



Procedure

MICROBIOLOGIE – SCHATTING VAN DE MEETONZEKERHEID

Van toepassing op	15/12/2008
Bevoegd bestuur	DG-Laboratoria
Verantwoordelijke dienst	Kwaliteitsverantwoordelijken
Bestemmingen	Alle laboratoria erkend door het FAVV voor microbiologische parameters

	Naam – functie / dienst	Datum	Handtekening
Opgesteld door :	Franck Defeijt Kwaliteitsverantwoordelijke - LFSAGx	02/12/2008	
Nagezien door :	Frans Devolder DG labo - Kwaliteitsverantwoordelijke	10/12/2008	
Goedgekeurd door :	Geert De Poorter DG labo – Directeur-generaal	16/12/2008	

Overzicht herzieningen

Herziening door / datum*	Reden van de herziening	Tekstdeel / draagwijdte van de herziening

* Het verschil tussen de datum van toepassing en de huidige datum mag niet meer dan 5 jaar bedragen.

Revisienummer en indien van toepassing het jaar aanpassen. Na goedkeuring de datum van toepassing aanpassen, rekening houdend met de tijd om de betrokken medewerkers te informeren.

Bestemmingen

- Centrale diensten Bestuur Laboratoria
- Laboratoria erkend door het FAVV voor microbiologische parameters

De documenten zijn beschikbaar op de website van het FAVV (www.favv.be > Beroepssectoren > Laboratoria > Erkende laboratoria > Dienstnota's). Voor de medewerkers van het FAVV zijn de documenten ook beschikbaar op de centrale server. De versie opgeslagen onder A zijn de van toepassing zijnde versies.

Trefwoorden: meetonzekerheid
microbiologische analyses

INHOUDSTABEL

1. DOEL	3
2. TOEPASSINGSGEBIED	3
3. REFERENTIES.....	4
4. DEFINITIES EN AFKORTINGEN	4
5. SCHATTING VAN DE MEETONZEKERHEID.....	4
5.1. Principe.....	4
5.2. Praktische werkwijze.....	5
5.3. Berekeningswijze.....	6
5.4. Uitdrukkingwijze.....	7
6. BIJLAGEN.....	7
6.1. Bijlage 1 – Experimenteel protocol.....	7
6.2. Bijlage 2 – Betrouwbaarheidsintervallen voor schatting van lage aantallen kolonies .	8

1. Doel

Dit document beschrijft de instructies voor de schatting en uitdrukking van de meetonzekerheid verbonden aan resultaten van kwantitatieve microbiologische analyses.

2. Toepassingsgebied

- Producten bestemd voor menselijke consumptie
- Producten bestemd voor dierlijke consumptie
- Omgevingsstalen genomen in het kader van de productie en behandeling van voedingsmiddelen

De instructie is van toepassing:

- Op kwantitatieve analyses uitgevoerd volgens de techniek van de plaattelling

De instructie is niet van toepassing:

- Op kwantitatieve analyses uitgevoerd volgens de techniek van het Meest Waarschijnlijke Aantal
- Op de bepaling van lage aantallen micro-organismen (< 15 kolonies op de laagst telbare verdunning)

Opmerking: voor de lage aantallen kan het laboratorium verwijzen naar de tabel weergegeven in Bijlage 2 : betrouwbaarheidsintervallen voor de schatting van lage aantallen kolonies.

3. Referenties

ISO 19036:2006 « Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations ».

4. Definities en afkortingen

Meetonzekerheid: een parameter geassocieerd met een testresultaat, die de spreiding weergeeft van de waarden die redelijkerwijze kunnen toegekend worden aan de meetgrootte.

Standaardonzekerheid $u(x_i)$: de onzekerheid van een meetresultaat, uitgedrukt als een standaardafwijking.

Gecombineerde standaardonzekerheid $u_c(y)$: de onzekerheid van een meetresultaat waarbij de bijdrage van alle relevante bronnen van onzekerheid wordt gecombineerd volgens een toepasselijk statistisch model

Uitgebreide meetonzekerheid U : grootte die rond het meetresultaat een interval definieert dat naar verwachting een aanzienlijk deel van de verdeling van waarden bevat die redelijkerwijs aan de meetgrootte zouden kunnen toegeschreven worden. De uitgebreide meetonzekerheid U wordt berekend uitgaande van een gecombineerde standaardonzekerheid $u_c(y)$ en een dekkingsfactor k :

$$U = k \cdot u_c(y).$$

Dekkingsfactor k : getalsfactor die door vermenigvuldiging met de gecombineerde standaardonzekerheid een uitgebreide onzekerheid oplevert. De waarde van k is meestal begrepen tussen 2 en 3 en = 2 in deze instructie, wat ongeveer overeenstemt met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

Bias : het verschil tussen het gemiddelde van de metingen en de referentiewaarde.

5. Schatting van de meetonzekerheid

5.1. Principe

Deze instructie is gebaseerd op een globale benadering voor de schatting van de meetonzekerheid ; ze steunt op de totale variabiliteit van het analyseproces.

In deze totale variabiliteit is enkel de precisie (toevallige fout) opgenomen en niet de bias, gezien het empirisch karakter van de bepalingswijze van het aantal micro-organismen.

De globale benadering is gebaseerd op een experimentele schatting van de standaardafwijking van de reproduceerbaarheid van een eindresultaat dat het volledig proces

heeft ondergaan. Deze standaardafwijking stemt overeen met de gecombineerde standaardonzekerheid.

De globale benadering kan als een 'black box' beschouwd worden. De belangrijkste bronnen van onzekerheid in voedingsmiddelenmicrobiologie zijn:

- a) de monstername
- b) het laboratoriummonster
- c) de matrix
- d) apparatuur, cultuurmedia en reagentia
- e) bijkomende toevallige fouten
- f) de submonstername – primaire verdunning
- g) de analist, de tijd
- h) de bias

Het experimenteel protocol beschreven in deze instructie houdt geen rekening met de monstername en bias als bronnen van de onzekerheid.

De standaardafwijking van de reproduceerbaarheid wordt geschat aan de hand van de standaardafwijking van de intralabreproduceerbaarheid op basis van een experimenteel protocol en moet geschat worden voor elke doelgroep van micro-organismen en elke matrix (of matrixgroep) voor een gegeven analysemethode. Het is noodzakelijk dat de resultaten verkregen worden met goed beheerste methoden.

5.2. Praktische werkwijze

Voor elk micro-organisme (of groep van micro-organismen) en voor elke categorie van matrices, moet het experimenteel protocol zoals beschreven in het schema (bijlage 1) uitgevoerd worden op minstens 10 stalen per categorie. Het protocol wordt bij voorkeur herhaald op verschillende dagen om zo een spreiding van de resultaten in de tijd te verkrijgen.

De laboratoria met als scope "alle producten" moeten ten minste hun meetonzekerheid berekenen voor de 4 categorieën van matrices die zijn vermeld in tabel 1.

Tabel 1 : bepaling van de categorieën

Categorieën	Matrixtype
categorie (1) : vloeistoffen en poeders	melk, melkpoeder, e.d.
categorie (2) : gemengde vaste stoffen	gehakt vlees, separatorvlees, worstvlees, gemalen vlees, slagroom, e.d.
categorie (3) : kleine (of zeer kleine) vaste stoffen	gedroogde peterselie en champignons, geraspte wortelen en knolselder, salade, garnalen, granen, veevoeder, gehakte noten, e.d.
categorie (4) : overige vaste stoffen	ongemalen vlees, kaas, gebak, e.d.

Binnen elke categorie moeten de matrices representatief zijn voor de types van matrices die door het laboratorium onderzocht worden.

Binnen elke categorie kan het laboratorium monsters van verschillende matrices analyseren. Voor categorie 1 kan het lab bijvoorbeeld 2 melkmonsters, 2 melkpoedermonsters en 5 kokosmelkmonsters analyseren.

Het aantal categorieën van matrices dat wordt gebruikt om de meetonzekerheid te ramen kan worden aangepast al naargelang van de scope van het lab en van de diversiteit van de matrices die routinematig door het lab worden geanalyseerd of wanneer het lab een bijzonder probleem vreest met een welbepaald matrixtype (aanwezigheid van remstoffen, competitieve flora, ...)

De standaardafwijkingen worden berekend aan de hand van de log-getransformeerde gegevens, zodat de reproduceerbaarheidsvariantie onafhankelijk is van het besmettingsniveau, er rekening mee houdend dat deze instructie niet van toepassing is op lage besmettingsniveaus.

Het is dan ook niet nodig om de reproduceerbaarheidsstandaardafwijking te bepalen voor elk besmettingsniveau.

Bij voorkeur worden monsters en/of verdunningen gekozen uit routine-analyses.

Indien men noodzakelijkerwijs moet gebruik maken van artificiële besmetting, dan moet dit op een beheerste manier worden uitgevoerd.

Van elk monster (bijlage 1) nemen 2 analisten een analysemonster en bereiden een primaire verdunning die in het enkelvoud wordt geanalyseerd. De omstandigheden A en B moeten zoveel mogelijk verschillen (verschillende analisten, verschillende lotnummers van voedingsbodems, stomachers, balansen, waterbaden, broedstoven, analysetijden, ...).

5.3. Berekeningswijze

De resultaten uitgedrukt in kve/g moeten omgerekend worden naar $\log(kve/g)$.

Bereken de intralaboratoriumstandaardafwijking s_R voor de n stalen van een matrix als volgt:

$$s_R = \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2}{n}} = u(y)$$

waarbij

y_{ij} : de log-getransformeerde gegevens in $\log_{10}(kve/g)$

i : index van monster ; $i=1$ tot n ($n \geq 10$)

j : index van de reproduceerbaarheidsconditie; $j = A$ of B

In bijlage 3 is een bestand aanwezig met een model van rekenblad in Excel.

Als het analyseresultaat $y = \log x$ en de reproduceerbaarheidsstandaardafwijking = s_R , dan wordt de uitgebreide meetonzekerheid U gegeven als $2s_R$

5.4. Uitdrukkingwijze

Het analyseresultaat kan op verschillende manieren worden genoteerd ($y = \log_{10} X$)

- $y \pm U$ (log)
- y log ($y-U$, $y+U$)
- x kve/g of x kve/ml (10^{y-U} ; 10^{y+U})

of $U = 2u_c = 2s_R$

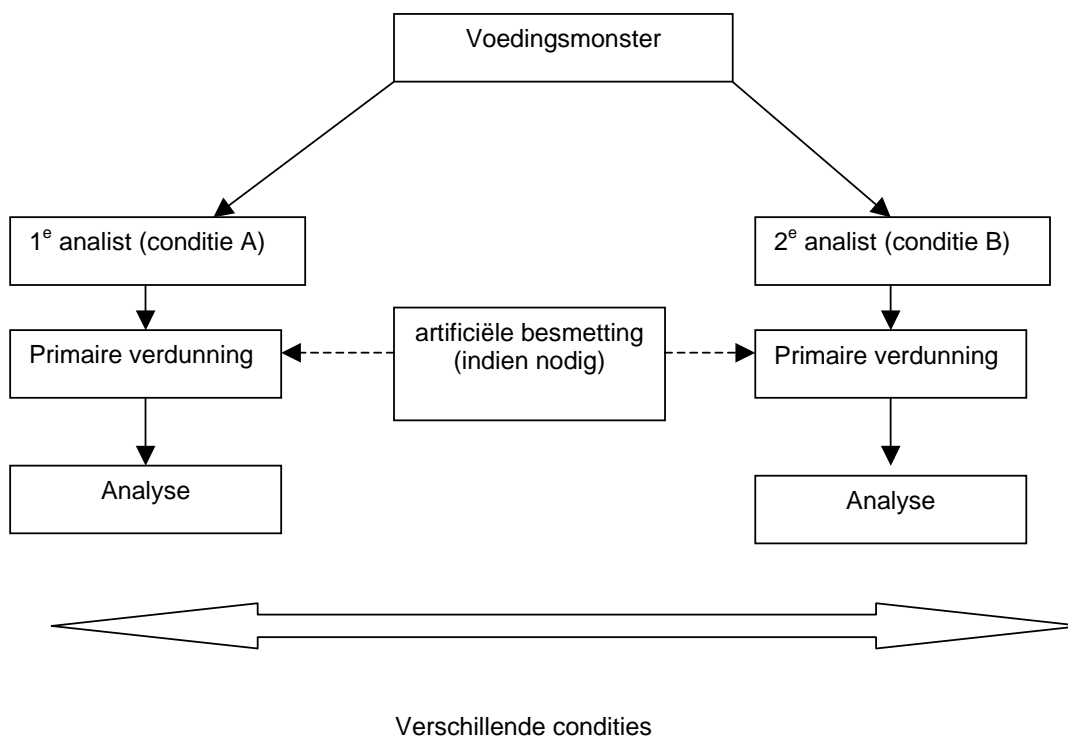
Voorbeeld: er werd een reproduceerbaarheidsstandaardafwijking van $0.15 \log_{10}$ verkregen. De uitgebreide meetonzekerheid, met een dekkingsfactor = 2 (95 % betrouwbaarheidsinterval) bedraagt $0.15 \times 2 = 0.3 \log_{10}$. Het analyseresultaat bedraagt $5.0 \log_{10}$ kve/g.

Het analyseresultaat kan onder volgende vormen uitgedrukt worden :

- $5.0 \log \pm 0.3 \log$
- $5.0 \log (4.7 ; 5.3)$
- $10^5 \text{ kve/g} (5 \times 10^4 ; 2 \times 10^5)$
- $100.000 \text{ kve/g} (50.000 ; 200.000)$

6. Bijlagen

6.1. Bijlage 1 – Experimenteel protocol



6.2. *Bijlage 2 – betrouwbaarheidsintervallen voor schatting van lage aantallen kolonies*

Bij een aantal weerhouden kolonies minder dan 15 zijn de 95 % betrouwbaarheidsintervallen voor de schatting van lage aantallen weergegeven in de hiernavolgende tabel.

Aantal microorganismen	95 % betrouwbaarheidsinterval	
	Onderste limiet	Bovenste limiet
1	<1	2
2	<1	4
3	<1	5
4	1	6
5	2	9
6	2	10
7	2	12
8	3	13
9	4	14
10	4	16
11	5	18
12	6	19
13	7	20
14	7	21
15	8	23

6.3. *Bijlage 3 – Excel file*