



Roesebeckstr. 4-6
30449 Hannover
Fon 0511/4505-0
Fax 0511/4505-140



Lüchtenburger Weg 24
26603 Aurich
Tel. 04941/9171-0
Fax 04941/9171-10

www.nlga.niedersachsen.de

Messunsicherheit in der Mikrobiologie (Trinkwasser)

Dr. K. Luden

Disclaimer

- keine Statistikerin
- kein Anspruch auf vollständige Bearbeitung des Themas
- keine Kochanleitung

Inhalt:

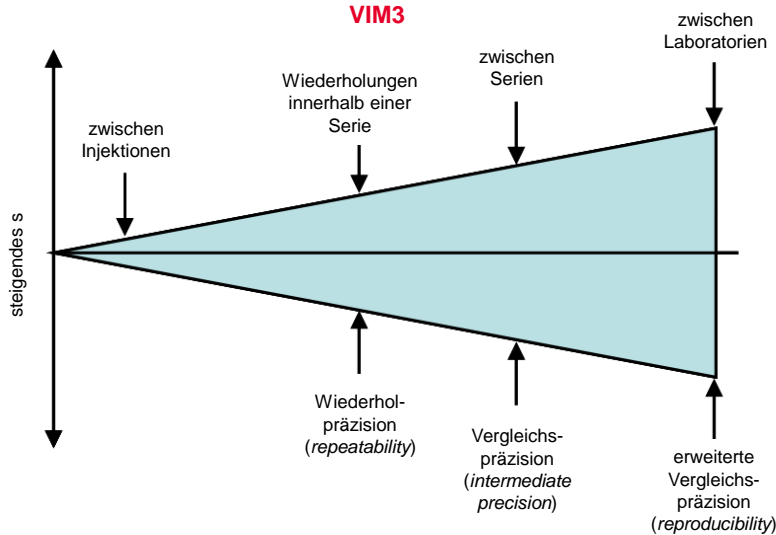
- ISO 29201 Global approach als eine Möglichkeit zur Abschätzung der Messunsicherheit in der Mikrobiologie

Relevante Richtlinien und Dokumente

- ISO/IEC Guide 98-3:2008 (en) Uncertainty of measurement - Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995)
- The International Vocabulary of Metrology - Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM 3): 2011 auch veröffentlicht als ISO Guide 99
- ISO 11352:2012 Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data
- **ISO 29201:2012** Water quality - The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods
Variabilität von Untersuchungsergebnissen und Messunsicherheit von mikrobiologischen Zählverfahren

Präzisionsabschätzungen als Ausdruck der beobachteten Unpräzision

VIM3



ISO 29201:2012

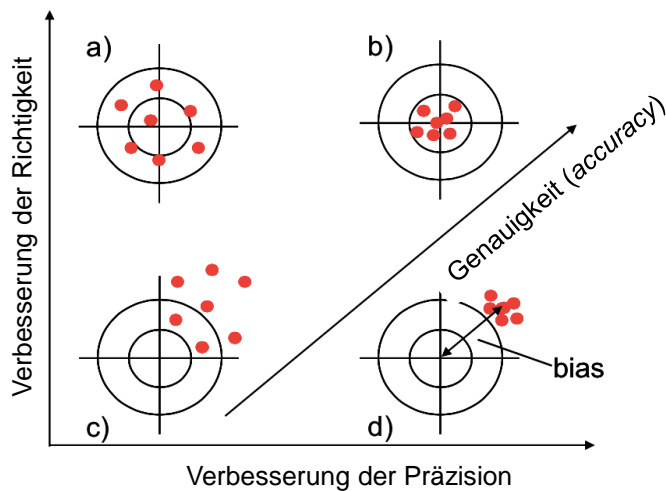
intermediate precision
intermediate reproducibility
intra-laboratory reproducibility

= Vergleichspräzision

höchste Variabilität
innerhalb eines Labors:
Mitarbeiter / Zeit / Material

Richtigkeit und Präzision

VIM3



bezogen auf den "wahren Wert"

ISO 29201:2012

- *ISO/IEC 98-3:2008 GUM* oder „component approach“ oder "bottom-up" oder "step-by-step"
- ISO 29201 „black box“ oder „top-down“ oder „global approach“
 - MU kann auf alle Ergebnisse angewendet werden, die mit der selben Methode im selben Labor erzielt wurden
 - Problem: „Variation ohne (ersichtlichen) Grund“ (variation without a cause) die mit Zählungen verbunden ist, bleibt unberücksichtigt
- Präzision in der Mikrobiologie hängt von zwei wichtigen Faktoren ab
 - Unsicherheit des technischen Messvorgangs (operationelle Variabilität) und
 - Variation aufgrund der Verteilung der Partikel (distribution uncertainty)

Schritte der mikrobiologischen Analyse

Produkt (Lebensmittel) / Wasser

Probenahme

(Labor-) Probe

Mischen/Homogenisieren

Homogenat – initiale Suspension

Verdünnung

Verdünnungsreihe – finale Suspension

Volumen abmessen

Inokulation der (Agar-) Platten

Inkubation

Ablesung

Verdächtige Kolonien auswählen und subkultivieren

Bestätigung

Berechnung

Ergebniswert

ISO 29201: Prinzip der Abschätzung der Messunsicherheit

MU eines mikrobiologischen Resultats (y) ist abhängig von zwei Hauptkomponenten:

$$u_c = \sqrt{(u_o^2 + u_d^2)}$$

u_c = kombinierte relative Standardunsicherheit

u_o^2 = operationelle Variabilität (technisch, experimentell)

u_d^2 = "intrinsische" Variabilität (distribution; Verteilung)

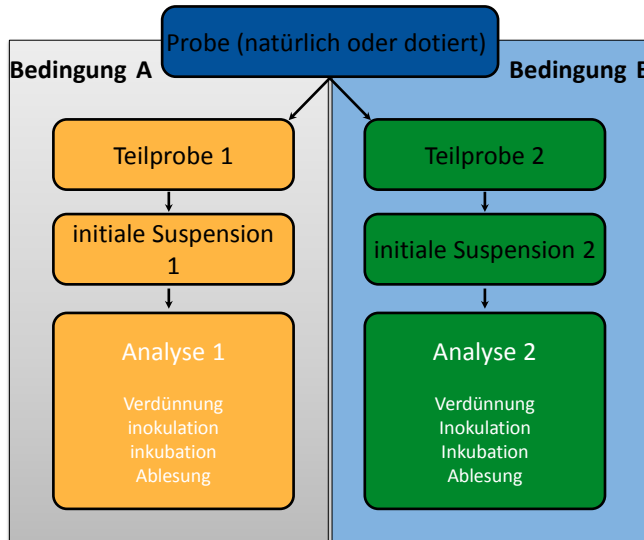
erweiterte Unsicherheit mit einem Faktor $k=2$

$$U = 2 * u_c = 2 * \sqrt{(u_o^2 + u_d^2)}$$

Struktur der Unsicherheitskomponenten

Struktur	finale Suspension	Unsicherheitskomponente	Einflussgrößen
Teilprobenahme/ Mischen	vor	U_o	Matrix/Material
Verdünnung	vor	U_o	Matrix/Material
Inokulation	final Suspension (zufällige Verteilung der Partikel)	U_d	Matrix/Material
Inkubation	nach	U_o	Methode
Ablesung: Zählung/Bestätigung	nach	U_o	Mitarbeiter/Gerätschaften

Prinzip / Versuchsaufbau



- mindestens 30 Proben oder mehr!
- gesondert für jedes Verfahren, jede Matrix und jeden Zielorganismus
- Vergleichsbedingungen

ISO 29201 global approach (Anhang F)

1. Analyse von 30 Proben im Doppelansatz mit hoher Variabilität (Personal + Zeit + Material/Gerätschaften)
1. Berechnung der Vergleichsunsicherheit u^2_R aus den 2 Zählungen jeder Probe; Verwendung logarithmierter Daten (unanfälliger gegenüber dem Kontaminationsgrad - Verdünnung)

$$u^2_R = (\log n_{c1} - \log n_{c2})^2 / 2$$
3. Berechnung der intrinsischen relativen Verteilungsunsicherheit jeder Probe u^2_d

$$u^2_d = 2 * 0,1886 / (n_{c1} + n_{c2})$$
4. Berechnung der mittleren relativen operationellen Unsicherheit u^2_o

$$u^2_o = u^2_R - u^2_d$$

ISO 29201 global approach (Annex F)

5. für weitere (neue) Ergebnisse (Einzelzählungen) ergibt sich die kombinierte Unsicherheit dann aus:

$$u_c(x) = \sqrt{(u_o^2 - u_d^2)} \text{ mit } u_d^2 = 0,1886/n$$

u_o relative operationelle Unsicherheit für diesen Probenotyp und dieses Verfahren

u_d relative Verteilungsunsicherheit (intrinsische Variation; Annahme: Poisson Verteilung)

6. erweiterte Unsicherheit $U = 2 \cdot u_c = 2 \cdot \sqrt{(u_o^2 - u_d^2)}$

Hinweis: für Wasseranalysen kann der logarithmische Unsicherheitswert in relative Skala umgewandelt werden durch Multiplikation mit dem Faktor 5,3

Beispiel

Nr	n_{c1}	n_{c2}	$\log(n_{c1})$	$\log(n_{c2})$	u_R^2	u_d^2	u_o^2
					$(\log n_{c1} - \log n_{c2})^2 / 2$	$2 \cdot 0,1886 / (c1 + c2)$	$u_R^2 - u_d^2$
1	5	8	0,6990	0,9031	0,0208	0,0290	-0,0082
2	15	11	1,1761	1,0414	0,0091	0,0145	-0,0054
3	11	19	1,0414	1,2788	0,0282	0,0126	0,0156
4	21	39	1,3222	1,5911	0,0361	0,0063	0,0299
5	68	45	1,8325	1,6532	0,0161	0,0033	0,0127
6	151	203	2,1790	2,3075	0,0083	0,0011	0,0072
					Vergleichsunsicherheit	intrinsische Variation (Verteilung)	operationelle Unsicherheit
Mittelwert					0,0198	0,0111	0,0086

$$u_o^2 = 0,0086 \quad u_{o,rel}^2 = 5,3 \cdot 0,0086 = 0,0457$$

$$u_{o,rel} = \sqrt{5,3 \cdot 0,0086} = \sqrt{0,0457} = 0,2138 = 21 \%$$

Beispielrechnung aus Ringversuchsdaten

<i>E. coli</i>	u^2_R	u^2_d	u^2_o	Umrechnung $u^2_o \cdot 5,3$	u_o	%
10	0,0151	0,0098	0,0053	0,0282	0,1679	17
20	0,0193	0,0101	0,0092	0,0487	0,2207	22
30	0,0157	0,0103	0,0053	0,0283	0,1682	17

Beispielrechnung aus Ringversuchsdaten

<i>C. perfringens</i>	u^2_R	u^2_d	u^2_o	Umrechnung $u^2_o \cdot 5,3$	u_o	%
mean						
10	0,0187	0,0028	0,0160	0,0846	0,2908	29
20	0,0198	0,0163	-0,0025	-0,0134		
30	0,0198	0,0092	0,0105	0,0558	0,2362	24

persönliche Messunsicherheitsabschätzung

- Design basierend auf Doppelansätzen (hohe Praktikabilität)
- Beispieldatensätze lassen Messunsicherheiten recht klein erscheinen
- hilfreich bei der Bewertung von Methoden
- „global approach“ ermöglicht die Einschätzung einer Größenordnung der Messunsicherheit
- Angabe gegenüber Kunden in der mikrobiologischen Analytik von Trinkwasser nur eingeschränkt sinnvoll
 - Verunsicherung wäre sehr groß
 - Quantität in der Regel nur tatsächlich oft nicht entscheidungsauslösend (*E. coli*/Coliforme B./Pseudomonas...)