

DIN EN ISO 22753



ICS 67.050

Einsprüche bis 2022-09-15

Entwurf

**Untersuchung auf molekulare Biomarker –
Verfahren zur statistischen Auswertung von Analyseergebnissen aus der
Untersuchung von Untergruppen von gentechnisch verändertem Saatgut
und Getreide –
Allgemeine Anforderungen (ISO 22753:2021);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 22753:2022**

Molecular biomarker analysis –
Method for the statistical evaluation of analytical results obtained in testing sub-sampled
groups of genetically modified seeds and grains –
General requirements (ISO 22753:2021);
German and English version prEN ISO 22753:2022

Analyse moléculaire de biomarqueurs –
Méthode pour l'évaluation statistique des résultats d'analyse obtenus lors des essais de
sous-échantillons multiples de semences et de graines génétiquement modifiées –
Exigences générales (ISO 22753:2021);
Version allemande et anglaise prEN ISO 22753:2022

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2022-07-15 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 oder Am DIN-Platz, 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 70 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 22753:2021 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ übernommen, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-04 AA „Gentechnisch modifizierte Lebensmittel“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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 Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 2859-1:1999	siehe	DIN ISO 2859-1:2014-08*
ISO 21294	siehe	DIN EN ISO 21294
ISO 21570	siehe	DIN EN ISO 21570
ISO 21572	siehe	DIN EN ISO 21572
ISO 24276	siehe	DIN EN ISO 24276
ISO 24333	siehe	DIN EN ISO 24333

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

* Diese Ausgabe entspricht ISO 2859-1:1999 + Cor. 1:2001 + Amd.1:2011.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 21294, Ölsamen — Manuelle oder automatische diskontinuierliche Probenahme

DIN EN ISO 21570, Lebensmittel — Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten — Quantitative auf Nukleinsäuren basierende Verfahren

DIN EN ISO 21572, Lebensmittel — Untersuchung auf molekulare Biomarker — Immunochemische Verfahren zum Nachweis und zur Quantifizierung von Proteinen

DIN EN ISO 24276, Lebensmittel — Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten — Allgemeine Anforderungen und Definitionen

DIN EN ISO 24333, Getreide und Getreideerzeugnisse — Probenahme

DIN ISO 2859-1:2014-08, Annahmestichprobenprüfung anhand der Anzahl fehlerhafter Einheiten oder Fehler (Attributprüfung) — Teil 1: Nach der annehmbaren Qualitätsgrenzlage (AQL) geordnete Stichprobenpläne für die Prüfung einer Serie von Losen — (ISO 2859-1:1999 + Cor. 1:2001 + Amd.1:2011); Text in Deutsch und Englisch

– *Entwurf* –

E DIN EN ISO 22753:2022-08

– Leerseite –

Untersuchung auf molekulare Biomarker – Verfahren zur statistischen Auswertung von Analyseergebnissen aus der Untersuchung von Untergruppen von gentechnisch verändertem Saatgut und Getreide – Allgemeine Anforderungen (ISO 22753:2021)

Molecular biomarker analysis – Method for the statistical evaluation of analytical results obtained in testing sub-sampled groups of genetically modified seeds and grains – General requirements (ISO 22753:2021)

Analyse moléculaire de biomarqueurs – Méthode pour l'évaluation statistique des résultats d'analyse obtenus lors des essais de sous-échantillons multiples de semences et de grains génétiquement modifiées – Exigences générales (ISO 22753:2021)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	10
4.1 Allgemeines	10
4.2 Vorbereitung der Saat-/Getreidekornguppen	11
4.3 Nachweisverfahren für die qualitative Analyse von GV-Saat-/Getreidekörnern in Saat-/Getreidekornguppen	11
4.4 Statistische Auswertung	12
5 Reagenzien	12
6 Geräte und Ausrüstungen	12
7 Gestaltung des Prüfplans	12
7.1 Allgemeines	12
7.2 Einstufiger Prüfplan	13
7.3 Zweistufiger Prüfplan	14
8 Auswahl der qualitativen Verfahren	14
8.1 Allgemeines	14
8.2 Leistungskriterien	15
9 Auswertung	15
10 Angabe der Ergebnisse	17
10.1 Einordnung einer Saatgut-/Getreidepartie in die Kategorien „Annahme“ oder „Ablehnung“	17
10.2 Schätzung des Gehalts an molekularen Biomarkern in der Saatgut-/Getreidepartie . . .	17
11 Untersuchungsbericht	17
Anhang A (informativ) Tabelle zum Vergleich von Begriffen und Definitionen	19
A.1 Vergleich von in anderen Dokumenten definierten Begriffen	19
Anhang B (informativ) Beispiele für die Umsetzung des Verfahrens zur Bewertung des GVO-Gehalts in Saatgut/Getreide	21
B.1 Beispiel 1: Gruppenuntersuchung zur Bewertung des GMO-Gehalts in Maiskörnern . . .	21
B.1.1 Allgemeines	21
B.1.2 Analyseziel	21
B.1.3 Merkmale des Analyseverfahrens	21
B.2 Beispiel 2: Gruppenuntersuchung zur Bewertung des GMO-Gehalts in Saatkörnern . . .	24
B.2.1 Analyseziel	24
B.2.2 Merkmale des Analyseverfahrens	24
B.3 Beispiel 3: Umsetzung des Verfahrens zur Bewertung der GMO-Reinheit in Saatgut . . .	26
B.3.1 Allgemeines	26
B.3.2 Analyseziel	26
B.3.3 Merkmale des Analyseverfahrens	26
B.3.4 Analyseverfahren	27
B.3.5 Interpretation der Ergebnisse	27
Anhang C (informativ) Schätzung der Nachweisgrenze für einen Prüfplan zum Nachweis von GV-Saatgut/Getreide in Saatgutpartien	29
C.1 Allgemeines	29
C.2 Berechnungen	29
C.3 Auswirkungen der Genomgröße auf die Anzahl der analytischen Gruppengröße	29
C.4 Auswirkungen der Saatkorngröße auf die Probenvorbereitung	31
Anhang D (informativ) Experimentelle Bestimmung der höchsten Gruppengröße	32

D.1	Allgemeines	32
D.2	Versuchsdurchführung	32
	Literaturhinweise	34

Bilder

Bild 1	Illustration der Probenahme zur Bildung von Saat-/Getreidekorngruppen aus einer losen Saatgut-/Getreidepartie	11
Bild B.1	Flussdiagramm für die Entscheidungsfindung	23
Bild B.2	Flussdiagramm für die Entscheidungsfindung	25

Tabellen

Tabelle 1	Beispiele für die höchste Schätzung des GVO-Gehalts an abweichenden Saat-/Getreidekörnern bei unterschiedlichen Gruppengrößen (wenn alle bis auf eine Gruppe positiv sind) und die 95-%-Vertrauensgrenzen (wenn alle bis auf eine Gruppe positiv sind)	16
Tabelle A.1	Tabelle zum Begriffsvergleich	19
Tabelle B.1	Beispiel eines Analyseverfahrens für einen zweistufigen Probenahmeplan	21
Tabelle B.2	Beispiel eines Analyseverfahrens nach dem offiziellen deutschen Ansatz	24
Tabelle B.3	Seedcalc-Schätzungen des Gehalts an GV-Saatkörnern, die auf der Anzahl an GV-positiven Ergebnissen beruhen, die in den qualitativen Untersuchungen von drei Gruppen je 1 000 Saatkörnern gewonnen wurden	25
Tabelle B.4	Seedcalc-Schätzungen des Gehalts an GV-Saatkörnern und zugehörige Wahrscheinlichkeiten, die auf der Anzahl an GV-positiven Ergebnissen beruhen, die in den qualitativen Untersuchungen von sechs Gruppen je 1 000 Saatkörnern gewonnen wurden	26
Tabelle B.5	Beispiel eines Analyseverfahrens zur Untersuchung der Saatgutreinheit	27
Tabelle B.6	Beispiel für eine Annahmetabelle für eine Untersuchung auf 98 % tolerante Saatkörner (durch Auszählung)	28
Tabelle B.7	Beispiel für eine Annahmetabelle für eine zweistufige Untersuchung auf 98 % tolerante Saatkörner (durch Auszählung)	28
Tabelle C.1	Zu erwartende Größe von Saat-/Getreidekörnern und Anzahl an DNA-Kopien je Extrakt	30

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 22753:2021 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ übernommen, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 22753:2021 wurde von CEN als prEN ISO 22753:2022 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 16, *Horizontal methods for molecular biomarker analysis*, erarbeitet.

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

Weltweit werden Saatgut- und Getreideuntersuchungen dazu genutzt, die Reinheit von Saatgut- und Getreidepartien für kommerzielle Zwecke zu definieren.

Kommerzielle Anforderungen an die Kennzeichnung von Agrarerzeugnissen mit einem Gehalt an gentechnisch veränderten Organismen (GVO-Gehalt), der einen festgelegten Schwellenwert erreicht, sowohl als Kontaminant in Saatgut/Getreide als auch als Lebensmittelbestandteil, sind mittlerweile weit verbreitet, um Regulierungsvorschriften und Verbraucherwünschen zu genügen. Die Einhaltung solcher Festlegungen wird an mehreren Stellen der Lieferkette untersucht; oftmals beginnt dies beim geernteten Getreide.

Quantitative Real-time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR, en: polymerase chain reaction) kann verwendet werden, um den GVO-Gehalt mittels einer Analyse des Verhältnisses der Kopienzahlen der GVO-DNA und der Kopienzahlen der pflanzenartspezifischen DNA und einer darauffolgenden Umwandlung in einen gentechnisch veränderten (GV-)Massenanteil zu bestimmen.

Die Verwendung von mehrfachen, in einer Pflanzenart kombinierten Ereignissen, die beispielsweise durch die Kreuzung von zwei oder mehr Einzelereignissen geschaffen werden, ist in der landwirtschaftlichen Produktion weit verbreitet. Saatgut oder Getreide mit kombinierten Ereignissen, das die GVO-DNA von zwei oder mehr GV-Ereignissen enthält und in einer Partie vermengt ist, kann nicht allein durch eine quantitative PCR von anderen Saatkörnern aus dieser Partie, die jeweils ein einzelnes GV-Ereignis aufweisen, unterschieden werden. Wenn der tatsächlich gemessene GVO-Gehalt nur auf Saatkörnern mit kombinierten GV-Ereignissen beruht, wird daher der durch die quantitative Real-time-PCR einer einzelnen Probe gemessene GVO-Gehalt zu einer zu hohen Schätzung der tatsächlich vorhandenen Anzahl an GV-Saat- oder -Getreidekörnern führen.

Die in diesem Dokument beschriebene Gruppenuntersuchungsstrategie bietet eine zuverlässige Alternative, bei der die Schätzung des GVO-Gehalts auf der Tatsache beruht, dass ganze Saat-/Getreidekörner als Probenmaterial dienen.

Das in diesem Dokument beschriebene Vorgehen kann ein Verfahren zur genauen Schätzung der Anteile an GV-Saat-/Getreidekörnern in einer Partie, unabhängig vom Vorhandensein von Saatgut/Getreide mit kombinierten Ereignissen, darstellen. Der GVO-Gehalt wird für repräsentative Untergruppen von Saatgut/Getreide aus einer Partie bestimmt und statistisch ausgewertet.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument beschreibt allgemeine Anforderungen, Verfahren und Leistungskriterien für die Bewertung des Gehalts an gentechnisch verändertem (GV-)Saatgut/Getreide in einer Partie mittels einer Gruppenuntersuchungsstrategie, die die qualitative Analyse von Untergruppen und die anschließende statistische Auswertung der Ergebnisse umfasst.

Dieses Dokument ist anwendbar auf Strategien zur Gruppenuntersuchung, bei denen der GVO-Gehalt auf Grundlage der Saatgut-/Getreideprozentanteile zur Einschätzung der Reinheit geschätzt wird, auf Strategien, bei denen mit dem Ziel eines Ablehn-/Annahmekriteriums untersucht wird, und in Fällen von Saatgut-/Getreidepartien, die kombinierte Ereignisse enthalten.

Dieses Dokument ist nicht anwendbar auf verarbeitete Erzeugnisse.

ANMERKUNG Beschreibungen der Anwendung von Gruppenuntersuchungsstrategien finden sich in den Literaturhinweisen [1] [7] [8] [18] [19] und [20].

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 16577, *Molecular biomarker analysis — Terms and definitions*

ISO 21572, *Foodstuffs — Molecular biomarker analysis — Immunochemical methods for the detection and quantification of proteins*

ISO 24276, *Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — General requirements and definitions*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 16577 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 <https://www.electropedia.org/>

3.1

absolute PCR-Nachweisgrenze

absolute Polymerase-Kettenreaktion-Nachweisgrenze

absolute PCR-LOD, en: limit of detection

niedrigste nominale (mittlere) Anzahl von Zielkopien in dem auf die einzelnen PCRs aufgeteilten Template-Volumen, die eine annehmbare Nachweiswahrscheinlichkeit für die Ziel-DNA liefern würde

3.2

AQL, en: acceptable quality limit

A_{QL}

annehmbare Qualitätsgrenzlage

Ausmaß an Verunreinigung, das für den Produzenten annehmbar und für die Produktionsverfahren tragbar ist

3.3

Verbraucherrisiko

Verbraucher-(Beta-)Risiko

Wahrscheinlichkeit, eine Partie bei der *unteren Qualitätsgrenzlage* (3.10) anzunehmen

3.4

abweichendes Saat-/Getreidekorn

Saat-/Getreidekorn, das aufgrund des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins eines bestimmten Merkmals oder einer bestimmten Eigenschaft als nicht-konform angesehen wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Im Rahmen dieses Dokuments wird ein abweichendes Saatkorn als ein solches angesehen, das eine GV-Eigenschaft aufweist, die ausgehend von den erwarteten oder bekannten GV-Eigenschaften des Saatguts/Getreides nicht erwartet wird bzw. nicht vorgesehen ist.

3.5

Falsch-Negativ-Rate

FNR

Wahrscheinlichkeit, dass eine bekannte positive (Saat-/Getreidekorngruppen-)Untersuchungsprobe (3.20) durch das Verfahren als negativ eingeordnet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Falsch-Negativ-Rate berechnet sich aus der Anzahl der falsch eingeordneten bekannten Positiven dividiert durch die Gesamtzahl der positiven *Untersuchungsproben* (3.20).

[QUELLE: ISO 16577:2016, 3.63, modifiziert – Die Abkürzung wurde hinzugefügt, „positive Untersuchungsprobe“ wurde geändert zu „positive (Saat-/Getreidekorngruppen-)Untersuchungsprobe“ und die Gleichung wurde gelöscht.]

3.6

Falsch-Positiv-Rate

FPR

Wahrscheinlichkeit, dass eine bekannte negative (Saat-/Getreidekorngruppen-)Untersuchungsprobe (3.20) durch das Verfahren als positiv eingeordnet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Falsch-Positiv-Rate berechnet sich aus der Anzahl der falsch eingeordneten bekannten Negativen dividiert durch die Gesamtzahl der negativen *Untersuchungsproben* (3.20).

[QUELLE: ISO 16577:2016, 3.65, modifiziert – Die Abkürzung wurde hinzugefügt, „negative Untersuchungsprobe“ wurde geändert zu „negative (Saat-/Getreidekorngruppen-)Untersuchungsprobe“ und die Gleichung wurde gelöscht.]

3.7

Gruppengröße

Anzahl an Saat-/Getreidekörnern, die in einer Gruppe enthalten sind

3.8

Gruppenuntersuchung

statistische Auswertung des Analytengehalts auf Grundlage von qualitativen Analyseergebnissen (d. h. positiv oder negativ) aus jeder Saat-/Getreidekorngruppe in der *Untersuchungsprobe* (3.20)

3.9

Laborprobe

Probe oder Teilprobe(n), die das Labor erhält

Anmerkung 1 zum Begriff: Es wird davon ausgegangen, dass die erhaltene Saatgut-/Getreideprobe repräsentativ für die *Saatgut-/Getreidepartie* (3.18) ist.

[QUELLE: ISO 16577:2016, 3.89, modifiziert – Anmerkung 1 zum Begriff wurde hinzugefügt.]

3.10

LQL, en: lower quality limit

L_{QL}

untere Qualitätsgrenzlage

höchste für den Verbraucher annehmbare Verunreinigung

Anmerkung 1 zum Begriff: Dies kann dem *Schwellenwert* (3.22) entsprechen.

3.11

Massenanteil

Verhältnis von GV-Saat-/Getreidekörnern relativ zur Gesamtmenge an Saat-/Getreidekörnern, das einem Massenverhältnis entspricht

3.12

Anzahl abweichender Saat-/Getreidekornguppen

Anzahl an *Saat-/Getreidekornguppen* (3.17), die ein oder mehrere *abweichende Saat-/Getreidekörner* (3.4) enthalten

3.13

Operationscharakteristik

OC-Kurve, en: operating characteristic curve

Kurve, die den Anteil an abweichenden Saat-/Getreidekörnern und die Annahmewahrscheinlichkeit auf der horizontalen bzw. der vertikalen Achse darstellt und die bei der Qualitätskontrolle zur Bestimmung der Annahmewahrscheinlichkeit für *Saatgut-/Getreidepartien* (3.18) in einem *Prüfplan* (3.21) verwendet wird

3.14

Produzentenrisiko

Produzenten-(Alpha-)Risiko

Wahrscheinlichkeit, eine Partie bei *AQL* (3.2) abzulehnen

3.15

repräsentative Probe

Probeeinheiten (Proben oder Gruppen), die mittels eines Verfahrens aus einer Partie entnommen wurden, das sicherstellt, dass die Probeeinheiten der Parteien die gleiche Wahrscheinlichkeit haben, ausgewählt zu werden, und nicht in einer Weise verändert werden, die das Analyseergebnis beeinflussen würde

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei dem Entnahmeverfahren kann es sich um ein mehrstufiges Verfahren handeln.

3.16

Ablehn-/Annahmekriterium

größte Anzahl *abweichender Saat-/Getreidekornguppen* (3.12), die in der *Untersuchungsprobe* (3.20) einer annehmbaren *Saatgut-/Getreidepartie* (3.18) nachgewiesen werden kann

3.17

Saat-/Getreidekorngruppe

Gruppe

festgelegte Anzahl an Saat-/Getreidekörnern, die mittels repräsentativer Probenahme aus einer *Saatgut-/Getreide-Untersuchungsprobe* (3.20) entnommen wird

3.18

Saatgut-/Getreidepartie

Partie

Grundgesamtheit, für die die gemessenen Parameter auf Grundlage der Probenahme geschätzt werden sollen

3.19

kombiniertes Ereignis

Kombination von zwei oder mehr Transformationsereignissen infolge traditioneller Züchtung und/oder aufeinanderfolgender Transformationsschritte

Anmerkung 1 zum Begriff: Im Rahmen dieses Dokuments bezieht sich kombiniertes Ereignis auf eine Kombination, bei der die zwei oder mehr Ereignisse genetisch nicht miteinander zusammenhängen.

[QUELLE: ISO 16577:2016, 3.197, modifiziert – Anmerkung 1 zum Begriff wurde hinzugefügt.]

3.20

Untersuchungsprobe

für die Untersuchung oder Analyse vorbereitete Probe, deren gesamte Menge bzw. gesamtes Stück auf einmal für die Untersuchung oder Analyse verwendet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Untersuchungsprobe wird aus der *Laborprobe* (3.9) hergestellt.

Anmerkung 2 zum Begriff: Es wird davon ausgegangen, dass die Untersuchungsprobe repräsentativ für die *Laborprobe* (3.9) ist.

[QUELLE: ISO 16577:2016, 3.210, modifiziert – Anmerkung 1 zum Begriff und Anmerkung 2 zum Begriff wurden hinzugefügt.]

3.21

Prüfplan

Plan, der die Bedingungen von *Gruppenuntersuchungen* (3.8) festlegt, darunter *Gruppengröße* (3.7), die Anzahl der *Saat-/Getreidekornggruppen* (3.17) und die *Anzahl abweichender Saat-/Getreidekornggruppen* (3.12) in der *Untersuchungsprobe* (3.20), die zur Ablehnung einer *Saatgut-/Getreidepartie* (3.18) führt

3.22

Schwellenwert

höchster annehmbarer Gehalt an GVO in einer Partie

Anmerkung 1 zum Begriff: Dies kann ein festgeschriebener Wert sein.

Anmerkung 2 zum Begriff: Schwellenwerte können als *Massenanteil* (3.11) ausgedrückt werden, mit der Maßgabe, dass bei der Umwandlung in einen Saatgut/Getreide-Prozentanteil ein Unsicherheitsfaktor berücksichtigt wird.

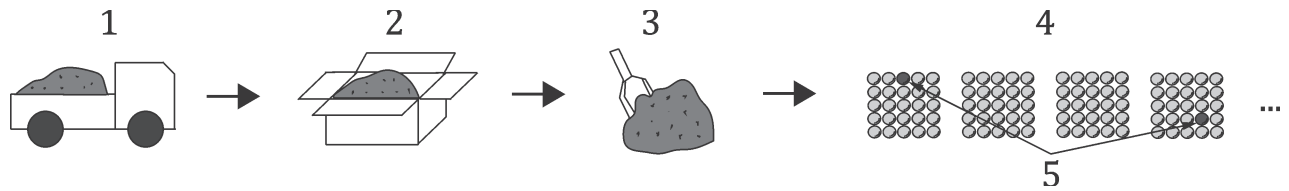
4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Bei diesem Verfahren wird die Untersuchungsprobe in eine festgelegte Anzahl von Gruppen unterteilt. Jede Gruppe besteht aus einer bestimmten Anzahl Saat-/Getreidekörnern und wird qualitativ auf das Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein eines Ziel-GVO untersucht. Eine statistische Auswertung der Anzahl GVO-positiver Gruppen im Verhältnis zur Gesamtzahl an Saat-/Getreidekornggruppen wird vorgenommen, um so den GVO-Gehalt als Massenanteil zu bestimmen.

Mittels einer statistischen Berechnung werden die optimalen Untersuchungsbedingungen bestimmt, d. h. die Anzahl von Saat-/Getreidekörnern je Gruppe (Gruppengröße), die Anzahl an Saat-/Getreidekornggruppen und die größte Anzahl an GVO-positiven Saat-/Getreidekornggruppen für die Annahme einer Saatgut-/Getreidepartie. Alternativ liefert eine statistische Berechnung in Übereinstimmung mit einem festgeschriebenen Prüfplan eine Schätzung des zahlenmäßigen Anteils an GV-Saat-/Getreidekörnern in einer Partie.

4.2 Vorbereitung der Saat-/Getreidekorngruppen



Legende

- 1 lose Saatgut-/Getreidepartie
- 2 Laborprobe
- 3 Untersuchungsprobe
- 4 Saat-/Getreidekorngruppen
- 5 abweichendes Saat-/Getreidekorn

ANMERKUNG Im rechten Bildteil wird jede Gruppe als ein quadratisches Feld dargestellt.

Bild 1 — Illustration der Probenahme zur Bildung von Saat-/Getreidekorngruppen aus einer losen Saatgut-/Getreidepartie

Das Verfahren zur Bildung von Saat-/Getreidekorngruppen durch eine Reihe von Probenahmeschritten, beginnend mit der losen Saatgut-/Getreidepartie, wird in Bild 1 dargestellt (Legendenpunkt 1).

Auch wenn die Vorgehensweisen zur Gewinnung einer Laborprobe aus einer Saatgut-/Getreidepartie nicht Gegenstand dieses Dokuments sind, muss eine Laborprobe (Legendenpunkt 2) auf geeignete Weise aus einer Saatgut-/Getreidepartie gewonnen werden. Die Vorgehensweisen können in Übereinstimmung mit den Literaturhinweisen [3] [6] [10] [11] [12] [15] [19] und [23] konzipiert werden.

Zur Gewinnung der Untersuchungsprobe (Legendenpunkt 3) muss die Laborprobe gründlich gemischt und unterteilt/reduziert werden. Ebenso muss die Untersuchungsprobe gründlich (d. h. homogen) gemischt werden und in Saat-/Getreidekorngruppen unterteilt werden [in Bild 1 wird jede Gruppe als quadratisches Feld dargestellt (Legendenpunkt 4)], wobei die Prinzipien einer einfachen Zufallsprobenahme zu befolgen sind. Die Größe der Saat-/Getreidekorngruppen kann von einem einzelnen Saat-/Getreidekorn bis hin zur gesamten Untersuchungsprobe (d. h. einer einzigen Schüttung) variieren. In den meisten Fällen werden aus der Untersuchungsprobe mehrere Saat-/Getreidekorngruppen gebildet.

Eine bestimmte Anzahl von Saat-/Getreidekörnern kann entweder durch Einwiegen oder durch eine volumetrische Messung, bei der eine Annäherung der Anzahl auf Grundlage eines bestimmten Umwandlungsfaktors erfolgt, erhalten werden (z. B. tausend Saat-/Getreidekörner Gewicht). Falls zur Bildung der Saat-/Getreidekorngruppen Gewicht verwendet wird, muss dem Bearbeiter ein Schätzwert der Variabilität, die durch die Verwendung von Gewicht anstelle einer Auszählung der Saat-/Getreidekörner entsteht, zur Verfügung stehen.

Das in Abschnitt 7 beschriebene Gruppenuntersuchungsverfahren wird mit den gesammelten qualitativen (positiven oder negativen) Ergebnissen für jede Saat-/Getreidekorngruppe durchgeführt.

4.3 Nachweisverfahren für die qualitative Analyse von GV-Saat-/Getreidekörnern in Saat-/Getreidekorngruppen

Allgemein werden GVO-Nachweisverfahren in zwei Klassen unterteilt [21]. Die erste Klasse Verfahren nutzt zum Nachweis des Vorhandenseins von GVO eine Nukleinsäuresequenz als Ziel. Die zweite Klasse Verfahren weist ein festgelegtes Protein, das ein bestimmtes transgenes Merkmal überträgt, nach. Bei der Auswahl von Nachweisverfahren aus einer oder aus beiden Klassen sollte die jeweilige Gebrauchstauglichkeit berücksichtigt werden. Leitlinien für die Auswahl von qualitativen Verfahren finden sich in Abschnitt 8. Weitere Einzelheiten können ISO 21569 [4] und ISO 21572 entnommen werden.

4.4 Statistische Auswertung

Die durch Probenahme und Messungen bedingten Unsicherheiten müssen berücksichtigt werden. Die Unsicherheit durch Probenahmen kann durch die Verwendung einer Binomialverteilung angemessen berücksichtigt werden [18] [2]. Die FPR und die FNR der qualitativen Tests sollten berücksichtigt werden [2]. Die LOD des verwendeten Nachweisverfahrens sollte berücksichtigt werden.

Die hier beschriebene Gruppenuntersuchung kann dazu genutzt werden, Ablehn-/Annahmekriterien auf Grundlage eines bestimmten Schwellenwerts für den GVO-Gehalt festzulegen, sowie den GVO-Gehalt und die dazugehörigen oberen und unteren Vertrauensgrenzen zu schätzen.

5 Reagenzien

Bei der Analyse sollten nur die durch das Verfahren festgelegten Reagenzien verwendet werden.

Im Übrigen sollten alle Reagenzien von molekularbiologischer Qualität sein.

Diese Reagenzien müssen den Empfehlungen des Lieferanten oder den Spezifikationen des Labors zur Qualitätssicherung entsprechend gelagert und verwendet werden. Es kann auch angemessen sein, die für das Analyseverfahren benötigten Reaktionslösungen zu aliquotieren, um zu vermeiden, dass sie wiederholten Gefrier-Auftau-Zyklen unterzogen werden, oder um die Möglichkeiten einer Kreuzkontamination zu verringern oder beides. Weitere Einzelheiten müssen auf ISO 24276 und ISO 21572 verweisen.

6 Geräte und Ausrüstungen

Im Labor sollten ordnungsgemäß gewartete Ausrüstungen verwendet werden, die für die angewendeten Verfahren geeignet sind.

Weitere Einzelheiten müssen auf ISO 24276 und ISO 21572 verweisen.

7 Gestaltung des Prüfplans

7.1 Allgemeines

Die Anzahl der untersuchten Saat-/Getreidekörner, die Ablehn-/Annahmekriterien, die Schritte der Probenvorbereitung und das zur Untersuchung verwendete Verfahren müssen je nach Analysezweck festgelegt werden.

Bei der Klassifizierung der Saat-/Getreidekornproben kann bestimmt werden, ob die Anzahl abweichender Saat-/Getreidekörner bzw. Saat-/Getreidekorngruppen oberhalb eines bestimmten Ablehn-/Annahmekriterium liegt oder nicht. Dann kann auf Grundlage der Untersuchungsergebnisse entschieden werden, ob die Saatgut-/Getreidepartie abgelehnt oder angenommen wird.

Im Wesentlichen besteht ein Prüfplan für eine Gruppenuntersuchung aus drei grundlegenden Parametern:

- a) die Anzahl der Saat-/Getreidekorngruppen;
- b) die Größe der Saat-/Getreidekorngruppen;
- c) die größte Anzahl abweichender Saat-/Getreidekorngruppen für die Annahme einer Saatgut-/Getreidepartie (Ablehn-/Annahmekriterium).

Die mit der AQL bzw. der LQL verbundenen Risiken sind das Produzenten-(Alpha-)Risiko bzw. das Verbraucher-(Beta-)Risiko. Zusammen mit der FPR und der FNR ermöglichen diese die Gestaltung eines geeigneten Prüfplans.

Zur Entwicklung des Prüfplans kann die OC-Kurve verwendet werden. Anhang C enthält Erläuterungen zur Schätzung der LOD bei einem Prüfplan mit Null-Abweichung, zu den Auswirkungen der Genomgröße auf die Gruppengröße, wenn auf DNA abzielende Verfahren verwendet werden, und zu den Auswirkungen der individuellen Saatkorngröße auf die Probenvorbereitung.

Anhang D enthält Leitlinien für die Bestimmung der höchsten Gruppengröße unabhängig von dem im Labor verwendeten Analyseverfahren.

ANMERKUNG Seedcalc [16] ist ein Statistikprogramm (Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel), die über die International Seed Testing Association frei zugänglich ist, und bietet Hilfsmittel zur Erstellung von Prüfplänen. Seedcalc ist über die Webseite von ISTA erhältlich.

7.2 Einstufiger Prüfplan

Ein einstufiger Prüfplan besteht aus einer einzigen Untersuchungsphase. Die Gruppen werden aus der Untersuchungssprobe entnommen und einmal untersucht. Dann wird auf Grundlage der Ergebnisse entschieden, ob die Untersuchungssprobe des Saatguts/Getreides angenommen oder abgelehnt wird. Bei einem einstufigen Prüfplan muss eine festgelegte Anzahl an einzelnen Saat-/Getreidekörnern bzw. Saat-/Getreidekorngruppen nach dem Zufallsprinzip aus der Untersuchungssprobe ausgewählt und untersucht werden. Je nachdem, wie viele Abweichungen festgestellt werden und wie hoch die im Prüfplan festgelegte größte Anzahl an Abweichungen ist, wird die Saatgut-/Getreidepartie entweder angenommen oder abgelehnt.

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein einzelnes Saat-/Getreidekorn bzw. eine Saat-/Getreidekorngruppe abweichend ist, p_b , kann nach Gleichung (1) berechnet werden:

$$p_b = 1 - P = 1 - (1 - p)^m \quad (1)$$

Dabei ist

P die Wahrscheinlichkeit, dass es keine abweichenden Saat-/Getreidekörner in der Gruppe gibt;

p die wahre unbekannte Verunreinigung in einer Saatgut-/Getreidepartie;

m die Anzahl einzelner Saat-/Getreidekörner in einer Saat-/Getreidekorngruppe (wenn Saat-/Getreidekörner einzeln untersucht werden, $m = 1$).

Dann wird die Wahrscheinlichkeit, dass eine Partie angenommen wird, $P(a)$, wie in Gleichung (2) angegeben berechnet:

$$P(a) = \sum_{i=0}^c \binom{n}{i} p_b^i (1 - p_b)^{n-i} \quad (2)$$

Dabei ist

$P(a)$ die Wahrscheinlichkeit, dass eine Partie angenommen wird;

n die Anzahl an untersuchten einzelnen Saat-/Getreidekörnern bzw. Saat-/Getreidekorngruppen;

c die größte Anzahl abweichender Saat-/Getreidekorngruppen für eine Annahme.

Wenn Gleichung (1) und Gleichung (2) kombiniert werden, ist $P(a)$ eine Funktion von p , n , m und c .

Nachdem n , m und c bestimmt wurden, kann eine OC-Kurve erstellt werden, indem p und $P(a)$ gegeneinander auf der x-Achse bzw. der y-Achse aufgetragen werden.

7.3 Zweistufiger Prüfplan

Ein zweistufiger Prüfplan ist im Allgemeinen so aufgebaut, dass in einer zweiten Phase zusätzliche Saat-/Getreidekorngruppen untersucht werden. Die ersten Saat-/Getreidekorngruppen werden aus der Untersuchungsprobe entnommen und untersucht. Auf der Grundlage dieses Untersuchungsergebnisses können drei verschiedene Entscheidungen gefällt werden:

- a) die Saatgut-/Getreidepartie wird angenommen;
- b) die Saatgut-/Getreidepartie wird abgelehnt; oder
- c) eine zweite Anzahl Saat-/Getreidekorngruppen wird aus der Untersuchungsprobe entnommen und untersucht.

Die Untersuchungsergebnisse aus der ersten und zweiten Phase der Untersuchung werden zusammengefasst, und auf dieser Grundlage wird bestimmt, ob die Saatgut-/Getreidepartie angenommen oder abgelehnt wird (siehe Bild B.1). Anhang B enthält Beispiele für die Umsetzung eines zweistufigen Prüfplans zur Bewertung des GVO-Gehalts in Saatgut/Getreide. Abschnitt B.1 kann auch in Fällen angewendet werden, wenn Saatgut-/Getreidepartien kombinierte Ereignisse enthalten.

Einige zusätzliche Ausdrücke sind wie folgt definiert:

- n_1 , die Anzahl an unabhängigen Saat-/Getreidekorngruppen, die in der ersten Phase untersucht werden;
- n_2 , die Anzahl an unabhängigen Saat-/Getreidekorngruppen, die in der zweiten Phase untersucht werden;
- c_1 , die größte Anzahl zulässiger abweichender Saat-/Getreidekorngruppen für eine Annahme in der ersten Phase;
- c_2 , die kleinste Anzahl abweichender Saat-/Getreidekorngruppen, die zu einer Ablehnung in der ersten Phase führt;
- c_3 , die größte Anzahl abweichender Saat-/Getreidekorngruppen aus der ersten und zweiten Phase zusammen, die eine Annahme zulassen;
- d_1 , die Anzahl abweichender Saat-/Getreidekorngruppen in der ersten Phase;
- d_2 , die Anzahl abweichender Saat-/Getreidekorngruppen in der zweiten Phase.

$P(a)$ wird wie in Gleichung (3) angegeben berechnet:

$$P(a) = \sum_{i=0}^{c_1} \binom{n_1}{i} p_b^i (1 - p_b)^{n_1-i} + \sum_{i=c_1+1}^{c_2-1} \left[\left\{ \binom{n_1}{i} p_b^i (1 - p_b)^{n_1-i} \right\} \times \sum_{j=0}^{c_3-i} \binom{n_2}{j} p_b^j (1 - p_b)^{n_2-j} \right] \quad (3)$$

8 Auswahl der qualitativen Verfahren

8.1 Allgemeines

Es muss ein Analyseverfahren ausgewählt werden, das dem Zweck der Untersuchung entspricht. Vor der Anwendung bei einer Saatgut-/Getreideuntersuchung sollten die Leistungsmerkmale des Verfahrens bestimmt werden.

Es sind Analyseverfahren entwickelt worden, um die spezifischen Gene, die transgene Merkmale codieren, oder spezifische Eigenschaften, die durch spezifische Gene im Saatgut/Getreide exprimiert werden, nachzuweisen. Es gibt auf Nukleinsäuren basierende Verfahren wie die PCR, die spezifische DNA-Sequenzen, die Elemente,

Konstrukte oder GV-Ereignisse kodieren, nachweisen [4] [5]. Auf Proteinen basierende Verfahren wie ELISA und Lateral-Flow-Immunoassays erfordern spezifische Antikörper, um ein spezifisches GV-Protein nachzuweisen (siehe ISO 21572).

8.2 Leistungskriterien

Die mit dem Prüfplanprotokoll angewendeten Analyseverfahren müssen in einer Gruppe mindestens ein GV-Saat-/Getreidekorn mit hoher Nachweiswahrscheinlichkeit nachweisen. Siehe Literaturhinweis [2].

Im Fall von PCR müssen Nachweisverfahren ausgewählt werden, die dem Zweck der Gruppenuntersuchung entsprechen. Allgemeine Leistungskriterien von Verfahren werden in ISO 24276 beschrieben. Allgemeine Kriterien für die Gestaltung des Prüfplans, die berücksichtigt werden sollten, sind u. a.

- a) physische Größe und Genomgröße der Saatgut-/Getreideart, da diese die Anzahl an Saat-/Getreidekörnern je Gruppe, die ohne Umstände gemahlen werden können, bzw. die Anzahl an Genomäquivalenten, die in einer Standard-PCR analysiert werden können, beeinflussen,
- b) die absolute PCR-Nachweisgrenze des qualitativen Verfahrens, und
- c) die mit dem Nachweisverfahren bzw. Identifizierungsverfahren verbundenen Falsch-Negativ-Raten sollten zudem sowohl für auf Nukleinsäuren basierende als auch für auf Proteinen basierende Verfahren berücksichtigt werden [8] [34].

Für Nachweisverfahren spezifische Leistungskriterien können auf ISO 24276, ISO 21569 [4] und ISO 21572 verweisen.

Bei den in diesem Dokument erörterten Prüfplänen für Saatgut/Getreide wird davon ausgegangen, dass die untersuchten Saat-/Getreidekörner eine repräsentative Probe darstellen, die aus der Untersuchungsprobe des Saatguts/Getreides entnommen wurde. Eine einfache repräsentative Probenahme bedeutet, dass für jedes Saat-/Getreidekorn der Untersuchungsprobe die gleiche und unabhängige Chance besteht, in die Saat-/Getreidekorngruppe aufgenommen zu werden.

9 Auswertung

Um zu bestimmen, ob eine gegebene Saatgut-/Getreidepartie „angenommen“ oder „abgelehnt“ wird, müssen die Untersuchungsergebnisse mit dem zuvor festgelegten Ablehn-/Annahmekriterium, z. B. der größten für eine Annahme zulässigen Anzahl GV-positiver Gruppen, verglichen werden.

Statistische Berechnungen unter Verwendung der unten stehenden Gleichungen ermöglichen die Bewertung eines GVO-Gehalts mit Vertrauensintervallen aus den Untersuchungsergebnissen. Statistische Rechensoftware wie Seedcalc¹ erleichtert die Berechnungen. So können basierend auf der Anzahl an Gruppen, die in der qualitativen Analyse als GV-positiv festgestellt wurden, quantitative Informationen über den GVO-Gehalt einer Saatgut-/Getreidepartie ermittelt werden. Zusammengefasst zeigen die Untersuchungsergebnisse und ihre statistische Auswertung das Ausmaß der Verunreinigung einer Saatgut-/Getreidepartie. Anschließend können für diese Auswertung der Verunreinigung obere und untere 95%-Vertrauensgrenzen berechnet werden. Es kann davon ausgegangen werden, dass die wahre Verunreinigung der Saatgut/Getreide-Untersuchungsprobe mit einem Vertrauensniveau von 95 % innerhalb dieser Grenzen liegt.

1 Seedcalc ist ein Beispiel für ein statistisches Hilfsmittel zur Untersuchung von Saatgut. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produkts durch ISO.

Der wahrscheinlichste Wert für den GVO-Gehalt, p , kann auf Grundlage der Untersuchungsergebnisse wie in Gleichung (4) angegeben berechnet werden.

$$p = 1 - \left(1 - \frac{d}{n}\right)^{\frac{1}{m}} \quad (4)$$

Dabei ist

n die Anzahl an untersuchten einzelnen Saat-/Getreidekörnern bzw. Saat-/Getreidekorngruppen;

m die Anzahl einzelner Saat-/Getreidekörner in einer Saat-/Getreidekorngruppe (wenn die Saat-/Getreidekörner einzeln untersucht werden, $m = 1$);

d die Anzahl abweichender Saat-/Getreidekörner oder Saat-/Getreidekorngruppen.

Der Gruppenuntersuchungsansatz unterliegt, genau wie quantitative Verfahren, Einschränkungen hinsichtlich der schätzbaren GVO-Niveaus. Tabelle 1 zeigt zwei Beispiele für die höchsten berechneten Schätzungen eines GVO-Gehalts für Untersuchungsproben mit einer Größe von 200 Saat-/Getreidekörnern bzw. 3 000 Saat-/Getreidekörnern. Die höchsten Schätzungen ergeben sich, wenn alle bis auf eine Gruppe positiv sind. Die zugehörigen 95-%-Vertrauensgrenzen werden mit den Schätzungen zusammen angegeben, um auf die durch die Probenahme bedingte Unsicherheit hinzuweisen.

ANMERKUNG Bei Saat-/Getreidekorngruppen mit einer Größe von mehr als eins, bei denen alle Gruppen positiv auf das Vorhandensein von GVO getestet wurden, ist dieser Ansatz von sehr geringem Nutzen.

Tabelle 1 — Beispiele für die höchste Schätzung des GVO-Gehalts an abweichenden Saat-/Getreidekörnern bei unterschiedlichen Gruppengrößen (wenn alle bis auf eine Gruppe positiv sind) und die 95-%-Vertrauensgrenzen (wenn alle bis auf eine Gruppe positiv sind)

Saatkörner (gesamt)	Gruppen	Saatkörner je Gruppe	GV-positive Gruppen	Geschätzter Prozentsatz an GV-Saatkörnern	Schwankungsbereich des GVO-Gehalts (%) (bei 95-%-Vertrauensniveau)
200	1	200	0	0,0	0,0 bis 1,8
	5	40	4	3,9	0,8 bis 12,4
	10	20	9	10,9	4,0 bis 25,8
	20	10	19	25,9	13,0 bis 48,7
3 000	1	3 000	0	0,0	0,0 bis 0,1
	5	600	4	0,3	0,1 bis 0,9
	10	300	9	0,8	0,3 bis 2,0
	20	150	19	2,0	0,9 bis 4,4
	30	100	29	3,3	1,7 bis 6,8
	60	50	59	7,9	4,7 bis 14,4

Wenn das Vertrauensniveau für die Auswertung als x % festgelegt wird, kann die obere Vertrauensgrenze für den GVO-Gehalt in der Auswertung mithilfe der folgenden Gleichung (5) und Gleichung (6) berechnet werden:

$$\alpha = 1 - \frac{x}{100} \quad (5)$$

Dabei ist x das Vertrauensniveau in Prozent.

$$P_{UL} = 1 - \left(1 - \frac{(d+1) F_{1-\alpha, 2d+2, 2n-2d}}{(n-d) + (d+1) F_{1-\alpha, 2d+2, 2n-2d}} \right)^{\frac{1}{m}} \quad (6)$$

Dabei ist die Größe $F_{1-\alpha, 2d+2, 2n-2d}$ das $1 - \alpha$ Quantil aus einer F -Verteilung mit den Freiheitsgraden $2d+2$ und $2n-2d$.

Zudem kann der zweiseitige Vertrauensbereich (obere Grenze, P_{UL} ; untere Grenze, P_{LL}) mithilfe der folgenden Gleichung (7) und Gleichung (8) berechnet werden:

$$P_{UL} = 1 - \left(1 - \frac{(d+1) F_{1-\alpha/2, 2d+2, 2n-2d}}{(n-d) + (d+1) F_{1-\alpha/2, 2d+2, 2n-2d}} \right)^{\frac{1}{m}} \quad (7)$$

$$P_{LL} = 1 - \left(1 - \frac{d}{d + (n-d+1) / F_{\alpha/2, 2d, 2n-2d+2}} \right)^{\frac{1}{m}} \quad (8)$$

10 Angabe der Ergebnisse

10.1 Einordnung einer Saatgut-/Getreidepartie in die Kategorien „Annahme“ oder „Ablehnung“

Zur Einordnung einer Saatgut-/Getreidepartie in die Kategorien „Annahme“ oder „Ablehnung“ kann die entsprechende Aussage getroffen werden, dass die Saatgut-/Getreidepartie annehmbar ist bzw. dass die Saatgut-/Getreidepartie abgelehnt werden sollte.

Die auf dem Ergebnis basierende obere 95%-Vertrauensgrenze der Konzentration oder die Anzahl an untersuchten Gruppen oder die Anzahl an abweichenden Einheiten oder alle diese genannten Angaben können hinzugefügt werden.

Für ein besseres Verständnis kann die OC-Kurve, die die Charakteristik der Probenahme ausdrückt, zusammen mit dem alternativen Entscheidungsergebnis beigelegt werden.

10.2 Schätzung des Gehalts an molekularen Biomarkern in der Saatgut-/Getreidepartie

Der GVO-Gehalt in der Saatgut-/Getreidepartie kann wie in Abschnitt 9 beschrieben geschätzt werden. Es kann die entsprechende Aussage getroffen werden, dass der wahrscheinlichste Wert für den GVO-Gehalt p % beträgt und dass der $(1 - \alpha) \times 100$ % Vertrauensbereich von P_{LL} % bis P_{UL} % reicht.

11 Untersuchungsbericht

Der Untersuchungsbericht muss in Übereinstimmung mit ISO 24276 verfasst werden und muss mindestens die folgenden zusätzlichen Angaben enthalten:

- a) die Probe;
- b) eine Verweisung auf das für die Extraktion der Nukleinsäure oder des Proteins verwendete Verfahren;
- c) eine Verweisung auf die für die Amplifikation der Nukleinsäurezielsequenzen verwendeten Verfahren oder die für den Nachweis des Zielproteins verwendeten Verfahren oder beides;
- d) die LOD des zur Untersuchung der Gruppen verwendeten Verfahrens und die zur Bestimmung der LOD verwendete Matrix;