

# 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
<b>A1</b> Europäisches Vorwort der Änderung 1 <b>A1</b> .....	11
Vorwort.....	12
<b>A1</b> Vorwort der Änderung 1 <b>A1</b> .....	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 <sub>50</sub> ).....	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 <sub>50</sub> bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1.....	38
5.5.2 Bestimmung von eLOD <sub>50</sub> 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

<b>Anhang F (normativ) Arbeitsvorschrift für die Verifizierung nicht validierter Referenzverfahren in einem Einzellabor .....</b>	<b>105</b>
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 <sub>50</sub> ).....	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
<b>Anhang G (informativ) Verifizierung eines validierten Identifizierungsverfahrens — Beispiele.....</b>	<b>114</b>
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
<b>Bilder</b>	
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

<b>Bild C.2 — Beispiel für die Herstellung des Inokulums.....</b>	<b>88</b>
<b>Bild C.3 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1.....</b>	<b>89</b>
<b>Bild C.4 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 2.....</b>	<b>89</b>
<b>Bild C.5 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 3.....</b>	<b>90</b>
<b>Bild C.6 — Beispiel für die Auszählung des tatsächlichen Beimpfungsniveaus .....</b>	<b>90</b>
<b>Bild C.7 — MPN-Bestimmung des Beimpfungsniveaus für Arbeitsvorschriften 1 und 2.....</b>	<b>91</b>
<b>Bild C.8 — MPN-Bestimmung des Beimpfungsniveaus für Arbeitsvorschrift 3.....</b>	<b>92</b>
<b>Bild D.1 — Herstellung von Proben für die Bestimmung der laborinternen Vergleichsstandardabweichung.....</b>	<b>96</b>
<b>Bild D.2 — Vorschläge für Variationen bei der Bestimmung der laborinternen Vergleichsstandardabweichung.....</b>	<b>97</b>
<b>Bild D.3 — Beispiel für die vorläufige Bestimmung des Beimpfungsniveaus.....</b>	<b>98</b>
<b>Bild D.4 — Beispiel für die Herstellung des Inokulums .....</b>	<b>98</b>
<b>Bild D.5 — Beispiel für die Beimpfung der Prüfmengen.....</b>	<b>99</b>
<b>Bild D.6 — Beispiel für eine Verifizierung des quantitativen Verfahrens (eBias) mithilfe künstlicher Kontamination.....</b>	<b>100</b>
<b>Bild F.1 — Lebensmitteleinheiten, die für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens bei einem Anwendungsbereich „Breites Spektrum von Lebensmitteln“ erforderlich sind.....</b>	<b>106</b>
<b>Bild F.2 — Lebensmitteleinheit, die für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens bei einem Anwendungsbereich „Eingeschränktes Spektrum von Lebensmitteln“ erforderlich ist .....</b>	<b>107</b>
<b>Bild F.3 — Einheiten, die bei der Verifizierung eines Verfahrens für einen Anwendungsbereich „Breites Spektrum von Lebensmitteln und andere Kategorien“ erforderlich sind .....</b>	<b>108</b>
 <b>Tabellen</b>	
<b>Tabelle 1 — Zusammenfassung der für eine Verifizierung mindestens erforderlichen Anzahl von (Lebensmittel-)Einheiten .....</b>	<b>31</b>
<b>Tabelle 2 — Für die Verifizierung zu bestimmende erforderliche Leistungsmerkmale.....</b>	<b>32</b>
<b>Tabelle 3 — Arbeitsvorschriften zur Bestimmung der eLOD<sub>50</sub> und Anzahl der benötigten Parallelproben je Beimpfungsniveau .....</b>	<b>33</b>
<b>Tabelle 4 — Beimpfungsniveaus für jede Arbeitsvorschrift.....</b>	<b>36</b>
<b>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.....</b>	<b>37</b>

<b>Tabelle 6 — Bestimmung der eLOD<sub>50</sub> aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1</b> .....	<b>38</b>
<b>Tabelle 7 — Beispiel für die Bestimmung der eLOD<sub>50</sub> aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 1</b> .....	<b>39</b>
<b>Tabelle 8 — Bestimmung der eLOD<sub>50</sub> aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau bei Verwendung von Arbeitsvorschrift 2</b> .....	<b>41</b>
<b>Tabelle 9 — Beispiel für die Bestimmung der eLOD<sub>50</sub> aufgrund der Anzahl positiver Ergebnisse je Kontaminationsniveau nach Arbeitsvorschrift 2</b> .....	<b>42</b>
<b>Tabelle 10 — Prüfergebnisse</b> .....	<b>49</b>
<b>Tabelle 11 — Berechnung von <math>S_{IR}</math></b> .....	<b>50</b>
<b>Tabelle 12 — Zusammenfassung der <math>S_R</math>-Werte aus der Validierungsstudie für ISO 21528-2</b> .....	<b>51</b>
<b>Tabelle 13 — Mit dem zu verifizierenden Verfahren erzielte Prüfergebnisse</b> .....	<b>55</b>
<b>Tabelle 14 — Anzahl der Stämme zur Verifizierung der Implementierung von validierten alternativen Bestätigungs- oder Typisierungsverfahren</b> .....	<b>57</b>
<b>Tabelle 15 — Übersicht der Verifizierungsergebnisse für ein validiertes alternatives Bestätigungs- oder Typisierungsverfahren</b> .....	<b>58</b>
<b>Tabelle 16 — Zulässigkeitsgrenzen zur Verifizierung validierter Verfahren</b> .....	<b>59</b>
<b>Tabelle 17 — Anzahl von Stämmen für die Verifizierung der Implementierung von validierten Identifizierungsverfahren</b> .....	<b>60</b>
<b>Tabelle 18 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung eines validierten Identifizierungsverfahrens</b> .....	<b>61</b>
<b>Tabelle A.1 — Einteilung von Proben und deren Bedeutung für die Untersuchung auf verschiedene Mikroorganismen</b> .....	<b>64</b>
<b>Tabelle B.1 — Beispiel von (Lebensmittel-)Einheiten und ihrer Eigenschaften</b> .....	<b>85</b>
<b>Tabelle B.2 — Beispiele für Eigenschaften von (Lebensmittel-)Einheiten, die die Leistung beeinflussen können, kategorisiert nach Verfahrensprinzipien</b> .....	<b>86</b>
<b>Tabelle C.1 — MPN-Tabelle zur Berechnung des Beimpfungsniveaus bei Verwendung von Arbeitsvorschriften 1, 2 oder 3</b> .....	<b>92</b>
<b>Tabelle E.1 — Übersicht der Verifizierungsergebnisse für das validierte alternative Bestätigungsverfahren</b> .....	<b>101</b>
<b>Tabelle E.2 — Übersicht der Verifizierungsergebnisse für das alternative Typisierungsverfahren</b> .....	<b>103</b>
<b>Tabelle F.1 — Zusammenfassung der für eine Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens mindestens erforderlichen Anzahl von (Lebensmittel-)Einheiten</b> .....	<b>108</b>
<b>Tabelle F.2 — Für die Verifizierung eines nicht validierten Referenzverfahrens zu bestimmende erforderliche Leistungsmerkmale</b> .....	<b>109</b>

<b>Tabelle F.3 — Arbeitsvorschriften zur Bestimmung der eLOD<sub>50</sub> und der Anzahl der benötigten Parallelproben je Beimpfungsniveau für ein nicht validiertes Referenzverfahren .....</b>	<b>110</b>
<b>Tabelle F.4 — Beimpfungsniveaus für jede Arbeitsvorschrift für ein nicht validiertes Referenzverfahren .....</b>	<b>111</b>
<b>Tabelle F.5 — Zulässigkeitsgrenzen zur Verifizierung nicht validierter Referenzverfahren.....</b>	<b>113</b>
<b>Tabelle G.1 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (erstes Beispiel mit mehreren Gattungen aus einer Familie)..</b>	<b>114</b>
<b>Tabelle G.2 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (zweites Beispiel mit mehreren Familien, Gattungen und Spezies).....</b>	<b>116</b>
<b>Tabelle G.3 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (drittes Beispiel mit mehreren Familien, Gattungen und Spezies).....</b>	<b>118</b>
<b>Tabelle G.4 — Übersicht über die Ergebnisse der Verifizierung des validierten Identifizierungsverfahrens (viertes Beispiel mit Identifizierung von Spezies derselben Gattung).....</b>	<b>121</b>