

DIN EN ISO 13843



ICS 07.100.20

Ersatz für
DIN V ENV ISO 13843:2001-12

**Wasserbeschaffenheit –
Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen von
quantitativen mikrobiologischen Verfahren (ISO 13843:2017);
Deutsche Fassung EN ISO 13843:2017**

Water quality –

Requirements for establishing performance characteristics of quantitative microbiological methods (ISO 13843:2017);

German version EN ISO 13843:2017

Qualité de l'eau –

Exigences pour l'établissement des caractéristiques de performance des méthodes microbiologiques quantitatives (ISO 13843:2017);

Version allemande EN ISO 13843:2017

Gesamtumfang 81 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 13843:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Unterausschuss NA 119-01-03-03 UA „Mikrobiologie“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Bezeichnung des Verfahrens:

Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen von quantitativen mikrobiologischen Verfahren (K 2):

Verfahren DIN EN ISO 13843 — K 2

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 17994:2014	siehe	DIN EN ISO 17944:2014-06
ISO 3534-1:2006	siehe	DIN ISO 3534-1:2009-10
ISO 5725-1:1994	siehe	DIN ISO 5725-1:1997-11
ISO 5725-2:1994	siehe	DIN ISO 5725-2:2002-12
ISO 5725-3:1994	siehe	DIN ISO 5725-3:2003-02
ISO 5725-4:1994	siehe	DIN ISO 5725-4:2003-01
ISO 5725-5:1998	siehe	DIN ISO 5725-5:2002-11
ISO 5725-6:1994	siehe	DIN ISO 5725-6:2002-08
ISO 8199:2005	siehe	DIN EN ISO 8199:2008-01
ISO 9308-1:2014	siehe	DIN EN ISO 9308-1:2014-12
ISO 9308-2:2012	siehe	DIN EN ISO 9308-2:2014-06
ISO 11133:2014	siehe	DIN EN ISO 11133:2015-01
ISO 16140-1:2016	siehe	DIN EN ISO 16140-1:2016-11
ISO 17511:2003	siehe	DIN EN ISO 17511:2003-11

Änderungen

Gegenüber DIN V ENV ISO 13843:2001-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der bisherige Titel „*Wasserbeschaffenheit - Richtlinie zur Validierung mikrobiologischer Verfahren*“ wurde geändert in „*Wasserbeschaffenheit – Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen von quantitativen mikrobiologischen Verfahren*“;
- b) die Struktur und der Inhalt der Norm wurden vollständig überarbeitet;
- c) die Anhänge wurden zum großen Teil vollkommen neu gefasst;
- d) der bisher in diesem Dokument verwendete Begriff „Validierung“ wurde ersetzt durch „Methoden zur Charakterisierung und zur Verifizierung von mikrobiologischen Verfahren“;
- e) die vorliegende Norm ist die nationale Übernahme einer ISO-Norm; die frühere Vornorm war die nationale Übernahme eines ISO/TR (Technical Report).

Frühere Ausgaben

DIN V ENV ISO 13843: 2001-12

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft – Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen von quantitativen mikrobiologischen Verfahren (K 2).

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 17994:2014-06, *Wasserbeschaffenheit — Anforderungen für den Vergleich der relativen Wiederfindung von Mikroorganismen durch zwei quantitative Verfahren (ISO 17994:2014); Deutsche Fassung EN ISO 17994:2014*

DIN ISO 3534-1:2009-10, *Statistik — Begriffe und Formelzeichen — Teil 1: Wahrscheinlichkeit und allgemeine statistische Begriffe (ISO 3534-1:2006)*

DIN ISO 5725-1:1997-11, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe (ISO 5725-1:1994)*

DIN ISO 5725-2:2002-12, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002)*

DIN ISO 5725-3:2003-02, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 3: Präzisionsmaße eines vereinheitlichten Messverfahrens unter Zwischenbedingungen (ISO 5725-3:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2001)*

DIN ISO 5725-4:2003-01, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 4: Grundlegende Methoden für die Ermittlung der Richtigkeit eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-4:1994)*

DIN ISO 5725-5:2002-11, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 5: Alternative Methoden für die Ermittlung der Präzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-5:1998)*

DIN ISO 5725-6:2002-08, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 6: Anwendung von Genauigkeitswerten in der Praxis (ISO 5725-6:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2001)*

DIN EN ISO 8199:2008-01, *Wasserbeschaffenheit — Allgemeine Anleitung zur Zählung von Mikroorganismen durch Kulturverfahren (ISO 8199:2005)*

DIN EN ISO 9308-1:2014-12, *Wasserbeschaffenheit — Zählung von Escherichia coli und coliformen Bakterien — Teil 1: Membranfiltrationsverfahren für Wässer mit niedriger Begleitflora (ISO 9308-1:2014); Deutsche Fassung EN ISO 9308-1:2014*

DIN EN ISO 9308-2:2014-06, *Wasserbeschaffenheit — Zählung von Escherichia coli und coliformen Bakterien — Teil 2: Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl (ISO 9308-2:2012); Deutsche Fassung EN ISO 9308-2:2014*

DIN EN ISO 11133:2015-01, *Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien (ISO 11133:2014, korrigierte Fassung 2014-11-01); Deutsche Fassung EN ISO 11133:2014*

DIN EN ISO 16140-1:2016-11, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 1: Terminologie (ISO 16140-1:2016); Deutsche Fassung EN ISO 16140-1:2016*

DIN EN ISO 17511:2003-11, *In-vitro-Diagnostika — Messung von Größen in Proben biologischen Ursprungs — Metrologische Rückführbarkeit von Werten, die Kalibriermaterialien und Kontrollmaterialien zugeordnet sind (ISO 17511:2003); Deutsche Fassung EN ISO 17511:2003*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Wasserbeschaffenheit —
Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen
von quantitativen mikrobiologischen Verfahren
(ISO 13843:2017)

Water quality —
Requirements for establishing performance
characteristics of quantitative microbiological methods
(ISO 13843:2017)

Qualité de l'eau —
Exigences pour l'établissement des caractéristiques de
performance des méthodes microbiologiques
quantitatives
(ISO 13843:2017)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 5. Juni 2017 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	5
Vorwort	6
Einleitung	7
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 Grundbegriffe	15
4.1 Allgemeines	15
4.2 Charakterisierung	15
4.3 Verifizierung	17
4.4 Verfahrensvergleich	17
4.5 Proben	18
5 Spezifikationen: einige Richtlinien	18
6 Gestaltungen für die Bestimmung der Leistungsmerkmale eines Verfahrens	19
6.1 Allgemeine Überlegungen	19
6.2 Berechnung der Sensitivität, Spezifität, Effizienz Selektivität, Falsch-Positiv-Rate und Falsch-Negativ-Rate	19
6.2.1 Typ und Anzahl der verwendeten Proben	19
6.2.2 Probenanzahl	20
6.2.3 Durchführung	20
6.2.4 Kategorien von Leistungsmerkmalen	20
6.2.5 Ausgearbeitetes Beispiel	22
6.3 Bestimmung der Obergrenze und Berücksichtigung der unteren Erkennungsgrenze	23
6.3.1 Arbeitsbereich	23
6.3.2 Obergrenze in Bezug auf Linearität	23
6.3.3 Verwendbare Probenarten und Probenanzahl	24
6.3.4 Ausgearbeitetes Beispiel	25
6.3.5 Die untere Nachweisgrenze	26
6.4 Präzisionsbewertung: Bestimmung der Wiederhol- und Vergleichpräzision	26
6.4.1 Allgemeines	26
6.4.2 Wiederholpräzision	27
6.4.3 Laborinterne Vergleichpräzision	29
6.5 Robustheit	31
6.5.1 Allgemeines	31
6.5.2 Experimentelle Gestaltungen für Auswirkungen aufgrund von Zeit und Temperatur	31
6.6 Relative Wiederfindung	32
6.6.1 Allgemeines	32
6.6.2 Bestimmung der relativen Wiederfindung	32
6.7 Zählunsicherheit	33
6.7.1 Allgemeines	33
6.7.2 Experimentelle Gestaltung für die Auswertung der Unsicherheit beim Auszählen der Kolonien	33
6.7.3 Beispiel einer individuellen (oder personellen) Unsicherheit beim Auszählen der Kolonien	33

6.7.4	Beispiel einer laborinternen Unsicherheit beim Auszählen der Kolonien.....	34
6.7.5	Beispiel einer laborinternen Unsicherheit beim Auszählen von MPN	35
7	Verifizierung von Leistungsmerkmalen einer Methode bei Implementierung in ein Labor	36
7.1	Allgemeine Überlegungen	36
7.2	Berechnung der Sensitivität, Spezifität, Effizienz, Selektivität, Falsch-Positiv-Rate und Falsch-Negativ-Rate	36
7.2.1	Verwendbare Probenarten	36
7.2.2	Anzahl der Proben	37
7.2.3	Verfahrensweise für die Bestätigung.....	37
7.2.4	Kategorien von Leistungsmerkmalen.....	37
7.3	Bestimmung der Wiederholpräzision	38
7.4	Zählunsicherheit.....	39
7.5	Durchführung der Verifizierung eines einzelnen Labors.....	39
	Anhang A (informativ) Mathematische Variationsmodelle.....	43
A.1	Allgemeines	43
A.2	Intrinsische Genauigkeit von Koloniezählungen.....	43
A.3	Die intrinsische Präzision der MPN-Zählungen	45
A.3.1	Allgemeines	45
A.3.2	Einzelne MPN-Verdünnung.....	45
A.3.3	Mehrfache MPN-Verdünnung.....	46
A.4	Überdispersion.....	48
A.4.1	Allgemeines	48
A.4.2	Das negative binomische Modell	48
A.5	Nachweis von Überdispersion	50
A.6	Quantitative Bestimmung von Überdispersion.....	50
A.6.1	Erstes Verfahren nach Anscombe.....	50
A.6.2	Regressionsansatz.....	51
A.6.3	Index des Dispersions- (χ^2 oder G^2) Ansatz.....	51
A.6.4	Überdispersion auf dem Niveau des Nachweissystems	52
	Anhang B (normativ) Bewertung der unteren Grenzen.....	53
B.1	Allgemeines	53
B.2	Nachweisgrenze auf Wahrscheinlichkeitsbasis	53
B.2.1	Poisson-Modell.....	53
B.2.2	MPN-Verfahren.....	54
B.2.3	Negatives Binomialmodell von Überdispersion	54
B.3	Bestimmungsgrenze auf Präzisionsbasis	55
B.3.1	Allgemeines	55
B.3.2	Das Poisson-Modell.....	55
B.3.3	Das negative binomische Modell	55
B.3.4	Gestaltungsuntergrenzen.....	55
	Anhang C (normativ) Bewertung der Obergrenze	56
C.1	Allgemeines	56
C.2	Statistische Auswertung der Obergrenze.....	56
	Anhang D (normativ) Bestimmung der operationalen Veränderlichkeit bei Wiederholpräzision und laborinternen erweiterten Vergleichbedingungen	57
D.1	Allgemeiner Fall: Statistische Auswertung in einem Experiment zur Wiederholpräzision	57
D.2	Allgemeiner Fall: Statistische Auswertung in einem laborinternen Vergleichsexperiment für Koloniezählverfahren.....	59
D.3	Allgemeiner Fall: Statistische Auswertung in einem laborinternen Vergleichsexperiment für MPN-Verfahren.....	59
	Anhang E (normativ) Zählunsicherheit.....	61
E.1	Allgemeines	61

E.2	Statistische Bestimmung der Unsicherheit beim Auszählen von Kolonien und Auslesen von MPN	61
E.3	Individuelle (oder personelle) Unsicherheit beim Auszählen der Kolonien	62
E.4	Laborinterne Unsicherheit beim Auszählen der Kolonien	62
Anhang F (normativ) Bestimmung der operationalen Veränderlichkeit (laborübergreifenden Vergleichpräzision) in einem Ringversuch zum Leistungsvergleich		
F.1	Anforderungen für ein laborübergreifendes Experiment zur Präzision	63
F.2	Allgemeiner Fall für Koloniezählverfahren – Statistische Auswertung für eine gegebene Reihe von Proben.....	63
F.2.1	Berechnungsansatz.....	63
F.2.2	Bestimmung der individuellen und der gesamten Wiederholbarkeit der Labore.....	65
F.2.3	Bestimmung des laborübergreifenden Anteils der Variabilität	66
F.2.4	Bestimmung der Werte u_0, r_2 und u_0, R_2	66
F.3	Ausgearbeitetes Beispiel für Koloniezählverfahren	67
F.3.1	Allgemeines	67
F.3.2	Bestimmung der individuellen und übergreifenden Dispersion unter Wiederholbedingungen.....	67
F.3.3	Bestimmung der laborübergreifenden Dispersion unter Vergleichbedingungen	68
F.3.4	Endgültige Darstellung der laborübergreifenden Präzisionsparameter des Verfahrens	68
F.4	Ausgearbeitetes Beispiel für ein MPN-Verfahren.....	69
Anhang G (informativ) Glossar grundsätzlicher Symbole		72
Literaturhinweise.....		74

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 13843:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Januar 2018, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2018 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt ENV ISO 13843:2001.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 13843:2017 wurde von CEN als EN ISO 13843:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147, *Water quality*, Subcommittee SC 4, *Microbiological methods* erarbeitet.

Diese erste Ausgabe von ISO 13843 ersetzt ISO/TR 13843:2000, der technisch überarbeitet wurde.

Einleitung

Verfahren werden als mikrobiologisch betrachtet, wenn der quantitative Schätzwert auf der Auszählung von Partikeln beruht, entweder direkt mithilfe eines Mikroskops oder indirekt durch Wachstum (Vermehrung) in Kolonien, Trübung, Farbveränderungen oder Fluoreszenz. Die Grundlagen und Verfahrensabläufe im Anwendungsbereich dieses Dokuments sind allgemein bekannt als direkte (mikroskopische) Zählung, die wahrscheinlichste Zahl (MPN, en: most probable number) und die Koloniezählung. Die meisten Verfahrensabläufe für die Bestimmung der Leistungsmerkmale, die in diesem Dokument beschrieben werden, gelten für alle drei Typen dieses Verfahrens. Wenn diese Verfahrensabläufe jedoch nicht anwendbar sind, werden alternative Vorschläge innerhalb dieses Dokuments oder in den Anhängen D und E gemacht (in Bezug auf Wiederhol- und Vergleichpräzision und Zählunsicherheit).

Plaques von Bakteriophagen ähneln in überwiegender Hinsicht den bakteriellen Koloniezahlen.

Einige der „neueren“ mikrobiologischen Verfahren, bei denen man sich der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) oder Polymerase-Kettenreaktion (PCR, en: polymerase chain reaction) bedient, können durch dieses Dokument ebenso abgedeckt werden, erfordern jedoch eine besondere Berücksichtigung, abhängig von ihrer Anwendungsweise. Wichtige Themen in diesen Situationen umfassen den Mechanismus der Bestimmung der Anzahl der vorhandenen Mikroben (z. B. Normkurve für qPCR oder mikroskopisches Auszählen für FISH) und die Lebensfähigkeit der erkannten Organismen. Wenn solche Techniken für eine Bestätigung als ein Teil des Verfahrens verwendet werden, sind alle Abschnitte dieses Dokuments relevant.

Auch wenn es nicht entscheidend ist, ist es für die Charakterisierung der mikrobiologischen Verfahren vorteilhaft, Daten mit Organismen unter Stress zu erzeugen. Verschiedene Verfahren können angewandt werden, um die Organismen in Stress zu versetzen, die zwei nützlichsten für Wasser jedoch sind Stress durch Desinfektionsmittel (üblicherweise Schädigung durch Chlor) und Nährstoffauszehrung, die durch Organismen verursacht wird, die vor der Prüfung eine Zeit lang in einer Umgebung mit niedrigem Nährstoffgehalt (d. h. Trinkwasser und andere oligotrophe Wasserarten) gelebt haben. Die Wirkung auf einige der Leistungsmerkmale bei „Strapazierung“ der Organismen hängt fast völlig von der Art und dem Grad der Strapazierung ab, daher ist die Aufnahme solcher Details in diese Norm unangemessen. Es gibt jedoch Beschreibungen in der Literatur, die Labore befolgen können, f sie die Leistungsmerkmale eines Verfahrens mit strapazierten Zellen bestimmen möchten.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument behandelt die Charakterisierung von mikrobiologischen Methoden. Im Rahmen dieses Dokuments bezeichnet die Charakterisierung die Untersuchung solcher Parameter, die gemessen werden können um zu beschreiben, wie leistungsfähig die Methode voraussichtlich bei definierten Rahmenbedingungen sein wird. Dieses Dokument beschreibt Verfahrensabläufe für die Bestimmung der Leistungsmerkmale, die für eine anschließende Validierung oder Verifizierung der Verfahren verwendet werden können.

Die Betonung liegt auf den selektiven quantitativen Methoden und dieses Dokument gilt für alle Wasserarten. Für Methoden, die nicht auf direkter mikroskopischer Zählung, Koloniezählung oder wahrscheinlichster Zahl beruhen, sollte die Anwendung der in diesem Dokument beschriebenen Verfahren sorgfältig geprüft werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 17994:2014, *Water quality — Requirements for the comparison of the relative recovery of microorganisms by two quantitative methods*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1 Genauigkeit einer Messung
Nähe der Übereinstimmung zwischen einem gemessenen quantitativen Wert und einem wahren Wert einer Messgröße

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Konzept „Genauigkeit einer Messung“ ist nicht quantitativ und ihm wird kein quantitativer numerischer Wert zugeordnet.

Anmerkung 2 zum Begriff: „Genauigkeit einer Messung“ wird manchmal verstanden als Nähe der Übereinstimmung zwischen gemessenen quantitativen Werten, die der Messgröße zugeordnet sind.

[QUELLE: ISO/IEC Guide 99:2007, 2.13 [16], modifiziert — „a true quantity value“ ersetzt durch „... an assigned quantity value“, Anmerkungen 1 und 2 hinzugefügt]

3.2 Analyt
der im Namen der messbaren Größe angegebene Bestandteil

Anmerkung 1 zum Begriff: In der Mikrobiologie des Wassers wird der Analyt idealerweise als eine Liste taxonomisch festgelegter Spezies definiert. In den meisten Fällen der Praxis kann der Analyt nur von einer Gruppenbezeichnung definiert werden, die ungenauer als die taxonomischen Definitionen ist.

[QUELLE: ISO 17511:2003, 3.2 [14]]

3.3

Analysenteilprobe

Probenanteil

Volumen der auf eine Nachweiseinheit (Agarplatte, Membranfilter, Prüfröhrchen, mikroskopisches Planquadrat) geimpften Partikelsuspension

3.4

Bias

Bias der Messung

Schätzung der systematischen Messabweichung oder die systematische Differenz zwischen dem quantitativ bestimmten Wert und den durchschnittlichen Messwiederholungsergebnissen

3.5

kategoriale Merkmale

Verfahrenskennzahlen, die numerisch als relative Häufigkeit, basierend auf einer P/A- oder +/– -Klassifizierung, ausgedrückt werden

3.6

koloniebildende Einheit

KBE

koloniebildendes Partikel

KBP

Organismus (oder Organismengruppen) mit der Fähigkeit zur Bildung einer Kolonie unter bestimmten festgelegten Bedingungen

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Bezeichnung wurde ursprünglich eingeführt, um die Vorstellung zu vermitteln, dass eine Kolonie nicht nur aus einer einzigen Zelle stammen kann, sondern von einer festen Kette oder einem Aggregat von Zellen, einer Sporenanhäufung, einem Stück Myzelium usw. Es setzt fälschlicherweise die Zahl der beobachteten Kolonien gleich mit der Zahl lebender Einheiten, die auf ein Medium geimpft wurden. Wachstumseinheit, lebendes Partikel, Fortpflanzungseinheit und Keim sind Begriffe mit derselben Bedeutung, die aber die ursprüngliche Vorstellung besser vermitteln und sich nicht nur auf Koloniezählverfahren, sondern ebenso auf MPN-Verfahren anwenden lassen.

3.7

gemeinschaftliche Verfahrensleistungsprüfung

Verfahrens- oder Laborleistungsprüfung, bei der verschiedene Labore an einem Experiment teilnehmen, das von einem leitenden Labor geplant und koordiniert wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Es gibt im Wesentlichen zwei Arten von gemeinschaftlichen Verfahrensleistungsprüfungen. Interkalibrierungsuntersuchungen werden durchgeführt, um Laboren einen Vergleich ihrer analytischen Ergebnisse mit denen der anderen teilnehmenden Labore zu ermöglichen.

Anmerkung 2 zum Begriff: Verfahrensleistungsprüfungen ergeben Präzisionsschätzungen (Wiederhol- und Vergleichpräzision) anhand von Daten, die anfallen, wenn verschiedene teilnehmende Labore identisches Probenmaterial mit einem genau standardisierten Verfahren untersuchen.

3.8

bestätigte Koloniezahl

verifizierte Koloniezahl

Anzahl verdächtiger Kolonien, korrigiert um falsch-positive Ergebnisse

Anmerkung 1 zum Begriff: Mathematisch:

$$pc = \frac{k}{n}c$$

Dabei ist

- c die Zahl verdächtiger Kolonien;
- p die Rate der Echt-Positiven-Ergebnisse;
- n die Zahl der verdächtigen Kolonien, die zur Bestätigung isoliert wurden;
- k die Zahl der bestätigten Kolonien.

3.9

Bestätigungszahl

Zahl, die mittels eines zweiten Bestätigungsverfahrens erreicht wird

3.10

Nachweisgrenze

Mindestkonzentration von Organismen, die ein Wachstum mit einer Wahrscheinlichkeit von $P = 0,95$ aufweisen, bei Beimpfung eines festgelegten Nährmediums und Bebrütung unter festgelegten Bedingungen

Anmerkung 1 zum Begriff: Die theoretische Ebene, die diese Definition erfüllt, liegt im Durchschnitt von drei lebensfähigen Zellen in einem Inokulum-Volumen.

3.11

Nachweisreihe

Nachweissystemreihe

Kombination von Platten oder Röhrchen, auf denen die quantitative Schätzung der mikrobiologischen Konzentration beruht

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Nachweisreihe ist der Satz an Platten oder Röhrchen, der für die zahlenmäßige Schätzung eines einzelnen Wertes verwendet wird.

BEISPIEL Parallelplatten einer Suspension, Platten aufeinanderfolgender Verdünnungen, 3×5 -Röhrchen-MPN-System, Mikrotiterplatte.

3.12

Nachweissystem

Partikelnachweissystem

Platte mit fester Matrix oder ein Röhrchen mit flüssigem Nährmedium zur Zählung oder zum Nachweis biologisch aktiver Partikel

3.13

Effizienz

E

Anteil der Kolonien, die korrekt als positiv und negativ bestimmt werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Mathematisch:

$$E = \frac{a + d}{n}$$

Dabei ist

- a die Anzahl der typischen Kolonien, die als Zielorganismen bestätigt wurden (Echt-Positive);
- d die Anzahl der atypischen Kolonien, die als Nicht-Zielorganismen bestätigt wurden (Echt-Negative);
- n die Gesamtanzahl der für die Bestätigung geprüften Kolonien.

3.14

Falsch-Negative

durch das Prüfverfahren angegebene negative Ergebnisse, die nachträglich als Zielorganismen identifiziert werden

3.15

Falsch-Positive

durch das Prüfverfahren angegebene positive Ergebnisse, die nachträglich als Nichtzielorganismen identifiziert werden

3.16

Keim

lebende Einheit mit der Fähigkeit biologischer Aktivität (z. B. Respiration oder Reproduktion in einem Nährmedium)

3.17

Bestimmungsgrenze

niedrigste Partikelkonzentration je Untersuchungsvolumen, bei der die erwartete relative Standardunsicherheit einem festgelegten Wert entspricht

3.18

methodenbasierte Zahl

Zahl, die auf der ausschließlichen Anwendung der in dieser Methode beschriebenen Verfahren beruht

3.19

negative Binomialverteilung

eine bestimmte statistische Verteilung von Zählwerten mit „Überdispersion“

Anmerkung 1 zum Begriff: Ihre Varianz kann ausgedrückt werden als $s^2 = \bar{x} + u_0^2 \bar{x}^2$ ($\bar{x}$ = mean).

Anmerkung 2 zum Begriff: In diesem Dokument wird das Quadrat der relativen operationalen Standardabweichung (u_0) für den inversen Exponenten ($1/k$) in der Standardgleichung der negativen Binomialverteilung eingesetzt.

3.20

Ausreißer

Mitglied einer Reihe von Werten, das mit anderen Mitgliedern dieser Reihe nicht übereinstimmt

Anmerkung 1 zum Begriff: Extremwert, der normalerweise zufällig in weniger als 1 % der Wiederholungstests vorkommt, jedoch häufiger, wenn nicht-normale Situationen auftreten. Statistische Testverfahren können zur Quantifizierung der Wahrscheinlichkeit verwendet werden.

3.21

Überdispersion

über die der Poisson-Verteilung hinausgehende Zufalls-Variation

Anmerkung 1 zum Begriff: Durch Poisson-Verteilungsindex qualitativ nachgewiesen und quantitativ bestimmt durch die Schätzung des Parameters u_0 (relative operationale Standardabweichung) der negativen Binomialverteilung.

3.22

Parallelzählungen

Partikel- oder Koloniezahlen in gleichen Untersuchungsvolumina, die aus derselben Suspension entnommen werden

3.23

Poisson-Verteilung

vollkommen zufällige Verteilung der Partikelzahlen bei Beprobung einer vollständig durchmischten Suspension

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Wahrscheinlichkeit $P(k)$, genau k Einheiten in einem Probenanteil zu beobachten, wenn der Mittelwert gleich μ ist, ergibt sich aus

$$P(k) = \frac{\mu^k}{k!} e^{-\mu} \quad \text{N1)$$

3.24

Präzision

Präzision einer Messung

Nähe der Übereinstimmung zwischen Schätzungen oder gemessenen quantitativen Werten, die durch Wiederholungsmessungen an denselben oder ähnlichen Objekten unter festgelegten Bedingungen erhalten werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Präzision einer Messung wird üblicherweise als Ungenauigkeit ausgedrückt, z. B. als Standardabweichung, Varianz oder Varianzkoeffizient bei den festgelegten Messbedingungen.

Anmerkung 2 zum Begriff: Die ‚festgelegten Bedingungen‘ können z. B. die Wiederholbarkeit der Messungen, Zwischenbedingungen der Präzision der Messung, oder Vergleichbarkeitsbedingungen der Messung (siehe ISO 5725-3 [4]) sein.

Anmerkung 3 zum Begriff: Die Präzision einer Messung wird zur Festlegung der Wiederholbarkeit der Messung, der Zwischenpräzision der Messung und der Vergleichbarkeit der Messung verwendet.

3.25

Proportionalität

Übereinstimmung der beobachteten Partikelzahlen mit dem Volumen (oder der Verdünnung) einer Reihe von Untersuchungsvolumina aus einer gemeinsamen Stammsuspension

Anmerkung 1 zum Begriff: Proportionalität wird berechnet als die Log-Likelihood-Quotienten-Statistik G^2 mit $n-1$ Freiheitsgraden.

3.26

Wiederfindung

allgemeiner Begriff für die geschätzte Anzahl an bestimmten Partikeln in einem Probenanteil oder in einer Probe, mit der Annahme, dass eine wahre (aber unbekannte) Partikelzahl existiert, von der 100 % oder weniger durch die angewandte Methodik „wiedergefunden“ wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Ein ähnlicher Begriff, der üblicherweise verwendet wird, ist Produktivität (siehe ISO 11133 [12]).

3.27

relative Wiederfindung

Verhältnis von Koloniezählungen, die mit zwei Verfahren bei gleichen Probenanteilen aus derselben Suspension gewonnen werden

N1) Nationale Fußnote: In der englischen Fassung von ISO 13843:2017 wird in der Gleichung falsch u anstelle von μ verwendet.

3.28

relative operationale Standardabweichung

u_0

operationale Veränderlichkeit, die als relative Standardunsicherheit ausgedrückt und mit den technischen Schritten des analytischen Verfahrensablaufs verknüpft wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Die relative operationale Standardabweichung wird oft in Prozent angegeben.

3.29

relative operationale Varianz

u_0^2

Überdispersionskonstante, das Quadrat der relativen operationalen Standardabweichung

3.30

relative Standardabweichung

u_{rel}

Schätzung der Standardabweichung einer Population aus einer Stichprobe von n Ergebnissen dividiert durch das arithmetische Mittel dieser Probe

3.31

relative Varianz

u_{rel}^2

Quadrat der relativen Standardabweichung

3.32

Wiederholpräzision

Wiederholpräzision der Messung

Präzision der Messung bei einer Reihe von Wiederholbedingungen von Messungen

3.33

Wiederholbedingungen

Messbedingungen als Teile von Bedingungen, die dasselbe Messverfahren, denselben Untersuchungsdurchführenden, dasselbe Messsystem, dieselben Betriebsbedingungen und denselben Untersuchungsort, sowie Wiederholungsmessungen desselben oder ähnlicher Objekte innerhalb einer kurzen Zeitdauer, umfassen

3.34

Vergleichpräzision

Vergleichpräzision der Messung

Präzision der Messung bei den Vergleichbarkeitsbedingungen von Messungen

Anmerkung 1 zum Begriff: Relevante statistische Begriffe sind in ISO 5725-1 [2] und ISO 5725-2 [3] enthalten.

3.35

Vergleichpräzisionsbedingungen

Messbedingungen als Teile von Bedingungen, die verschiedene Orte, Untersuchungsdurchführende, Messsysteme sowie Wiederholungsmessungen desselben oder ähnlicher Objekte umfassen

3.36

Robustheit

Unempfindlichkeit eines analytischen Verfahrens gegenüber kleinen Veränderungen des Verfahrensablaufs

Anmerkung 1 zum Begriff: Um die Robustheit zu untersuchen ist es ratsam, das Verfahren in kontrollierter Weise zu „missbrauchen“.

3.37

Sensitivität

Anteil positiver Kulturen oder Kolonien an der Gesamtanzahl, die in der vorläufigen Untersuchung korrekt identifiziert wurden

3.38

Spezifität

Anteil negativer Kulturen oder Kolonien an der Gesamtanzahl, die in der vorläufigen Untersuchung korrekt identifiziert wurden

3.39

Standardunsicherheit

Unsicherheit des Ergebnisses einer Messung, ausgedrückt als Standardabweichung

3.40

Zählunsicherheit

die relative Standardabweichung der Ergebnisse wiederholten Zählens der Kolonien oder Partikel derselben Platte(n) oder Feld(er) unter festgelegten Bedingungen (dieselbe Person, verschiedene Personen im Labor)

3.41

Verifizierung

Durchführung einer zweiten Charakterisierung durch ein anderes Labor zum Zweck der Bestätigung der Ergebnisse der ursprünglichen Bestimmung der Leistungsmerkmale

4 Grundbegriffe

4.1 Allgemeines

Mikroskopische Zellzahlen folgen, was die Partikelstatistik anbelangt, den gleichen Gesetzmäßigkeiten wie die Lebendzellzahlen, haben aber, mit Ausnahme der Mikrokolonieverfahren, nicht die biologischen Probleme, die mit dem Wachstum verbunden sind. Differenzierende Farbstoffe, spezifisch markierte Komplexe oder andere Verbindungen, die eingesetzt werden, um die Zielorganismen zu finden, ändern nichts an den Grundprinzipien. Es können die gleichen Grundsätze angewendet werden wie für die selektiven Verfahren der Koloniezahlbestimmung. Für ein vertiefendes Verständnis der Theorie und Anwendung der in diesem Dokument verwendeten Gleichungen ist die mathematische Basis für die Variante, die in all diesen Verfahrenstypen gefunden wurde, in Anhang A aufgeführt.

4.2 Charakterisierung

Die Charakterisierung eines mikrobiologischen Verfahrens beruht weitgehend auf der Untersuchung und der Formulierung der Leistungsmerkmale dieses Verfahrens.

Die Charakterisierung ist ein Prozess, bei dem Informationen über eine wahrscheinliche Leistung des Verfahrens unter besonderen Umständen gegeben werden. Es ist nicht die Absicht dieses Dokuments, Richtwerte für jedes spezifizierte Leistungsmerkmal anzugeben, sondern eher eine Richtlinie für die Bestimmung der Parameter und wie sie bestmöglich für Vergleiche abzuleiten sind. Verfahren, die „schlechte“ Leistungsmerkmale aufweisen, können immer noch nützlich sein.

Charakterisierung ist ein sondierender Prozess mit dem Ziel, die wahrscheinlichen Leistungsmerkmale eines neuen, modifizierten oder in anderer Weise unzureichend beschriebenen Verfahrens festzustellen. Sie sollte zu numerischen und beschreibenden Kenngrößen für die Leistungsfähigkeit führen und eine detaillierte und eindeutige Beschreibung des Nachweisziels beinhalten (wie positive Kolonie, Röhrchen oder Plaque). Die ermittelten Werte sollten jedoch nicht als Grenzen verwendet werden, da sie sich, abhängig vom Labor, der Matrix oder sogar von den spezifischen Proben, verändern könnten.

Die Charakterisierung wird von einem einzelnen Labor zunächst durchgeführt, um die wahrscheinliche Leistung eines Prüfverfahrens in einem spezifischen Labor zu bestimmen.

Eine gemeinschaftliche Studie über die Verfahrensleistung kann als ein ergänzender Schritt durchgeführt werden, um die Leistungsmerkmale in einem Laborringversuch auszuwerten.

ANMERKUNG Ein Labor, das ein eigenes Verfahren oder eine Variante einer bestehenden Norm entwickelt, könnte die Charakterisierungsschritte durchführen.

Es ist unumgänglich, dass technische Angestellte, die an der Charakterisierung eines Verfahrens beteiligt sind, fundierte Erfahrungen mit anderen mikrobiologischen Verfahren aufweisen.

Die Leistungsmerkmale, die durch dieses Dokument abgedeckt sind, sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1 — In diesem Dokument beschriebene Leistungsmerkmale

Parameter	Definition
Sensibilität ^{a, b, c}	Anteil der Gesamtpositivergebnisse ^e , die in der vorläufigen Zählung richtig bestimmt wurden
Spezifität ^{a, b, c}	Anteil der Gesamtnegativergebnisse ^f , die in der vorläufigen Zählung richtig bestimmt wurden
Falsch-Positiv-Rate ^{a, b}	Anteil der positiven Ergebnisse (z. B. typische Kolonien), die sich nachträglich als Nichtzielorganismen erweisen
Falsch-Negativ-Rate ^{a, b}	Anteil der negativen Ergebnisse (z. B. atypische Kolonien), die sich nachträglich als Zielorganismen erweisen
Selektivität ^{a, b, c}	Verhältnis der Zahl an Zielkolonien zur Gesamtanzahl an Kolonien im Probevolumen
Effizienz ^{a, b}	Anteil der Gesamtkolonien, die in der vorläufigen Zählung richtig bestimmt wurden
Obergrenze ^a	Obergrenze des Arbeitsbereichs, für den das Verfahren geeignet ist (d. h. die maximale Anzahl der zählbaren Kolonien je Teller oder andere Nachweissysteme)
Wiederholpräzision ^{a, b, c}	Präzision unter Wiederholbedingungen (demselben Bearbeiter, denselben Arbeitsbedingungen, kurze Zeitspanne ...)
Vergleichpräzision ^a	Präzision unter laborinternen Vergleichbedingungen ^d
Robustheit ^a	Maß für die Kapazität einer Prüfung, durch kleine, aber absichtliche Veränderungen bei den Prüfbedingungen (z. B. Temperatur) unbeeinflusst zu bleiben
Relative Wiederfindung ^a	Wirkungsgrad, mit dem ein Verfahren bei Vergleich mit einer anderen Verfahrensweise die Zielorganismen aus einer Probe wiederfindet. (Dieser Vergleich ist durchzuführen, wenn ein alternatives Verfahren für denselben Organismus vorhanden ist. Der Vergleich mit einem ISO-Referenzverfahren wird bevorzugt.)
Zählunsicherheit ^{a, b}	Die relative Standardabweichung der Wiederholungszählungen des Ziels, die sich durch eine wiederholte Zählung ergeben hat (Teller, Flächen, Röhrchen usw.), unter vorgeschriebenen Bedingungen (dieselbe Person, verschiedene Personen, dasselbe Labor usw.)

^a Erforderlich für die Bestimmung der Leistungsmerkmale.

^b Erforderlich für eine Verifizierung durch ein einzelnes Labor.

^c Angegebene Leitfaden-Spezifikation.

^d Verfahren für die Vergleichpräzision und Präzision zwischen mehreren Laboren werden in Anhang F beschrieben. Die Verwendung dieser Verfahrensweisen sollte dann berücksichtigt werden, wenn ein Leistungsvergleich zwischen mehreren Laboren von besonderer Bedeutung ist, zum Beispiel, wenn die Verfahrensweisen zur Einhaltung gesetzlicher Auflagen entwickelt werden.

^e Positivergebnisse können Koloniezahlen, positive Reaktionsgefäße (MPN) oder Zellanzahlen sein.

^f Negativergebnisse können atypische Kolonien, negative Reaktionsgefäße (MPN) oder Zellen ohne erforderliche spezifische Charakteristika sein.

Obwohl die Vergleichpräzision und Präzision zwischen mehreren Laboren nicht Gegenstand der Leistungsmerkmale sind, die in diesem Dokument beschrieben sind, ist die Kenntnis dieser Parameter in bestimmten Situationen besonders wünschenswert. Solche Situationen sind u. a. die Prüfung der Übereinstimmung mit gesetzlichen Vorschriften, oder wenn Daten mehrerer Labore aus verschiedenen Gründen verglichen werden. Für diese Zwecke werden vorgeschlagene Verfahren zur Bestimmung der Vergleichpräzision von Laboren in Anhang F beschrieben.

4.3 Verifizierung

Die Verifizierung findet statt, wenn ein Labor beginnt, ein Verfahren anzuwenden, das woanders entwickelt wurde. Verifizierung konzentriert sich auf das Sammeln von Nachweisen, dass das Labor in der Lage ist, Leistungsdaten, die den in der primären Charakterisierung bestimmten ähneln, zu erzeugen. Es ist nicht hilfreich, Grenzen für die verschiedenen Komponenten der Verfahrenscharakterisierung festzulegen, da diese sich verändern können, abhängig von vielen Aspekten in Bezug auf Verfahren, Probenotyp und das durchführende Labor. Die Verifizierungsdaten sollten verwendet werden, um den Typ und die Qualität der Daten, die voraussichtlich vom Labor mit einer vorgegebenen Verfahrensweise und allen vorgegebenen Probenotypen erzeugt werden, festzulegen.

Üblicherweise benutzt die Verifizierung ausgewählte und vereinfachte Formen derselben Verfahren, die in der primären Charakterisierung verwendet wurden, aber möglicherweise über einen längeren Zeitraum. Natürliche Proben sind das optimale Versuchsmaterial und die Untersuchungen brauchen nur die Aspekte der Verfahrensleistung anzusprechen, die für das Labor von Interesse ist. Die Anforderungen zur Verifizierung eines einzelnen Labors sind in Abschnitt 7 beschrieben.

4.4 Verfahrensvergleich

Die Verfahrenskenndaten setzen sich aus vielen Aspekten zusammen. Es gibt weder ein einzelnes Prüfverfahren noch numerische Kriterien dazu. Ein Verfahren kann, was die Spezifität betrifft, besser sein, aber schlechter in der Wiederfindung. Alle gesammelten Informationen zur Robustheit, Präzision und Spezifität, die während der Charakterisierungsprüfungen gewonnen wurden, können für Verfahrensvergleiche herangezogen werden. Die Verfahren müssen nur zum Vergleich der Wiederfindung parallel untersucht werden.

Es ist notwendig, zwei Verfahren parallel an denselben Proben anzuwenden, wenn ein laborspezifisches Verfahren entwickelt werden soll oder um Daten zu sammeln, die die Anwendung eines alternativen Verfahrens rechtfertigen sollen. Studien über alternative Verfahrensweisen zur relativen Wiederfindung im Vergleich zu einem Referenzverfahren, das nach ISO 17994 organisiert wurde, erfassen eine möglichst große Stichprobenspannweite und die Teilnahme durch eine Anzahl von Laboren, die eine Erweiterung der Stichprobenspannweite über große geographische Gebiete hinweg ermöglicht. Manchmal jedoch kann es notwendig sein, die Ergebnisse einer Studie über alternative Verfahrensweisen zur Wiederfindung unter ökologischen Bedingungen oder in einem geographischen Bereich zu verifizieren, der nicht im früheren gemeinschaftlichen Versuch der Labore dargestellt wird. Wenn ein Labor nur das Vergleichsergebnis eines Verfahrens bestätigen muss, das bereits geprüft und offiziell anerkannt wurde, kann es die vorhergehenden Ermittlungsergebnisse in vollem Umfang nutzen. Das Labor sollte Zugang zum Bericht des gemeinschaftlichen Vergleichs haben. Dementsprechend sollte es Schätzwerte der mittleren und der Standardabweichung der relativen Differenz haben. Gleichung (3) in ISO 17994:2014, 5.4.3, kann angewandt werden, um die empfohlene Anzahl der Proben zu schätzen. Unabhängig jedoch vom Berechnungsergebnis sollte die Anzahl der Proben nicht weniger als dreißig betragen.

Ein Verfahren mit der höchsten Wiederfindung der bestätigten Zielorganismen ist offensichtlich das Beste, wenn bei routinemäßiger Anwendung eine Bestätigung erforderlich ist. Ein Verfahren mit etwas niedrigerer Wiederfindung, die dafür aber keine Bestätigung benötigt, ist eventuell vorzuziehen. Falls in der Charakterisierung beobachtete hohe Falsch-Negativ- oder Falsch-Positiv-Raten nicht durch verbesserte Definitionen der Zielkolonien oder andere Verfahrensweisen korrigiert werden können, kann das Verfahren als nicht verwendungsfähig beurteilt werden. Der Vergleich zweier mikrobiologischer Verfahren sollte einen Vergleich ihrer Leistungsmerkmale (d. h. Charakterisierung) zusammen mit einer Gegenüberstellung in Bezug auf Wiederfindung umfassen, bei der Proben mit natürlich auftretenden erhöhten Stoffgehalten oder dotierte Proben nach ISO 17994 verwendet werden.

4.5 Proben

Es ist ein übliches Konzept, dass die Charakterisierung und der Vergleich der Verfahren mit natürlichen Proben von natürlicher Mikrobekonzentration durchgeführt werden sollten. Es ist konzeptionell gesehen ein guter Gedanke, unter bestimmten Umständen gibt es jedoch Ausnahmen.

Künstliche Proben (Referenzmaterialien und dotierte Proben) werden in internen und externen Qualitätssicherungsprogrammen verwendet, um die grundlegende Beherrschung des Verfahrens bei den an der Charakterisierung teilnehmenden Laboren sicherzustellen.

Dotierung kann bei der Verifizierung sinnvoll oder sogar notwendig sein, wenn es schwierig ist, natürliche Proben mit Zielorganismen zu finden. Der optimale Konzentrationsbereich für die Charakterisierung mikrobiologischer Verfahren ist enger als ihr geplanter Arbeitsbereich. Hohe Konzentrationen sind nicht notwendig. Solche Proben ähneln Reinkulturen und stellen die Leistungsfähigkeit des Verfahrens oder des Labors nicht auf die Probe.

Proben mit sehr niedrigem Bakteriengehalt müssen aus Gründen der öffentlichen Gesundheit untersucht werden, sind aber für Verfahrensvergleiche und andere Charakterisierungsverfahren aus statistischen Gründen ungeeignet. Ihre Verwendung ist jedoch in vielen Situationen unvermeidbar. Insbesondere dort, wo ein Verfahren die Identifizierung von zwei Typen von Zielorganismen auf der Probenplatte erlaubt (z. B. gesamtkeimförmige Bakterien und *E. coli*), ist eine niedrige Anzahl an Organismen üblicherweise unvermeidbar.

Die Anzahl und Vielfalt von untersuchten Proben muss ausreichend sein. Es gibt keine objektiven Verfahren, dies zu entscheiden, ohne die Statistik zu Hilfe zu nehmen. In einigen Fällen mag die erste untersuchte Probe das Ergebnis bringen, dass das Verfahren nicht gut genug ist. Üblicherweise werden aber mehr Proben benötigt. Die Auswahl zu weniger Proben kann zu nicht repräsentativen Ergebnissen führen.

Spezifische Anleitungen über Anzahl und Typen von Proben (zusammen mit ihrem mikrobiellen Gehalt) werden in 6.2^{N2)} angegeben.

5 Spezifikationen: einige Richtlinien

Historisch gesehen haben bisher die jetzigen Normen den Laboren wenig bei ihrem Bemühen geholfen, diese Verfahren richtig anzuwenden und gültige Ergebnisse zu erlangen. Es fehlt vor allem eine genaue Darstellung, was Labore tun sollten um zu verifizieren, dass das Verfahren bei ihnen korrekt funktioniert, und wie eine gute von einer schlechten Leistungsfähigkeit unterschieden werden kann.

Ein Abschnitt über die Leistungsmerkmale muss zu allen ISO-Normen hinzugefügt werden, die Verfahren zur Mikrobiologie des Wassers behandeln und sich auf die definierten Mikroben oder Mikrobengruppen beziehen.

Das Format für Koloniezählverfahren könnte Folgendes beinhalten:

- a) **Sensitivität:** Allgemein größer als 90 %;
- b) **Spezifität:** Allgemein größer als 80 %;
- c) **Selektivität:** Ergebnisse sind im Allgemeinen nicht gültig, wenn die Selektivität weniger als 10 % beträgt.

N2) Nationale Fußnote: In der englischen Fassung von ISO 13843:2017 wird falsch auf 6.1 verwiesen.

- d) **Zählunsicherheit:** Die individuelle Zählunsicherheit (eine Person) bleibt üblicherweise unter $u_{\text{rel}} = \pm 0,03$. Die laborinterne Zählunsicherheit ist kleiner als $u_{\text{rel}} = \pm 0,05$. Eine laborinterne Zählunsicherheit, die größer als 0,1 ist, deutet auf Probleme oder Schwierigkeiten hin.
- e) **Wiederholpräzision (parallele Ausplattierung):** Streuung liegt innerhalb der Poisson-Verteilung. Falls nicht, sollte das Ausmaß an Überdispersion angegeben werden.
- f) **Obergrenze:** Für Membranfiltrationsverfahren ist die Spannweite üblicherweise bei 0 KBE bis 80 KBE angegeben, wohingegen die Spannweite bei Zählverfahren bei Ausplattierung, bei denen eine 90-mm-Petrischale verwendet wird, von 0 KBE bis 300 KBE reicht. Die Oberfläche eines 47-mm-Membranfilters beträgt etwa 25 % der Oberfläche einer 90-mm-Petrischale. Diese Obergrenzen hängen von der Ausweitung des Hintergrundwachstums (der Nichtzielorganismen), der Anzahl an verschiedenen Typen von Zielorganismen (z. B. gesamtkoliforme Bakterien und *E. coli*) und der Koloniegröße ab.

6 Gestaltungen für die Bestimmung der Leistungsmerkmale eines Verfahrens

6.1 Allgemeine Überlegungen

Auch wenn es allgemein besser ist, solche Proben zu verwenden, die auf natürliche Weise mit den Zielorganismen kontaminiert sind, erleichtert dies in einigen Fällen nicht die Bestimmung der Leistungsmerkmale. In diesen Fällen kann die Nutzung von zertifiziertem Referenzmaterial geeignet sein. Alternativ dazu können Proben mit bekannter Anzahl an Zielorganismen „dotiert“ sein, die aus im Handel erhältlichen Quellen stammen.

Welches Verfahren auch immer verwendet wird, um die Proben vorzubereiten, es sollte auf die angemessene Mischung geachtet werden, um eine zufällige Verteilung der Organismen sicherzustellen. Die gewünschte Anzahl an Zielorganismen in der Probe hängt zwar ab vom Verfahren, üblicherweise jedoch wird eine Spannweite von 10 bis 60 Kolonien als Einheit je Anteil einer Ermittlungsstichprobe praktisch sein. Die Anzahl ist ein Kompromiss zwischen einer gewünschten höheren Anzahl und der Kolonienanzahl, die praktisch für eine Membran oder Platte ist.

6.2 Berechnung der Sensitivität, Spezifität, Effizienz Selektivität, Falsch-Positiv-Rate und Falsch-Negativ-Rate

6.2.1 Typ und Anzahl der verwendeten Proben

Geeignete Proben werden vorbereitet, die 20 bis 80 Einheiten je Anteil (10 KBE bis 60 KBE Zielorganismen) einer Analysenteilprobe der Gesamtkolonie enthalten. Die Proben werden dann durch das zu prüfende Verfahren untersucht. Typische und atypische Kolonien (d. h. solche, die ein typisches Erscheinungsbild des Zielorganismus aufweisen, sowie solche, die kein typisches Erscheinungsbild des Zielorganismus aufweisen) werden gezählt. Alle typischen und atypischen Kolonien werden identifiziert mithilfe eines geeigneten Verfahrens, das kommerziell verfügbare mikrobielle Identifizierungswerkzeuge, DNA-Sequenzen oder andere spezifizierte Verfahrensweisen umfassen kann.

Das Verfahren der Probenvorbereitung wird abhängig vom Verfahren und den Probenotypen, die üblicherweise analysiert werden, variieren. Falls die auf natürliche Weise kontaminierten Proben mit einem geeigneten Maß an Zielorganismen zur Verfügung stehen, sollten diese auch verwendet werden. In vielen Fällen jedoch stehen auf natürliche Weise kontaminierte Proben nicht zur Verfügung (z. B. für Verfahrensweisen, die für Trinkwasser entwickelt wurden). Für solche Fälle kann ein im Labor dotiertes Material (bei Verwendung von geeigneten Quellen der Zielorganismen wie Flusswasser oder Schmutzwasser) verwendet werden, um die Proben vorzubereiten. Dies hat den Vorteil, Nicht-Zielorganismen mit einzuschließen, die wahrscheinlich in kontaminiertem Wasser in einem ähnlichen Verhältnis wie in der „realen Welt“ gefunden werden.

Die Verwendung von Referenzmaterialien sollte vermieden werden, da die Auswahl der Stämme, die verwendet werden, das Ergebnis des Experiments direkt beeinflusst.