



ÖNORM EN ISO 4833

Ausgabe: 2003-06-01

Normengruppe N

Ident (IDT) mit ISO 4833:2003 (Übersetzung)

Ident (IDT) mit EN ISO 4833:2003

ICS 07.100.30

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln – Horizontales Verfahren für die Zählung von Mikroorganismen – Koloniezählverfahren bei 30 °C

(ISO 4833:2003)

Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30 degrees C
(ISO 4833:2003)

Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes – Technique de comptage des colonies à 30 degrés C
(ISO 4833:2003)

Die Europäische Norm EN ISO 4833 hat den Status einer Österreichischen Norm.

Die ÖNORM EN ISO 4833 besteht aus

- diesem nationalen Deckblatt sowie
- der offiziellen deutschsprachigen Fassung der EN ISO 4833:2003.

Fortsetzung
EN ISO 4833 Seiten 1 bis 13

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

EN ISO 4833

Februar 2003

ICS 07.100.30

Deutsche Fassung

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales
Verfahren für die Zählung von Mikroorganismen -
Koloniezählverfahren bei 30 °C (ISO 4833:2003)**

Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal
method for the enumeration of microorganisms - Colony-
count technique at 30 degrees C (ISO 4833:2003)

Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le
dénombrement des micro-organismes - Technique de
comptage des colonies à 30 degrés C (ISO 4833:2003)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 2. Januar 2003 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, der Slowakei, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn und dem Vereinigten Königreich.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	5
5 Kulturmedien und Verdünnungsflüssigkeit	5
6 Geräte und Glasgeräte	7
7 Probenahme	7
8 Probenvorbereitung	7
9 Durchführung	8
10 Auswertung	8
11 Untersuchungsbericht	10
Literaturhinweise	12

Vorwort

Dieses Dokument EN ISO 4833:2003 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Lebensmittelerzeugnisse“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 302 „Milch und Milchprodukte – Probenahme- und Untersuchungsverfahren – erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2003, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2003 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 4833:2003 wurde vom CEN als EN ISO 4833:2003 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Wegen der großen Vielfalt von Lebensmittel- und Futtermittelprodukten ist es möglich, dass dieses horizontale Verfahren nicht bis ins Einzelne für bestimmte Produkte geeignet ist. In diesem Fall dürfen andere Verfahren, die für diese Produkte spezifisch sind, angewendet werden, wenn dies aus gerechtfertigten technischen Gründen absolut erforderlich ist. Es soll jedoch jeder Versuch unternommen werden, dieses horizontale Verfahren so weit wie möglich anzuwenden.

Bei der nächsten Überarbeitung dieser Internationalen Norm werden sämtliche dann zur Verfügung stehenden Informationen über den Umfang, in dem dieses horizontale Verfahren befolgt wurde, und die Gründe für Abweichungen bei einzelnen Produkten berücksichtigt werden.

Die Harmonisierung von Untersuchungsverfahren kann nicht sofort erfolgen, und für bestimmte Produktgruppen können bereits Internationale Normen und/oder nationale Normen vorliegen, die nicht diesem horizontalen Verfahren entsprechen. In Fällen, in denen für das zu prüfende Produkt bereits Internationale Normen vorliegen, sollten diese befolgt werden. Es besteht die Hoffnung, dass solche Normen bei der Überarbeitung so geändert werden, dass diese mit dieser Internationalen Norm übereinstimmen und in der Tat die einzigen verbleibenden Abweichungen von diesem horizontalen Verfahren die sind, die aus gut nachgewiesenen technischen Gründen erforderlich sind.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein horizontales Verfahren für die Zählung von Mikroorganismen fest, bei dem die in einem festen Kulturmedium bei aerober Bebrütung bei 30 °C wachsenden Keimkolonien gezählt werden. Mit den in der Einleitung diskutierten Einschränkungen gilt diese Internationale Norm für Produkte, die für den menschlichen Verzehr oder die Tierfütterung bestimmt sind.

Die Eignung dieser Internationalen Norm für die Untersuchung bestimmter fermentierter Lebens- und Futtermittel ist begrenzt. Für die Untersuchung bestimmter fermentierter Lebens- und Futtermittel können andere Kulturmedien und/oder Bebrütungsbedingungen besser geeignet sein.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 6887 (alle Teile), *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.*

ISO 7218:1996, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations.*

ISO 8261, *Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.*

ISO/TS 11133-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokumentes gilt der folgende Begriff.

3.1**Mikroorganismus**

Bakterien, Hefe- und Schimmelpilze, die unter den in dieser Internationalen Norm festgelegten Bedingungen auszählbare Kolonien bilden

4 Kurzbeschreibung

4.1 Unter Verwendung eines festgelegten Kulturmediums und einer festgelegten Menge der Untersuchungsprobe bei flüssigem Ausgangsprodukt, oder einer festgelegten Menge einer Erstverdünnung im Fall sonstiger Produkte, werden zwei Gussplatten hergestellt.

Weitere Gussplattenpaare werden unter den gleichen Bedingungen unter Verwendung von Dezimalverdünnungen der Untersuchungsprobe oder der Erstverdünnung hergestellt.

4.2 Die Platten werden unter aeroben Bedingungen bei 30 °C für 72 h bebrütet.

4.3 Aus der Anzahl der in ausgewählten Platten erhaltenen Kolonien (siehe Abschnitt 10) wird die Anzahl der Mikroorganismen je Milliliter bzw. je Gramm der Untersuchungsprobe berechnet.

5 Kulturmedien und Verdünnungsflüssigkeit

Zur gegenwärtigen Laborpraxis siehe ISO 7218 und ISO/TS 11133-1.

5.1 Verdünnungsflüssigkeit

Siehe den entsprechenden Teil von ISO 6887.

5.2 Keimzählagar (Plate-count agar)**5.2.1 Zusammensetzung**

Caseinpepton	5,0 g
Hefeextrakt	2,5 g
Wasserfreie Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	1,0 g
Agar ¹⁾	9 g bis 18 g
Wasser	1 000 ml

Bei der Untersuchung von Molkereiprodukten ist je Liter des Kulturmediums 1,0 g Magermilchpulver zuzugeben. Das Magermilchpulver muss frei von Hemmstoffen sein.

5.2.2 Herstellung**5.2.2.1 Herstellung aus handelsüblichem wasserfreiem Kompletmedium**

Es sind die Anweisungen des Herstellers zu befolgen und – falls erforderlich – ist das Magermilchpulver zuzugeben (siehe 5.2.1).

Falls erforderlich, wird der pH-Wert so eingestellt, dass dieser nach der Sterilisation bei 25 °C pH = 7,0 ± 0,2 beträgt.

1) Abhängig von der Gelfestigkeit des Agars.

EN ISO 4833:2003 (D)**5.2.2.2 Herstellung aus wasserfreien Grundbestandteilen**

Im Wasser werden in der folgenden Reihenfolge gelöst und aufgeschwemmt: der Hefeextrakt, das Caseinpepton, die Glucose und – falls erforderlich – das Magermilchpulver. Ein Erwärmen des Wassers wirkt bei diesem Vorgang unterstützend.

Der Agar wird zugegeben und das Gemisch bis zum Kochen erwärmt, wobei häufig umgerührt wird, bis der Agar sich völlig aufgelöst hat.

Falls erforderlich, wird der pH-Wert so eingestellt, dass dieser nach der Sterilisation bei 25 °C $\text{pH} = 7,0 \pm 0,2$ beträgt.

5.2.2.3 Abfüllung, Sterilisation und Aufbewahrung

Das Medium wird in Kulturröhrchen (6.8) in Mengen von 12 ml bis 15 ml je Röhrchen abgefüllt, oder in Kolben oder Flaschen (6.8) mit einem Nennvolumen bis 500 ml abgefüllt.

Im Autoklaven wird 15 min bei 121 °C sterilisiert.

Wenn das Medium sofort verwendet werden soll, wird dieses vor der Verwendung im Wasserbad (6.5) auf 44 °C bis 47 °C abgekühlt. Anderenfalls ist das Medium im Dunklen bei (3 ± 2) °C unter Bedingungen, die keine Veränderung von dessen Zusammensetzung und Eigenschaften zulassen, maximal drei Monate haltbar.

Um jegliche Verzögerung beim Gießen des Mediums zu vermeiden, wird dieses vor Beginn der mikrobiologischen Untersuchung durch Erwärmen vollständig verflüssigt und anschließend vor Verwendung im Wasserbad (6.5) auf 44 °C bis 47 °C abgekühlt.

Zur Überprüfung der Temperatur des Agars sollte ein Thermometer in eine in einem gesonderten Behältnis, das dem für das Medium verwendeten entspricht, befindliche Menge einer Kontrolllösung mit 15 g/l Agar gestellt werden. Die Temperatur-Kontrolllösung sollte den gleichen Erwärmungs- und Abkühlungsvorgängen unterzogen werden wie das Medium selbst.

5.2.3 Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung des Kulturmediums

Hinsichtlich der Leistungsprüfung des Mediums siehe ISO/TS 11133-1.

5.3 Überschichtungsmedium (falls erforderlich; siehe 9.2.7)**5.3.1 Zusammensetzung**

Agar ¹⁾	12 g bis 18 g
Wasser	1 000 ml

5.3.2 Herstellung

Der Agar wird in das Wasser gegeben und das Gemisch bis zum Kochen erwärmt, wobei häufig umgerührt wird, bis der Agar sich völlig aufgelöst hat, oder das Gemisch wird etwa 30 min im Dampftopf erhitzt.

Falls erforderlich, wird der pH-Wert so eingestellt, dass dieser nach der Sterilisation bei 25 °C $\text{pH} = 7,0 \pm 0,2$ beträgt.

5.3.3 Abfüllung, Sterilisation und Aufbewahrung

Das Medium wird in Kulturröhrchen (6.8) in Mengen von 4 ml je Röhrchen abgefüllt oder in Kolben oder Flaschen (6.8) von angemessener Kapazität.

1) Abhängig von der Gelfestigkeit des Agars.

Im Autoklaven wird 15 min bei 121 °C sterilisiert.

Wenn das Medium sofort verwendet werden soll, wird dieses vor der Verwendung im Wasserbad (6.6) auf 44 °C bis 47 °C abgekühlt. Anderenfalls ist das Medium im Dunklen bei (3 ± 2) °C unter Bedingungen, die keine Veränderung von dessen Zusammensetzung und Eigenschaften zulassen, maximal drei Monate haltbar.

Um jegliche Verzögerung beim Gießen des Mediums zu vermeiden, wird dieses vor Beginn der mikrobiologischen Untersuchung durch Erwärmen vollständig verflüssigt und anschließend vor Verwendung im Wasserbad (6.5) auf 44 °C bis 47 °C abgekühlt.

6 Geräte und Glasgeräte

Gegenüber wiederverwendbaren Glasgeräten stellen Einweggeräte mit geeigneter Spezifikation eine annehmbare Alternative dar.

Übliche mikrobiologische Laborausrüstung sowie:

6.1 Gerät für die Trockensterilisation (Wärmeschrank) oder Dampfsterilisation (Autoklav).

Siehe ISO 7218.

6.2 Brutschrank, einstellbar auf (30 ± 1) °C.

6.3 Petrischalen aus Glas oder Kunststoff mit einem Innendurchmesser von 90 mm bis 100 mm.

6.4 Pipetten mit einem Nennvolumen von 1 ml.

6.5 Wasserbad, einstellbar auf 44 °C bis 47 °C.

6.6 Einrichtung zur Koloniezählung, z. B. bestehend aus einer beleuchteten Grundplatte mit dunklem Hintergrund, ausgestattet mit einer Vergrößerungslinse mit geeigneter etwa 1,5facher Vergrößerung und einem mechanischen oder elektronischen digitalen Zählwerk.

6.7 pH-Messgerät mit einer Kalibrierengenauigkeit von $\pm 0,1$ pH-Einheiten bei 25 °C.

6.8 Kulturröhrchen oder Kolben oder Flaschen mit einem Nennvolumen von höchstens 500 ml.

7 Probenahme

Es ist wichtig, dass das Laboratorium eine Probe erhält, die tatsächlich repräsentativ ist und die während des Transports oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert wurde.

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahrens. Siehe hierzu die spezifische Internationale Norm, in der das betreffende Produkt behandelt wird. Falls keine spezifische Internationale Norm vorliegt, sollten die beteiligten Seiten diesbezüglich eine Vereinbarung treffen.

8 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung erfolgt in Übereinstimmung mit dem entsprechenden Teil von ISO 6887 oder ISO 8261 und der spezifischen Norm, in der das betreffende Produkt behandelt wird. Falls keine spezifische Internationale Norm vorliegt, sollten die beteiligten Seiten diesbezüglich eine Vereinbarung treffen.

9 Durchführung

9.1 Untersuchungsprobe, Erstverdünnung und weitere Verdünnungen

Siehe ISO 6887 und die spezifische Internationale Norm, in der das betreffende Produkt behandelt wird.

9.2 Beimpfung und Bebrütung

9.2.1 Auf jede von zwei sterilen Petrischalen (6.3) wird mit Hilfe einer sterilen Pipette (6.4) 1 ml der Untersuchungsprobe bei flüssigem Ausgangsprodukt oder 1 ml Erstverdünnung im Fall sonstiger Produkte (Verdünnung 10^{-1}) übergeführt.

9.2.2 Auf jede von zwei weiteren sterilen Petrischalen (6.3) wird mit Hilfe einer anderen sterilen Pipette (6.4) 1 ml der Verdünnung 10^{-1} (bei flüssigen Produkten) oder 1 ml der Verdünnung 10^{-2} (bei sonstigen Produkten) übergeführt.

9.2.3 Falls erforderlich, wird der Arbeitsgang mit weiteren Verdünnungen wiederholt, wobei für jede Dezimalverdünnung eine neue sterile Pipette verwendet wird.

9.2.4 Falls geeignet und möglich, werden nur die maßgeblichen Verdünnungsstufen (mindestens zwei aufeinander folgende Dezimalverdünnungen) für die Beimpfung der Petrischalen verwendet, bei denen Koloniezahlen zwischen 15 und unter 300 Kolonien erwartet werden.

9.2.5 In jede Petrischale werden 12 ml bis 15 ml Keimzählmedium (5.2) von 44 °C bis 47 °C gegossen. Zwischen dem Ende der Herstellung der Erstverdünnung (oder der Verdünnung 10^{-1} bei flüssigen Produkten) und dem Zeitpunkt des Eingießens des Mediums (5.2) in die Petrischalen dürfen nicht mehr als 45 min vergehen.

9.2.6 Impfansatz und Medium werden durch Drehen der Petrischalen sorgfältig durchmischt, und das Gemisch wird durch Auflegen der Petrischalen auf eine kühle ebene Fläche erstarren gelassen.

9.2.7 Nach vollständigem Festwerden des Mediums, und nur im Fall des Verdachts, dass das zu untersuchende Produkt Mikroorganismen enthält, deren Kolonien die Oberfläche des Mediums durchwachsen werden, werden auf die Oberfläche des beimpften Mediums 4 ml Überschichtungsmedium (5.3) von 44 °C bis 47 °C gegossen. Die Platten werden wie oben beschrieben erstarren gelassen.

9.2.8 Die vorbereiteten Petrischalen werden mit dem Deckel nach unten im Brutschrank (6.2) bei (30 ± 1) °C für (72 ± 3) h bebrütet. Es dürfen nicht mehr als sechs Petrischalen aufeinander gestapelt werden. Die Stapel sollten nicht aneinander, an den Wänden oder der Decke des Brutschranks liegen.

9.3 Zählen der Kolonien

9.3.1 Nach der festgelegten Bebrütungsdauer (9.2.8) werden die Kolonien der Petrischalen (10.1) unter Zuhilfenahme der Einrichtung zur Koloniezählung (6.6) ausgezählt. Die Petrischalen werden in diffusem Licht untersucht. Es ist wichtig, dass auch stecknadelkopfgroße Kolonien in die Zählung einbezogen werden. Von wesentlicher Bedeutung ist, dass die auswertende Person den Fehler vermeidet, Partikel nicht gelöster oder ausgefallter Substanzen für stecknadelkopfgroße Kolonien zu halten. Zweifelhafte Objekte sind sorgfältig zu untersuchen, erforderlichenfalls unter stärkerer Vergrößerung, um Kolonien von Fremdkörpern zu unterscheiden.

9.3.2 Laufkolonien sind als Einzelkolonien zu bewerten. Wenn weniger als ein Viertel der Petrischale durch Laufkolonien überwachsen ist, werden die Kolonien auf dem nicht überwachsenen Teil der Petrischale gezählt und auf die gesamte Fläche der Petrischale umgerechnet. Wenn mehr als ein Viertel der Fläche durch Laufkolonien überwachsen ist, wird die Schale verworfen.

10 Auswertung

10.1 Berechnungsverfahren

Siehe ISO 7218:1996, Amendment 1.

10.2 Präzision

10.2.1 Allgemeines

Die Präzisionsdaten wurden für Petrischalen mit 15 bis 300 Kolonien ausgewertet. Die Präzisionsdaten hängen von der Zusammensetzung der Keimflora und der Matrix der Untersuchungsprobe ab. Die vorgelegten Daten wurden aus Ringversuchen (siehe [1], [2] und [3]) abgeleitet und für Rohmilch und pasteurisierte Milch validiert. Für die Bestimmung der Koloniezahlen anderer Produkte dürfen diese als Schätzwerte verwendet werden.

10.2.2 Wiederholpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen voneinander unabhängigen Untersuchungsergebnissen, die der gleiche Bearbeiter mit dem gleichen Verfahren an identischem Untersuchungsmaterial im gleichen Labor mit der gleichen Geräteausstattung innerhalb einer kurzen Zeitspanne erhält, sollte nicht größer sein als der Grenzwert der Wiederholpräzision, $r = 0,25$ in \log_{10} Mikroorganismen je ml (entspricht 1,8 auf der Normalskala in Mikroorganismen/ml).

ANMERKUNG Diese Wiederholpräzision wurde aus Ringversuchen für Rohmilch und pasteurisierte Milch abgeleitet (siehe [1], [2] und [3]) und darf für solche Produkte angewendet werden.

10.2.3 Vergleichpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen voneinander unabhängigen Untersuchungsergebnissen, die verschiedene Bearbeiter mit dem gleichen Verfahren an identischem Untersuchungsmaterial in verschiedenen Labors mit unterschiedlichen Geräteausstattungen erhalten, sollte nicht größer sein als der Grenzwert der Vergleichpräzision, $R = 0,45$ in \log_{10} Mikroorganismen je ml (entspricht 2,8 auf der Normalskala in Mikroorganismen/ml).

ANMERKUNG Diese Vergleichpräzision wurde aus Ringversuchen für Rohmilch und pasteurisierte Milch abgeleitet (siehe [1], [2] und [3]) und darf für solche Produkte angewendet werden.

10.3 Interpretation der Untersuchungsergebnisse

In den folgenden Beispielen werden die durchschnittlichen Präzisionsdaten, ein Wahrscheinlichkeitsniveau von 95 % und die Untersuchung einer Probe berücksichtigt. Es ist jedoch zu beachten, dass unter Praxisbedingungen oft der Durchschnittswert mehrerer Proben verwendet wird. Die Zahlen sind in Mikroorganismen/ml angegeben.

a) Wiederholbedingungen:

Erstes Ergebnis: $10^5 = 100\ 000$

Die Differenz zwischen dem ersten und dem zweiten Ergebnis sollte nicht größer sein als 0,25 \log_{10} -Einheiten:

Zweites Ergebnis: $\log 10^{4,75} = 56\ 000$, oder

$\log 10^{5,25} = 178\ 000$

Die Differenz zwischen dem ersten und dem zweiten Ergebnis ist vertretbar, wenn das zweite Ergebnis nicht niedriger als 56 000 oder nicht höher als 178 000 ist.

b) Vergleichbedingungen:

Im ersten Labor erhaltenes Ergebnis (Durchschnittswert der Doppelbestimmung): $10^5 = 100\ 000$

Die Differenz zwischen dem ersten Ergebnis und dem im zweiten Labor erhaltenen Ergebnis sollte nicht größer sein als 0,45 \log_{10} -Einheiten:

Zweites Ergebnis: $\log 10^{4,55} = 36\ 000$, oder

$\log 10^{5,45} = 280\ 000$

EN ISO 4833:2003 (D)

Die Differenz zwischen dem ersten Ergebnis und einem durch ein zweites Labor erhaltenen Ergebnis ist vertretbar, wenn das Ergebnis aus dem zweiten Labor nicht niedriger als 36 000 und nicht höher als 280 000 ist.

Im Anhang A ist ein Verfahren zur Berechnung und Anwendung der kritischen Differenz (critical difference, *CD*) dargestellt.

10.4 Vertrauensgrenze

Siehe ISO 7218.

11 Untersuchungsbericht

Der Untersuchungsbericht muss die folgenden Angaben enthalten:

- a) alle Angaben, die zur vollständigen Identifizierung der Probe erforderlich sind;
- b) das verwendete Probenahme-Verfahren, falls bekannt;
- c) das verwendete Untersuchungsverfahren mit einem Hinweis auf diese Internationale Norm;
- d) alle Arbeitsbedingungen, die nicht in dieser Norm festgelegt sind oder als wahlfrei erachtet wurden, sowie alle Umstände, die das (die) Ergebnis(se) beeinflusst haben können;
- e) das (die) erhaltene(n) Untersuchungsergebnis(se).

Anhang A (informativ)

Anwendung der kritischen Differenz für die Auswertung der Ergebnisse

In den folgenden Beispielen werden die durchschnittlichen Präzisionsdaten, ein Wahrscheinlichkeitsniveau von 95 % und die Untersuchung einer Probe berücksichtigt. Es ist jedoch zu beachten, dass unter Praxisbedingungen oft der Durchschnittswert mehrerer Proben verwendet wird. Die Zahlen sind in Mikroorganismen je ml angegeben.

a) Vergleichbedingungen:

Im ersten Labor erhaltenes Ergebnis (Durchschnittswert der Doppelbestimmung): $10^5 = 100\ 000$

Die Differenz zwischen diesem Ergebnis und einem durch ein zweites Labor erhaltenen Ergebnis (Durchschnitt von n Bestimmungen, in diesem Beispiel $n = 2$) ist vertretbar, wenn diese nicht die kritische Differenz (critical difference, CD) in \log_{10} -Einheiten überschreitet:

$$CD = \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} = \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} = \sqrt{0,45^2 - \frac{0,25^2}{2}} = 0,41$$

Dabei ist

r die Wiederholpräzision;

R die Vergleichpräzision.

Die Differenz zwischen den durch das erste und das zweite Labor erhaltenen Ergebnissen ist vertretbar, wenn das zweite Labor ein Ergebnis erhält, das nicht niedriger als $10^{4,59} = 39\ 000$ oder nicht höher als $10^{5,41} = 257\ 000$ ist.

b) Vergleich mit einem Grenzwert (einseitiger Test):

Grenzwert: $10^5 = 100\ 000$

Die Differenz zwischen dem Grenzwert und dem Ergebnis des Labors (Durchschnitt von n Bestimmungen, in diesem Beispiel $n = 2$) muss mit dem Grenzwert der kritischen Differenz (critical difference-limit, CDL) verglichen werden:

$$CDL = 0,84 \sqrt{2} \times \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} = 0,84 \sqrt{2} \times \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} = 0,24$$

Untersuchungsergebnisse bis $10^{5,24} = 174\ 000$ zeigen keine Nicht-Übereinstimmung mit dem Grenzwert an.

Literaturhinweise

- [1] Piton, C., Grappin, R.: A model for statistical evaluation of precision parameters of microbiological methods: Application to dry rehydratable film methods and IDG reference methods for enumeration of total aerobic mesophilic flora and coliforms in raw milk. *J. AOAC* **74**, 1991, pp. 92–103.
- [2] Scotter, S., Aldridge, M., Back, J., Wood, R.: Validation of European Community methods for microbiological and chemical analysis of raw and heat-treated milk. *J. Assoc. Publ. Analyst* **29**, 1993, pp. 1–32.
- [3] Dahms, S., Weiss, H.: Estimation of precision values for microbiological reference methods — Standardized pour plate technique. *Milchwiss.*, **53**, 1988, pp. 555-559.

Anhang ZA (normativ)

Normative Verweisungen auf internationale Publikationen mit ihren entsprechenden europäischen Publikationen

Diese Europäische Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Europäischen Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

ANMERKUNG Ist eine internationale Publikation durch gemeinsame Abweichungen modifiziert worden, gekennzeichnet durch (mod.), dann gilt die entsprechende EN/HD.

<u>Publikation</u>	<u>Jahr</u>	<u>Titel</u>	<u>EN</u>	<u>Jahr</u>
ISO 6887-1	1999	Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions	EN ISO 6887-1	1999
ISO 8261	2001	Milk and milk products - General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination	EN ISO 8261	2001
ISO/TR 11133-1	2000	Microbiology of food and animal feeding stuffs - Guidelines on preparation and production of culture media - Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory	ENV ISO 11133-1	2000