

DIN EN ISO 16140-5



ICS 07.100.30

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Verfahrensvalidierung –
Teil 5: Arbeitsvorschrift für eine faktorielle
Ringversuch-Verfahrensvalidierung nicht urheberrechtlich geschützter
Verfahren (ISO 16140-5:2020);
Deutsche Fassung EN ISO 16140-5:2020**

Microbiology of the food chain –
Method validation –
Part 5: Protocol for factorial interlaboratory validation for non-proprietary methods
(ISO 16140-5:2020);
German version EN ISO 16140-5:2020

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Validation des méthodes –
Partie 5: Protocole pour la validation interlaboratoires de méthodes non commerciales par
plan factoriel (ISO 16140-5:2020);
Version allemande EN ISO 16140-5:2020

Gesamtumfang 53 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16140-5:2020) 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 6579-1	siehe	DIN EN ISO 6579-1
ISO 7218	siehe	DIN EN ISO 7218
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 16140-4	siehe	DIN EN ISO 16140-4
ISO 16140-6	siehe	DIN EN ISO 16140-6
ISO 17468:2016	siehe	DIN EN ISO 17468:2016-11
ISO 21528-2	siehe	DIN EN ISO 21528-2
ISO 22117	siehe	DIN EN ISO 22117

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

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 16140-4, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 4: Arbeitsvorschrift für Einzel-Labor-Verfahrensvalidierung*

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

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 22117, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Spezielle Anforderungen und Anleitungen an die Eignungsprüfung durch Ringversuche*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —
Verfahrensvalidierung —
Teil 5: Arbeitsvorschrift für eine faktorielle
Ringversuch-Verfahrensvalidierung nicht urheberrechtlich
geschützter Verfahren (ISO 16140-5:2020)

Microbiology of the food chain —
Method validation —
Part 5: Protocol for factorial interlaboratory validation
for non-proprietary methods (ISO 16140-5:2020)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —
Validation des méthodes —
Partie 5: Protocole pour la validation interlaboratoires
de méthodes non commerciales par plan factoriel
(ISO 16140-5:2020)

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	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	9
2 Normative Verweisungen	9
3 Begriffe	10
4 Allgemeine Grundsätze für die faktorielle Ringversuch-Verfahrensvalidierung nicht urheberrechtlich geschützter Verfahren	11
4.1 Allgemeines	11
4.2 Validierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	11
4.3 Validierung ohne Referenzverfahren	11
5 Qualitative Verfahren – Technische Arbeitsvorschriften für eine faktorielle Ringversuch- Verfahrensvalidierung	12
5.1 Laborinterne Validierungsuntersuchung	12
5.2 Ringversuch zur Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	12
5.2.1 Allgemeine Betrachtungen	12
5.2.2 Untersuchungsvorschrift	12
5.2.3 Auswahl der zu untersuchenden Faktoren	14
5.2.4 Untersuchungsdesign	15
5.3 Berechnungen und Zusammenfassung der Daten	15
5.4 Auswertung der Daten	17
5.4.1 Paarweise Untersuchung	17
5.4.2 Nicht paarweise Untersuchung	18
5.4.3 Analyse der faktoriellen Auswirkungen im Hinblick auf die RLOD	19
6 Quantitative Verfahren – Technische Arbeitsvorschriften für eine faktorielle Ringversuch-Verfahrensvalidierung	19
6.1 Laborinterne Validierungsuntersuchung	19
6.2 Ringversuch zur Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren	20
6.2.1 Allgemeine Betrachtungen	20
6.2.2 Untersuchungsvorschrift	20
6.2.3 Untersuchungsdesign	21
6.3 Berechnungen, Zusammenfassung und Auswertung der Daten	22
6.3.1 Zusammenfassung der Prüfergebnisse	22
6.3.2 Präzisionsdaten	23
6.3.3 Genauigkeitsprofil	25
6.4 Ringversuch zur Verfahrensvalidierung ohne Bezug auf ein Referenzverfahren	25
Anhang A (informativ) Liste der Faktoren und Faktorniveaus für die faktorielle Validierung	26
Anhang B (informativ) Beispiel für einen faktoriellen Ringversuch bei einem quantitativen Verfahren	28
Anhang C (informativ) Beispiel für einen faktoriellen Ringversuch bei einem qualitativen Verfahren	41
Literaturhinweise	49

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16140-5:2020) 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 16140-5:2020 wurde von CEN als EN ISO 16140-5:2020 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 — Validierung von Verfahren*:

- 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 von (urheberrechtlich geschützten) 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 16140-6 und Beschreibung in diesem Dokument). Für den Fall, dass ein Verfahren innerhalb eines Einzel-Labors validiert wird (siehe ISO 16140-4), 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“.

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. Dieses Dokument, 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. ISO 16140-4 und dieses Dokument können für die Validierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren verwendet werden. ISO 16140-4 (bezüglich qualitativer und quantitativer Verfahren) und dieses Dokument (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.

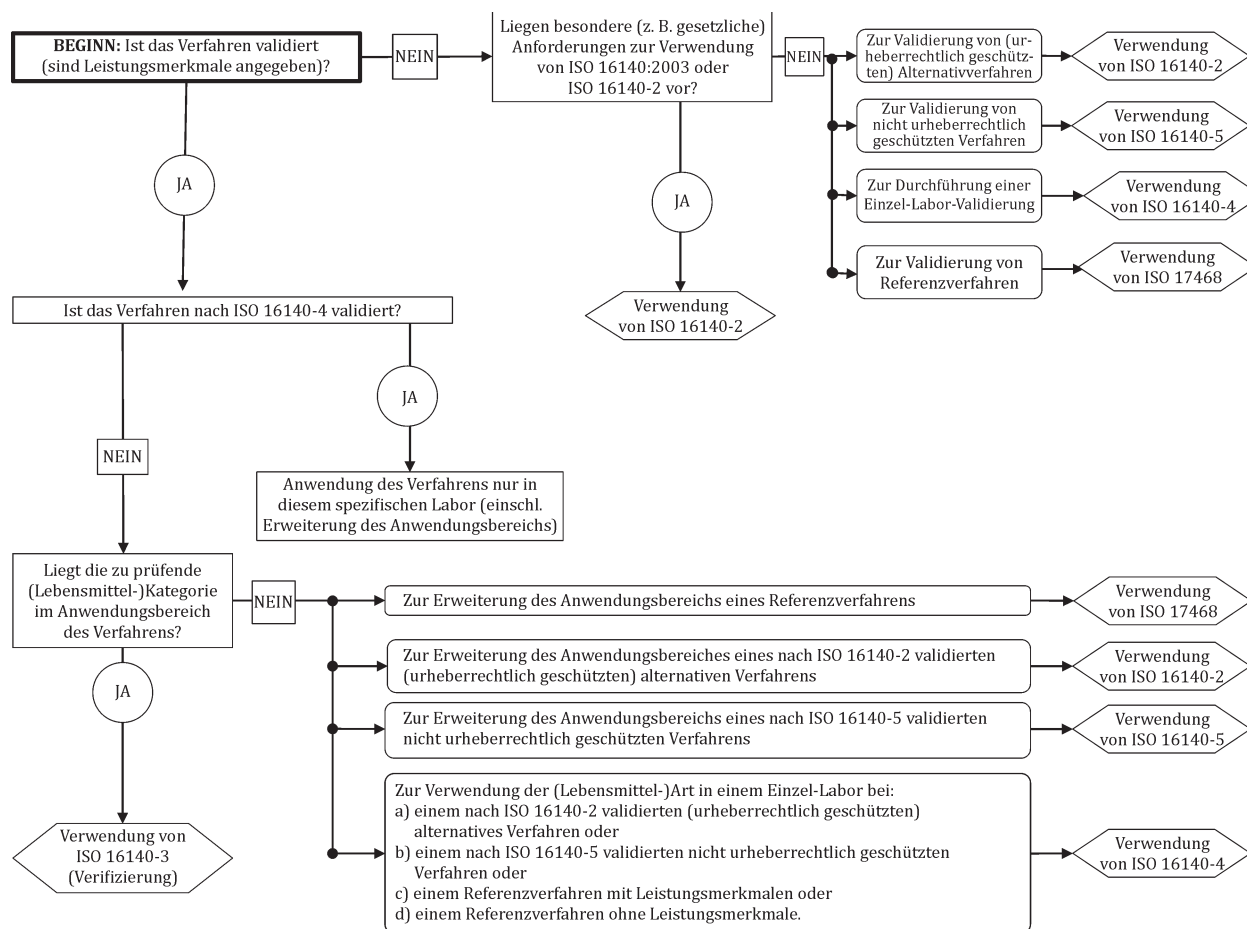
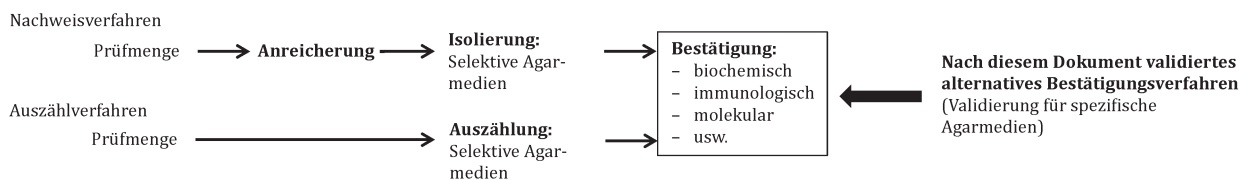


Bild 1 — Flussdiagramm zur Anwendung der Normenreihe ISO 16140

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

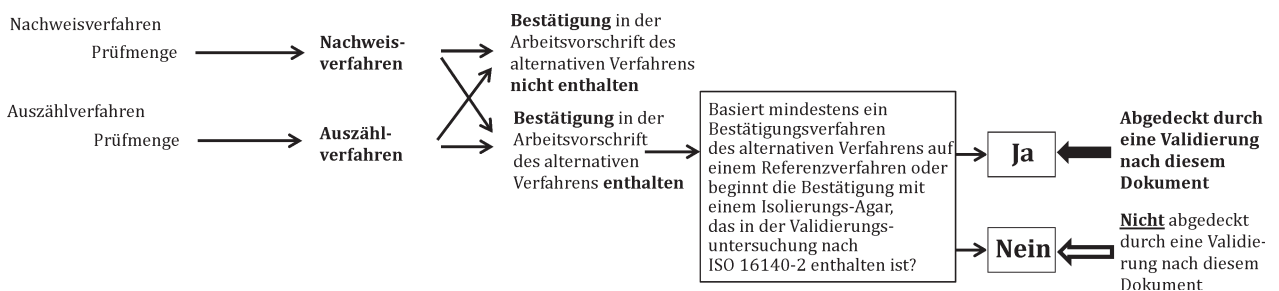


Bild 2 — Verwendung von validierten alternativen Bestätigungsverfahren (siehe ISO 16140-6)

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.

Dieses Dokument stellt Arbeitsvorschriften bereit, die sich mit dem Sonderfall befassen, bei dem die Anzahl der für eine Ringversuch-Verfahrensvalidierung nach ISO 16140-2 erforderlichen Labore nicht erreicht werden kann. Die Arbeitsvorschrift erlaubt eine Verfahrensvalidierung auf der Grundlage von mindestens vier Laboren. Sie ist beispielsweise in Fällen anwendbar, in denen dringend ein validiertes Verfahren benötigt wird, aber die laborinternen und Ringversuche nach ISO 16140-2 zu viel Zeit in Anspruch nehmen. Dieses Dokument befasst sich außerdem mit dem Problem einer Verfahrensvalidierung bei sehr spezifischen Verfahren, bei denen unter Umständen nur wenige Labore für eine Validierungsuntersuchung zur Verfügung stehen. Dieses Dokument 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	ISO 16140-4	ISO 16140-4
4 bis 7 (quantitatives Verfahren)/ 4 bis 9 (qualitatives Verfahren)	dieses Dokument: nur für nicht urheberrechtlich geschützte Verfahren	dieses Dokument: nur für nicht urheberrechtlich geschützte quantitative Verfahren
≥ 8 (quantitatives Verfahren)/ ≥ 10 (qualitatives Verfahren)	ISO 16140-2: für den Ringversuchsteil	nicht anwendbar

Damit die Mindestanzahl der erforderlichen Labore auf vier reduziert werden kann, die Anwendbarkeit der Validierung auf alle Labore aber dennoch sichergestellt ist, beruhen die Arbeitsvorschriften auf einem faktoriellen Untersuchungsdesign. Bei dem faktoriellen Design werden Faktoren wie „Techniker“ oder „Nährmedium“ gleichzeitig verändert, und das Verfahren wird mit einer Reihe von unterschiedlichen Faktorkombinationen verwendet. Dieser Ansatz erlaubt eine detailliertere Analyse der Präzisionsparameter des Verfahrens, erfordert dabei aber eine geringere Zahl an Laboren und Untersuchungen.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt (auf der Grundlage von orthogonalen, faktoriellen Untersuchungen) die allgemeinen Grundsätze und technischen Arbeitsvorschriften für die Validierung nicht urheberrechtlich geschützter Verfahren in der Mikrobiologie der Lebensmittelkette fest.

Dieses Dokument ist anwendbar auf die 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.

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.

Dieses Dokument legt Arbeitsvorschriften für die Validierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren sowohl für quantitative als auch qualitative Verfahren fest. Darüber hinaus stellt dieses Dokument eine Arbeitsvorschrift für die Validierung von quantitativen Verfahren ohne Bezug auf ein Referenzverfahren bereit. Qualitative Verfahren können nach diesem Dokument ohne Bezug auf ein Referenzverfahren nicht validiert werden.

ANMERKUNG ISO 16140-2 legt das allgemeine Prinzip und die technische Arbeitsvorschrift für die Validierung alternativer, zum Großteil urheberrechtlich geschützter Verfahren mit Bezug auf ein Referenzverfahren fest.

Dieses Dokument ist nur für die Validierung solcher Verfahren anwendbar, bei denen alle relevanten Parameter vollständig angegeben sind (einschließlich der Toleranzen zu Temperaturen und der Festlegungen zu Nährmedien) und die bereits optimiert wurden.

Verfahren, die nach diesem Dokument validiert wurden, können von den Laboren verwendet werden, die zu der festgelegten Grundgesamtheit der Labore gehören.

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 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

Faktor

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

BEISPIEL Techniker.

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

3.2

Faktorniveau

Wert der *Faktoren* (3.1) 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.

3.3

orthogonales Design

faktorielles Design, bei dem für jedes Paar von *Faktoren* (3.1) jede Kombination von *Faktorniveaus* (3.2) 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.

3.4

Referenzwert

(Referenzverfahren verfügbar) geschätztes Konzentrationsniveau, das mithilfe des Referenzverfahrens bestimmt wird

3.5

Referenzwert

(kein Referenzverfahren verfügbar, nur für künstlich kontaminierte Proben) geschätztes Konzentrationsniveau, das basierend auf dem Konzentrationsniveau des Inokulums bestimmt wird

3.6

eingestellter Sollwert

Kombination von *Faktorniveaus* (3.2)

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

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

4 Allgemeine Grundsätze für die faktorielle Ringversuch-Verfahrensvalidierung nicht urheberrechtlich geschützter Verfahren

4.1 Allgemeines

Dieses Dokument verwendet Arbeitsvorschriften auf der Grundlage von orthogonalen faktoriellen Untersuchungen. Eine hohe Zuverlässigkeit der für die Verfahrensvalidierung bestimmten Parameter wird durch die Konzentration auf geeignete Faktoren ermöglicht (z. B. Techniker, Nährmedien, Probenherstellung, Temperatur und Prüfdauer), die das Untersuchungsergebnis beeinflussen können. Dies ermöglicht die Reduzierung der erforderlichen Labore auf mindestens vier. Sofern nicht ausdrücklich ausgeschlossen, müssen die allgemeinen Konzepte und Betrachtungen aus ISO 16140-2 angewendet werden. Die Validierung kann mit Bezug auf ein Referenzverfahren oder bei einem quantitativen Verfahren ohne Bezug auf ein Referenzverfahren durchgeführt werden.

Die Ergebnisse der Validierungsuntersuchung sind anwendbar

- für alle Labore, wenn die vier Labore als „zufällige Auswahl“ aus unabhängigen Laboren verschiedener Organisationen angesehen werden können;
- für alle Labore einer Organisation, wenn die vier Labore als „zufällige Auswahl“ aus Laboren an unterschiedlichen Standorten einer Organisation angesehen werden können.

4.2 Validierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren

Die Arbeitsvorschrift für die Validierung umfasst zwei Phasen:

- eine laborinterne Validierungsuntersuchung des nicht urheberrechtlich geschützten Verfahrens mit Bezug auf das Referenzverfahren, durchgeführt im organisierenden Labor (siehe ISO 16140-1:2016, 2.45);
- ein Ringversuch des nicht urheberrechtlich geschützten Verfahrens mit Bezug auf das Referenzverfahren, durchgeführt in verschiedenen Laboren.

Die technischen Arbeitsvorschriften für die Durchführung der laborinternen Validierungsuntersuchung und des Ringversuchs sind in Abschnitt 5 und Abschnitt 6 angegeben, je nachdem, ob es sich um ein qualitatives oder ein quantitatives Prüfverfahren handelt.

Die ausgewählten Faktoren für den faktoriellen Ringversuch sollten sowohl für das Referenz- als auch für das alternative Verfahren relevant sein und angewendet werden.

4.3 Validierung ohne Referenzverfahren

Die Arbeitsvorschrift für die Validierung ist nur für die Validierung von quantitativen Verfahren anwendbar. Sie umfasst zwei Phasen:

- eine laborinterne Validierungsuntersuchung des urheberrechtlich geschützten Verfahrens mit Bezug auf den Referenzwert, durchgeführt im organisierenden Labor;
- ein Ringversuch des nicht urheberrechtlich geschützten Verfahrens im Vergleich zum Referenzwert, durchgeführt in verschiedenen Laboren.

Die technischen Arbeitsvorschriften für die Durchführung der laborinternen Validierungsuntersuchung und des Ringversuchs für quantitative Verfahren sind in Abschnitt 6 angegeben.

5 Qualitative Verfahren – Technische Arbeitsvorschriften für eine faktorielle Ringversuch-Verfahrensvalidierung

5.1 Laborinterne Validierungsuntersuchung

Die laborinterne Validierungsuntersuchung ist der Teil des Validierungsprozesses, der im organisierenden Labor durchgeführt wird. Sie kann nach dem konventionellen Ansatz oder nach dem faktoriellen Ansatz, wie in ISO 16140-4 beschrieben, durchgeführt werden.

Mit einer laborinternen Validierungsuntersuchung kann die Leistung des Verfahrens für das Labor gezeigt werden, in dem die Untersuchung durchgeführt wurde. Es handelt sich um den ersten Schritt im Rahmen der allgemeinen Validierung des Verfahrens. Mit der laborinternen Validierungsuntersuchung wird die Leistung des Verfahrens über verschiedene (Lebensmittel-)Kategorien, (Lebensmittel-)Arten und (Lebensmittel-)Einheiten hinweg bewertet. Mit einem Ringversuch hingegen wird die Leistung des Verfahrens über verschiedene Labore hinweg beurteilt.

5.2 Ringversuch zur Verfahrensvalidierung mit Bezug auf ein Referenzverfahren

5.2.1 Allgemeine Betrachtungen

Das Ziel des Ringversuchs ist der Vergleich der Leistung des Referenzverfahrens mit der des alternativen Verfahrens anhand der RLOD aus unterschiedlichen Laboren. Dabei wird der gleiche Probensatz unter vergleichbaren Bedingungen untersucht und die Ergebnisse mit zuvor definierten Kriterien für einen annehmbaren Unterschied zwischen dem Referenz- und dem alternativen Verfahren verglichen. Nach Möglichkeit sollten die Versuchsbedingungen die normale Streuung zwischen Laboren widerspiegeln.

Der Ringversuch wird vom organisierenden Labor geplant. Das organisierende Labor erstellt die Proben und die Datenblätter für die Aufzeichnung aller Untersuchungsdaten und kritischen Untersuchungsbedingungen, die von jedem Labor genutzt werden. Jedes Labor muss vor der Teilnahme an dem Versuch seine Kompetenz in Bezug auf die Anwendung des alternativen und des Referenzverfahrens nach ISO 7218 nachweisen.

Techniker, die an der Herstellung der in dem Ringversuch verwendeten Proben beteiligt waren, dürfen nicht an der Untersuchung der Proben im Rahmen des Ringversuchs teilnehmen.

5.2.2 Untersuchungsvorschrift

Zur Durchführung der Untersuchungsreihe sind mindestens vier unabhängige Labore erforderlich.

Die Labore müssen zu unterschiedlichen Organisationen gehören oder an unterschiedlichen Standorten angesiedelt sein.

Wenn alle Labore zu einer Organisation oder einem Netzwerk gehören, können die Ergebnisse der Validierungsuntersuchung nur von Laboren angewendet werden, die Teil dieser Organisation oder dieses Netzwerks sind.

BEISPIEL 1 Labore, die zu einer öffentlichen oder privaten Organisation gehören.

BEISPIEL 2 Netzwerk von Laboren, die sich in nationaler, regionaler und/oder kommunaler Hand befinden.

BEISPIEL 3 Netzwerk von nationalen Referenzlaboren, das durch ein Referenzlabor der Europäischen Union koordiniert wird.

Sofern möglich, sollten mehr als vier Labore teilnehmen, sodass die Ergebnisse von mindestens acht Technikern für die Analyse zur Verfügung stehen, auch wenn bestimmte Daten aus irgendeinem Grund nicht verwendet werden können.