DIN EN ISO 16140-3:2026-02 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Verfahrensvalidierung - Teil 3: Arbeitsvorschrift für die Verifizierung von Referenz- und validierten alternativen Verfahren in einem Einzellabor (ISO 16140-3:2021 + Amd 1:2025); Deutsche Fassung EN ISO 16140-3:2021 + A1:2025

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort ... 10

A1 Europäisches Vorwort der Änderung 1 A1 ... 11

Vorwort ... 12

A1 Vorwort der Änderung 1 A1 ... 13

Einleitung ... 14
0.1 Die Normenreihe ISO 16140 ... 14
0.2 Verifizierung im Vergleich zu Validierung ... 18

1 Anwendungsbereich ... 22

2 Normative Verweisungen ... 22

3 Begriffe ... 22

4 Allgemeine Prinzipien für die Verifizierung von qualitativen (Nachweis-)Verfahren und Quantifizierungsverfahren ... 27
4.1 Allgemeines ... 27
4.2 Verifizierung der Implementierung ... 28
4.3 Verifizierung der (Lebensmittel-)Einheit ... 28
4.4 Anforderungen an die Durchführung der Verifizierung und der Verifizierung der (Lebensmittel-)Einheit ... 28
4.5 Leistungsmerkmale ... 32

5 Qualitative Verfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Verifizierung ... 33
5.1 Bestimmung der geschätzten Nachweisgrenze mit 50 % Nachweiswahrscheinlichkeit ($eLOD_{50}$) ... 33
5.2 Untersuchungsdesign ... 33
5.3 Auswahl von (Lebensmittel-)Einheiten ... 34
5.4 Künstliche Kontamination ... 35
5.4.1 Auswahl von Stämmen ... 35
5.4.2 Beimpfung der Prüfmengen ... 35
5.5 Beurteilung der Ergebnisse ... 38
5.5.1 Bestimmung von $eLOD_{50}$ bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1 ... 38
5.5.2 Bestimmung von $eLOD_{50}$ bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 2 ... 40
5.5.3 Verwendung von Arbeitsvorschrift 3 ... 43
5.6 Zulässigkeitsgrenzen ... 43
5.7 Ursachenanalyse ... 44

6 Quantitative Verfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Verifizierung ... 44
6.1 Bestimmung der laborinternen Vergleichstandardabweichung ... 44
6.1.1 Allgemeines ... 44
6.1.2 Untersuchungsdesign ... 44
6.1.3 Auswahl der (Lebensmittel-)Einheit ... 47
6.1.4 Natürliche Kontamination ... 47
6.1.5 Künstliche Kontamination ... 47
6.1.6 Beurteilung der Ergebnisse ... 49

6.1.7 Zulässigkeitsgrenze ... 49
6.1.8 Ursachenanalyse ... 51
6.2 Bestimmung der geschätzten systematischen Abweichung (eBias) ... 52
6.2.1 Allgemeines ... 52
6.2.2 Untersuchungsdesign ... 52
6.2.3 Auswahl von (Lebensmittel-)Einheiten ... 52
6.2.4 Künstliche Kontamination ... 53
6.2.5 Beurteilung der Ergebnisse ... 54
6.2.6 Zulässigkeitsgrenze ... 54
6.2.7 Ursachenanalyse ... 55
7 Validierte alternative Bestätigungs- und Typisierungsverfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Verifizierung ... 56
7.1 Allgemeines ... 56
7.2 Verifizierung der Implementierung ... 56
7.3 Untersuchungsdesign ... 57
7.3.1 Allgemeines ... 57
7.3.2 Auswahl der Stämme ... 57
7.4 Beurteilung der Ergebnisse ... 57
7.5 Zulässigkeitsgrenze ... 58
7.6 Ursachenanalyse ... 58
8 Zusammenfassung der Zulässigkeitsgrenzen zur Verifizierung validierter Verfahren ... 58
9 Validierte Identifizierungsverfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Verifizierung ... 59
9.1 Allgemeines ... 59
9.2 Verifizierung der Implementierung ... 59
9.3 Untersuchungsdesign ... 60
9.3.1 Allgemeines ... 60
9.3.2 Auswahl von Stämmen ... 60
9.4 Beurteilung der Ergebnisse ... 61
9.5 Zulässigkeitsgrenze ... 61
9.6 Ursachenanalyse ... 61
Anhang A (informativ) Einteilung von (Lebensmittel-)Kategorien und vorgeschlagene Ziel-Kombinationen für Verifizierungsuntersuchungen ... 63
Anhang B (informativ) Anleitungen zur Auswahl anspruchsvoller (Lebensmittel-)Einheiten für die Verifizierung der (Lebensmittel-)Einheit ... 84
B.1 Allgemeines ... 84
B.2 Zu bedenkende Matrixeffekte ... 84
B.2.1 Mikrobielle Eigenschaften ... 84
B.2.2 Physikalische und chemische Eigenschaften ... 84
B.2.3 Durch Lebensmittelverarbeitung bedingte Eigenschaften ... 85
B.3 Auswahl von (Lebensmittel-)Einheiten zur Verifizierung ... 85
Anhang C (informativ) Verifizierung des qualitativen Verfahrens — Beispiel ... 87
C.1 Zu verifizierendes Verfahren ... 87
C.2 Vorbereitung für die Verifizierung ... 87
C.3 Verifizierung ... 88
Anhang D (informativ) Verifizierung des quantitativen Verfahrens — Beispiel ... 96
D.1 Bestimmung der laborinternen Vergleichstandardabweichung — Beispiel ... 96
D.2 Bestimmung der geschätzten systematischen Abweichung (eBias) — Beispiel ... 97
D.2.1 Vorbereitung für die Verifizierung ... 97
D.2.2 Verifizierung ... 98
Anhang E (informativ) Verifizierung des validierten alternativen Bestätigungs- oder Typisierungsverfahrens — Beispiele ... 101
E.1 Verifizierung des alternativen Bestätigungsverfahrens — Beispiel ... 101
E.2 Verifizierung des alternativen Typisierungsverfahrens — Beispiel ... 102

Anhang F (normativ) Arbeitsvorschrift für die Verifizierung nicht validierter Referenzverfahren in einem Einzellabor 105
F.1 Allgemeines 105
F.2 Verifizierung der (Lebensmittel-)Einheit 105
F.3 Anforderungen an die Verifizierung der (Lebensmittel-)Einheit 105
F.4 Leistungsmerkmale 109
F.5 Qualitative Verfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens 110
F.5.1 Bestimmung der geschätzten Nachweisgrenze mit 50 % Nachweiswahrscheinlichkeit ($eLOD_{50}$) 110
F.5.2 Untersuchungsdesign 110
F.5.3 Auswahl von (Lebensmittel-)Einheiten 110
F.5.4 Künstliche Kontamination 111
F.5.5 Beurteilung der Ergebnisse 112
F.5.6 Zulässigkeitsgrenzen 112
F.5.7 Ursachenanalyse 112
F.6 Quantitative Verfahren — Technische Arbeitsvorschrift für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens 112
F.6.1 Bestimmung der laborinternen Vergleichstandardabweichung 112
F.6.2 Bestimmung der geschätzten systematischen Abweichung (eBias) 112
F.7 Zusammenfassung der Zulässigkeitsgrenzen 113

Anhang G (informativ) Verifizierung eines validierten Identifizierungsverfahrens — Beispiele 114
G.1 Verifizierung eines alternativen Identifizierungsverfahrens — Erstes Beispiel mit mehreren Gattungen aus einer Familie 114
G.2 Verifizierung eines alternativen Identifizierungsverfahrens — Zweites Beispiel mit mehreren Familien, Gattungen und Spezies 115
G.3 Verifizierung eines alternativen Identifizierungsverfahrens — Drittes Beispiel mit mehreren Familien, Gattungen und Spezies 118
G.4 Verifizierung eines alternativen Identifizierungsverfahrens — Viertes Beispiel mit Identifizierung von Spezies innerhalb einer Gattung 120

Literaturhinweise 123

Bilder

Bild 1 — Flussdiagramm zur Anwendung der Normenreihe ISO 16140 15

Bild 2 — Verwendung von validierten alternativen Bestätigungsverfahren (siehe ISO 16140-6) 16

Bild 3 — Überschneidung zwischen den verschiedenen Anwendungsbereichen (einschließlich eines Beispiels) 20

Bild 4 — Lebensmitteleinheiten, die bei der Verifizierung eines Verfahrens für einen Anwendungsbereich „Breites Spektrum von Lebensmitteln“ erforderlich sind 29

Bild 5 — Lebensmitteleinheiten, die bei der Verifizierung eines Verfahrens für einen Anwendungsbereich „Eingeschränktes Spektrum von Lebensmitteln“ erforderlich sind 30

Bild 6 — Einheiten, die bei der Verifizierung eines Verfahrens für den Anwendungsbereich „Breites Spektrum von Lebensmitteln und andere Kategorien“ erforderlich sind 31

Bild 7 — Arbeitsvorschrift für die Untersuchung zur Schätzung der laborinternen Vergleichstandardabweichung (S_{IR}) 46

Bild C.1 — Beispiel für eine vorläufige Bestimmung des Beimpfungsniveaus 88

Bild C.2 — Beispiel für die Herstellung des Inokulums ... 88

Bild C.3 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1 ... 89

Bild C.4 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 2 ... 89

Bild C.5 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 3 ... 90

Bild C.6 — Beispiel für die Auszählung des tatsächlichen Beimpfungsniveaus ... 90

Bild C.7 — MPN-Bestimmung des Beimpfungsniveaus für Arbeitsvorschriften 1 und 2 ... 91

Bild C.8 — MPN-Bestimmung des Beimpfungsniveaus für Arbeitsvorschrift 3 ... 92

Bild D.1 — Herstellung von Proben für die Bestimmung der laborinternen Vergleichstandardabweichung ... 96

Bild D.2 — Vorschläge für Variationen bei der Bestimmung der laborinternen Vergleichstandardabweichung ... 97

Bild D.3 — Beispiel für die vorläufige Bestimmung des Beimpfungsniveaus ... 98

Bild D.4 — Beispiel für die Herstellung des Inokulums ... 98

Bild D.5 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen ... 99

Bild D.6 — Beispiel für eine Verifizierung des quantitativen Verfahrens (eBias) mithilfe künstlicher Kontamination ... 100

Bild F.1 — Lebensmitteleinheiten, die für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens bei einem Anwendungsbereich „Breites Spektrum von Lebensmitteln“ erforderlich sind ... 106

Bild F.2 — Lebensmitteleinheit, die für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens bei einem Anwendungsbereich „Eingeschränktes Spektrum von Lebensmitteln“ erforderlich ist ... 107

Bild F.3 — Einheiten, die bei der Verifizierung eines Verfahrens für einen Anwendungsbereich „Breites Spektrum von Lebensmitteln und andere Kategorien“ erforderlich sind ... 108

Tabellen

Tabelle 1 — Zusammenfassung der für eine Verifizierung mindestens erforderlichen Anzahl von (Lebensmittel-)Einheiten ... 31

Tabelle 2 — Für die Verifizierung zu bestimmende erforderliche Leistungsmerkmale ... 32

Tabelle 3 — Arbeitsvorschriften zur Bestimmung der $eLOD_{50}$ und Anzahl der benötigten Parallelproben je Beimpfungsniveau ... 33

Tabelle 4 — Beimpfungsniveaus für jede Arbeitsvorschrift ... 36

Tabelle 5 — Beispiel für Verdünnungen und entsprechende Anzahl von Parallelproben für Arbeitsvorschrift 1, 2 und 3 bei Verwendung von mehr als der Mindestanzahl der erforderlichen Verdünnungen ... 37

Tabelle 6 — Bestimmung der $eLOD_{50}$ aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1 38

Tabelle 7 — Beispiel für die Bestimmung der $eLOD_{50}$ aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1 39

Tabelle 8 — Bestimmung der $eLOD_{50}$ aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 2 41

Tabelle 9 — Beispiel für die Bestimmung der $eLOD_{50}$ aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau nach Arbeitsvorschrift 2 42

Tabelle 10 — Prüfergebnisse 49

Tabelle 11 — Berechnung von S_{IR} 50

Tabelle 12 — Zusammenfassung der S_R-Werte aus der Validierungsstudie für ISO 21528-2 51

Tabelle 13 — Mit dem zu verifizierenden Verfahren erzielte Prüfergebnisse 55

Tabelle 14 — Anzahl der Stämme zur Verifizierung der Implementierung von validierten alternativen Bestätigungs- oder Typisierungsverfahren 57

Tabelle 15 — Übersicht der Verifizierungsergebnisse für ein validiertes alternatives Bestätigungs- oder Typisierungsverfahren 58

Tabelle 16 — Zulässigkeitsgrenzen zur Verifizierung validierter Verfahren 59

Tabelle 17 — Anzahl von Stämmen für die Verifizierung der Implementierung von validierten Identifizierungsverfahren 60

Tabelle 18 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung eines validierten Identifizierungsverfahrens 61

Tabelle A.1 — Einteilung von Proben und deren Bedeutung für die Untersuchung auf verschiedene Mikroorganismen 64

Tabelle B.1 — Beispiel von (Lebensmittel-)Einheiten und ihrer Eigenschaften 85

Tabelle B.2 — Beispiele für Eigenschaften von (Lebensmittel-)Einheiten, die die Leistung beeinflussen können, kategorisiert nach Verfahrensprinzipien 86

Tabelle C.1 — MPN-Tabelle zur Berechnung des Beimpfungsniveaus bei Verwendung von Arbeitsvorschriften 1, 2 oder 3 92

Tabelle E.1 — Übersicht der Verifizierungsergebnisse für das validierte alternative Bestätigungsverfahren 101

Tabelle E.2 — Übersicht der Verifizierungsergebnisse für das alternative Typisierungsverfahren 103

Tabelle F.1 — Zusammenfassung der für eine Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens mindestens erforderlichen Anzahl von (Lebensmittel-)Einheiten 108

Tabelle F.2 — Für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens zu bestimmende erforderliche Leistungsmerkmale 109

Tabelle F.3 — Arbeitsvorschriften zur Bestimmung der $eLOD_{50}$ und der Anzahl der benötigten Parallelproben je Beimpfungsniveau für ein nicht validiertes Referenzverfahren 110

Tabelle F.4 — Beimpfungsniveaus für jede Arbeitsvorschrift für ein nicht validiertes Referenzverfahren 111

Tabelle F.5 — Zulässigkeitsgrenzen zur Verifizierung nicht validierter Referenzverfahren 113

Tabelle G.1 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (erstes Beispiel mit mehreren Gattungen aus einer Familie) .. 114

Tabelle G.2 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (zweites Beispiel mit mehreren Familien, Gattungen und Spezies) 116

Tabelle G.3 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (drittes Beispiel mit mehreren Familien, Gattungen und Spezies) 118

Tabelle G.4 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (viertes Beispiel mit Identifizierung von Spezies derselben Gattung) 121