

DIN EN ISO 19036

ICS 07.100.30

Entwurf

Einsprüche bis 2018-07-18
Vorgesehen als Ersatz für
DIN ISO/TS 19036
(DIN SPEC 10125):2012-01

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Feststellung von Messunsicherheiten bei quantitativen Bestimmungen
(ISO/DIS 19036:2018);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 19036:2018**

Microbiology of the food chain –
Estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations
(ISO/DIS 19036:2018);
German and English version prEN ISO 19036:2018

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives
(ISO/DIS 19036:2018);
Version allemande et anglaise prEN ISO 19036:2018

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2018-05-18 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 81 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 19036:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Für die deutsche Mitarbeit ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-06 AA „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) verantwortlich.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

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

ISO/IEC 17025:2005/COR 1:2006	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025 Berichtigung 1:2007-01
ISO/IEC 17025:2005/COR 1:2006	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025 Berichtigung 2:2007-05
ISO/TS 17728:2015	siehe	DIN CEN ISO/TS 17728:2015-11
ISO 6887-1:2017	siehe	DIN EN ISO 6887-1:2017-07
ISO 16140-2:2016	siehe	DIN EN ISO 16140-2:2016-11
ISO 7218/Amd 1:2013	siehe	DIN EN ISO 7218:2014-09
ISO 21748:2010	siehe	DIN ISO 21748:2014-05

Änderungen

Gegenüber DIN ISO/TS 19036 (DIN SPEC 10125):2012-01 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) hinzufügen von Regelungen zur Feststellungen der Unsicherheit der Matrix (d. h. die Unsicherheit, die durch ungleiche Dispersion der Mikroben in der untersuchten Matrix entsteht);
- b) hinzufügen von Regelungen zur Feststellungen der Unsicherheit nach Poisson, die mit Koloniezählverfahren in Verbindung steht;
- c) hinzufügen von Regelungen zur Feststellungen der Unsicherheit der Bestätigung, verbunden mit Koloniezählverfahren und weiteren Techniken zur Bestätigung der Identität von spezifischen Organismen, gefolgt von einer Zählung präsumtiver Organismen;
- d) hinzufügen von Regelungen zur Feststellungen der Unsicherheit, verbunden mit MPN-Schätzungen (en: Most Probable Number, MPN).

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO/IEC 17025 Berichtigung 1:2007-01, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2005); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2005, Berichtigungen zu DIN EN ISO/IEC 17025:2005-08; Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2005/AC:2006*

DIN EN ISO/IEC 17025 Berichtigung 2:2007-05, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2005); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2005, Berichtigungen zu DIN EN ISO/IEC 17025:2005-08; Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2005/AC:2006*

DIN CEN ISO/TS 17728:2015-11, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Probenahmetechniken für die mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel- und Futtermittelproben (ISO/TS 17728:2015); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 17728:2015*

DIN EN ISO 6887-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen (ISO 6887-1:2017); Deutsche Fassung EN ISO 6887-1:2017*

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 7218:2014-9, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen (ISO 7218:2007 + Amd 1:2013, korrigierte Fassung 2014-04-15); Deutsche Fassung EN ISO 7218:2007 + A1:2013*

DIN ISO 21748:2014-05, *Leitfaden zur Verwendung der Schätzwerte der Wiederholpräzision, der Vergleichspräzision und der Richtigkeit beim Schätzen der Messunsicherheit (ISO 21748:2010); Text Deutsch und Englisch*

— Leerseite —

Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Feststellung von Messunsicherheiten bei quantitativen Bestimmungen (ISO/DIS 19036:2018)

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives (ISO/DIS 19036:2018)

Microbiology of the food chain — Estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations (ISO/DIS 19036:2018)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.9d

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	8
2 Begriffe	8
3 Quellen von Messunsicherheit	11
4 Technische Unsicherheit	12
4.1 Identifikation der Hauptquellen der technischen Unsicherheit	12
4.1.1 Allgemeine Aspekte	12
4.1.2 Unsicherheit der Probenahme	13
4.1.3 Systematische Abweichung	13
4.1.4 Kritische Faktoren	13
4.2 Schätzung der technischen Unsicherheit	13
4.2.1 Allgemeine Aspekte	13
4.2.2 Aus laborinternen Versuchen abgeleitete Vergleichstandardabweichung	13
4.2.3 Aus Ringversuchen abgeleitete Vergleichstandardabweichung	18
5 Matrixunsicherheit; s_{matrix}	19
5.1 Allgemeine Aspekte	19
5.2 Laborprobe (oder Untersuchungsprobe) ist homogen	20
5.3 Mehrere Prüfmengen je Laborprobe	20
5.4 Bekannte Charakteristika der Matrix und des Verfahrens	22
6 Verteilungsunsicherheiten	22
6.1 Allgemeine Aspekte	22
6.2 „Poisson“-Unsicherheit; s_{Poisson} bei Koloniezählverfahren	22
6.3 MPN-Verfahren, s_{MPN}	23
6.4 „Binomiale“ Bestätigungsunsicherheit, s_{conf}	23
7 Kombinierte und erweiterte Messunsicherheit	25
7.1 Berechnungen	25
7.1.1 Kombinierte Messunsicherheit	25
7.1.2 Erweiterte Messunsicherheit	25
7.2 Ausgearbeitete Beispiele	26
8 Angabe der Messunsicherheit in den Untersuchungsberichten	28
Anhang A (informativ) Berechnung von Standardabweichungen mit zwei oder mehr als zwei Wiederholungsmessungen (laborinterne Vergleichstandardabweichung und Standardabweichung der Matrixunsicherheit)	29
Anhang B (informativ) Matrixeffekt und Matrixunsicherheit	33
Anhang C (informativ) Intrinsische Variabilität (Standardunsicherheit) bei Schätzungen mithilfe des Verfahrens der wahrscheinlichsten Keimzahl	35
Anhang D (informativ) Subtraktion verteilungsbedingter Komponenten von empirischen Standardabweichungen	37

Anhang E (normativ) Bildung des Durchschnitts von mehreren Prüfmengen.....	39
Literaturhinweise.....	41

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 19036:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 19036:2018 wurde von CEN als prEN ISO 19036:2018 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 Themen 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.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 9, *Microbiology* erarbeitet.

Diese erste Ausgabe ersetzt ISO/TS 19036:2006, die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

Die Norm enthält nun Bestimmungen nicht nur zur Beurteilung der technischen Unsicherheit, sondern auch weiterer relevanter Quellen der Messunsicherheit, die bei quantitativen mikrobiologischen Prüfungen eine Rolle spielen. Diese zusätzlichen Quellen stehen in Zusammenhang mit:

- der Matrixunsicherheit (d. h. der Messunsicherheit infolge der Verteilung von Mikroorganismen in der tatsächlichen Prüfmatrix);
- der Poisson-Unsicherheit in Verbindung mit Koloniezählverfahren;
- der Bestätigungsunsicherheit in Verbindung mit Prüfungen durch Koloniezähl- und andere Verfahren zur Bestätigung der Identität bestimmter Organismen nach einer Zählung präsumtiver Organismen; und
- der Messunsicherheit in Verbindung mit Schätzungen anhand des Verfahrens der wahrscheinlichsten Keimzahl (en: Most Probable Number; MPN).

Ausgearbeitete Beispiele veranschaulichen, wie Schätzungen der Messunsicherheit ermittelt und angegeben werden sollten. Anhänge bieten Einzelheiten zu einigen wichtigen oder alternativen Verfahren sowie zu Problemen im Zusammenhang mit der Schätzung der Messunsicherheit.

Einleitung

Der Begriff „Messunsicherheit“ (MU) bezieht sich auf den Mangel an Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision), der mit den Ergebnissen einer Analyse assoziiert sein kann. Im Rahmen der quantitativen Mikrobiologie stellt die Messunsicherheit ein Maß für das Vertrauen dar, das in die Bestimmung von Keimzahlen in Lebensmitteln oder anderen Materialien durch Laboratorien gesetzt werden kann.

Der *Guide to the expression of uncertainty in measurement* (GUM) [1] ist ein allgemein anerkanntes Bezugsdokument. Der wesentliche Ansatz des GUM besteht in der Konstruktion eines mathematischen oder computergestützten *Messmodells*, das die Beziehung zwischen der gemessenen Größe (der *Messgröße* Y) und sämtlichen Größen, von denen sie abhängt (den *Eingangsgroßen* X_i), quantitativ beschreibt. Anhand dieses Messmodells wird dann die Unsicherheit der Messgröße aus den Unsicherheiten der Eingangsgroßen abgeleitet.

Im GUM wird anerkannt, dass es u. U. nicht möglich ist, eine umfassende mathematische Beziehung zwischen der Messgröße und den einzelnen Eingangsgroßen herzustellen, und dass in solchen Fällen mehrere Eingangsgroßen, was ihren Effekt betrifft, als Gruppe beurteilt werden können. In ISO 17025 [2] wird ebenfalls anerkannt, dass die Art des Prüfverfahrens eine strenge, metrologisch und statistisch gültige Berechnung der Messunsicherheit ausschließen darf.

Im Fall der mikrobiologischen Analyse von Proben aus der Lebensmittelkette ist es nicht möglich, ein umfassendes quantitatives Messmodell zu konstruieren, da der Beitrag der einzelnen Eingangsgroßen aus folgenden Gründen nicht genau quantifiziert werden kann:

- der Analyt ist ein lebender Organismus, dessen physiologischer Zustand sehr variabel sein kann; und
- das analytische Ziel umfasst verschiedene Stämme, unterschiedliche Arten oder verschiedene Gattungen; und
- viele Eingangsgroßen sind schwierig quantifizierbar, wenn nicht sogar überhaupt nicht quantifizierbar (z. B. der physiologische Zustand); und
- bei vielen Eingangsgroßen (z. B. Temperatur, Wasseraktivität) kann der Effekt auf die Messgröße nicht mit ausreichender Präzision quantitativ angegeben werden.

Daher ist die Richtigkeit bei der Beurteilung der Messunsicherheit nicht eingeschlossen.

Aus den oben angeführten Gründen wird in dieser Internationalen Norm hinsichtlich der Messunsicherheit vorwiegend ein „Top-down“ oder „globaler“ Ansatz verwendet, bei dem der Beitrag der meisten Eingangsgroßen als Vergleichstandardabweichung des Endergebnisses des Messprozesses geschätzt wird, welche aus den Ergebnissen von Wiederholungen derselben Analysen im Rahmen des Messverfahrens errechnet wird. Diese Größen reflektieren *operationelle Variabilität* und ergeben die *technische Unsicherheit*.

Die technische Unsicherheit liefert zwar einen generellen Schätzwert der Messunsicherheit im Zusammenhang mit der/den geprüften Probe/n, reflektiert jedoch möglicherweise nicht die mit der *Matrixunsicherheit* verbundenen Besonderheiten, die aus der Verteilung von Mikroorganismen in der Lebensmittelmatrix resultieren.

Des Weiteren stützen sich mikrobiologische Messungen häufig auf das Auszählen oder den Nachweis recht kleiner Zahlen von Mikroorganismen, die mehr oder weniger zufällig verteilt sind, was zur *intrinsic Variabilität* zwischen Wiederholungsmessungen und einer entsprechenden *Verteilungsunsicherheit* führt. Bei Koloniezählverfahren wird die Poisson-Unsicherheit bestimmt, zu der, in bestimmten Fällen, eine Messunsicherheit addiert werden darf, die mit Bestätigungsprüfungen zur Identifizierung einzelner Organismen verbunden ist. Eine weitere Schätzung der Messunsicherheit ist darüber hinaus bei den meisten Bestimmungen der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN) erforderlich. Relevante Komponenten der Verteilungsunsicherheit, die mittels statistischer Verfahren geschätzt werden, werden aus den einzelnen Versuchsdaten errechnet.

Diese drei unterschiedlichen Arten der Unsicherheit (technische, Matrix- und Verteilungsunsicherheit) werden unter Anwendung der Prinzipien des GUM kombiniert. [1] Dieser Ansatz ist dem in ISO 29201 [3] ausgeführten ähnlich, der im Bereich Wassermikrobiologie angewendet wird.

Die technische Unsicherheit bildet in der Regel die größte Komponente, und wenn dies mit den Protokollen des Labors und den Anforderungen des Kunden vereinbar ist, darf ein genereller Messunsicherheitswert angegeben werden, der sich auf die technische Unsicherheit beschränkt.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm enthält die Anforderungen sowie eine Anleitung für die Abschätzung und Angabe der Messunsicherheit (MU), die mit quantitativen Ergebnissen in der Mikrobiologie der Lebensmittelkette verbunden ist.

Sie ist anwendbar für die quantitative Analyse von:

- Produkten, die für den menschlichen Verzehr oder als Futtermittel bestimmt sind;
- Umgebungsproben aus den Bereichen der Herstellung von Lebensmitteln und beim Umgang mit Lebensmitteln;
- Proben aus der Primärproduktion.

Die quantitative Analyse erfolgt in der Regel durch die Auszählung der Mikroorganismen anhand eines Koloniezählverfahrens. Darüber hinaus können im Allgemeinen auch andere quantitative Analyseverfahren verwendet werden, darunter das Verfahren der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN) oder gerätegestützte Verfahren wie Impedimetrie und Durchflusssytometrie.

Die nach dieser Internationalen Norm geschätzte Messunsicherheit schließt systematische Effekte („Richtigkeit“ oder „systematische Abweichungen“) nicht ein.

2 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>

2.1 Messunsicherheit, oder Unsicherheit der Messung (MU)
dem Messergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung der Werte angibt, die vernünftigerweise der Messgröße zugeordnet werden könnten

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Parameter kann beispielsweise eine Standardabweichung (oder ein gegebenes Vielfaches davon) oder die halbe Breite eines Bereichs sein, der ein festgelegtes Vertrauensniveau hat.

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Messunsicherheit umfasst im Allgemeinen viele Komponenten. Einige dieser Komponenten können aus der statistischen Verteilung der Ergebnisse einer Messreihe ermittelt und durch empirische Standardabweichungen charakterisiert werden. Die anderen Komponenten, die ebenfalls durch Standardabweichungen charakterisiert werden können, werden aus angenommenen Wahrscheinlichkeitsverteilungen ermittelt, die sich auf Erfahrung oder andere Informationen gründen.

Anmerkung 3 zum Begriff: Es wird vorausgesetzt, dass das Messergebnis der beste Schätzwert für den Wert der Messgröße ist, und dass alle Komponenten der Messunsicherheit zur Streuung beitragen, eingeschlossen diejenigen, welche von systematischen Einwirkungen herrühren, z. B. solche, die von Korrekturen und Bezugsnormalen stammen.

[QUELLE: GUM [1]]

2.2

Standardunsicherheit

$u(y_i)$

als Standardabweichung angegebene Unsicherheit eines Messergebnisses

[QUELLE: GUM [1]]

2.3

erweiterte Messunsicherheit

U

Kennwert, der einen Bereich um das Messergebnis angibt, von dem erwartet werden kann, dass er einen großen Anteil der Verteilung der Werte umfasst, die der Messgröße vernünftigerweise zugeordnet werden könnten

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Anteil kann als Überdeckungswahrscheinlichkeit oder Vertrauensniveau des Bereiches angesehen werden.

Anmerkung 2 zum Begriff: Um dem durch die erweiterte Messunsicherheit gekennzeichneten Bereich ein spezielles Vertrauensniveau zuzuordnen, sind explizite oder implizite Annahmen über die Wahrscheinlichkeitsverteilung erforderlich, die durch das Messergebnis und die kombinierte Standardunsicherheit charakterisiert wird. Das Vertrauensniveau, das diesem Bereich zugeordnet werden kann, kann nur in dem Maße bekannt sein, wie solche Annahmen gerechtfertigt sind.

Anmerkung 3 zum Begriff: Eine erweiterte Messunsicherheit U wird aus der kombinierten Standardunsicherheit $u(y)$ und dem Erweiterungsfaktor k (siehe 2.4) nach folgender Gleichung berechnet:

$$U = k u(y)$$

[QUELLE: GUM [1]]

2.4

Erweiterungsfaktor

k

Zahlenfaktor, der größer als eins ist und mit dem die kombinierte Standardunsicherheit multipliziert wird, um die erweiterte Messunsicherheit zu erhalten

[QUELLE: GUM [1]]

2.5

technische Messunsicherheit (operationelle Variabilität)

Messunsicherheit, die aus der operationellen Variabilität resultiert, welche mit den technischen Schritten des Analyseverfahrens verbunden ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Die technische Unsicherheit umfasst die Variabilität bei der Entnahme von Teilproben sowie dem Mischen und Verdünnen der der Laborprobe entnommenen Prüfmenge zur Herstellung der Erstverdünnung und der Folgeverdünnungen. Sie umfasst darüber hinaus die Effekte der Variabilität bei Bebrütung und Medien.

[QUELLE: Basierend auf ISO 29201 [3]]

2.6

Verteilungsunsicherheit (intrinsische Variabilität)

Messunsicherheit, die aus der intrinsischen Variabilität resultiert, welche die nicht zu vermeidende Variabilität ist, die mit der Verteilung der Mikroorganismen in der Probe, der Erstverdünnung und der Folgeverdünnungen verbunden ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei mikrobiologischen Suspensionen wird die intrinsische Variabilität in der Regel mit der Poisson-Verteilung modelliert. Wird eine teilweise Bestätigung durchgeführt oder das MPN-Prinzip angewendet, kann sich die resultierende Verteilung von der Poisson-Verteilung unterscheiden.

[QUELLE: Basierend auf ISO 29201 [3]]

2.7

Probe (allgemeiner Benennung)

eines oder mehrere Einheiten (oder ein Teil des Materials), die (der) auf bestimmte Weise aus einer Grundgesamtheit (oder einer größeren Menge an Material) ausgewählt wurde(n), und dafür bestimmt ist, repräsentative Informationen über die Grundgesamtheit zu liefern und möglicherweise als Grundlage für Entscheidungen hinsichtlich der Grundgesamtheit oder des Prozesses, in dem sie produziert wurde, zu dienen

[QUELLE: ISO/TS 17728:2015 [4]]

2.8

Laborprobe

Probe, die zum Versand an das Labor vorbereitet und zur Kontrolle oder Prüfung vorgesehen ist

[QUELLE: ISO 6887-1 [5]]

2.9

Untersuchungsprobe

aus der Laborprobe nach der im Prüfverfahren festgelegten Verfahrensweise hergestellte Probe, von der die Prüfmengen entnommen werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Herstellung der Laborprobe vor der Entnahme der Prüfmenge wird bei mikrobiologischen Untersuchungen selten angewendet.

[QUELLE: ISO 6887-1 [5]]

2.10

Prüfmenge

aus der Laborprobe entnommene, abgemessene (Volumen oder Masse) repräsentative Probe zur Verwendung bei der Herstellung der Erstverdünnung

Anmerkung 1 zum Begriff: Manchmal ist vor der Entnahme der Prüfmenge eine Herstellung der Laborprobe (3.1) erforderlich, dies wird bei mikrobiologischen Untersuchungen jedoch selten angewendet.

[QUELLE: ISO 6887-1 [5]]

2.11

Richtigkeit

Messrichtigkeit

Ausmaß der Annäherung des Durchschnittswerts einer unendlichen Zahl von wiederholt gemessenen Größenwerten an einen Bezugsgrößenwert

Anmerkung 1 zum Begriff: Messrichtigkeit ist keine Größe und kann daher nicht numerisch angegeben werden, es werden jedoch in ISO 5725 (alle Teile) Maße für den Grad der Annäherung angegeben.

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Messrichtigkeit ist umgekehrt proportional zum systematischen Messfehler, ein Zusammenhang mit zufälligen Messabweichungen besteht jedoch nicht.

Anmerkung 3 zum Begriff: Die Begriffe Messgenauigkeit und Messrichtigkeit sollten nicht synonym verwendet werden.

[QUELLE: GUM [1]]

2.12

Messgröße

zu messende physikalische Größe

[QUELLE: GUM [1]]

2.13

Matrixunsicherheit

Messunsicherheit, die sich aus dem Ausmaß ergibt, in dem die Prüfmenge (siehe 2.11) nicht wirklich repräsentativ für die Laborprobe ist (siehe 2.9)

3 Quellen von Messunsicherheit

Für Laboratorien ist es von wesentlicher Bedeutung, alle denkbaren Quellen der Messunsicherheit, die das Endergebnis beeinflussen könnten, zu identifizieren und zu berücksichtigen.

Wie in 1 ausgeführt, schließt die nach dieser Internationalen Norm geschätzte Messunsicherheit Beiträge durch systematische Effekte (Richtigkeit [siehe 2.11] oder „systematische Abweichung“) nicht ein. In der quantitativen Mikrobiologie der Lebensmittelkette sind zugeordnete Werte oder Bezugsgrößenwerte in der Regel nicht verfügbar, sodass systematische Abweichungen nicht geschätzt werden können.

Diese Internationale Norm berücksichtigt drei Komponenten der Messunsicherheit: technische, Matrix- und Verteilungsunsicherheit.

Wie in der Einleitung erläutert, wird die technische Unsicherheit, die durch operationelle Variabilität entsteht, unter Anwendung eines „globalen“ Ansatzes als Vergleichstandardabweichung des Endergebnisses des Messprozesses geschätzt. Die Übernahme dieses globalen Ansatzes macht es erforderlich, dass die Ergebnisse nicht aus Berechnungen unter Verwendung bekannter Schätzungen der Variabilität, die mit jeder einzelnen Phase der Prüfung verbunden ist, sondern aus einem Messprozess stammen.

Um zu zeigen, dass die Schätzung der Messunsicherheit relevant bleibt und dass die Prüfergebnisse unter Kontrolle sind, ist eine kontinuierliche Schätzung der Messunsicherheit nötig. Nach Veränderung jedes kritischen Faktors (siehe 4.1.1 und 4.1.4), der wahrscheinlich die mit dem jeweiligen Verfahren erhaltenen Ergebnisse auf signifikante Weise beeinflusst, ist eine erneute Beurteilung erforderlich. Laboratorien, die nach ISO 17025 [2] arbeiten, überwachen ihre Ergebnisse. Bei sachgemäßer Planung können durch eine solche Überwachung die Datenanforderungen dieser Internationalen Norm im Hinblick auf die Schätzung und Überwachung der technischen Unsicherheit teilweise oder vollständig erfüllt werden.

Die technische Unsicherheit ist in der Regel die größte Komponente und wird für jedes Verfahren experimentell geschätzt. Wenn dies mit den Laborprotokollen und den Anforderungen des Kunden vereinbar ist, darf ein genereller Wert der Messunsicherheit angegeben werden, der sich auf die technische Unsicherheit beschränkt (siehe Abschnitt 8).

Unvollständiges Mischen der Probe führt zu mangelnder Vergleichpräzision hinsichtlich der Konzentration von Mikroorganismen in verschiedenen Prüfmengen und trägt zur „Matrixunsicherheit“ bei, die bei festen Matrices erheblich sein kann. Die Matrixunsicherheit wird für jeden Matrixtyp und jedes Verfahren gesondert geschätzt (siehe Abschnitt 5).

Selbst bei homogenen Materialien gibt es drei mögliche Ursachen der Verteilungsunsicherheit, deren jeweilige Bedeutung vom verwendeten Verfahren abhängt:

- a) bei Koloniezählverfahren die „Poisson“-Unsicherheit: s_{Poisson} (siehe 6.2);
- b) bei Verfahren der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN): s_{MPN} (siehe 6.3);
- c) bei Koloniezählverfahren und anderen Verfahren mit Bestätigungsuntersuchungen: „binomiale“ Unsicherheit s_{conf} (siehe 6.4).

Die durch diese drei Ursachen jeweils bedingte Unsicherheit wird in der Regel mathematisch geschätzt.

4 Technische Unsicherheit

4.1 Identifikation der Hauptquellen der technischen Unsicherheit

4.1.1 Allgemeine Aspekte

Es kann hilfreich sein, die Quellen der technischen Unsicherheit als mit den Hauptphasen eines mikrobiologischen Verfahrens verbunden zu betrachten. Typische Quellen bei Koloniezähl- oder MPN-Verfahren sind:

- Entnahme einer Prüfmenge aus der Laborprobe (oder Untersuchungsprobe);
- Herstellung der Erstverdünnung;
- Herstellung von Verdünnungsreihen;
- Beimpfung;
- Bebrütung;
- Zählen von Kolonien mithilfe eines Koloniezählverfahrens und/oder Nachweis des Wachstums (wie bei MPN-Verfahren);
- Bestätigung (falls zutreffend).

Bild 1 zeigt die Hauptquellen der technischen Unsicherheit in der Mikrobiologie der Lebensmittelkette, die in dieser Internationalen Norm berücksichtigt sind.

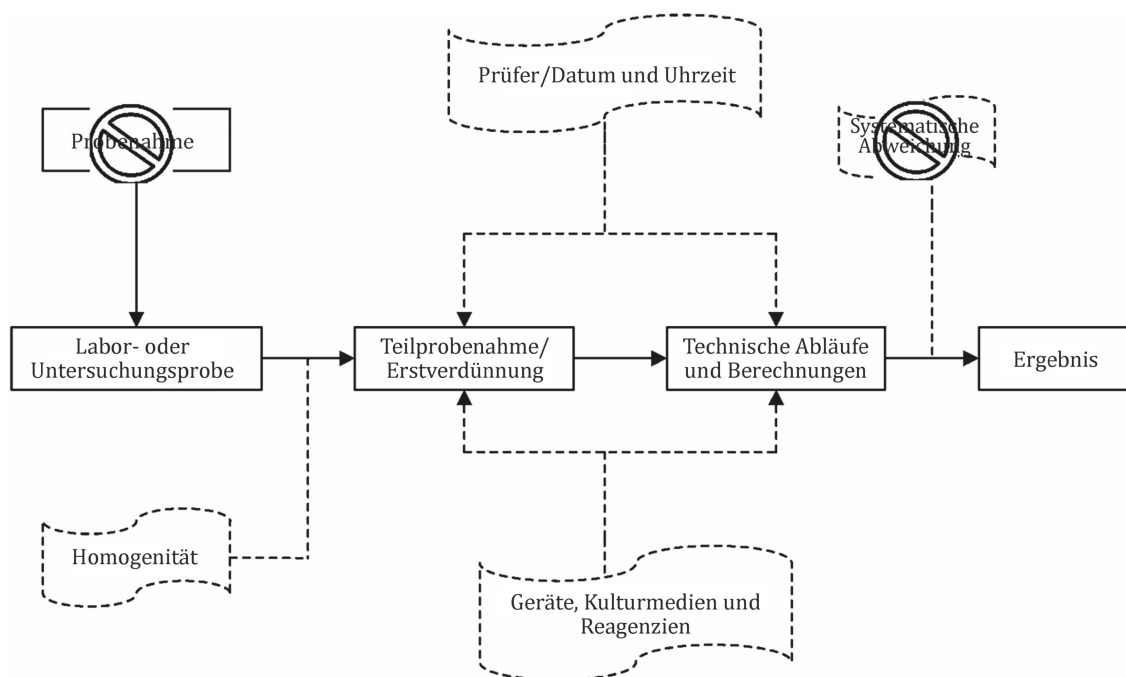


Bild 1 — Diagramm der in dieser Internationale Norm abgedeckten Hauptquellen der Messunsicherheit in der Mikrobiologie der Lebensmittelkette. Durchgezogene Linien weisen auf sequenzielle Vorgehensweisen hin, gepunktete Linien auf Faktoren, die die Schätzung der Messunsicherheit beeinflussen. Das Symbol $\varnothing$ weist darauf hin, dass diese Faktoren in dieser Internationalen Norm nicht abgedeckt sind.

4.1.2 Unsicherheit der Probenahme

Die Unsicherheit bei der Probenahme, d. h. Fehler, die mit der Entnahme der Laborprobe aus einer zu untersuchenden Charge verbunden sind, kann unter Umständen erheblich zum Gesamtfehler beitragen (siehe [6]), ist jedoch keine mit der Messung selbst verbundene Unsicherheit und wird von dieser Internationalen Norm nicht abgedeckt.

Die Matrixunsicherheit, die sich daraus ergibt, dass eine Prüfmenge (2.10) eine heterogene Laborprobe (2.8) oder Untersuchungsprobe (2.9) nicht optimal repräsentieren kann, wird in Abschnitt 5 behandelt. Das Ausmaß dieser Heterogenität kann insbesondere von der Größe der Prüfmenge abhängen, die zur Untersuchung entnommen wird (siehe ISO 6887-1 [5]).

4.1.3 Systematische Abweichung

Wie in Abschnitt 1 und 3 ausgeführt, schließt die nach dieser Internationalen Norm geschätzte Messunsicherheit Beiträge durch systematische Effekte („systematische Abweichung“ oder Richtigkeit [2.11]) nicht ein.

4.1.4 Kritische Faktoren

Beispiele für kritische technische Faktoren, die die Messunsicherheit beeinflussen können und einer Kontrolle bedürfen, sind: Herkunft und Art der Kulturmedien und/oder anderer Reagenzien (wie. z. B. die zur Bestätigung verwendeten Reagenzien), Verdünnung, Impf- und Bebrütungsverfahren, Zählverfahren (manuell oder automatisch), verschiedene Prüfer oder Prüfergruppen usw.

4.2 Schätzung der technischen Unsicherheit

4.2.1 Allgemeine Aspekte

Die technische Unsicherheit wird geschätzt als die Vergleichstandardabweichung des Endergebnisses des Messprozesses, s_R . Für die Schätzung der Vergleichstandardabweichung werden in dieser Internationalen Norm drei verschiedene Möglichkeiten vorgestellt, die sich auf wiederholte Messungen von nominell identischem Material stützen. Deren bevorzugte Reihenfolge ist die folgende:

- Option 1: „laborinterne Vergleichpräzision“, d. h. Schätzung der Vergleichpräzision innerhalb eines Laboratoriums, (siehe 4.2.2);
- Option 2: Ableitung der Vergleichpräzision aus den Ergebnissen eines Ringversuchs zur Verfahrensvalidierung (siehe 4.2.3.1);
- Option 3: Ableitung der Vergleichpräzision aus den Ergebnissen eines Ringversuchs zur Eignungsprüfung (siehe 4.2.3.2).

4.2.2 Aus laborinternen Versuchen abgeleitete Vergleichstandardabweichung

4.2.2.1 Allgemeine Aspekte

Die laborinterne Vergleichpräzision ist die bevorzugte Option für die Ableitung der technischen Messunsicherheit, da sie einem Laboratorium ermöglicht, den Messunsicherheitswert den angegebenen Laborergebnissen zuzuordnen, was im Einklang mit der Definition der Messunsicherheit steht.

Die in diesem Abschnitt beschriebene experimentelle Verfahrensanweisung sollte so viele der identifizierten Messunsicherheitsquellen wie möglich berücksichtigen (siehe 4.1).

4.2.2.2 Experimentelles Protokoll

4.2.2.2.1 Allgemeine Aspekte

Für jedes Prüfverfahren wird das Protokoll mit mindestens 10 Laborproben durchgeführt und so oft wiederholt, bis für jede Laborprobe mindestens zwei akzeptable Ergebnisse erhalten wurden. Hinweise zu akzeptablen Werten finden sich in Abschnitt 4.2.2.2.2. Je nach den Umständen können mehr als 10 Laborproben und/oder mehr als zwei Wiederholungen je Laborprobe erforderlich sein (siehe [7]).

Das Protokoll für die Analyse von genau zwei Wiederholungen je Laborprobe ist in Bild 2 dargestellt, die zugehörigen Berechnungen finden sich in 4.2.2.3. Das Protokoll und das Berechnungsverfahren für andere Fälle (d. h. mehr als zwei Wiederholungen bei einer oder allen Laborproben) sind in Anhang A zu finden.

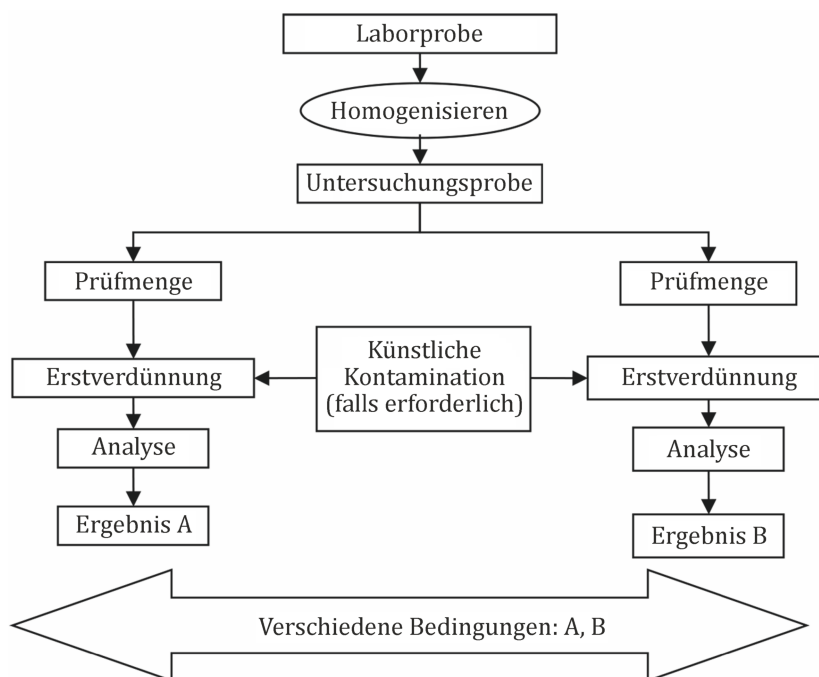


Bild 2 — Experimentelles Protokoll für die Schätzung der laborinternen Vergleichpräzision; zwei Wiederholungsmessungen pro Laborprobe

Die von verschiedenen Laborproben erhaltenen Daten dürfen innerhalb kurzer Zeit im Rahmen einer speziellen Untersuchung oder über einen längeren Zeitraum (z. B. Wochen oder Monate) im Rahmen der routinemäßigen Qualitätssicherungsverfahren des Labors gesammelt werden. In diesem Fall sollte sichergestellt sein, dass die in diesem Abschnitt ausgeführten Prinzipien der Versuchsplanung befolgt werden.

4.2.2.2.2 Wahl der Laborproben

Die Schätzung der laborinternen Vergleichpräzision ist so konzipiert, dass Beiträge durch die Heterogenität der Laborprobe ausgeschlossen werden. Es ist also nicht erforderlich, das experimentelle Protokoll mit Materialien zu wiederholen, die sich nur in Bezug auf ihre Homogenität, d. h. ihre Matrixunsicherheit, unterscheiden.

Die Berechnung (siehe 4.2.2.3) erfolgt zur „Normalisierung“ der Schwankungen der laborinternen Vergleichpräzision mit logarithmierten Daten. Es ist also nicht erforderlich, das experimentelle Protokoll für unterschiedliche Kontaminationsgrade zu wiederholen. Jedoch sollten, falls möglich, die Laborproben so ausgewählt werden, dass sie die zu erwartenden natürlichen Schwankungen des Kontaminationsgrades abdecken.

4.2.2.2.3 Proben aus Ringversuchen zur Eignungsprüfung

Nimmt ein Laboratorium an Ringversuchen zur Eignungsprüfung teil, können die Ergebnisse der Analysen dieses Laboratoriums als Beitrag zur Schätzung der laborinternen Vergleichpräzision der Messunsicherheit verwendet werden, vorausgesetzt, dass (i) die Proben für die Eignungsprüfung für die vom Laboratorium analysierten Routineproben repräsentativ sind (Matrixtyp, Größe der Prüfmenge) und (ii) das Laboratorium Schätzungen anhand von zwei oder mehr Prüfmengen unter verschiedenen Messbedingungen vornimmt, wie in 4.2.2.2.6 angegeben. Weichen jedoch die Schätzungen der laborinternen Vergleichpräzision anhand von Proben aus Eignungsprüfungen stark von laborinternen Schätzungen anhand von „realen“ Proben ähnlichen Typs ab, müssen die Unterschiede berücksichtigt und erfasst werden, da sie Unterschiede hinsichtlich der Matrix und des mikrobiellen Inokulums widerspiegeln können, die für die Proben für den Eignungstest verwendet wurden.

4.2.2.2.4 Herstellung der Laborprobe

Um Beiträge der Verteilung aufgrund von Heterogenität zu minimieren, sollte die Laborprobe in einen Zustand gebracht werden, der so homogen wie möglich ist. Laborproben, die aus Folgendem bestehen:

- nicht viskose Flüssigkeiten und Pulver (z. B. Milch, Kokosnussmilch, Trockenmilchpulver usw.);
- gehackte/zerkleinerte Feststoffe oder Suspensionen/Emulsionen (z. B. Hackfleisch, Separatorenfleisch [mechanisch abgetrenntes Fleisch], Wurstbrät, faschiertes Fleisch, Schlagsahne, Milchspeiseeis, Sojacreme usw.);

sollten vor der Entnahme von Prüfmengen gut gemischt werden.

Sonstige Laborproben sollten mithilfe eines geeigneten Homogenisationsverfahrens gemischt werden.

4.2.2.2.5 Prüfmengen

Allen Laborproben (oder Untersuchungsproben) werden mindestens zwei Prüfmengen entnommen, damit Wiederholungsmessungen durchgeführt werden können.

4.2.2.2.6 Erstverdünnung, künstliche Kontamination (falls erforderlich) und Analysebedingungen

Ist eine künstliche Kontamination erforderlich, erfolgt sie in der Erstverdünnung. Mikrobielle Inokula sollten so beschaffen sein, dass sie die tatsächliche Kontamination weitestgehend imitieren, z. B. durch die Verwendung von gestressten Organismen. Je nach dem Verarbeitungs- und Lagerverfahren für das Lebensmittel kann die Mikroorganismenpopulation durch Hitzebehandlung, Lagerung in gekühltem oder gefrorenem Zustand, Dehydrierung (bei niedrigem a_w) und Chemikalien wie Lebensmittelsäuren geschädigt worden sein. Verfahren für die Herstellung künstlich kontaminierter Lebensmittel sind in Anhang E von ISO 16140-2 ausführlich beschrieben. [8]

Die Analyse jeder Prüfmenge ist *wie bei einer Routineprüfung* durchzuführen (z. B. Herstellung einer einzelnen dezimalen Verdünnungsreihe, Beimpfen von 1 oder 2 Platten je Verdünnung).

Die Messbedingungen A und B für die beiden Prüfmengen (siehe Bild 2 oder Anhang A, falls mehr als zwei Prüfmengen untersucht werden) sollten sich in so vieler Hinsicht wie möglich unterscheiden. Im Idealfall sollten so viele Variationen berücksichtigt werden, wie im Verlauf eines Tages bei allen relevanten Quellen technischer Unsicherheit innerhalb des Labors auftreten können (siehe 4.1). Diese Variationen betreffen in der Regel u. a. Chargen von Kulturmedien und Reagenzien, Vortex- oder andere Schüttelgeräte, pH-Meter, Brutschränke, Analysezeiten usw. Falls möglich sollten die beiden Wiederholungsmessungen von zwei verschiedenen Laboranten durchgeführt werden. Da die Kontamination von Lebensmittelproben in der Mikrobiologie der Lebensmittelkette selten stabil ist, sollten die Wiederholungsmessungen innerhalb kurzer Zeit an einem einzigen Tag vorgenommen werden. Wiederholungen dürfen nur dann an mehr als einem Tag durchgeführt werden, wenn der Kontaminationsgrad nachweislich stabil ist.

Das Muster der Variationen sollte sich zwischen den Laborproben (oder Untersuchungsproben) unterscheiden. Wird z. B. Probe 1 durch „Laborant A“ mit „Medien-Charge B“ an „Tag 1“ geprüft, sollte dieses Muster bei Probe 2 variiert werden, d. h. Probe 2 wird von „Laborant A“ mit „Medien-Charge B“ an „Tag 1 oder Tag 2“ geprüft. Das Ziel ist, so viele Variationen zwischen den Wiederholungsmessungen wie möglich umzusetzen, während gleichzeitig eine realistische Repräsentation der Abläufe im Laboratorium beibehalten wird.

4.2.2.3 Berechnungen

4.2.2.3.1 Akzeptable Ergebnisse

Bei Koloniezählverfahren ist sicherzustellen, dass eine ausreichende Anzahl gezählter Kolonien für die Berechnungen herangezogen werden kann. Auszählergebnisse, die sich auf weniger als 30 gezählte Kolonien stützen, sollten ebenso wie Auszählergebnisse, die über der Höchstzahl je Platte (in den meisten Fällen 300 KBE/Platte oder weniger, wie in der jeweiligen Norm angegeben) liegen, ausgeschlossen werden.

ANMERKUNG 1 Der Grenzwert von 30 Kolonien bezieht sich auf die Summe der Gesamtkolonienzahlen auf allen nach der Auswertung gültigen Platten ΣC für ein einzelnes Ergebnis.

ANMERKUNG 2 Der Grenzwert von 30 Kolonien ist spezifisch für dieses experimentelle Protokoll zur Schätzung der laborinternen Vergleichstandardabweichung (d. h. Versuche speziell zur Beurteilung der Messunsicherheit), nicht jedoch für die Verwendung dieser Standardabweichung zur Beurteilung der Messunsicherheit bei neuen Proben (siehe Abschnitt 7).

Bei MPN-basierten Verfahren ist sicherzustellen, dass sich die für die Berechnungen verwendeten Ergebnisse auf mindestens fünf positive Ergebnisse bei sämtlichen für ein einzelnes Prüfergebnis geprüften Verdünnungen stützen. Die fünf positiven Ergebnisse sind unabhängig von der mit dem MPN-Verfahren erhaltenen Gesamtzahl der (positiven oder negativen) Ergebnisse.

4.2.2.3.2 Laborinterne Vergleichstandardabweichung

Entsprechend der üblichen mikrobiologischen Praxis müssen die Ergebnisse von allen Prüfmengen in KBE/g oder KBE/ml in einem den Berechnungen vorausgehenden Schritt in $\log_{10}$ (KBE/g) oder (KBE/ml) umgewandelt werden.

In diesem Abschnitt wird das Berechnungsverfahren für genau zwei von allen Laborproben erhaltenen Werte beschrieben. Das Berechnungsverfahren, das zu verwenden ist, wenn mehr als zwei Werte für alle Laborproben erhalten wurden, findet sich in Anhang A.

Um die geschätzte laborinterne Vergleichstandardabweichung s_{IR} zu berechnen wie in Gleichung (1) angegeben, werden für die p (mindestens 10) Laborproben einer gegebenen Untersuchung nach dem Protokoll (4.2.2.2) die Ergebnisse (y_{1A} und y_{1B}) für alle Prüfmengen verwendet:

$$s_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2p} \sum_{i=1}^p (y_{iA} - y_{iB})^2} \quad (1)$$

Dabei ist

i der Index der Probe, $i = 1$ bis p ($p \geq 10$); und

y_A, y_B die logarithmierten Daten, d. h. $\log_{10}$ (KBE/g) oder $\log_{10}$ (KBE/ml), die unter den Bedingungen A bzw. B erhalten wurden.

In Tabelle 1 ist ein Beispiel für eine manuelle Berechnung angeführt. Die Berechnungen wurden unter Verwendung der für den Verdünnungsfaktor (d) und die gesamten gezählten Kolonien (ΣC) gezeigten Werte in Excel durchgeführt. Die erhaltenen Werte wurden für die Darstellung gerundet.

Tabelle 1 — Berechnung der laborinternen Vergleichstandardabweichung — Beispiel für die Zählung der aeroben mesophilen Flora in gemischtem Geflügelfleisch mit einer Wiederholung bei allen geprüften Verdünnungen

Nr.	gezählte Kolonien (Verdünnungs- faktor) ^a	gesamte gezählte Kolonien		Kolonienzahl (Ergebnis in KBE je ml oder g, gewichteter Mittelwert ^b) (ISO 7218 [9])		log ₁₀ (KBE/g oder KBE/ml)		absolute Differenz in log ₁₀ KBE	Quad- rierte Dif- ferenz
I ^a	C (d)	ΣC _{iA}	ΣC _{iB}	x _{iA}	x _{iB}	y _{ij} = log ₁₀ (x _{ij})		y _{iA} – y _{iB}	y _{iA} – y _{iB} ²
1A 1B	133 (–3) + 14 (–4) 176 (–3) + 15 (–4)	147	191	1,34 × 10 ⁵	1,74 × 10 ⁵	5,127 1	5,240 5	0,113 4	0,012 9
2A 2B	140 (–5) + 16 (–6) 126 (–5) + 10 (–6)	156	136	1,42 × 10 ⁷	1,24 × 10 ⁷	7,152 3	7,093 4	0,058 9	0,003 5
3A 3B	72 (–4) + 5 (–5) 80 (–4) + 17 (–5)	77	97	7,00 × 10 ⁵	8,82 × 10 ⁵	5,845 1	5,945 5	0,101 0	0,010 2
4A 4B	37 (–6) + 5 (–7) 28 (–6) + 2 (–7)	42	30	3,82 × 10 ⁷	2,73 × 10 ⁷	7,582 1	7,436 2	0,145 9	0,021 3
5A 5B	40 (–6) + 2 (–7) 30 (–6) + 7 (–7)	42	37	3,82 × 10 ⁷	3,36 × 10 ⁷	7,582 1	7,526 3	0,055 8	0,003 1
6A 6B	42 (–4) + 9 (–5) 33 (–4) + 0 (–5)	51	33	4,64 × 10 ⁵	3,00 × 10 ⁵	5,666 5	5,477 1	0,189 4	0,035 9
7A 7B	96 (–2) + 21 (–3) 80 (–2) + 10 (–3)	117	90	1,06 × 10 ⁴	8,18 × 10 ³	4,025 3	3,912 8	0,112 5	0,012 7
8A 8B	183 (–3) + 39 (–4) 238 (–3) + 23 (–4)	220	261	2,00 × 10 ⁵	2,37 × 10 ⁵	5,301 0	5,374 7	0,073 7	0,005 4
9A 9B	63 (–1) + 3 (–2) 38 (–1) + 1 (–2)	66	39	6,00 × 10 ²	3,55 × 10 ²	2,778 2	2,550 2	0,228 0	0,052 0
10A 10B	27 (–4) + 7 (–5) 49 (–4) + 5 (–5)	34	54	3,09 × 10 ⁵	4,91 × 10 ⁵	5,490 0	5,691 1	0,201 1	0,040 4

Summe 0,197 4

Summe (2 × 10) 0,009 9

$s_R = \sqrt{0,008 5}$ 0,099 3

^a Die Zahlen (z. B. 1A und 1B) beziehen sich auf die erfassten Ergebnisse für die zwei Verdünnungen der Prüfmengen.

^b x_{iA} und x_{iB} sind die für die Prüfmengen iA bzw. iB berechneten Kolonienzahlen.

z. B.

$$x_{1A} = \frac{1}{10^{-d_1}} \frac{\Sigma C_{1A}}{1,1} = 10^3 \frac{147}{1,1} = 133,6 \times 10^4 = 1,34 \times 10^5$$

In Anhang A sind die Berechnungen für den allgemeinen Fall von zwei oder mehr Werten für alle Laborproben dargestellt. Darüber hinaus wird illustriert, wie die Berechnungen mittels Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt werden können.

ANMERKUNG Diese empirische Schätzung der technischen Unsicherheit schließt zwangsläufig alle relevanten Matrix-, Poisson-, MPN- oder Bestätigungskomponenten ein. Wird die Messunsicherheit eines Prüfergebnisses berechnet (siehe Abschnitt 7), werden die für das Prüfergebnis relevanten Beiträge eingeschlossen, was zu einer Überschätzung der Messunsicherheit führt. Das Laboratorium darf entscheiden, diese Überschätzung, unter Inkaufnahme komplizierterer Berechnungen, zu vermeiden, indem relevante Poisson-, MPN- oder Bestätigungskomponenten nach Anhang D von der empirischen Vergleichpräzision subtrahiert werden.

4.2.3 Aus Ringversuchen abgeleitete Vergleichstandardabweichung

4.2.3.1 Ringversuche zur Verfahrensvalidierung

4.2.3.1.1 Allgemeine Aspekte

Wurde ein von einem Laboratorium verwendetes Verfahren einem Ringversuch zur Validierung unterzogen, darf das Laboratorium die Vergleichstandardabweichung des Verfahrens unter folgender Voraussetzung als Schätzung seiner technischen Messunsicherheit verwenden: Die Schätzung der Wiederholpräzision und der Vergleichpräzision durch laborinterne Messungen darf keine Werte ergeben, die höher sind als die entsprechenden Werte, die im Ringversuch erhalten wurden.

Die Verfahrensweise zur Prüfung, ob relevante Bedingungen erfüllt werden, und zur Ermittlung einer kombinierten Messunsicherheitsschätzung mit den möglichen zusätzlichen Faktoren, die nicht vom Ringversuch abgedeckt wurden, ist in Einzelheiten in ISO 21748 beschrieben. [10]

4.2.3.1.2 Anwendung in der Lebensmittelmikrobiologie

Die Einschränkungen dieses Ansatzes sind nachstehend zusammengefasst:

- Parameter der Vergleichpräzision aus Ringversuchen zur Verfahrensvalidierung sind nicht für alle Verfahren verfügbar.
- Das Ausmaß, in dem die Teilprobenahme und die Herstellung der Erstverdünnung Matrixeffekte einschließen, ist vom Versuchsplan des Ringversuches abhängig.
- In Ringversuchen zur Verfahrensvalidierung werden Werte zur Präzision unter eingeschränkten und exakt definierten Bedingungen ermittelt. Um homogene und standardisierte Proben für Ringversuche mit oder ohne definierte Hintergrundmikroflora zu erhalten, werden Kombinationen von Matrix, Stamm des geprüften Mikroorganismus, Kontaminationsgrad, Stressbehandlung usw. angewendet. Die „natürliche“ Variation der Probenkontamination, die in der Praxis gefunden werden kann, ist daher reduziert, was zu einer Unterschätzung der Messunsicherheit führt. So kann es, selbst wenn Daten zur Vergleichpräzision vorliegen, schwierig sein, die artifiziellen Studien auf die vom Laboratorium durchgeführten Routineanalysen zu verallgemeinern.

Aus diesen Gründen ist die Verwendung der bei einem Ringversuch zur Verfahrensvalidierung ermittelten Vergleichstandardabweichung nur die zweitbeste Option.

4.2.3.2 Ringversuche zur Eignungsprüfung

Der Schätzwert der Vergleichpräzision, der von Teilnehmern eines Ringversuchs zur Eignungsprüfung (en: proficiency test; PT) ermittelt wurde, darf **ausschließlich** unter folgenden Umständen zur Schätzung der Messunsicherheit verwendet werden:

- Wenn von allen Teilnehmern des PT dasselbe Verfahren verwendet wurde, darf die Gesamtschätzung der Varianz von allen teilnehmenden Laboratorien genutzt werden, die dieses Verfahren verwendet haben, immer vorausgesetzt, die Ergebnisse der Teilnehmer wurden vom Organisator als zufriedenstellend beurteilt.
- Wie bei Option 2 ist das Ausmaß, in dem die Teilprobenahme und die Herstellung der Erstverdünnung Matrixeffekte einschließen, vom Versuchsplan der PT abhängig.
- Wie bei Option 2 werden Werte für die Vergleichpräzision bei einer PT unter eingeschränkten und exakt definierten Bedingungen ermittelt. Um homogene und standardisierte Proben für PT mit oder ohne definierte Hintergrundmikroflora zu erhalten, werden Kombinationen von Matrix, Stamm des geprüften Mikroorganismus, Kontaminationsgrad, Stressbehandlung usw. angewendet. Die „natürliche“ Variation der Probenkontamination, die in der Praxis gefunden werden kann, ist daher reduziert, was zu einer Unterschätzung der Messunsicherheit führt. So kann es schwierig sein, die artifiziellen Studien auf die vom Laboratorium durchgeführten Routineanalysen zu verallgemeinern.

Angesichts dieser Einschränkungen ist die Verwendung der bei einem PT-Ringversuch ermittelten Vergleichstandardabweichung nur die drittbeste Option.

Wie jedoch in 4.2.2.2.3 beschrieben, dürfen die in einem Laboratorium bei der Analyse von mindestens zwei Prüfmengen einer Probe aus einem PT-Ringversuch erhaltenen Ergebnisse für die Beurteilung der Messunsicherheit in diesem Labor berücksichtigt werden.

5 Matrixunsicherheit; s_{matrix}

5.1 Allgemeine Aspekte

Das Ergebnis kann sowohl durch die Matrixzusammensetzung als auch durch die Verteilung der Mikroorganismen beeinflusst werden. In dieser Internationalen Norm jedoch bezieht sich der Begriff „Matrixunsicherheit“ nur auf die Effekte der Verteilung von Mikroorganismen in einer gegebenen Matrix, d. h. die Variation zwischen den Ergebnissen für mehrere Prüfmengen, die der Laborprobe entnommen werden. Sie spiegelt das Ausmaß wider, in dem die einzelnen Prüfmengen nicht für die Laborprobe insgesamt repräsentativ sind. Die Matrixunsicherheit unterscheidet sich von der Unsicherheit der Probenahme (siehe 4.1.1), die von dieser Internationalen Norm nicht abgedeckt wird. Die Matrixunsicherheit wird als von dem verwendeten Analyseverfahren unabhängig betrachtet. Die Verteilung der unterschiedlichen Arten von Mikroorganismen in der Probe und die Vorgeschichte der Probe (z. B. ob die Probe nach der Herstellung kontaminiert wurde) sollten berücksichtigt werden.

Ist das Material tatsächlich homogen, wie z. B. gut gemischte Flüssigkeiten (Milch, Wasser, Getränke), dann ist nur eine geringe Matrixunsicherheit zu erwarten. Es ist jedoch wohlbekannt [11], dass die natürliche mikrobielle Kontamination bestimmter Lebensmittelerzeugnisse (insbesondere feste, verarbeitete oder fermentierte Produkte usw.) unter Umständen sehr heterogen ist, was in erheblichem Maß zur Messunsicherheit beitragen kann. Dies gilt insbesondere für Mehrkomponentenprodukte mit mehreren unterschiedlichen Teilen, wie z. B. Pizza oder gegarte Fertigmahlzeiten, aber auch für andere Lebensmittel, darunter Pulver (wie z. B. Trockenmilchpulver), Käse und frisch geschnittenes Gemüse. Bei solch heterogenen Materialien lässt sich die Messunsicherheit möglicherweise durch den Einsatz einer größeren Prüfmenge reduzieren (siehe ISO 6887-1 [5]).

Ist es wahrscheinlich, dass die Zusammensetzung des Materials die Leistungsfähigkeit des Verfahrens stark beeinflusst, sollte die Anwendbarkeit des Wertes für die laborinterne Vergleichpräzision als auf ähnliche Materialien beschränkt betrachtet werden; ein Beispiel ist die direkte Auszählung von subletal geschädigten Organismen in verarbeiteten Lebensmitteln oder pflanzlichen Hygieneproben, siehe auch ISO 6887-1 [5].

Weitere Einzelheiten finden sich in Anhang B.

In 5.2 bis 5.4 werden drei Ansätze zur Schätzung der Matrixunsicherheit beschrieben:

- Verwendung eines festen Wertes (5.2): Bei gut gemischten, homogenen Laborproben (oder Untersuchungsproben) wird nur eine kleine Matrixunsicherheit erwartet und es kann ein fester (Mindest-)Wert verwendet werden;
- Untersuchung mehrerer der Laborprobe (oder Untersuchungsprobe) entnommener Prüfmengen, anhand derer die Stichprobenvarianz bestimmt werden kann (5.3);
- relevante Charakteristika der Matrix und des Verfahrens sind gut bekannt und die Matrixunsicherheit darf anhand von Vorkenntnissen geschätzt werden (5.4).

5.2 Laborprobe (oder Untersuchungsprobe) ist homogen

Die Erfahrung zeigt, dass Flüssigkeiten (dünne, nicht viskose Flüssigkeiten) als homogen betrachtet werden können und nur geringe Matrixunsicherheit aufweisen, in der Regel $s_{\text{matrix}} = 0,1 \log_{10}$, wie in [12] beschriebene Versuche ergaben. In einigen Fällen darf die Matrixunsicherheit solcher Materialien jedoch größer sein.

Unter der Voraussetzung, dass die gesamte Laborprobe homogenisiert werden kann, bevor die Prüfmenge entnommen wird, kann für die Matrixunsicherheit ein fester Wert von $s_{\text{matrix}} = 0,1 \log_{10}$ angenommen werden (siehe [12]). Die Homogenisierung darf durch Behandlung z. B. mit einem rotierenden Messer, einem peristaltischen Paddelsystem oder einem Ultraschallsystem (z. B. einem Stomacher) erfolgen. Hinweise zu Homogenisierungsverfahren finden sich in ISO 6887-1 [5] und ISO 7218 [9].

5.3 Mehrere Prüfmengen je Laborprobe

Die Matrixunsicherheit kann in den meisten Fällen als die probeninterne Varianz geschätzt werden, indem nach dem in Bild 3 gezeigten Versuchsplan von einer oder mehreren Laborproben mehrere Prüfmengen unter Wiederholbedingungen analysiert werden.

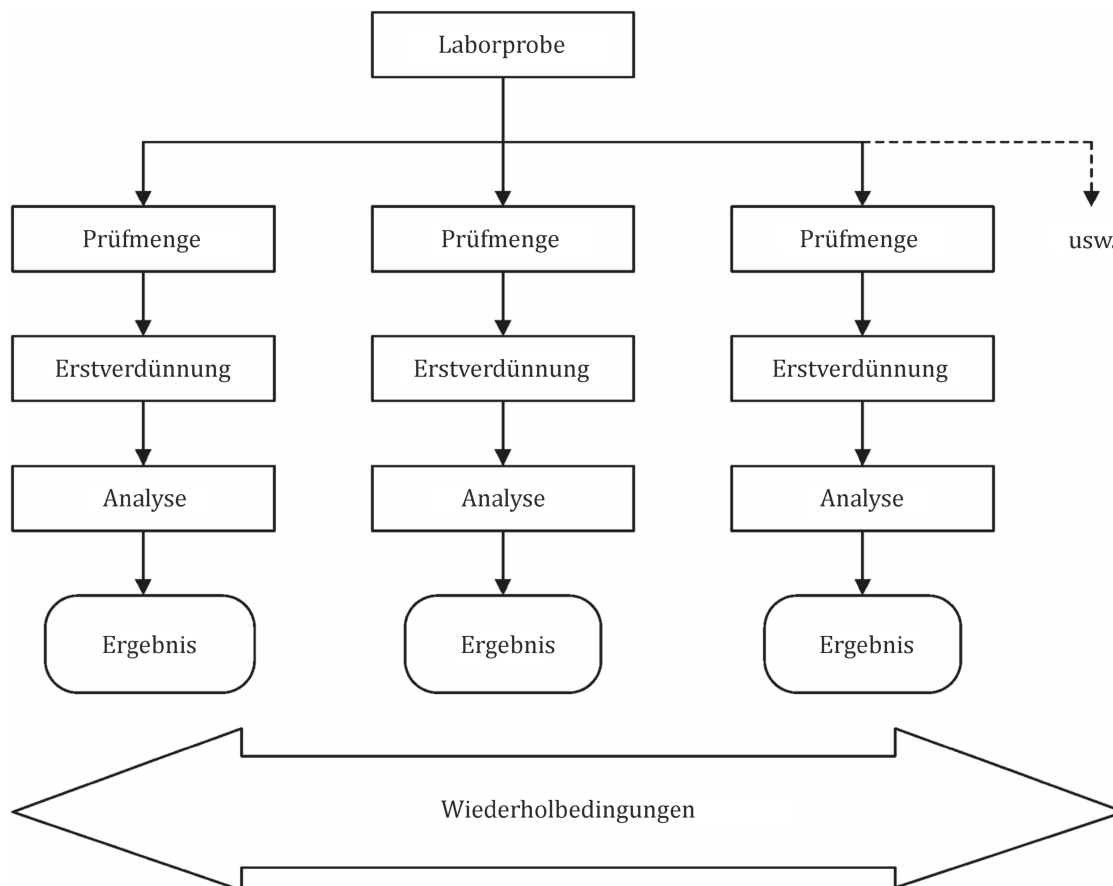


Bild 3 — Versuchsplan für die Schätzung der Matrixunsicherheit anhand mehrerer Prüfmengen je Laborprobe — Fall einer Laborprobe

Diese Schätzung führt zwangsläufig zu einer Überschätzung der Messunsicherheit, da sie einige Komponenten der technischen Unsicherheit durch Variationen zwischen den Wiederholungsanalysen einschließt, die auch in der Vergleichsstandardabweichung enthalten sind (siehe Abschnitt 4). Um diese Überschätzung zu minimieren, sind die Wiederholungsanalysen unter möglichst ähnlichen Bedingungen, d. h. unter „Wiederholbedingungen“, durchzuführen.

Dabei sind natürlich kontaminierte Proben zu verwenden, da künstliche Kontaminationen die reale Matrixunsicherheit wahrscheinlich nicht widerspiegeln können.

Alle Prüfmengen dürfen von einer Laborprobe stammen. Dies kann besonders sinnvoll sein, wenn eine „neue“ Matrix untersucht wird, d. h. eine Matrix, die in ihren physikalischen, chemischen oder mikrobiologischen Eigenschaften stark von bereits untersuchten Matrices abweicht. Weitere Hinweise zu Matrixtypen finden sich in Anhang B.

Alternativ können Prüfmengen auch von mehreren Laborproben stammen, die über längere Zeit analysiert werden dürfen, was eine allgemein anwendbare Schätzung der Matrixunsicherheit ergibt.

In allen Fällen müssen jeder Laborprobe mindestens zwei Prüfmengen entnommen werden, und die Gesamtzahl der Prüfmengen muss mindestens um 10 größer sein als die Anzahl der Laborproben. Beispielsweise:

- werden 10 Laborproben je zwei Prüfmengen entnommen; oder
- einer Laborprobe werden 11 Prüfmengen entnommen.