

# Umgang mit Bestimmungsunsicherheiten in der Mikrobiologie

In der Mikrobiologie werden im Gegensatz zur chemischen Analytik nicht Teile in Molekül- oder Atom-Grösse gemessen sondern viel grössere Partikel, nämlich Lebewesen, einzelne Zellen. Bei den klassischen Kultivierungsmethoden, die genormt und häufig angewendet werden, haben diese Lebewesen sogar die Eigenschaft, dass sie sich vermehren können. Diese «Teile», um die es bei der Analytik in der Mikrobiologie geht, verhalten sich grundlegend anders als bei chemischen Messverfahren. Deshalb müssen die Resultate auch anders interpretiert bzw. statistisch angegangen werden.

## Molekülkonzentrationen in der Chemie

Bei chemischen Messmethoden werden in der Regel Elemente oder Moleküle gemessen, deren Resultat in mg/L angegeben werden. Dabei handelt es sich konkret um eine unvorstellbar hohe Zahl an Teilchen, also z.B. bei einem Resultat von Calcium im Trinkwasser von 80 mg/L wären das  $1.2 \times 10^{21}$  Teilchen. Das sind so viele Teilchen, dass man die Zahl nicht vernünftig ausschreiben kann und sie mit Hilfe der Zehnerpotenz angeben muss. Wenn bei einem Messverfahren nicht die genaue Anzahl Teilchen ermittelt werden kann und z.B. 10 Teilchen mehr oder weniger dazu gezählt würden, wäre das nicht «spürbar».

## Zählbar wenige Kolonien

Bei den mikrobiologischen Kultivierungsmethoden hingegen handelt es sich um einzelne Teilchen, einzelne Lebewesen, die sich vermehren können und deshalb Kolonien bilden. Die Masseinheit lautet deshalb Kolonie-bildende Einheiten (KBE) pro untersuchtem Volumen. Bei der Ermittlung eines Resultats von mikrobiologischen Kultivierungsmethoden werden sehr oft die

entstandenen Kolonien von Auge gezählt, also mittels einfacher «Handarbeit» anstatt mittels technisch komplexem Detektor.

## Zufallsverteilung

Wie sich diese wenigen Teilchen in einem Volumen Wasser verhalten können, ist in einer Skizze unten auf dieser Seite veranschaulicht: Sie zeigt 30 einzelne, vermehrungsfähigen Bakterien – z.B. *Escherichia coli* – zufällig verteilt in einem Liter Wasser. Wenn man nun eine Wasserprobe mit 100 mL Volumen aus diesem Liter entnehmen würde, und es würde sich zufällig um die erste Probe von links in der Skizze handeln, dann hätte man nach erfolgter Analyse ein Resultat für *E. coli* von 7 KBE/100 mL. Bei der 2. Probe von links wäre es 1 KBE/100 mL, bei der 3. Probe 0, dann wieder 7 usw. Diese unterschiedlichen Resultate von mehreren Stichproben aus dem gleichen Wasserkörper würden nur allein durch die Zufallsverteilung zustande kommen. Diese Unterschiede haben nichts mit einem Fehler bei der Messung zu tun.

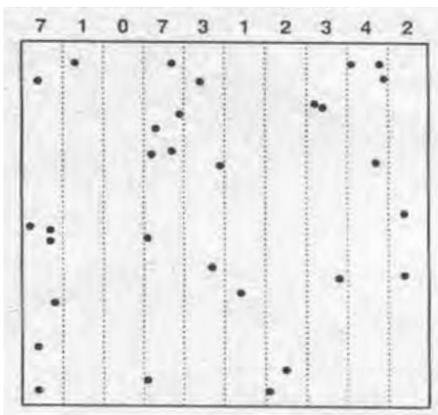
Das Probenaliquot mit dem Resultat 0 kommt in diesem Beispiel nur einmal vor. Man würde also mit einer relativ kleinen Wahrscheinlichkeit (10%) dieses Aliquot mit 0 *E. coli* «erwischen». Bei allen anderen Proben wäre die Interpretation «Nachgewiesen in 100 mL», womit die gesetzlichen Anforderungen an Trinkwasser gemäss TBDV nicht erfüllt wären.

Diese Zufallsverteilung der wenigen Bakterien in einer Wasserprobe wird in der Statistik mit der **Poisson-Verteilung** beschrieben (benannt nach dem französischen Physiker und Mathematiker S.D. Poisson). Gemäss dieser Formel müsste ein Resultat von 0 oder «n.n. – nicht nachweisbar» in 100 mL 3 mal parallel bestätigt sein, um mit näherungsweise 100%iger Sicherheit sagen zu können, dass auch in der ersten Probe der Wert «n.n.» korrekt ist. Diese Unsicherheit ist gemäss Gesetzgebung (TBDV) bereits im Höchstwert mitberücksichtigt.

Dennoch verleiten die numerischen Werte eines mikrobiologischen Resultats manchmal zu spontanen Fehlinterpretationen, wenn die eine Zahl etwas höher ist als die andere. Bei Vergleichen von Resultaten von Wasserproben aus einem System oder im Rahmen einer Zeitreihe muss man sich bei tiefen Werten diese Gesetzmässigkeit der Poissonverteilung bewusst machen, um keine falschen Schlüsse zu ziehen.

Die Tabelle rechts enthält Kommentare zur Richtigkeit eines Resultates bzw. zu einer möglichen Variation unter Berücksichtigung der Poisson-Verteilung.

Interpretationshilfen zu mikrobiologischen Resultaten in KBE pro Volumen	
Resultat	Kommentar zur Richtigkeit des Wertes bzw. mögliche Variation des Resultats
0 oder n.n.	Mit 3 parallelen Untersuchungen und 3 Resultaten mit «0» wäre der «wahre» Wert mit praktisch 100%iger Sicherheit auch 0, bzw. n.n. im untersuchten Volumen.
1	Mit gleicher Wahrscheinlichkeit könnte das Resultat auch 0 oder 2 sein; und ein kleines bisschen weniger wahrscheinlich auch 3.
2	Mit gleicher Wahrscheinlichkeit könnte das Resultat auch 1 oder 3 sein und ein kleines bisschen weniger wahrscheinlich auch 0 oder 4.
3	Mit gleicher Wahrscheinlichkeit könnte das Resultat auch 1 oder 2 sein und ein kleines bisschen weniger wahrscheinlich auch 4, 5, 6 oder 0.
4-10	Das Resultat könnte genauso gut um den Faktor 2 bis 1.5 variieren.
10-30	Das Resultat könnte genauso gut um den Faktor 1.5 bis 0.2 variieren.
30-300	Idealer Bereich beim Plattengussverfahren, um Kolonien zu zählen. Wenn das Resultat in diesem Bereich liegt, ist es aufgrund der Zufallsverteilung mit hoher Wahrscheinlichkeit richtig bzw. die Variation liegt bei nur etwa 30%.
>300	Bei Koloniezahlen grösser als 300 muss eine Probe verdünnt werden, womit das untersuchte Volumen kleiner wird. Durch die Verdünnung entsteht ein zusätzlicher Unsicherheitsbeitrag durch den Arbeitsschritt, womit die Bestimmungsunsicherheit wieder grösser wird als im Idealen Quantifizierungsbereich von 30-300.



Skizze mit 30 zufällig verteilten Bakterien in einem Liter Wasser, aus dem 10 Proben à je 100 mL entnommen werden.

Nach H.E. Tillet und N.F. Lightfoot (1995) "Quality control in environmental microbiology compared with chemistry: what is homogenous and what is random." *Water science and technology* 31 (5-6): 471-477.

