عملکرد آزمایشگاه مدنظر قرار گیرد و در طرح الگو در نظر گرفته شود.

سویه‌های مرجع شناخته شده از کلکسیون‌های بین‌المللی یا آزمایشگاه‌های مرجع در زمانی‌که برای اهداف طرح مناسب‌ترین گزینه هستند، باید مورد استفاده قرار گیرند؛ البته ایزوله‌های آزمایشگاهی یا سویه‌های به اصطلاح «وحشی» جدا شده از ماتریکس‌های مورد استفاده در الگوهای PT برای انعکاس دقیق‌تر شرایط روتین مفید می‌باشند. در جایی‌که از آن‌ها استفاده می‌شود باید به حد کافی مطابق روش‌های استاندارد بین‌المللی مرجع مناسب متمایز شوند تا اطمینان حاصل شود هرگونه واکنش غیرعادی قبل از استفاده برای مجریان مشخص است.

یادآوری- سویه‌ها، به‌ویژه ایزوله‌های وحشی ممکن است با محیط‌های کشت و محیط سازگار شوند مگر اینکه تعداد کشت‌های مجدد[1] به حداقل برسد.

می‌توان برای تلقیح نمونه‌های در نظر گرفته شده برای شمارش کپک از سوسپانسیون اسپور استفاده کرد، زیرا به بهبود پایداری و همگنی منجر می‌شود. روش تهیه این موارد در پیوست ب بیان شده است.

ارگانیسم‌های مورد استفاده در نمونه‌های الگوی PT بهتر است در همه موارد به منبع مربوطه یا به داده‌های شناسایی معتبر که در اختیار مجریان است، قابل ردیابی باشند.

استفاده از مواد یا کشت‌های مرجع از مجموعه‌های شناخته شده بین‌المللی یا سویه‌های آزمایشگاهی کشت شده، مثلاً الگوهای PT برای ارگانیسم‌های غیرقابل کشت برای مثال: نورویروس‌های انسانی یا انگل‌ها، تحت برخی شرایط امکان‌پذیر نیست. نمونه‌های آلوده شده به‌صورت طبیعی چنانچه موجود باشند ممکن است مورد استفاده قرار گیرند یا از مواد بالینی می‌توان برای آلوده کردن یک ماتریکس آزمایشی یا از طریق غوطه‌وری، پاشیدن یا در مورد حلزون صدف‌دار دوکفه‌ای، از طریق تجمع بیولوژیکی به‌صورت مصنوعی استفاده کرد. روش آلودگی مصنوعی باید تا حد ممکن به مسیر «طبیعی» آلودگی نزدیک باشد. باید هنگام سر و کار داشتن با مواد بالینی انسانی، نمونه‌های مدفوع یا استفراغ دقت بسیار زیادی شود و باید قبل از استفاده، از جنبه عوامل بیماری‌زای اضافی غربال شوند.

در توزیع‌های مورد استفاده برای روش‌های سرولوژیکی یا مولکولی ممکن است لازم نباشد که میکروارگانیسم‌های زنده یا حتی سالم توزیع شود. استفاده از میکروارگانیسم‌های غیرفعال شده، آنتی‌ژن‌های هدف یا توالی‌های اسید نوکلئیک اغلب ایمن‌تر خواهند بود و آن‌ها ممکن است پایدارتر باشند. پایداری چنین موادی بهتر است توسط مجری طرح تعیین شود و توصیه می‌شود اهداف در همه موارد نتایج مورد انتظار را در روش‌های مرجع ارائه نمایند.

۵-۲ سطح غلظت[2] ارگانیسم‌های هدف

ارگانیسم‌های هدف باید در سطوح غلظت مناسب آماده شوند تا مشخص شود روش‌های آزمون برای اهداف، مناسب هستند و منعکس کننده سطح غلظتی باشد که احتمالاً در ماتریکس نمونه مورد آزمون یافت می‌شود (زیربند ۴-۴-۲-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010). در مواقعی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، هدف محسوب می‌شوند، سطوح غلظت‌ها باید غلظت‌هایی را که احتمالاً برای سلامتی انسان ایجاد خطر می‌کند، در نظر بگیرند و در صورت لزوم، محدودیت‌های مشخص شده در معیارهای میکروبیولوژی را بیان کنند.

یادآوری- سطح غلظتی که برای سلامتی انسان خطر ایجاد می‌کند همیشه به‌درستی مشخص نمی‌شود و به حساسیت افراد بستگی دارد. هدف اصلی از آزمایش همه ارگانیسم‌های بیماری‌زا (باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها) جلوگیری از بیماری و همچنین تشخیص باکتری‌های بیماری‌زا در سطح غلظت بسیار پایین می‌باشد، قبل از این‌که بتوانند به یک سطح غلظت بالاتر رشد کنند.

1- Passages
2- level

سطح غلظت هدف در روش‌های کمّی (شمارش) باید با سطح غلظتی که معمولاً در ماتریکس‌های نمونه مورد استفاده دیده می‌شود، تناسب داشته باشد. سطح غلظت هدف همچنین گاهی به‌منظور به چالش کشیدن عملکرد مشارکت‌کنندگان در محدوده قابل استفاده روش، بهتر است به حد تعیین مقدار روش‌های جاری نزدیک باشد. با این حال، توصیه می‌شود نمونه‌ها با سطح غلظت بسیار پایین ارگانیسم برای مشارکت‌کنندگان ارسال نشوند که در هنگام استفاده از روش‌های معمول و رقیق‌سازی، میانگین تعداد ارگانیسم‌های موجود در یک نمونه کمتر از ۱۰ کلنی در هر پلیت یا کمتر از MPN/g ۱ باشد (کمتر از MPN/g ۱۰۰ برای نرم‌تنان دوکفه‌ای).

در روش‌های کیفی معمول (جستجو و شناسایی) سطح غلظت باکتری هدف باید به اندازه کافی در حدّ پایین باشد تا چالش معتبری از روش‌های آزمون فراهم سازد و و داده‌های صحه‌گذاری برای معیارهای عملکردی یا تصدیق حدود جستجو و شناسایی را برای هرکدام از آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده ارائه کند.

۵-۳ ارگانیسم‌های غیرهدف و مداخله‌گرها

کل میکروفلور نمونه‌های PT که به‌صورت طبیعی و یا مصنوعی آلوده شده‌اند، معمولاً برای ارزیابی توانایی مشارکت‌کنندگان جهت جستجو، شناسایی و/ یا شمارش باکتری‌های هدف در حضور فلور پس زمینه انتخاب می‌شوند. این فلور پس زمینه می‌تواند شامل سویه‌های غیرهدف معمولی برای ماتریکس نمونه و ارگانیسم‌های هدف احتمالی باشند که بدون آزمایش‌های تأییدی مناسب احتمالاً منجر به نتایج مثبت کاذب می‌شود. البته الگوهای اساسی در نظر گرفته شده برای اهداف خاص ممکن است نمونه‌هایی را فراهم نمایند که فقط دارای باکتری‌های هدف هستند.

هر سویه افزوده شده به ماتریکس‌ها جهت شبیه‌سازی فلور پس زمینه باید با الزامات زیربند ۵-۱ از نظر مشخصات و قابلیت ردیابی مطابقت داشته باشد.

قبل از استفاده از چنین نمونه‌هایی، اثرات ناسازگار فلور پس زمینه نمونه‌های آلوده شده به‌طور مصنوعی روی باکتری‌های هدف (برای مثال: مهارکنندگی یا سایر دخالت‌ها) تعیین شود.

۵-۴ انتخاب و تاثیرات ماتریکس

تمام ماتریکس‌ها باید قبل از استفاده جهت بررسی هر تأثیری روی هدف اسپایک شده و فلور پس زمینه ارزیابی شوند، برای مثال مشخص شود که آیا ماتریکس درصد بازیابی ارگانیسم‌های اسپایک شده را کاهش می‌دهد. ممکن است ارائه اطلاعات برای مشارکت‌کنندگان در مورد ماتریکس‌های غذایی دارای تاثیر مضر روی بازیابی میکروارگانیسم‌ها (برای مثال: موادی که سلول‌ها را می‌چسباند و نگه می‌دارد مانند مواد چربی) یا دارای ویژگی‌های ضد باکتری[1] یا مهارکننده باکتری[2] مفید باشد.

1- Bactericidal
2- Bacteriostatic

روش‌های اجرایی آماده‌سازی مناسب و صحه‌گذاری (یا تصدیق شده) برای نمونه‌های مهارت به‌عنوان اطلاعات برای مشارکت‌کنندگان قرار داده شود.

ماتریکس‌های نمونه مورد استفاده برای الگوهای PT میکروبیولوژی اغلب، اما نه لزوماً، قبل از استفاده سترون می‌شوند. به‌عنوان جایگزین، عدم وجود هدف با روش‌های دیگر (برای مثال: استفاده از منابع خاص ماتریکس) بررسی می‌شود. زمانی که نمونه ماتریکس‌های سترون نشده به صورت طبیعی توزیع شده‌اند، مجریان قبل از استفاده باید تأثیر هر میکروفلور پس زمینه بر روی ارگانیسم‌های هدف را تعیین کنند. همچنین، معمولاً عدم وجود ارگانیسم‌های هدف در نمونه‌های طبیعی چنانچه قرار باشد به صورت مصنوعی اسپایک شده باشند، ضروری است. برای مثال: در یک الگوی PT جهت تشخیص لاروهای انگلی *آنیساکیدا*[1] در فیله‌های ماهی، فقط از فیله‌های ماهی آب شیرین استفاده کنید، زیرا لاروها فقط در ماهی‌های دریایی یافت می‌شوند.

۶ تصدیق[2] نمونه توسط مجری

۶-۱ کلیات

الزامات کلی برای تصدیق نمونه در استانداردهای ISO/IEC 17043 و ISO 13528 ارائه شده است. این بند الزامات خاص و هر موضوع خاص را برای آزمون همگنی و پایداری در مواد دارای میکروارگانیسم زنده به تفصیل شرح می‌دهد.

۶-۲ آزمون همگنی نمونه - ملاحظات کلی

به زیر بند ۴-۴-۳ و پیوست ب -۵ ISO/IEC 17043: 2010 مراجعه نمایید.

آزمون‌های مهارت ممکن است شامل یک آماده‌سازی ماده آزمون فله باشد که سپس به بخش‌های جداگانه تا حد امکان شبیه به یکدیگر برای توزیع بین مشارکت‌کنندگان تقسیم می‌شود. بعنوان جایگزین، آزمایه‌ها را می‌توان برای توزیع بصورت جداگانه تلقیح کرد.

از هر روش آماده‌سازی که استفاده می‌کنید مواد آزمون را از جنبه همگنی معمولاً قبل و همچنین در هنگام آزمون مواد تازه با پایداری کمتر ارزیابی کنید.

آزمون همگنی را بر اساس اصول آماری مربوطه (زیربند ۴-۴-۳-۲ و پیوست ب-۵ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010) در هر بچ از نمونه‌ها را انجام دهید. این نوع آزمون‌ها در استاندارد ISO 13528 یا به عنوان جایگزین در پیوست پ ارائه شده‌اند.

توصیه می‌شود تعداد نمونه‌های آزمون شده از هر بچ برای به‌دست آوردن اطلاعات مداوم در مورد همگنی بچ کافی باشد؛ ۱۰ نمونه (چنانچه مقدور باشد به‌صورت دوتایی آزمایش می‌شوند) پیشنهاد می‌شود.

1- Anisakidae
2- Verification

ماده آزمون که دارای همگنی کمتر از حد کفایت باشد باز هم ممکن است در یک دوره آزمون مهارت استفاده شود (زیربند ۴-۴-۳-۱، یادآوری ۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010) در صورتی‌که از اصول آماری مناسب برای در نظر گرفتن واریانس بین نمونه‌ای بزرگتر استفاده شود (به استاندارد ISO 13528 مراجعه کنید). یک طرح آماری برای چنین موادی شامل تجزیه و تحلیل تکرار چندین نمونه است (به استاندارد ISO 5725-5 مراجعه کنید)، بهتر است برای به حداقل رساندن اثرات کافی نبودن همگنی در ارزیابی عملکرد مشارکت‌کنندگان استفاده شود.

برای جستجوی انگل‌ها، هر ماده آزمون با تعداد مشخصی از ارگانیسم‌ها، اسپایک می‌شود و همگنی با شمارش میکروسکوپی هر نمونه توسط حداقل دو آزمایش‌کننده بررسی می‌شود، زیرا دست‌یابی به توزیع همگنی انگل‌های هدف در مواد فله‌ای دشوار است.

برای روش‌های ویروسی، اصطلاحات باکتری‌شناسی مورد استفاده در زیربندهای ۶-۳ و ۶-۴ ممکن است قابل استفاده نباشد، اما اصول مشابهی برای اطمینان از همگن بودن کافی در نمونه‌های PT توزیع شده اعمال می‌شود.

۶-۳ آزمون همگنی برای نمونه‌های کمّی (شمارش)

الزامات و روش‌های کلی برای آزمون همگنی مواد آزمون مهارت کمّی در زیربند ۴-۴-۳ و پیوست ب -۵ استانداردهای ISO/IEC 17043: 2010 و ISO 13528 ارائه شده‌اند، اما بعضی اوقات ممکن است روش‌های جایگزین برای مواد میکروبیولوژی مورد نیاز باشند.

توصیه می‌شود موادی که نتایج آن‌ها دارای تغییر بین واحد[1] را به حد کافی بزرگ نشان می‌دهد و در ارزیابی عملکرد آزمایشگاه تاثیر قابل توجهی می‌گذارد، در مطالعات بین آزمایشگاهی استفاده نشوند، مگر اینکه از الزامات و روش‌های خاص تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شود (برای مثال: تعداد کم میکروارگانیسم‌ها در آب آشامیدنی و نمونه‌های دیگر).

معیار «به اندازه کافی همگن» با الزامات مقایسه بین آزمایشگاهی مشخص شده است. البته چنانچه انحراف استاندارد بین واحد (تبدیل شده به مقیاس مناسب) کوچکتر یا مساوی σ_{pt} ۰٫۳ باشد، به‌طور کلی یک ماده به اندازه کافی همگن تلقی می‌شود. در اینجا σ_{pt} انحراف استاندارد هدف مورد استفاده برای ارزیابی عملکرد آزمایشگاه‌ها می‌باشد (به استاندارد ISO 13528 مراجعه کنید).

توصیه می‌شود هر آزمون همگنی جایگزین معیارهای زیر را محقق نماید:

a) احتمال رد ماده آزمون دارای همگنی کافی بهتر است، کمتر یا مساوی ٪۵ باشد؛

1- Between-unit

b) احتمال رد ماده آزمون که در آن اختلاف بین واحد σ_{pt} ۱٫۵ است و σ_{pt} اختلاف قابل قبول بین آزمایشگاهی است (توصیف شده به‌عنوان یک انحراف استاندارد هدف)، بیشتر یا مساوی ٪۸۰ است.

احتمال ٪۸۰ رد یک ماده که اختلاف بین واحد در آن σ_{pt} ۱٫۵ است بر اساس مطالعات شبیه‌سازی حاصل از تجزیه و تحلیل تکرار ۱۰ واحد آزمون با استفاده از روشی با انحراف استاندارد تحلیلی σ_{pt} ۰٫۵ (یعنی ۰٫۱۲۵ واحد لگاریتمی) و یک مقدار بحرانی برای T_2 است (به پیوست پ مراجعه کنید) که با معیار a پاراگراف قبلی مطابقت دارد و عددی را نشان می‌دهد که با مقدار منطقی حاصل از اقدامات تجزیه و تحلیل آزمایشگاه چه نتیجه‌ای قابل دست‌یابی می‌باشد.

آزمون‌های همگنی براساس برآوردی از واریانس بین واحد و تحلیلی (تکرارپذیری) به‌دست آمده در شرایط تکرارپذیری پایه‌گذاری شده‌اند. روش‌های مناسب آزمون برای چنین تغییراتی در پیوست پ ارائه شده‌اند.

توصیه می‌شود واریانس تحلیلی (تکرارپذیری) از تجزیه و تحلیل تکرار سوسپانسیون‌های اولیه به‌دست آمده از آزمونه‌ها (به منابع شماره [۱۷] و [۱۸] ارائه شده در کتاب‌نامه مراجعه کنید) تخمین زده شوند. این واریانس تحلیلی را می‌توان با تعداد کلنی‌های شمارش شده و دقت مواد تحلیلی مورد استفاده (به منبع شماره [۱۳] ارائه شده در کتاب‌نامه مراجعه کنید) نیز محاسبه کرد.

واریانس بین واحد در میکروبیولوژی باید در شرایط تکرارپذیری (در یک اجرا) تخمین زده شود. چنانچه این کار امکان‌پذیر نباشد واریانس بین واحد، تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی را شامل می‌شود و شاید منجر به ردشدن اشتباه یک ماده رضایت‌بخش شود.

هنگامی‌که تعداد کلنی‌های شمارش شده به اندازه کافی زیاد باشد (بیش از ۳۵ تا ۴۰ کلنی در هر پلیت)، انحراف استاندارد تحلیلی، σ_{an}، به طور کلی فرمول (۱) را برآورده می‌کند:

$$\frac{\sigma_{an}}{\sigma_{pt}} < 0.5 \qquad (۱)$$

σ_{pt} که در آن انحراف استاندارد هدف می‌باشد.

در این حالت، توصیه می‌شود برای آزمون همگنی کافی که در منبع [۱۴] کتاب‌نامه ارائه شده، استفاده شود (به پیوست پ مراجعه کنید). چنانچه تعداد کلنی‌های شمارش شده کم باشد (کمتر از ۳۵ تا ۴۰ کلنی در هر پلیت)، آزمون T_1 - T_2 توصیه می‌شود (به پیوست پ مراجعه کنید).

هنگامی‌که واحدهای آزمون تکراری برای آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده ارائه می‌شوند، تغییرپذیری بین واحد به‌دست آمده توسط مشارکت‌کنندگان بهتر است توسط مجری به‌منظور ارزیابی همگنی ماده بررسی شود. اگرچه این تغییرپذیری شامل تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی می‌باشد، ولی تعداد بیشتر تکرارها باعث افزایش قدرت آماری تجزیه و تحلیل می‌شود و می‌تواند یک شاخص خوب برای دوره‌های متوالی محسوب شود.

جایی‌که ماده PT دارای تعداد کمی cfu (برای مثال: کمتر از ۲۰) می‌باشد، تغییر بین واحد (یعنی بین نمونه‌های تکرار) باید اندازه‌گیری شود تا مشخص شود که از تغییر تصادفی (پواسون) به منظور ارائه ارزیابی معنی‌دار تجاوز نمی‌کند. توصیه می‌شود شاخص آزمون پراکندگی بر روی n نمونه (جایی که n حداقل ۱۰ می‌باشد) از مقدار X^2_{n-1} در احتمال ۰/۹۵ بیشتر نباشد.

۶-۴ آزمون همگنی برای روش‌های کیفی

اصول مشابه برای آزمون همگنی برای روش‌های کیفی (جستجو و شناسایی) باکتریایی اعمال می‌شود، اما در مواردی که غلظت ارگانیسم‌های هدف کم باشد، توجه خاصی لازم است (به زیربند ۸-۴ مراجعه کنید)

همگن بودن نمونه‌های کیفی برای روش‌های باکتری‌شناسی می‌توان به‌وسیله شمارش اسپایک آزمون کرد. از روش محتمل‌ترین تعداد[1] (MPN) برای غلظت‌های کمتر از cfu/g ۱۰۰ استفاده کنید و از شمارش کلنی برای غلظت‌های cfu/g ۱۰۰و بالاتر به صورت مناسب استفاده می‌شود.

چنانچه شمارش ممکن باشد، آزمون‌های همگنی که به تفصیل در زیربند ۶-۳ توضیح داده شد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد که بستگی به چگونگی آلوده شدن نمونه‌ها به صورت مصنوعی و چگونگی شمارش اسپایک دارد. توصیه می‌شود تعداد نمونه‌های آزمون شده متناسب با تعداد مواد آزمون تولید شده باشد.

این رویکردها می‌تواند با روش‌های مولکولی (به عنوان مثال: تشخیص ویروس‌ها در مواد غذایی) نیز مورد استفاده قرار گیرد. البته چون ممکن است بین مشخصه‌های عملکردی روش‌های کمّی و کیفی برای هدف مشابه تفاوت‌هایی وجود داشته باشد، توصیه می‌شود همگنی نیز با روش کیفی مرجع بررسی شود.

۶-۵ آزمون پایداری توسط مجری

۶-۵-۱ کلیات

نمونه‌هایی که برای PT استفاده می‌شوند باید از پایداری کافی برای تکمیل مطالعه قبل از پایان دوره زمانی مجاز برخوردار باشند (به زیر بند ۴-۴-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 مراجعه کنید).

چنانچه همیشه همان نوع نمونه با همان سویه (های) آزمون استفاده شود فقط انجام یک تصدیق (برای مثال: با بررسی پس از آماده‌سازی و در تاریخ آزمون) در نمونه‌های بعدی کافی است. همچنین بهتر است مجری نتایج به‌دست آمده توسط آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده را جهت بررسی پایداری مواد در طی دوره مجاز برای آزمون بررسی کند.

برای بررسی پایداری در نمونه‌های کیفی دارای سطح غلظت کم، تعدادی از نمونه‌ها (برای مثال: ۱۰ نمونه) را می‌توان در فواصل زمانی مختلف (و در دماهای نگهداری مختلف در صورت نیاز) در طول مدت زمان مطالعه،

1- Most probable number

آزمون کرد. تعداد نمونه‌های مثبت پس از زمان‌های متفاوت نگهداری، اطلاعاتی در مورد پایداری در طول مطالعه را ارائه می‌دهد.

نمونه‌های طبیعی تازه اسپایک شده با ارگانیسم‌های هدف اغلب دارای پایداری نمی‌باشند و همانطور که در زیربند ۶-۵-۳ مورد بحث قرار گرفت، نیاز به توجه خاص دارند.

۶-۵-۲ پایداری در شرایط انبارش

برای نمونه‌های پایداری که همیشه در دماهای پایین (برای مثال: ۷۰°C-، ۲۰°C-، ۵°C+) نگهداری می‌شوند، پایداری با بررسی غلظت ارگانیسم‌ها و همگنی هر بچ در فواصل منظم هنگام انبارش تعیین شود. حداقل دوره برای آزمون پایداری بهتر است زمان بین آماده‌سازی مواد و تاریخ یا مدت زمان مشخص برای آزمون توسط مشارکت‌کنندگان باشد.

تکرار آزمون پایداری بستگی به اطلاعاتی دارد که قبلاً برای بچ‌های نمونه موجود است و کل مدت زمانی که اطلاعات پایداری لازم است. چنانچه کل زمان انبارش فقط دو هفته باشد ممکن است لازم باشد هر دو روز یکبار آزمون شود، اما چنانچه انبارش به مدت یک سال نیاز باشد ممکن است آزمون ماهانه کافی باشد. توصیه می‌شود برای بچ‌های بزرگ نمونه، حداقل سه نمونه در هر مورد برای نشان دادن پایداری موجود در کل بچ مورد آزمون قرار گیرد (پیوست ب استاندارد ISO 13528: 2015). در جایی‌که آزمون که مورد استفاده قرار گیرد باید توسط مجریان الگو به صورت قابل قبول توجیه شده و صحه‌گذاری شود.

۶-۵-۳ پایداری در شرایط حمل و نقل

علاوه بر اطلاعات مربوط به پایداری در مدت انبارش که در طی مطالعات صحه‌گذاری برای یک طرح جدید جمع‌آوری شده، آزمون تاثیر «شرایط بد[1]» بر روی نمونه‌ها نیز حائز اهمیت است؛ برای مثال: زمان حمل و نقل طولانی در دماهای بالارونده (به زیربند ۴-۶-۳-۲ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 مراجعه کنید).

ابتدا یک آزمون پایداری را با استفاده از دماهای مختلف برای منعکس کردن «بدترین حالت[2]» شرایط حمل و نقل و حداکثر تاخیرهای مورد انتظار جهت آزمون اثرات نامطلوب بر نمونه‌های آزمون، انجام دهید. برای مثال: نمونه‌های یک بچ در دمای انبارش مشخص (برای مثال: ۲۰°C-)، و همچنین در دماهای ۵°C+، ۱۵°C+ و ۲۵°C+ نگهداری شده‌اند. هر روز، ۵ نمونه در هر دمایی که انبارش شده است، برای یک دوره کامل به مدت یک یا دو هفته مورد آزمون و تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند.

1- abuse conditions
2- worst case

توصیه می‌شود مطالعات پایداری برای نمونه‌هایی که با استفاده از ماتریکس‌های طبیعی تهیه شدند برای هر ماتریکس و ترکیب میکروارگانیسم هدف انجام شده باشد، زیرا حتی تغییرات جزئی در ماتریکس یا هدف می‌تواند بر پایداری نمونه در هنگام توزیع (برای مثال: گونه‌های مختلف نرم‌تنان دوکفه‌ای) تأثیر بگذارد.

طراحی چنین آزمون‌های پایداری متغیر است، اما بهتر است برای به‌دست آوردن اطلاعاتی در مورد تأثیر دماهای مختلف انبارش روی نمونه‌ها و تعیین حد مجاز دمایی بالاتر جهت دریافت توسط آزمایشگاه مناسب باشد.

از اطلاعات به‌دست آمده می‌توان برای انتخاب شرایط توزیع بهینه برای نمونه‌های الگو استفاده کرد، برای مثال در جایی‌که خنک کردن نمونه‌ها در حین حمل و نقل با استفاده از بسته‌های یخ یا یخ خشک لازم است، یا جایی‌که توزیع در دمای محیط قابل قبول است.

برای توزیع‌های دارای دمای بحرانی که به سردسازی کنترل شده با معیارهای پذیرش دقیق نمونه نیاز دارند، مانند الگوهایی در حمایت از آزمون قانونی برای *اشریشیا کلی* در حلزون صدف‌دار دو کفه‌ای، قرار دادن ثبّات[1] دمای جداگانه در هر بسته برای ثبت دمای نمونه در حمل و نقل توصیه می‌شود. بررسی داده‌های دما می‌تواند مجری الگو را به شفاف‌سازی نتایج غیرعادی برگردانده شده توسط مشارکت‌کنندگان قادر نماید.

۷ مدیریت رفتار با نمونه[2]

۷-۱ کلیات

الزامات کلی مدیریت رفتار با نمونه نمونه در زیربندهای ۴-۶-۱ و ۴-۶-۲ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 شرح داده شده است و فقط اطلاعات اضافی مربوط به نمونه‌های میکروبیولوژی در این بند ارائه می‌شود.

۷-۲ دستورالعمل‌هایی برای مشارکت‌کنندگان

برای هر مطالعه، هر آزمایشگاه مشارکت‌کننده باید مجموعه مشخصی از دستورالعمل‌ها را دریافت کند که موضوعات زیر را تحت پوشش قرار می‌دهند:

a) شرایط انبارش برای انواع مختلف نمونه‌ها، به خصوص اطلاعات مربوط به دمای انبارش بهتر است بیرون بسته‌بندی مخصوص حمل و نقل به طور واضح نوشته شود؛

b) حداکثر دمای نمونه‌ها در هنگام دریافت در آزمایشگاه مشارکت‌کننده، در صورت لزوم؛

c) دستورالعمل‌هایی در مورد نحوه مدیریت رفتار با نمونه‌ها؛ در صورت نیاز به بازسازی، رقیق‌سازی یا فرآوری دیگر نمونه‌ها، توصیه می‌شود این کار به طور واضح برای هر مجموعه و هر نوع نمونه شرح داده شود؛

1-Loggers
2 -Handeling

d) توصیه می‌شود برگه‌های داده‌های ایمنی مناسب (به مقررات ملی، منطقه‌ای یا بین‌المللی مراجعه شود)، برای هر توزیع درج شود (نمونه‌ای از جزئیات مورد نیاز در پیوست ت آورده شده است)؛

e) سایر دستورالعمل‌های تکمیلی مانند:

۱) آخرین تاریخ‌ها برای انجام آزمون‌ها و ارسال نتایج به مجریان،

۲) روش (های) آزمون (تعیین شده یا به انتخاب مشارکت‌کننده، در صورت لزوم)،

۳) نحوه گزارش نتایج به مجریان، به‌ویژه یکای اندازه‌گیری، و

۴) چنانچه مجریان جزئیات مواد، روش‌ها، شرایط گرمخانه‌گذاری، تاریخ و زمان آزمون و غیره را به صورت گزارش مستند درخواست کنند، بهتر است دستورالعمل‌هایی را برای تکمیل چنین برگه‌هایی ارائه دهند.

دستورالعمل‌ها ممکن است به صورت کپی با نمونه‌ها ارسال شود و یا به صورت الکترونیکی، برای مثال: در وب سایت الگو در دسترس باشد.

۸ ارزیابی‌های عملکرد

۸-۱ کلیات

هرجا که ممکن باشد، اصول آماری که برای ارزیابی عملکرد در الگوهای PT مورد استفاده قرار می‌گیرد، بهتر است مبتنی بر مواردی باشد که در استانداردها از قبیل زیربند ۴-۷ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 و استاندارد ISO 13528 ارائه شده است. با وجود این، الگوهای PT میکروبیولوژی می‌توانند از روش‌های اجرایی دیگری که متفاوت از انواع مرسوم در بخش‌های دیگر است استفاده کنند، در صورتی‌که با الگوهای خاص خودشان تناسب داشته باشد و استواری این روش‌های اجرایی در مورد داده‌های پرت مشخص باشد. (برای مثال: به منبع شماره [۲۱] ارائه شده در کتاب‌نامه در مورد ارزیابی الگوهای PT برای انگل‌ها مراجعه شود).

۸-۲ ملاحظات مقدماتی

PT شامل توزیع منظم مواد آزمایشگاهی به آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده برای آزمون جهت اهداف خاص (در بیشتر موارد میکروارگانیسم‌ها) است. سپس نتایج آزمایش با نتایج سایر مشارکت‌کنندگان مقایسه می‌شود. بنابراین آزمون مهارت یک روش برای آزمون مستقل و مقایسه عملکرد منفرد فراهم می‌کند (به استاندارد ISO/IEC 17043 مراجعه شود).

عملکرد رضایت‌بخش مداوم در دوره‌های آزمون مهارت می‌تواند برای مشارکت‌کنندگان در فرآیندهای آزمایشگاهی، از جمله روش‌های آزمون، آموزش کاربران، تجهیزات، معرف‌ها، روش‌های کنترل کیفیت، تفسیر نتایج و روش‌های گزارش‌دهی، اطمینان مجدد را فراهم کند.

اگرچه نتایج نامطلوب بدین معنی است که عملکرد مشارکت‌کننده به‌طور مجزا در مقایسه با مقدار اجماع ضعیف بوده است که باعث مطرح شدن سوال‌هایی می‌شود. این سوال‌ها عبارتند از: آیا نمونه‌های مورد آزمون

یکسان بودند؟ عملکرد سایر مشارکت‌کنندگان چگونه بود؟ آیا این روش ممکن است نتایج بایاس به همراه داشته باشد؟ و آیا نتایج به درستی تفسیر شده است؟ بنابراین مجریان این الگو بهتر است از سیستم‌های مناسب ارزیابی عملکرد برای کمک به مشارکت‌کنندگان در پاسخ به چنین سؤالاتی استفاده کنند.

روش‌های مختلفی برای تفسیر داده‌ها از PT وجود دارد، اما روش‌های تفسیر عینی مورد نیاز است.

اکثر مشارکت‌کنندگانی که در الگوهای PT میکروبیولوژی مشارکت می‌کنند ممکن است با آمار آشنا نباشند، بنابراین مجریان الگو مسئولیت دارند که ثابت کنند روش‌های به کار گرفته شده جامع می‌باشند.

ملاحظات زیر در مورد اصول آماری موجود باید مورد توجه قرار گیرند:

a) معتبر بودن؛

b) اطلاعات توضیحی برای مشارکت‌کنندگان؛

c) دلایل انتخاب؛

d) مناسب بودن[1] تفسیر داده‌ها.

اطلاعات شفاف و بی‌طرفانه باید به مشارکت‌کنندگان ارائه شود تا امکان خودارزیابی و تفسیر نتایج محیا شود و از مزایای مشارکت حداکثر، استفاده شود.

۸-۳ ارزیابی روش‌های کمّی

۸-۳-۱ کلیات

طراحی آماری برای الگوهای PT روش‌های شمارش میکروبیولوژی تحت تأثیر سطح همگنی مواد آزمون قرار دارد که به نوبه خود تحت تأثیر تغییر تصادفی در توزیع ارگانیسم‌ها است. به‌علاوه احتمالاً تفاوت‌های اساسی در دقت مورد نیاز جهت آزمون میان مشارکت‌کنندگان وجود دارد.

در انتخاب روش آماری، باید عوامل ذکر شده در زیربندهای ۸-۱ و ۸-۲ به همراه سایر ملاحظات مانند تعداد مشارکت‌کنندگان در یک الگوی خاص در نظر گرفته شود. بهتر است پارامترهایی که در تصمیم‌گیری پیرامون انتخاب آزمون آماری جهت تجزیه و تحلیل نتایج تاثیرگذار هستند، بیان شوند. برای مثال: الگوهای تخصصی ممکن است کمتر از ۳۰ مشارکت‌کننده داشته باشند؛ نتایج حاصل از ۳۰ مشارکت‌کننده ممکن است به شیوه‌ای متفاوت از الگوهای بزرگتر برای مثال: بیش از ۱۰۰ مشارکت‌کننده، مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد.

روش انتخاب شده جهت تجزیه و تحلیل آماری نه تنها باید برای تعداد مشارکت‌کنندگان در آزمون، بلکه برای روش استفاده شده نیز مناسب باشد. برای مثال: نتایج آزمون با استفاده از روش‌های شمارش کلنی با روشی

1- Consistency

متفاوت از آزمایش‌هایی تجزیه و تحلیل می‌شود که در آن‌ها تعیین MPN لازم است. به این دلیل که تغییر ذاتی در روش MPN بیشتر از تغییر برای روش‌های شمارش کلنی می‌باشد.

در جایی‌که مشارکت‌کنندگان مجاز به استفاده از روش انتخابی خود می‌باشند، مجری PT باید یک روش تجزیه و تحلیل آماری انتخاب کند که برای این الگو مناسب باشد (به زیربند ۴-۵-۲ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 مراجعه کنید)، اگرچه این‌کار درصورتی‌که روش‌های استفاده شده توسط همه مشارکت‌کنندگان مشخص نباشد، می‌تواند مشکل ساز باشد. یک روش ترجیحی تجزیه و تحلیل، برای مثال: شمارش تعداد کلنی در پلیت، بهتر از MPN می‌تواند در طرح الگو ارائه شود.

در صورت درخواست روش‌های مورد استفاده از طرف مشارکت‌کنندگان، نتایج حاصل از هر روش قابل تفکیک بوده و از نظر آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد، بنابراین هر یک از تاثیرات روش می‌تواند تعیین شود و در گزارش آورده شود.

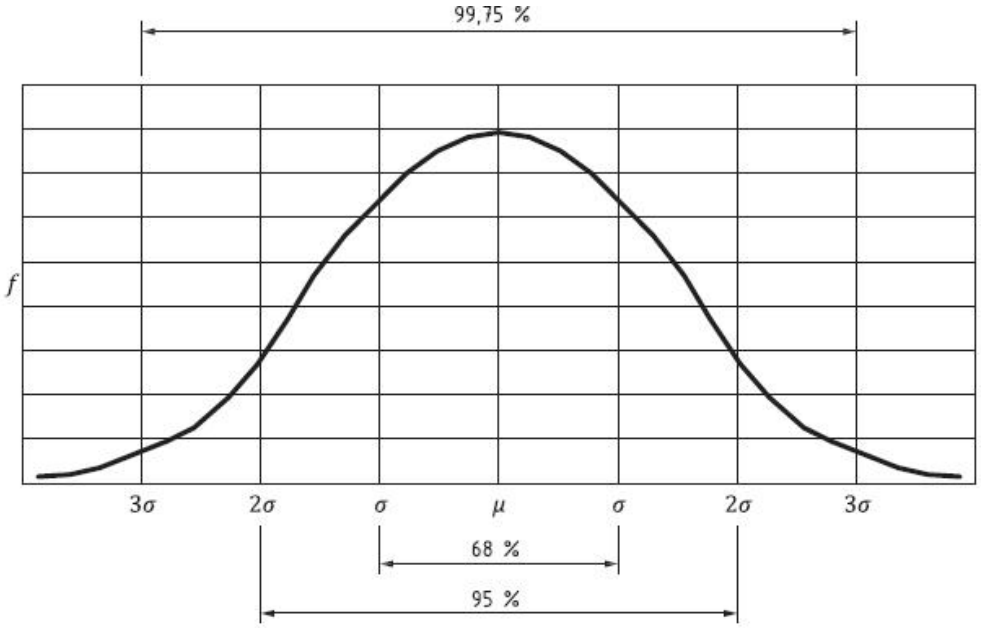
پارامترهای آماری مختلف ممکن است جهت ارزیابی عملکرد مشارکت‌کنندگان برای آزمون‌های مختلف در یک الگوی منفرد مورد نیاز باشد. این مورد باید در اسناد طراحی الگو ذکر شود و معیارهای میکروبیولوژی پذیرفته شده کلی باید در طرح الگو ارجاع داده شوند.

تجزیه و تحلیل‌های آماری مناسب و اختصاص امتیاز به مشارکت‌کنندگان در پیوست ب استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 پوشش داده شده است. چگونگی برخورد با اعداد خارج از محدوده تشخیص[1] برای مثال: نتایج کمتر از cfu ۱۰ یا کمتر از cfu ۱۰۰ در پیوست ث-۲ و در پیوست ث استاندارد ISO 13528: 2015 مورد بحث قرار گرفته است.

۸-۳-۲ توزیع داده‌ها

تکرار شمارش‌های میکروبیولوژی معمولاً از توزیع نرمال لگاریتمی پیروی می‌کنند، بنابراین همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است داده‌ها به لگاریتم اعشاری برای تولید یک منحنی توزیع نرمال زنگوله‌ای[2] تبدیل می‌شوند. البته برای سطوح غلظت پایین ارگانیسم هدف ممکن است از شمارش واقعی استفاده شود یا ممکن است تبدیل ریشه دوم اعمال شود.

1- Censored values
2- Bell-shaped



راهنما

f فراوانی

μ میانگین

σ انحراف استاندارد

شکل ۱- نمودار توزیع نرمال

اگرچه از مواد مشابه برای آزمون استفاده می‌شود، همه نتایج یکسان نیستند، زیرا انتظار می‌رود تغییرات بسیار کوچک مستقلی در طول دستکاری‌های مختلفی که در حین انجام آزمون‌ها وجود دارد، اتفاق افتد.

در PT آزمون‌ها معمولاً تحت شرایط تکرارپذیری یا حتی در شرایط تجدیدپذیری انجام نمی‌شوند. آزمون‌ها توسط کارکنان مختلف، در مکان‌های مختلف آزمایش و در زمان‌های مختلف با استفاده از انواع تجهیزات، محیط‌های کشت، معرف‌ها و روش‌های آزمون انجام می‌شوند، که منجر به تنوع بیشتر می‌شود. این تنوع را می‌توان به صورت شرایط «تجدیدپذیری بسیار زیاد[1]» یا «تجدیدپذیری بیش از حد[2]» توصیف کرد، زیرا اصطلاح تجدیدپذیری معمولاً فقط در شرایطی است که از یک روش واحد استفاده می‌شود.

با وجود چنین تغییراتی در شرایط آزمون، معمولاً یک توزیع نرمال (یا log) نتایج مشاهده می‌شود و توصیه می‌شود اصول آماری متناسب با توزیعات نرمال (یا log) برای تفسیر داده‌ها استفاده شود، در صورتی‌که توزیع تقریباً متقارن و تک‌مدی[3] باشد.

1-Super-reproducibility
2-Over-reproducibility
3-Unimodal

چنانچه توزیع داده‌ها (یا log) نرمال به نظر نمی‌رسد دلایل احتمالی باید ارزیابی شود و داده‌ها با استفاده از آزمون‌های مناسب دیگر تفسیر شوند.

۸-۳-۳ تعیین مقدار تخصیص یافته

هدف از PT نحوه ارزیابی مشارکت‌کنندگان ماهر در رسیدن به نتیجه «حقیقی[1]» است. البته دانستن نتیجه «حقیقی» در بسیاری از الگوهای PT امکان‌پذیر نیست، زیرا بسیاری از آزمونگران ممکن است یک ماده آزمون یکسان را آزمایش کنند و همگی نتیجه اندکی متفاوت را منعکس کنند.

در عوض بهتر است برآوردی از نتیجه «حقیقی» یا «واقعی» انجام شود و به این کار «مقدار تخصیص یافته[2]» گفته می‌شود. مقدار تخصیص‌یافته همانطورکه در پیوست ب-۲ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 و استاندارد ISO 13528 شرح داده شده است ممکن است از چند روش مشخص شود.

متداول‌ترین روش برای الگوهای PT میکروبیولوژی، مقادیر توافق شده حاصل شده از نتایج آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده است. مقدار تخصیص یافته از میانگین استوار، میانه یا مد نتایج همه مشارکت‌کنندگان تعیین می‌شود. استفاده از روش‌های استوار برای به حداقل رساندن تأثیر داده‌های پرت می‌باشد، به‌صورتی‌که لازم نیست چنین نتایجی از داده‌ها مستثنا شوند زیرا شناسایی داده‌های پرت «واقعی» ممکن است دشوار باشد. هر سنجش براساس اجماع (میانگین استوار، میانه یا مد) یک عدم قطعیت وابسته[3] دارد.

مقدار تخصیص یافته (حاصل از اجماع) نسبت به سایر روش‌ها دارای عدم قطعیت بالاتری است، اما در هنگام ارزیابی عملکرد مورد توجه قرار می‌گیرد. مقدار تخصیص یافته منصفانه به نظر می‌رسد، زیرا نتایج همه مشارکت‌کنندگان در محاسبه شرکت داده می‌شوند.

چنانچه یک میانه کلی پایین در جایی که مقادیر تخصیص یافته از اجماع مشارکت‌کننده تعیین می‌شود، تولید شود (برای مثال: به دلیل اینکه تعداد زیادی از مشارکت‌کنندگان در جداسازی یا شناسایی یک ارگانیسم خاص مشکل داشتند) توصیه می‌شود مجریان الگو بر این اساس نظر دهند، به‌صورتی‌که عملکرد مشارکت‌کنندگانی که نتایج آن‌ها مؤثر نبوده به درستی قضاوت شود.

توزیع‌های با انحراف بالا در صورت استفاده از روش‌های مختلف توسط مشارکت‌کنندگان ممکن است حاصل شوند. در چنین مواردی، مجری الگو باید تاثیرات روش‌های مورد استفاده را مورد توجه قرار دهد.

۸-۳-۴ عدم قطعیت مقدار تخصیص یافته

مقدار تخصیص یافته بهترین تخمین از مقدار واقعی را نشان می‌دهد. این مقدار تخصیص یافته عدم قطعیت استانداردی دارد که نشان‌دهنده سطح اطمینان در این تخمین است. چنانچه عدم قطعیت استاندارد مقدار

1- Correct
2- Assigned value
3- Associated uncertainty

تخصیص یافته در مقایسه با انحراف استاندارد دوره آزمون خیلی زیاد باشد، به بعضی از مشارکت‌کنندگان ارزیابی‌های هشدار[1] و اقدام داده می‌شود (به زیربند ۸-۳-۶-۱ مراجعه شود) نه به دلیل عملکرد آن‌ها بلکه به دلیل عدم قطعیت زیاد مقدار تخصیص یافته.

بنابراین توصیه می‌شود معیارهای قابلیت پذیرش یک مقدار تخصیص یافته از نظر عدم قطعیت آن تعیین شود. برخی روش‌ها برای تخمین این عدم قطعیت و تعیین قابلیت پذیرش در دسترس هستند و در استاندارد ISO 13528 شرح داده شده است.

۸-۳-۵ روش‌های ارزیابی عملکرد

مجری الگو PT باید مقدار تخصیص‌یافته را تعیین کرده و ارزیابی کند نتایج هر یک از مشارکت‌کنندگان چه میزان از این مقدار تخصیص‌یافته در مقایسه با نتایج سایر مشارکت‌کنندگان انحراف (ها) یافته است. بنابراین، عملکرد مشارکت‌کننده در مقابل نتیجه «حقیقی» قضاوت نمی‌شود، بلکه در مقابل تخمین‌های آماری از نتیجه «حقیقی» حاصل از همه داده‌های ارائه شده ارزیابی می‌شود. هرچه مجموعه داده بزرگتر باشد، این تخمین‌های آماری دقیق‌تر به نظر می‌رسد، اما بهتر است توزیع همگن باشد و بدون تعدد روش[2] نباشد. برای مثال: از بکارگیری روش‌های مختلف توسط مشارکت‌کنندگان.

روش‌های متداول ارزیابی عملکرد و اختصاص نمره به تفصیل در پیوست ب-۳ استانداردهای ISO/IEC 17043: 2010 و ISO 13528 توضیح داده شده است.

۸-۳-۶ استفاده از Z - Score

۸-۳-۶-۱ کلیات

در PT که به‌صورت گسترده‌ای مورد قبول قرار گرفته است سیستم Z - Score یک روش رایج و مورد قبول است، زیرا محاسبه و تفسیر آن نسبتاً ساده است (به پیوست ب-۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 مراجعه شود). Z - Score نشان می‌دهد یک مقدار مشخص چند انحراف استاندارد دور از میانگین قرار دارد، برای مثال: Z - Score به میزان ۲ نشان‌دهنده مقداری است که 2σ می‌باشد و σ انحراف استاندارد از میانگین می باشد.

همانطور که در شکل ۱ مشخص است، داده‌ها با توزیع نرمال استاندارد دارای ٪۹۵ مقادیر در حدود 2σ از میانگین و ٪۹۹٫۷ از مقادیر در 3σ می باشند. بنابراین نتایج با Z - Score بزرگتر از ۲، مورد تردید است و بهتر است به عنوان «هشدارها» مورد استفاده قرار گیرد، زیرا انتظار می‌رود فقط ٪۵ از اندازه‌گیری‌های صحیح، متفاوت از مقدار تخصیص‌یافته باشند. نتایج با Z - Score بیش از ۳ رضایت‌بخش تلقی نمی‌شود و به «اقدام» نیاز دارند، زیرا انتظار می‌رود که فقط ٪ ۰٫۳ اندازه گیری‌های صحیح وجود دارند که با مقدار تخصیص‌یافته متفاوت هستند (به پیوست ب-۴ استاندارد ISO / IEC 17043: 2010 مراجعه کنید).

1- Warning
2- Multi-modality

۸-۳-۶-۲ انحراف استاندارد هدف برای محاسبات Z - Score

در محاسبه Z - Score از یک مقدار هدف برای انحراف استاندارد (σ_{pt}) استفاده می‌شود. این انحراف استاندارد هدف، مقیاس تغییر قابل قبول در میان آزمایشگاه‌ها برای هر آزمون خاص را مشخص می‌کند و σ_{pt} به میزان ۰٫۳۵ یا ۰٫۲۵ معمولاً در الگوهای PT میکروبیولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همین انحراف استاندارد هدف یکسانی بهتر است در دوره‌های متوالی آزمون مهارت استفاده شود، به‌طوری‌که ممکن است نمره‌ها از دوره‌ای به دوره دیگر مقایسه شوند. چند روش برای تعیین انحراف استاندارد هدف وجود دارد که به تفصیل در منبع شماره [۱۲] ارائه شده در کتاب‌نامه، پیوست ب- ۳ استاندارد ISO/IEC 17043: 2010 و بند ۸ استاندارد ISO 13528: 2015 توضیح داده شده است.

۸-۳-۶-۳ نتیجه چندگانه در سیستم‌های Z - Score

تفاوت‌ها بین نتایج مشارکت‌کنندگان از تغییرات بین آزمایشگاه‌ها و همچنین از تغییرات درون آزمایشگاهی ناشی می‌شود. تغییر درون آزمایشگاهی یا واریانس بین آزمایشگاهی، تغییر بین نتایج حاصل از آزمایشگاه یکسان در نمونه یکسان می‌باشد و از ویژگی‌های ذاتی آزمون‌های میکروبیولوژی محسوب می‌شود. تغییر درون آزمایشگاهی با واریانس تکرارپذیری اندازه‌گیری می‌شود.

هنگامی که یک آزمایشگاه مشارکت‌کننده چندین نتیجه را برای یک ماده آزمایشی گزارش می‌دهد، این کار به طور بالقوه ممکن است تاثیر جهت‌دار در داده‌های باقیمانده سایر مشارکت‌کنندگان داشته باشد. برای مثال: چنانچه ۱۰ آزمایش‌کننده از یک آزمایشگاه همه یک نمونه را آزمون کنند که از اول به صورت نادرست رقیق شده است همه آن ۱۰ نتیجه نادرست خواهد بود. این تعداد از نتایج نادرست به زیر مجموعه‌ای در داده‌های اکثریت تبدیل می‌شود و ممکن است همه نتایج دیگر را تحت تاثیر قرار دهد. برای جلوگیری از چنین تاثیر جهت‌داری، تنها یک نتیجه گزارش شده در هر نمونه و/ یا آزمایشگاه در تجزیه و تحلیل کلی داده‌ها برای توزیع گنجانده می‌شود.

هنگامی‌که یک آزمایشگاه مشارکت‌کننده چندین نتیجه را از یک نمونه تکی PT به‌دست آورده است، این نتایج به‌عنوان یک مقدار میانگین گزارش نشود و باید به صورت جداگانه گزارش شود. زمانی که فقط یک نتیجه در هر آزمایشگاه مشارکت‌کننده توسط مجریان الگو مجاز شمرده می‌شود، نتیجه تکی که گزارش شود باید قبل از انجام آزمایش انتخاب شود و نتایج نباید جهت‌دار باشد.

۸-۳-۶-۴ استفاده از نمرات (یا مقیاس) انحراف مطلق میانه (*MADe*) از مقادیر میانه

روش مقیاس *MADe* جایگزینی برای انحراف استاندارد کلاسیک در محاسبه Z - Score می‌باشد. وقتی کمتر از ۵۰ مشارکت‌کننده شمارش را انجام می‌دهند برای شناسایی شمارش‌های پرت، از این روش استفاده می‌شود (به استاندارد ISO 13528 مراجعه شود).

مقادیر *MADe* یک روش استوار برای محاسبه دامنه قابل قبول هنگام ارزیابی نتایج مشارکت‌کنندگان و تخصیص نمرات ارائه می‌دهند. در این تجزیه و تحلیل نیاز به محاسبه اختلاف میانه از حد میانه برای هر نتیجه وجود دارد که سپس در عدد ثابت ۱٫۴۸۲۶ ضرب می‌شود. تا یک تخمین استوار از انحراف استاندارد، (مقدار *MADe*)، *σMADe* به‌دست آید.

مثالی از چگونگی اختصاص نمرات با استفاده از مقادیر *MADe* در ادامه شرح داده شده است:

- نتایج درون میانه مشارکت‌کنندگان $\pm 2\sigma MADe$: نمره = ۲
- نتایج بین $\pm 2\sigma MADe$ و $\pm 3\sigma MADe$: نمره = ۱
- نتایج خارج از $\pm 3\sigma MADe$: نمره = ۰

توصیه می‌شود حدود پائینی به نزدیکترین مقدار log10 ۰٫۰۵ به صورت کاهشی گرد شوند و حدود بالایی تا نزدیکترین مقدار log10 ۰٫۰۵ گرد شوند.

توجه داشته باشید که مادامی که از قانون log10 ۰٫۵استفاده نشود تقریباً ۵٪ آزمایشگاه‌ها بهتر است خارج از محدوده $\pm 2\sigma MADe$ باشند و ۱٪ آزمایشگاه‌ها هم خارج از محدوده $\pm 3\sigma MADe$ باشند (با فرض نرمال بودن شمارش‌های لگاریتم اعشاری بدون داده‌های پرت زیاد).

زمانی که کمتر از ۵۰ مشارکت‌کننده وجود دارد از روش *MADe* برای الگوی PT استفاده می‌شود.

۸-۳-۷ روش‌های دیگر ارزیابی عملکرد

۸-۳-۷-۱ کلیات

اگرچه Z - Score معمولاً برای ارزیابی نتایج الگو PT حاصل از روش‌های شمارش استفاده می‌شود، ولی دیگر روش‌های نمره‌دهی هم ممکن است برای الگوهای خاص باکتری‌شناسی مناسب باشند.

برای مثال: در نمونه‌هایی که شمارش‌های باکتریایی در آن‌ها کم می‌باشد (مانند آب آشامیدنی)، ارزیابی آماری ممکن است مبتنی بر مدلی باشد که تغییر تصادفی را پیش‌بینی کند. بنابراین شمارش‌های انتهایی[1] «کم» یا «زیاد» با استفاده از توزیع پواسون مشخص می‌شود. نتایج کم یا زیاد ممکن است گاهی اوقات به‌طور اتفاقی در هر آزمایشگاهی رخ دهد، اما تجمع نتایج انتهایی نشان‌دهنده عملکرد ضعیف می‌باشد. مزایا و معایب یک مدل در مقابل یک روش درصدی برای ارزیابی آماری در منبع شماره [۲۰] ارائه شده در کتاب‌نامه به بحث گذاشته شده است.

در طرح‌هایی که انتظار می‌رود شمارش‌های باکتریایی زیاد باشد، قانون $\log_{10}$ ۰٫۵ یا روش بر حسب درصد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. این موارد به طور خلاصه در زیربندهای ۸-۳-۷-۲ و ۸-۳-۷-۳ بیان شده‌اند.

1- Tail-end counts

۸-۳-۷-۲ استفاده از قانون $\log_{10}$ ۰٫۵

سیستم نمره‌دهی مبتنی بر قانون $\log_{10}$ ۰٫۵ را می‌توان برای شمارش کلنی‌ها استفاده کرد (به منبع شماره [۱۶] ارائه شده در کتاب‌نامه مراجعه کنید). به طور خلاصه، فاصله اطمینان ٪۹۵ در حدود میانگین شمارش تعداد کلنی به طور کلی بیش از $\log_{10}$ cfu ۰٫۵± نیست. روش‌های کنترل کیفی داخلی برای آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی معمولاً برای نشان دادن توافق که بیشتر از واحد $\log_{10}$ ۰٫۵ برای کنترل مناسب نیست، معمولاً به تکرار شمارش نیاز دارند. این قانون در مورد نتایج مشارکت‌کنندگان به این صورت اعمال می‌شود که همه نتایج در واحدهای $\log_{10}$ ۰٫۵± حد میانه مشارکت‌کنندگان به‌صورت قابل قبول در نظر گرفته می‌شود و حداکثر نمره به آنها تعلق می‌گیرد. اگر کیفیت کلی شمارش‌های مشارکت‌کنندگان بهبود یابد این قانون باعث می‌شود نمرات مشارکت‌کنندگان نیز به مرور زمان بهتر شود.

قانون $\log_{10}$ ۰٫۵مبتنی بر معیارهای میکروبیولوژی است اما از نظر آماری نیز معتبر می‌باشد، زیرا اگر شمارش پیش‌بینی شده روی یک پلیت به میزان ۱۰ کلنی باشد و ارگانیسم‌ها به‌طور تصادفی توزیع شوند، در این‌صورت ٪۹۵ از نتایج بهتر است بین ۳ تا ۱۷ کلنی را نشان دهند. در یک نمره لگاریتم اعشاری، شمارش میانه مورد انتظار ۱، حد پایین ۰٫۴۷ و حد بالایی ۱٫۲۳ می‌باشد. یعنی حد پایین و حد بالا در محدوده واحدهای $\log_{10}$ ۰٫۵ می‌باشند. بنابراین نتیجه‌ای که در محدوده واحدهای $\log_{10}$ ۰٫۵ مقدار مورد انتظار باشد بهتر است قابل قبول تلقی شود.

۸-۳-۷-۳ استفاده از درصدها

زمانی‌که بزرگتر یا مساوی ۵۰ مشارکت‌کننده با استفاده از یک روش شمارش کلنی شمارش را انجام می‌دهند، از درصدها می‌توان برای شناسایی داده‌های پرت برای شمارش‌ها استفاده کرد. این کار مستلزم محاسبه درصدهای پنجمین ، دهمین، نودمین و نودپنجمین توزیع نتایج مشارکت‌کنندگان است (به ترتیب C5، C10 ، C90 و C95). C5 و C10 باید به نزدیکترین واحد $\log_{10}$ ۰٫۰۵ به صورت کاهشی گرد شوند برای مثال: ۲٫۲۳ به ۲٫۲۰ گرد می‌شود، در حالی که C90 و C95 باید به صورت افزایشی گرد شوند (برای مثال: ۳٫۳۶ به ۳٫۴۰ گرد می‌شود). نمونه‌ای از چگونگی تخصیص نمرات (برای مثال: برای شمارش کلنی‌های هوازی) در زیر شرح داده شده است:

- نتایج بین C10 و C90 (دامنه قابل قبول): نمره = ۲
- نتایج بین C5 و C10 یا C90 و C95: نمره = ۱
- نتایج کمتر از C5 یا بیشتر از C95: نمره = ۰

استفاده از قانون $\log_{10}$ ۰٫۵ممکن است دامنه قابل قبول را گسترش دهد و بنابراین نمرات اختصاص داده شده برای برخی از نتایج را در C5، C10، C90 و C95 ارتقا دهد.

روش درصدی باثبات است و به توزیع واقعی شمارش‌های لگاریتم اعشاری به صورت نرمال بستگی ندارد. این روش تفسیر روشن ارزیابی عملکرد را میسر می‌کند.

چنانچه تعداد مشارکت‌کنندگان در یک الگوی PT طرح‌ریزی شده به کمتر از ۵۰ آزمایشگاه کاهش یابد یا تعداد مشارکت‌کنندگان گزارش‌دهنده نتایج شمارش یک پارامتر خاص به کمتر از ۵۰ کاهش یابد از درصد نباید استفاده شود، زیرا کمتر از ۵۰، نتیجه داده‌های کافی برای محاسبه مقادیر معتبر برای C5، C10، C90 و C95 را فراهم نمی‌کند. در این موارد می‌توان از انحراف مطلق میانه (*MADe*) (به زیربند ۸-۳-۶-۴ مراجعه شود) به جای درصد استفاده شود.

۸-۳-۷-۴ فاصله اطمینان (CI) ٪۹۵ پواسون

فاصله اطمینان (CI) ٪۹۵ پواسون ممکن است زمانی مورد استفاده قرار گیرد که یک نمونه دارای سطوح پایینی (بیشتر یا مساوی۲۰) از ارگانیسم‌ها برای یک پارامتر خاص باشد، برای مثال: چنانچه میانه مشارکت‌کنندگان یا میانه مجری در طرح‌های نمونه‌های آب cfu/ml ۱باشد.

این روش برای اطمینان از کسب حداکثر نمره برای همه شمارش‌ها توسط مشارکت‌کنندگان استفاده می‌شود که ممکن است ناشی از تغییرپذیری تصادفی ارگانیسم‌ها در نمونه (تغییرپذیری پواسون) باشد. روش‌های دیگر ممکن است دامنه‌هایی ثابت‌تر از این رقم ارائه دهند که غیرمنطقی خواهد بود. دلیل استفاده از آن شبیه به دلیل استفاده از قانون $\log_{10}$ ۰٫۵ برای سایر الگوها است.

تصحیح CI ٪۹۵ برای داده‌های پواسون با میانگین (حد میانه) ۱ از ۰ تا ۳ است، بنابراین فاصله اطمینان ٪۹۵ در حدود میانه مشارکت‌کنندگان یا مجری ممکن است حتی در سطوح غلظت بسیار پایین مورد استفاده قرار گیرد.

۸-۳-۷-۵ ملاحظات خاص برای روش‌های محتمل‌ترین تعداد

روش آزمون مورد استفاده برای تعیین مقدار MPN دارای تغییرپذیری ذاتی بیشتری نسبت به روش‌های شمارش کلنی است و بنابراین اغلب فقط به عنوان نیمه کمّی در نظر گرفته می‌شود. البته زمانی که انتظار سطح غلظت پایینی از میکروارگانیسم‌ها وجود دارد، به‌ویژه هنگامی که ممکن است میکروارگانیسم‌ها دچار استرس شوند، گاهی اوقات برای جستجو، شناسایی و تخمین سطوح غلظت، لازم است (برای مثال: در نتیجه فرآوری یا انجماد). همچنین روش‌های MPN در قوانین منطقه‌ای یا معیارهای آزمایش میکروبیولوژی برخی فرآورده‌ها از جمله فرآورده‌های لبنی، نرم‌تنان دوکفه‌ای و سایر حلزون‌های صدف‌دار گنجانده شده است.

در هر کدام از روش‌های ارزیابی نتایج مشارکت‌کنندگان با استفاده از روش MPN بهتر است امکان تغییرپذیری ذاتی MPN در نظر گرفته شود و اینطور فرض شود که نمونه قبل از آزمون به‌خوبی مخلوط شده باشد.

انحراف استاندارد از نتیجه $\log_{10}$ MPN برای روش سه به پنج لوله‌ای تقریباً ۰٫۲۴است، در صورتی‌که نتایج ترکیبات لوله‌ای «بی‌نهایت[1]» را نشان ندهند، مانند ترکیبات لوله‌ای ۳؛ ۰؛ ۰ تا ۵؛ ۵ ، و ۲.

انحراف استاندارد از نتیجه $\log_{10}$ MPN برای روش سه به سه لوله‌ای تقریباً ۰٫۳۲ است، در صورتی‌که نتایج ترکیبات لوله‌ای «بی‌نهایت» را نشان ندهند، مانند ترکیبات لوله‌ای ۲؛ ۰؛ ۰ تا ۳؛ ۳ ، و ۱

این بدان معنی است که در یک وضعیت عالی و بدون تغییرپذیری بین آزمایشگاهی زیاد، ٪۹۵ نتایج باید در محدوده σ ۲± باشند و بیش از ٪۹۹ نتایج بهتر است در محدوده σ ۳± باشند. σ در اینجا انحراف استاندارد می‌باشد.

با این‌حال، در عمل مقداری تغییرپذیری بین آزمایشگاهی وجود دارد. تجزیه و تحلیل تعدادی از مجموعه داده‌ها نشان داده است که واریانس را حدود ۱٫۸ برابر افزایش می‌دهد (و از این رو انحراف استاندارد حدود ۱٫۳۴ برابر افزایش می‌یابد).

بنابراین محدوده‌های قابلیت پذیرش نتایج شرکت‌کنندگان برای تعیین MPN بهتر است به σ ۲٫۶۸± و σ ۴± افزایش یابد (به جدول ۱ مراجعه کنید).

جدول ۱ – محدوده‌های قابلیت پذیرش

روش سه به پنج	روش سه به سه	محدوده قابل قبول
$\pm 0.64 \log_{10}$	$\pm 0.86 \log_{10}$	$\pm 2.68\ \sigma$
$\pm 0.96 \log_{10}$	$\pm 1.28 \log_{10}$	$\pm 4\ \sigma$

این محدوده‌ها ممکن است به علت عوامل افزایشی با ارزیابی بیشتر تغییرپذیری بین آزمایشگاهی، تغییر یابد.

قانون $\log_{10}$ ۰٫۵به دلیل تغییرپذیری ذاتی روش MPN بهتر است هرگز در نتایج MPN مورد استفاده قرار نگیرد. همچنین برای روش MPN می‌توان بررسی کرد که ترکیبات لوله و رقت‌های گزارش شده، با MPN گزارش شده با استفاده از جداول مطابقت دارد.

چنانچه الگو PT یا قانونی که این طرح بر اساس آن بنیان نهاده شده است این الزام را برقرار سازد که مقادیر MPN به صورت دوتایی تعیین شوند، نتایج را می‌توان مقایسه کرد و چنانچه ترکیبات لوله‌ها معتبر باشد پس اختلاف بین دو نتیجه از نظر واحدهای لگاریتم اعشاری بهتر است بیش از ۰٫۸۸ = ۰٫۲۴ × √۲ × ۲٫۵۸ برای روش لوله‌ای سه به پنج و ۱٫۱۷ = ۰٫۳۲ × √۲ × ۲٫۵۸ برای روش لوله‌ای سه به سه متفاوت نباشد.

1- Extreme

چنانچه دو توزیع با دو تکرار در هر توزیع مقایسه شود، میانگین این دو از نظر واحدهای لگاریتم اعشاری با یکدیگر بهتر است با اختلاف بیش از ۰٫۶۲ = ۰٫۲۴× ۲٫۵۸ برای روش لوله‌ای سه به پنج و ۰٫۸۳ = ۰٫۳۲× ۲٫۵۸ برای روش لوله‌ای سه به سه تفاوت نداشته باشد.

۸-۳-۸ ارزیابی عملکرد بلند مدت

۸-۳-۸-۱ کلیات

ارزیابی عملکرد در الگوهای PT معمولاً محدود به ارزیابی نتایج حاصل از نوبت‌های واحد می‌باشد، اما مواردی وجود دارد که ارزیابی در بلند مدت ممکن است سودمند باشد. اگرچه این مورد به طور کلی در مورد الگوهای ارزیابی کیفیت خارجی صدق می‌کند، برخی نکات راهنما جهت تکمیل توضیحات ارائه می‌شود.

هر روش ارزیابی عملکرد بلند مدت باید اطمینان حاصل کند که احتمال شناسایی آزمایشگاه‌های انجام آزمایش‌های شمارش به‌عنوان «مجریان ضعیف» به‌دلیل تغییر در تعداد ارگانیسم‌های موجود در نمونه‌هایی که دریافت می‌کنند، تا حد ممکن کم باشد.

توصیه می‌شود شمارش‌های «کم» و «زیاد» براساس قوانین عینی تعریف شوند (برای مثال: تعریف مبتنی بر مدل پواسون برای شمارش‌های کم، درصدها یا روش‌های دیگر برای شمارش‌های زیاد)، سپس جهت تعیین آزمایشگاه‌هایی که این نتایج را که انتظار می‌رود به‌صورت تصادفی باشد، استفاده شود.

مجریان الگو بهتر است مشارکت‌کنندگان را تشویق کنند که برای ارزیابی اطلاعات ارائه شده در گزارش‌ها، از داوری‌های تخصصی خود استفاده کنند و از این طریق عملکرد خود را ارزیابی کنند. مجریان ممکن است روش‌های مختلفی برای انجام خود ارزیابی آزمایشگاهی به مشارکت‌کنندگان خود پیشنهاد دهند، اما آن‌ها نباید معیارهای خود ارزیابی توسط یک آزمایشگاه را دیکته کنند؛ بلکه این معیارها باید توسط هر آزمایشگاه مشارکت‌کننده بر اساس اهمیت میکروبیولوژی در کارهای روزمره خود و نیازهای مشتری مشخص شود.

۸-۳-۸-۲ ارزیابی‌های شمارش کم

چنانچه شانس تنها عامل باشد، شمارش‌های «انتهایی[1]» بهتر است به طور تصادفی توزیع شود. نتایج ممکن است برای مشخص شدن پراکندگی نتایج انتهایی بین آزمایشگاه‌های در یک مجموعه نمونه مورد بررسی قرار گیرد (برای مثال: با استفاده از آزمون Q کوکران).

چنانچه آن‌ها به طور تصادفی توزیع نشده باشند تجزیه و تحلیل مرحله دوم ممکن است برای تعیین توزیع مدنظر شمارش‌های انتهایی در بین آزمایشگاه‌های گزارش دهنده انجام شود، البته اگر صرفاً به دلیل تفاوت طبیعی بین نمونه‌ها و عملکرد آزمایشگاهی نبوده باشند. در این صورت مقایسه آن تعداد آزمایشگاه‌های مدنظر با تعداد واقعاً مشاهده شده باعث متمایز شدن آزمایشگاه‌هایی می‌شود که ممکن است مشکلات را تجربه کرده باشند. نمونه‌ای از ارزیابی عملکرد برای نمونه‌های دارای تعداد کم در جدول ۲ ارائه شده است.

1- Tail-end

جدول ۲ - تعداد قابل مشاهده و مورد انتظار مجموعه‌های نتایج با فرض توزیع تصادفی نتایج کم (از توزیع سطوح پایین *کلستریدیوم پرفرژنز* در نمونه‌های آب آشامیدنی، در اینجا تغییر در تعداد بین موارد آزمایش لزوماً ممکن است از تغییر عملکرد آزمایشگاهی فراتر رود)

مورد انتظار	قابل مشاهده	تعداد «کم‌ها»
۵۸	۵۸	۰
۴۸٫۵۶	۳۲	۱
۱۶٫۹۴	۱۸	۲
۳٫۱۵	۱۴	۳
۰٫۳۳	۳	۴
۰٫۰۲	۲	۵
۱۲۷	۱۲۷	کل

یک یا دو نتیجه کم می‌تواند به دلیل شانس باشد؛ سه نتیجه کم احتمالاً به دلیل شانس نمی‌باشد؛ بعید به نظر می‌رسد چهار نتیجه کم یا بیشتر به دلیل شانس بوده باشد و مراحل باید بررسی شود.

۸-۳-۸-۳ ارزیابی‌های شمارش بالا

ارزیابی شمارش‌های بالاتر به اصول مشابه متکی می‌باشد، اما تغییر کمتری در نتایج مشارکت‌کنندگان به دلیل تغییر در محتوای نمونه پیش‌بینی می‌شود.

عملکرد بلند مدت می تواند برای مثال: با روش ارزیابی درصدی روی ۱۲ نمونه، با بیش از نمره ۲۴ امتیازی قابل برآورد می‌باشد. برای مشارکت‌کنندگان یک هدف عملکرد حداقل ٪۷۰ تعیین می‌شود. اگر قانون $\log_{10}$ ۰٫۵نادیده گرفته شود، این فرضیه مطرح می‌شود که همه مشارکت‌کنندگان قادر به ارائه عملکرد معادل هستند. سپس با استفاده از نظریه چند جمله‌ای می‌توان ثابت کرد که احتمال کسب نمره تجمعی کمتر از ٪۷۰ حداکثر نمره ممکن توسط یک مشارکت‌کننده ٪ ۵٫۲ است. یعنی تقریباً یکی از ۲۰ مشارکت‌کننده تحت این شرایط ممکن است به اشتباه به عنوان «مجریان ضعیف» شناخته شود. در واقع عملکرد به‌صورت برابر نمی‌باشد و برخی آزمایشگاه‌ها در انجام آزمایش‌های خود، با مشکلاتی مواجه می‌شوند، بنابراین احتمال اینکه عملکرد رضایت‌بخش به اشتباه به‌صورت «ضعیف» شناخته شود، بسیار کم‌تر از این است. همچنین استفاده از قانون $\log_{10}$ ۰٫۵ این احتمال را به کمتر از ٪ ۰٫۱ کاهش می‌دهد.

نمونه عملی ارزیابی عملکرد بلند مدت با استفاده از صفحات گسترده[1] در پیوست ث ارائه شده است.

1-Spreadsheets

۸-۴ ارزیابی روش‌های کیفی

۸-۴-۱ کلیات

برای مطالعات مقایسه‌ای بین آزمایشگاهی که در آن‌ها یک یا چند روش کیفی مورد استفاده قرار می‌گیرد نتایج در واقع به صورت سیاه یا سفید، بله یا خیر، تشخیص داده شده یا تشخیص داده نشده، می‌باشد.

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری برای این نوع نتیجه محدود می‌باشد، اما گزینه‌های مختلفی مانند LOD_{50} و درصد صحت[1] ارائه شده است.

۸-۴-۲ عملکرد آزمایشگاه‌های تکی

یک روش ساده برای خود ارزیابی توسط آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده، به‌صورت ثبت تعداد نتایج مثبت و منفی این آزمایشگاه‌ها همراه با تعداد نتایج مثبت و منفی مورد نظر است. این اطلاعات با سوابق سطوح غلظت ارگانیسم‌های هدف در نمونه‌ها مرتبط است تا ارزیابی عملکرد صورت گرفته و همچنین داده‌های در حال پیشرفت در مورد سطح تشخیص روش در آزمایشگاه‌ها تکی ارائه شود.

برای مثال: در یک الگو PT که در آن مشارکت‌کنندگان دو نمونه دریافت می‌کنند و یکی از آن‌ها، هر دو یا هیچ یک دارای ارگانیسم‌های هدف نمی‌باشند، ارزیابی بر اساس تشخیص داده شده یا تشخیص داده نشده، در هر دو نمونه است. بنابراین یک درصد رضایت‌بخش ارزیابی را می‌توان برای همه مشارکت‌کنندگان فراهم کرد و با سطح غلظت ارگانیسم‌های هدف در مواد آزمون ارائه شده در گزارش مرتبط نمود (به زیربند ۶-۴ مراجعه کنید).

در برخی موارد، نمونه‌های بیشتری برای تأیید عملکرد آزمایشگاه در سطح غلظت پایین به خصوص در حدود LOD_{50} برای یک روش کیفی مورد آزمون قرار می‌گیرند. مثالی براساس ۱۸ نمونه در ادامه ارائه می‌شود، اما ترکیبات دیگر تعداد نمونه‌ها در هر سطح غلظت قابل استفاده و توجیه است.

هر مشارکت‌کننده باید در کل حداقل ۱۸ نمونه را آزمون کند. این ۱۸ نمونه شامل ۶ تکرار دارای ۳ سطح غلظت مختلف آلودگی نمونه‌ها است. این سه سطح غلظت عبارتند از: منفی (بررسی بروز نتایج کاذب مثبت برای مثال: در آلودگی متقاطع)؛ سطح غلظت پایین (نمونه‌های آلوده شده در یا کمی بیش از سطح تشخیص برای روش استفاده شده، به صورت ایده آلی در سطح غلظتی که ٪ ۵۰ نمونه‌ها مثبت و ٪ ۵۰ منفی (LOD_{50}) می‌باشند؛ و سطح غلظت بالا (۱۰ برابر بالاتر از سطح غلظت پایین، نمایانگر سطح غلظتی است که در آن همه نمونه‌های آزمون بهتر است مثبت باشند).

تفسیر داده‌ها ساده است:

1-Accuracy

a) برای منفی‌ها: همه نمونه‌ها بهتر است منفی باشند؛

b) برای سطح غلظت بالا: همه نمونه‌ها بهتر است مثبت باشند؛

c) برای سطح غلظت پایین: می‌توان آن‌را (طبق جدول ۳) با استفاده از توزیع دو جمله‌ای و درصد نمونه‌های ثبت (حاصل از یک مقدار مرجع از مجری یا به صورت بهترین تخمین حاصل از نتایج همه مشارکت‌کنندگان) با سطح اطمینان ٪۹۵، محاسبه نمود.

جدول ۳ – احتمال پیدا کردن تعداد مشخصی از مثبت‌ها از ۶ نمونه آزمون شده به عنوان تابعی از میانگین درصد نمونه‌های مثبت (توزیع دو جمله‌ای)

Number of positives out of six samples	Average percentage of positives								
	10 %	20 %	30 %	40 %	50 %	60 %	70 %	80 %	90 %
0	53,1 %	26,2 %	11,8 %	4,7 %	1,6 %	0,4 %	0,1 %	0,0 %	0,0 %
1	35,4 %	39,3 %	30,3 %	18,7 %	9,4 %	3,7 %	1,0 %	0,2 %	0,0 %
2	9,8 %	24,6 %	32,4 %	31,1 %	23,4 %	13,8 %	6,0 %	1,5 %	0,1 %
3	1,5 %	8,2 %	18,5 %	27,6 %	31,3 %	27,6 %	18,5 %	8,2 %	1,5 %
4	0,1 %	1,5 %	6,0 %	13,8 %	23,4 %	31,1 %	32,4 %	24,6 %	9,8 %
5	0,0 %	0,2 %	1,0 %	3,7 %	9,4 %	18,7 %	30,3 %	39,3 %	35,4 %
6	0,0 %	0,0 %	0,1 %	0,4 %	1,6 %	4,7 %	11,8 %	26,2 %	53,1 %

مثال: برای استفاده از جدول ۳ ابتدا میانگین درصد مثبت‌ها را تعیین کنید. در اینجا فرض را بر این قرار می‌دهیم که ٪۳۰ باشد؛ یعنی تقریباً یکی از سه نمونه دارای ارگانیسم هدف باشد. چون فقط ٪۳۰ نمونه‌ها دارای ارگانیسم هدف هستند احتمال دارد که برخی از نمونه‌ها برای مثال: در زمان آزمون شش نمونه، ارگانیسم هدف را نداشته باشند.

جدول ۳ نشان می‌دهد که احتمال اینکه مجموعه‌ای از شش نمونه متشکل از ۴ مثبت و ۲ منفی باشد ٪۶ است. احتمالاً این اتفاق نمی‌افتد، اما وقتی سطح اطمینان ٪۹۵ فرض قرار بگیرد باز هم قابل قبول می‌باشد. به صورت زیر می‌توان آن را محاسبه نمود: مجموع احتمال پیدا کردن مثبت‌های ۰ ، ۱ ، ۲ ، ۳ یا ۴ به میزان ٪۹۹/۰ است (۱۱٫۸ + ۳۰٫۳ + ۳۲٫۴+ ۱۸٫۵ + ۶٫۰). در این حالت، ٪۹۹ کمترین مقدار است که بالاتر از ٪۹۵ (حد اطمینان) است. حذف چهار مثبت از این جمع به ٪۹۳ می‌رسد که کمتر از سطح اطمینان ٪۹۵ است.

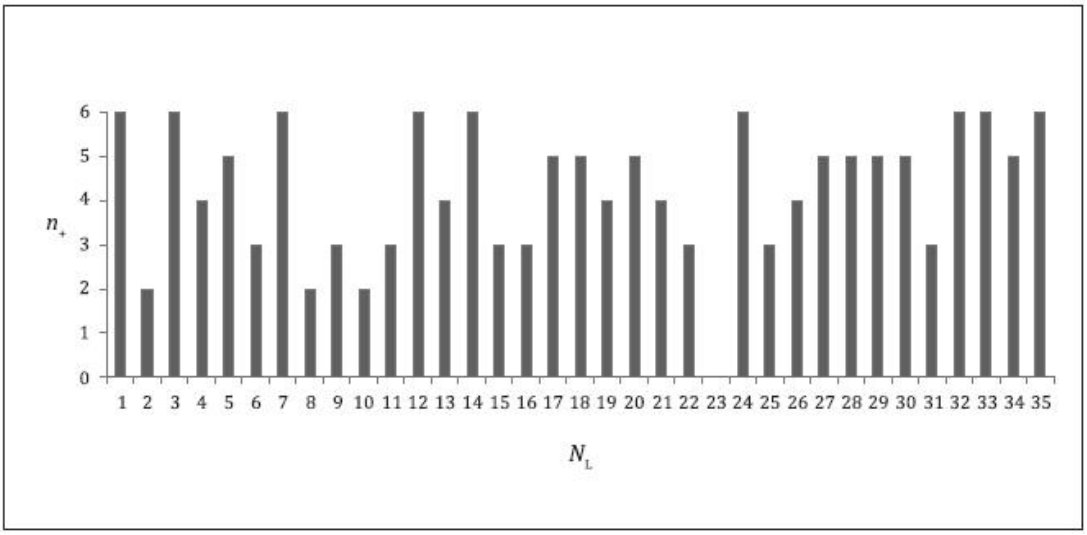
با نگاهی دیگر به داده‌ها، احتمال بروز شش از شش مثبت فقط ٪ ۰٫۱ است که بسیار بعید است به طور اتفاقی رخ دهد. با عدم اطمینان حداکثر ٪ ۵ (٪۱۰۰ تا ٪ ۹۵ سطح اطمینان) این مقدار در حد مجاز است. زمانی که پنج یا شش نمونه از مجموع شش نمونه مثبت می‌باشند، همین اتفاق می‌افتد؛ مجموع این احتمالات ٪ ۱٫۱ است که باز هم زیر محدوده ٪ ۵ است. فقط در شرایطی که چهار از شش مثبت باشند (٪۶)، عدم اطمینان از

محدوده ٪ ۵ فراتر می‌رود. چون میزان حداکثری ٪۵ تعیین شده است، وضعیت پنج یا شش مثبت از مجموع شش مورد آزمایش شده به عنوان یک نتیجه غیر منتظره در نظر گرفته می‌شود.

یادآوری- ٪۵۰ نمونه ها در LOD_{50} مثبت هستند. از لحاظ تئوری (با توجه به اینکه روش استفاده شده قادر به تشخیص یک میکروارگانیسم در یک نمونه می‌باشد و با فرض توزیع همگن (پواسون) بین نمونه‌ها) پیش بینی می‌شود میانگین سطح آلودگی نمونه‌ها ۰٫۷ میکروارگانیسم در هر نمونه برای رسیدن به LOD_{50} باشد. اغلب توزیع همگن ایده‌آل در عمل حاصل نمی‌شود و نسبتاً بیشتر نمونه‌ها دارای هیچ میکروارگانیسم (زیست پذیر) نمی‌باشند که از یک توزیع واقعی همگن انتظار می‌رود. برای به‌دست آوردن ٪۵۰ از نمونه‌های مثبت، افزایش سطح آلودگی‌متوسط، بر اساس تجربه با مواد مورد استفاده در مطالعه، لازم است.

۸-۴-۳ الگوی مقایسه‌ای عملکرد آزمایشگاهی

برای مقایسه عملکرد یک آزمایشگاه در مقابل سایر آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده، مجریان الگو ممکن است تعداد (یا درصدهای) مثبت را برای سطوح آلوده به ارگانیسم هدف موجود در هر نمونه مورد آزمون توسط هر آزمایشگاه (توسط کد آزمایشگاهی گزارش شده) محاسبه کنند. نمونه‌ای از این داده‌ها در شکل ۲ ارائه شده است. در این مطالعه ۳۵ آزمایشگاه شرکت کردند (به صورت کدهای آزمایشگاهی در محور N_L شکل ۲). هر آزمایشگاه ۱۸ نمونه گوشت مرغ خرد شده را مورد تجزیه و تحلیل قرار داد که این نمونه‌ها به صورت مصنوعی با یک سروتیپ *سالمونلا* در ۳ سطح مختلف آلودگی(۰cfu، ۵ cfu و ۵۵ cfu در هر نمونه)، آلوده شده بودند. در شکل ۲، نتایج برای نمونه با سطح پایین آلودگی خلاصه شده‌اند (تعداد=۶). تعداد مثبت‌های موجود در آزمایشگاه‌های مشارکت‌کننده از صفر تا ۶ نمونه متغیر بود (محور n_+ در شکل ۲).



راهنما:

N_L کدهای آزمایشگاهی

n_+ تعداد مثبت‌ها

شکل ۲ – تعداد ایزوله‌های مثبت در هر کد آزمایشگاهی برای همه مواد آزمایشی سطح غلظت پایین (تعداد = ۶)

علاوه بر این روش تشریحی برای ارائه نتایج، می‌توان میزان اختصاصی بودن و حساسیت را در هر سطح آلودگی نمونه‌ها محاسبه کرد (به استاندارد ISO 16140-2 مراجعه شود). این میزان ممکن است برای هر آزمایشگاه و برای نتایج حاصل از همه آزمایشگاه‌ها محاسبه شود.

میزان تشخیص، r_{SP}، در فرمول ۲ ارائه شده است:

(۲)

$$r_{SP} = \frac{n_-}{E(n_{-\,tot})} \times 100\,\%$$

که در آن:

n_- تعداد نتایج منفی یافته شده؛

$E(n_{-\,tot})$ تعداد کل نمونه‌های منفی مورد انتظار می‌باشد.

میزان حساسیت، r_{SE}، در فرمول ۳ ارائه شده است:

(۳)

$$r_{SE} = \frac{n_+}{E(n_{+\,tot})} \times 100\,\%$$

که در آن:

n_+ تعداد نتایج مثبت یافته شده؛

$E(n_{+\,tot})$ تعداد کل نمونه‌های منفی مورد انتظار می‌باشد.

این ارزیابی تنها در صورتی معنی‌دار است که با تعداد ارگانیسم‌های هدف موجود مرتبط باشد.

پیوست الف
(آگاهی دهنده)
نمونه‌ای از جزئیات گنجانده شده در یک طرح الگو PT

جدول الف - ۱ طرح الگو PT - خلاصه الگو

نام الگو:	طرح آزمایش‌های غذایی
مجری الگو.:	نام سازمان
نوع الگو.:	میکروبیولوژی مواد غذایی
اهداف:	تهیه نمونه‌های ارزیابی کیفیت خارجی برای آزمایش‌های روزمره کلی در نظر گرفته شده توسط آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی مواد غذایی
معیارهای انتخاب مشارکت‌کنندگان:	آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی مواد غذایی دارای امکانات آزمایشگاهی کافی برای مقابله با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا با سطوح ایمنی زیستی ۱ و ۲
مشارکت‌کنندگان هدف:	آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی مواد غذایی در بخش‌های خصوصی و دولتی
قانون‌گذاری:	برای مثال: آیین نامه ۸۸۲/۲۰۰۴ اتحادیه اروپا در مورد کنترل رسمی مواد غذایی
نوع نمونه:	میکروارگانیسم‌های خشک شده با انجماد تخت خلاء در ویال‌های شیشه‌ای
آزمون‌ها:	**کیفی (جستجو):** - گونه‌های *کامپیلوباکتر* - *اشریشیا کلی* O157 - گونه‌های *سالمونلا* **کمّی (شمارش):** - شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی - *باسیلوس سرئوس* - *کلستریدیوم پرفرنژنس* - کلی‌فرم‌ها - انتروباکتریاسه - *اشریشیا کلی* - *لیستریا مونوسایتوژنز* - استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت

معیارهایی برای محتوای نمونه:	شبیه‌سازی کردن واقع گرایانه میکروفلورایی از مواد غذایی واقعی و تهیه یک چالش واقع‌گرایانه برای آزمون روزمره میکروبیولوژی مواد غذایی
تعداد هدف شرکت‌کنندگان:	بیش از ۲۰۰
تعداد توزیع‌ها در سال:	شش
تعداد نمونه‌ها در هر توزیع:	دو
پیمانکاران فرعی بیرونی:	وجود ندارد
کارشناسان فنی:	افراد معرفی‌شده
آزمون کنترل کیفیت بچ‌های نمونه:	نام آزمایشگاه مجری و روش‌های استاندارد استفاده شده ۲۵ نمونه از هر بچ آزمایش شده برای همه آزمون‌های مشخص شده
روش‌های آماری:	میانه مورد توافق (آزمون‌های شمارش) درصدهای شناسایی داده‌های پرت
اختصاص نمرات:	بله
معیارهایی برای نمرات:	سه نمره اختصاص داده شده برای هر نمونه جهت: الف) آزمایش‌های پاتوژن، ب) شمارش‌های کلنی هوازی، ج) ارگانیسم‌های شاخص
ارزیابی عملکرد مداوم:	بله
معیارهای شناسایی «مجریان ضعیف»:	کمتر از ٪۷۰ حداکثر نمره ممکن بالای شش توزیع
رویکرد فعالانه سازمان‌دهندگان نسبت به «عملکرد ضعیف»:	بله
ارزیابی روش:	بله – تنها برای شاخص‌ها

هماهنگ کننده طرح یا معاون جهت امضاء و/ یا تاریخ:	
تصویب شده توسط گروه راهبردی:	تاریخ
اجازه مطالب تبلیغاتی:	تاریخ
تصویب قیمت گذاری:	تاریخ
تاریخ اعتباربخشی:	تاریخ
نظرات دیگر:	برررسی در جلسه گروه راهبردی

پیوست ب
(آگاهی دهنده)
آماده‌سازی سوسپانسیون‌های اسپور قارچی

ب- ۱ کلیات

کشت‌های قارچ‌های رشته‌ای مورد استفاده در الگوهای PT ترجیحاً به صورت سوسپانسیون‌های اسپور به منظور بهبود همگنی و پایداری نمونه‌ها در هنگام توزیع و آزمایش پخش می‌شوند. این پیوست روش راهنمایی را برای تهیه این سوسپانسیون‌های اسپور شرح می‌دهد. روش‌های دیگر به رسمیت شناخته شده نیز وجود دارد.

ب- ۲ روش اجرا

ب- ۲-۱ کلیات

برای جلوگیری از انتشار اسپورها، تمام کشت‌های قارچی را در یک کابینت ایمن قرار دهید و فقط یک کشت را در یک نوبت آماده کنید تا آلودگی متقاطع به حداقل برسد.

فقط از سویه‌های دارای ویژگی مناسب (طبق زیربند ۵-۲) استفاده کنید و قبل از تهیه سوسپانسیون‌های اسپور اطمینان حاصل کنید کشت‌های روی پلیت‌ها یا سطوح کشت شیب‌دار عاری از آلودگی آشکار هستند.

ب-۲-۲ آماده‌سازی سوسپانسیون‌های اسپور از پلیت‌های آگار

از یک سواپ مرطوب شده با آب مقطر سترون بر روی سطح پلیت‌های کشت شده استفاده کنید و در ۱٫۵ ml آب مقطر سترون به حالت سوسپانسیون در آورید. کشت برداشته شده را به حجم بیشتری (برای مثال: ۵۰۰ ml) آب مقطر سترون منتقل کنید و سوسپانسیون را جهت بهبود همگنی به خوبی مخلوط کنید.

با استفاده از تلقیح سطح یک آگار مناسب، بررسی خلوص را روی سوسپانسیون انجام دهید و در دمای مناسب گرمخانه‌گذاری کنید (برای مثال: سابورو دکستروز آگار[1] در دمای ۲۵°C به مدت زمان ۴۸ h تا ۷۲ h گرمخانه‌گذاری می‌شود).

چنانچه سوسپانسیون خالص باشد شمارش اسپور را با میکروسکوپ جهت تخمین تعداد آن انجام دهید، به صورتی که بتوان نمونه‌های PT را با تعداد دلخواه اسپور تلقیح نمود.

ب- ۲-۳ آماده‌سازی سوسپانسیون‌های اسپور از محیط کشت آگار شیب‌دار

فرآیند تهیه کردن از محیط کشت آگار شیب‌دار شبیه به تهیه از پلیت‌های آگار است، با این تفاوت که اسپورها با اضافه کردن ۱ ml آب مقطر سترون به شیب و مالش کشت با یک سواب سترون برای آزاد سازی اسپورها بهتر کشت برداشته می‌شوند.

1- Sabouraud Dextrose Agar

ب- ۲-۴ انبارش

همه سوسپانسیون‌های اسپور قارچی را در دمای محیط (°C ۱۸ تا °C ۲۷) در تاریکی در یک قفسه آزمایشگاهی مشخص و دارای برچسب نگه دارید.

ب-۲-۵ بررسی‌های کنترل کیفی

برای اطمینان از همگن بودن و پایداری در حین انبارش، بررسی‌های کنترل کیفیت را روی هر سوسپانسیون اسپور انجام دهید. این کار به‌طور مرتب (برای مثال: هفتگی) با تلقیح محلول سوسپانسیون‌ها بر روی محیط‌های انتخابی جهت بررسی قابلیت زیستن انجام می‌شود. سپس رشد به‌صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار می‌گیرد تا پایداری سوسپانسیون‌ها بررسی شود.

پیوست پ
(آگاهی دهنده)
روش‌های آزمون برای تفاوت بین اجزای مواد آزمایشی

پ -۱ آزمون T_1 - T_2

این آزمون در مواردی توصیه می‌شود که تعداد کمی ارگانیسم در اجزای مواد آزمون (TMs) در سطوح بین ۳۵ cfu تا ۴۰ cfu در هر پلیت وجود داشته باشد یا زمانی که «انحراف استاندارد هدف» را نتوان برای ارزیابی همگنی کافی اختصاص داد.

تنوع بین اجزای تحلیلی از یک واحد «بازسازی شده» TM، T_1، و تفاوت بین اجزای تحلیلی واحدهای مختلف (بازسازی شده) از یک دسته TM، T_2، به روش‌های مختلف آزمایش می‌شود. جزئیات را می‌توان در منبع شماره [۱۵] ارائه شده در کتاب‌نامه، پیدا کرد، اما خلاصه‌ای در ادامه بیان شده است.

از آزمون آماری T_1 برای تعیین تفاوت بین اجزای تحلیلی یک واحد (بازسازی شده) از یک TM (آزمایش تکرار) بهره گرفته می‌شود که در فرمول پ-۱ نشان داده شده است:

$$T_1 = \sum_i \sum_j \left[\frac{\left(z_{ij} - z_{i+} / J\right)^2}{\left(z_{i+} / J\right)} \right] \qquad \text{(پ – ۱)}$$

که در آن:

z_{ij}: تعداد cfu یک جزء تحلیلی j از واحد i ؛

z_{i+}: مجموع اعداد cfu در همه اجزای تحلیلی واحد i می‌باشد که در فرمول (پ-۲) مشخص است:

$$z_{i+} = \sum_j z_{ij} \qquad \text{(پ- ۲)}$$

J: تعداد اجزای تحلیلی در واحد؛

از آزمون آماری T_2 برای تعیین تفاوت بین اجزای تحلیلی از واحدهای مختلف (بازسازی شده) یک بچ از TM بهره گرفته می‌شود که در فرمول پ-۳ نشان داده شده است:

$$T_2 = \sum_i \left[\frac{(z_{i+} - z_{++}/I)^2}{(z_{++}/I)} \right] \qquad \text{(پ-۳)}$$

که در آن:

Z_{++} : مجموع تعداد cfu در همه اجزای تحلیلی واحدهای آزمایش شده یک بچ از TM ها می‌باشد که در فرمول پ - ۴ نشان داده شده است:

(پ-۴)

$$z_{++} = \sum_i \left(\sum_j z_{ij} \right)$$

که در آن:

I: تعداد واحدهای آزمایش شده می باشد.

چنانچه توزیع پواسون مورد استفاده قرار گیرد، T_1 و T_2 ، توزیع χ^{2} را به ترتیب با درجه آزادی $I\,(J-1)$ و I - 1 دنبال می‌کنند. مقادیر مورد انتظار T_1 و T_2 در این مورد همان تعداد درجه‌های آزادی می‌باشد. بنابراین انتظار می‌رود $T_1/I\,(J-1)$ و $T_2/(I-1)$ برابر با یک باشند.

توزیع پواسون برای تفاوت بین واحدهای یک بچ از TM، کوچکترین تغییر نظری احتمالی می‌باشد که می‌توان حاصل نمود. البته پراکندگی بیش از حد، انتظار می‌رود و $T_2/(I-1)$ غالباً بزرگتر از یک، به منبع شماره [۱۵] ارائه شده در کتاب‌نامه مراجعه کنید، می‌باشد. یک تغییر قابل قبول بین واحدهای یک بچ TM $T_2/(I-1) \leq 2$ ، است.

مثال:

با توجه به داده‌های زیر:

unit:	(duplicate) counts:	
1	$z_{11} = 45$	$z_{12} = 49$
2	$z_{21} = 33$	$z_{22} = 42$
3	$z_{31} = 40$	$z_{32} = 42$
$I = 3$	(three units)	
$J = 2$	(two replicates)	
	$z_{1j}/J = (45 + 49)/2 = 94/2 = 47$	
	$z_{2j}/J = (33 + 42)/2 = 75/2 = 37{,}5$	
	$z_{3j}/J = (40 + 42)/2 = 82/2 = 41$	

$$T_1 = \frac{(45-47)^2}{47} + \frac{(49-47)^2}{47} + \frac{(33-37{,}5)^2}{37{,}5} + \frac{(42-37{,}5)^2}{37{,}5} + \frac{(40-41)^2}{41} + \frac{(42-41)^2}{41}$$
$$= 0{,}085 + 0{,}085 + 0{,}54 + 0{,}54 + 0{,}024 + 0{,}024$$
$$= 1{,}298$$

T_1 باید توزیع χ^{2} را با $I\,(J-1) = 3 \times (2-1) = 3$ درجه آزادی دنبال کند.

محدوده‌های پایین‌تر و بالاتر این توزیع که به صورت دو طرفه در سطح اطمینان ٪۹۵ مورد آزمایش قرار گرفتند با ۳ درجه آزادی به ترتیب، ۰٫۲۲ و ۹٫۳ می‌باشند. مقدار T_1 محاسبه شده (۱٫۲۹۸) این معیارها را دنبال می‌کند.

$$\sum z_{ij} = 45 + 49 + 33 + 42 + 40 + 42 = 251$$

$$\sum z_{ij}/I = 251/3 = 83{,}7$$

$$T_2 = \frac{(94-83{,}7)^2}{83{,}7} + \frac{(75-83{,}7)^2}{83{,}7} + \frac{(82-83{,}7)^2}{83{,}7}$$

$$= 1{,}268 + 0{,}904 + 0{,}034$$

$$= 2{,}206$$

تفاوت قابل قبول برای دسته: $T_2/(I-1) \leq 2$ می باشد.

در اینجا $T_2/(I-1) = 2{,}206/(3-1) = 1{,}103$ می‌باشد و بنابراین معیارهایی برای مقبولیت دسته را دنبال می‌کند.

پ-۲ آزمون برای کفایت همگنی

این آزمون برای مواردی توصیه می‌شود که در آن‌ها تعداد بیشتری از ارگانیسم‌ها (بیش از ۳۵ cfu تا ۴۰ cfu در هر پلیت) در اجزای مواد آزمایش موجود باشد و یک انحراف استاندارد هدف، σ_{pt}، که عملکرد مورد نظر مشارکت‌کنندگان الگو PT را توصیف می کند وجود داشته باشد. این مبتنی بر آزمون «کفایت همگنی» منبع شماره [۱۴] ارائه شده در کتاب‌نامه، است.

با توجه به مجموعه‌ای از اجزای مواد آزمون تجزیه و تحلیل شده به صورت تکراری با نتایج بیان شده در واحدهای log، اگر واریانس بین اجزا، s^2_{sam}، فرمول پ-۵ را تامین کند آزمون مورد قبول واقع می‌شود:

(پ-۵)

$$s^2_{sam} \leq F_1 \left(0{,}3\,\sigma_{pt}\right)^2 + F_2 s^2_{an}$$

که در آن:

s^2_{san} واریانس تحلیلی می‌باشد و مقادیر F_1 و F_2 بستگی به تعداد اجزای بررسی شده در آزمون دارد (به ادامه مطلب مراجعه شود). کمتر احتمال دارد $T_1 - T_2$ در این آزمایش منجر به رد یک ماده مورد آزمون شود که کاملاً همگن نیست (نتایج آزمون از توزیع پواسون پیروی می‌کند)، اما به اندازه کافی همگن می‌باشد تا در یک نوبت آزمون مهارت با انحراف استاندارد هدف σ_{pt} استفاده شود، زیرا مواد پذیرفته می‌شوند مگر اینکه با اطمینان

بالایی (۹۵٪) نشان داده شود تناسب برای معیار هدف $\sigma_{sam} > 0.3\ \sigma_{pt}$ یک برآورد است که در آن σ_{sam} انحراف استاندارد s_{sam} است.

مثال:

با توجه به نتایج کمّی از تکرار (تحلیل t = ۲ اجزای آزمونه g = ۱۰، تفاوت و مجموع (S) و جذر اختلاف لگاریتم اعشاری هر مجموعه از نتایج (جدول ۱) را محاسبه کنید). توجه داشته باشید که جذر تفاوت دو برابر بین واریانس جز می باشد که $2w_t^2$ است.

Item (*g* samples)	Count 1 (Test portion 1)	Count 2 (Test portion 2)	Log Count 1	Log Count 2	Difference (Log C1 – Log C2	Sum = *Z* (Log C1 + Log C2)	Difference squared [$2w_t^2$]
1	35	51	1,544 1	1,707 6	−0,163 5	3,251 6	0,026 733
2	52	46	1,716 0	1,662 8	0,053 2	3,378 8	0,002 835
3	35	33	1,544 1	1,518 5	0,025 6	3,062 6	0,000 653
4	53	38	1,724 3	1,579 8	0,144 5	3,304 1	0,020 878
5	30	40	1,477 1	1,602 1	−0,124 9	3,079 2	0,015 610
6	33	30	1,518 5	1,477 1	0,041 4	2,995 6	0,001 713
7	41	60	1,612 8	1,778 2	−0,165 4	3,390 9	0,027 346
8	35	55	1,544 1	1,740 4	−0,196 3	3,284 4	0,038 532
9	68	67	1,832 5	1,826 1	0,006 4	3,658 6	0,000 041
10	52	60	1,716 0	1,778 2	−0,062 1	3,494 2	0,003 862
Σ						32,900	0,138 203
Mean						3,290 0	0,013 820
Variance						0,042 24	

واریانس «درون نمونه» $S_{an}^2 = \sum (2w_t^2)/2g$ را محاسبه کنید که g در آن تعداد نمونه است.

در این مورد، $S_{an}^2 = 0{,}138\ 2/20 = 0{,}006\ 91.$ می باشد.

واریانس شمارش‌های جمع شده (Z_t) را تعیین نمایید.

$$Var(Z) = \frac{1}{(g-1)} \sum_{t=1}^{g} (Z_t - \bar{Z})$$

که درآن:

Z_t: مجموع مقدار برای نمونه t ؛

$\bar{Z}$: مقدار میانگین ($\Sigma Z_t / g$) می باشد (که دو برابر میانگین کلی $\bar{\bar{x}}$ است)؛

g: تعداد نمونه‌ها می‌باشد.

سپس واریانس میانگین‌های نمونه (S_x^2) را با تقسیم واریانس محاسبه شده به دو، یعنی $S_x^2 = Var(Z)/2$ تعیین کنید.

در این مورد $Var(Z) = 0{,}042\,24$, so $S_x^2 = 0{,}042\,24/2 = 0{,}021\,12$. می‌باشد.

بنابراین واریانس تحلیلی (درون نمونه) S_{an}^2 می باشد و واریانس بین نمونه $S_{sam}^2 = (S_x^2 - S_{an}^2)/2$ می‌باشد.

در این مورد $s_{an}^2 = 0{,}00691$ و $s_{am}^2 = (0{,}021\,12 - 0{,}006\,91)/2 = 0{,}007\,104$ می‌باشد.

مقادیر F_1 و F_2 به تعداد اجزای بررسی شده در آزمایش بستگی دارد. برای ۱۰ قسمت، F_1 =۱٫۸۸ و F_2 = ۱٫۰۱ (مقادیر تعدادهای دیگر اجزا ممکن است در منبع شماره [۱۵] ارائه شده در کتاب‌نامه و جدول ب-۱ استاندارد ISO 13528: 2015 مشاهده شود).

اگر انحراف استاندارد هدف در نتایج آزمون مهارت مورد استفاده قرار گیرد، پس در این صورت σ_{pt} با واحدهای $\log_{10}$ ۰٫۲۵ برابر می‌باشد.

$$F_1\left(0{,}3\,\sigma_{pt}\right)^2 + F_2 s_{an}^2 = 1{,}88 \times (0{,}3 \times 0{,}25)^2 + 1{,}01 \times 0{,}006\,91 = 0{,}017\,55$$

این مقدار از s^2_{sam} بزرگتر است (۰٫۰۰۷ ۱۰۴). از این رو فرمول (پ-۵) برآورد می‌شود و ماده مورد آزمون به اندازه کافی همگن می‌باشد.

پیوست ت
(آگاهی دهنده)
نمونه‌ای از برگ اطلاعات ایمنی

برگه اطلاعات ایمنی برای نمونه‌های الگوی PT مواد غذایی – خشک شده با انجماد

تاریخ اجرا: روز/ماه/سال

تاریخ بازنگری: روز/ماه/سال

صادر شده برای: همه شرکت کنندگان در طرح

شناسایی فرآورده و سازمان

فرآورده: نمونه‌های غذایی شبیه‌سازی شده برای آزمایشات میکروبیولوژی کلی

سازمان: آدرس کامل و اطلاعات تماس برای سازمان‌دهنده الگو

ترکیب یا اطلاعاتی در مورد مواد تشکیل دهنده

ویال‌های شیشه‌ای مواد خشک شده انجمادی دارای ترکیبی از باکتری‌های سطح ایمنی زیستی گروه ۲ هستند که طبق قانون ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی مشخص شده‌اند. ارگانیسم سطح ایمنی زیستی گروه ۲ ممکن است باعث بیماری انسان شود و ممکن است برای کارکنان آزمایشگاه خطر داشته باشد، اما بعید است که در جامعه سرایت پیدا کند.

شناسایی خطر

خطر فیزیکی شیمیایی: کاربرد ندارد

خطر سلامت: حداقل خطر ابتلا به عفونت، در صورتی که عملیات خوب آزمایشگاهی مشاهده شود.

خطر زیست محیطی: کاربرد ندارد

اقدامات کمک‌های اولیه

اگر تماس تصادفی با ماده رخ دهد، کارکنان آزمایشگاه باید از اقدامات کمک‌های اولیه در محل استفاده کنند که معمولاً پس از قرار گرفتن در معرض یک نمونه غذایی معادل اعمال می‌شوند. مشاوره پزشکی باید پس از قرار گیری در معرض آن انجام شود.

اقدامات آتش نشانی

کاربرد ندارد

اقدامات انتشار تصادفی

منطقه را با مواد جاذب بپوشانید و با مواد ضدعفونی‌کننده مناسب غوطه‌ور سازید. این منطقه باید قبل از حذف‌شدن نشتی با اضافه مواد جاذب به مدت ۳۰ دقیقه دست نخورده باقی به‌ماند. از تجهیزات حفاظتی شخصی مناسب بهره ببرید.

جابه‌جایی و انبارش

نمونه‌ها را در دمای اتاق در تاریکی نگه دارید. نمونه‌ها باید در محیط آزمایشگاهی فرآوری شوند که مطابق مقررات یا دستورالعمل‌های ملی مشخص شده برای عملیات میکروبیولوژی مناسب باشد. کارکنانی که با مواد سر و کار دارند باید در زمینه سر و کار داشتن با مواد بیولوژیکی عفونی آموزش دیده باشند. بهتر است به همان اندازه از مراقبت‌هایی که به نمونه‌های غذایی معادل انجام می‌شود، با مواد رفتار شود. توصیه می‌شود در حین کار با نمونه‌ها از تماس دست با دهان خودداری شود و روش‌های معمول شستن دست مربوط به سر و کار داشتن با نمونه‌های روتین نیز باید در نمونه‌های PT رعایت شود.

کنترل‌های در معرض قرارگیری و محافظت فردی

از عملیات خوب آزمایشگاهی استفاده کنید. روپوش، دستکش و محافظ چشم آزمایشگاهی مناسب بپوشید. برداشتن ویال‌ها از بسته‌بندی و بازسازی بهتر است در یک کابینت ایمنی انجام شود.

خواص فیزیکی و شیمیایی

ماده راکد، بی بو، خشک.

پایداری و واکنش‌پذیری

انبارش بعید است خطر ابتلا به عفونت ناشی از تماس با مواد را افزایش یا کاهش دهد.

اطلاعات سم شناسی

کاربرد ندارد

اطلاعات زیست محیطی

کاربرد ندارد

ملاحظات امحاء

همه مواد پس از مصرف باید همانند فرآورده‌های غذایی دارای میکروارگانیسم‌های عفونی و مطابق با همه مقررات بومی و ملی با استفاده از اتوکلاو امحاء شوند.

اطلاعات حمل و نقل

برای حمل و نقل باکتری‌ها در سطح ایمنی زیستی گروه ۲ (ماده بیولوژیکی، دسته B ؛ UN3373) به مقررات ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی مراجعه کنید.

اطلاعات آیین نامه‌ای

ماده بیولوژیکی EC، سطح ایمنی زیستی گروه خطر ۲.

احتیاط- این برگ اطلاعات ایمنی دارای ارزیابی‌های کاربر از خطرات محل کار مطابق قانون بهداشت و ایمنی نمی‌باشد.

سایر اطلاعات

در صورت بروز حادثه ناشی از قرار گرفتن کارکنان در معرض مواد موجود در نمونه‌ها، با مجریان الگو PT تماس بگیرید.

توصیه می‌شود مشارکت‌کنندگان جهت اطلاعات ایمنی بیشتر در مورد این فرآورده برگه دستورالعمل همراه با نمونه‌ها را مطالعه کنند.

پیوست ث
(آگاهی دهنده)
یک روش عملی برای ارزیابی عملکرد بلند مدت مشارکت‌کنندگان در الگوهای PT با استفاده از روش‌های شمارش

ث -۱ آماده کردن داده‌ها برای تجزیه و تحلیل

چهار ستون از یک صفحه گسترده برای تجزیه و تحلیل نتایج شمارش استفاده می‌شود:

a) شمارش مطابق با آنچه که توسط مشارکت‌کننده (n_R-count) گزارش شده است؛

b) شمارشی که برای نمودارها و هیستوگرام ها و/ یا برای نمره‌دهی (n_S-count) استفاده می‌شود؛

c) شمارش استفاده شده برای تجزیه و تحلیل (n_A-count)؛

d) ستون نظرات (قسمت متن) (n_C-count) برای ثبت هرگونه نظر در مورد نتایج مشارکت‌کنندگان.

شمارش n_R معمولاً بهتر است به‌صورت یک قسمت عددی (برای مثال:۱۱۰۰) یا یک عدد علمی (برای مثال: ۱٫۱e3) وارد شود. چنانچه نتیجه به‌عنوان یک مقدار سانسور شده گزارش شود، در این‌صورت از یک زمینه متنی استفاده می‌شود و یک علامت «کمتر از» یا «بزرگتر از» در جلوی عدد وارد می‌شود (برای مثال: ۱۰>، ۱۱۰۰< و غیره).

شمارش n_R نیز ممکن است به صورت متنی دیگر مانند NE (بررسی نشده[1])، ND (شناسایی نشده[2]) و UA (غیرقابل ارزیابی[3]) وارد شود، البته هر قسمت از ستون بهتر است دارای یک ورودی باشد.

چنانچه شمارش n_R را نتوان تجزیه و تحلیل نمود (برای مثال: به صورت NE وارد شود)، در این‌صورت هیچ تجزیه و تحلیل و اختصاص نمره دیگری وجود نخواهد داشت.

چنانچه شمارش n_R را نتوان تجزیه و تحلیل آماری نمود (برای مثال: نتیجه به عنوان یک مقدار سانسور شده بوده باشد، اما قرار باشد نمره اختصاص داده شود و یا نتیجه ترسیم شود)، در این‌صورت یک مقدار عددی به شمارش n_S اختصاص داده می‌شود.

در این‌مقدار اطمینان حاصل می‌شود که نمره به صورت صحیح اختصاص داده شده است و نتیجه به‌درستی ترسیم شده است. برای مثال: ممکن نیست نمرات به نتایج گزارش شده به صورت «کشف نشده» اختصاص داده شود، اما ممکن است گنجاندن این نتایج در نمودار مفید باشد. شمارش NS ممکن است به صورت ۹۹- وارد شود و شمارش n_A باید خالی بماند.

1- Not examined
2- Not detected
3- Not assessable

اگر یک نتیجه گزارش شده اختصاص پیدا کند نمره‌ای در محاسبات آماری گنجانده می‌شود؛ در این صورت n_A-count = n_S-count می‌باشد.

ث-۲ برخورد با داده‌های سانسور شده

همه نتایج سانسور شده کم با یکی از روش‌های زیر تجزیه و تحلیل می‌شوند:

a) به همه نتایج n_S-count مقدار ۰٫۲ اختصاص داده می‌شود، اما در تجزیه و تحلیل گنجانده نمی‌شوند (n_A-count = 0). زمانی این بحث مطرح می‌شود که گزارش‌های رقم سانسور شده کم یا گزارش‌های صفر یا «کشف نشده» به وضوح به دلیل خطای آزمایشگاهی باشد زیرا سطح ارگانیسم یا گروه هدف در نمونه نسبتاً بالا بوده است.

b) به همه مقادیر سانسور شده کم و نتایج صفر یا «کشف نشده» شمارش n_s از ۰٫۲[۱] اختصاص داده می‌شود و در تجزیه و تحلیل گنجانده می‌شود زیرا سطح ارگانیسم یا گروه هدف نسبتاً پایین بوده و ممکن است آن نتایج به طور اتفاقی بوجود آمده باشد (n_S-count = n_A-count = 0,2). استثنائاتی هم وجود دارد: برای مثال هنگامی که مقدار سانسور شده کم گزارش شده (کمتر از x)، سطح نامناسبی از تشخیص را نشان دهد و مقدار x در واقع از حد میانه (در محاسبه اولیه) بالاتر باشد. شمارش n_A در این موارد استثنایی بهتر است خالی بماند.

c) نمرات به مقادیر سانسور شده کم اختصاص نمی‌یابد. به طور کلی، بهتر است نمرات اختصاص داده شود مگر اینکه دلیل میکروبیولوژی برای انجام ندادن این کار وجود داشته باشد. خانه‌های شمارش n_A و شمارش n_S در این مورد خالی می‌ماند.

مقادیر سانسور شده بالا به عنوان ۰٫۱ $\log_{10}$ بالاتر از حداکثر امتیاز گزارش شده وارد می‌شوند. اگر به‌هر دلیلی نتایج از نمودارها و تحلیل‌ها بیرون نگه داشته شود و هیچ نمره‌ای اختصاص داده نشود، در این‌صورت خانه‌های شمارش n_S و شمارش n_A بهتر است خالی بماند. اگر نتیجه‌ای به صورت بیشتر از x گزارش داده شود که مقدار x کمتر از حد میانه باشد، در این صورت خانه شمارش n_A باید خالی بماند.

ث-۳ ترسیم نتایج

نمودارها بر مبنای ارقام شمارش n_S می‌باشند. دو نوع نمودار اصلی برای نتایج الگو PT وجود دارد: هیستوگرام (یا نمودارهای میله‌ای) و نمودارهای نقطه‌ای. نقاط مورد نظر در زمان انتخاب نوع نمودار شامل نوع آزمایش (MPN ، تعداد کلنی‌ها و غیره) و تعداد مشارکت‌کنندگان در آزمایش است.

هیستوگرام‌ها از مقدار لگاریتم اعشاری شمارش n_R ساخته می‌شوند و به صورت زیر گروه‌بندی می‌شوند:

< 0, (0 to 0,05), (0,05 to 0,1), (0,1 to 0,15), (max. $\log_{10}$ n_R-count), (max. $\log_{10}$ n_R-count + 0,05)

۱- مقدار ۰٫۲ استفاده می‌شود، زیرا به صفر نمی‌توان مقدار لگاریتم اعشاری اختصاص داد.

موارد غیر عددی یا خاصی که در نمودار ترسیم شوند (برای مثال: ۹۹-) بهتر است دارای ستون میله یا نوار خاص خود باشند.

از سوی دیگر، هیستوگرام ممکن است بر مبنای رقم لگاریتم اعشاری شمارش n_R ساخته شود که به نزدیکترین ۰٫۰۵ گرد می‌شود. در این‌حالت، گروه‌بندی‌ها به صورت زیر است:

$$0, 0{,}05, 0{,}1, 0{,}15 \ldots \text{max. } (\log_{10} n_R\text{-count})$$

میله ۰٫۱ در این مورد شامل همه نتایج از ۰٫۰۷۵ تا ۰٫۱۲۴ می‌باشد.

نمودارهای نقطه‌ای را می‌توان با استفاده از شمارش n_S به صورت مستقیم ترسیم کرد، در این‌صورت محور y به مقیاس لگاریتمی اعشاری تبدیل می‌شود. داده‌های غیرعددی از نمودارهای نقطه‌ای بیرون نگه داشته می‌شوند.

اندازه‌های دوتایی (گروه‌ها) $\log_{10}$ ۰٫۰۵ معمولاً برای هیستوگرام استفاده می‌شوند، بنابراین محدوده امتیازدهی نیز به $\log_{10}$ ۰٫۰۵ گرد می‌شود.

ث-۴ امتیازدهی

زمانی‌که نتایج الگو PT با استفاده از نمرات ارزیابی می‌شود، معیارهای اختصاص نمرات بهتر است در پروتکل‌های الگو یا گزارش‌ها فهرست شود. نمره برای نتیجه شمارش در یک خانه نمره (n_C- score) وارد می‌شود؛ این نمره ممکن است در صورت لزوم به‌صورت دستی اصلاح شود.

توجه داشته باشید که نمره نهایی برای یک نتیجه ممکن است از n_C- score به‌دست آید، اما سایر عوامل نیز ممکن در نظر گرفته شود.

کتاب‌نامه

[1] ISO 5725-2, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determinat ion of repeatabilit y and reproducibilit y of a standard measurement method*

یادآوری- استاندارد ۲-۷۴۴۲: ۱۳۸۴، درستی(صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری- قسمت ۲: روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدیدپذیری روش اندازه‌گیری استاندارد، با استفاده از استاندارد ISO 5725-2 تدوین شده است.

[2] ISO 5725-4, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 4: Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method*

یادآوری- استاندارد ۴-۷۴۴۲: ۱۳۸۹، درستی (صحت ودقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری- قسمت۴: روش‌های پایه برای تعیین صحت در یک روش اندازه‌گیری، با استفاده از استاندارد ISO 5725-4 تدوین شده است.

[3] ISO 5725-5, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 5:Alternative methods for the determination of the precision of a standard measurement method*

[4] ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations*

یادآوری- استاندارد ۹۸۹۹: ۱۳۹۴، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - الزامات کلی و راهنما برای آزمون‌های میکروبیولوژی، با استفاده از استاندارد ISO 7218 تدوین شده است.

[5] ISO 11133:2014, *Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media*

یادآوری- استاندارد ۸۶۶۳: ۱۳۹۴، میکروبیولوژی مواد غذایی، خوراک دام و آب -آماده سازی، ساخت، ذخیره‌سازی و آزمون عملکرد محیط‌های کشت، با استفاده از استاندارد ISO11133 تدوین شده است.

[6] ISO 16140-1:2016, *Microbiology of the food chain — Method validation — Part 1: Vocabulary*

یادآوری- استاندارد ۱-۱۰۵۲۷: ۱۳۹۶، میکروبیولوژی زنجیره غذایی- صحه‌گذاری روش‌ها - قسمت ۱: واژه نامه، با استفاده از استاندارد ISO16140-1 تدوین شده است.

[7] ISO 16140-2, *Microbiology of the food chain — Method validation — Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method*

یادآوری- استاندارد ۲-۱۰۵۲۷: ۱۳۹۶، میکروبیولوژی زنجیره غذایی- صحه‌گذاری روش‌ها- قسمت ۲: پروتکل صحه‌گذاری روش جایگزین (اختصاصی) در برابر یک روش مرجع، با استفاده از استاندارد ISO16140-2 تدوین شده است.

[8] ISO/IEC 17025, *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*

یادآوری- استاندارد ISIRI-ISO-IEC 17025: ۱۳۸۶، الزامات عمومی برای احراز صلاحیت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون، با استفاده از استاندارد ISO/IEC 17025 تدوین شده است.

[9] ISO 17034, *General requirements for the competence of reference material producers*

یادآوری- استاندارد INSO-ISO-IEC-17043: ۱۳۹۳، ارزیابی انطباق - الزامات عمومی آزمون مهارت، با استفاده از استاندارد ISO 17034 تدوین شده است.

[10] ISO/TS 19036, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines for the estimation of measurement uncertaint y for quantitative determinations*

یادآوری- استاندارد ۹۶۰۶: ۱۳۸۶، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- تخمین عدم قطعیت اندازه‌گیری در آزمون‌های کمّی- راهنما، با استفاده از استاندارد ISO/TS 19036 تدوین شده است.

[11] ISO/IEC Guide 99, *International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM)*

[12] Thompson M., Ellison L .R., Wood R. for IUPAC. The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. *Pure Appl. Chem*. 2006, 78, pp. 145-196. Available (2017-11-27) at: http: //www .iupac .org/publications/pac/2006/pdf/7801x0145 .pdf

[13] Augustin J.C., & Carlier V. Lessons from the organization of a proficiency testing program in food microbiology by interlaboratory comparison: Analytical methods in use, impact of methods on bacterial counts and measurement uncertaint y of bacterial counts. *Food Microbiol.* 2006, 23, pp. 1–38

[14] Fearn T., & Thompson M. A new test for “sufficient homogeneit y”. *Analyst (Lond.).* 2001, 126, pp. 1414 –1417

[15] Heisterkamp S . H. , Hoekstra J . A . , van Strijp-Lockefeer N. G.W. M. , H av el a a r A . H. , Mooijman K.A. In ‘ t Vel d P. H. *Statistical analysis of certification trials for microbiological reference materials*. Luxembourg: Commission of the European Communities, 1993. 41 p. (Report EUR 15008 EN)

[16] Jarvis B. Sampling for microbiological analysis. In: Lund B.M., Baird-Parker A.C., Gould G.W. (eds.) *The microbiological safet y and qualit y of food*. Vol . 2. Aspen Publ i shers, 2000, pp. 1691–1734

[17] Jarvis B. *Statistical aspects of the microbiological examination of foods*. Academic Press, Amsterdam, Third Edition, 2016, p. 352

[18] Jarvis B., Hedges A.J., Corry J.E.L. Assessment of measurement uncertainty for quantitative methods of analysis: Comparative assessment of the precision (uncertainty) of bacterial colony counts. *Int. J. Food Microbiol*. 2007, 116, pp. 44–51

[19] Jarvis B., Corry J.E.L., Hedges A.J. Estimates of measurement uncertainty from proficiency testing schemes, internal laboratory qualit y monitoring and during routine enforcement examination of foods. *J. Appl. Microbiol.* 2007, 103, pp. 462–467

[20] Tillett H. E. , & Lightfoot N. F. , Eaton, S. , Place B.M . External qualit y assessment of microbial counts from water: To score or not to score for proficiency. *J. Chart. Inst. Water Environ. Manag.* 2000, 14, pp. 304–308

[21] Rossi P. , M arucci G . , L alle M. , C asulli A . , Possenti A . , Pozio E . P rof icienc y t est i ng c ar r ied out by the European Union Reference Laboratory for Parasites. *Accredit . Qual. Assur*. 2015, 20, pp. 311–317