

DIN EN ISO 16140-4



ICS 07.100.30

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Verfahrensvalidierung –
Teil 4: Arbeitsvorschrift für Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung
(ISO 16140-4:2020);
Deutsche Fassung EN ISO 16140-4:2020**

Microbiology of the food chain –
Method validation –
Part 4: Protocol for method validation in a single laboratory (ISO 16140-4:2020);
German version EN ISO 16140-4:2020

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Validation des méthodes –
Partie 4: Protocole pour la validation de méthodes dans un seul laboratoire
(ISO 16140-4:2020);
Version allemande EN ISO 16140-4:2020

Gesamtumfang 70 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16140-4:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 463 „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-12 AA „Validierung mikrobiologischer Verfahren“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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

ISO 4833-1	siehe	DIN EN ISO 4833-1
ISO 6579-1	siehe	DIN EN ISO 6579-1
ISO 6887 (alle Teile)	siehe	DIN EN ISO 6887
ISO 7218	siehe	DIN EN ISO 7218
ISO 11290-1	siehe	DIN EN ISO 11290-1
ISO 16140-1:2016	siehe	DIN EN ISO 16140-1:2016-11
ISO 16140-2:2016	siehe	DIN EN ISO 16140-2:2016-11
ISO 16140-3	siehe	DIN EN ISO 16140-3
ISO 16140-5	siehe	DIN EN ISO 16140-5
ISO 16140-6:2019	siehe	DIN EN ISO 16140-6:2020-04
ISO 17468:2016	siehe	DIN EN ISO 17468:2016-11
ISO 21528-2	siehe	DIN EN ISO 21528-2
ISO 22118	siehe	DIN EN ISO 22118

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 4833-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren zur Zählung von Mikroorganismen — Teil 1: Koloniezählung bei 30 °C mittels Gussplattenverfahren*

DIN EN ISO 6579-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren zum Nachweis, zur Zählung und zur Serotypisierung von Salmonellen — Teil 1: Nachweis von Salmonella spp.*

DIN EN ISO 6887 (alle Teile), *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 11290-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von Listeria monocytogenes und von Listeria spp. — Teil 1: Nachweisverfahren*

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 16140-2:2016-11, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 2: Arbeitsvorschrift für die Validierung von alternativen (urheberrechtlich geschützten) Verfahren anhand eines Referenzverfahrens (ISO 16140-2:2016); Deutsche Fassung EN ISO 16140-2:2016*

DIN EN ISO 16140-3, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 3: Arbeitsvorschrift für die Validierung von Referenz- und alternativen Verfahren in einem Labor*

DIN EN ISO 16140-5, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 5: Arbeitsvorschrift für eine faktorielle Ringversuch-Verfahrensvalidierung nicht urheberrechtlich geschützter Verfahren*

DIN EN ISO 16140-6:2020-04, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 6: Arbeitsvorschrift für die Validierung von (urheberrechtlich geschützten) Alternativverfahren für die Bestätigungs- und Typisierungsprüfung (ISO 16140-6:2019); Deutsche Fassung EN ISO 16140-6:2019*

DIN EN ISO 17468:2016-11, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Technische Anforderungen und Leitfaden zur Einführung oder Überarbeitung eines genormten Referenzverfahrens (ISO 17468:2016); Deutsche Fassung EN ISO 17468:2016*

DIN EN ISO 21528-2, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von Enterobacteriaceae — Teil 2: Koloniezählverfahren*

DIN EN ISO 22118, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Leistungsmerkmale*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —
Verfahrensvalidierung —
Teil 4: Arbeitsvorschrift für
Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung (ISO 16140-4:2020)

Microbiology of the food chain —
Method validation —
Part 4: Protocol for method validation in a single
laboratory (ISO 16140-4:2020)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —
Validation des méthodes —
Partie 4: Protocole pour la validation de méthodes dans
un seul laboratoire (ISO 16140-4:2020)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 25. Mai 2020 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, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, 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: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	11
2 Normative Verweisungen	11
3 Begriffe	12
4 Allgemeine Grundsätze der Einzel-Labor-Validierung von Nachweis- oder Quantifizierungsverfahren	14
4.1 Allgemeines	14
4.2 Grundsätze des faktoriellen Ansatzes	16
4.3 Grundsätze des konventionellen Ansatzes	16
5 Technische Arbeitsvorschrift für die Validierung — Faktorieller Ansatz	18
5.1 Qualitative Verfahren	18
5.1.1 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	18
5.1.2 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung ohne Bezug auf ein Referenzverfahren	26
5.2 Quantitative Verfahren	29
5.2.1 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	29
5.2.2 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung ohne Bezug auf ein Referenzverfahren	33
6 Technische Arbeitsvorschrift für die Validierung – Konventioneller Ansatz	34
6.1 Qualitative Verfahren	34
6.1.1 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	34
6.1.2 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung ohne Bezug auf ein Referenzverfahren	35
6.2 Quantitative Verfahren	37
6.2.1 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	37
6.2.2 Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung ohne Bezug auf ein Referenzverfahren	39
7 Zusammenfassung der Zulässigkeitsgrenzen	41
Anhang A (informativ) Liste der Faktoren und Faktorniveaus für die faktorielle Verfahrensvalidierung	43
Anhang B (informativ) Berechnung der laborinternen Vergleichpräzision für qualitative Verfahren basierend auf der LOD ₅₀ -Untersuchung nach 6.1.2.3	45
Anhang C (informativ) Beispiel für eine faktorielle Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung bei einem quantitativen Verfahren mit Bezug auf ein Referenzverfahren	47

Anhang D (informativ) Beispiel für eine faktorielle Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung bei einem qualitativen Verfahren mit Bezug auf ein Referenzverfahren	54
Anhang E (informativ) Beispiel für eine faktorielle Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung zur Variabilität von LOD₅₀ eines qualitativen Verfahrens ohne Bezug auf ein Referenzverfahren	59
Anhang F (informativ) Bestimmung der Präzision bei Instabilität der künstlich kontaminierten Proben	63
Anhang G (informativ) Arbeitsvorschrift für die Einzel-Labor-Validierung von alternativen Verfahren für mikrobiologische Bestätigungs- und Typisierungsprüfungen	65
Literaturhinweise.....	66

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16140-4:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 463 „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2021, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2021 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.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, 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 16140-4:2020 wurde von CEN als EN ISO 16140-4:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO 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 staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) 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. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten 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 erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 9, *Microbiology*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 463, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 16140 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

0.1 Die Normenreihe ISO 16140

Die Normenreihe ISO 16140 wurde erweitert, um auf die Anforderung zu reagieren, verschiedene Möglichkeiten zur Validierung oder Verifizierung von Prüfverfahren bereitzustellen. Sie folgt auf ISO 16140:2003. Die Normenreihe ISO 16140 besteht aus sechs Teilen mit dem allgemeinen Titel *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung*:

- *Teil 1: Terminologie;*
- *Teil 2: Arbeitsvorschrift für die Validierung von alternativen (urheberrechtlich geschützten) Verfahren anhand eines Referenzverfahrens;*
- *Teil 3: Arbeitsvorschrift für die Verifizierung von Referenz- und alternativen Verfahren in einem einzelnen Labor;*
- *Teil 4: Arbeitsvorschrift für Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung;*
- *Teil 5: Arbeitsvorschrift für eine faktorielle Ringversuch-Verfahrensvalidierung nicht urheberrechtlich geschützter Verfahren;*
- *Teil 6: Arbeitsvorschrift für die Validierung (urheberrechtlich geschützter) Alternativverfahren für die Bestätigungs- und Typisierungsprüfung.*

ISO 17468 ist eine eng mit dieser Normenreihe verbundene Internationale Norm, die technische Regeln für die Entwicklung und Validierung von genormten Verfahren vorschreibt.

Bevor ein Verfahren im Labor eingesetzt werden kann, sind im Allgemeinen zwei Stufen erforderlich.

- Die erste Stufe umfasst die Validierung des Verfahrens. Die Validierung erfolgt durch eine Einzel-Labor-Untersuchung, gefolgt von einem Ringversuch (siehe ISO 16140-2, ISO 16140-5 und ISO 16140-6). Für den Fall, dass ein Verfahren innerhalb eines Einzel-Labors validiert wird (wie in diesem Dokument beschrieben), erfolgt kein Ringversuch.
- Die zweite Stufe besteht aus der Verifizierung des Verfahrens. Hier wird von einem Labor gezeigt, dass es das validierte Verfahren zufriedenstellend durchführen kann. Dies wird in ISO 16140-3 beschrieben. Die Verifizierung ist ausschließlich für Verfahren anwendbar, die durch einen Ringversuch validiert wurden.

Grundsätzlich werden zwei Arten von Verfahren unterschieden: Referenzverfahren und alternative Verfahren.

Der Begriff „Referenzverfahren“ ist in ISO 16140-1:2016, 2.59, als „international anerkanntes und in hohem Maße akzeptiertes Verfahren“ definiert. In der Anmerkung zum Begriff wird erläutert, dass es sich um „ISO-Normen und Normen, welche gemeinsam durch ISO und CEN veröffentlicht wurden oder andere regionale/nationale Normen von gleichwertigem Rang“ handelt.

In der Normenreihe ISO 16140 umfasst der Begriff „Referenzverfahren“ auch genormte Referenz-(ISO- und CEN-)Verfahren nach der Definition in ISO 17468:2016, 3.5, wonach es sich um ein „in einer Norm beschriebenes Referenzverfahren“ handelt.

Der Begriff „alternatives Verfahren“ (zur Validierung vorgelegtes Verfahren) ist in ISO 16140-1:2016, 2.4, als „Untersuchungsverfahren, das bei einer bestimmten Kategorie von Produkten den gleichen Analyt nachweist oder quantitativ bestimmt, der mit dem entsprechenden Referenzverfahren bestimmt wird“ definiert. In der Anmerkung zum Begriff wird erläutert: „Das Verfahren kann urheberrechtlich geschützt sein. Die Verwendung des Begriffs ‚alternativ‘ bezieht sich auf das gesamte ‚System von Prüfverfahren und Reaktion‘. Der Begriff schließt alle materiellen oder sonstigen Bestandteile, die zur Durchführung des Verfahrens erforderlich sind, ein“.

Dieses Dokument, ISO 16140-4, befasst sich mit der Validierung in einem Einzel-Labor. Die Ergebnisse gelten daher nur für das Labor, in dem die Untersuchung durchgeführt wurde. In diesem Fall ist eine Verifizierung (wie in ISO 16140-3 beschrieben) nicht anwendbar. ISO 16140-5 beschreibt Arbeitsvorschriften für nicht urheberrechtlich geschützte Verfahren, bei denen eine schnellere Validierung erforderlich ist oder bei denen es um die Validierung hoch spezialisierter Verfahren geht und die Anzahl der nach ISO 16140-2 erforderlichen Labore nicht erreicht werden kann. Dieses Dokument und ISO 16140-5 können für die Validierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren verwendet werden. Dieses Dokument (bezüglich qualitativer und quantitativer Verfahren) und ISO 16140-5 (nur bezüglich quantitativer Verfahren) können ebenfalls für die Validierung ohne Bezug auf ein Referenzverfahren verwendet werden.

Das Flussdiagramm in Bild 1 gibt einen Überblick über die Verknüpfungen zwischen den unterschiedlichen oben genannten Teilen. Darüber hinaus enthält es Anweisungen für den Anwender zur Auswahl des richtigen Teils der Normenreihe ISO 16140. Dabei werden auch der Zweck der Untersuchung und die oben angegebenen Bemerkungen berücksichtigt.

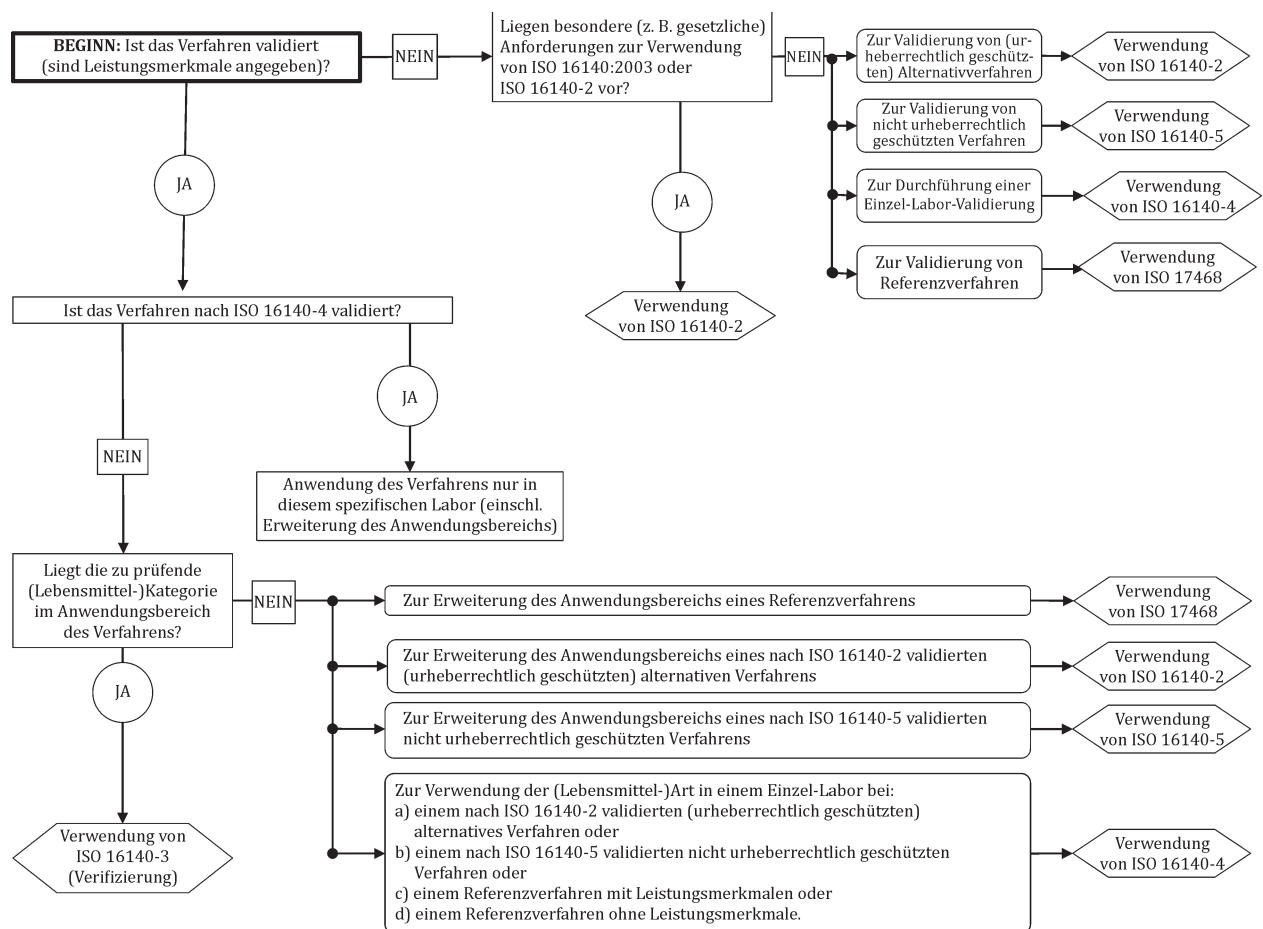
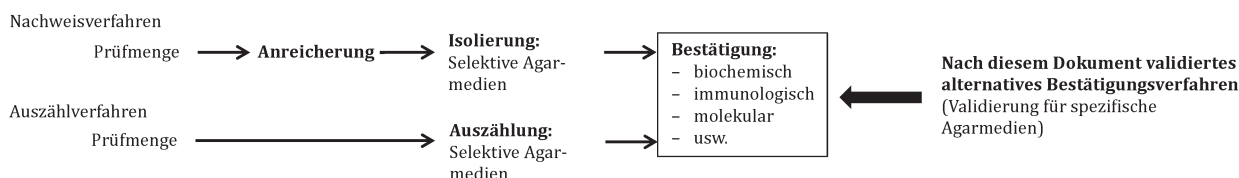


Bild 1 — Flussdiagramm zur Anwendung der Normenreihe ISO 16140

ANMERKUNG Zur Verbesserung der Lesbarkeit werden in diesem Dokument die Begriffe „Kategorie“, „Art“ und/oder „Einheit“ bisweilen mit dem Begriff „(Lebensmittel)“ kombiniert. Allerdings kann der Begriff „(Lebensmittel)“ nach den Angaben in Abschnitt 1 hierbei durch den Begriff „(Futtermittel)“ und die Begriffe aus anderen Bereichen der Lebensmittelkette ausgetauscht werden.

ISO 16140-6 unterscheidet sich insofern ein wenig von den anderen Teilen der Normenreihe ISO 16140, als sie sich auf eine sehr spezifische Situation bezieht, in der lediglich die Bestätigungsprüfung eines Verfahrens zu validieren ist [z. B. die biochemische Bestätigung von *Enterobacteriaceae* (siehe ISO 21528-2)]. Bei der Bestätigungsprüfung wird ein angenommenes (vermutliches) Ergebnis in ein bestätigtes positives Ergebnis umgesetzt. Die Validierung alternativer Typisierungsverfahren (z. B. bei der Serotypisierung von *Salmonella*) ist ebenfalls in ISO 16140-6 enthalten. Für die Validierungsuntersuchung nach ISO 16140-6 ist eindeutig definiert, mit welchem selektiven Agarmedium/mit welchen selektiven Agarmedien Stämme mithilfe des alternativen Bestätigungsverfahrens bestätigt werden können. Bei erfolgreicher Validierung kann das alternative Bestätigungsverfahren nur dann verwendet werden, wenn die Stämme auf einem Agarmedium wiedergefunden werden, das in der Validierungsuntersuchung verwendet und als akzeptabel nachgewiesen wurde. Bild 2 zeigt Fälle auf, in denen ein alternatives, nach ISO 16140-6 validiertes Bestätigungsverfahren angewendet werden kann (siehe Text in Kästen).

Referenzverfahren



Nach ISO 16140-2 validiertes Alternativverfahren

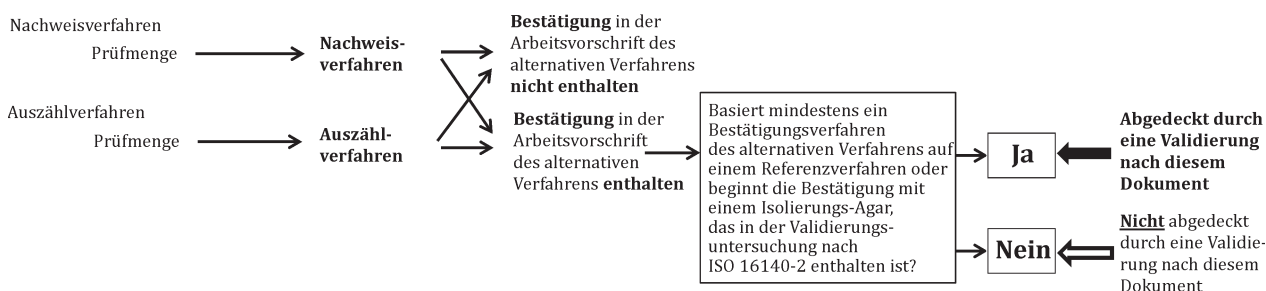


Bild 2 — Verwendung von validierten alternativen Bestätigungsverfahren (siehe ISO 16140-6)

BEISPIEL Im Folgenden ist ein Anwendungsbeispiel für ein validiertes alternatives Bestätigungsverfahren beschrieben.

Ein auf ELISA basierendes alternatives Bestätigungsverfahren wurde (nach ISO 16140-6) validiert, um die biochemische Bestätigung von *Salmonella*, wie in ISO 6579-1 beschrieben, zu ersetzen. Für die Validierungsuntersuchung wurden XLD-Agar (zwingend erforderliches Agarmedium nach ISO 6579-1) sowie Brillantgrün-Agar (BGA) und ein festgelegtes chromogenes Agarmedium (zwei optionale Agarmedien für die sekundäre Plattierung nach ISO 6579-1) als Agarmedien für den Beginn der Bestätigung verwendet. Unter den folgenden Bedingungen kann das validierte Bestätigungsverfahren als Ersatz für die biochemische Bestätigung verwendet werden:

- von Laboren, die ISO 6579-1 anwenden; oder
- von Laboren, die ein nach ISO 16140-2 validiertes alternatives Verfahren mit Verweisung auf ISO 6579-1 für die Bestätigung anwenden; oder
- von Laboren, die ein nach ISO 16140-2 validiertes alternatives Verfahren anwenden, bei dem die Bestätigung mit einem XLD-Agar und/oder BGA und/oder dem festgelegten chromogenen Agarmedium beginnt.

Unter den folgenden Bedingungen kann das validierte Bestätigungsverfahren nicht verwendet werden:

- von Laboren, die ein nach ISO 16140-2 validiertes alternatives Verfahren anwenden, das für den Beginn der Bestätigung nur auf andere Agarmedien verweist als die in der Validierung enthaltenen (z. B. nur Hektoen-Agar und SS-Agar); oder
- von Laboren, die ein nach ISO 16140-2 validiertes alternatives Verfahren anwenden, das nur auf ein Bestätigungsverfahren verweist, das keine Isolierung auf einem Agarmedium erfordert.

0.2 Arbeitsvorschriften zur Validierung in der Normenreihe ISO 16140

Zur Durchführung eines Ringversuchs zur Verfahrensvalidierung sind nach ISO 16140-2 bei quantitativen Verfahren mindestens acht Labore und bei qualitativen Verfahren mindestens zehn Labore erforderlich. ISO 16140-5 ist vorgesehen für die Anwendung bei Ringversuchen bestehend aus vier bis sieben Laboren für quantitative Verfahren und aus vier bis neun Laboren für qualitative Verfahren. ISO 16140-5 kann ausschließlich für nicht urheberrechtlich geschützte Verfahren verwendet werden. Tabelle 1 enthält eine Übersicht über die unterschiedlichen Arbeitsvorschriften.

Tabelle 1 — Übersicht über die unterschiedlichen in der Normenreihe ISO 16140 beschriebenen Arbeitsvorschriften zur Validierung

Anzahl der teilnehmenden Labore	mit Referenzverfahren	ohne Referenzverfahren
1	dieses Dokument: — faktoriell (siehe 5.1.1 und 5.2.1) oder — konventionell (siehe 6.1.1 und 6.2.1)	dieses Dokument: — faktoriell (siehe 5.1.2 und 5.2.2) oder — konventionell (siehe 6.1.2 und 6.2.2)
4 bis 7 (quantitatives Verfahren)/ 4 bis 9 (qualitatives Verfahren)	ISO 16140-5: nur für nicht urheberrechtlich geschützte Verfahren	ISO 16140-5: nur für nicht urheberrechtlich geschützte quantitative Verfahren
≥ 8 (quantitatives Verfahren)/ ≥ 10 (qualitatives Verfahren)	ISO 16140-2: für den Ringversuchsteil	nicht anwendbar

Das Ziel dieses Dokuments besteht in der Beurteilung der Leistung von Nachweis- oder Quantifizierungsverfahren innerhalb eines Einzel-Labors, üblicherweise über eine Reihe von (Lebensmittel-)Kategorien und (Lebensmittel-)Arten hinweg. Unter bestimmten Bedingungen kann auch eine Einzel-Labor-Validierung von alternativen Verfahren für die mikrobiologische Bestätigungs- und Typisierungsprüfung erfolgen. Dabei gelten die gleichen allgemeinen Grundsätze, die in ISO 16140-6 für die Validierung von alternativen (urheberrechtlich geschützten) Verfahren für die mikrobiologische Bestätigungs- und Typisierungsprüfung beschrieben sind (nur dass kein Ringversuch stattfindet). Anhang G enthält weitere Informationen.

Die Arbeitsvorschriften in diesem Dokument validieren lediglich das Verfahren im betreffenden Labor. Eine Verallgemeinerung auf andere Labore zählt nicht zum Anwendungsbereich dieser Arbeitsvorschriften. Allerdings ist eine Ausdehnung auf andere Labore dann möglich, wenn dieses Dokument als erste Validierungsphase eines Referenzverfahrens verwendet wird, auf die ein Ringversuch nach ISO 17468 folgt.

Falls ein Referenzverfahren vorhanden ist, wird die Validierung eines Verfahrens anhand eines Vergleichs des alternativen Verfahrens mit dem Referenzverfahren durchgeführt. Dieses Vorgehen erlaubt die Einbeziehung natürlich kontaminierter Proben im Validierungsprozess und bietet damit ein realistischeres Bild der Leistung des Verfahrens. Ohne ein Referenzverfahren basiert der Validierungsprozess nur auf

Proben mit einem bekannten Kontaminationsniveau. Dieses Dokument stellt Arbeitsvorschriften für beide Situationen bereit.

Die allgemeinen Grundsätze bei der Einzel-Labor-Validierung von Nachweis- und Quantifizierungsverfahren sind die gleichen wie die in ISO 16140-2 zur Validierung von alternativen (urheberrechtlich geschützten) Verfahren mit Bezug auf ein Referenzverfahren. Dieses Dokument kann ohne ISO 16140-1 oder ISO 16140-2 nicht verwendet werden, da viele Definitionen und Verfahren in diesen Internationalen Normen angegeben sind. Über die in ISO 16140-2 beschriebenen Validierungsparameter hinaus beschreibt dieses Dokument die Berechnungen für die laborinterne Wiederholpräzision und die laborinterne Vergleichpräzision. Die Berechnung dieser Parameter ist nicht erforderlich, wenn nach der Einzel-Labor-Validierung ein Ringversuch durchgeführt werden muss (d. h. wenn die Einzel-Labor-Validierung nur die erste Phase der Validierung darstellt). Die Zuverlässigkeit der mit diesem Dokument erhaltenen Leistungsparameter ist vergleichbar mit ISO 16140-2. Das bedeutet auch, dass der im Zusammenhang mit den technischen Arbeitsvorschriften für das Einzel-Labor anfallende Arbeitsaufwand ähnlich hoch ist wie bei der Vergleichsuntersuchung nach ISO 16140-2.

Dieses Dokument enthält zwei Strategien für die Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung von Nachweis- und Quantifizierungsverfahren. Die erste Strategie basiert auf einem faktoriellen Ansatz, während die zweite Strategie den konventionellen Ansatz nutzt, der aus den Arbeitsvorschriften von ISO 16140-2 entwickelt wurde. Zudem werden Arbeitsvorschriften zur Bestimmung der laborinternen Vergleichpräzision für quantitative Verfahren beschrieben.

Die Vorteile eines faktoriellen Ansatzes gegenüber dem konventionellen Ansatz bestehen darin, dass spezifische Bedingungen des Labors bei Routineuntersuchungen berücksichtigt werden und mehr Daten zu den Faktoren (wie beispielsweise Techniker, Nährmedien usw.) liefert, die sich innerhalb eines Labors über die relevanten (Lebensmittel-)Einheiten hinweg ändern. Gleichzeitig werden für die Beurteilung der Leistung des Verfahrens weniger Proben benötigt. Der faktorielle Ansatz ermöglicht die Beurteilung der Präzision quantitativer Verfahren. Er gestattet die Berechnung zuverlässiger und repräsentativer Parameter für die Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung, wie beispielsweise die laborinterne Vergleichsstandardabweichung oder die Werte zur LOD₅₀ oder zur RLOD, da er Daten zur Variabilität dieser Werte unter verschiedenen Messbedingungen bereitstellt. Bei der Anwendung des faktoriellen Ansatzes sind weniger Untersuchungsergebnisse erforderlich, um im Vergleich zum konventionellen Ansatz eine ähnlich hohe oder höhere Zuverlässigkeit zu erhalten.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt die allgemeinen Grundsätze und technischen Arbeitsvorschriften für die Einzel-Labor-Validierung von Verfahren in der Mikrobiologie der Lebensmittelkette fest. Die Arbeitsvorschriften in diesem Dokument validieren das Verfahren nur für das Labor, in dem die Untersuchung durchgeführt wird.

Dieses Dokument ist anwendbar auf die Einzel-Labor-Validierung von:

- Verfahren zur Analyse (Nachweis oder Quantifizierung) von Mikroorganismen in:
 - Erzeugnissen, die für den menschlichen Verzehr vorgesehen sind;
 - Erzeugnissen, die als Futtermittel vorgesehen sind;
 - Umgebungsproben im Bereich der Herstellung und Handhabung von Lebensmitteln und Futtermitteln;
 - Proben aus dem Bereich der Primärproduktion;
- Verfahren zur Bestätigung oder Typisierung von Mikroorganismen. Diese Validierung wird nur das Bestätigungs- oder Typisierungsprüfung für ein festgelegtes Verfahren ersetzen (siehe Anhang G).

Dieses Dokument ist insbesondere auf Bakterien und Pilze anwendbar. Einige Abschnitte können auf andere (Mikro-)Organismen oder deren Metabolite angewendet werden. Die Bestimmung muss im Einzelfall erfolgen.

Eine Einzel-Labor-Validierung ist dann erforderlich, wenn ein Ringversuch nach ISO 16140-2 nicht angemessen ist. Mögliche Anwendungsbereiche sind:

- Validierung eines laborinternen Verfahrens;
- Untersuchung zur Verfahrensbewertung im Rahmen des Validierungsprozesses eines Referenzverfahrens nach ISO 17468;
- Erweiterung des Anwendungsbereichs eines nach ISO 16140-2 validierten Verfahrens, z. B. Erweiterung einer Kategorie oder Änderung der Größe einer Prüfmenge;
- Änderungen bereits bestehender Verfahren.

Die Einzel-Labor-Validierung ist der zweite Schritt bei der Standardisierung eines Referenzverfahrens (siehe ISO 17468). Sie ist nur für solche Verfahren anwendbar, bei denen alle relevanten Parameter angegeben sind (einschließlich der Toleranzen zu Temperaturen und der Festlegungen zu Nährmedien) und die bereits optimiert wurden.

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 6887 (all parts), *Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*

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

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

ISO 16140-2:2016, *Microbiology of the food chain — Method validation — Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 16140-1 und die folgenden Begriffe.

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

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

3.1

Block

Gruppe *eingestellter Sollwerte* (3.12), die gleichzeitig oder in kurzen Zeitintervallen durchgeführt und für die gleichen Proben verwendet werden

BEISPIEL Block = gleichzeitig durchgeführte eingestellte Sollwerte =
Techniker „a“ + Nährmedium „b“ + Temperatur „a“ + Bebrütungsbedingung „a“
und
Techniker „b“ + Nährmedium „a“ + Temperatur „b“ + Bebrütungsbedingung „b“

Anmerkung 1 zum Begriff: Diese Definition basiert auf der Begriffsdefinition zu „Block“ nach ISO 3534-3:2013, 3.1.25. In ISO 3534-3:2013, 3.1.25, ist die Definition allgemeiner gehalten. Der Begriff „Block“ wird hier definiert als eine Reihe von Versuchseinheiten, die in gewisser Hinsicht homogen sind. Die statistische Bedeutung ist jedoch dieselbe.

3.2

Faktor

qualitativer oder quantitativer Parameter innerhalb des Verfahrens, der innerhalb der Grenzen des angegebenen Verfahrens auf mindestens zwei Ebenen variiert werden kann

BEISPIEL Techniker.

Anmerkung 1 zum Begriff: In diesem Dokument werden nur die Faktoren berücksichtigt, die mit der Arbeitsvorschrift des Verfahrens übereinstimmen.

3.3

Faktorniveau

Wert der *Faktoren* (3.2) innerhalb des Untersuchungsdesigns

BEISPIEL Techniker „a“, Techniker „b“ usw.

Anmerkung 1 zum Begriff: In diesem Dokument wird jeder Faktor anhand von zwei Faktorniveaus variiert: „a“ und „b“.

Anmerkung 2 zum Begriff: Diese Definition basiert auf der Begriffsdefinition zu „Faktorniveau“ nach ISO 3534-3:2013, 3.1.12. In ISO 3534-3:2013, 3.1.12, ist die Definition allgemeiner gehalten. Die statistische Bedeutung ist jedoch dieselbe.

3.4

laborinterne Wiederholpräzision

Präzision der Messung bei einer Reihe von Bedingungen der laborinternen Wiederholpräzision in einem bestimmten Labor

Anmerkung 1 zum Begriff: Zu den Bedingungen der laborinternen Wiederholpräzision zählen das gleiche Messverfahren, die gleichen Techniker, das gleiche Messsystem, die gleichen Betriebsbedingungen und Standorte sowie Parallelmessungen beim gleichen oder einem ähnlichen Objekt innerhalb eines kurzen Zeitintervalls in einem bestimmten Labor.

3.5

laborinterne Vergleichpräzision

Präzision der Messung bei einer Reihe von Bedingungen der laborinternen Vergleichpräzision in einem bestimmten Labor

Anmerkung 1 zum Begriff: Zu den Bedingungen der laborinternen Vergleichpräzision zählen unterschiedliche Techniker, unterschiedliche Betriebsbedingungen und Parallelmessungen beim gleichen oder einem ähnlichen Objekt über einen längeren Zeitraum in einem bestimmten Labor.

3.6

Nachweisgrenze

LOD_x; en: limit for detection

(qualitative Verfahren) gemessene Analytkonzentration, die mithilfe eines gegebenen Messverfahrens erhalten wird, für die die *Nachweiswahrscheinlichkeit* (3.9) x beträgt

BEISPIEL LOD₅₀ ist die Nachweisgrenze, bei der 50 % der Versuche zu einem positiven Ergebnis führen.

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Begriff „Nachweisgrenze“ wird bei qualitativen Verfahren in der Mikrobiologie genutzt. Er basiert auf Parallelanalysen mit drei verschiedenen Kontaminationsniveaus des Zielanalyten in einer geprüften Matrix. Die Parallelproben werden untersucht, und die Anzahl der positiven Ergebnisse (z. B. 20 %, 70 % und 100 %) für jedes Kontaminationsniveau aufgezeichnet. Diese Daten werden für die Bestimmung der Anzahl an Zellen verwendet, die in einem verallgemeinerten linearen Modell (siehe ISO 16140-2) zu 50 % positiv führen würden. Dies unterscheidet sich von der Vorgehensweise für chemische und physikalische Verfahren, für welche die „Nachweisgrenze“ als die niedrigste Menge eines Analyten, die von der Abwesenheit dieses Analyten bei einem festgelegten Vertrauensniveau unterschieden werden kann, definiert ist.

[QUELLE: ISO 16140-1:2016, 2.35, modifiziert — Anmerkung 1 zum Begriff wurde leicht modifiziert.]

3.7

Bestimmungsgrenze

LOQ; en: limit for quantification

(quantitative Verfahren) geringste Analytkonzentration, die unter den Versuchsbedingungen mit einem vertretbaren Niveau an Präzision und Richtigkeit quantitativ bestimmt werden kann

[QUELLE: ISO 16140-1:2016, 2.36]

3.8

orthogonales Design

faktorielles Design, bei dem für jedes Paar von *Faktoren* (3.2) jede Kombination von *Faktorniveaus* (3.3) in derselben Anzahl über die möglichen Faktorniveaus hinweg vorkommt

Anmerkung 1 zum Begriff: Diese Definition basiert auf der Begriffsdefinition zu „orthogonale Anordnung“ nach ISO 3534-3:2013, 3.1.31, für „orthogonales Design“ wird jedoch eine allgemeinere und theoretischere Definition verwendet.

3.9

Nachweiswahrscheinlichkeit

POD; en: probability of detection

bei einem qualitativen Verfahren der Anteil von positiven Untersuchungsergebnissen für eine gegebene Matrix bei einer gegebenen Analytmenge oder -konzentration

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei qualitativen Verfahren ist POD die Nachweiswahrscheinlichkeit.

[QUELLE: ISO 16140-1:2016, 2.53, modifiziert — Anmerkung 1 zum Begriff wurde ergänzt.]

3.10

relative Nachweisgrenze

RLOD; en: relative level of detection

Nachweisgrenze (3.6) bei $P = 0,50$ (LOD_{50}) des (urheberrechtlich geschützten) alternativen Verfahrens, dividiert durch die Nachweisgrenze bei $P = 0,50$ (LOD_{50}) des Referenzverfahrens

Anmerkung 1 zum Begriff: Zum Zweck der Annahme des alternativen Verfahrens wird die abgeleitete RLOD anhand der Zulässigkeitsgrenze auf Konformität geprüft.

[QUELLE: ISO 16140-1:2016, 2.61]

3.11

Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung

laborinterne Verfahrensvalidierung

Festlegung der Leistungsmerkmale eines Verfahrens für das eine bestimmte Labor, in dem die Validierung durchgeführt wird

3.12

eingestellter Sollwert

Kombination von *Faktorniveaus* (3.3)

BEISPIEL Techniker „a“ + Nährmedium „b“ + Temperatur „a“ + usw.

Anmerkung 1 zum Begriff: Diese Bedingungen können durch die Kombination von innerhalb der Untersuchung variierten Faktorniveaus beschrieben werden.

4 Allgemeine Grundsätze der Einzel-Labor-Validierung von Nachweis- oder Quantifizierungsverfahren

4.1 Allgemeines

Eine Untersuchung zur Einzel-Labor-Validierung von Nachweis- oder Quantifizierungsverfahren ist der erste Schritt im Rahmen einer allgemeinen Verfahrensvalidierung und wird benötigt, um die Leistung des Verfahrens über verschiedene (Lebensmittel-)Kategorien, (Lebensmittel-)Arten und (Lebensmittel-)Einheiten hinweg zu beurteilen. Der zweite Schritt bei einer allgemeinen Verfahrensvalidierung ist ein Ringversuch, mit dem die Leistung des Verfahrens über verschiedene Labore hinweg beurteilt wird.

Anhand einer Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung wird die Leistung des Verfahrens in dem Labor gezeigt, in dem die Untersuchung durchgeführt wurde. Die Ergebnisse gelten nur für dieses bestimmte Labor.

ANMERKUNG Anhang G enthält die allgemeinen Grundsätze für die Einzel-Labor-Validierung von alternativen Verfahren für die mikrobiologische Bestätigungs- und Typisierungsprüfung.

Dieses Dokument beschreibt zwei Ansätze für die Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung:

- einen faktoriellen Ansatz mit:
 - Leistungsmerkmalen nach ISO 16140-2;
 - einem orthogonalen faktoriellen Untersuchungsdesign (siehe ISO 3534-3);
 - einer besseren Abdeckung eingestellter Routinesollwerte und weniger erforderlichen Untersuchungen als beim konventionellen Ansatz;
- einen konventionellen Ansatz mit:
 - Leistungsmerkmalen nach ISO 16140-2;
 - einem schrittweisen Verfahren;
 - einem Untersuchungsdesign nach ISO 16140-2.

Die Arbeitsvorschriften zur Validierung hängen davon ab, ob das Verfahren qualitativ oder quantitativ ist und ob ein faktorieller oder ein konventioneller Ansatz gewählt wird. Der faktorielle Ansatz für eine Einzel-Labor-Validierung kann nur bei einem vollständig entwickelten und optimierten Verfahren eingesetzt werden. Bei einem konventionellen Ansatz wird das Verfahren für einen bestimmten eingestellten Sollwert untersucht (also eine Reihe spezifischer Bedingungen, unter denen das Verfahren durchgeführt wird). Die Hauptunterschiede der in diesem Dokument behandelten Ansätze für die Einzel-Labor-Validierung sind die Anzahl der unterschiedlichen (Lebensmittel-)Einheiten und die Anzahl der Untersuchungen, die für die Darstellung der hinreichenden Leistung bei der Verfahrensdurchführung erforderlich sind. Bei den beschriebenen Arbeitsvorschriften sind Verfahrensvalidierungen mit und ohne ein Referenzverfahren möglich.

Der Anwendungsbereich der Arbeitsvorschrift zur Validierung muss bei Prozessbeginn bestimmt werden, z. B.: zur Validierung von laborinternen Verfahren, im zweiten Schritt des Validierungsprozesses nach ISO 17468, zur Erweiterung des Anwendungsbereichs eines nach ISO 16140-2 validierten Verfahrens oder zur Änderung bereits bestehender Verfahren.

Für Verfahren mit PCR-basiertem Erkennungsschritt (Polymerase-Kettenreaktion) kann eine Beschreibung der Beurteilung der Leistungsmerkmale für den PCR-basierten Erkennungsschritt ISO 22118 entnommen werden. Um die zuverlässige Erkennung des Zielorganismus in den untersuchten Proben sicherzustellen, sollten vor der Validierung des vollständigen Analyseverfahrens (z. B. basierend auf diesem Dokument) zunächst die relevanten Leistungsparameter des PCR- Schritts beurteilt werden (basierend auf ISO 22118).

Die Auswahl der in der Validierungsuntersuchung verwendeten (Lebensmittel-)Kategorien und (Lebensmittel-)Arten muss nach ISO 16140-2:2016, 5.1.3.1, erfolgen. Es wird empfohlen, dass jede für das Prüfverfahren relevante (Lebensmittel-)Kategorie auch in der Untersuchung zur Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung berücksichtigt wird. Anleitungen zur Auswahl der (Lebensmittel-)Kategorien und (Lebensmittel-)Arten können ISO 16140-2:2016, Anhang A, entnommen werden.

Der Anwendungsbereich der Validierungsuntersuchung, die Ergebnisse (Tabellen und Berechnungen) der verschiedenen Teile und die Auswertung der Ergebnisse, einschließlich unstimmiger Ergebnisse, müssen in einem Bericht zur Validierungsuntersuchung angeführt werden.

4.2 Grundsätze des faktoriellen Ansatzes

Bei einem faktoriellen Ansatz wird die Verfahrensleistung mithilfe systematisch variiert Faktoren innerhalb eines festgelegten Umfangs von Bedingungen untersucht, die üblicherweise bei Routineanwendungen dieses Verfahrens angetroffen werden. Übliche Faktoren sind der Techniker oder die Probenlagerung, die auch innerhalb eines Labors und bei einem vorgegebenen Verfahren variieren können. Durch die gleichzeitige Untersuchung des Verfahrens bei einer Vielzahl von Bedingungen ermöglicht der faktorielle Ansatz die Verallgemeinerung der Validierung auf Bedingungen, die im Labor allgemein angetroffen werden, und ist nicht nur auf eine bestimmte Bedingung beschränkt sind.

Hierzu müssen vier Hauptfaktoren ausgewählt werden, die die typischen Abweichungen der Bedingungen, die bei Routineanwendungen des Verfahrens angetroffen werden, mutmaßlich widerspiegeln. Für die Auswahl der Faktoren wird eine Risikoanalyse des analytischen Arbeitsablaufs empfohlen. Beispiele für Faktoren sind in Anhang A angegeben.

Mit der systematischen Variation der Faktoren wird sichergestellt, dass die kombinierten Auswirkungen auf die allgemeinen Leistungsparameter, wie Präzision und Empfindlichkeit, abgeleitet werden können. Dies unterscheidet sich von einer faktoriellen Robustheitsuntersuchung, bei der das zentrale Ziel darin besteht, bestimmte wesentliche Verfahrensparameter zu erfassen und auf diese Weise die Leistung des Verfahrens optimieren zu können. Die Kompatibilität zwischen den unterschiedlichen Faktorniveaus und die Auswirkungen auf die Präzision der nicht signifikanten Auswirkungen werden dagegen bei einer solchen Untersuchung nicht berücksichtigt.

Verglichen mit dem konventionellen Ansatz, wie in ISO 16140-2 beschrieben, erfordert der faktorielle Ansatz weniger (Lebensmittel-)Einheiten und weniger Untersuchungen. Gleichzeitig erlaubt er die zuverlässige Bestimmung der Validierungsparameter.

4.3 Grundsätze des konventionellen Ansatzes

Der konventionelle Ansatz entspricht im Grundsatz den Angaben in ISO 16140-2. Er wird in mehreren Schritten durchgeführt, eine Variation der Faktoren findet nicht statt (siehe Tabelle 2). Der konventionelle Ansatz erfordert mehr (Lebensmittel-)Einheiten und die Untersuchung von mehr Prüfmengen als im faktoriellen Ansatz.

Tabelle 2 — Anzahl der erforderlichen Untersuchungen für eine Verfahrensvalidierung je (Lebensmittel-)Kategorie für den faktoriellen und den konventionellen Ansatz

	faktorieller Ansatz			konventioneller Ansatz		
qualitatives Verfahren mit Bezug auf ein Referenzverfahren		A	R		A	R
	faktorielle Untersuchung (Empfindlichkeit + RLOD)	78	78	Untersuchung zur Empfindlichkeit	60	60
	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	0	RLOD-Untersuchung	30	30
				Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	0
	Gesamtzahl der Untersuchungen (siehe 5.1.1)	236		Gesamtzahl der Untersuchungen (siehe 6.1.1)	260	

	faktorieller Ansatz	konventioneller Ansatz																														
qualitatives Verfahren ohne Bezug auf ein Referenz-verfahren	<table><tr><td>faktorielle Untersuchung (Empfindlichkeit + LOD₅₀)</td><td>256</td></tr><tr><td>Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität^a</td><td>80</td></tr><tr><td>Gesamtzahl der Untersuchungen</td><td>336</td></tr></table> <p>(siehe 5.1.2)</p>	faktorielle Untersuchung (Empfindlichkeit + LOD ₅₀)	256	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	Gesamtzahl der Untersuchungen	336	<table><tr><td>Spezifität</td><td>20</td></tr><tr><td>LOD₅₀-Untersuchung (LOD₅₀ + Empfindlichkeit)</td><td>360</td></tr><tr><td>Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität^a</td><td>80</td></tr><tr><td>Gesamtzahl der Untersuchungen</td><td>460</td></tr></table> <p>(siehe 6.1.2)</p>	Spezifität	20	LOD ₅₀ -Untersuchung (LOD ₅₀ + Empfindlichkeit)	360	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	Gesamtzahl der Untersuchungen	460																
faktorielle Untersuchung (Empfindlichkeit + LOD ₅₀)	256																															
Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80																															
Gesamtzahl der Untersuchungen	336																															
Spezifität	20																															
LOD ₅₀ -Untersuchung (LOD ₅₀ + Empfindlichkeit)	360																															
Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80																															
Gesamtzahl der Untersuchungen	460																															
quantitatives Verfahren mit Bezug auf ein Referenz-verfahren	<table><tr><td></td><td>A</td><td>R</td></tr><tr><td>faktorielle Untersuchung (relative Richtigkeit + Genauigkeits-profil + laborinterne Präzision)</td><td>48</td><td>48</td></tr><tr><td>Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität^a</td><td>80</td><td>0</td></tr><tr><td>Gesamtzahl der Untersuchungen</td><td colspan="2">176</td></tr></table> <p>(siehe 5.2.1)</p>		A	R	faktorielle Untersuchung (relative Richtigkeit + Genauigkeits-profil + laborinterne Präzision)	48	48	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	0	Gesamtzahl der Untersuchungen	176		<table><tr><td></td><td>A</td><td>R</td></tr><tr><td>relative Richtigkeitsuntersuchung</td><td>15</td><td>15</td></tr><tr><td>Untersuchung zum Genauigkeitsprofil</td><td>30</td><td>30</td></tr><tr><td>laborinterne Vergleichpräzisionsstudie</td><td>40</td><td>5</td></tr><tr><td>Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität^a</td><td>80</td><td>0</td></tr><tr><td>Gesamtzahl der Untersuchungen</td><td colspan="2">215</td></tr></table> <p>(ohne LOQ-Untersuchung) (siehe 6.2.1)</p>		A	R	relative Richtigkeitsuntersuchung	15	15	Untersuchung zum Genauigkeitsprofil	30	30	laborinterne Vergleichpräzisionsstudie	40	5	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	0	Gesamtzahl der Untersuchungen	215	
	A	R																														
faktorielle Untersuchung (relative Richtigkeit + Genauigkeits-profil + laborinterne Präzision)	48	48																														
Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	0																														
Gesamtzahl der Untersuchungen	176																															
	A	R																														
relative Richtigkeitsuntersuchung	15	15																														
Untersuchung zum Genauigkeitsprofil	30	30																														
laborinterne Vergleichpräzisionsstudie	40	5																														
Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	0																														
Gesamtzahl der Untersuchungen	215																															
quantitatives Verfahren ohne Bezug auf ein Referenz-verfahren	<table><tr><td>faktorielle Untersuchung (relative Richtigkeit + Genauigkeits-profil + laborinterne Präzision)</td><td>48</td></tr><tr><td>Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität^a</td><td>80</td></tr><tr><td>Gesamtzahl der Untersuchungen</td><td>128</td></tr></table> <p>(siehe 5.2.2)</p>	faktorielle Untersuchung (relative Richtigkeit + Genauigkeits-profil + laborinterne Präzision)	48	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	Gesamtzahl der Untersuchungen	128	<table><tr><td>relative Richtigkeitsuntersuchung</td><td>15</td></tr><tr><td>Untersuchung zum Genauigkeitsprofil</td><td>30</td></tr><tr><td>laborinterne Vergleichpräzisionsstudie</td><td>40</td></tr><tr><td>Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität^a</td><td>80</td></tr><tr><td>Gesamtzahl der Untersuchungen</td><td>165</td></tr></table> <p>(ohne LOQ-Untersuchung) (siehe 6.2.2)</p>	relative Richtigkeitsuntersuchung	15	Untersuchung zum Genauigkeitsprofil	30	laborinterne Vergleichpräzisionsstudie	40	Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80	Gesamtzahl der Untersuchungen	165														
faktorielle Untersuchung (relative Richtigkeit + Genauigkeits-profil + laborinterne Präzision)	48																															
Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80																															
Gesamtzahl der Untersuchungen	128																															
relative Richtigkeitsuntersuchung	15																															
Untersuchung zum Genauigkeitsprofil	30																															
laborinterne Vergleichpräzisionsstudie	40																															
Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität ^a	80																															
Gesamtzahl der Untersuchungen	165																															
Legende A: Anzahl der Untersuchungen beim alternativen Verfahren R: Anzahl der Untersuchungen beim Referenzverfahren ^a Die Untersuchung zur Inklusivität/Exklusivität erfordert 80 Kulturstämme (130 für <i>Salmonella</i>) und wird unabhängig von der Anzahl der (Lebensmittel-)Kategorien nur einmal für alle Ansätze durchgeführt.																																