

Abschlussbericht der Studie zur Überprüfung der Gleichwertigkeit des Nachweissystems COLIKAT RAPID[®] von XEBIOS zu dem Nachweissystem COLILERT-18[®] von IDEXX

A solid orange square is positioned on the right side of the page, partially overlapping the title text.

Januar 2021

Xebios Diagnostics GmbH

Dr. Ludwig Decker



Bearbeitung

**IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser
Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH**
Moritzstraße 26
45476 Mülheim an der Ruhr
www.iww-online.de

Bernd Lange (Projektleiter)
Telefon: 0208 40303-443
B.Lange@iww-online.de

Janine Wagner
Telefon: 0208 40303-402
J.Wagner@iww-online.de

Xebios Diagnostics GmbH
Tellerlingstraße 49
40597 Düsseldorf
Geschäftsführer Dr. Ludwig Decker
Ludwig.Decker@xebios.de
www.xebios.de

Bearbeitungszeitraum: August 2020 bis Januar 2021

Zur besseren Lesbarkeit wird nicht zwischen weiblichen und männlichen Berufsbezeichnungen unterschieden; es sind immer beide Geschlechter gleichberechtigt angesprochen.

Zusammenfassung

Im Auftrag der XEBIOS DIAGNOSTICS GMBH wurde eine Studie zur Überprüfung der Gleichwertigkeit zweier Testsysteme zum Nachweis von coliformen Bakterien und *E. coli* gemäß EN ISO 9308-2 durchgeführt. Hierbei sollte das neue COLIKAT RAPID® der XEBIOS DIAGNOSTICS GMBH mit dem bereits auf dem Markt etablierten COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® der IDEXX LABORATORIES INC. verglichen werden.

Die Studie, an der 12 nationale sowie internationale Laboratorien teilnahmen, wurde nach den Vorgaben der EN ISO 17994:2014 [5] durchgeführt. Um Proben mit einer geeigneten Konzentration an Zielorganismen (*E. coli*, Coliforme) zu erhalten, wurden überwiegend Trinkwasserproben mit Abläufen von Kläranlagen oder mit Oberflächenwässern angeimpft. Ziel war es, in den zu untersuchenden Wasserproben eine Konzentration von jeweils 10 bis 200 MPN/100 ml der Zielorganismen einzustellen.

Wenn in den beiden Ansätzen aus einer Probe das Ergebnis des COLIKAT RAPID® Ansatzes nicht innerhalb des 95 %-Konfidenzintervalls des COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® Ergebnisses lag, wurden alle positiven Kulturansätze aus den Vertiefungen der Trays aus beiden Tests mit Hilfe des MALDI-TOF-MS-Verfahrens auf falsch positive Nachweise überprüft. Um den enormen Aufwand für diese Bestätigungen einzuschränken, wurde, nachdem sich aufgrund einer ausreichend hohen Probenzahl der Mittelwert der relativen Differenzen zwischen den beiden Verfahren stabilisiert hatte, als Entscheidungskriterium zur Überprüfung nicht mehr das 95%-Konfidenzintervall, sondern das 99 %-Konfidenzintervall verwendet.

Insgesamt wurden im Rahmen der Studie 470 auswertbare Proben parallel mit beiden Verfahren auf coliforme Bakterien und 522 auswertbare Proben auf *E. coli* untersucht.

Wertet man alle auswertbaren Ergebnispaaare (MPN zwischen 1 und 200,5 MPN/100 ml) ohne Berücksichtigung der Ergebnisse der zusätzlichen Überprüfungen mittels MALDI-TOF-MS aus, lagen die Unter- (LO) und Obergrenzen (HI) des „Konfidenzintervalls“ gemäß EN ISO 17994 [5]

für den **Nachweis der coliformen Bakterien** bei

$LO_{\text{Coliforme}} = -1,28 \%$ (Zielbereich: $> -10 \%$ und $< 0 \%$)

$HI_{\text{Coliforme}} = 4,13 \%$ (Zielbereich: $> 0 \%$ und $< 10 \%$)

und für den **Nachweis von *E. coli*** bei

$LO_{\text{E. coli}} = 1,41 \%$ (Zielbereich: $> -10 \%$ und $< 0 \%$)

$HI_{\text{E. coli}} = 9,59 \%$ (Zielbereich: $> 0 \%$ und $< 10 \%$)

Da gemäß EN ISO 17994 [5] zwei Verfahren als gleichwertig eingestuft werden, wenn die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO zwischen -10 % und 0 % liegt und die obere Grenze des „Konfidenzintervalls“ HI zwischen 0 % und 10 %, ist somit der Nachweis erbracht, **dass die beiden Verfahren hinsichtlich des Nachweises von coliformen Bakterien gleichwertig sind.**

Die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO für den Nachweis von *E. coli* ist mit 1,41 % größer als 0 %. Dies bedeutet gemäß EN ISO 17994 [5] Kapitel 7.3.5, dass **mit COLIKAT RAPID® eine signifikant höhere Ausbeute an *E. coli* erzielt wird als mit COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®.**

Auch nach Korrektur der Ergebnisse unter Berücksichtigung der ca. 4.500 Bestätigungstests mit Hilfe der MALDI-TOF-MS-Analysen verändern sich die Ober- und Untergrenzen der Konfidenzintervalle nur wenig.

In diesem Fall liegen die Unter- und Obergrenzen des „Konfidenzintervalls“ für den **Nachweis der coliformen Bakterien** bei

$LO_{\text{Coliforme}} = -1,11 \%$ (Zielbereich: > -10 % und < 0 %)

$HI_{\text{Coliforme}} = 4,17 \%$ (Zielbereich: > 0 % und < 10 %)

und für den **Nachweis von *E. coli*** bei

$LO_{E. coli} = 1,30 \%$ (Zielbereich: > -10 % und < 0 %)

$HI_{E. coli} = 9,53 \%$ (Zielbereich: > 0 % und < 10 %)

An der Aussage hinsichtlich der Gleichwertigkeit der beiden Verfahren ändert sich durch die Überprüfung der positiven Kulturansätze in den Vertiefungen bei den differierenden Ergebnissen in den Probenpaaren nichts. Dies liegt insbesondere an der sehr guten Spezifität der beiden Verfahren.

Auch in dem Fall, dass bei der Auswertung nach EN ISO 17994 [5] nur die Proben berücksichtigt werden, bei denen die Ergebnisse beider Methoden zwischen 10 und 200MPN/100 ml (im statistisch sicheren Bereich) lagen und die Überprüfung der positiven Vertiefungen durch MALDI-TOF berücksichtigt wird, verändern sich die Aussagen hinsichtlich der Gleichwertigkeit der beiden Verfahren nicht. In diesem Fall liegen die Unter- und Obergrenzen des „Konfidenzintervalls“

für den **Nachweis der coliformen Bakterien** bei

$LO_{\text{Coliforme}} = -0,72 \%$ (Zielbereich: $> -10 \%$ und $< 0 \%$)

$HI_{\text{Coliforme}} = 4,36 \%$ (Zielbereich: $> 0 \%$ und $< 10 \%$)

und für den **Nachweis von *E. coli*** bei

$LO_{E. coli} = 1,53 \%$ (Zielbereich: $> -10 \%$ und $< 0 \%$)

$HI_{E. coli} = 7,34 \%$ (Zielbereich: $> 0 \%$ und $< 10 \%$)

Zusammenfassend kann dementsprechend festgestellt werden, dass alle Auswertungen des sehr großen Datensatzes unabhängig von den Kriterien, die man zur Auswahl der Ergebnisspaare heranzieht, die in die Auswertung nach EN ISO 17994 eingehen, zu den Kernaussagen führen, dass die beiden Verfahren hinsichtlich des Nachweises von coliformen Bakterien gleichwertig sind, und dass mit COLIKAT RAPID® eine signifikant höhere Ausbeute an *E. coli* erzielt wird als mit COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®.

Für formale Zwecke gilt im Zweifelsfall das unterschriebene Original, das der Auftraggeber erhalten hat. Sämtliche Daten, die für die Auswertungen heran gezogen wurden, liegen zur Einsicht und Prüfung durch Dritte unter:

<https://owncloud.iwwtech.de/index.php/s/ZYA6XGRWnGMqPay> (Zugriff mit Xebios2021#)

IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser
Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH

Mülheim an der Ruhr, den 06.01.2021

ppa.

i.A.

i.A.


Dr. U. Borchers


B. Lange


J. Wagner

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Auftrag	1
2	Teilnehmende Untersuchungsstellen.....	2
3	Projekttreffen	3
4	Proben	3
5	Studiendurchführung	3
6	Überprüfungen der Bakterienidentität mit MALDI-TOF-MS	5
7	Auswertung	6
7.1	Abkürzungen	6
7.2	Vorgaben gemäß EN ISO 17994	6
7.3	Studienergebnisse ohne MALDI-TOF-MS Überprüfung für alle Proben	7
7.4	Studienergebnisse mit MALDI-TOF-MS Überprüfung für alle Proben	9
7.5	Ergebnisse für Proben mit MALDI-TOF-MS und mit MPN 10 bis 200MPN/ 100 ml	10
7.6	Gleichwertigkeit bei isolierter Betrachtung der einzelnen Labore	12
8	Diskussion	19
9	Literatur	20

1 Einleitung und Auftrag

Die EN ISO 9308-2 [1] (beschreibt ein Verfahren zur Zählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien mit Hilfe eines Verfahrens zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl (most probable number = MPN)).

Bisher wurde das Nährsubstrat dieses Normverfahrens und die dazu gehörigen MPN-Trays als patentiertes Produkt kommerziell ausschließlich durch die IDEXX LABORATORIES INC. angeboten. Deren Patent ist mittlerweile ausgelaufen, so dass es jedem anderen Hersteller oder Laboratorium ebenfalls erlaubt ist, das Testsystem nach EN ISO 9308-2 [1] herzustellen und zu vertreiben.

Die gesetzliche Zulässigkeit der Anwendung von Testsystemen anderer Hersteller bzw. des durch das Anwenderlabor selbst hergestellten Reagenz ergibt sich regelmäßig aus der direkten Bezugnahme nationaler Gesetzgebung auf die EN ISO 9308-2 [1]: In Europa sind die Mitgliedsstaaten aufgrund der Richtlinien 98/83/EG [3] und 2015/1787 EC [4] zur Zulassung der EN ISO 9308-2 [1] in die nationale Gesetzgebung verpflichtet. Für Deutschland ergibt sich die Anwendbarkeit etwa aus §15 (1a) Nr. 1 TrinkwV [2], die direkt auf EN ISO 9308-2 [1] als damit gesetzlich anzuwendende Methode zum Nachweis von coliformen Bakterien und *Escherichia coli* verweist. Das Verfahren darf also gemäß Trinkwasserverordnung (TrinkwV [2]) § 15, Absatz 1a für die Untersuchung von Trinkwasser angewendet werden.

Unter dem Namen „COLIKAT RAPID®“ vertreibt die XEBIOS DIAGNOSTICS GMBH (XEBIOS) ein Nährsubstrat, das nach Angaben des Herstellers ebenfalls der EN ISO 9308-2 [1] entspricht. Daher darf dieses Produkt grundsätzlich ebenfalls für die Untersuchung von Trinkwasser angewendet werden. Die Validierung des genormten Verfahrens ist bei Anwendung der entsprechenden MPN-Trays bereits im Rahmen der Normung erfolgt.

Da beide Produkte und Verfahren den Vorgaben der EN ISO 9308-2 [1] entsprechen, ist der Nachweis der Gleichwertigkeit des von XEBIOS vertriebenen Produkts COLIKAT RAPID® zu dem COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren gemäß §15 Absatz 1b der TrinkwV formal nicht erforderlich.

Um die Erfüllung der Qualitätsanforderungen der EN ISO 9308-2 [1] durch das COLIKAT RAPID® Verfahren zu sichern und um mögliche Zweifel an der Eignung des Nährmediums auszuräumen, entschied sich XEBIOS, dennoch eine internationale Gleichwertigkeitsstudie gemäß EN ISO 17994 [5] durchführen zu lassen. Aus diesem Grund wurde das IWW RHEINISCH-WESTFÄLISCHES INSTITUT FÜR WASSER BERATUNGS- UND ENTWICKLUNGSGESELLSCHAFT MBH (IWW) als

unparteiliches Institut von XEBIOS mit der Durchführung der Studie zur Überprüfung der Gleichwertigkeit des COLIKAT RAPID® Verfahrens mit dem COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren von IDEXX beauftragt. Die Gleichwertigkeitsstudie wurde entsprechend der Vorgaben der EN ISO 17994 [5] "Water quality - Criteria for the establishment of equivalence between microbiological methods" [3] durchgeführt.

2 Teilnehmende Untersuchungsstellen

An der Bearbeitung der vorliegenden Studie haben die folgenden 12 für den Nachweis von *E. coli* und Coliformen für die EN ISO 9308-2 akkreditierte Untersuchungsstellen mitgewirkt:

Tabelle 1: Am Praxisteil der Studie mitwirkende akkreditierte Untersuchungsstellen

Teilnehmende Untersuchungsstelle	Land	Verantwortlicher
1) De Watergroep / Vlaamse Maatschappij voor Watervoorziening CV	Belgien	TOON SCHOEMAKER
2) DREWAG - Stadtwerke Dresden GmbH	Deutschland	RONNY MORGENSTERN
3) Eurofins Umwelt Ost GmbH Jena	Deutschland	ALEXANDRA KELLNER
4) Hamburger Wasserwerke GmbH Hamburg Wasser	Deutschland	THOMAS MEIER
5) Hessenwasser GmbH & Co. KG	Deutschland	STEFFEN SCHNEIDER
6) IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser Beratungs- und Entwicklungsges. mbH	Deutschland	BERND LANGE, JANINE WAGNER
7) Lehr- und Versuchsgesellschaft für innovative Hygienetechnik mbH Institut für angewandte Bau- und Bäderhygiene (LVHT)	Deutschland	MARKUS FUNKE
8) Niedersächsisches Landesgesundheitsamt (NLGA)	Deutschland	KATHRIN LUDEN
9) The National Institute of Public Health Czech Republic	Tschechische Republik	DANA BAUDISOVA
10) RheinEnergie AG Köln	Deutschland	IRIS HÜBNER
11) Westfälische Wasser- und Umweltanalytik GmbH	Deutschland	KIM DIEKERMANN
12) Zweckverband Bodensee-Wasserversorgung	Deutschland	JÜRGEN MEYER

Die Studie wurde unter der Leitung und Koordination des IWW (Projektleiter: DIPL.-BIOL. BERND LANGE (Projektleiter), Mitarbeiterin JANINE WAGNER) durchgeführt. Alle von den einzelnen Untersuchungsstellen übermittelten Ergebnisse wurden von LANGE und WAGNER (IWW Mühlheim) ausgewertet.

Während der Studie standen die Teilnehmer und der Projektkoordinator im ständigen Austausch per Mail.

3 Projekttreffen

Um viele Organisations- und Detailfragen der Studie im Vorfeld zu besprechen, wurde an zwei Terminen ein online-Projekttreffen mit Vertretern aller beteiligten Laboratorien abgehalten.

Auf diesen Treffen wurden die Beschaffenheit und die Herstellung der für die Studie in Frage kommenden Proben, die Datenerfassung und –dokumentation sowie die Datenübermittlung und der zeitliche Umfang der Studie im Detail besprochen und festgelegt.

4 Proben

Obwohl beide Testverfahren überwiegend im Trinkwasserbereich angewendet werden, eignet sich Trinkwasser in der Regel nicht für die Durchführung einer Studie zum Vergleich von Nachweisverfahren für *E. coli* und coliforme Bakterien, da diese Zielorganismen im Normalfall in Trinkwasser nicht nachweisbar sind. Im Rahmen dieser Vergleichsuntersuchung sind daher 670 Trinkwasserproben, 12 Proben aus Oberflächengewässern und 4 Beckenwasserproben überwiegend mit Kläranlagenabläufen oder Oberflächenwasser gespikt (aufgestockt) worden. In diesen Matrices sind die Zielorganismen ausreichend als Mischpopulation vertreten, so dass nicht das Problem einer Animpfung der Proben mit einzelnen Reinkulturen auftrat. In einzelnen Fällen konnten die Originalproben (Oberflächenwasser) ohne Spiken verwendet werden. Bedingt durch die zum Teil großen regionalen Unterschiede der einzelnen Untersuchungsstellen wurden im Rahmen dieser Studie sehr unterschiedliche Wässer untersucht.

5 Studiendurchführung

Die zu untersuchenden Proben wurden in allen beteiligten Laboren mit beiden Produkten gemäß der Vorgaben der EN ISO 9308-2 untersucht.

Ziel war es, die Trinkwasserproben so mit den jeweiligen Zielorganismen anzupflegen, dass die Konzentration an *E. coli* und/oder der coliformen Bakterien zwischen 10 und 200 MPN/100 ml lag.

Falls notwendig, wurden die Kläranlagenabläufe hierzu vorfiltriert. Anschließend wurden Verdünnungsreihen der Kläranlagenabläufe oder der Oberflächengewässer hergestellt und die Konzentration der coliformen Bakterien und die *E. coli* Konzentration bestimmt. Diese Vorversuche wurden aufgrund ihrer allgemeinen Akzeptanz mit QUANTI-TRAY 2000® und COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® von IDEXX durchgeführt.

Auf Basis der so erhaltenen Ergebnisse wurden aus jeder Verunreinigungsquelle bis zu 8 Trinkwasser- oder Beckenwasserproben (jeweils 250 ml) so angeimpft, dass die zu erwartende Konzentration an Zielorganismen zwischen 10 und 200 MPN/100 ml lag. Dadurch bedingt, dass die Konzentrationen an coliformen Bakterien und *E. coli* in natürlichen Wasserproben in der Regel sehr weit auseinander liegen, war es in den meisten Fällen notwendig, die zu vergleichenden Wasserproben mit unterschiedlichen Volumina der Verunreinigungsquelle anzupflegen, um für beide Zielorganismen im angestrebten Konzentrationsbereich zu liegen.

Die Proben wurden intensiv geschüttelt und in 2 x 100 ml Portionen geteilt. Jeweils eine Teilprobe wurde mit COLIKAT RAPID® von XEBIOS und die andere Teilprobe mit COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® von IDEXX angesetzt. Die Proben wurden in die MPN-Trays der jeweiligen Hersteller gegeben, versiegelt und für 20 Stunden bei $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ bebrütet. Sofern die Ergebnisse eines Trays nach 20 Stunden noch nicht eindeutig ablesbar waren, wurden beide Trays dieser Probe für 2 weitere Stunden bebrütet.

Die Auswertung erfolgte gemäß EN ISO 9308-2 [1].

Sofern bei den Ergebnissen der beiden Ansätze aus einer Probe signifikante Unterschiede auftraten, wurden die positiven Vertiefungen beider Ansätze mit Hilfe der MALDI-TOF-MS-Analyse überprüft. Als Entscheidungskriterium dafür, bei welchen Probenpaaren dies der Fall war, diente das 95%-Konfidenzintervall des COLILERT-18®-Ansatzes. Das bedeutet, dass alle positiven Vertiefungen beider Ansätze immer dann überprüft wurden, wenn das Ergebnis des COLIKAT RAPID® Ansatzes außerhalb des 95 %-Konfidenzintervalls des COLILERT-18®-Ansatzes lag. Nachdem sich nach Auswertung einer beträchtlichen Anzahl an Proben die relative Differenz als stabil darstellte, wurde statt der Grenzen des 95 %-Konfidenzintervalls die Grenzen des 99 %-Konfidenzintervalls als Kriterium für die Überprüfung der Ansätze gewählt, um den enormen Untersuchungsaufwand der Bestätigung mittels MALDI-TOF-MS zu reduzieren.

Allen beteiligten Untersuchungsstellen wurden zur Datenerfassung einheitliche Excel-Datenblätter zur Verfügung gestellt, die so konfiguriert waren, dass durch die einzelnen Untersuchungsstellen nur die Zahl der positiven Kulturansätze in den Vertiefungen in die Tabelle einzutragen war. Alle anderen Zellen der Tabelle waren Passwort-geschützt. Die Berechnung der MPN und die Überprüfung, ob die Ergebnisse der Auswertung mittels COLIKAT RAPID® innerhalb des für die COLILERT-18/QUANTI-TRAY®-Methode angegebenen 95 %-Konfidenzintervalls lag, erfolgte durch das Excel-Datenblatt. Das EXCEL-Tabellenblatt wurde unabhängig mit Testdaten validiert.

Bei einer Abweichung von den Grenzen des Konfidenzintervalls wurden beide Trays des jeweiligen Probenpaares dem IWW gekühlt zur Überprüfung der positiven Vertiefungen mittels MALDI-TOF-MS zugeschickt. Die positiven Kulturansätze in den Vertiefungen (gelb oder gelb+fluoreszierend) wurden zuvor mit einem wasserfesten Faserstift (EDDING) auf dem Tray gekennzeichnet, da sich das Ergebnis der Tests im Laufe des Versands verändern kann.

Im IWW wurden aus den positiven Trays zunächst Einzelkolonieausstriche auf chromogenem Coliformen-Agar (gemäß EN ISO 9308-1:2014 [6]) und anschließend auf TSA-Agar angelegt. Diese Isolate wurden dann zur Identifizierung in den MALDI-Biotyper® der BRUKER DALTONIK GMBH (BRUKER) eingesetzt. Insgesamt wurden etwa 4500 Vertiefungen mittels MALDI-TOF-MS überprüft.

Die verwendeten XEBIOS-Materialien, also das COLIKAT RAPID® Reagenz und die zugehörigen Enumeration-Trays-51 wurden den 12 Untersuchungsstellen von XEBIOS zur Verfügung gestellt, so dass alle beteiligten Laboratorien identische Nährmedien aus gleichen Produktionschargen verwendet haben. Alle IDEXX-Materialien wurden von jedem Labor eigenverantwortlich besorgt.

6 Überprüfungen der Bakterienidentität mit MALDI-TOF-MS

Die Identifikation der oben beschriebenen Isolate aus den positiven Trays wurde mit einem MALDI-Biotyper® von BRUKER durchgeführt. Dazu wurde wenig Material einer Einzelkolonie auf einen Spot auf einem Edelmetalltarget (MSP 96 target polished steel BC) oder einem Einmaltarget (MBT Biotarget 96) übertragen. Darauf wurde 1µl Matrix (HCCA, portioned (α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid, # 8255344, BRUKER Daltonik GmbH)) pipettiert.

Nachdem die Proben getrocknet waren, wurde das Target in den MALDI-Biotyper® eingesetzt. Zur Identifizierung wurde auf die BDAL-Datenbank mit über 8000 Einträgen zurückgegriffen. Messtäglich wurde das Gerät vor der ersten Identifikation kalibriert. Dazu wurde der BRUKER

Test Standard (BRUKER Bacterial Test Standard (# 8255343, BRUKER Daltonik GmbH)) verwendet.

7 Auswertung

7.1 Abkürzungen

a_i	Resultat (bestätigte Zählungen) von Verfahren A (COLIKAT RAPID®) in Probe i
b_i	Resultat (bestätigte Zählungen) von Verfahren B (COLILERT-18®) in Probe i
D	die höchst zulässige Abweichung (Grenze des Vertrauensbereichs) im Fall von „kein Unterschied“ zwischen den Verfahren A und B ¹
k	Erweiterungsfaktor, der als Multiplikator der Standardunsicherheit verwendet wird, um die erweiterte Unsicherheit zu erhalten. In der EN ISO 17994 [5] wurde als Erweiterungsfaktor $k = 2$ gewählt.
n	Anzahl der Proben
U	erweiterte Unsicherheit
x	relative Differenz
x_i	Wert der relativen Differenz zwischen a_i und b_i in Probe i

7.2 Vorgaben gemäß EN ISO 17994

Die Datenbasis für den Vergleich zweier quantitativer Verfahren gemäß EN ISO 17994 [5] sind Paare bestätigter Zählungen (a_i , b_i), die durch die Untersuchung von 2 gleich großen Portionen einer sorgfältig gemischten Probe erhalten wurden. Im Rahmen einer Gleichwertigkeitsuntersuchung werden große Zahlen entsprechender Messungen durchgeführt.

Aus den einzelnen „Messpaaren“ berechnet sich der relative Unterschied (x_i) in Prozent nach

$$x_i = \ln(a_i) - \ln(b_i)] * 100\%$$

Aus diesen Werten wird zunächst nach

¹ In der EN ISO 17994 wird vorgeschlagen, dass in internationalen und laborübergreifenden Prüfungen der Leistungsfähigkeit von Verfahren eine Grenze von $D = 10\%$ für das „Konfidenzintervall“ die maximal akzeptable Abweichung für Trinkwasser sein soll.

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

die mittlere relative Differenz und nach

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

die Standardabweichung berechnet.

Die Standardunsicherheit des Mittelwerts errechnet sich aus

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

und ergibt durch Multiplikation mit dem Erweiterungsfaktor $k = 2$ die erweiterte Unsicherheit:

$$W = k * s_{\bar{x}}$$

Zur Bewertung des Vergleichs wird das „Konfidenzintervall“ der erweiterten Unsicherheit um den Mittelwert der relativen Differenzen berechnet. Dieses bewegt sich in den Grenzen:

Untere Grenze: $LO = \bar{x} - W$

Obere Grenze: $HO = \bar{x} + W$

Gemäß EN ISO 17994 [5] werden zwei Verfahren als gleichwertig eingestuft, wenn die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO zwischen –10 % und 0 % und die obere Grenze des „Konfidenzintervalls“ HI zwischen 0 % und 10 % liegt. Das Versuchsverfahren hat eine (signifikant) höhere Ausbeute als das Referenzverfahren, wenn die untere Grenze des Konfidenzintervalls größer als 0 % ist.

7.3 Studienergebnisse ohne MALDI-TOF-MS Überprüfung für alle Proben

Insgesamt wurden im Rahmen der Studie 470 Proben zur Überprüfung der Vergleichbarkeit des COLIKAT RAPID®-Verfahrens von XEBIOS mit dem COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren von IDEXX hinsichtlich des Nachweises von coliformen Bakterien mit den beiden oben genannten Methoden untersucht. Für *E. coli* wurden 522 Proben parallel mit beiden Methoden analysiert. Diese Probenanzahl ist entsprechend den Kriterien der EN ISO 17994 [5] für dieses Testdesign mehr als hinreichend, um statistisch belastbare Aussagen treffen zu können. Unter

Einbeziehung aller Proben ohne Berücksichtigung der Bestätigungsreaktionen ergaben sich folgende mittlere relative Differenzen:

$$\bar{x}_{\text{Coliforme}} = 1,42$$

$$\bar{x}_{E. coli} = 5,50$$

Daraus wurden zunächst die Standardabweichungen berechnet:

$$s_{\text{Coliforme}} = 29,35$$

$$s_{E. coli} = 46,70$$

Danach wurde die Standardunsicherheit des Mittelwertes berechnet:

$$s_{\bar{x}_{\text{Coliforme}}} = 1,35$$

$$s_{\bar{x}_{E. coli}} = 2,04$$

Die Multiplikation der Standardunsicherheit des Mittelwertes mit dem Erweiterungsfaktor $k = 2$ ergab die halbe Breite des Konfidenzintervalls:

$$W_{\text{Coliforme}} = 2,71$$

$$W_{E. coli} = 4,08$$

Zur Überprüfung der Vergleichbarkeit der betreffenden Verfahren wurde das „Konfidenzintervall“ der erweiterten Unsicherheit um den Mittelwert der relativen Differenzen berechnet. Dieses bewegt sich in den Grenzen:

$$\text{Untere Grenze: } LO = \bar{x} - W$$

$$\text{Obere Grenze: } HO = \bar{x} + W$$

Für den Nachweis von coliformen Bakterien wurden folgende Grenzen des „Konfidenzintervalls“ berechnet:

$$LO_{\text{Coliforme}} = -1,28 \%$$

$$HI_{\text{Coliforme}} = 4,13 \%$$

Für den Nachweis von *E. coli* wurden folgende Grenzen des „Konfidenzintervalls“ berechnet:

$$LO_{E. coli} = 1,41 \%$$

$$HI_{E. coli} = 9,59 \%$$

Gemäß EN ISO 17994 [5] werden zwei Verfahren als gleichwertig eingestuft, wenn die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO zwischen -10 % und 0 % liegt und die obere Grenze des

„Konfidenzintervalls“ HI zwischen 0 % und 10 % liegt. **Damit wurde in dieser Studie der Nachweis erbracht, dass das COLIKAT RAPID®-Verfahren von XEBIOS für den Nachweis von coliformen Bakterien gleichwertig zu dem COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren von IDEXX ist.**

Da bei dem Nachweis von *E. coli* die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO mit 1,41 % größer als 0 % ist, **hat das COLIKAT RAPID®-Verfahren von XEBIOS für diesen Zielorganismus sogar eine signifikant höhere Ausbeute als das COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren von IDEXX.**

7.4 Studienergebnisse mit MALDI-TOF-MS Überprüfung für alle Proben

Zusätzlich wurde die Gleichwertigkeit unter Einbeziehung der mittels MALDI-TOF-MS überprüften und korrigierten Probenergebnisse ermittelt. Dabei ergaben sich folgende Berechnungen:

Zunächst wurden die mittlere relativen Differenzen bestimmt:

$$\bar{X}_{\text{Coliforme}} = 1,53$$

$$\bar{X}_{E.coli} = 5,24$$

Daraus wurden zunächst die Standardabweichungen berechnet:

$$S_{\text{Coliforme}} = 28,62$$

$$S_{E.coli} = 46,9$$

Danach wurde die Standardunsicherheit des Mittelwertes berechnet:

$$s_{X_{\text{Coliforme}}} = 1,32$$

$$s_{X_{E.coli}} = 2,06$$

Die Multiplikation der Standardunsicherheit des Mittelwertes mit dem Erweiterungsfaktor $k = 2$ ergab die halbe Breite des Konfidenzintervalls:

$$W_{\text{Coliforme}} = 2,64$$

$$W_{E.coli} = 4,12$$

Zur Überprüfung der Vergleichbarkeit der betreffenden Verfahren wurde das „Konfidenzintervall“ um den Mittelwert berechnet. Dieses bewegt sich in den Grenzen:

Untere Grenze: $LO = \bar{x} - U$

Obere Grenze: $HI = \bar{x} + U$

Für den Nachweis von coliformen Bakterien wurden folgende Grenzen des „Konfidenzintervalls“ berechnet:

$$LO_{\text{Coliforme}} = -1,11 \%$$

$$HI_{\text{Coliforme}} = 4,17 \%$$

Für den Nachweis von *E. coli* wurden folgende Grenzen des Konfidenzintervalls berechnet:

$$LO_{E. coli} = 1,30 \%$$

$$HI_{E. coli} = 9,53 \%$$

Gemäß EN ISO 17994 [5] werden zwei Verfahren als gleichwertig eingestuft, wenn die untere Grenze des Konfidenzintervalls“LO zwischen -10 % und 0 % liegt und die obere Grenze des Konfidenzintervalls HI zwischen 0 % und 10 % liegt. **Damit wurde auch nach der MALDI-TOF-Überprüfung der positiven Vertiefungen der Probenpaare, bei denen bei beiden Verfahren unterschiedliche Ergebnisse auftraten, der Nachweis erbracht, dass das COLIKAT RAPID® Verfahren von XEBIOS für den Nachweis von coliformen Bakterien gleichwertig zu dem COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren von IDEXX ist.**

Da bei dem Nachweis von *E. coli* die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO mit 1,30 % größer als 0 % ist, **hat das COLIKAT RAPID® Verfahren von XEBIOS für diesen Zielorganismus sogar eine signifikant höhere Ausbeute als das Referenzverfahren von IDEXX.**

7.5 Ergebnisse für Proben mit MALDI-TOF-MS und mit MPN 10 bis 200MPN/ 100 ml

Um die Auswertung auf die Proben einzugrenzen, die in einem statistisch verlässlichen Bereich lagen, wurden die Proben, für die die MPN bei beiden Verfahren nicht im geforderten Bereich von 10 bis 200 MPN/ 100 ml lag, für die folgende Berechnung der Gleichwertigkeit ausgeschlossen. Bei den Coliformen gingen in diesem Fall 432 Proben in die Berechnung ein, für *E. coli* wurden 360 Proben analysiert. Unter Berücksichtigung dieser Proben, die auch wieder die Probenergebnisse mit einbeziehen, die mittels MALDI-TOF-MS überprüft wurden, ergaben sich folgende Werte zur Überprüfung der Gleichwertigkeit:

$$\bar{X}_{\text{Coliforme}} = 1,82$$

$$\bar{X}_{E. coli} = 4,44$$

Daraus wurden zunächst wieder die Standardabweichungen berechnet:

$$S_{\text{Coliforme}} = 26,40$$

$$S_{E.\text{coli}} = 27,54$$

Danach wurde die Standardunsicherheit des Mittelwertes berechnet:

$$S_{X_{\text{Coliforme}}} = 1,27$$

$$S_{X_{E.\text{coli}}} = 1,45$$

Die Multiplikation der Standardunsicherheit des Mittelwertes mit dem Erweiterungsfaktor $k = 2$ ergab die halbe Breite des Konfidenzintervalls:

$$W_{\text{Coliforme}} = 2,55$$

$$W_{E.\text{coli}} = 2,90$$

Zur Überprüfung der Vergleichbarkeit der betreffenden Verfahren wurde das Konfidenzintervall der erweiterten Unsicherheit um den Mittelwert der relativen Differenzen berechnet. Dieses bewegt sich in den Grenzen:

$$\text{Untere Grenze: } LO = \bar{x} - W$$

$$\text{Obere Grenze: } HO = \bar{x} + W$$

Für den Nachweis von coliformen Bakterien wurden folgende Grenzen des „Konfidenzintervalls“ berechnet:

$$LO_{\text{Coliforme}} = -0,72 \%$$

$$HI_{\text{Coliforme}} = 4,36 \%$$

Für den Nachweis von *E. coli* wurden folgende Grenzen des „Konfidenzintervalls“ berechnet:

$$LO_{E.\text{coli}} = 1,53 \%$$

$$HI_{E.\text{coli}} = 7,34 \%$$

Gemäß EN ISO 17994 [5] werden zwei Verfahren als gleichwertig eingestuft, wenn die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO zwischen -10 % und 0 % liegt und die obere Grenze des „Konfidenzintervalls“ HI zwischen 0 % und 10 % liegt. **Damit wurde in dieser Studie der Nachweis erbracht, dass auch ohne Berücksichtigung der Proben, die nicht im geforderten MPN-Bereich lagen, das COLIKAT RAPID[®]-Verfahren von XEBIOS für den Nachweis von coliformen Bakterien gleichwertig zu dem COLILERT-18[®]/QUANTI-TRAY[®]-Verfahren von IDEXX ist.**

Darüber hinaus war beim Nachweis von *E. coli* die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ LO größer als 0 %. Das bedeutet, dass unter den geforderten Bedingungen der Studie **das COLIKAT RAPID®-Verfahren von XEBIOS für diesen Zielorganismus sogar eine signifikant höhere Ausbeute hatte als das Referenzverfahren von IDEXX.**

Bezieht man die Proben in die Bewertung der Gleichwertigkeit mit ein, deren MPN bei 200,5 MPN/100 ml und somit dem oberen Zählbereich der Verfahren entsprachen, **ergab sich für den Nachweis der coliformen Bakterien eine Gleichwertigkeit des COLIKAT RAPID Verfahrens von XEBIOS zu dem COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®-Verfahren von IDEXX.** Die untere Grenze des „Konfidenzintervalls“ lag in diesem Fall bei – 1,54 %, die obere Grenze bei 3,47 %. **Für *E. coli* zeigte sich eine signifikant höhere Ausbeute mit dem COLIKAT RAPID® Verfahren von XEBIOS gegenüber dem Referenzverfahren von IDEXX.** Die höhere Grenze des Konfidenzintervalls war mit 1,40 % größer 0 %. Insgesamt wurden 468 Proben für den Nachweis von Coliformen berücksichtigt und 362 für den Nachweis von *E. coli*.

7.6 Gleichwertigkeit bei isolierter Betrachtung der einzelnen Labore

In den **Tabellen 2 bis 5** sind die Ergebnisse der Überprüfung der Gleichwertigkeit für die 12 teilnehmenden Labore im Einzelnen dargestellt. **Tabelle 2 und 3** bilden die Gleichwertigkeit unter Berücksichtigung aller Proben - auch derer, die nicht in dem geforderten Konzentrationsbereich lagen - ohne Überprüfung mittels MADLI-TOF ab. Laut EN ISO 17994 [5] müssen mindestens 6 Untersuchungsstellen an einer solchen Studie teilnehmen. Hier waren es insgesamt 12 Untersuchungsstellen. Insgesamt wurden auch deutlich mehr Probenpaare in die Auswertung genommen als es gemäß EN ISO 17994 [5] notwendig gewesen wäre. Dadurch konnte die statistische Aussagekraft und Belastbarkeit der Berechnungen deutlich gesteigert werden.

Bei einem Großteil der Studienteilnehmer war die Gleichwertigkeit der Verfahren nicht abschließend zu bewerten, da die Anzahl der Proben in nur einem Labor nicht ausreichend für eine fundierte Aussage zur Gleichwertigkeit war. Dies ist allerdings im Rahmen einer Gleichwertigkeitsstudie nach EN ISO 17994 [5] auch nicht zu erwarten, da eine abgesicherte statistische Aussage in der Regel erst durch die parallele Untersuchung einer hohen Anzahl an Wasserproben zustande kommt. Nur die Auswertung aller Proben aller Untersuchungsstellen ist im Sinne der EN ISO 17994 [5] vorgesehen und sinnvoll.

Das gilt sowohl für den Nachweis von coliformen Bakterien als auch für den Nachweis von *E. coli*. Für coliforme Bakterien waren bei einem Labor beide Verfahren gleichwertig und bei einem Labor die Wiederfindung mit dem COLIKAT RAPID®-Verfahren von XEBIOS höher. Für den

Nachweis von *E. coli* waren die Ergebnisse bei zwei von zwölf teilnehmenden Laboratorien gleichwertig. Bei zehn Laboratorien war das Ergebnis nicht schlüssig, da die Anzahl der Proben bei einzelner Betrachtung der jeweiligen Laboratorien nicht ausreichte, um abschließend die Gleichwertigkeit zu bewerten.

Die Überprüfung der Gleichwertigkeit unter Berücksichtigung der mittels MALDI-TOF-MS überprüften Probenergebnisse für die einzelnen Labore ist in den **Tabellen 4 und 5** dargestellt. Auch unter Einbeziehung der überprüften Proben konnte größtenteils die Gleichwertigkeit aufgrund der oben geschilderten Restriktion nicht abschließend bewertet werden. Für coliforme Bakterien waren bei drei Laboren die verglichenen Verfahren gleichwertig und für ein Labor wurde unter Anwendung des COLIKAT RAPID®-Verfahrens eine signifikant höhere Ausbeute erzielt. Für den Nachweis von *E. coli* waren die Ergebnisse bei zwei von zwölf teilnehmenden Laboratorien gleichwertig. Bei zehn Laboratorien war das Ergebnis auf Grund der zu geringen Probenanzahl nicht schlüssig.

Tabelle 2: Gleichwertigkeit der Methoden für den Nachweis coliformer Bakterien bei einzelner Betrachtung der Labore ohne Überprüfung der Probenergebnisse mit Hilfe von MALDI-TOF-MS (Die Benennung der Labore erfolgt anonym und ist nicht mit Tabelle 1 vergleichbar)

<i>Coliforme Bakterien</i>	Anzahl Proben	Mittelwert x	Standardabweichung s	Standard- Unsicherheit Sx	Halbe Breite des Konfidenzintervalls W	<u>Konfidenzintervall</u> LO	<u>Konfidenzintervall</u> HI
Labor A	42	-6,24	26,82	5,59	11,19	-17,42	4,95
Labor B	40	4,46	27,35	4,32	8,65	-4,19	13,11
Labor C	42	-8,52	31,88	4,92	9,84	-18,36	1,32
Labor D	32	11,07	41,41	7,32	14,64	-3,58	25,71
Labor E	34	-1,98	27,60	4,73	9,47	-11,45	7,48
Labor F	34	9,28	26,39	5,63	11,25	-1,97	20,54
Labor G	37	-1,15	39,13	6,43	12,87	-14,01	11,72
Labor H	23	6,72	19,44	4,05	8,11	-1,39	14,83
Labor I	45	-2,96	22,62	3,37	6,74	-9,71	3,78
Labor J	37	11,75	30,72	5,05	10,10	1,65	21,85
Labor K	56	1,03	25,27	3,38	6,75	-5,72	7,79
Labor L	40	-3,34	24,53	3,88	7,76	-11,10	4,42

Tabelle 3: Gleichwertigkeit der Methoden für den Nachweis von *E. coli* bei einzelner Betrachtung der Labore ohne Überprüfung der Probenergebnisse mit Hilfe von MALDI-TOF-MS (Die Benennung der Labore erfolgt anonym und ist nicht mit Tabelle 1 vergleichbar)

<i>E. coli</i>	Anzahl der Proben	Mittelwert $\bar{x}$	Standardabweichung s	Standard- Unsicherheit S_x	Halbe Breite des Konfidenzintervalls W	<u>Konfidenzintervall</u> LO	<u>Konfidenzintervall</u> HI
Labor A	48	-4,88	42,61	8,88	17,77	-22,65	12,89
Labor B	40	13,24	50,57	8,00	15,99	-2,75	29,23
Labor C	64	13,70	65,22	8,15	16,30	-2,60	30,00
Labor D	35	9,42	71,36	12,06	24,12	-14,70	33,54
Labor E	48	11,76	49,15	7,09	14,19	-2,43	25,95
Labor F	35	13,28	36,84	7,85	15,71	-2,43	28,99
Labor G	35	9,42	53,45	9,04	18,07	-8,65	27,49
Labor H	24	-1,91	19,87	4,06	8,11	-10,02	6,20
Labor I	48	3,19	41,52	5,99	11,99	-8,80	15,18
Labor J	43	1,31	25,57	3,90	7,80	-6,49	9,11
Labor K	56	-3,09	40,84	5,46	10,91	-14,00	7,83
Labor L	58	1,11	30,81	4,04	8,09	-6,98	9,20

Tabelle 4: Gleichwertigkeit der Methoden für den Nachweis von coliformen Bakterien bei einzelner Betrachtung der Labore mit Überprüfung der Probenergebnisse mit Hilfe von MALDI-TOF-MS (Die Benennung der Labore erfolgt anonym und ist nicht mit Tabelle 1 vergleichbar)

<i>Coliforme Bakterien</i>	Anzahl der Proben	Mittelwert $\bar{x}$	Standardabweichung s	Standard- Unsicherheit S_x	Halbe Breite des Konfidenzintervalls W	<u>Konfidenzintervall</u> LO	<u>Konfidenzintervall</u> HI
Labor A	42	-6,53	26,92	5,87	11,75	-18,28	5,22
Labor B	40	5,84	25,89	4,09	8,19	-2,34	14,03
Labor C	42	-8,59	32,57	5,03	10,05	-18,65	1,46
Labor D	32	11,07	41,41	7,32	14,64	-3,58	25,71
Labor E	35	-0,62	27,70	4,68	9,37	-9,98	8,75
Labor F	34	10,17	24,00	5,12	10,23	-0,06	20,40
Labor G	37	0,72	37,23	6,12	12,24	-11,52	12,96
Labor H	30	6,44	18,63	3,80	7,61	-1,17	14,05
Labor I	45	-2,96	22,62	3,37	6,74	-9,71	3,78
Labor J	37	10,15	28,33	4,66	9,31	0,84	19,46
Labor K	56	0,70	24,13	3,22	6,45	-5,75	7,15
Labor L	40	-3,34	24,53	3,88	7,76	-11,10	4,42

Tabelle 5: Gleichwertigkeit der Methoden für den Nachweis von *E.coli* bei einzelner Betrachtung der Labore mit Überprüfung der Probenergebnisse mit Hilfe von MALDI-TOF-MS (Die Benennung der Labore erfolgt anonym und ist nicht mit Tabelle 1 vergleichbar)

<i>E. coli</i>	Anzahl der Proben	Mittelwert $\bar{x}$	Standardabweichung s	Standard- Unsicherheit S_x	Halbe Breite des Konfidenzintervalls W	Konfidenzintervall LO	Konfidenzintervall HI
Labor A	48	-4,90	42,48	8,86	17,72	-22,62	12,81
Labor B	40	13,24	50,57	8,00	15,99	-2,75	29,23
Labor C	64	13,13	65,46	8,18	16,37	-3,23	29,50
Labor D	35	10,80	72,60	12,27	24,54	-13,74	35,34
Labor E	40	8,14	43,96	6,95	13,90	-5,76	22,04
Labor F	35	13,00	34,50	7,35	14,71	-1,71	27,71
Labor G	35	9,94	53,57	9,06	18,11	-8,17	28,05
Labor H	30	-1,91	21,31	4,35	8,70	-10,61	6,79
Labor I	48	3,47	41,91	11,20	22,40	-18,93	25,87
Labor J	43	1,18	25,31	3,86	7,72	-6,54	8,90
Labor K	56	-2,62	41,22	5,51	11,02	-13,64	8,40
Labor L	58	1,31	30,61	4,02	8,04	-6,73	9,35

8 Diskussion

In Rahmen dieser Studie wurde die Gleichwertigkeit des COLIKAT RAPID® Testsystems von XEBIOS im direkten Vergleich zu COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® von IDEXX zum Nachweis von coliformen Bakterien und *E. coli* überprüft. Dazu wurden von zwölf Laboratorien insgesamt 470 Proben für Coliforme und 522 Proben für *E. coli* mit beiden Verfahren analysiert. Lagen die Probenergebnisse des COLIKAT RAPID® von XEBIOS nicht innerhalb des 95 % bzw. 99%-Konfidenzintervalls des mittels COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® erzielten Ergebnisses, wurden alle positiven Kulturansätze aus den Vertiefungen der Trays beider Verfahren mittels MADLI-TOF-MS überprüft, um eventuell falsch positive Ergebnisse zu erfassen und die MPN-Zahl der entsprechenden Proben zu korrigieren. Die Zahl der überprüften Vertiefungen lag in etwa bei 4500.

Es wurde eindeutig gezeigt, dass das Nachweisverfahren COLIKAT RAPID® von XEBIOS für coliforme Bakterien gleichwertig zu dem Nachweisverfahren COLILERT-18®/QUANTI-TRAY® von IDEXX ist. Für *E. coli* wurde darüber hinaus im Vergleich zum Referenzverfahren von IDEXX eine signifikant höhere Ausbeute mit dem COLIKAT RAPID® erzielt.

An dieser Aussage änderte sich auch bei Anwendung verschiedener Kriterien zur Auswertung der Daten nichts. Bezog man alle Werte in die Überprüfung der Gleichwertigkeit mit ein, d.h. auch die Probenergebnisse, die nicht im statistisch sicheren Bereich von 10 bis 200 MPN/ml lagen, waren die Ergebnisse vergleichbar mit denen, bei denen nur die Proben berücksichtigt wurden, die im gewünschten Konzentrationsbereich lagen. Auch nach Überprüfung der Probenergebnisse, die nicht innerhalb des Konfidenzintervalls des Referenzverfahrens (COLILERT-18®/QUANTI-TRAY®) lagen, und entsprechender Korrektur der MPN-Konzentrationen, ergaben sich für beide Zielorganismen nahezu identische Werte für die Grenzen des „Konfidenzintervalls“.

Betrachtete man die Gleichwertigkeit für jedes an der Studie teilnehmende Labor einzeln, war größtenteils keine Aussage zu der Gleichwertigkeit der Verfahren zu treffen. Grund dafür war die für eine Ableitung statistisch aussagefähiger Resultate bei den meisten teilnehmenden Laboren für sich genommen zu geringe Probenanzahl. Dieser Effekt ist innerhalb eines solchen Testdesigns unvermeidlich. Fasste man jedoch so wie es die EN ISO 17994 [5] vorsieht alle Probenergebnisse zu einem großen Datensatz zusammen, konnte die Gleichwertigkeit zuverlässig überprüft und bewertet werden. Dieser Effekt ist bei Anwendung der EN ISO 17994 [5] zur Überprüfung der Gleichwertigkeit zweier kultureller Verfahren zu erwarten.

- [1] EN ISO 9308-2 (2014-06): Wasserbeschaffenheit - Zählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien - Teil 2: Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl
- [2] Verordnung zur Neuordnung trinkwasserrechtlicher Vorschriften vom 3. Januar 2018 (4. Änderungsverordnung zur TrinkwV). Bundesgesetzblatt, Teil I, 2018-01 (2): S. 99-114
- [3] Richtlinie 98/83/EG des Rates vom 3. November 1998 über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch." Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften 05.12.1998(L 330): 32-54.
- [4] "Richtlinie (EU) 2015/1787 der Kommission vom 6. Oktober 2015 zur Änderung der Anhänge II und III der Richtlinie 98/83/EG des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch." Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften(L 260): 6-17
- [5] EN ISO 17994:2014Wasserbeschaffenheit – Anforderungen für den Vergleich der relativen Wiederfindung von Mikroorganismen durch zwei quantitative Verfahren. (ISO 17994:2014); Deutsche Fassung EN ISO 17994:2014
- [6] Wasserbeschaffenheit - Zählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien - Teil 1: Membranfiltrationsverfahren für Wässer mit niedriger Begleitflora (ISO 9308-1:2014 ; Deutsche Fassung EN ISO 9308-1:2014 + A1:2017EN ISO 9308-1 [6])