


DIN EN ISO 16140-2:2025-07 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Verfahrensvalidierung - Teil 2:
Arbeitsvorschrift für die Validierung von alternativen (urheberrechtlich geschützten)
Verfahren anhand eines Referenzverfahrens (ISO 16140-2:2016 + Amd 1:2024);
Deutsche Fassung EN ISO 16140-2:2016 + A1:2024

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	10
A1 Europäisches Vorwort zur Änderung 1 A1	11
Vorwort.....	12
A1 Vorwort zur Änderung 1 A1	13
A1 Einleitung.....	14
1 Anwendungsbereich.....	18
2 Normative Verweisungen.....	18
3 Begriffe.....	18
4 Allgemeine Prinzipien für die Validierung alternativer Verfahren.....	18
5 Qualitative Verfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Validierung.....	19
5.1 Vergleichsstudie.....	19
5.1.1 Allgemeine Betrachtungen.....	19
5.1.2 Gepaarte oder ungepaarte Studie.....	20
5.1.3 Studie zur Empfindlichkeit.....	20
5.1.4 Studie zur relativen Nachweisgrenze.....	28
5.1.5 Studie zur Inklusivität und zur Exklusivität.....	31
5.2 Ringversuch.....	33
5.2.1 Allgemeine Betrachtungen.....	33
5.2.2 Untersuchungsvorschrift.....	34
5.2.3 A1 Zusammenfassung der Daten und Berechnungen der Richtigkeit A1	36
5.2.4 Auswertung der Daten zur Richtigkeit.....	40
6 Quantitative Verfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Validierung.....	42
6.1 Vergleichsstudie.....	42
6.1.1 Allgemeine Betrachtungen.....	42
6.1.2 Studie zur relativen Richtigkeit.....	42
6.1.3 Studie zum Genauigkeitsprofil.....	47
6.1.4 Studie zur Bestimmungsgrenze.....	52
6.1.5 Studie zur Inklusivität und Exklusivität.....	53
6.2 Ringversuch.....	55
6.2.1 Allgemeine Betrachtungen.....	55
6.2.2 Untersuchungsvorschrift.....	55
6.2.3 Berechnungen, Zusammenfassung und Auswertung von Daten.....	56
Anhang A (informativ) Einteilung von Probenarten und vorgeschlagene angestrebte Kombinationen für Validierungsstudien.....	60
Anhang B (normativ) Bevorzugte Reihenfolge für die Verwendung von natürlich und künstlich kontaminierten Proben in Validierungsstudien.....	77
Anhang C (informativ) Allgemeine Arbeitsvorschriften für die Kontamination durch Mischen und die künstliche Kontamination von Lebensmitteln.....	78
C.1 Allgemeines.....	78

C.2	Kontamination durch Mischen	78
C.3	Künstliche Kontamination von Lebensmitteln unter Anwendung der Arbeitsvorschrift für das Seeding	78
C.3.1	Künstliche Kontamination von Lebensmitteln mit hohem Feuchtegehalt mit einer flüssigen (Bouillon) Kultur	78
C.3.2	Künstliche Kontamination von Lebensmitteln mit geringem Feuchtegehalt mit einer lyophilisierten Kultur	79
C.4	Künstliche Kontamination von Lebensmitteln unter Anwendung der Arbeitsvorschrift für das Spiking.....	80
Anhang D (informativ) Modelle für <i>RLOD</i>-Berechnungen unter Verwendung der Daten aus der		
	Verfahrensvergleichsstudie.....	82
D.1	Allgemeines.....	82
D.2	Unbekanntes Kontaminationsniveau	83
D.3	Bekanntes Kontaminationsniveaus, Schätzung von <i>RLOD</i> mittels <i>LOD</i>	83
Anhang E (normativ) Bei der Auswahl von Stämmen für die Untersuchung zur Inklusivität und		
	Exklusivität zu berücksichtigende Aspekte.....	84
E.1	Allgemeines.....	84
E.2	Kategorien von Zielgruppen.....	84
E.3	Auswahl der Zielgruppe für eine Studie zur Inklusivität	84
E.4	Auswahl der Nicht-Zielgruppen für eine Studie zur Exklusivität	85
Anhang F (normativ)  Berechnung der relativen Nachweisgrenze (<i>RLOD</i>) anhand von Daten		
	aus dem Ringversuch	86
F.1	Allgemeines.....	86
F.2	Schätzung der <i>LOD</i>	86
F.3	Relative Nachweisgrenze (<i>RLOD</i>) des alternativen Verfahrens im Vergleich zu der des Referenzverfahrens.....	87
F.4	Beispiel	88
F.4.1	Allgemeines.....	88
F.4.2	Referenzverfahren.....	89
F.4.3	Alternatives Verfahren.....	89
F.4.4	<i>RLOD</i> des alternativen Verfahrens im Vergleich zu der des Referenzverfahrens	89
Anhang G (informativ) Prinzip des Genauigkeitsprofils für die Validierung von quantitativen		
	Modellen.....	90
G.1	Annahmekriterium.....	90
G.2	Zugewiesener Bezugswert	90
G.3	Anteilsbereich	90
G.4	Prinzipien des Genauigkeitsprofils	91
Anhang H (informativ) Anwendung des Genauigkeitsprofils in der Verfahrensvergleichsstudie.....		
	92	
Anhang I (informativ) Beispiel für die Anwendung des Genauigkeitsprofils bei einem		
	Ringversuch	96
Anhang J (informativ) Arbeitsvorschrift für die kommerzielle Sterilitätsprüfung spezifischer		
	Produkte	100
J.1	Allgemeines.....	100
J.2	Prinzip der kommerziellen Sterilität.....	100
J.3	Anwendungsbereich der Validierung.....	100
J.3.1	Referenzverfahren.....	100
J.3.2	Lebensmittelerzeugnisse.....	100
J.3.3	Alternatives Verfahren.....	100
J.4	Verfahrensvergleichsstudie.....	101
J.4.1	Studie zur Empfindlichkeit	101
J.4.2	Studie zur relativen Nachweisgrenze (<i>RLOD</i>).....	102
J.4.3	Inklusivität und Exklusivität	102
J.5	Ringversuch	102
Literaturhinweise		
	103	

Bilder

Bild 1 — Streudiagramm der Ergebnisse des Referenzverfahrens gegen die Ergebnisse des alternativen Verfahrens für eine einzelne Kategorie	45
Bild 2 — Differenzdiagramm nach Bland und Altman für alle Kategorien	47
Bild 3 — Beispiel für ein Genauigkeitsprofil für eine Kategorie in der Verfahrensvergleichsstudie	51
Bild G.1 — Gleichzeitige Darstellung von Zulässigkeitsbereich und β -ETI für eine einzelne Validierungsprobe einer Einheit	91
Bild H.1 — Endgültiges Genauigkeitsprofil für die Kategorie Heimtierfutter	95
Bild I.1 — Sichtprüfung der Linearität	98
Bild I.2 — Genauigkeitsprofil des alternativen Verfahrens unter Verwendung von $\beta = 80\%$ und $\lambda = 0,5 \log_{10}$ -Einheiten	99

Tabellen

Tabelle 1 — Vergleich und Auswertung der Probenergebnisse zwischen den Referenz- und den alternativen Verfahren bei einer gepaarten Studie	23
Tabelle 2 — Vergleich und Auswertung der Probenergebnisse zwischen den Referenz- und den alternativen Verfahren bei einer ungepaarten Studie	24
Tabelle 3 — Zusammenfassung der mit dem Referenzverfahren und mit dem alternativen Verfahren (nach Bestätigung) erhaltenen Ergebnisse aller Proben für jede Kategorie	25
Tabelle 4 — Parameter der Zulässigkeitsgrenze und Werte für eine gepaartes und ein ungepaartes Studiendesign in Bezug auf die Anzahl der erhaltenen positiven Proben	27
Tabelle 5 — Darstellung der <i>RLOD</i> vor und nach der Bestätigung der Ergebnisse des alternativen Verfahrens	29
Tabelle 6 — Darstellung der Ergebnisse für die Inklusivität und Exklusivität	33
Tabelle 7 — Positive Ergebnisse mit dem Referenzverfahren	36
Tabelle 8 — Positive Ergebnisse (vor und nach der Bestätigung) mit dem alternativen Verfahren	36
Tabelle 9 — Zusammengefasste Ergebnisse für alle Teilnehmer bei einer gepaarten Studie	37
Tabelle 10 — Zusammengefasste Ergebnisse für alle Teilnehmer bei einer ungepaarten Studie	37
Tabelle 11 — Zusammenfassung der mit dem Referenzverfahren und mit dem alternativen Verfahren (nach Bestätigung) für die Niveaus L_1 oder L_2 erhaltenen Ergebnisse für alle Teilnehmer	38
Tabelle 12 — Zulässigkeitsgrenzen für ein gepaartes Studiendesign in Bezug auf die Anzahl der an einem Ringversuch teilnehmenden Labore	40

Tabelle 13 — Zusammengefasste Ergebnisse für alle Kategorien.....	45
Tabelle 14 — Ergebnisse der Studie zur Genauigkeit (in \log_{10} KBE/g).....	48
Tabelle 15 — Darstellung der statistischen Ergebnisse der Vergleichsstudie	50
Tabelle 16 — Darstellung der Ergebnisse für die Inklusivität.....	54
Tabelle 17 — Darstellung der Ergebnisse für die Exklusivität	54
Tabelle 18 — $\langle A_i \rangle$ Zusammenfassung der Ergebnisse des Ringversuchs für jedes Analytniveau (k_i) $\langle A_i \rangle$	56
Tabelle A.1 — Einteilung von Proben und deren Bedeutung für die Untersuchung auf verschiedene Mikroorganismen.....	61
Tabelle D.1 — Beispiel für Daten, die zur Berechnung der <i>LOD</i> und <i>RLOD</i> verwendet wurden	82
Tabelle F.1 — Beispieldatensatz aus einem Ringversuch zu einem alternativen Verfahren für den Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i> in Milch.....	88
Tabelle H.1 — Überblick über Ergebnisse und Berechnungen.....	92
Tabelle H.2 — Darstellung der statistischen Ergebnisse der Vergleichsstudie für die Kategorie Heimtierfutter	93
Tabelle H.3 — Darstellung der statistischen Ergebnisse der Vergleichsstudie für die Kategorie Heimtierfutter	94
Tabelle I.1 — Rohdaten.....	96
Tabelle I.2 — \log_{10} -transformierte Daten und Berechnungen.....	97