

**Empfehlung der ALTS-Arbeitsgruppe
„Hygiene und Mikrobiologie“
zur experimentellen Abschätzung der Messunsicherheit bei quantitativen
mikrobiologischen Untersuchungsverfahren für Lebensmittel**

2. Version (November 2021)

Einleitung	3
KAPITEL I EMPFEHLUNG ZUR ABSCHÄTZUNG DER MESSUNSICHERHEIT BEI QUANTITATIVEN MIKROBIOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGSVERFAHREN	3
1 ANWENDUNGSBEREICH	3
2 BEGRIFFE	4
2.1 Präzision	4
2.2 Wiederholpräzision (r)	4
2.3 Vergleichpräzision (R)	4
2.4 Richtigkeit	4
2.5 Messunsicherheit (MU)	4
2.6 Technische Unsicherheit	4
2.7 Matrixunsicherheit	4
2.8 Verteilungsunsicherheit	5
2.9 Standardunsicherheit (u)	5
2.10 Erweiterte Unsicherheit (U)	5
2.11 Laborinterne Vergleichsstandardabweichung (s_{IR})	5
2.12 Laborprobe	5
2.13 Untersuchungsprobe	5
2.14 Prüfmenge	5
3 EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE MESSGENAUIGKEIT.....	6
4 ABSCHÄTZUNG DER MESSUNSICHERHEIT IN DER MIKROBIOLOGIE	6
4.1 Technische Unsicherheit	7
4.1.1 Abschätzung aus Daten von Intra-Laborvergleichsuntersuchungen	7
4.1.1.1 Durchführung	7
4.1.1.2 Auswahl der Probenmatrix	8
4.1.1.3 Beimpfen des Probenmaterials	8
4.1.1.4 Keimzahlbereich und Koloniezahlen	9
4.1.1.5 Auswertung und Bestätigung	9
4.1.1.6 Berechnen der Vergleichsstandardabweichung	9
4.2 Matrixunsicherheit	10
4.3 Verteilungsunsicherheit	10
4.4 Erweiterte Messunsicherheit	10
5 ANGABE DER MESSUNSICHERHEIT IM PRÜFBERICHT	11
KAPITEL II INTERPRETATION VON MESSUNSICHERHEITEN BEI QUANTITATIVEN MIKROBIOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGSVERFAHREN.....	11
6 ÜBERLEGUNGEN ZUR BERÜCKSICHTIGUNG BEI DER BEURTEILUNG VON LEBENSMITTELN	11

7	BEWERTUNG DER PRÄZISIONSDATEN	12
8	SCHLUSSFOLGERUNGEN	13
9	LITERATUR	14
10	WEITERFÜHRENDE LITERATUR.....	14
ANHANG A	ABBILDUNGEN	16
ANHANG B	MITGLIEDERLISTE (STAND NOVEMBER 2021).....	17

Einleitung

Gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2018 müssen akkreditierte Prüflaboratorien über Verfahren für die Schätzung der Messunsicherheit (MU) verfügen und diese anwenden. Weiterhin sind nach dieser Norm Angaben zur geschätzten MU in Prüfberichten dann erforderlich, wenn sie für die Gültigkeit oder Anwendung der Prüfergebnisse von Bedeutung sind, wenn sie vom Kunden verlangt werden oder wenn die Unsicherheit die Einhaltung von vorgegebenen Grenzen in Frage stellt.

Vor diesem Hintergrund hatte die ALTS-Arbeitsgruppe „Validierung mikrobiologischer Untersuchungsverfahren“ im Jahr 2004 beschlossen, sich vorrangig mit dem Thema „Messunsicherheit mikrobiologischer Untersuchungsverfahren“ zu beschäftigen. In der Mikrobiologie werden Messunsicherheiten von Vergleichsstandardabweichungen abgeleitet, welche vorzugsweise in Intra-Laborvergleichsuntersuchungen durch das Labor selbst ermittelt werden sollten. Deshalb wurden in den folgenden Jahren von den teilnehmenden Labors vergleichende experimentelle Untersuchungen durchgeführt, mit dem Ziel, eine Datensammlung anzulegen und Empfehlungen zur Abschätzung der MU zu erarbeiten. Nach Veröffentlichung der DIN EN ISO 19036:2020, Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Feststellung von Messunsicherheiten bei quantitativen Bestimmungen - hat die ALTS-Arbeitsgruppe „Hygiene und Mikrobiologie“ die im Jahr 2008 erstmals veröffentlichte Empfehlung der ALTS-Arbeitsgruppe „zur experimentellen Abschätzung der Messunsicherheit bei quantitativen mikrobiologischen Untersuchungsverfahren für Lebensmittel“ aktualisiert (Mitgliederliste siehe Anhang B). Nicht mitberücksichtigt wurden dabei die neu in die Norm aufgenommenen Anleitungen zur Bestimmung der MU bei Anwendung des MPN¹-Verfahrens sowie anderer Verfahren (vergl. Anwendungsbereich der DIN EN ISO 19036:2020).

Die folgende Empfehlung der Arbeitsgruppe beinhaltet darüber hinaus im Kapitel II das Ergebnis der Diskussion zu der Frage, wie mit der MU bei der Beurteilung von Lebensmitteln im Hinblick auf deren mikrobiologische Beschaffenheit umzugehen ist. Sie beruht auf derzeitigen wissenschaftlichen Erkenntnissen und lebensmittelrechtlichen Vorgaben.

Kapitel I Empfehlung zur Abschätzung der Messunsicherheit bei quantitativen mikrobiologischen Untersuchungsverfahren

1 Anwendungsbereich

Die Empfehlung richtet sich an Labors in Deutschland, welche amtliche Lebensmitteluntersuchungen durchführen. Sie dient als Hilfestellung bei der Abschätzung der MU von quantitativen mikrobiologischen Untersuchungsergebnissen sowie deren Angabe im Prüfbericht. Eine Verpflichtung zur Anwendung besteht nicht.

Die Empfehlung bezieht sich auf die quantitative kulturelle Bestimmung von Bakterien in Lebensmitteln mit Ausnahme des MPN-Verfahrens. Zu anderen Mikroorganismen (Viren, Parasiten), anderen Untersuchungsverfahren (z. B. molekularbiologische Verfahren, Impedimetrie) und anderen Probenmaterialien (z. B. Futtermittel) liegen der Arbeitsgruppe keine eigenen Erkenntnisse vor bzw. fallen diese nicht in den Anwendungsbereich der DIN EN ISO 19036:2020 (z.B. MU-Bestimmung in Wasser: vergl. ISO 29201).

¹ MPN: most probable number (Verfahren der wahrscheinlichsten Keimzahl)

2 Begriffe

Für die Anwendung dieser Empfehlung gelten die folgenden Begriffe:

2.1 Präzision

Gemäß DIN EN ISO 16140-1:2016 ist die Präzision der „Grad der Übereinstimmung zwischen angezeigten Werten oder gemessenen Größenwerten, die durch Wiederholungsmessungen an den gleichen oder ähnlichen Objekten unter festgelegten Bedingungen erhalten wurden“.

2.2 Wiederholpräzision (r)

Gemäß DIN EN ISO 16140-1:2016 ist die Wiederholpräzision die „Präzision der Messung unter einer Reihe von Wiederholbedingungen der Messung (dasselbe Messverfahren, denselben Bearbeiter, dasselbe Messsystem, dieselben Betriebsbedingungen und denselben Ort sowie wiederholte Messungen an demselben Objekt oder an ähnlichen Objekten in kurzen Zeitabständen)“.

2.3 Vergleichpräzision (R)

Gemäß DIN EN ISO 16140-1:2016 ist die Vergleichpräzision die „Präzision der Messung unter Vergleichbedingungen der Messung (unterschiedliche Orte, Bearbeiter, Messsysteme und wiederholte Messungen an demselben Objekt oder an ähnlichen Objekten)“.

2.4 Richtigkeit

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Richtigkeit das „Maß der Übereinstimmung zwischen dem Mittelwert einer unbegrenzten Anzahl von repliziert gemessenen Mengenwerten und einem Bezugsgrößenwert“ (Referenzmengenwert).

Anmerkung:

In der quantitativen Lebensmittel-Mikrobiologie sind Referenzmengenwerte normalerweise nicht verfügbar, so dass die systematische Abweichung von Messwerten (die quantitativ den Mangel an Richtigkeit ausdrückt) nicht zuverlässig geschätzt werden kann und nicht in der in diesem Dokument beschriebenen Schätzung der Unsicherheit enthalten ist (vergl. Einleitung der DIN EN ISO 19036:2020).

2.5 Messunsicherheit (MU)

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Messunsicherheit definiert als ein „dem Messergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung der Werte angibt, die vernünftigerweise der Messgröße zugeordnet werden könnte“.

Anmerkung:

Die MU steht allein für die Präzision einer Analyse, nicht aber für die Richtigkeit als zweite Komponente der Messgenauigkeit. Sie darf nicht zur Korrektur eines Messergebnisses verwendet werden.

2.6 Technische Unsicherheit

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die technische Unsicherheit die „Unsicherheit, die aus der operationellen Variabilität resultiert, welche mit den technischen Schritten des Analyseverfahrens verbunden ist“.

Anmerkung:

Die technische Unsicherheit umfasst z. B. die Variabilitäten beim Einwiegen von Probenmaterialien, Pipettieren, beim Beimpfen und der Bebrütung von Medien sowie der Qualität der verwendeten Medienchargen.

2.7 Matrixunsicherheit

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Matrixunsicherheit die „Unsicherheit, die sich aus dem Ausmaß ergibt, in dem die Prüfmenge nicht wirklich repräsentativ für die Laborprobe ist“.

Anmerkung:

Als Matrixunsicherheit werden die Variationen der Kontaminationsgrade zwischen verschiedenen Prüfmengen einer Laborprobe bezeichnet. Sie kann vor allem bei festen und zusammengesetzten Matrices einen großen Einfluss auf das Messergebnis haben, sofern die Untersuchungsproben vor der Entnahme der Prüfmengen nicht ausreichend homogenisiert werden. Die Matrixunsicherheit wird für jeden Matrixtyp gesondert geschätzt und gilt für alle bei dieser Matrix angewendeten quantitativen Prüfverfahren, sofern von einer ähnlichen Verteilung der Mikroorganismen in der Matrix auszugehen ist.

2.8 Verteilungsunsicherheit

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Verteilungsunsicherheit die „Unsicherheit, die sich aus der intrinsischen Variabilität in Verbindung mit der Verteilung der Mikroorganismen in der Probe, der Erstverdünnung und den Folgeverdünnungen ergibt“.

Anmerkung:

Verteilungsunsicherheiten lassen sich auch durch sorgfältiges Homogenisieren der zu untersuchenden Materialien nicht ausschließen. Bei Koloniezählverfahren hängt die Verteilungsunsicherheit ab von der Zahl der gewachsenen bzw. bestätigten Kolonien.

2.9 Standardunsicherheit (u)

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Standardunsicherheit die „als Standardabweichung angegebene Unsicherheit eines Messergebnisses“.

2.10 Erweiterte Unsicherheit (U)

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die erweiterte Unsicherheit (bzw. erweiterte Messunsicherheit) ein „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“.

2.11 Laborinterne Vergleichsstandardabweichung (s_{IR})

Die laborinterne Vergleichsstandardabweichung ist die Standardabweichung von Prüfergebnissen, welche unter Intra-Laborvergleichbedingungen gewonnen wurde. Die voneinander unabhängigen Prüfergebnisse werden durch Anwendung desselben Verfahrens an identischen Prüfmaterialien (Laborprobe) im selben Labor durch verschiedene Personen mit verschiedenen Geräteausrüstungen erzielt.

2.12 Laborprobe

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Laborprobe die „Probe, die zum Versand an das Labor vorbereitet und zur Kontrolle oder Prüfung vorgesehen ist“.

2.13 Untersuchungsprobe

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Untersuchungsprobe die „aus der Laborprobe nach der im Prüfverfahren festgelegten Verfahrensweise hergestellte Probe, von der die Prüfmengen entnommen werden“.

2.14 Prüfmenge

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ist die Prüfmenge die „aus einer Laborprobe entnommene und (nach Volumen oder Masse) gemessene repräsentative Probe, aus der die Erstverdünnung hergestellt wird“.

Weitere Erläuterungen von Begriffen finden sich in der jeweils gültigen Fassung der DIN EN ISO 19036.

3 Einflussfaktoren auf die Messgenauigkeit

Ein Labor sollte die angewandten Untersuchungsverfahren unter Kontrolle haben. Es muss belegen können, dass die ermittelten Ergebnisse nicht nur richtig, sondern auch präzise sind. Da in der Mikrobiologie der wahre Wert nicht verfügbar ist, lassen sich systematische Abweichungsfehler (bias) in mikrobiologischen Labors nicht vollständig ermitteln. Allerdings können Ergebnisse aus Inter-Laborvergleichuntersuchungen (Ringversuche, proficiency-Tests) einen Hinweis darauf geben, ob die erzielten Messergebnisse im Vergleich zum Mittelwert der von allen Labors ermittelten Ergebnisse richtig sind. Deshalb wird gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2018 von mikrobiologischen Labors erwartet, dass sie erfolgreich an Inter-Laborvergleichuntersuchungen teilnehmen. Zur Bewertung der Präzision müssen sie zusätzlich die MU ihrer quantitativen Verfahren abschätzen.

Auch die Probenentnahme und der Probentransport können große Fehlerquellen bezogen auf das analytische Endergebnis darstellen. Sie liegen jedoch in der Regel nicht im Verantwortungsbereich des Labors. Die experimentelle Abschätzung der MU beschränkt sich deshalb auf die Analyse des eingesandten Probenmaterials.

Eine wesentliche Quelle der MU kann das „sub-sampling“ im Labor sein, also die Entnahme von Probenmaterial zur Herstellung einer Erstverdünnung. Unsicherheiten bezogen auf das Messergebnis treten auch bei den weiteren Schritten der Analyse auf, wie Homogenisieren, Pipettieren, Bebrüten, Auszählen von Kolonien und Durchführen von Bestätigungsreaktionen. Die wichtigsten Einflussgrößen sind dabei die untersuchte Matrix, die durchführenden Personen, Umgebungsbedingungen, Zeitfaktoren, Geräte, Medien und Reagenzien.

4 Abschätzung der Messunsicherheit in der Mikrobiologie

Bei der Abschätzung der MU gemäß DIN EN ISO 19036:2020 werden folgende Unsicherheitskomponenten betrachtet:

- Technische Unsicherheit,
- Matrixunsicherheit und
- Verteilungsunsicherheit.

Wenn es mit den Kundenanforderungen vereinbar ist, reicht es zur Abschätzung der MU eines quantitativen mikrobiologischen Untersuchungsverfahrens aus, die zur Abschätzung der technischen Unsicherheit gemäß DIN EN ISO 19036:2020 ermittelte laborinterne Vergleichsstandardabweichung s_{IR} mit einem Erweiterungsfaktor ($k=2$) zu multiplizieren. Das setzt aber voraus, dass die Untersuchungsproben vor der Entnahme der Prüfmenge mit technischen Geräten sorgfältig homogenisiert werden, um die Matrixunsicherheit so weit wie möglich zu reduzieren.

Andernfalls müssen die individuellen Matrixunsicherheiten gemäß DIN EN ISO 19036:2020 experimentell ermittelt werden, um zur Abschätzung der MU die technische Standardunsicherheit (u_{tech}), die Standardunsicherheit der Matrix (u_{matrix}) und die Verteilungsstandardunsicherheiten ($u_{Poisson}$, u_{conf}) kombinieren zu können.

Alternativ können auch für jede Matrix- oder Matrixgruppe² spezifische laborinterne Vergleichsstandardabweichungen experimentell ermittelt werden, welche dann alle wesentlichen Unsicherheitskomponenten beinhalten und zur Abschätzung der Messunsicherheiten mit einem Erweiterungsfaktor ($k=2$) multipliziert werden.

² Eine Einteilung in Matrixgruppen ist beispielsweise anhand des Zerkleinerungsgrades des Probenmaterials möglich, zum Beispiel in pulverförmige und flüssige Lebensmittel, gründlich zerkleinerte feste Lebensmittel, feste kleinteilige und andere feste Lebensmittel. Durch gründliches Zerkleinern und Mischen im Rahmen der Probenaufarbeitung können alle festen Lebensmittel der gleichen Matrixgruppe angehören.

4.1 Technische Unsicherheit

Die technische Unsicherheit hat bei der quantitativen Bestimmung von Mikroorganismen in der Regel den größten Einfluss auf das Messergebnis. DIN EN ISO 19036:2020 schlägt drei alternative Möglichkeiten für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung zur Bestimmung der technischen Unsicherheit in absteigender Rangfolge vor:

1. Laborinterne Vergleichsstandardabweichung, d.h. Schätzung der Vergleichspräzision innerhalb eines Laboratoriums
2. Ableitung der Vergleichspräzision aus den Ergebnissen eines Ringversuchs zur Verfahrensvalidierung
3. Ableitung der Vergleichspräzision aus den Ergebnissen eines Ringversuchs zur Eignungsprüfung

Zu 1: Die technische Unsicherheit wird vorzugsweise aus einer Vergleichsstandardabweichung des Endergebnisses des Messprozesses geschätzt, welche gemäß Vorgaben der DIN EN ISO 19036:2020 durch vergleichende Untersuchung von homogenisierten Proben aus Routine-Einsendungen oder Eignungsprüfungen laborintern experimentell ermittelt wird.

Zu 2: Wird ein Verfahren verwendet, welches mittels einer Eignungsprüfung validiert wurde, kann auch die durch die Auswertung der Eignungsprüfung ermittelte Vergleichsstandardabweichung für die Schätzung der technischen Messunsicherheit verwendet werden, sofern die laborintern ermittelten Werte für die Wiederholpräzision und die Vergleichspräzision nicht höher sind als die der Eignungsprüfung.

Zu 3: Auch die im Rahmen einer erfolgreichen Teilnahme an einer Eignungsprüfung ermittelte laborübergreifende Vergleichspräzision darf zur Schätzung der MU verwendet werden, wenn von allen Teilnehmer-Laboren dasselbe Verfahren verwendet wurde. Allerdings kann die technische Unsicherheit unterschätzt werden, wenn die Versuchspläne der Eignungsprüfungen sehr stark von den Routineanalysen abweichen (z. B. bei der Herstellung der Erstverdünnung, fehlende Begleitflora).

4.1.1 Abschätzung aus Daten von Intra-Laborvergleichsuntersuchungen

International wird die Abschätzung der MU aus den Vergleichsstandardabweichungen favorisiert, welche in Intra-Laborvergleichsuntersuchungen durch das Labor selbst ermittelt werden. Die Höhe der abgeschätzten MU ist ein Maß für die Streuung der Ergebnisse, welche mit dem geprüften quantitativen Untersuchungsverfahren bei einer bestimmten Probenmatrix oder -matrixgruppe in dem betreffenden Labor ermittelt werden. Sie ist somit auch auf Routineproben übertragbar. Sie kann in verschiedenen Labors jedoch unterschiedlich groß sein. Systematische Abweichungsfehler können bei diesen Untersuchungen allerdings nicht erkannt werden.

Die laborinternen Vergleichsstandardabweichungen sollten für jedes im Labor angewandte quantitative Untersuchungsverfahren und für jeden Zielkeim (bzw. Keimgruppe) ermittelt werden. Werden Untersuchungsverfahren innerhalb eines Labors in verschiedenen Modifikationen durchgeführt, z.B. hinsichtlich der Beimpfungsmethode oder der Anzahl der beimpften Parallelplatten, ist die laborinterne Vergleichsstandardabweichung für jede Modifikation separat experimentell zu ermitteln. Eine Wiederholung der Experimente ist notwendig, sofern sich die Untersuchungsbedingungen innerhalb des Labors ändern (neue Methode, neue Medien, neue Geräte, neues Personal).

4.1.1.1 Durchführung

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 sollten je Prüfverfahren mindestens 10 homogenisierte Proben von zwei verschiedenen Personen gemäß der laboreigenen Prüfvorschrift parallel aufgearbeitet werden, so dass für jede Probe zwei Keimzahlen erhalten werden³. Es sollte darauf geachtet werden, dass die Untersuchungsbedingungen (Einwaage der Prüfmenge und Herstellung der

³ Falls in einem Labor nur eine Person praktisch tätig ist, kann zur Prüfung auf Präzision ersatzweise die Wiederholbarkeit ermittelt werden.

Erstverdünnung, Auswahl des Beimpfungsverfahrens und Anzahl beimpfter Parallelplatten) den Routinebedingungen entsprechen und für die Ermittlung der Vergleichsstandardabweichung nicht abgewandelt werden. Personen, Geräte und Medien sollten möglichst ebenso variabel eingesetzt werden, wie auch sonst üblich. Deshalb sollten auch unterschiedliche Chargen an Verbrauchsmaterialien zum Einsatz kommen. Ebenso sollte die Auswertung der bebrüteten Platten von den gleichen Personen erfolgen, die auch die Routineproben auswerten⁴.

4.1.1.2 Auswahl der Probenmatrix

Da die Schätzung der s_{IR} so konzipiert ist, dass Beiträge durch die Heterogenität der Laborprobe ausgeschlossen werden, ist es nicht erforderlich die Schätzung für verschiedene Matrices zu wiederholen, sie kann auf Grundlage einer einzigen Matrix durchgeführt werden.

Die Auswahl der Matrix für Intra-Laborvergleichuntersuchungen richtet sich grundsätzlich nach den innerhalb des Labors routinemäßig untersuchten Probenmaterialien. Sofern für den Zielkeim mikrobiologische Grenzwerte in bestimmten Matrices vorliegen, welche vom Labor auch zur Beurteilung herangezogen werden, sollten auch diese Matrices für die experimentellen Untersuchungen ausgewählt werden.

Natürlich kontaminierte Proben sind bevorzugt auszuwählen, weil sie eine Abschätzung der MU unter realistischeren Bedingungen erlauben, als künstlich kontaminierte Proben. In der Regel sind dabei die Ergebnisse mehrerer Keimgruppen gleichzeitig auswertbar. Es ist nicht erforderlich, Laborproben mit unterschiedlichen Kontaminationsgraden zu berücksichtigen. Falls möglich sollten die Laborproben jedoch die natürlichen Schwankungen des Kontaminationsgrades abdecken. Für die Abschätzung der MU bei der quantitativen Bestimmung von Keimarten, die üblicherweise nur selten oder nur in sehr geringer Keimkonzentration in Lebensmitteln vorkommen (z.B. pathogene Keime), müssen Proben ggf. künstlich kontaminiert werden.

Es kann empfehlenswert sein, von Routineproben Material zurückzustellen und gekühlt bzw. tiefgekühlt zwischen zu lagern, um es bei Vorhandensein des Zielkeims im gewünschten Keimzahlbereich für vergleichende Untersuchungen zu verwenden. Um höhere Keimzahlen zu erhalten, können gering kontaminierte Proben vor der vergleichenden Untersuchung auch bei Raumtemperatur bzw. im Brutschrank gelagert werden.

Unter Umständen lässt sich auch das im Rahmen von Laborvergleichuntersuchungen verschickte Referenzmaterial einsetzen, sofern eine Vergleichbarkeit mit Routineproben gegeben ist. Wenn mehr als zwei Personen eines Labors an den Laborvergleichuntersuchungen teilgenommen haben, sollte die Auswahl der jeweiligen Keimzahlpaare im Zufallsverfahren erfolgen.

4.1.1.3 Beimpfen des Probenmaterials

Steht keine ausreichende Anzahl natürlich kontaminierter Proben zur Verfügung, müssen ausgewählte Probenmaterialien mit den gewünschten Keimen vorzugsweise in unterschiedlichen Konzentrationen auf Stufe der jeweiligen Erstverdünnung künstlich kontaminiert werden. Verfahren für die Herstellung künstlich kontaminierter Lebensmittel sind in der DIN EN ISO 16140-3:2021 beschrieben. Das beimpfte Probenmaterial sollte in seiner Beschaffenheit weitestgehend natürlich kontaminierten Proben ähneln, auch in Bezug auf den physiologischen Zustand der eingeimpften Mikroorganismen.

Die Auswahl der Stämme richtet sich nach der jeweils zu prüfenden Methode und den Empfehlungen der Nährmedienhersteller. Es werden Stämme aus definierten Stammsammlungen (z. B. WDCM, ATCC, DSMZ) oder eindeutig biochemisch definierte Feldstämme eingesetzt.

⁴ Werden Ergebnisse der beiden Messreihen unwillkürlich angeglichen, kann eine Codierung der Platten oder eine Auswertung durch verschiedene Personen nötig sein.

Insbesondere bei Verfahren mit Bestätigungsschritt sollte darauf geachtet werden, dass Lebensmittelmatrices mit einer hohen Hintergrundflora verwendet werden.

Nach eigenen Erfahrungen können die Erstverdünnungen mit Verdünnungen von frischen Bouillon-Kulturen beimpft werden. Nach 18-stündiger Bebrütung wird abhängig von Keimart, Stamm, Medium und Bebrütungstemperatur eine Keimkonzentration von 10^7 bis 10^9 Koloniebildenden Einheiten (KbE) pro Milliliter Bouillon erreicht. Der physiologische Zustand derart eingeimpfter Keime kann jedoch erheblich vom Zustand in Routineproben abweichen (z. B. gestresste Mikroorganismen in Trockenprodukten).

Der Keimgehalt der bebrüteten Bouillons verändert sich bei Kühlung über mehrere Tage in der Regel nur unwesentlich, so dass die Keimzahl auch vor Verwendung der Beimpfungs-Bouillon bestimmt werden kann bzw. eine wiederholte Verwendung möglich ist (Ausnahmen z.B. *Clostridium* spp., *Vibrio* spp.). Ergänzend wird dennoch eine nachträgliche Keimzahlbestimmung der Beimpfungs-Bouillon empfohlen.

Die Keimdichte kann auch anhand der optischen Dichte auf McFarland-Standard eingestellt werden. Dabei sollten die Herstellerangaben berücksichtigt und die Koloniezahlen vergleichend in einem Vorversuch bzw. vor Verwendung überprüft werden.

Jede der beiden Prüfmengen wird auf der Stufe der Erstverdünnung mit vorher festgelegten Mengen der jeweiligen bebrüteten und verdünnten Bouillons beimpft. Dabei ist auf eine gute Durchmischung der Bouillonkulturen und auf sorgfältiges Pipettieren zu achten, um zusätzliche Fehlerkomponenten klein zu halten. Bei flüssigen Probenmaterialien (z.B. Rohmilch) kann ggf. direkt beimpft werden. Jede Person arbeitet anschließend eine kontaminierte Erstverdünnung bzw. eine Prüfmenge der kontaminierten unverdünnten flüssigen Proben gemäß dem Routineverfahren auf.

4.1.1.4 Keimzahlbereich und Koloniezahlen

Eine experimentelle Abschätzung der MU für verschiedene Keimzahlbereiche ist nicht erforderlich, weil die Vergleichsstandardabweichung aus log-transformierten Keimzahlen berechnet wird. Dennoch ist es ratsam, innerhalb der Messreihe unterschiedlich hohe Keimzahlstufen anzustreben, um der Routine vergleichbare Bedingungen herzustellen. In jedem Fall sollten jene Stufen einbezogen werden, welche im Bereich von mikrobiologischen Grenzwerten liegen.

Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 sollten für die Berechnung der laborinternen Vergleichsstandardabweichung keine Proben verwendet werden, bei denen sich auf allen gültigen Platten pro Zählergebnis weniger als 30 (typische) Kolonien zählen lassen. Der Grenzwert von 30 Kolonien bezieht sich auf die Summe der Gesamtkoloniezahlen auf allen nach Auswertung gültigen Platten. Darüber hinaus sollte die Höchstzahl pro Platte, welche vom Untersuchungsverfahren abhängt, nicht überschritten werden.

4.1.1.5 Auswertung und Bestätigung

Die beimpften Platten werden nach der Bebrütung zeitgleich ausgewertet und die typischen Kolonien entsprechend der routinemäßig angewendeten Weise ausgezählt. Bei Bedarf wird eine bestimmte Anzahl typischer Kolonien mittels der Durchführung von Bestätigungsreaktionen nach laboreigener Prüfvorschrift weiter differenziert. Ausgehend von der Anzahl geprüfter und bestätigter Kolonien werden die jeweiligen Keimzahlen errechnet. Gemäß DIN EN ISO 19036:2020 sollten dabei alle Ergebnisse, für die weniger als die Hälfte der getesteten Kolonien bestätigt wurden, ausgeschlossen werden.

4.1.1.6 Berechnen der Vergleichsstandardabweichung

Die Keimzahlen werden als gewogene arithmetische Mittelwerte berechnet und anschließend logarithmiert. Die laborinterne Vergleichsstandardabweichung (s_{IR}) wird nach der in der DIN EN ISO 19036:2020 genannten Formel berechnet. Für die DIN EN ISO 19036:2020 wird außerdem

ein verifiziertes Excel-Tool⁵ zur Verfügung gestellt. Statt dieses Excel-Tools kann auch folgende Formel verwendet werden:

$$S_{IR} = \sqrt{\frac{\sum(\log R_1 - \log R_2)^2}{2t}}$$

Dabei sind:

s_{IR} = laborinterne Vergleichsstandardabweichung

t = Anzahl der Proben

$\log R_{1,2}$ = log-transformierte Keimzahlen der ersten bzw. zweiten Person

4.2 Matrixunsicherheit

Bei homogenen Flüssigkeiten und durch Einsatz technischer Geräte gut gemischten, homogenen Laborproben wird nur eine kleine Matrixunsicherheit erwartet und es kann ein fester (Mindest-)Wert ($u_{\text{matrix}} = 0,1 \log_{10}$ KbE/g oder ml) verwendet werden. Andernfalls sind die verschiedenen Matrixunsicherheiten gemäß Vorgaben der DIN EN ISO 19036:2020 durch die Untersuchung von nicht homogenisierten natürlich kontaminierten Proben aus Routine-Einsendungen experimentell zu ermitteln. Von jeder Laborprobe derselben Matrix müssen dazu mindestens zwei Prüfmengen entnommen und unter Wiederholbedingungen⁶ untersucht werden. Es können aber auch mindestens 11 Prüfmengen einer einzigen Laborprobe analysiert werden. Alternativ dürfen Werte verwendet werden, die von anderen Laboren experimentell ermittelt wurden, wenn ähnliche Matrixunsicherheiten erwartet werden. Allerdings ist davon auszugehen, dass experimentell ermittelte Matrixunsicherheiten überschätzt werden, weil sie auch die technische Unsicherheit und die durch die zufällige Verteilung von Mikroorganismen hervorgerufene Verteilungsunsicherheit beinhalten.

4.3 Verteilungsunsicherheit

Die Verteilungsunsicherheit ist bei Koloniezählverfahren unter anderem abhängig von der Gesamtzahl der gezählten Kolonien. Je niedriger diese Zahl ist, desto höher und bedeutsamer ist die sogenannte Poisson-Unsicherheit. Eine geringe Poisson-Unsicherheit kann vernachlässigt werden, wenn andere Unsicherheitskomponenten groß sind.

Bei einigen auf Koloniezählverfahren basierenden Verfahren wird eine Anzahl verdächtiger Kolonien mittels Bestätigungstests weiter untersucht und die Keimzahl je nach Ergebnis dieser Bestätigungsuntersuchungen entsprechend korrigiert. Die Größe der sogenannten Bestätigungsunsicherheit ist abhängig von den Anzahlen getesteter und bestätigter Kolonien.

Weitere Hinweise zur Abschätzung der Verteilungsunsicherheit sind der DIN EN ISO 19036:2020 zu entnehmen.

4.4 Erweiterte Messunsicherheit

Falls es aufgrund von Laborprotokollen oder Kundenwünschen erforderlich ist, die erweiterte Messunsicherheit auf Basis einer gemäß Vorgaben der DIN EN ISO 19036:2020 errechneten kombinierten Standardunsicherheit abzuschätzen, können verhältnismäßig geringfügige Unsicherheitskomponenten bei der Berechnung vernachlässigt werden. Beispielrechnungen können der DIN EN ISO 19036:2020 Kapitel 8 entnommen werden.

⁵ Fundstelle: <https://committee.iso.org/sites/tc34sc9/home/general-standards/content-left-area/culture-media/iso-19036-estimation-of-measurment.html>

⁶ Siehe Begriffsdefinitionen: „Wiederholpräzision“

5 Angabe der Messunsicherheit im Prüfbericht

Sofern nicht ausdrücklich vom Kunden verlangt, hält die ALTS-Arbeitsgruppe eine generelle Angabe der MU bzw. des Vertrauensbereichs im Prüfbericht in Zusammenhang mit dem erzielten Messergebnis für nicht erforderlich, auch dann nicht, wenn die ermittelten Keimzahlen im Bereich von mikrobiologischen Grenzwerten liegen.

Falls die MU im Prüfbericht angegeben wird, dann in derselben Einheit wie das Prüfergebnis.

Beispiele:

- $5,00 \pm 0,31 \log_{10} \text{ KbE/g}$
- $5,00 \log_{10} \text{ KbE/g}$ [4,69; 5,31]
- $1,0 \times 10^5 \text{ KbE/g}$ [$4,9 \times 10^4$; $2,0 \times 10^5$]

Außerdem muss aus dem Prüfbericht hervorgehen, wie die MU geschätzt wurde (berücksichtigte Unsicherheitskomponenten, Erweiterungsfaktor).

Beispiel:

„Die angegebene erweiterte Messunsicherheit wurde in Übereinstimmung mit DIN EN ISO 19036:2020 geschätzt und basiert auf der kombinierten Standardunsicherheit, multipliziert mit einem Erweiterungsfaktor von $k = 2$, wodurch sich ein Vertrauensniveau von etwa 95 % ergibt. Die kombinierte Standardunsicherheit wurde gleich der experimentell ermittelten laborinternen Vergleichsstandardabweichung angenommen.“

Kapitel II Interpretation von Messunsicherheiten bei quantitativen mikrobiologischen Untersuchungsverfahren

6 Überlegungen zur Berücksichtigung bei der Beurteilung von Lebensmitteln

Für eine zutreffende Interpretation eines mikrobiologischen Untersuchungsergebnisses im Hinblick auf eine lebensmittelrechtliche Bewertung muss beispielsweise festgelegt sein, ob sich die Bewertung auf die Probe selbst oder die zugehörige Charge bezieht. Bei der Beurteilung einer amtlichen Probe anhand eines mikrobiologischen Kriteriums muss darüber hinaus bekannt sein, ob bei der Festlegung mikrobiologischer Grenzwerte die Gesamtstreuung und damit die MU bereits berücksichtigt wurde, oder ob auf der Basis der MU ein Schätzintervall um das Analysenergebnis gebildet werden muss.

Bei der Schätzintervallbildung (s. Abbildung 1 in Anhang A) kann eine gesicherte Grenzwertüberschreitung nur festgestellt werden, wenn die Untergrenze des Schätzintervalls über dem Grenzwert liegt. Allerdings würde hierbei unter Umständen das Konsumentenrisiko außer Acht gelassen werden, welches bei Untersuchung einer einzelnen Probe statt mehreren Proben (üblicherweise $n=5$) aus statistischen Gründen ohnehin schon erhöht ist⁷. Befindet sich die Obergrenze des Schätzintervalls unter dem Grenzwert, besteht andererseits mit großer Wahrscheinlichkeit kein Anlass zur Zurückweisung und eine Annahme kann ohne relevantes Irrtumsrisiko erfolgen. Schließt das Intervall den Grenzwert ein und zwar unabhängig davon, ob das Analysenergebnis selbst über oder unter dem Grenzwert liegt, sind weder Annahme noch Ablehnung gesichert. Befundinterpretation und ggf. einzuleitende Maßnahmen (z. B. Ziehung von Nachproben) müssen dann im Sinne einer Einzelfallprüfung sorgfältig überlegt werden.

Um die MU direkt bei der Festlegung eines „amtlichen“ Grenzwertes zu berücksichtigen, können von der zuständigen Stelle Methodenstreuungen herangezogen werden, wie sie aus nationalen und internationalen Ringversuchen bekannt sind. Akkreditierte Labors müssen ihre MU durch entsprechende Qualitätssicherungs-Maßnahmen ständig unter Kontrolle halten. Unter dieser Voraussetzung ist es durchaus plausibel und entspricht auch der gebräuchlichen Strategie, die MU bereits bei der Festlegung mikrobiologischer Grenzwerte zu berücksichtigen, statt jedes

⁷ Wenn nur eine Probe einer Charge untersucht wird, ist die Wahrscheinlichkeit deutlich geringer, eine Grenzwertüberschreitung zu erkennen, als wenn mehrere Proben einer Charge untersucht werden.

Einzelergebnis individuell zu korrigieren. Dabei wird eine allgemein akzeptierte Toleranz für die Unsicherheit entweder auf den ursprünglichen Grenzwert von vornherein aufgeschlagen (established limits = z. B. bei Prozesshygienekriterien) oder von ihm abgezogen (absolute limits = z. B. bei Sicherheitskriterien). Diese Strategie erlaubt es, dass alle Beteiligten die mikrobiologischen Ergebnisse der innerbetrieblichen Eigenkontrolle wie auch der amtlich gezogenen Proben in gleicher Weise bewerten.

Sofern bei Drei-Klassen-Plänen⁸ die Abstände zwischen m und M ausreichend groß sind (bei homogenen Lebensmitteln mindestens 0,5 Logstufen und bei heterogenen Lebensmitteln mindestens eine Logstufe) ist davon auszugehen, dass die MU bei der Festlegung der Grenzwerte bereits berücksichtigt wurde.

Eine besondere Situation entsteht, wenn die Grenzwerte auf nicht zu überschreitenden, toxikologisch oder infektionsmedizinisch begründeten Limits basieren, wie dies in der Regel bei der Festlegung von Sicherheitskriterien für pathogene Keime erfolgt, beispielsweise das in der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 festgelegte Lebensmittelsicherheitskriterium für *Listeria monocytogenes* (≤ 100 KbE/g). Gemäß Vorsorgeprinzip muss hier das Konsumentenrisiko, mithin die Fehlentscheidungswahrscheinlichkeit, welche die fälschliche Annahme einer abzulehnenden Probe betrifft, minimiert werden. Es wäre bei einer Gesundheitsgefahr genau die falsche Strategie, erst dann Maßnahmen zu ergreifen, wenn die Grenzwertüberschreitung bei derartigen „absolute limits“ abgesichert ist, um den Produzenten vor unberechtigten Beanstandungen zu bewahren.

Hinsichtlich der Berücksichtigung der MU bei mikrobiologischen Grenzwerten ist die Diskussion auf internationaler Ebene noch nicht abgeschlossen. Aus dem Wortlaut der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 geht nicht hervor, wie diese methodisch bedingte Streuung bei der Beurteilung der untersuchten Einzelproben bzw. Chargen zu bewerten ist. Auch innerhalb der ALTS-Arbeitsgruppe besteht zu diesem Thema keine einheitliche Auffassung. Die Mehrzahl der Mitglieder geht allerdings davon aus, dass in einem gesetzlich festgelegten mikrobiologischen Kriterium die verfahrensbedingte Streuung bereits mitberücksichtigt ist, so dass jedes über einem Höchstwert (m , M) liegende Resultat immer eine Überschreitung desselben bedeutet. Daraus folgt, dass die MU bei der Aussage zur Konformität einer Probe im Hinblick auf festgelegte mikrobiologische Grenzwerte im Regelfall nicht berücksichtigt und in Prüfberichten nicht angegeben werden muss. Voraussetzung ist jedoch, dass das Labor die angewandten Untersuchungsverfahren auch hinsichtlich der Präzision unter Kontrolle hat und dass vom Gesetzgeber keine anderslautenden Beurteilungsempfehlungen gegeben werden.

7 Bewertung der Präzisionsdaten

Eine in der Entstehungsphase der vorangegangenen Leitfadenversion (2008) durchgeführte Datenabfrage unter den damals beteiligten Laboren ergab erweiterte Messunsicherheiten, die vorwiegend unter $0,5 \log_{10}$ lagen. Dabei zeigte sich, dass auch Routineverfahren, wie das Tropfplatten-Verfahren und das Spiralplattenverfahren eine akzeptable Präzision aufweisen können. Größere Unterschiede zwischen den untersuchten Matrices (Hackfleisch, Räucherlachs, geschlagene Sahne, feine Backwaren, Feinkostsalate und Rohkostsalate) oder den geprüften Keimarten (aerobe Keimzahl, Milchsäurebakterien, Hefen, Enterobakteriaceen, Coliforme Keime und Pseudomonaden) ließen sich nicht feststellen.

⁸ Drei-Klassen-Pläne umfassen üblicherweise für jede zu prüfende Lebensmittelmatrix und die zu überwachende Prozessstufe das zu ermittelnde Agens (Keim / Toxin), das anzuwendende Untersuchungsverfahren, die Zahl der Stichproben und deren Größe in Gramm oder Milliliter. Darüber hinaus werden Grenzwerte angegeben, unterhalb derer die Messergebnisse als akzeptabel (m) bzw. oberhalb derer sie als inakzeptabel (M) angesehen werden. Ergänzend enthalten Drei-Klassen-Pläne eine Annahmezahl (c), welche die Anzahl der Einzelstichproben in der Gesamtstichprobe angibt, die zwischen m und M liegen dürfen. Als unbefriedigend werden Chargen angesehen, deren mittlere Keimzahl oberhalb von m angesiedelt ist bzw. wenn Einzelergebnisse oberhalb von M liegen.

Bei der quantitativen Untersuchung von Proben auf pathogene Erreger (*Listeria monocytogenes*, *S. aureus*), welche auf der Stufe der Erstverdünnung künstlich kontaminiert worden waren, lagen die ermittelten erweiterten Messunsicherheiten sogar deutlich darunter (bis zu 0,3 log₁₀). Allerdings können die Untersuchung von natürlich kontaminierten Proben, die Durchführung von Bestätigungsreaktionen und das anschließende Rückrechnen der Keimzahlen unter Routinebedingungen zu größeren Streuungen zwischen den Keimzahlen führen.

Eine erneute Abfrage im Jahr 2021 konnte die damalige Datenlage bestätigen. Unabhängig davon muss jedes Anwenderlabor nach heutigen Maßstäben unter Berücksichtigung der Leistungsdaten mikrobiologischer Nachweisverfahren seine Kompetenz belegen. Die Vorgehensweise ist in der DIN EN ISO 16140-3 "Arbeitsvorschrift für die Verifizierung von Referenz- und validierten alternativen Verfahren in einem Einzel-Labor" beschrieben. Dies beinhaltet grundsätzlich auch die Abschätzung der MU auf Basis der DIN EN ISO 19036:2020. Für alle Normverfahren, die nach wie vor keine Leistungsdaten vorgeben, ist wiederum gemäß DIN EN ISO 16140-3 zu verfahren.

8 Schlussfolgerungen

Wie alle Analysenergebnisse sind auch die Resultate mikrobiologischer Keimzählverfahren mit Messunsicherheiten behaftet. Diese Methodenstreuung gilt es in Betracht zu ziehen, wenn die quantitativen Untersuchungsergebnisse in Bezug zu Grenzwerten gesetzt und beurteilt werden. Bei einer solchen Bewertung kann als Alternative die Streuung entweder in Form eines Schätzintervalls in jedes Einzelergebnis eingehen oder der Grenzwert selbst enthält von vornherein einen Ab- oder Zuschlag für die MU.

Die im Rahmen der ALTS-Arbeitsgruppe durchgeführten vergleichenden experimentellen Untersuchungen zur Abschätzung der MU bei der Bestimmung von apathogenen Keimen unter Verwendung von natürlich kontaminierten Proben haben gezeigt, dass sich von den Labors bei den geprüften Keimarten (aerobe Keimzahl, Milchsäurebakterien, Hefen, Enterobakteriaceen, Coliforme Keime und Pseudomonaden) in der Regel erweiterte Messunsicherheiten von $\leq 0,5$ log erzielen lassen. Die ermittelten erweiterten Messunsicherheiten bei der Bestimmung von pathogenen Keimen werden hingegen sehr stark von der Art der Beimpfung des Probenmaterials und von der Auswertung der bebrüteten Nährmedien beeinflusst.

Zur Frage, ob in einem mikrobiologischen Grenzwert die MU bereits berücksichtigt ist, kann die ALTS-Arbeitsgruppe keine allgemein gültige Empfehlung abgeben. Grundsätzlich wäre es sinnvoll, wenn diese Entscheidung bereits bei der Festlegung von mikrobiologischen Kriterien auch im Hinblick auf das anzuwendende Untersuchungsverfahren getroffen werden würde. Ob dies auf die derzeit gültigen Grenzwerte zutrifft, ist zumindest nicht veröffentlicht. Die Mehrzahl der Mitglieder geht allerdings davon aus, dass in einem gesetzlich festgelegten mikrobiologischen Kriterium die verfahrensbedingte Streuung bereits mitberücksichtigt ist, so dass jedes über einem Höchstwert (m , M) liegende Resultat immer eine Überschreitung desselben bedeutet. Voraussetzung ist jedoch, dass das Labor die angewandten Untersuchungsverfahren auch hinsichtlich der verfahrensbedingten Streuungen unter Kontrolle hat und dass vom Gesetzgeber keine anderslautenden Beurteilungsempfehlungen gegeben werden.

Um zu belegen, dass Anwenderlabore verfahrensbedingte Streuungen unter Kontrolle haben, können sie sich an der Vorgehensweise gemäß der DIN EN ISO-Normreihe 16140 (insbesondere Teil 3) in Verbindung mit der DIN EN ISO 19036:2020 orientieren.

9 Literatur

DIN EN ISO/IEC 17025:2018, Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2017); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2017

DIN EN ISO 19036:2020, Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Feststellung von Messunsicherheiten bei quantitativen Bestimmungen (ISO 19036:2019); Deutsche Fassung EN ISO 19036:2019

Guide on measurement uncertainty for the enumeration of *Listeria monocytogenes* Version 1 – 26 March 2009; Marie CORNU & Bertrand LOMBARD, CRL *L. monocytogenes*
<https://sitesv2.anses.fr/en/system/files/LIS-Cr-201014G.pdf>

Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel, (ABl. Nr. L 338 vom 22.12.2005 S. 1; ber. Nr. L 278 vom 10.10.2006 S. 32, zuletzt geändert durch Art. 1 VO (EU) 2020/205 vom 14.2.2020 (ABl. L 43 S. 63))

10 Weiterführende Literatur

Corry, J., B. Jarvis, S. Passmore and A. Hedges (2007): A critical review of measurement uncertainty in the enumeration of food micro-organisms.
Food Microbiology 24, 230-253

DIN EN ISO 7218:2007, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen, Deutsches Institut für Normung, Beuth Verlag

DIN EN ISO 16140-1 bis -6: Mikrobiologie der Lebensmittelkette – Verfahrensvalidierung, Deutsches Institut für Normung, Beuth Verlag

Forster, L. I. (2003): Measurement Uncertainty in Microbiology.
Journal of AOAC International, 86 (5), 1089-1094

Hildebrandt, G. und H. Wichmann-Schauer (2005): Grenzwerte, Probenstreuung und Messungenauigkeit. Beurteilung mikrobiologischer Untersuchungsergebnisse aus amtlicher Sicht.
Fleischwirtschaft, 85 (12), 111-114

Hübner, P., S. Gautsch und T. Jemmi (2002): In house-Validierung mikrobiologischer Prüfverfahren.
Mitt. Lebensm. Hyg. 93, 118-139

ISO 21748:2017, Leitfaden zur Verwendung der Schätzwerte der Wiederholpräzision, der Vergleichpräzision und der Richtigkeit beim Schätzen der Messunsicherheit

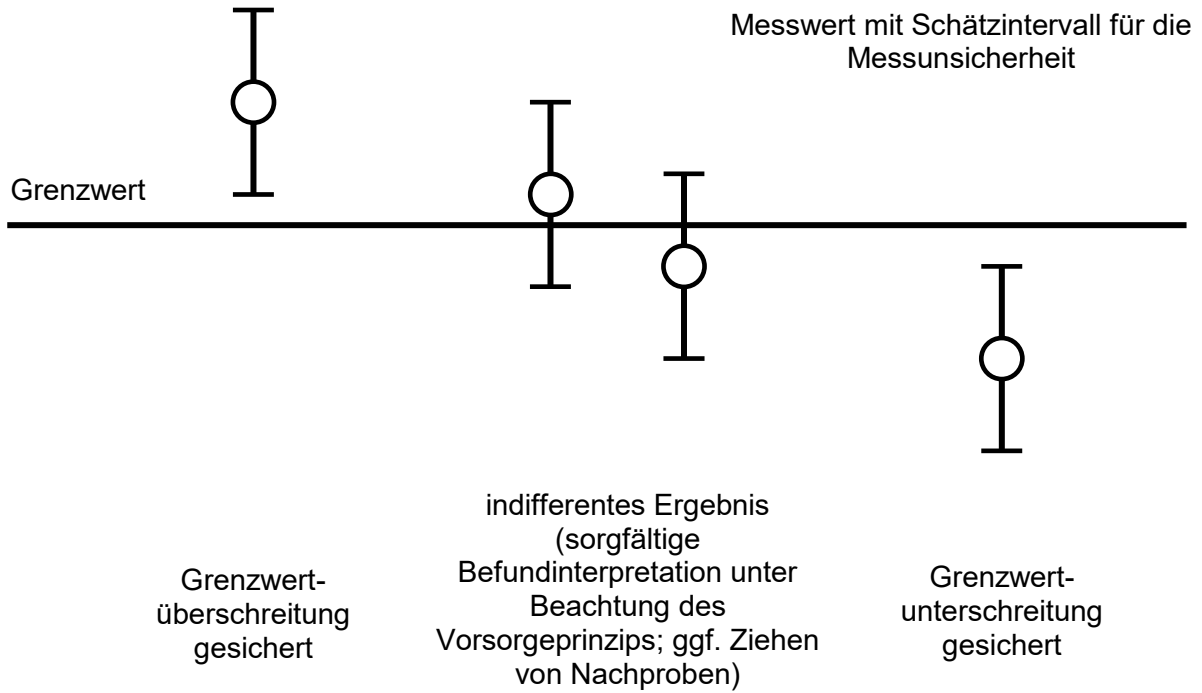
Lücke, F.-K., Goy, M., und U. Kurfürst (2004): Messunsicherheit bei der Bestimmung der „Gesamtkeimzahl“ von Hackfleisch mit der Impedanz-Methode.
Tagungsband, 6. Fachsymposium der Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, Suhl, 10.-12. März 2004

Niemelä, S.I. (2003): Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms.
MIKES J4; <http://www.mikes.fi>

SAS-Dokument N 328: Leitfaden zur Validierung mikrobiologischer Prüfverfahren und zur Abschätzung der Messunsicherheit im Bereich Lebensmittel- und Umweltmikrobiologie (Ausgabe Februar 2006, Rev.1)

Anhang A Abbildungen

Abbildung 1: Beurteilung von mikrobiologischen Analysenergebnissen nahe eines festgelegten Grenzwertes unter Berücksichtigung von Schätzintervallen auf der Basis der ermittelten Messunsicherheit



Anhang B Mitgliederliste (Stand November 2021)

Leitung: Frau Dr. Schotte (CVUA Westfalen)

Mitglieder:

Frau Becker (LALLF M-V Rostock)

Frau Berges (LUA Bremen)

Frau Dr. Böhmer (CVUA Freiburg)

Herr Dr. Diepolder (LGL Bayern)

Frau Dr. Emmmler (Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr München)

Frau Dr. Freitag (LUA Rheinland-Pfalz)

Frau Dr. Fuchs (CVUA Karlsruhe)

Frau Dr. Hattendorf (LAV Saarland)

Frau Dr. Jahr (Landesamt für Verbraucherschutz Bad Langensalza)

Herr Dr. Lehmacher (Institut für Hygiene und Umwelt Hamburg)

Herr Louwers (Landeslabor Berlin-Brandenburg)

Frau Dr. Mauermann (LAVES, Lebensmittelinstitut Oldenburg)

Frau Dr. Messelhäuser (LGL Bayern)

Herr Dr. Neubert (LUA Sachsen)

Frau Dr. Steinhof (Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Standort Kassel)

Herr Dr. Trumpf (Landeslabor Schleswig-Holstein)

Frau Dr. Wicke (Landesamt für Verbraucherschutz in Halle)

Frau Dr. Zimmermann (LGL Bayern)

Ständiger Gast. Frau Dr. Wichmann-Schauer (BfR)