

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 Vergleichsstandardabweichung.....	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 Vergleichsstandardabweichung.....	96
Bild D.2 — Vorschläge für Variationen bei der Bestimmung der laborinternen Vergleichsstandardabweichung.....	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 eLOD₅₀ 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 eLOD₅₀ 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