

Methodenvergleich

Ringversuche bestätigen eine bis anhin nie erreichte Genauigkeit und Konsistenz der Keimzahlbestimmungen

"Es war mir bis dato nicht bewusst, dass wir durch den Einsatz des Serial Diluters eine derart bessere Konstanz bei allen Mitarbeitern in Bezug auf die z-Score Werte erreicht haben!" Diese Aussage machte der Leiter eines ISO / IEC 17025 akkreditierten und GMP-konformen Prüflaboratoriums nach der Begutachtung und Analyse der Ergebnisse von Eignungsprüfungen (Ringversuchen). Die Testergebnisse zeigen eine signifikante Verbesserung der Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Keimzahlbestimmungen mit dem Inlabtec Serial Diluter im Vergleich zur Reagenzglas-Technik. Alle Labor-Team-Mitglieder sind nun in der Lage, mikrobiologische Ergebnisse von höchster Zuverlässigkeit und Qualität zu liefern, unabhängig von Berufserfahrung und manuellen Fähigkeiten.

Einführung

DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditierte Prüflaboratorien müssen regelmässig an Ringversuchen teilnehmen. Damit lassen sich die Qualität der aktuellen Prüfungen sowie die Leistung des Laboratoriums über die Zeit beurteilen. Ein wichtiger Leistungsparameter von Ringversuchen ist der Wert z (z-Score), welcher den Abstand des Messwertes vom Mittelwert in der Anzahl Standardabweichungen angibt:

$$z = (X - \mu) / \sigma$$

Dabei ist z der z-Score, X ist der zu beurteilende Messwert, μ ist der Mittelwert (Referenzwert) und σ ist die Standardabweichung der normalverteilten Messwerte der am Ringversuch beteiligten Laboratorien.

Die Beurteilung des z-Scores basiert auf folgenden Kriterien:

- | z | ≤ 2 akzeptabler Messwert
- 2 < | z | < 3 fragwürdiger Messwert
- | z | ≥ 3 unzureichender Messwert

Die statistische Grundlage dafür ist, dass normalverteilte Analysenergebnisse mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% innerhalb von ± zwei Standardabweichungen liegen und mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,7% innerhalb von ± drei Standardabweichungen.

Für die vorliegenden Resultate wurde zweimal jährlich die Gesamtkeimzahl von Referenzmilchen mittels des Plattengussverfahrens bestimmt. Mindestens drei Labormitarbeiter übermittelten ihre Messwerte an den Testkoordinator. Referenzmilch 1 enthielt zehnmal weniger Keime als Referenzmilch 2. Im Jahr 2014 und 2015 wurden die seriellen Verdünnungen mit vorgefüllten Reagenzgläsern durchgeführt, ab 2016 wurde der Inlabtec Serial Diluter eingesetzt. Beide Verdünnungstechniken entsprechen DIN EN ISO 6887-1* und wurden entsprechend ausgeführt.



Bild 1: Inlabtec Serial Diluter in der Sterilbank des ISO / IEC 17025 akkreditierten und GMP-konformen Prüflabors.

Resultate

Tabelle 1: Resultate der Ringversuche der Jahre 2014 - 2016

Reagenzglaschnik	Referenzmilch 1			Referenzmilch 2		
Ringversuch 1 Mai 2014	Referenzwert: 29'500 KBE			Referenzwert: 310'000 KBE		
	Teilnehmer	Messwert	Z-Score	Teilnehmer	Messwert	Z-Score
	TH	26'590	-0.32	TH	262'727	-0.44
	RS	31'090	0.16	RS	324'545	0.13
	CL	24'000	-0.64	CL	264'545	-0.42
	MJ	20'135	-1.19	MJ	199'090	-1.19
Ringversuch 2 November 2014	Referenzwert: 30'359 KBE			Referenzwert: 281'838 KBE		
	Teilnehmer	Messwert	Z-Score	Teilnehmer	Messwert	Z-Score
	MJ	27'091	-0.43	MJ	228'182	-0.56
	TH	19'909	-1.28	TH	134'545	-1.65
	RS	33'818	0.41	RS	324'091	0.48
	MA	35'682	0.65	MA	296'364	0.16
	FM	27'909	-0.30	FM	302'273	0.25

Reagenzglaschnik	Referenzmilch 1			Referenzmilch 2		
Ringversuch 1 Mai 2015	Referenzwert: 22'109 KBE			Referenzwert: 225'457 KBE		
	Teilnehmer	Messwert	Z-Score	Teilnehmer	Messwert	Z-Score
	MA	19'909	-0.14	MA	195'909	-0.32
	PL	21'955	0.01	PL	235'000	0.11
	MJ	19'136	-0.2	MJ	205'909	-0.22
	TH	23'409	0.12	TH	212'727	-0.15
Ringversuch 2 November 2015	Referenzwert: 24'000 KBE			Referenzwert: 198'000 KBE		
	Teilnehmer	Messwert	Z-Score	Teilnehmer	Messwert	Z-Score
	MJ	23'591	-0.08	MJ	152'273	-0.66
	PL	22'409	-0.23	PL	188'182	-0.18
	TH	25'773	0.18	TH	212'727	0.21
	MA	21'364	-0.37	MA	201'364	0.05

Inlabtec Serial Diluter	Referenzmilch 1			Referenzmilch 2		
Ringversuch 1 Mai 2016	Referenzwert: 16'982 KBE			Referenzwert: 208'929 KBE		
	Teilnehmer	Messwert	Z-Score	Teilnehmer	Messwert	Z-Score
	MA	15'600	-0.07	MA	211'000	0.01
	PL	18'300	0.06	PL	210'000	0.00
	TH	16'500	-0.03	TH	225'000	0.06
	LK	17'400	0.02	LK	225'900	0.07
Ringversuch 2 November 2016	Ref.Messwert: 22'387 KBE			Ref.Messwert: 213'796 KBE		
	Teilnehmer	Messwert	Z-Score	Teilnehmer	Messwert	Z-Score
	PL	22'727	0.01	PL	235'454	0.08
	AA	22'136	-0.01	AA	224'090	0.04
	MA	23'636	0.05	MA	192'726	-0.09

Für die Ringversuche in den Jahren 2014 und 2015 wurde für die Gesamtkeimzahlbestimmungen mit der Reagenzglasstechnik seriell verdünnt (siehe Tabelle 1). Alle Testteilnehmer bestimmten die Gesamtkeimzahlen der Referenzmilch-Proben mit einem z-Score ≤ 1.65 und erfüllten das Kriterium für akzeptable Resultate. Auffällig ist, dass sich die z-Scores gleicher Referenzproben, aber von verschiedenen Teilnehmern bestimmt, in einigen Fällen stark unterscheiden und mit 2.13 Standardabweichungen Differenz fragwürdig sind (siehe Tabelle 1, November 2014, Ringversuch 2, z-Score 0.48/ -1.65).

Die z-Scores der einzelnen Mitarbeiter sind für beide Referenzmilchen mit hoher und tiefer Gesamtkeimzahl jeweils fast gleich, was auf eine Gleichbehandlung der beiden Proben durch den Mitarbeiter schliessen lässt. Die gemessenen Abweichungen zwischen den Mitarbeitern sind also eine systematische Abweichungen auf Grund einer unterschiedlichen Ausführung der Reagenzglasstechnik. Eine Ausnahme ist der Teilnehmer MA, der immer einen relativ hohen Unterschied zwischen den beiden z-Scores der beiden Referenzproben hatte, was auf eine mögliche Variation der Arbeitstechnik mit Reagenzgläsern zwischen den Proben hindeutet (siehe Tabelle 1).

Generell sind die z-Werte im Jahr 2015 besser als im 2014, was auf mehr Erfahrung, Training, und Sensibilisierung der Mitarbeiter auf die Ringversuche hinweist (siehe Tabelle 1, z.B. Teilnehmer TH)

Für die Ringversuche im Jahr 2016 wurde der Inlabtec Serial Diluter verwendet. Die z-Scores aller Testergebnisse sind $\leq 0,09$. Der maximale Unterschied der z-Scores gleicher Referenzproben, aber von verschiedenen Teilnehmern bestimmt, beträgt nur 0.17 (siehe Tabelle 1).

Die z-Scores, die von jedem Teilnehmer für beide Referenzproben eines Ringtests mit dem Serial Diluter erhalten werden, sind in einem identischen Bereich unter 0.1. Alle Ringtest-Teilnehmer haben die Gesamtkeimzahlen gleichermaßen zuverlässig und mit hoher Genauigkeit bestimmt.

Es kann auch keine Trainingsphase zwischen Ringversuch 1 und Ringversuch 2 im Jahr 2016 festgestellt werden. Sämtliche Teilnehmer haben von Anfang an und unabhängig von ihren beruflichen Erfahrungen die Gesamtkeimzahlen mit gleich hoher Genauigkeit bestimmt (siehe Tabelle 1).

Diskussion & Folgerungen

Die Ergebnisse aus den Ringversuchen zeigen eine deutliche Verbesserung der Genauigkeit und der Zuverlässigkeit der Keimzahlbestimmungen mit dem Inlabtec Serial Diluter. Im Vergleich zur herkömmlichen Reagenzglasstechnik automatisiert der Serial Diluter die Probenverdünnung und integriert in einem Schritt die präzise Dosierung und homogenes Mischen. Dadurch werden das Fehlerrisiko sowie die individuellen Unterschiede in der mikrobiologischen Arbeitstechnik minimiert. Dies führt zu einer höheren Genauigkeit sowie zu einer höheren Reproduzierbarkeit der Testresultate zwischen den Labormitarbeitern, wie in Tabelle 1 gezeigt. Eine Angewöhnungsphase an den Serial Diluter mit verminderter Genauigkeit und Zuverlässigkeit konnte nicht festgestellt werden, was die einfache, intuitive Anwendung bestätigt.

Das Laborpersonal kam zu dem Schluss, dass in den Jahren 2014 und 2015 das manuelle Mischen (Vortexen) der Hauptfaktor für die unterschiedlichen Resultate zwischen den Teilnehmern war, da die verwendeten Pipetten und Kulturmedien für die Tests identisch waren. Inhomogene Verdünnungen durch ungenügendes Vortexen ist durch die automatische und hocheffiziente Probenverdünnung mit dem Serial Diluter komplett ausgeschlossen, wie bereits mit dem Methodenvergleich „Inhomogene Verdünnungen sind ein Risiko für korrekte Qualitätsbefunde“ von Inlabtec gezeigt werden konnte.

Mit dem Serial Diluter werden die Keimzahlen von Lebensmitteln von allen Teammitgliedern mit der gleich hohen Präzision und Zuverlässigkeit bestimmt. Sämtliche Mitarbeiter liefern so die analytischen Grundlagen für Befunde von höchster Zuverlässigkeit und Qualität für die Kunden ihres Prüflaboratoriums. Zusätzlich profitiert das ganze Laborteam von einem schnellen und komfortablen Verdünnungsprozess sowie von einer viel einfacheren Arbeitsvorbereitung, da keine Reagenzgläser mehr vorbereitet werden müssen.

Auf Grund dieser Ergebnisse ist die Begeisterung des Testlabors für den Inlabtec Serial Diluter nur allzu verständlich!

Weitere Informationen zum Serial Diluter finden Sie auf www.inlabtec.com oder auf Anfrage über info@inlabtec.com

*: DIN EN ISO 6887-1: Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen - Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen.