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 Verfahrensvergleichsstudie ... 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 Verfahrensvergleichsstudie ... 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 *RLOD*-Berechnungen unter Verwendung der Daten aus der Verfahrensvergleichsstudie ... 82
D.1 Allgemeines ... 82
D.2 Unbekanntes Kontaminationsniveau ... 83
D.3 Bekannte Kontaminationsniveaus, Schätzung von *RLOD* mittels *LOD* ... 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) A1 Berechnung der relativen Nachweisgrenze (RLOD) anhand von Daten aus dem Ringversuch ... 86
F.1 Allgemeines ... 86
F.2 Schätzung der LOD ... 86
F.3 Relative Nachweisgrenze (RLOD) 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 RLOD 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 (RLOD) ... 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 β = 80 % und λ = 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 *RLOD* 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 — A1 Zusammenfassung der Ergebnisse des Ringversuchs für jedes Analytniveau (k_i) A1 ..... **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 *LOD* und *RLOD* verwendet wurden **82**

Tabelle F.1 — Beispieldatensatz aus einem Ringversuch zu einem alternativen Verfahren für den Nachweis von *Listeria monocytogenes* 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**