



## KANTİTATİF MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERDE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ HESAPLANMASINDA FARKLI YAKLAŞIMLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

**Nuray Gamze Yörük\***

Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Birimi, Kocaeli, Türkiye

Geliş / Received: 06.02.2021; Kabul / Accepted: 24.04.2021; Online baskı / Published online: 05.05.2021

Yörük, N. G. (2021). Kantitatif mikrobiyolojik analizlerde ölçüm belirsizliği hesaplanmasında farklı yaklaşımların karşılaştırılması. *GIDA* (2021) 46 (3) 707-725 doi: 10.15237/gida. GD21033.

Yörük, N. G. (2021). Comparison of various approaches in calculation of measurement uncertainty in quantitative microbiological analysis. *GIDA* (2021) 46 (3) 707-725 doi: 10.15237/gida. GD21033.

### ÖZ

TS EN ISO/IEC 17025:2017 standardı ile akreditasyon kapsamındaki laboratuvarlar, sonuçlarının güvenilirliğini ortaya koyabilmek için analiz süresince ölçüm sonucuna yansıma etkisi bulunan tüm değişkenlerin (matris, donanım, vb) dağılımlarını karakterize ederek, ölçümün sonucuyla bağlantılı olan parametreler olarak tanımlanan kantitatif analizlerinde akreditasyonun bir parçası olan ölçüm belirsizliği hesaplamalarını değişik metotlarla gerçekleştirmektedirler. Araştırma, ölçüm sonuçlarına etki ederek değişikliklere neden olan tüm değişkenlerin kullanılmasıyla ortaya çıkan ölçüm belirsizliklerinin farklı yöntemlerle hesaplanmasını içermektedir. Bu çalışmada, sütlerde ISO 4833-1 standardına göre toplam mezofilik aerobik mikroorganizma, yemeklerde ISO 7932 metodu ile *Bacillus cereus*, peynirlerde ise ISO 16649-2 standardı ile *Escherichia coli* analizleri çalışılmıştır. Tüm veriler, International Organization of Standardization (ISO) standardı, NordVal International (NMKL) No.8 yöntemi ve EuroLab Teknik Prosedürüne (EuroLab) göre log<sub>10</sub> tabanına çevrilerek istatistiki olarak değerlendirilmiştir. ISO/TS 19036 metoduna ait belirsizliklerin EuroLab Teknik Prosedürüne göre anlamlı ( $P < 0.05$ ) ISO/TS 19036 standardı ve EuroLab Teknik Prosedürünün ise NMKL No.8 yöntemine göre daha hassas belirsizlik verdikleri ortaya konulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Mikrobiyolojik analiz, ölçüm belirsizliği, ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü, NMKL No. 8

## COMPARISON OF VARIOUS APPROACHES IN CALCULATION OF MEASUREMENT UNCERTAINTY IN QUANTITATIVE MICROBIOLOGICAL ANALYSIS

### ABSTRACT

Laboratories accredited with TS EN ISO/IEC 17025:2017 standard characterize distribution of all variables (matrix, hardware, etc.) that have reflection effects on measurement results throughout analysis and use different methods to conduct measurement uncertainty calculations as a part of accreditation in quantitative analysis defined as parameters linked to measurement result. The study involves calculation using various methods of measurement uncertainties that emerge from using all variables that cause changes by effecting measurement results. In this study, total mesophilic aerobic microorganisms were studied in milk according to ISO 4833-1 standards, ISO 7932 method was used

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: nuraygamzeyoruk@gmail.com

☎: (+90) 505 350 5425

☎: (+90) 262 312 1065

Nuray Gamze Yörük; ORCID no; 0000-0003-0867-4141

in food to study *Bacillus cereus*, while in cheese ISO 16649-2 standard was used to study *Escherichia coli* analysis. All data were converted to base  $\log_{10}$  and statistically assessed using International Organization of Standardization (ISO) standard, NordVal International (NMKL) No.8 method and EuroLab Technical Procedure. It was established that uncertainties under ISO/TS 19036 method were creating more significant uncertainties ( $P < 0.05$ ) while ISO/TS 19036 standard and EuroLab Technical Procedure were resulting in more sensitive uncertainties compared to NMKL No.8 method.

**Keywords:** Microbiological analysis, measurement uncertainty, ISO 19036, EuroLab Technical Procedure, NMKL No. 8

## GİRİŞ

Evrensel düzende gıda canlılar için temel bir ihtiyaç olmakla beraber zamanla sağlık açısından bir tehdit unsuru da olmaya başlamıştır. Bu durum ne yazık ki günümüze kadar artan düzeylerde çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenler nedeni ile meydana gelmiş, artan popülasyonla beraber teknoloji çağının getirdiği yeniliklerin olumlu yönde kullanılmaması bu tür risk unsurlarının artışına kimi zaman olumsuz yönde katkıda bulunmuştur. Gıda güvenliği ve halk sağlığı bir bütün olarak ele alındığında, canlıların vazgeçilemez temel yaşam kaynağı olan gıdalarda denetim ve analiz ilişkisine dayalı kontrol mekanizmalarının daha sağlam, güvenilir ve doğru işletilmesinin gerekliliğinin önemi ortaya çıkmaktadır. Özellikle gıdalarda mikrobiyolojik analizleri gerçekleştiren laboratuvarların ise tüm analizlerinde akreditasyon kriterleri doğrultusunda yöntemlerini belirleyerek ulusal ve uluslararası platformlarda analiz sonuçlarını geçerli kıldıklarını göstermelerinin gerekliliği her geçen gün daha da artmaktadır. Çünkü, gıda kaynaklı enfeksiyon ve/veya intoksikasyonların temelinde mikrobiyel etkenler rol oynamaktadır. Bu sebeple gıda analizlerinin ulusal ve/veya uluslararası standartları esas alınarak gerçekleştirilmesi gerek halk sağlığı gerek ürün güvenliği noktalarında fayda sağlayacak, uluslararası boyutta gerçekleştirilmesi planlanan ticari anlaşmalara bile olumlu etkileri zamanla daha fazla yansıyacaktır. Gıda analizlerini TS EN ISO/IEC 17025: 2017 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yetkinliği için Genel Gereklilikler” standardı ile gerçekleştiren akredite laboratuvarlar standardın tüm gerekliliklerini yerine getirmek durumundadırlar. Diğer bir deyişle, bu standardın 7.2 Metotların Seçilmesi, Doğrulanması ve Geçerli Kılınması maddesinde, laboratuvarın analizleri için kullandığı metotlarını

uygun bir şekilde geçerli kıldığını veya doğruladığını göstermesinin laboratuvarlar tarafından sağlanması gereken bir akreditasyon şartı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, bir ölçümün kalitesinin, laboratuvar tarafından analize ilişkin metodun geçerli kılınması/doğrulanması, ölçüm belirsizliğinin tahmini, izlenebilirliğin sağlanması ile ortaya konulmasının gerekliliği ve kalite kontrol çalışmaları ile devamlılığının sağlanması gerektiği de belirtilmiştir (TÜRKAK, 2019). ISO 17025 standardına göre bir metodun geçerli kılınması, belirlenen gerekliliklerin amaçlanan kullanım için yeterli olduğu durumlarda yapılan doğrulama olarak tanımlanırken; doğrulamanın ise belirli bir ögenin belirlenmiş gereklilikleri karşıladığına dair nesnel kanıt sağlaması şeklinde ifade edilmektedir (ISO, 2017; TÜRKAK, 2019). Laboratuvar analiz sonuçlarının geçerli kılınması için öncelikle ölçüm doğruluğunu yani elde ettiği sonuç ile gerçek değer arasındaki ilişkiyi ortaya koymalıdır (Forster, 2003; ISO, 2017a, TÜRKAK, 2019). Bu şekilde ölçümlerin doğruluğu hesaplanırken, doğruluğun 2 unsuru olan gerçeklik ve kesinlik göz önünde bulundurulurken; kesinlikte ise tekrarlanabilirlik ( $s_r$ ), ara kesinlik ve tekrarüretilebilirlik ( $S_R$ ) sonuçları hesaba katılmaktadır (ISO, 2017b; TÜRKAK, 2019; Yılmaz vd., 2019; ISO, 2021). Bunun bir faydası ölçüm belirsizliğine etki eden tüm risklerin ortaya konulmasıdır (Dereani ve Sarić, 2010).

Gıda analizlerini TS EN ISO/IEC 17025: 2017 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yetkinliği için Genel Gereklilikler” standardı ile gerçekleştiren akredite laboratuvarlar standardın tüm gerekliliklerini yerine getirmek durumundadırlar. Diğer bir deyişle, bu standardın 7.2 Metotların Seçilmesi, Doğrulanması ve Geçerli Kılınması maddesinde, laboratuvarın analizleri için kullandığı metotlarını uygun bir

şekilde geçerli kıldığını veya doğruladığını göstermesinin laboratuvarlar tarafından sağlanması gereken bir akreditasyon şartı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, bir ölçümün kalitesinin, laboratuvar tarafından analize ilişkin metodun geçerli kılınması/doğrulanması, ölçüm belirsizliğinin tahmini, izlenebilirliğin sağlanması ile ortaya konulmasının gerekliliği ve kalite kontrol çalışmaları ile devamlılığının sağlanması gerektiği de belirtilmiştir (TÜRKAK, 2019).

ISO 17025 standardına göre bir metodun geçerli kılınması, belirlenen gerekliliklerin amaçlanan kullanım için yeterli olduğu durumlarda yapılan doğrulama olarak tanımlanırken; doğrulamanın ise belirli bir ögenin belirlenmiş gereklilikleri karşıladığına dair nesnel kanıt sağlaması şeklinde ifade edilmektedir (ISO, 2017; TÜRKAK, 2019). Laboratuvar analiz sonuçlarının geçerli kılınması için öncelikle ölçüm doğruluğunu yani elde ettiği sonuç ile gerçek değer arasındaki ilişkiyi ortaya koymalıdır (Forster, 2003; ISO, 2017a, TÜRKAK, 2019). Bu şekilde ölçümlerin doğruluğu hesaplanırken, doğruluğun 2 unsuru olan gerçeklik ve kesinlik göz önünde bulundurulurken; kesinlikte ise tekrarlanabilirlik ( $s_r$ ), ara kesinlik ve tekrarüretilebilirlik ( $S_R$ ) sonuçları hesaba katılmaktadır (ISO, 2017b; TÜRKAK, 2019; Yılmaz vd., 2019; ISO, 2021). Bunun bir faydası ölçüm belirsizliğine etki eden tüm risklerin ortaya konulmasıdır (Dereani ve Sarić, 2010).

Metot geçerli kılma çalışmalarında uygulanan ölçüm belirsizliği hesaplamalarında ideal olarak aynı laboratuvarda, aynı numune ve metot ile farklı zamanlarda farklı analistler, farklı donanım vb. kullanılarak elde edilen orta/ara kesinlik veya laboratuvar içi uyarlık olarak tanımlanan standart sapma değeri kesinlik verisi olarak kullanılmaktadır (TÜRKAK, 2015). Kantitatif mikrobiyolojik analizlerde kesinliğin ve gerçekliğin doğrulanması gerekmektedir. Kesinliğin doğrulanması sırasında Ölçüm Belirsizliği de hesaplanmaktadır. Bu sırada ölçümün belirsizliğine katkı sağlayan çeşitli kaynaklarda bulunmaktadır (Forster, 2003; ISO, 2019; Yılmaz vd., 2019; ISO, 2021). Bu kaynaklar;

Teknik belirsizlik; operasyonel değişiklikler, dilüsyon, tekrarüretilebilirlik kaynaklı sapmalar,

-Matriks belirsizliği; matriks çeşidi ve içinde homojen karışımı sağlanamamış mikroorganizma çalışmalarından düşük seviyeli tekrarüretilebilirlik verilerinin elde edilmesi, vb.

-İstatistiksel dağılım belirsizliği; test organizmasının sayımı ve doğrulanmasında koloni sayımı için poisson dağılımı ya da doğrulama belirsizliğinin kullanımı; en muhtemel sayım yöntemi için en muhtemel sayım yöntemi belirsizliğidir (EuroLab, 2007; ISO, 2019).

Belirsizlik hesabı ile ilgili iki ayrı yaklaşım bulunmaktadır;

-Global Yaklaşım = Top down = Kara kutu = Yukarıdan aşağıya ilerleme = Tüme varım

-Bileşen Yaklaşımı = Bottum up = Adım adım = Aşağıdan yukarı ilerleme = Tümden gelim

Çizelge 1. Global yaklaşım ile bileşen yaklaşımının optimum kullanım alanları (NMKL, 2017; ISO, 2019)

Table 1. Optimum Uses Area of Component Approach with Global Approach (NMKL, 2017; ISO, 2019)

Global Yaklaşım (Global Approach)	Bileşen Yaklaşımı (Component Approach)
Operasyonel varyansın dağılım varyansından büyük olması beklenen katı örneklerde	Düşük mikroorganizma yükü var ise
Çalışılan örneklerde heterojenlik fazla ise	
Laboratuvarlar arası karşılaştırma yapılacak ise	

Ölçüm belirsizliği, yapılan ölçümün hangi değerler arasında yer alacağını, güven aralığını anlatmaktadır. Belirsizlik ölçüm sonuçlarının dağılımını göstermekle beraber tam olarak ortadan kaldırılamaz. Ancak, hiçbir zamanda tam olarak hesaplanamaz. Tek başına bir analiz değildir (Corry, 2007). %95 güven aralığında tahminidir ve ancak belirsizliğe etki eden faktörlerin iyileştirilmesi ile küçültülebilir ve %99 olarak bile güven aralığı sağlanabilir. Belirsizliğin hesaplanmasında tekrarüretilebilirlik verilerinin kullanılması dolayısı ile tekrarüretilebilirliği etkileyen faktörler olan;

-Zaman (Z): Birbirini izleyen ölçmeler arasındaki zaman aralığı kısa veya uzun olmalıdır.

-Kalibrasyon (K): Birbirini izleyen ölçmelerin gruplar arasında farklı donanım ile kalibre edilmeden önce ve sonraki şekilde kullanımudur.

-Deneyi yapan kişi (O): Birbirini izleyen ölçmelerin farkı deneyi yapan kişiler tarafından gerçekleştirilmesidir.

-Donanım (D): Ölçmelerde farklı donanımın kullanılmasıdır (TS, 2000; Lombard, 2006; ISO, 2021).

Ölçüm sonuçları referans materyal, yeterlilik testleri, ilgili analize ilişkin standart, numunenin homojen dağılımı, referans kültürün homojen dağılımı, tek suş ya da çokça mikroorganizma bulunan ortamlarda hedef mikroorganizmanın baskılanması, mikrobiyel gelişim ya da ölme, analist etkisi, gerçek koloni sayımı, donanımın kalibrasyon durumu, istatistiksel dağılım gibi tüm bu faktörlerle etkilenir (NMKL, 2004; Gašljević, 2004).

ISO 17025 standardına göre bazı durumlarda deney metodunun kendisinden kaynaklı ölçüm belirsizliği dikkatli, metrolojik ve istatistiksel olarak hesaplanamamakta işte bu şekilde deney yönteminin ölçüm belirsizliğinin kesin olarak değerlendirmesinin mümkün olmadığı durumlar içinse ya analizle ilgili tüm belirsizlik bileşenleri ayrı ayrı ortaya konulmalı ya da yöntemin uygulanmasına yönelik uygun bir tahminde bulunulması önerilmektedir (TÜRKAK, 2015; ISO, 2017a; VIM, 2008). Bu anlamda akreditasyonun İyi Laboratuvar Uygulamalarına yardımcı olarak çeşitli belirsizlik kaynaklarını

minimize etmeye yarayan bir sistem olduğu ortaya çıkmaktadır (Jarvis vd., 2007).

Bu çalışmanın amacı, gıda zehirlenmelerinin temelinde çoğunlukla risk teşkil eden mikrobiyel kaynaklı etmenlere yönelik gerçekleştirilen ISO 7932 metodu ile yemeklerde *B. cereus*, ISO 16649-2 metodu ile peynirlerde *E. coli* ve ISO 4833-1 metodu ile sütlerde toplam mezofilik aerobik mikroorganizmaların mikrobiyolojik analizlerde kesinliği sağlamak üzere yapılan çalışmalardan biri olan tekrarüretilebilirlik çalışmalarının doğruluğu kabul edilmiş çeşitli uluslararası metot ve yaklaşımlarla ölçüm belirsizliği sonuçlarının karşılaştırmalı olarak ortaya konulmasıdır. Elde edilen ölçüm belirsizliği verileri ile bu tarz çalışmalarda hangi metotla hangi aralıkta çalışılabileceği ve ilgili metodun ne kadar hassasiyetle istatistiksel sonuçlar verdiği irdelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada, tekrarlanabilirlik çalışmaları ardından her analize ait ölçüm belirsizliklerinin ortaya konulabilmesi için yapılan tekrarüretilebilirlik çalışmalarında sahada sıklıkla ilgili numunelerde herhangi bir kontamine durum söz konusu olduğunda ya da yeterli ısı işlem uygulamaları ve hijyen kriterlerine dikkat edilmediğinde enfeksiyon ya da intoksikasyona neden olan ayrıca heterojenlikleri ile elde edilebilecek en büyük ölçüm belirsizlikleri ile karşılaştırma yapılması bakımından 3 ayrı gıda matriksi ile (yemek, peynir ve süt) 3 farklı analiz metodu kullanılarak (ISO 7932 metodu ile *B. cereus*, ISO 16649-2 metodu ile *E. coli* ve ISO 4833-1 metodu ile toplam mezofilik aerobik mikroorganizma) paralel olarak, 4 farklı analist tarafından 10 ayrı günde ve tüm şartlar değiştirilerek (matriks, etüv, pipet, terazi, besiyeri, dilüsyon, hacim, vb donanımlar) çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada, *B. cereus* ile çalışma yapılabilmesi için yemek numuneleri NCTC 7464, *B. cereus* suşu ile toplam mezofilik aerobik mikroorganizma çalışmalarında sütler NCTC 10400 *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* suşu ile, *E. coli* çalışmalarında peynir numuneleri NCTC 10788 *E. coli* suşu ile

kirletme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm analizlerin gerçekleştirilmesi için aseptik ortam koşullarında ve otoklavlanarak steril hale getirilmiş 10 g/mL olarak tartımı yapılan tüm numunelere 90mL tamponlanmış peptonlu su (Liofilchem® REF 499030, ITALY) ilave edilerek, değişen dilüsyonlarda spike işlemi gerçekleştirilmiş (mikroorganizma yükleri önceden belirlenmiş) ve toplam mezofilik aerobik mikroorganizması ile kontamine süt numuneleri ile *B. cereus* ile kontamine yemek numuneleri 30°C'de 24 saat, *E. coli* ile kontamine peynir numuneleri ise 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, *E. coli* sayım analizleri için TBX agara (LAB M- Neogen Culture Media NCM1001A Harlequin TBGA, UK) dökme metoduna göre, *B. cereus* sayımı için *Bacillus cereus* mediuma (LAB M Neogen Culture Media LAB073, UK) yayma metoduna göre, toplam mezofilik aerobik mikroorganizma sayımı için Plate Count agara (LAB M- Neogen Culture Media NCM0010A, UK) dökme metoduna göre ekimler yapılarak sırayla, 41,5°C'de 24 saat, 30°C'de 48 saat, 30°C'de 72 saat inkübe edilerek, sayımlar yapılmıştır.

Elde edilen tüm sonuçlar log<sub>10</sub> tabanına çevrilerek ve 1. analist 2. analistle, 1. analist 3. analistle, 1. analist 4. analistle, 2. analist 3. analistle, 2. analist 4. analistle ve 3. analist 4. analistle karşılaştırılarak ISO/TS 19036, NMKL No.8 standartları ve EuroLab teknik prosedürü (EuroLab, 2007; Torlak, 2012) ile değerlendirilerek, 3 ölçüm belirsizliği yaklaşımı arasındaki hassasiyet farkı istatistiksel olarak ortaya konulmuştur.

### ISO 19036 Metodu ile Ölçüm Belirsizliği Analizi

Analistler için değişken olarak oluşturulan A ve B koşulları bulunur. A koşulunda kullanılan tüm faktörlerin B koşulunda kullanılmadığı yine B koşulundaki tüm faktörlerin ise A koşulunda kullanılmadığı ortamlarda gerçekleştirilen analizler, (örn; farklı parti besiyerinin kullanımı, test porsiyonlarına farklı suşların inokülasyonu, farklı inkübatörlerde inkübasyonun yapılması, farklı otomatik pipet kullanımı ve farklı hacim ölçerler gibi analiz her basamağında olası muhtemel değişkenliklerin sağlanması, vb).ile

analistlerin sonuçları a<sub>i</sub> ve b<sub>i</sub> olarak ele alınmıştır (ISO, 2019; Yılmaz vd., 2019; ISO, 2021).

a<sub>i</sub>: Farklı koşullarda ortaya çıkan analist sonucu  
b<sub>i</sub>: Farklı koşullarda ortaya çıkan diğer analistin sonucu  
n: çalışmadaki tekrar sayısı  
S<sub>R</sub>: tekrarüretilebilirlik standart sapması  
S<sub>IR</sub>: laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik standart sapması

$$S_{IR} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (a_i - b_i)^2}{2n}} \quad (1)$$

Tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen standart sapmanın (s), tüm ölçümlerin ortalamasına ( $\bar{x}$ ) oranı bağıl standart sapmayı verir (RSD- RSD<sub>R</sub>). RSD formülizasyonu (2) ile gösterilmiştir.

$$RSD = \frac{s \text{ standart Sapma}(s)}{\text{Ortalama}(x)} RSD_R = \frac{s}{\bar{x}} \quad (2)$$

Birleştirilmiş tekrarüretilebilirlik relatif standart sapması (RSD<sub>RC</sub>) ise toplam bağıl standart sapmanın n çalışma tekrar sayısına bölümünün karekökünü ifade etmektedir.

$$RSD_{RC} = \sqrt{\frac{\sum RSD_R^2}{n}} \quad (3)$$

RSD<sub>RC</sub>: birleştirilmiş tekrarüretilebilirlik relatif standart sapması  
ΣRSD: toplam bağıl standart sapma

### NMKL No.8 Standardı ile Ölçüm Belirsizliği Analizi

NMKL No.32'nin atıfta bulunarak temel aldığı NMKL No.8 standardı tekrarüretilebilirlik ve ölçüm belirsizliği hesaplamalarını içerir. Değişkenler aynı ISO 19036 standardında belirtildiği gibidir. NMKL No. 8 standardına göre tekrarüretilebilirlik verileri tekrarlanabilirlik verilerinden de elde edilebilir (NMKL, 2004; Yılmaz vd., 2019).

İlk olarak Toplam Standart sapma hesaplanır:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (4)$$

$S_r$ : Standart Sapma

$\bar{x}$ : Sonuçların ortalaması

$n$ : Çalışılmış olan tekrar sayısı

$x_i$ : Her bir analistin sonucu

Verilerin ortalamaları alınır,

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (5)$$

Standart sapmaların ortalaması alınır,

$$S_r = \sqrt{\frac{S_{r_1}^2 + S_{r_2}^2 + S_{r_3}^2 + S_{r_4}^2}{4}} \quad (6)$$

Ortalamaların standart sapması hesaplanır,

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y)^2}{n-1}} \quad (7)$$

$x_i$ : Her bir analistin sonucu

$y$ : 2 analistin tüm sonuçlarının (log10) ortalaması

Gruplar arası varyans  $S_{L^2}$  hesaplanır;

$$S_L^2 = S_x^2 - \frac{S_r^2}{n} \quad (8)$$

Standart belirsizlik hesaplanır;

$$u = S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2} \quad (9)$$

$S_R$ : Standart belirsizlik

$$U = 2 S_R \quad (10)$$

$U$ : Genişletilmiş ölçüm belirsizliği

### EuroLab Teknik Prosedürü ile Ölçüm Belirsizliği Analizi

Çalışmalarda ISO 19036 ve NMKL No. 8 standartları ile beraber EuroLab Teknik Prosedürü No.1 (2007) bölüm 3.1. Verifikasyonlarda Ölçüm Belirsizliği ile hesaplamalar dahilinde de çalışmalar paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Koloni sayımı tekniğinde, petrideki koloni sayısı azaldıkça ve

genel tasarım düşük sayımlar için uygun olmadığından, öngörülemeyen varyasyon hızla artmaktadır. Bu teknik prosedüre göre petride koloni sayısı 10'dan az olan sayım sonuçlarının hesaplamalardan çıkarılması gerekmektedir (EuroLab, 2007; Torlak, 2012). Gerek çalışmada 10'dan küçük koloni elde edilememesi (yükleri belli dilüsyondaki numuneler) gerekse istatistiksel metot hesaplamalarında standart ya da metotlara eşit koşullarda davranılması gerektiğinden araştırmada elde edilen sonuçların tümü  $\log_{10}$ 'a çevrilmiştir. Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik standart sapma hesabı ve tanımlamalar formüllerle beraber verilmiştir.

$$RSDR_{W} = \frac{\bar{R}}{d_2} \quad (11)$$

RSD: bağıl standart sapma

$\bar{R}$ : ortalama bağıl değer aralığını verir.

$d_2$ : dönüşüm faktörünü verir. Paralel sayımlar için  $d_2$  faktörü kullanılır.  $d_2 = 1.128$  olarak alınır.

$$R = \frac{\sum R_i}{n} \quad (12)$$

$n$  kadar sayıda paralel sayım için.

$R_i$ : Gerçek bağıl değeri verir.

$$R_i = \frac{A_i - B_i}{m_i} \quad (13)$$

$A_i, B_i$ : 2 analistin verileri

$m_i$ : 2 analistin sonuçlarının aritmetik ortalaması

$$U = k * u \quad (14)$$

$k$ : % 95 güven aralığı kapsama faktörü 2

$u$ :  $RSDR_W$  hesabından gelen belirsizlik

### İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçlarının değerlendirilmesi amacıyla ilk olarak tüm sonuçlar 3 farklı metoda ait formüllerle Excel üzerinde hesaplanmıştır. Elde edilen verilerin analizi SPSS 24.0 ile yapılmıştır. Çalışmada 4 farklı değerlendiricinin önce 2 farklı formül ile  $S_r$  ve  $U$  değerleri hesaplanmış ve aralarındaki uyum gösterme durumunun incelenmesi için Kendall's tau b Katsayısı ve Spearman's rho Katsayısı hesaplanmıştır. Bununla

birlikte 3 değişik metot birbirleri ile karşılaştırılmış olup Çizelge 2 ve Çizelge 3' de gösterilmiştir. ISO 19036 standardı ile EuroLab Teknik Prosedürü ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının karşılaştırılması amacıyla bağımlı gruplar *T testi* yapılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma sonuçlarımız ISO 19036, NMKL No.8 ve EuroLab Teknik Prosedürüne göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. ISO 19036 metodu ile EuroLab Teknik Prosedürü ölçümlerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan bağımlı gruplar *t testi* sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. ISO 19036, NMKL No.8 ve EuroLab Teknik Prosedürüne ait  $S_R$  ve  $U$  değerlerinin karşılaştırılması ise Çizelge 3' de gösterilmiştir. ISO 19036 ve EuroLab Teknik Prosedürü değerleri arasındaki yakınlık

karşılaştırması ise Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6 ve Şekil 7' deki Regresyon grafikleri ile ortaya konulmuştur. ISO 19036, EuroLab Teknik Prosedürü ve NMKL No.8'e ait Ölçüm Belirsizliği Karşılaştırmalarına ait farklılıklar ise Çizelge 4, Çizelge 5, Çizelge 6, Çizelge 7, Çizelge 8 ve Çizelge 9'da ifade edilmiştir.

ISO 19036 metodu ile EuroLab Teknik Prosedürü değerleri karşılaştırıldığında analiz sonuçlarına göre 1.analist ile 2. analist, 1. analist ile 3. analist, 1. analist ile 4. analist, 2. analist ile 3. analist, 2. analist ile 4. analist ve 3. analist ile 4. analist arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ( $P < 0.01$ ) ve EuroLab Teknik Prosedürü değerleri daha yüksek çıkmıştır ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 2).

Çizelge 2. ISO 19036 metodu ile EuroLab teknik prosedür ölçümlerinin karşılaştırılması  
Table 2. Comparison of EuroLab technical procedure and ISO 19036 method

	U değerleri Ortalaması	U değerleri ss	t	P
ISO 19036 Standardı (1-2)	0.102645	0.0421861	-8.119	0.000*
EuroLab Teknik Prosedürü (1-2)	0.246673	0.1347559		
ISO 19036 Standardı (1-3)	0.160073	0.0782535	-8.453	0.000*
EuroLab Teknik Prosedürü (1-3)	0.325024	0.1421011		
ISO 19036 Standardı (1-4)	0.136485	0.0919991	-7.083	0.000*
EuroLab Teknik Prosedürü (1-4)	0.305074	0.1635145		
ISO 19036 Standardı (2-3)	0.124502	0.0836366	-6.942	0.000*
EuroLab Teknik Prosedürü (2-3)	0.265663	0.1404392		
ISO 19036 Standardı (2-4)	0.137362	0.0807755	-8.220	0.000*
EuroLab Teknik Prosedürü (2-4)	0.302410	0.1496958		
ISO 19036 Standardı (3-4)	0.093406	0.0229582	-9.631	0.000*
EuroLab Teknik Prosedürü (3-4)	0.234399	0.0989758		

\*  $P < 0.05$  (Global Yaklaşım değerleri ile ISO 19036 değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğu ortaya çıkmıştır)

ss: Kendall's tau\_b Katsayısı ve Spearman's rho katsayısı ile hesaplama

t: T testini tanımlamaktadır.

P: P değeri istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

U değeri: Ölçüm belirsizliğini tanımlamaktadır.

Çizelge 3. NMKL No.8 – ISO 19036 – EuroLab teknik prosedürü karşılaştırması  
 Table 3. Comparison of NMKL No.8 – ISO 19036 – EuroLab technical procedure

		Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt ( <i>Toplam Mezofilik Aerobik Koloni.</i> )
NMKL (1-2)	U	2.9831	2.8559	2.8594
	SR	1.4915	1.4279	1.4297
NMKL (1-3)	U	3.0099	2.8613	2.8398
	SR	1.5050	1.4306	1.4199
NMKL (1-4)	U	2.9876	2.9012	2.7865
	SR	1.4938	1.4506	1.3933
NMKL (2-3)	U	3.0000	2.7815	2.8616
	SR	1.5000	1.3908	1.4308
NMKL (2-4)	U	2.9776	2.8226	2.8087
	SR	1.4888	1.4113	1.4043
NMKL (3-4)	U	3.0045	2.8280	2.7914
	SR	1.5022	1.4140	1.3957
ISO 19036 (1-2)	U	0.1353	0.1145	0.0581
	SR	0.0677	0.0573	0.0290
ISO 19036 (1-3)	U	0.1232	0.2100	0.1471
	SR	0.0616	0.1050	0.0735
ISO 19036 (1-4)	U	0.0819	0.2046	0.1229
	SR	0.0410	0.1023	0.0614
ISO 19036 (2-3)	U	0.0768	0.1867	0.1100
	SR	0.0384	0.0934	0.0550
ISO 19036 (2-4)	U	0.0893	0.1936	0.1292
	SR	0.0446	0.0968	0.0646
ISO 19036 (3-4)	U	0.0998	0.1067	0.0737
	SR	0.0499	0.0534	0.0368
EuroLab Teknik Prosedürü (1-2)	U	0.3852	0.2703	0.0846
	SR	0.1926	0.1351	0.0423
EuroLab Teknik Prosedürü (1-3)	U	0.3267	0.4559	0.1926
	SR	0.1633	0.2279	0.0963
EuroLab Teknik Prosedürü (1-4)	U	0.2990	0.4671	0.1491
	SR	0.1495	0.2336	0.0745
EuroLab Teknik Prosedürü (2-3)	U	0.2627	0.4041	0.1302
	SR	0.1313	0.2021	0.0651
EuroLab Teknik Prosedürü (2-4)	U	0.2679	0.4543	0.1850
	SR	0.1339	0.2272	0.0925
EuroLab Teknik Prosedürü (3-4)	U	0.2822	0.3064	0.1146
	SR	0.1411	0.1532	0.0573

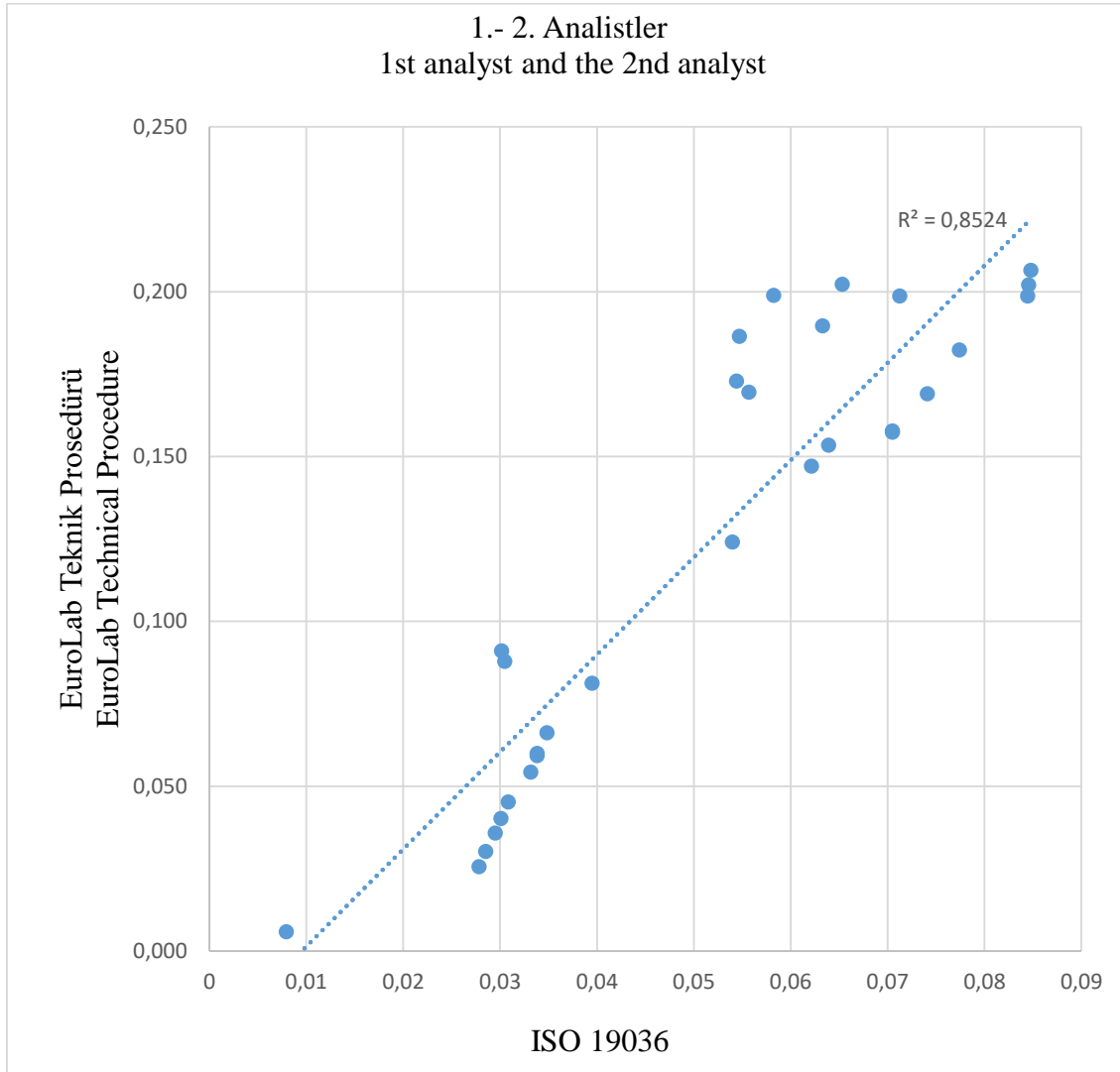
SR: Tekrarüretilebilirlik Standart Sapması

U: Ölçüm Belirsizliği

SR değeri 0'a yaklaştıkça değişim daha az olduğu için tutarlılık daha yüksektir. Buna göre

U değeri 0'a yakın olan sonuçlarda daha az sapma vardır.



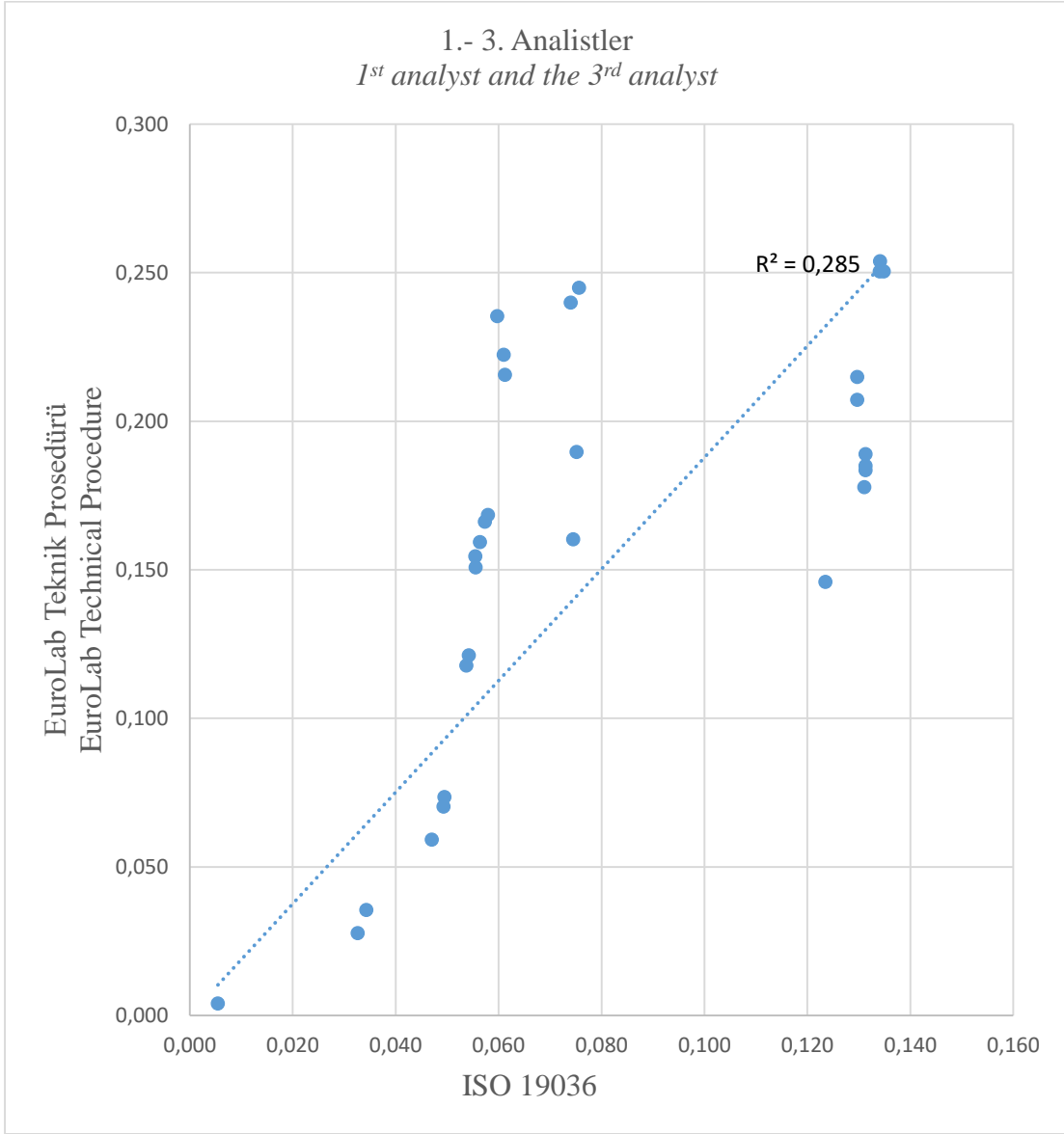


\*R: Regresyon katsayısı

Şekil 1. 1. analist ile 2. analistin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü formülü kullanılarak hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği

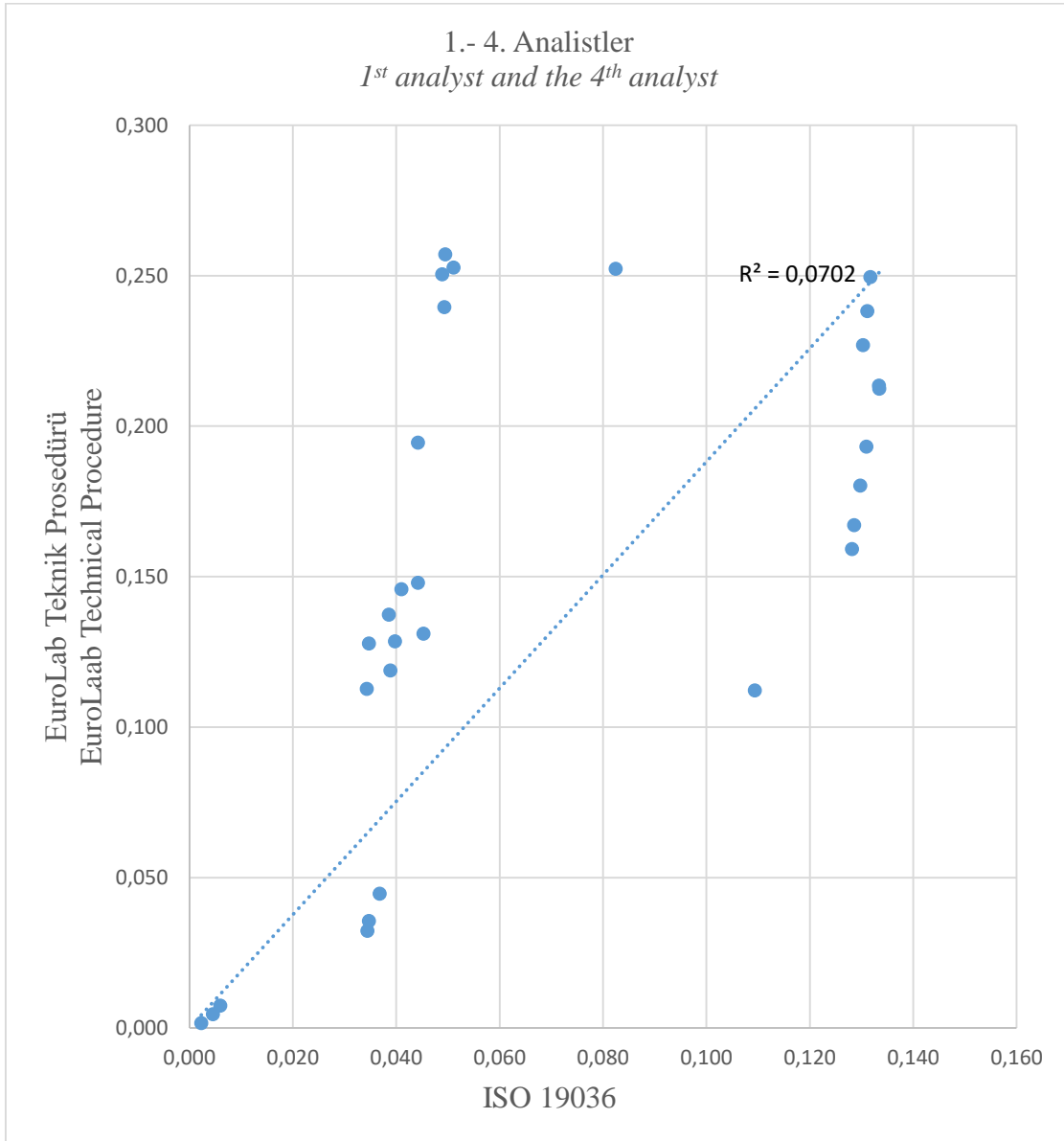
\*R: Regression coefficient

Figure 1. Graph showing relationship between  $S_R$  values of the 1<sup>st</sup> analyst and the 2<sup>nd</sup> analyst calculated using ISO 19036 value and EuroLab technical Procedure  $S_R$  values calculated using formula



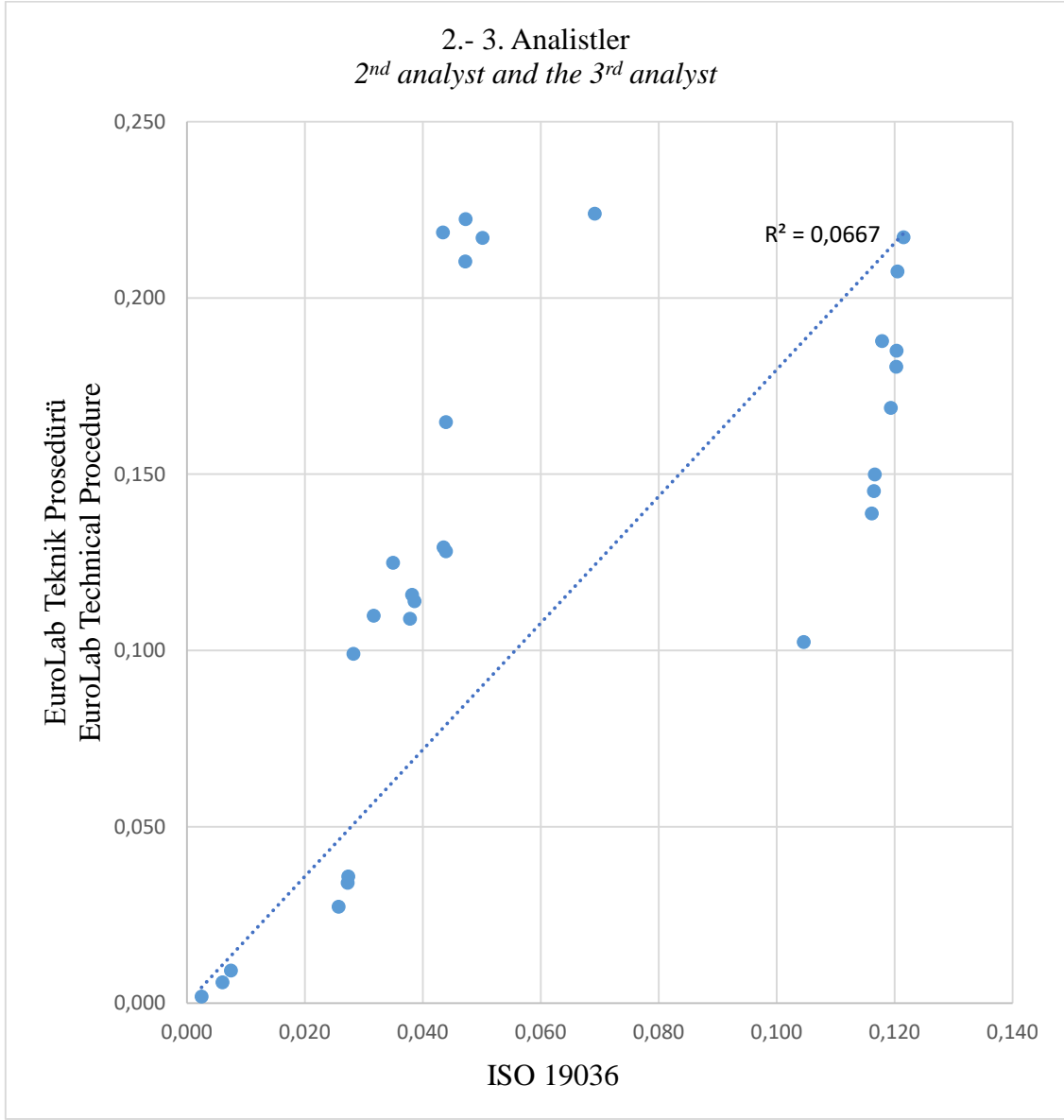
Şekil 2. 1. analist ile 3. analistin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü kullanılarak hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği

Figure 2. Graph showing relationship between  $S_R$  values of the 1<sup>st</sup> analyst and the 3<sup>rd</sup> analyst calculated using ISO 19036 value and  $S_R$  values calculated using EuroLab technical procedure formula

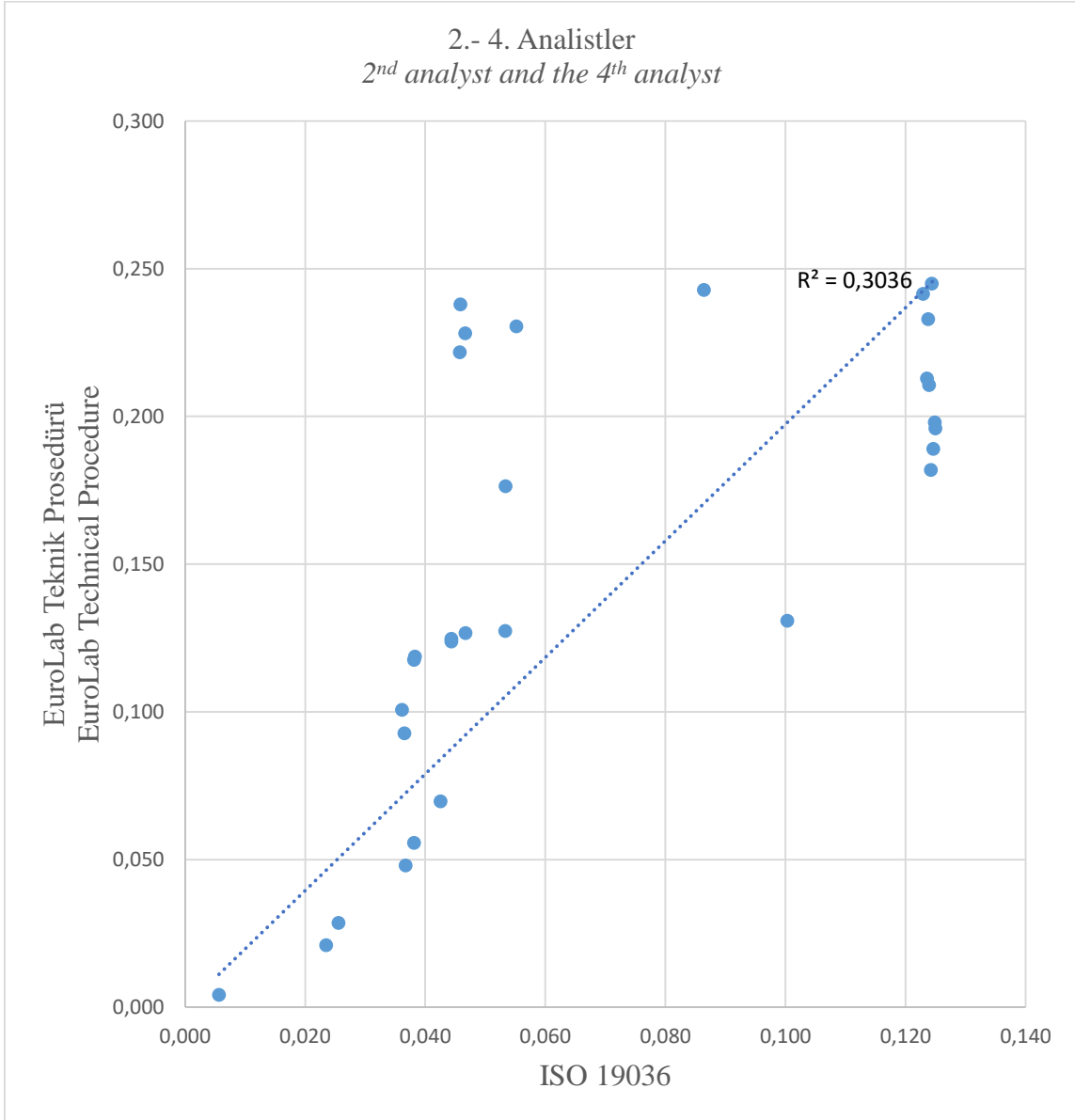


Şekil 3. 1. analist ile 4. analistin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü kullanılarak hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği

Figure 3. Graph showing relationship between  $S_R$  values of the 1<sup>st</sup> analyst and the 4<sup>th</sup> analyst calculated using ISO 19036 value and  $S_R$  values calculated using EuroLab technical procedure formula

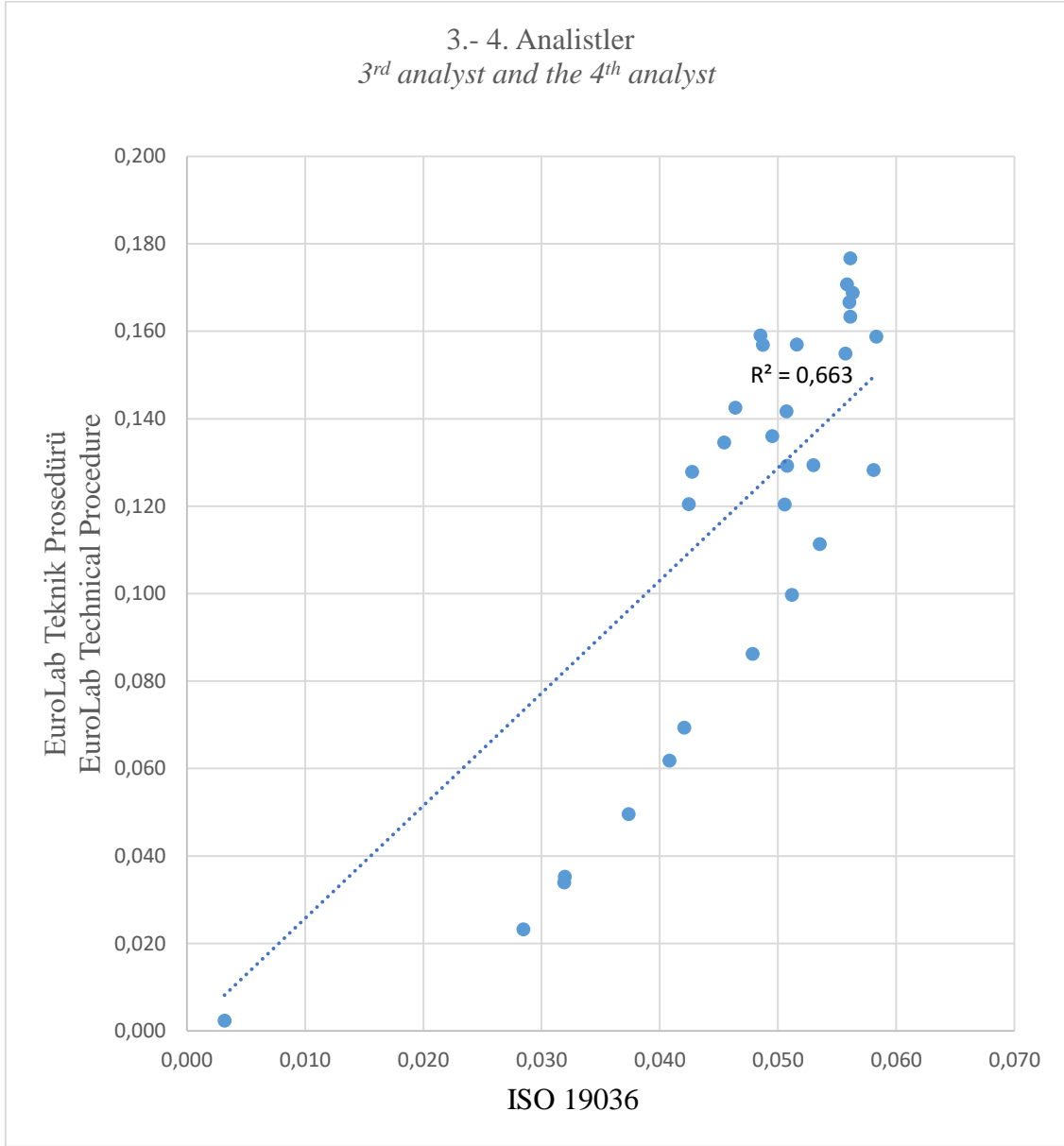


Şekil 4. 2. analist ile 3. analistin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü kullanılarak hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği  
Figure 4. Graph showing relationship between  $S_R$  values of the 2<sup>nd</sup> analyst and the 3<sup>rd</sup> analyst calculated using ISO 19036 value and  $S_R$  values calculated using EuroLab technical procedure formula



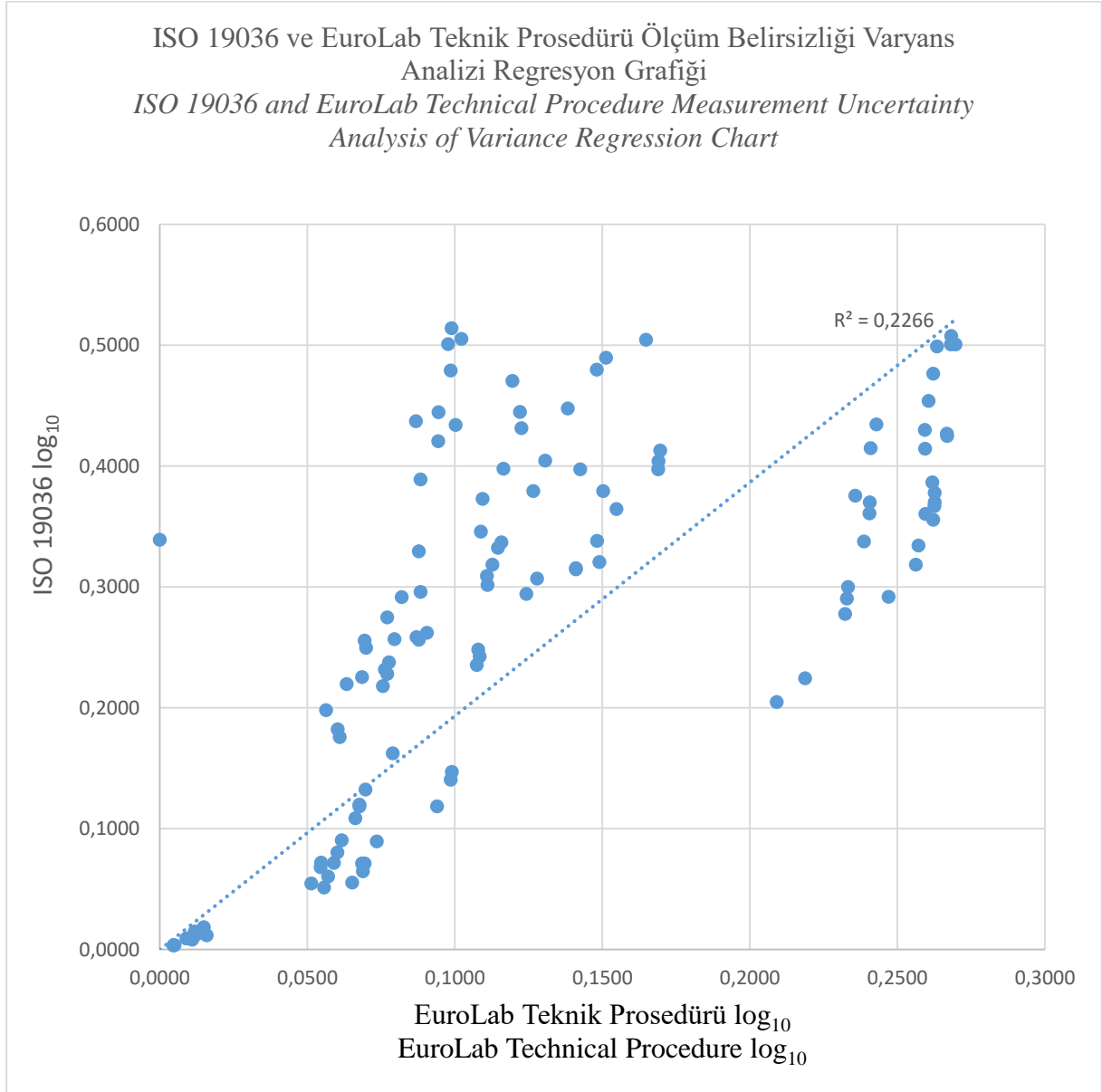
Şekil 5. 2. analist ile 4. analistin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü kullanılarak hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği

Figure 5. Graph showing relationship between  $S_R$  values of the 2<sup>nd</sup> analyst and the 4<sup>th</sup> analyst calculated using ISO 19036 value and  $S_R$  values calculated using EuroLab technical procedure formula



Şekil 6. 3. analist ile 4. analistin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü kullanılarak hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği

Figure 6. Graph showing relationship between  $S_R$  values of the 3<sup>rd</sup> analyst and the 4<sup>th</sup> analyst calculated using ISO 19036 value and  $S_R$  values calculated using EuroLab technical procedure formula



Şekil 7. Tüm verilerin ISO 19036 ile hesaplanan  $S_R$  değerleri ile EuroLab teknik prosedürü ile hesaplanan  $S_R$  değerleri arasındaki ilişki grafiği

*Figure 7. Graph showing relationship between  $S_R$  values of all data calculated using ISO 19036 and  $S_R$  values calculated with EuroLab technical procedure*

Çizelge 4. 1. ve 2. analistlerin ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü ve NMKL No.8'e ait ölçüm belirsizliği karşılaştırmaları

Table 4. Comparison of measurement uncertainty of 1<sup>st</sup> analyst and the 2<sup>nd</sup> analyst about of the ISO 19036, EuroLab technical procedure, and NMKL No.8

	Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt (Toplam Mezofilik Aerobik Koloni)
NMKL (1-2)	2.98	2.85	2.85
ISO 19036 (1-2)	0.13	0.11	0.05
EuroLab Teknik Prosedür (1-2)	0.38	0.27	0.08

Çizelge 5. 1. ve 3. analistlerin ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü ve NMKL No.8'e ait ölçüm belirsizliği karşılaştırmaları

Table 5. Comparison of measurement uncertainty of 1<sup>st</sup> analyst and the 3<sup>rd</sup> analyst about of the ISO 19036, EuroLab technical procedure, and NMKL No.8

	Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt (Toplam Mezofilik Aerobik Koloni)
NMKL (1-3)	3.00	2.86	2.83
ISO 19036 (1-3)	0.12	0.21	0.14
EuroLab Teknik Prosedür (1-3)	0.32	0.45	0.19

Çizelge 6. 1. ve 4. analistlerin ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü ve NMKL No.8'e ait ölçüm belirsizliği karşılaştırmaları

Table 6. Comparison of measurement uncertainty of 1<sup>st</sup> analyst and the 4<sup>th</sup> analyst about of the ISO 19036, EuroLab technical procedure, and NMKL No.8

	Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt (Toplam Mezofilik Aerobik Koloni)
NMKL (1-4)	2.98	2.90	2.78
ISO 19036 (1-4)	0.08	0.20	0.12
EuroLab Teknik Prosedür (1-4)	0.29	0.46	0.14

Çizelge 7. 2. ve 3. analistlerin ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü ve NMKL No.8'e ait ölçüm belirsizliği karşılaştırmaları

Table 7. Comparison of measurement uncertainty of 2<sup>nd</sup> analyst and the 3<sup>rd</sup> analyst about of the ISO 19036, EuroLab technical procedure, and NMKL No.8

	Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt (Toplam Mezofilik Aerobik Koloni)
NMKL (2-3)	3.00	2.78	2.86
ISO 19036 (2-3)	0.07	0.18	0.11
EuroLab Teknik Prosedür (2-3)	0.26	0.40	0.13



## Mikrobiyolojik analizlerde ölçüm belirsizliği metotlarının karşılaştırılması

Çizelge 8. 2. ve 4. analistlerin ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü ve NMKL No.8'e ait ölçüm belirsizliği karşılaştırmaları

Table 8. Comparison of Measurement Uncertainty of 2<sup>nd</sup> analyst and the 4<sup>th</sup> analyst about of the ISO 19036, EuroLab technical procedure, and NMKL No.8

	Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt (Toplam Mezofilik Aerobik Koloni)
NMKL (2-4)	2.97	2.82	2.80
ISO 19036 (2-4)	0.08	0.19	0.12
EuroLab Teknik Prosedür (2-4)	0.26	0.45	0.18

Çizelge 9. 3. ve 4. analistlerin ISO 19036, EuroLab teknik prosedürü ve NMKL No.8'e ait ölçüm belirsizliği karşılaştırmaları

Table 9. Comparison of measurement uncertainty of 3<sup>rd</sup> analyst and the 4<sup>th</sup> analyst about of the ISO 19036, EuroLab technical procedure, and NMKL No.8

	Yemek ( <i>B. cereus</i> )	Peynir ( <i>E. coli</i> )	Süt (Toplam Mezofilik Aerobik Koloni)
NMKL (3-4)	3.00	2.82	2.79
ISO 19036 (3-4)	0.09	0.10	0.07
EuroLab Teknik Prosedür (3-4)	0.28	0.30	0.11

Tüm veriler varyans analizi ile değerlendirildiğinde ise (Şekil 7) ISO 19036 ve EuroLab Teknik Prosedürü düşüncesi ile gerçekleştirilen ölçüm belirsizliği hesaplamaları için bağıl standart sapma kullanılmaktadır. Bu nedenle, belirsizlik sonuçları çalışmayı da destekler şekilde oldukça düşük olarak elde edilmiştir. Ancak, NMKL No.8'de tüm verilerin ortalamaları bir potada hesaplanmakta ve doğal olarak tıpkı bu çalışmada olduğu gibi ölçüm belirsizliği sonuçları yüksek olarak elde edilmektedir. Araştırma sonuçlarına göre NMKL No. 8 metodunda tüm matriks ve analizlerde birbirine oldukça yakın ancak diğer metotlara kıyasla daha yüksek ölçüm belirsizliği elde edilmiş; süt matriksi (heterojen özelliği nedeniyle) ile çalışılan toplam mezofilik aerobik mikroorganizma sayısının EuroLab Teknik Prosedüründe ise en düşük ölçüm belirsizliğine sahip olduğu ortaya konulmuştur.

ISO 19036 standardına göre petrilere 10 koloni ve aşağı sayıda mikroorganizma metot için başarılı sonuçlar vermemekte (ISO, 2019; Yılmaz vd.,

2019; ISO, 2021), bu durumlarda EuroLab teknik prosedürü ile hesaplama tekniği araştırmacı tarafından önerilmektedir (Torlak, 2012).

Araştırmaya benzer şekilde, Torlak (2012) peynirde *Staphylococcus aureus* üzerine yaptığı çalışmalarında ISO 19036 ile ölçüm belirsizliği sonucunu  $U(\log_{10}) = 0.23$  olarak EuroLab teknik prosedürüne göre belirsizliği ise  $U = \%60$  olarak ortaya koymuştur. Araştırmacı,  $\%45-75$  aralıkta ölçüm belirsizliği verilerinde EuroLab teknik prosedürünün sonuçları log'a çevirmeden rahatlıkla kullanılabilceğini, limit değer olan  $\%75$  ve üzerindeki belirsizlik durumlarında ise ISO yaklaşımının kullanımının gerekliliğini belirtmiştir.

Blasi vd. (2013), yaptıkları validasyon ve ölçüm belirsizliği çalışmalarında ISO 19036 metodu ile yukardan aşağıya (Top down) tüme varım yöntemi olan global yaklaşımın başarılı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Jarvis (2015), mikrobiyologların mikrobiyolojik analizlerde ölçüm belirsizliği çalışmaları için

genellikle sonuçların  $\log_{10}$ 'a çevirerek kullandıklarını, koloni sayısı  $<100$  kob/g'dan daha düşük olan analiz sonuçlarında belirsizlik hesabı için poisson dağılımı gerçekleştirildiğini belirtmiştir. Norli (2017), yaptığı çalışmada ISO 19036 ile NMKL metotlarına ait ölçüm belirsizliklerinin aynı olduğunu bildirmiştir.

Tıpkı araştırmada olduğu gibi Yılmaz vd. (2019), NMKL prosedürünün ISO/TS 19036'ya göre yapılan hesaplamaların bünyesinde sunduğu metoda göre tüm değişkenlerin değerlendirmeye katılmaması nedeniyle daha düşük sonuçlar alındığını belirttiğini; ancak karşılaştırma sonuçlarında ara kesinliğin ortaya konulmasında gerçekte tüm alanlarda karşılaşılabilecek değişikliklerin analize yansıtıldığının görülmesinin öneminin olduğunu ve uygulamanın ISO/TS 19036'nın A ve B koşulları ve diğer tüm değişiklik uygulamaları ile sağlandığını, tüm bu değişikliklerin NMKL prosedür uygulamasına yansıtıldığında ise prosedürde belirtilen değerlendirmenin oluşmasının beklenmemesi gerektiğini belirtmişlerdir.

## SONUÇ

Mikrobiyolojik analizlerin raporlanmasında ölçüm belirsizliği hesaplamaları büyük oranda kullanılmamakla beraber numune sonuçlarının uygunsuzluğu durumunda müşterinin istekleri doğrultusunda analiz raporlarında belirtilmek durumunda kullanılabilir.

NMKL yaklaşımında çoğunlukla tekrarlanabilirlik çalışmasından gelen değişkenlik de hesaplama katılmaktadır. Bu nedenle ISO yaklaşımından daha yüksek bir standart sapma elde edilmesi olasıdır (Yılmaz vd., 2019). Bununla birlikte ISO yaklaşımı ve EuroLab Teknik Prosedürü, aynı gıda grubu içinde değişik numunelerde çalışmayı sağlamaya ve tekrarüretilebilirlik koşullarında iki paralel olarak çalışılması halinde daha hassas sonuçlar vermeye elverişli metotlardır.

Düşük mikroorganizma yükü var ise bileşen yani ISO 19036 yaklaşımı daha doğrudur. Çalışılan örneklerde heterojenlik fazla ise ISO 19036 metodundan sonra tercih edilecek en yakın yaklaşım EuroLab Teknik Prosedürüdür. Eğer, ortam koşullarının, donanım, matriks vb. tüm

değiştirilebilecek unsurların değiştirilerek analizlerin gerçekleştirilmesi ve bir ölçüm belirsizliği ortaya konulmak isteniyorsa ISO 19036 standardı tercih edilmelidir. Gerçekleştirilen çalışma ile istatistiki olarak ISO 19036 metodu ile karşılaştırılan sonuçların EuroLab Teknik Prosedürüne göre, ISO 19036 ve EuroLab Teknik Prosedürünün ise NMKL No.8 standardına göre daha hassas aralıkta ölçüm belirsizliği sonucu ortaya koyduğu belirlenmiştir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

## TEŞEKKÜR

Çalışmada görüşlerini esirgemeyen Prof. Dr. Emrah Torlak ile Dr. Erdem Danyer'e teşekkür ederim.

## KAYNAKLAR

Blasi, G., Petruzzelli, A., Ottaviani, D., Fisichella, S., Raimo, E.D., Valiani, A., Capuccella, M., Scuota, S., Haouet, M. N. (2013). Assessment of reproducibility and uncertainty of food microbiology methods: statistical approach of a multi-site Laboratory. *Accred Qual Assur*, 18, 143–148.

Corry, J. E. L., Jarvis, B., Passmore, S., Hedges, A. (2007). A critical review of measurement uncertainty in the enumeration of food microorganisms. *Food Microbiol*, 24, 230–253.

Dereani, V. R., Sarić, M. M. (2010). Validation and measurement uncertainty estimation in food microbiology: differences between quantitative and qualitative methods. *Validation and Measurement in Food Microbiol*, 60 (3): 207–213.

EuroLab Technical Report No.1 (2007). Measurement uncertainty revisited: alternative approaches to uncertainty test results and the uncertainty of evaluation. [https://eurolab-d.de/files/measurement\\_uncertainty\\_revisited\\_\\_alternative\\_approaches\\_to\\_uncertainty\\_evaluation.pdf](https://eurolab-d.de/files/measurement_uncertainty_revisited__alternative_approaches_to_uncertainty_evaluation.pdf)

Eurachem Guide (2013). Accreditation for microbiological laboratories. [www.eurachem.org/](http://www.eurachem.org/)

- images/stories/Guides/pdf/Eurachem\_Guide\_AML\_2013.
- Forster, L. I. (2003). Measurement uncertainty in microbiology. *J AOAC Int*, 86 (5): 1089-1094.
- Gašljević, V. (2004). Validacija mikrobioloških metoda. Seminar Hrvatskog mjeriteljskog društva, Materijali, 1. izdanje (05/2004).
- ISO (2017b). Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation. ISO 21748: 2017
- ISO (2019). Microbiology of the food chain – Guidelines for the estimations of measurement uncertainty for quantitative determinations. ISO 19036: 2019
- ISO (2021). Microbiology of the food chain-Method validation- Part:3. Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory. ISO 16140-3: 2021
- Jarvis, B., Hedges, A. J., Corry, J. E. L. (2007). Assessment of measurement uncertainty for quantitative methods of analysis: Comparative assessment of the precision (uncertainty) of bacterial colony counts. *Int J Food Microbiol*, 116, 44–51.
- Jarvis, B. (2015). Statistical aspects of the microbiological examination of foods. Chapter 11. Estimation of measurement uncertainty. 3<sup>rd</sup> edition. ISBN:978-0-12-803973-1.
- JCGM 200 (2012). International Vocabulary of Metrology. Basic and general concepts and associated terms. 3<sup>rd</sup> edition. *VIM*, 2008.
- Lombard, B. (2006). Estimation of measurement uncertainty in food microbiology: The ISO approach. *Accred Qual Assur*, 17, 94–100.
- NordVal International (NMKL) Procedure No. 8 (2004). Measurement of uncertainty in quantitative microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> Edition.
- NordVal International (NMKL) Procedure No. 32 (2017). Verification of microbiological methods.
- Norli, H. S. (2017). Measurement Uncertainty in Microbiological Examination of Foods. Eurachem –AOAC Europe Workshop. Norwegian Veterinary Institute.
- Torlak, E. (2012). Alternative calculation of measurement uncertainty with global approach in food microbiology. *Accred Qual Assur*, 17, 597–601.
- TS EN ISO (2017a). Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar (18. 12. 2017). TS EN ISO/IEC 17025: 2017
- TS/ ISO (2000). Ölçme Metotlarının ve Sonuçlarının Doğruluğu (Gerçeklik ve Kesinlik)-Bölüm 3: Standard Bir Ölçme Metodunun Kesinliğinin Ara Ölçmeleri (Kasım, 2000). TS 5822-3 ISO 5725-3: 2000
- TÜRKAK (2015). Deney/analiz sonuçlardaki ölçüm belirsizliği tahmini için TÜRKAK prensipleri. Türk Akreditasyon Kurumu Rehberi (09.07.2015).
- TÜRKAK (2019). Metodun Geçerli Kılınması ve Doğrulanması İçin Bilgilendirme Kılavuzu.
- Yılmaz, A., Yıldırım, G., Çakmak Sancar, B., Yolcu Ömeroğlu, P. (2019). Mikrobiyolojik Analizlerde Metotların Doğrulanması ve Geçerli Kılınması. *Gıda Mikrobiyolojisi*, Halkman, A. K. (ed.), Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Şti, Ankara, Türkiye, s.687, ISBN:978-605-45-683-5.