

**RB**

中华人民共和国认证认可行业标准

RB/T 151—20XXXX

代替 RB/T 151-2016

食品微生物定量检测的  
测量不确定度评估指南

Guidelines for the estimation of measurement uncertainty of  
food microbiological quantitative detection

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国国家认证认可监督管理委员会 发布

## 目 次

前言.....	II
引言.....	III
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语、定义和符号.....	1
4 总则.....	2
4.1 不确定度分量.....	5
4.2 合成不确定度.....	
5 技术不确定度.....	2
5.1 不确定度来源的识别.....	2
5.2 技术不确定度的计算.....	3
6 基质不确定度.....	4
6.1 概述.....	4
6.2 对于均匀性良好的实验室样品.....	5
6.3 对于从实验室样品中称取或吸取多个测试部分.....	5
6.4 对于基质和方法的相关特征已知时.....	5
7 分布不确定度.....	5
7.1 概述.....	5
7.2 菌落计数法——泊松不确定度 ( $u_{\text{Poisson}}$ ).....	6
7.3 菌落计数法——确证不确定度 ( $u_{\text{conf}}$ ).....	9
7.4 基于最可能数法的不确定度 ( $u_{\text{MPN}}$ ).....	9
8 合成不确定度和扩展不确定度.....	10
8.1 合成不确定度.....	5
8.2 扩展不确定度.....	5
9 检测报告中测量不确定度的表示方法.....	10
附录 A(资料性附录) 用 2 个或 2 个以上测试部分计算实验室内再现性标准偏差和基质不确定度标准偏差.....	12
附录 B(资料性附录) 基质的影响和基质不确定度.....	16
附录 C(资料性附录) 最可能数不确定度检索表.....	22
附录 D(资料性附录) 测量不确定度计算示例.....	26

## 前 言

本文件按照 GB/T1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 RB/T 151-2016《食品微生物定量检测的测量不确定度评估指南》，与 RB/T 151-2016 相比，主要技术变化如下：

——增加与测量不确定度评估有关的术语、定义和符号；

——修改测量不确定度的评估方案，使用技术不确定度、基质不确定度、分布不确定度来评估测量不确定度；

——增加测量不确定度评估示例；

——修改了附录 A，增加了附录 B 和附录 C；

本文件的附录 A、附录 B 和附录 C 为资料性附录。

在本文件中，“注”不属于要求，其内容是理解要求和说明有关要求的指南。

本文件由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本文件起草单位：青岛海关技术中心，等等。

本文件主要起草人：雷质文，等等。

本文件所代替标准的历次版本发布情况：

——RB/T 151-2016。

# 食品微生物定量检测的测量不确定度评估指南

## 1 范围

本文件给出了食品微生物定量检测的测量不确定度的评估和表示方法的指南。

本文件适用于食品 and 食品原料，以及食品生产、加工、贮存相关环境样品中微生物定量分析方法的测量不确定度评估和表示，定量分析方法包括微生物常规菌落计数法、最可能数法（MPN）、仪器测定方法（如阻抗测量法、三磷酸腺苷（ATP）测量法和流式细胞计数法）。

本文件中的不确定度评估不涉及系统误差及其修正有关的不确定度分量。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数

GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB 4789.41 食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验

GB/T 3358.1 统计学词汇及符号 第1部分：一般统计术语与用于概率的术语

GB/Z 22553 利用重复性、再现性和正确度的估计值评估测量不确定度的指南

JF 1001 通用计量术语及定义

SN/T 3266 食品微生物检验方法确认技术规范

RB/T 037 食品微生物检测标准方法等效性评估指南

ISO 4833-1 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms —Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique（食品微生物学 微生物计数的水平方法 第1部分 30°C下平板倾注法菌落计数）

ISO 7218 Microbiology of the food chain — General requirements and guidance for microbiological examinations（食品链微生物学 微生物检验的通用要求和指南）

ISO 19036 Microbiology of the food chain - Estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations（食品与动物饲料微生物学 定量检测不确定度的评估指南）

## 3 术语、定义和符号

### 3.1 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1.1

**样本** sample

按照某种规则从总体（或大量材料）中抽取的、可以代表总体信息的单个或多个个体（或一定比

例的材料),在一定情况下,其可以作为判定该总体或其生产过程情况的依据。

[ISO 19036 3.1.1]

### 3.1.2

**实验室样品 laboratory sample**

送往实验室待检测的样本(3.1.1)。

[ISO 19036 3.1.2]

### 3.1.3

**测试样品 test sample**

依照方法标准要求,从实验室样品(3.1.2)中抽取的用于检测的样品,从中获得测试部分(3.1.4)。

[ISO 19036 3.1.3]

### 3.1.4

**测试部分 test portion**

从测试样品(3.1.3)中,称取或吸取一定量(质量或体积)的具有代表性的部分,用以制备起始稀释样品匀液。

[ISO 19036 3.1.4]

### 3.1.5

**被测量 measurand**

拟测量的量。

[JJF 1001 4.7]

### 3.1.6

**偏差 bias**

**测量偏差 measurement bias**

测量结果的期望值与可接受的参考值之间的差异。

注1:与随机误差相反,偏差是指系统误差的综合,其可能是由一个或多个系统误差引起。

注2:系统误差的估计值与接受参照值之差越大,偏差值越大。

[GB/T 3358.1 1.33]

### 3.1.7

**标准偏差 standard deviation**

对同一被测量(3.1.5)进行 $n$ 次测量,表征测量结果分散性的量。用符号 $SD$ 表示。

注1: $n$ 次测量中某单个测得值为 $x_i$ 的实验标准偏差 $SD$ 可按照贝塞尔公式计算:

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

式中: $x_i$ ——第 $i$ 次测量的测得值;

$n$ ——测量次数;

$\bar{x}$ —— $n$ 次测量所得一组测得值的算术平均值。

注2  $n$ 次测量的算术平均值 $\bar{x}$ 的实验标准偏差 $SD(\bar{x})$ 为: $SD(\bar{x}) = SD(x_i)/\sqrt{n}$

[JJF 1001 5.17]

### 3.1.8

**测量重复性 measurement repeatability**

在同一实验室,由同一操作员使用同一设备,按相同的测试方法,在较短时间间隔内对同一对象

进行测试所获得的测试结果之间的一致性。

[JJF 1001 修改 5.13]

### 3.1.9

**实验室内再现性 intralaboratory reproducibility**

**中间精密度 intermediate precision**

不同操作员使用不同设备，在同一实验室使用同一方法对同一或类似被测试样品（3.1.3）进行测试所获得的测试结果之间的一致性。

[JJF 1001 修改 5.12]

### 3.1.10

**测量不确定度 measurement uncertainty, MU**

与测量结果相关联的参数，用以表征合理赋予被测量值的分散性。

注 1：此参数可以是标准偏差或其倍数，也可以是给定置信概率的置信区间的半宽度。

注 2：测量不确定度一般由多个分量组成，其中一些分量可以用测量结果的统计分布来进行测算，并且以实验标准偏差表示；而另一些分量可以根据经验或其它信息的假定概率分布来进行测算，并且也以标准偏差表示。

注 3：测量结果应为被测量值的最佳估计。所有不确定度的分量都与分散性有关。

[GB/Z 22553 修改 3.12]

### 3.1.11

**标准不确定度 standard uncertainty**

以标准偏差表示的测量结果的不确定度

[GB/Z 22553 3.10]

### 3.1.12

**技术不确定度 technical uncertainty**

检测流程中技术步骤的操作可变性引起的不确定度。

注 1：在制备起始稀释样品匀液和后续稀释样品匀液时，技术不确定度包括从实验室样品（3.1.2）选取测试部分（3.1.4）时的取样、混匀和稀释的可变性，以及培养过程和培养基变化等因素的影响。

[ISO 19036 3.1.14]

### 3.1.13

**基质不确定度 matrix uncertainty**

测试部分（3.1.4）不能真实代表实验室样品（3.1.2）而产生的不确定度。

[ISO 19036 3.1.15]

### 3.1.14

**分布不确定度 distributional uncertainty**

微生物在样品（3.1.1）、起始稀释样品匀液和随后的梯度稀释过程中分布不均产生的不确定度。

注：含有微生物的样品匀液，基于其特性，通常采用泊松分布模型。但是，当部分结果需要进一步确认，或者使用 MPN 方法时，其分布可能不符合泊松分布。

[ISO 19036 3.1.16]

### 3.1.15

**泊松不确定度 Poisson uncertainty**

对于菌落计数法，假设微生物在样品中随机分布符合泊松分布模型而产生的不确定度。

### 3.1.16

**确证不确定度 confirmation uncertainty**

对于部分菌落计数法，需要使用确证试验对假定的目标菌总数进行修正。假设菌落为均匀分布，使用二项分布来计算某一特定结果而产生的不确定度。

## 3.1.17

**MPN 不确定度 most probable number uncertainty**

对于最可能数（MPN）法，基于多次检出或未检出结果的组合概率得到最可能数而产生的不确定度。

## 3.1.18

**合成标准不确定度 combined standard uncertainty**

当测量结果是由若干个分量的值求得时，按各分量的方差和协方差计算出的标准不确定度。

[GB/Z 22553 3.2]

## 3.1.19

**包含因子 coverage factor**

为求得扩展不确定度，合成标准不确定度所乘的数字因子。

注：包含因子  $k$  一般取值范围为 2~3。

[GB/Z 22553 3.3]

## 3.1.20

**扩展不确定度 expanded uncertainty**

确定测量结果区间的量，使被测物质的结果分布的大部分包含在此区间内。

注 1：此区间也被称为包含概率或区间的置信水平(置信概率)。

注 2：扩展不确定度应有一个明确的扩展区间，使一个特定的置信概率与扩展不确定度所规定的区间结合起来。

应对测量结果及其合成标准不确定度所表示的概率分布进行明确或隐含假设，这个区间的置信概率只有在这些假设验证成立的范围内有效。

注 3：扩展不确定度  $U$  是由合成标准不确定度  $u_c(y)$  和包含因子  $k$  计算出的： $U = k \times u_c(y)$ 。

[GB/Z 22553 3.4]

**3.2 符号**

下列符号适用于本文件。

$\Sigma C$ ：对于菌落计数方法，用于计算结果的所读取的菌落数量总和。

$n_p, n_c$ ：对于需要部分确证的菌落计数方法， $n_p$  为所测试的疑似菌落数， $n_c$  为实际确证菌落数。

$SD$ ：标准偏差

$S_R$ ：再现性标准偏差

$S_{IR}$ ：实验室内再现性或中间精密度标准偏差

$S_r$ ：重复性标准偏差

$u$ ：标准不确定度

$u_{\text{distrib}}$ ：分布不确定度

$u_{\text{tech}}$ ：技术不确定度

$u_{\text{conf}}$ ：确证不确定度

$u_{\text{matrix}}$ ：基质不确定度

- $u_{\text{MPN}}$ : 最可能数不确定度  
 $u_{\text{Poisson}}$ : 泊松不确定度  
 $u_c(y)$ : 合成标准不确定度  
 $k$ : 包含因子  
 $U$ : 扩展不确定度 =  $k \times u_c(y)$

## 4 总则

### 4.1 不确定度分量

测量不确定度常常包含多个分量。在食品微生物定量检测中，定值或参考量值通常不适用，通常通过关键技术因素的优化和控制得到最佳估计值，而不考虑系统误差的评估和修正。本文件考虑以下三个不同类型的不确定度分量：

- a) 技术不确定度  $u_{\text{tech}}$ ；
- b) 基质不确定度  $u_{\text{matrix}}$ ；
- c) 分布不确定度  $u_{\text{distrib}}$ 。

技术不确定度（5）仅仅由操作的可变性引起，其是某一测量方法（如 ISO 4833-1、GB 4789.2、GB 4789.10 等）的固有变异特征，一种测量方法的技术不确定度计算结果不适用于另一种测量方法；通常在再现性条件下（5.2.2.2），基于某食品基质样品至少 10 组测量的最终结果（详见表 1、表 2 或表 A.1），计算技术不确定度（5.2.2.3），而不需要对测量过程中每个独立步骤产生的不确定度进行逐一计算。

注 1：在实验室关键环节受控不变的情况下，特定微生物定量水平下测量方法的技术不确定度可认为是固有不变的，与食品基质类型无关。

注 2：“某食品基质样品”宜为易于均质，并且污染水平满足 5.2.2.3.1 的实验室样品，如奶粉、果汁等。

基质不确定度（6）来自对实验室样品混合的不均匀，由此导致测试部分之间微生物水平再现性差。在固体基质中，基质不确定度会偏高，尤其在成分复杂的食品中表现更加明显。基质不确定度应对每种基质分别进行计算（6）。

分布不确定度（7）由微生物的随机分布导致，即使是均匀性好的样品，也会存在分布不确定度。分布不确定度类型取决于所使用的检测方法：

- a) 对于菌落计数法，泊松不确定度（7.2）或/和确证不确定度（7.3）。
- b) 对于最可能数法（MPN），MPN 不确定度（7.4）。

对每一类型的分布不确定度均可基于数学方法进行计算。技术不确定度通常是以上三个不确定度分量中最大的。

### 4.2 合成不确定度

本文件提供了两种方法来评估检测结果的合成不确定度：

- a) 分别计算报告值的技术不确定度分量（5）、基质不确定度分量（6）和分布不确定度分量（7），然后将三个分量合并（8.1.2）。
- b) 根据实验室规定以及客户要求，可仅基于技术不确定度报告结果。

## 5 技术不确定度



## 5.1 不确定度主要来源的识别

### 5.1.1 关键技术因素

与菌落计数法或 MPN 法技术不确定度相关的关键操作环节包括：

- a) 从实验室（或测试）样品中称取或吸取测试部分；
- b) 制备起始稀释样品匀液；
- c) 连续梯度稀释；
- d) 接种；
- e) 培养；
- f) 菌落计数过程和/或生长状况（如 MPN 法）；
- g) 确证（适用时）。



图 1 食品微生物学测量不确定度的主要来源

图 1 列出了食品微生物学定量检测的测量不确定度的主要来源。其中，可能影响不确定度且应加以控制的关键技术因素，包括培养基和/或试剂的来源和类型、样品稀释、接种和培养过程、计数方法（人工计数或自动计数）以及操作不同人员（操作团队）的变化等。

### 5.1.2 抽样不确定度

抽样不确定度，即从一批带抽检样品中抽取实验室样品（3.1.2）产生的误差，可能会对总体误差产生显著影响，但它不是测量不确定度本身的一部分，本文件不予以考虑。

## 5.2 技术不确定度的评估

### 5.2.1 概述

使用最终测量结果的重现性标准偏差 ( $S_R$ ) 计算技术不确定度。持续进行测量不确定度评估十分重要，表明测试结果在受控范围内。当任何可能会显著影响结果的关键技术因素（5.1.1）发生变更时，应重新评估技术不确定度。

再现性标准偏差的计算均基于对同类样品的重复检测，一般有三种方案，其优先顺序为：

- a) 第一方案：实验室内再现性，即某一实验室内评估的再现性；
- b) 第二方案：实验室间方法确认结果的再现性；
- c) 第三方案：实验室间能力验证结果的再现性。

本文件仅对第一方案进行了规定（5.2.2）。实验室可参考 GB/Z 22553，评估第二方案和第三方案的技术不确定度。

### 5.2.2 实验室内再现性标准偏差 ( $S_{IR}$ )

### 5.2.2.1 概述

根据不确定度（3.1.8）的定义，实验室可将评估的测量不确定度值体现在报告结果上，因此，实验室内再现性标准偏差是评估技术不确定度是首选。本条款中描述的实验方案应充分考虑 5.1.1 所列举的关键技术因素。

### 5.2.2.2 实验方案

#### 5.2.2.2.1 概述

图 2 为从每份实验室样品中称取或吸取两个测试部分进行分析的实验方案，相应的计算方法见 5.2.2.3。对实验室样品取多于两个测试部分的实验方案和计算方法详见附录 A。

任意一种测量方法，至少需要对 10 个实验室样品进行检测，每个实验室样品至少得到 2 个可接受的结果，5.2.2.3.1 规定了结果的可接受值，具体操作流程详见图 2。所收集数据可以来自实验室的特定实验方案，也可以通过实验室日常质量控制累积；如为后者，则应符合本条款实验方案。

注 1：如果实验室难以按照图 2 方案（1）进行测试样品前处理，可用图 2 方案（2）替代。

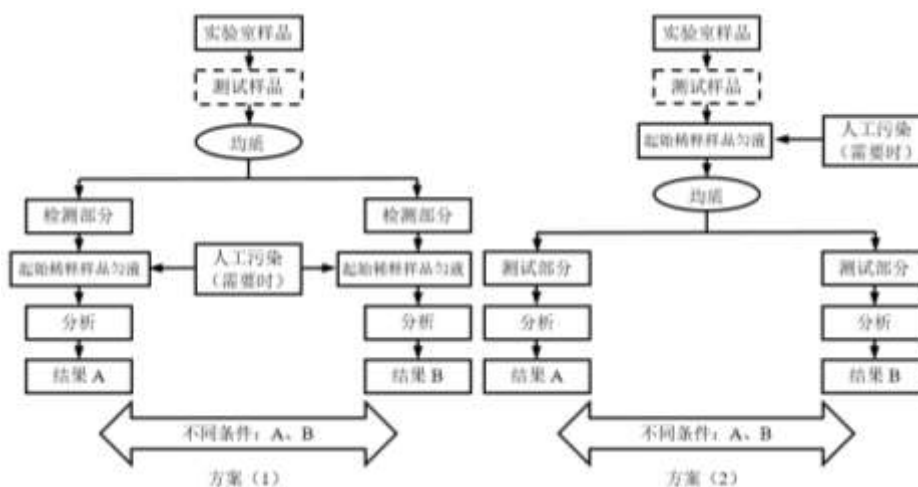


图 2 每份实验室样品取 2 个测试部分的技术不确定度评估实验方案

#### 5.2.2.2.2 实验室样品的选择

设计实验室内再现性实验时，应降低因实验室样品不均匀造成的影响，可根据 SN/T3266 附录 A 所规定的相同或同类食品基质样品进行室内再现性试验。

实验室样品应优先选用自然污染食品样品，以便得出真实的测量不确定度，从而更好地表征自然污染样品的测量结果。如果需要人工染菌，污染水平应贴近自然水平，详见 RB/T 037。

#### 5.2.2.2.3 实验室样品的制备

为尽可能降低基质不确定度的影响，实验室样品应通过合适的方法进行均质。在称取或吸取测试部分之前，实验室应充分混匀各类测试样品（6.1）。

#### 5.2.2.2.4 测试部分

从每份实验室样品（或测试样品）中至少称取或吸取 2 个测试部分进行再现性平行测试。

#### 5.2.2.2.5 样品初级混悬液、人工染菌（需要时）和分析条件

需要人工染菌时，应在初级稀释液中进行。人工染菌样品制备的具体操作步骤详见 RB/T 037。

按相关检测方法的常规检验流程，对每个测试部分进行分析（例如：制备 10 倍梯度系列稀释液，每个稀释倍数接种 1 个或 2 个平板）。对 2 个测试部分进行测试的条件 A 和 B 应尽可能不同，并应尽可能涵盖实验室常见的所有技术不确定度来源（5.1.1），这些来源包括但不限于：

- a) 不同批次的培养基、试剂和滤膜；
- b) 不同人员；
- c) 不同设备（例如：涡旋混匀器、均质器、pH 计、培养箱等）；
- d) 不同分析时间等。

如果食品中微生物污染水平不稳定，应在同一天内快速完成再现性平行测试；如果食品中微生物污染水平相对稳定（这种情况在食品微生物学中比较少见），再现性平行测试可以超过一天。

为了最大化体现再现性平行测试间的差异，并体现实验室实际测试的真实情况，测试所有实验室样品的条件应尽可能不同。如果样品 1 由实验人员 A 用批号为 B 的培养基完成检验，那么样品 2 由实验人员 B 使用批号为 A 的培养基完成检验。

### 5.2.2.3 计算

#### 5.2.2.3.1 可接受的结果

对于菌落计数法（如 GB 4789.2），需保证有足够多的菌落数用于计算，应保证至少有一个稀释度的菌落数量在 30 CFU/平板~300 CFU/平板之间。

注 1：其他具体检测方法明确规定了可接受的菌落计数范围时，则按规定执行。

对于包含部分确证的方法（如 GB 4789.10、GB 4789.41），利用至少二分之一的疑似菌应被确证为目标菌时的结果，即  $n_c \geq n_p/2$ （符号见 3.2）时结果可接受结果，而  $n_c < n_p/2$  时结果不被利用。

对于基于 MPN 的方法，15 管法时每个独立样品的结果，阳性管数合计小于 5 个阳性结果的应被排除；9 管法时每个独立样品的结果，阳性管数合计小于 3 个阳性结果的应被排除。

注 1：例如对于 9 管法或 15 管法，仅仅利用阳性管数合计大于 3 管或 5 管的结果。

注 2：3 管或 5 管阳性检测结果的限值与单次检测结果中所有被测稀释液的阳性结果之和有关，与阴性结果数或总测试结果数无关。

#### 5.2.2.3.2 实验室内再现性标准偏差

满足实验方案（5.2.2.2）时， $n$  ( $n \geq 10$ ) 个实验室样品，每个实验室样品得到两个可接受的试验数据  $x_{iA}$  和  $x_{iB}$ 。在计算之前，对  $x_{iA}$  和  $x_{iB}$  进行常用对数转换后得到  $y_{iA}$  和  $y_{iB}$ ，然后用公式（1）计算实验室内再现性标准偏差  $S_{IR}$ 。如果每个实验室样品得到两个以上可接受的试验数据，参照附录 A 的计算方法。

为确保精确，计算过程中不应进行数值修约。

$$S_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$S_{IR}$ ——实验室内再现性标准偏差；

$n$ ——给定基质样品数量；

$i$ ——样品序号， $i=1 \sim n$  ( $n \geq 10$ )；

$y_{iA}$ ——在条件 A 下得出的数值，单位为  $\log_{10}$  (CFU/g) 或  $\log_{10}$  (CFU/mL)；

$y_{iB}$ ——在条件 B 下得出的数值，单位为  $\log_{10}$  (CFU/g) 或  $\log_{10}$  (CFU/mL)。

表 1 为按照某检测方法（如 ISO 4833-1 和 ISO 7218），每个测试部分进行梯度稀释，选择两个适

宜稀释度，每个稀释度接种 1 个琼脂平板，计算实验室内再现性标准偏差的示例。

表 1 实验室内再现性标准偏差计算

实验室样品 <i>i</i>	测试部分 <i>j</i>	稀释因子 ( <i>d</i> ) 菌落计数 ( <i>C</i> )				菌落总数 $\Sigma C_{ij}$	菌落总数的加 权平均数 (CFU/g 或 mL) $x_{ij}$	加权平均数对 数转换值 ( $\log_{10}$ CFU/g 或 mL) $y_{ij}=\log_{10}(x_{ij})$	差值 ( $\log_{10}$ CFU/g 或 mL) $y_{iA}-y_{iB}$	平方差 ( $y_{iA}-y_{iB}$ ) <sup>2</sup>
		<i>d</i> <sub>1</sub>	<i>C</i> <sub>1</sub>	<i>d</i> <sub>2</sub>	<i>C</i> <sub>2</sub>					
1	A	3	102	4	8	110	$1.0 \times 10^5$	5.0000	0.2421	0.0586
1	B	3	59	4	4	63	$5.7 \times 10^4$	4.7579		
2	A	5	61	6	6	67	$6.1 \times 10^6$	6.7847	-0.0432	0.0019
2	B	5	66	6	8	74	$6.7 \times 10^6$	6.8278		
3	A	4	168	5	18	186	$1.7 \times 10^6$	6.2281	0.3010	0.0906
3	B	4	86	5	7	93	$8.5 \times 10^5$	5.9271		
4	A	5	266	6	25	291	$2.6 \times 10^7$	7.4225	0.2708	0.0733
4	B	5	140	6	16	156	$1.4 \times 10^7$	7.1517		
5	A	6	45	7	5	50	$4.5 \times 10^7$	7.6576	0.5406	0.2923
5	B	5	129	6	15	144	$1.3 \times 10^7$	7.1170		
6	A	4	129	5	12	141	$1.3 \times 10^6$	6.1078	0.0454	0.0021
6	B	4	117	5	10	127	$1.2 \times 10^6$	6.0624		
7	A	2	92	3	8	100	$9.1 \times 10^3$	3.9586	-0.1584	0.0251
7	B	2	131	3	13	144	$1.3 \times 10^4$	4.1170		
8	A	3	139	4	13	152	$1.4 \times 10^5$	5.1405	-0.0168	0.0003
8	B	3	143	4	15	158	$1.4 \times 10^5$	5.1573		
9	A	1	49	2	5	54	$4.9 \times 10^2$	2.6910	-0.4199	0.1763
9	B	1	129	2	13	142	$1.3 \times 10^3$	3.1109		
10	A	4	142	5	13	155	$1.41 \times 10^6$	6.1489	0.7872	0.6197
10	B	3	227	4	26	253	$2.30 \times 10^5$	5.3617		
和=								1.3401		
1.3401/(2×10)=								0.0670		
$S_{IR}=\sqrt{0.067}$ =								0.2589		
$x_{ij}$ ——测试部分在条件 A 或 B 下所得菌落总数的加权平均数，例如： $x_{iB}=10^{d1} \times \frac{\Sigma C_{iB}}{1.1} = 10^3 \times \frac{63}{1.1} = 10^3 \times 57.3 = 5.73 \times 10^4$ 。										

表 2 为按照某检测方法（如 GB4789.2），对 10 个市售散装奶粉样品均质后称取 2 个测试部分，在条件 A 和条件 B 下每个测试部分进行 10 倍递增系列稀释，选择两个适宜稀释度，每个稀释度接种 2 个平板计数琼脂培养基，培养后按照 GB4789.2 的规定读取菌落数，并分别计算条件 A 和条件 B 下的菌落总数的加权平均数，最后用公式（1）计算实验室内再现性标准偏差  $S_{IR}$  的示例（见表 2）。

表 2 市售散装奶粉样品中菌落总数的实验室内再现性标准偏差计算

实验室样品 <i>i</i>	条件 A 时菌落总数的加权平均数 (CFU/g) $x_{iA}$	条件 B 时菌落总数的加权平均数 (CFU/g) $x_{iB}$	条件 A 时加权平均数 对数转换值 ( $\log_{10}$ CFU/g) $y_{iA} = \log_{10}(x_{iA})$	条件 B 时加权平均数 对数转换值 ( $\log_{10}$ CFU/g) $y_{iB} = \log_{10}(x_{iB})$	平方差 ( $y_{iA}-y_{iB}$ ) <sup>2</sup>
1	$6.7 \times 10^4$	$8.7 \times 10^4$	4.83	4.94	0.0128
2	$7.1 \times 10^6$	$6.2 \times 10^6$	6.85	6.79	0.0034
3	$3.5 \times 10^5$	$4.4 \times 10^5$	5.54	5.64	0.0098

4	$1.0 \times 10^7$	$4.3 \times 10^6$	7.00	6.63	0.1344
5	$1.9 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$	7.28	7.23	0.0024
6	$2.3 \times 10^5$	$1.5 \times 10^5$	5.36	5.18	0.0344
7	$5.3 \times 10^8$	$4.1 \times 10^8$	8.72	8.61	0.0124
8	$1.0 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$	4.00	4.08	0.0062
9	$3.0 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$	4.48	4.11	0.1318
10	$1.1 \times 10^8$	$2.2 \times 10^8$	8.04	8.34	0.0906
				和=	0.4382
				$0.4382/(2 \times 10) =$	0.02191
				$S_{IR} = \sqrt{0.02191} =$	0.15

## 6 基质不确定度

### 6.1 概述

基质不确定性表示给定食品基质中微生物分布的影响，即从同一实验室样品中称取或吸取不同检测部分的检验结果之间的差异，其反映了单个检测部分不能代表整个实验室样品的微生物污染程度。依据物理性状，可将基质分为以下四类。

a) 非粘流动性液体（如果汁、牛奶、可可奶等）；

b) 充分混合的固体（如肉糜、机械分割的肉类、香肠肉、碎肉、打过泡的奶油、牛奶冰淇淋、大豆乳脂等等）；

c) 小颗粒固体和粉末（如奶粉、脱水欧芹、蘑菇、胡萝卜、块根芹丁、色拉、虾、谷物、碎榛子仁等）；

d) 其他固体（没有绞碎的肉、奶酪、面点、酸奶等等）。

如果 a) 类食品基质，其本身均匀性好，基质不确定度较小；如果 b)、c) 和 d) 类食品基质，其基质不确定度较大，可通过增加测试部分取样量来降低其不确定度。基质不确定度不受检测方法的影响，同一种基质的不确定度评估适用于该基质的所有定量检测。关于基质的影响和基质不确定度更多详细内容，见附录 B。

6.2 至 6.3 中规定了三种评估基质不确定度的方式：

a) 对于均匀性良好的实验室样品，其基质不确定度较小，可以使用定值（最小值）（6.2）；

b) 从实验室样品中称取或吸取多个测试部分，计算样品的重复性标准偏差（ $S_r$ ），从而确定样品内基质的不确定度（6.3）；

c) 已知基质和方法的相关特征，根据先前经验进行计算（6.4）。

### 6.2 对于均匀性良好的实验室样品

非粘性液体的均匀性良好，具有相对低的基质不确定度，在称取或吸取测试部分时经过充分均质，基质不确定度可以使用定值， $u_{\text{matrix}} = 0.1 \log_{10} \text{CFU/g}$  或  $\text{CFU/mL}$ 。

注：实验室采用 5.2.2.2.1 的图 2 方案（2）或附录 A 的图 A.1 方案（2）时，可直接利用基质不确定度  $u_{\text{matrix}} = 0.1 \log_{10} \text{CFU/g}$  或  $\text{CFU/mL}$ 。

### 6.3 对于从实验室样品中称取或吸取多个测试部分

基质不确定度可以由实验室内样品的重复性标准偏差来计算，即在重复性条件下对单个实验室样品中多个测试部分进行分析。实验方案见图 3。

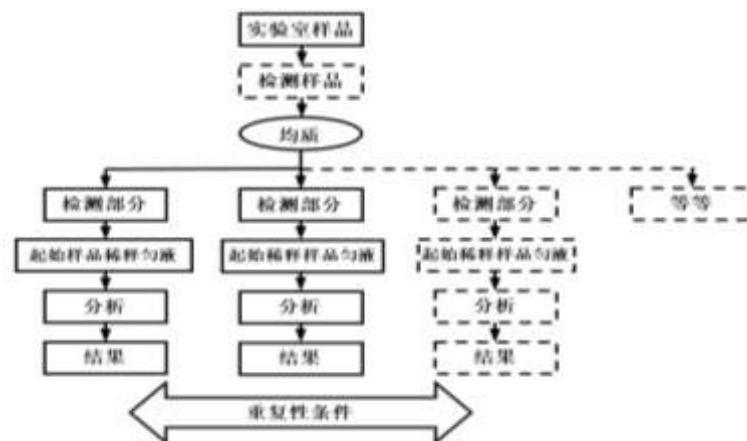


图3 每份实验室样品至少取2个测试部分的基质不确定度评估实验方案

由于人工染菌无法反映真实的基质不确定度，因此优先使用自然污染的样品。基质不确定度不会受被测目标菌和检测方法的影响，所以应选择自然污染样品中容易被检测到的目标菌，如嗜温需氧菌、肠杆菌科或嗜热芽孢杆菌等。

应保证从每个实验室样品中所称取或吸取测试部分总数比实验室样品总数至少多10个。对于所有的测试部分均来自同一个实验室样品，从1个实验室样品中至少称取或吸取11个测试部分；对于测试部分来自多个同类实验室样品，例如从10个实验室样品中的每个样品至少称取或吸取2个测试部分。

根据5.2.2.3.1界定可接受结果，选择合适的检测方法评估基质不确定度，可按照附录A计算重复性标准偏差。对于单个实验室样品， $u_{\text{matrix}}$ 为常用对数转换后菌落数的标准偏差SD；对于多个实验室样品，利用常用对数转换后菌落数的单因素方差分析(ANOVA)。

#### 6.4 对于基质和方法的相关特征已知时

实验室可以根据以往的经验来评估样品的基质不确定度，即根据之前对某种基质的多个测试部分分析得到的基质不确定度，可以作为相似基质的基质不确定度。评价基质之间是否相似，可参考SN/T 3266的附录A。

实验室可以使用来源于其他权威实验室测得的基质不确定度，同样实验室获得的基质不确定度值可以作为其他实验室样品基质不确定度的近似值。

注：附录B.2给出了欧盟参考实验室研究食品样品的基质不确定度结果，实验室可参考利用。

## 7 分布不确定度

### 7.1 概述

食品中微生物个体的随机分布产生分布不确定度。根据微生物测量方法的特点，按照7.2至7.4所述，用每个单独结果的值计算分布不确定度。

### 7.2 菌落计数法——泊松不确定度( $u_{\text{Poisson}}$ )

基于菌落计数的方法，分布不确定度取决于计算结果时所使用的菌落总数 $\Sigma C$ 。

表3列出了菌落总数( $\Sigma C$ )为1到40时的 $u_{\text{Poisson}}$ ，单位为 $\log_{10}$ 。如果无菌落生长( $\Sigma C=0$ )，则 $u_{\text{Poisson}}=0.434$ 。

表3 菌落总数值( $1 \leq \Sigma C \leq 40$ )对应的 $u_{\text{Poisson}}$

$\Sigma C$	$u_{\text{Poisson}}$	$\Sigma C$	$u_{\text{Poisson}}$	$\Sigma C$	$u_{\text{Poisson}}$	$\Sigma C$	$u_{\text{Poisson}}$
1	0.434	11	0.131	21	0.095	31	0.078
2	0.307	12	0.125	22	0.093	32	0.077
3	0.251	13	0.120	23	0.091	33	0.076
4	0.217	14	0.116	24	0.089	34	0.074
5	0.194	15	0.112	25	0.087	35	0.073
6	0.177	16	0.109	26	0.085	36	0.072
7	0.164	17	0.105	27	0.084	37	0.071
8	0.154	18	0.102	28	0.082	38	0.070
9	0.145	19	0.100	29	0.081	39	0.070
10	0.137	20	0.097	30	0.079	40	0.069

如果  $\Sigma C$  是表 3 以外的其他菌落总数  $\Sigma C$ ，则可用公式 (2) 计算对应的  $u_{\text{Poisson}}$ ：

$$u_{\text{Poisson}} = \frac{1/\ln(10)}{\sqrt{\Sigma C}} = \frac{0.4343}{\sqrt{\Sigma C}} \dots \dots \dots (2)$$

假设  $\Sigma C=100$  时，则  $u_{\text{Poisson}} = \frac{0.4343}{\sqrt{100}} = \frac{0.4343}{10} = 0.04343$ 。

如果  $\Sigma C$  值很大，且其他不确定度分量也很大时， $u_{\text{Poisson}}$  分量可以忽略不计。

### 7.3 菌落计数法——确证不确定度 ( $u_{\text{conf}}$ )

有些菌落计数法（如 GB 4789.3、GB 4789.10、GB 4789.41 等）需要对疑似菌落进行确证，从而根据确证结果对目标菌落总数进行修正，宜将菌落视为均匀分布，使用二项分布来计算某一特定结果的分布不确定度。

假设对  $n_p$  个疑似菌落进行了确证试验，其中  $n_c$  个菌落被确证为目标菌，则  $n_c/n_p$  为假定菌落总数修正成确证菌落数时的被乘数，即修正系数。表 4 列出了疑似菌落数  $n_p$ 、确证菌落数  $n_c$ ，以及  $n_p$  和  $n_c$  关联相应的  $u_{\text{conf}}$  值。

表 4 被测试疑似菌落数 ( $n_p$ ) 和确证菌落数 ( $n_c$ ) 值及对应的  $u_{\text{conf}}$  的常用对数值

确证菌落数 ( $n_c$ )	被测试疑似菌落数 ( $n_p$ )			
	5	10	15	20
1	0.3554	0.4302	0.4605	0.4769
2	0.2023	0.2627	0.2868	0.2999
3	0.1349	0.1946	0.2177	0.2300
4	0.0888	0.1541	0.1776	0.1900
5	0.0454	0.1254	0.1501	0.1628
6		0.1027	0.1293	0.1427
7		0.0834	0.1126	0.1268
8		0.0657	0.0986	0.1136
9		0.0478	0.0862	0.1024
10		0.0261	0.0750	0.0926
11			0.0646	0.0838
12			0.0544	0.0757

13			0.0441	0.0683
14			0.0329	0.0611
15			0.0183	0.0543
16				0.0475
17				0.0406
18				0.0333
19				0.0251
20				0.0141

可以用公式(3)进行计算表4以外的其他 $u_{conf}$ 值。

$$u_{conf} = \frac{1}{2.303} \sqrt{\frac{(n_c+0.5)(n_p-n_c+0.5)n_p^2}{(n_p+1)^2(n_p+2)n_c^2}} \dots\dots\dots (3)$$

如果确证菌落数  $n_c=0$ ，计算  $u_{conf}$  时则取  $n_c=1$ 。

#### 7.4 基于最可能数法的不确定度 ( $u_{MPN}$ )

最可能数不确定度 $u_{MPN}$ 以  $\log_{10}MPN$  的标准偏差表示，即 $u_{MPN}=SD \log_{10}MPN$ ，其数值仅与总管数和阳性管数相关，与所选择的样品稀释梯度无关。对于9管法和15管MPN法，不同接种量的阳性管数所对应的 $u_{MPN}$ 值，可从附录C检索。

对于需要对疑似阳性结果进行确证的MPN法，在计算MPN值及不确定度时应基于已确证的阳性结果数。

### 8 合成不确定度和扩展不确定度

#### 8.1 合成不确定度

##### 8.1.1 基于技术不确定度、基质不确定度和分布不确定度的合成不确定度

计算合成不确定度时，先计算技术不确定度的平方、基质不确定度的平方以及相关的分布不确定度的平方，将这些平方相加后开平方得到对应的合成不确定度。某个分量的不确定度小于最大不确定度分量五分之一时，该分量的影响忽略不计，不列入合成不确定度的计算。

不是所有检测方法都包含上述所有不确定度分量，不同检测方法的不确定度分量不同：

a) 仪器分析法（如阻抗测量法、ATP法和流式细胞计数法），不需要菌落计数时，按公式(4)计算合成不确定度。

$$u_c(y) = \sqrt{u_{tech}^2 + u_{matrix}^2} \dots\dots\dots (4)$$

b) 菌落计数法（如GB 4789.2、GB 4789.15），不需要对可疑菌进行确证时，按公式(5)计算合成不确定度。

$$u_c(y) = \sqrt{u_{tech}^2 + u_{matrix}^2 + u_{Poisson}^2} \dots\dots\dots (5)$$

c) 菌落计数法（如GB 4789.10第二法、GB 4789.41第一法），需要对可疑菌进行确证时，按公式(6)计算合成不确定度。

$$u_c(y) = \sqrt{u_{tech}^2 + u_{matrix}^2 + u_{Poisson}^2 + u_{conf}^2} \dots\dots\dots (6)$$



d) 对于 MPN 法（如 GB 4789.3 第一法、GB 4789.39），按公式（7）计算合成不确定度。

$$u_c(y) = \sqrt{u_{tech}^2 + u_{matrix}^2 + u_{MPN}^2} \dots \dots \dots (7)$$

### 8.1.2 只基于再现性标准偏差的合成不确定度

根据实验室规定和客户要求，可仅利用实验室内再现性标准偏差计算合成不确定度，见公式（8）。

$$u_c(y) = S_{IR} \dots \dots \dots (8)$$

### 8.2 扩展不确定度

通过合成不确定度（8.1）和选定的包含因子（ $k$ ）来计算扩展不确定度。本文件中， $k$ 值等于 2（相当于 95% 的置信水平），扩展不确定度  $U$  的计算见公式（9）：

$$U = 2 \times u_c(y) \dots \dots \dots (9)$$

### 8.3 合成不确定度和扩展不确定度相关示例

合成不确定度和扩展不确定示例详见附录 D。

## 9 检测报告中测量不确定度的表示方法

根据 8.1.1 的规定，应按以下两种方式报告测量不确定度（MU）：

- a) 技术不确定度、基质不确定度以及相关的分布不确定度进行综合评估；
- b) 根据实验室规定以及客户要求，可仅以技术不确定度进行评估。

当检测报告中需要体现 MU 时，报告中应明确地表述 MU 是扩展不确定度，同时还应包括置信水平以及 MU 按本文件进行评估的声明，例如：“报告的扩展测量不确定度依据 RB/T151-202X 进行评估，基于合成不确定度乘以包含因子  $k=2$ ，置信水平 95%”。

如果 MU 仅基于技术不确定度，则检测报告中应进行明确声明，例如：“报告的扩展测量不确定度依据 RB/T151-202X 进行评估，基于合成不确定度乘以包含因子  $k=2$ ，置信水平 95%。合成不确定度等于实验室内的再现性标准偏差。”

MU 的单位应与检测结果的单位一致，报告 MU 时保留两位有效数字。报告中的测量结果值应修约成与扩展不确定度相同位数的有效数字。修约应在最后进行，以避免修约误差累计造成的影响。

在报告中，扩展不确定度与检测结果一起体现，以  $\log_{10}$  对数值或自然值（CFU/g 或 CFU/mL）表示如下：

- a)  $\log_{10}$  结果  $\pm U$ :  $y \pm U \log_{10}$  CFU/g 或 CFU/mL;  
例如:  $(5.00 \pm 0.31) \log_{10}$  CFU/g;
- b)  $\log_{10}$  结果加限值:  $y \log_{10}$  CFU/g 或 CFU/mL [ $y-U$ ;  $y+U$ ];  
例如:  $5.00 \log_{10}$  CFU/g [4.7; 5.3];
- c) 自然值加限值:  $x \log_{10}$  CFU/g 或 CFU/mL [ $10^{y-U}$ ;  $10^{y+U}$ ];  
例如:  $1.0 \times 10^5$  CFU/g [ $4.9 \times 10^4$ ;  $2.0 \times 10^5$ ].

附录 A (资料性附录)

用 2 个或 2 个以上测试部分计算实验室内再现性标准偏差和基质不确定度标准偏差

条款 5.2.2.2 规定了每个实验室样品取 2 个测试部分得到实验室内再现性标准偏差的实验方案。每个实验室样品取 2 个以上的测试部分和 (或) 对不同样品取不同数量的测试部分的实验方案见图 A.1。

注：如果实验室难以按照图 A.1 方案 (1) 进行测试样品前处理，可用图 A.1 方案 (2) 替代。

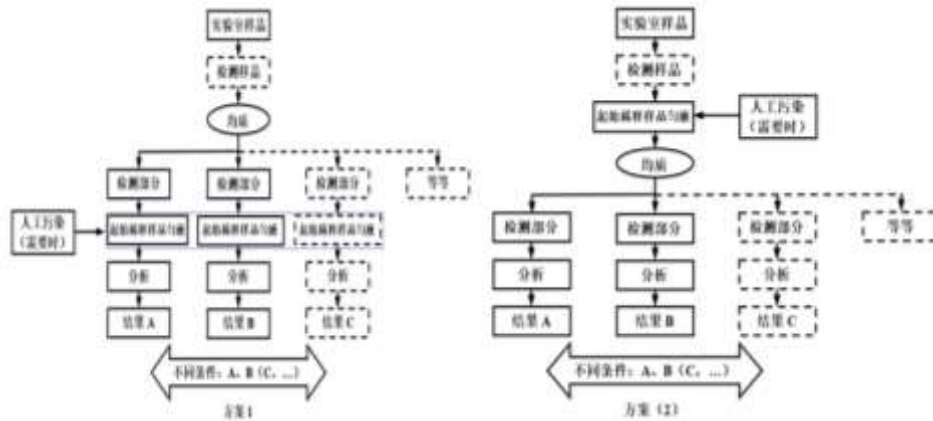


图 A.1 每个实验室样品取 2 个或 2 个以上测试部分的实验方案

该实验方案与样品取多个测试部分评估重复性标准偏差 $S_r$  (见 6.3) 类似，并且计算方法完全一样。

标准偏差计算方法如下：在不同情况下，假设有  $n$  个实验室样品，从实验室样品  $i$  取  $p_i$  ( $i=1, 2, \dots, n$ ) 个测试部分，样品  $i$  的测试部分  $j$  的结果，用  $x_{ij}$  CFU/g 或 mL 表示。计算标准偏差  $S_{IR}$  或  $S_r$ ，如公式 A.1 和 A.2 所示：

$$S_{IR} \text{ 或 } S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{p_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (p_i - 1)}} \dots \text{A.1}$$

$$\bar{y}_i = \frac{\sum_{j=1}^{p_i} y_{ij}}{p_i} \dots \text{A.2}$$

式中：

$S_{IR}$ ——实验室内再现性或中间精密度标准偏差；

$S_r$ ——重复性标准偏差；

$i$ ——实验室样品编号 ( $i=1, 2, \dots, n$ )；

$j$ ——从实验室样品  $i$  中取的测试部分的份数 ( $j=1, 2, \dots, p_i$ )；

$x_{ij}$ ——样品  $i$  的测试部分  $j$  的结果，单位是 CFU/g 或 mL；

$y_{ij}$ —— $x_{ij}$  的常用对数，即  $y_{ij} = \log_{10} x_{ij}$  CFU/g 或 mL。

表 A.1 为多个测试部分结果标准偏差计算的示例。

表 A.1 多个实验室样品多个测试部分菌落计数结果的标准偏差计算

实验室 样品	测试 部分	稀释因子 ( $d$ ) 菌落计数 ( $C$ )				菌落 总数	菌落总数的 加权平均数 (CFU/g 或 mL)	加权平均数 对数转换值 ( $\log_{10}$ CFU/g 或 mL)	平均数	平均数 方差	自由度 $p_i - 1$
$i$	$j$	$d_1$	$C_1$	$d_2$	$C_2$	$\sum C_{ij}$	$x_{ij}$	$y_{ij} = \log_{10} x_{ij}$			
1	A	3	102	4	8	110	$1.00 \times 10^5$	5.0000	5.0520	2	
1	B	3	59	4	4	63	$5.73 \times 10^4$	4.7579			
1	C	3	248	4	27	275	$2.50 \times 10^5$	5.3979			
2	A	5	61	6	6	67	$6.09 \times 10^6$	6.7847	6.8063	1	
2	B	5	66	6	8	74	$6.73 \times 10^6$	6.8278			
3	A	4	168	5	18	186	$1.69 \times 10^6$	6.2281	6.1191	3	
3	B	4	86	5	7	93	$8.45 \times 10^5$	5.9271			
3	C	4	95	5	12	107	$9.73 \times 10^5$	5.9880			
3	D	4	216	5	21	237	$2.15 \times 10^6$	6.3334			
4	A	5	266	6	25	291	$2.65 \times 10^7$	7.4225	7.2871	1	
4	B	5	140	6	16	156	$1.42 \times 10^7$	7.1517			
5	A	6	45	7	5	50	$4.55 \times 10^7$	7.6576	7.3873	1	
5	B	5	129	6	15	144	$1.31 \times 10^7$	7.1170			
6	A	4	129	5	12	141	$1.28 \times 10^6$	6.1078	6.0851	1	
6	B	4	117	5	10	127	$1.15 \times 10^6$	6.0624			
7	A	2	92	3	18	100	$9.09 \times 10^3$	3.9586	4.0830	2	
7	B	2	131	3	13	144	$1.31 \times 10^4$	4.1170			
7	C	2	149	3	15	164	$1.49 \times 10^4$	4.1735			
8	A	3	139	4	13	152	$1.38 \times 10^5$	5.1405	5.1489	1	
8	B	3	143	4	15	158	$1.44 \times 10^5$	5.1573			
9	A	1	49	2	5	54	$4.91 \times 10^2$	2.6910	2.9812	3	
9	B	1	129	2	13	142	$1.29 \times 10^3$	3.1109			
9	C	1	88	2	7	95	$8.64 \times 10^2$	2.9363			
9	D	1	151	2	18	169	$1.54 \times 10^3$	3.1865			
10	A	4	142	5	13	155	$1.41 \times 10^6$	6.1489	5.7553	1	
10	B	3	227	4	26	253	$2.30 \times 10^5$	5.3617			
求和									0.98544	16	
									$0.9854/16=0.06159$		
									$S_{IR} = \sqrt{0.06159} = 0.24817$		

作为手动计算方法的替代方式，当所需要的标准偏差是组内均方差的平方根时，可选用便于运行单因素方差分析（ANOVA）的工具快捷计算出标准偏差。例如：通过 Excel 对表 A.1 中  $y_{ij}$  进行单因素方差分析，运算后得到样品内的均方差是 0.06159，此时： $S_{IR} = \sqrt{0.06159} = 0.24817$ ，见表 A.2。

注：当每个实验室样品只有 2 个值的时候，方差分析方法也适用。

表 A.2 使用单因素方差分析法计算多个样品的实验室内再现性标准偏差

实验室样 品 $i$	菌落总数的加权平均数 (CFU/g 或 mL) $x_{ij}$	加权平均数对数转换值 ( $\log_{10}$ CFU/g 或 mL) $y_{ij} = \log_{10} x_{ij}$
1	$1.00 \times 10^5$ $5.73 \times 10^4$ $2.50 \times 10^5$	5.0000 4.7579 5.3979
2	$6.09 \times 10^6$ $6.73 \times 10^6$	6.7847 6.8278
3	$1.69 \times 10^6$ $8.45 \times 10^5$ $9.73 \times 10^5$ $2.15 \times 10^6$	6.2281 5.9271 5.9880 6.3334

4	2.65×10 <sup>7</sup>	1.42×10 <sup>7</sup>	7.4225	7.1517		
5	4.55×10 <sup>7</sup>	1.31×10 <sup>7</sup>	7.6576	7.1170		
6	1.28×10 <sup>6</sup>	1.15×10 <sup>6</sup>	6.1078	6.0624		
7	9.09×10 <sup>3</sup>	1.31×10 <sup>4</sup>	1.49×10 <sup>4</sup>	3.9586	4.1170	4.1735
8	1.38×10 <sup>5</sup>	1.44×10 <sup>5</sup>	5.1405	5.1573		
9	4.91×10 <sup>2</sup>	1.29×10 <sup>3</sup>	8.64×10 <sup>2</sup>	1.54×10 <sup>3</sup>	2.6910	3.1109 2.9363 3.1865
10	1.41×10 <sup>6</sup>	2.30×10 <sup>5</sup>	6.1489	5.3617		
方差分析：单因素方差分析						
样品	测试部分数量	求和	平均	方差		
样品 1	3	15.1558	5.051933	0.104423		
样品 2	2	13.6125	6.80625	0.000929		
样品 3	4	24.4766	6.11915	0.037286		
样品 4	2	14.5742	7.2871	0.036666		
样品 5	2	14.7746	7.3873	0.146124		
样品 6	2	12.1702	6.0851	0.001031		
样品 7	3	12.2491	4.083033	0.012411		
样品 8	2	10.2978	5.1489	0.000141		
样品 9	4	11.9247	2.981175	0.048401		
样品 10	2	11.5106	5.7553	0.309842		
方差分析						
差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
样品间	51.32700825	9	5.703001	92.59443	4.36E-12	2.537667
样品内	0.985459056	16	<b>0.061591</b>			
总计	52.31246731	25				

注：SS——平方和，df——自由度，MS——均方差，F——F分布变量，P-value——显著水平，F-crit——F分布变量的关键值

## 附录 B（资料性附录）

## 基质的影响和基质不确定度

## B.1 概述

在液体基质（例如：牛奶、水）中的微生物一般会随机（泊松）分布（见图 B.1，情况 A），单个微生物和微生物簇可以在琼脂平板上形成菌落。在固体食品中，微生物分布在食品微粒之间，但是它们不是随机分布的，而是一种不均匀分布，如在肉或蔬菜中，微生物是随机污染其表面，而不是食品深层，菌落总体来说也是在其表面呈聚集性分布（见图 B.1，情况 B）。



a) 情况 A: 随机分布

b) 情况 B: 聚集性分布表现为簇状和小菌落

图 B.1 表面微生物分布的假想图

如果一种成分复杂的食品是由一种原料（例如：肉）与另一种原料（例如：蔬菜和酱料）混合制成，那么所有固体原料表面的微生物将分布到整个多组分产品中，但在终产品中微生物的分布也不是随机的。

食品基质中的微生物数量反应了该食品中每种原料的相对污染水平，以及食品加工过程对微生物破坏的影响程度。从实验室食品样品中选取几个测试部分，检测后发现微生物的污染水平并不一致。特定微生物污染水平可以反应原料的数量和质量，以及食品加工过程对其分布的影响程度。如果奶粉和其他粉状产品仅是一个生产批次中小部分被特定微生物污染，也会出现类似情况（见图 B.2）。

即使实验室样品在检测之前已经充分混匀，微生物污染水平也会因不同的测试部分而发生变化，尤其是在固体食品基质中。这种变化在本文件中称为“基质不确定度”。

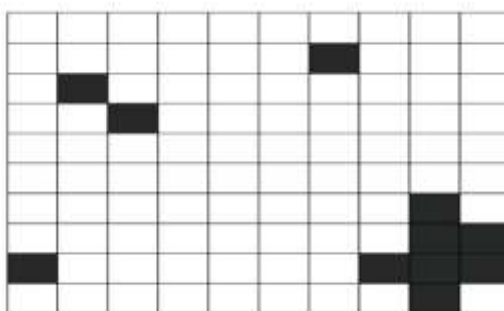


图 B.2 100 个粉末状样品或复杂食品中低水平的特定目标微生物分布假想图

注：黑色方块表示有具体目标微生物检出的样品

## B.2 示例

表 B.2 数据为欧盟参考实验室根据 ISO 19036:2019 的规定，研究并计算了一些食品样品的基质不确定度  $u_{\text{matrix}}$  ( $\log_{10}$  CFU/g 或 CFU/mL) 结果，实验室可以利用其作为相同或相似基质的基质不确定度。

表 B.2 2021-2022 欧盟参考实验室研究食品样品的基质不确定度结果

（来源 <https://sitesv2.anses.fr/en/minisite/listeria-monocytogenes/matrix-uncertainty-mau-values>）

类型	原料	目标微生物	方法	$u_{matrix}$ (log <sub>10</sub> CFU/g 或 CFU/mL)	实验室	国家
脂肪含量高的生乳制品	纳克索斯岛·阿塞尼克硬质奶酪	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.06	雅典食品卫生局	希腊
脂肪含量高或高背景菌的生乳制品	卡门培尔·诺曼底软奶酪	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.14	国家公共卫生与环境研究院	荷兰
巴氏杀菌乳制品	半硬(未熟)	大肠埃希氏菌	ISO 16649-2	0.18	DSL	爱尔兰
巴氏杀菌乳制品	羊乳酪	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.10	雅典食品卫生局	希腊
巴氏杀菌乳制品	硬质奶酪	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.04	约阿尼纳兽医实验室	希腊
鲜肉(未处理)	牛肉片	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.40	动物源性食品控制实验室	塞浦路斯
鲜肉(未处理)	碎牛肉	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.33	比利时国家卫生研究院	比利时
鲜肉(未处理)	猪肉片	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.12	卫生与兽医公共卫生研究所	罗马尼亚
巴氏杀菌牛奶	迷你冰淇淋甜筒	肠杆菌科	EN ISO 21528-2	0.09	国家综合实验室	塞浦路斯
熟肉制品	火腿块-珍宝火腿块	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.11	国家公共卫生与环境研究院	荷兰
熟肉制品	切片火腿	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.39	奥洛穆茨兽医研究所	捷克
发酵或干制肉制品	萨拉米	菌落总数	EN ISO 4833-2	0.09	德国联邦风险评估研究所	德国
生腌烟熏	乔利佐·西班牙香肠	单核细胞增生李斯特菌	EN ISO 11290-2	0.10	国家农业和兽医研究所	葡萄牙
鲜肉	熟肉制品,	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.08	比利时国家卫生研究院	比利时
鲜肉	禽颈皮	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.07	卫生与兽医公共卫生研究所	罗马尼亚
预制(处理)	禽肉准备:	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.15	约阿尼纳	希腊

类型	原料	目标微生物	方法	$u_{\text{matrix}}$ (log <sub>10</sub> CFU/g 或 CFU/mL)	实验室	国家
	用香料腌制禽肉,				兽医实验室	
烟熏或腌制及其他加工产品	熏鱼	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.29	比利时国家卫生研究院	比利时
即食水果切块	混合水果	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.19	比利时国家卫生研究院	比利时
即食水果切块	伴有生蔬菜	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.05	凝固酶阳性的葡萄球菌的欧盟参考实验室	法国
蔬菜	卷心莴苣,	肠杆菌科	EN ISO 21528-2	0.07	国家综合实验室	塞浦路斯
蔬菜	卷心莴苣,	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.13	国家综合实验室	塞浦路斯
未加工和冷冻	冬瓜球	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.36	单核细胞增生李斯特氏菌的欧盟参考实验室	法国
糕点	糕点蛋糕, 其中包括奶油、新鲜烘焙	肠杆菌科	EN ISO 21528-2	0.03	国家综合实验室	塞浦路斯
复合食品	冷藏意大利面沙拉	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.31	比利时国家卫生研究院	比利时
复合食品含大量生制原料	三明治(主要原料: 面包, 熟火腿片, 半	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.08	卫生与兽医公共卫生研究所	罗马尼亚
基于蛋黄酱的生熟沙拉	肉沙拉配意大利面、生蔬菜和	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.09	凝固酶阳性的葡萄球菌的欧	法国

类型	原料	目标微生物	方法	$u_{matrix}$ ( $\log_{10}$ CFU/g 或 CFU/mL)	实验室	国家
					盟参考实验室	
湿粮	狗食用的生骨肉饲料，主要用生牛瘤胃（99%）	肠杆菌科	NMKL 144，第 3 版，2005 年，修改 3M™ Petrifilm™ 肠杆菌科计数纸片	0.09	空肠弯曲菌的欧盟参考实验室-国家兽医研究所	欧盟
动物饲料（鱼）	面粉	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.08	卫生与兽医公共卫生研究所	罗马尼亚
动物粪便	蛋鸡粪便	菌落总数	EN ISO 4833-1	0.51	国家公共卫生与环境研究院	荷兰



## 附录 C (资料性附录)

## 最可能数不确定度检索表

## C.1 9管法的最可能数不确定度检索

使用3个接种量 1 mL 或 g, 3个接种量 0.1 mL 或 g 和 3个接种量 0.01 mL 或 g, 阳性管数对应的最可能数不确定度检索见表 C.1。

表 C.1 9管法的最可能数不确定度检索表

不同接种量的阳性管数, mL或g			MPN/mL 或/g	$\log_{10}M$	$u_{MPN}$ ( $SD\log_{10}MPN$ )	稀有度 指数	稀有度 分类
1.00	0.10	0.01					
0	0	0	0	NA <sup>a</sup>	NA <sup>a</sup>	1.00	1
0	1	0	0.30	0.52	0.43	0.09	1
1	0	0	0.36	0.45	0.44	1.00	1
1	0	1	0.72	0.14	0.31	0.02	2
1	1	0	0.74	0.13	0.31	0.21	1
1	2	0	1.1	0.06	0.26	0.02	2
2	0	0	0.92	0.04	0.32	1.00	1
2	0	1	1.4	0.16	0.26	0.04	2
2	1	0	1.5	0.17	0.27	0.43	1
2	1	1	2.0	0.31	0.23	0.02	2
2	2	0	2.1	0.32	0.24	0.07	1
3	0	0	2.3	0.36	0.31	1.00	1
3	0	1	3.8	0.59	0.31	0.08	1
3	1	0	4.3	0.63	0.33	1.00	1
3	1	1	7.5	0.87	0.30	0.21	1
3	1	2	12	1.1	0.26	0.02	2
3	2	0	9.3	0.97	0.32	1.00	1
3	2	1	15	1.2	0.27	0.42	1
3	2	2	21	1.3	0.24	0.07	1
3	3	0	24	1.4	0.32	1.00	1
3	3	1	46	1.7	0.34	1.00	1
3	3	2	110	2.0	0.32	1.00	1
3	3	3	∞	NA <sup>a</sup>	NA <sup>a</sup>	1.00	1
a不适用							

## C.2 15管法的最可能数不确定度检索

使用5个接种量 1 mL 或 g, 5个接种量 0.1 mL 或 g 和 5个接种量 0.01 mL 或 g, 阳性管数对应的最可能数不确定度检索见表 C.2。

表 C.2 15 管法的最可能数不确定度检索表

不同接种量的阳性管数, mL或g			MPN/mL 或/g	$\log_{10}M$	$\mu\text{MPN}$ ( $SD \log_{10}\text{MPN}$ )	稀有度 指数	稀有度 分类
1	0.1	0.01					
0	0	0	0	NA <sup>a</sup>	NA <sup>a</sup>	1	1
0	1	0	0.18	0.74	0.43	0.09	1
1	0	0	0.20	0.70	0.44	1.00	1
1	0	1	0.40	0.40	0.31	0.02	2
1	1	0	0.40	0.39	0.31	0.21	1
1	2	0	0.61	0.21	0.25	0.02	2
2	0	0	0.45	0.35	0.31	1.00	1
2	0	1	0.68	0.17	0.25	0.03	2
2	1	0	0.68	0.16	0.25	0.35	1
2	1	1	0.92	0.04	0.22	0.02	2
2	2	0	0.93	0.03	0.22	0.06	1
3	0	0	0.78	0.11	0.26	1.00	1
3	0	1	1.1	0.02	0.22	0.05	1
3	1	0	1.1	0.03	0.22	0.57	1
3	1	1	1.4	0.14	0.20	0.03	2
3	2	0	1.4	0.14	0.20	0.15	1
3	2	1	1.7	0.23	0.19	0.10	2
3	3	0	1.7	0.24	0.19	0.03	2
4	0	0	1.3	0.11	0.23	1.00	1
4	0	1	1.7	0.22	0.21	0.08	1
4	1	0	1.7	0.23	0.21	0.92	1
4	1	1	2.1	0.33	0.20	0.07	1
4	2	0	2.2	0.33	0.20	0.31	1
4	2	1	2.6	0.42	0.19	0.03	2
4	3	0	2.7	0.43	0.19	0.07	1
4	4	0	3.4	0.53	0.18	0.01	2
5	0	0	2.3	0.36	0.24	0.77	1
5	0	1	3.1	0.50	0.24	0.09	1
5	1	0	3.3	0.52	0.24	1.00	1
5	1	1	4.6	0.66	0.25	0.20	1
5	1	2	6.3	0.80	0.24	0.02	2

不同接种量的阳性管数, mL或g			MPN/mL 或/g	$\log_{10}M$	$\mu\text{MPN}$ ( $SD \log_{10}\text{MPN}$ )	稀有度 指数	稀有度 分类
1	0.1	0.01					
5	2	0	4.9	0.69	0.26	1.00	1
5	2	1	7.0	0.84	0.24	0.36	1
5	2	2	9.4	0.97	0.22	0.06	1
5	3	0	7.9	0.90	0.25	1.00	1
5	3	1	11	1.0	0.22	0.57	1
5	3	2	14	1.1	0.20	0.15	1
5	3	3	17	1.2	0.19	0.03	2
5	4	0	13	1.1	0.23	1.00	1
5	4	1	17	1.2	0.21	0.94	1
5	4	2	22	1.3	0.20	0.30	1
5	4	3	28	1.4	0.19	0.07	1
5	4	4	35	1.5	0.18	0.01	2
5	5	0	24	1.4	0.24	0.74	1
5	5	1	35	1.5	0.25	1.00	1
5	5	2	54	1.7	0.27	1.00	1
5	5	3	92	2.0	0.26	1.00	1
5	5	4	160	2.2	0.24	1.00	1
5	5	5	$\infty$	NA <sup>a</sup>	NA <sup>a</sup>	1.00	1
a不适用							

注：稀有度指数介于 0~1 之间。如果连续稀释试验结果得到的浓度非常可能等于 MPN 值，则稀有度指数是 1；连续稀释试验结果得到的浓度几乎不可能等于 MPN 值，则稀有度指数是 0。稀有度指数分为 3 类：

类别 1：如果稀有度指数落在 0.05 到 1 之间，该结果出现的可能性大于 95%。

类别 2：如果稀有度指数落在 0.05 到 0.01 之间，该结果出现的可能性小于 5%。

类别 3：如果稀有度指数落在 0 到 0.01 之间，出现的可能性小于 1%。

表 C.1 和表 C.2 中仅列出了类别 1 和 2 中结果的组合。

## 附录 D (资料性附录)

## 合成不确定度和扩展不确定度计算示例

## D.1 示例 1——包含技术、基质和泊松不确定度分量的不确定度

对均匀性良好液体样品,按照条款 5 计算技术不确定度,得到 $u_{\text{tech}}=0.15\log_{10}\text{CFU/mL}$ ;根据条款 6.2,基质不确定度可以取定值,即 $u_{\text{matrix}}=0.1\log_{10}\text{CFU/mL}$ 。

假设某一批次液体样品进行菌落总数检测,取连续 2 个稀释度,每个平板接种 1.0mL,得到  $10^{-3}$  稀释度 102 个菌落,  $10^{-4}$  稀释度 8 个菌落,可应用公式 (2) 计算菌落总数之和 $\Sigma C=110$  时的泊松分布不确定度 $u_{\text{Poisson}}$ :

$$u_{\text{Poisson}} = \frac{0.4343}{\sqrt{110}} = \frac{0.4343}{10.49} = 0.0414 \log_{10} \text{CFU/mL}$$

比值 $u_{\text{Poisson}}/u_{\text{tech}}=0.0414/0.15=0.276$ ,大于 0.2,则 $u_{\text{Poisson}}$ 分量不能忽略不计(8.1.2)。

此时,合成不确定度 $u_c(y) = \sqrt{u_{\text{tech}}^2 + u_{\text{matrix}}^2 + u_{\text{Poisson}}^2} = \sqrt{0.15^2 + 0.10^2 + 0.0414^2} = \sqrt{0.03421} = 0.185\log_{10}\text{CFU/mL}$ , $u_c(y)$ 乘以包含因子 $k(k=2)$ ,得出扩展不确定度 $U=0.37\log_{10}\text{CFU/mL}$ (保留 2 位有效数字)。

本示例中,菌落计数的加权平均数为 $\frac{102+8}{1.1} \times 10^3 = 1.0 \times 10^5 \text{CFU/mL}$ ,换算成以 10 为底的对数是  $5.0\log_{10}\text{CFU/mL}$ ,此时测试结果可表示为  $5.0 \pm 0.37\log_{10}\text{CFU/mL}$ 。

## D.2 示例 2——可以忽略不计的泊松不确定度分量

假设示例 1 中技术不确定度计算值 $u_{\text{tech}}=0.25\log_{10}\text{CFU/mL}$ ,其他不变。

比值 $u_{\text{Poisson}}/u_{\text{tech}}=0.0414/0.25=0.166$ ,小于 0.2,则 $u_{\text{Poisson}}$ 可以忽略不计(8.1.2)。

此时,合成不确定度 $u_c(y) = \sqrt{u_{\text{tech}}^2 + u_{\text{matrix}}^2} = \sqrt{0.25^2 + 0.10^2} = \sqrt{0.0725} = 0.269\log_{10}\text{CFU/mL}$ , $u_c(y)$ 乘以包含因子 $k(k=2)$ ,得出扩展不确定度 $U=0.54\log_{10}\text{CFU/mL}$ (保留 2 位有效数字)。

本示例中,菌落计数的加权平均数为 $\frac{102+8}{1.1} \times 10^3 = 1.0 \times 10^5 \text{CFU/mL}$ ,换算成以 10 为底的对数是  $5.0 \log_{10}\text{CFU/mL}$ ,此时测试结果可表示为  $5.0 \pm 0.54 \log_{10}\text{CFU/mL}$ 。

## D.3 示例 3——包含泊松、基质和确证不确定度分量的不确定度

按照示例 1,需要挑选选择性培养基上的疑似菌落进行目标菌确证,如选取 5 个疑似菌落进行确证后,得到 4 个目标菌,此时可检索表 4 获得修正因子,然后对结果进行修正。

表 5 包含泊松、基质和确证不确定度分量的不确定度的计算示例

	疑似菌落数	确认试验修正后的菌落数
$\Sigma C$	110	
结果 $x$ (CFU/mL)	100000	$100000 \times 4/5 = 80000$
取对数后 $y$ ( $\log_{10}\text{CFU/mL}$ )	5.0	4.903

根据 7.3,当 $n_p=5$ , $n_c=4$ ,检索表 4 得出 $u_{\text{conf}}=0.0888$ , $u_{\text{conf}}/u_{\text{tech}}=0.0888/0.15=0.592$ ,大于 0.2,则 $u_{\text{conf}}$ 不能忽略不计(8.1.2)。

比值 $u_{\text{Poisson}}=0.0414$ ,比值 $u_{\text{Poisson}}/u_{\text{tech}}=0.0414/0.15=0.276$ ,大于 0.2,则 $u_{\text{Poisson}}$ 不能忽略不计(8.1.2)。

此时,计算合成不确定度 $u_c(y) = \sqrt{u_{\text{tech}}^2 + u_{\text{matrix}}^2 + u_{\text{Poisson}}^2 + u_{\text{conf}}^2} = \sqrt{0.15^2 + 0.10^2 + 0.0414^2 + 0.0888^2} = \sqrt{0.0421} = 0.205\log_{10}\text{CFU/mL}$ ;  $u_c(y)$ 乘以包含因子 $k(k=2)$ 后,得出扩展不确定度 $U=0.41\log_{10}\text{CFU/mL}$ (保留 2 位有效数字)。

有效数字)。

本示例中, 确认试验修正后的菌落数换算成以 10 为底的对数是  $4.903\log_{10}\text{CFU/mL}$ , 此时测试结果可表示为  $4.9\pm 0.41\log_{10}\text{CFU/mL}$ 。

#### D.4 示例 4——包含技术、基质和最可能数不确定度分量的不确定度

某实验室用 GB 4789.3 第一法 (MPN 法, 3 个稀释度, 每个稀释度 3 管) 来计算液态牛奶中大肠菌群。技术标准不确定度  $u_{\text{tech}}$  等于再现性标准偏差  $S_R$ , 如对 20 个样品在再现性条件下检测后,  $u_{\text{tech}}=S_R=0.49\log_{10}\text{MPN/mL}$ 。

液态牛奶样品均匀性良好, 其基质不确定度为  $u_{\text{matrix}}=0.1\log_{10}$  (6.2)。比值  $u_{\text{matrix}}/u_{\text{tech}}=0.10/0.49=0.204$ , 大于 0.20, 则  $u_{\text{matrix}}$  不能忽略不计 (8.1.2)。

假设选取液态牛奶样品三个连续稀释度 (原液、 $10^{-1}$  和  $10^{-2}$ ), 每个稀释度接种 3 管液体培养基, 每管接种 1mL, 共接种 9 管培养基, 培养后每个稀释度出现阳性管数分别为 3, 2 和 1。检索表 C.1 得出以下数据:  $\text{MPN}=15/\text{mL}$ ,  $\log_{10}\text{MPN}=\log_{10}15=1.2$ ,  $u_{\text{MPN}}=0.27\log_{10}\text{MPN}$ 。比值  $u_{\text{MPN}}/u_{\text{tech}}=0.27/0.49=0.55$ , 大于 0.2, 则  $u_{\text{MPN}}$  不能忽略不计 (8.1.2)。

此时, 计算合成不确定度  $u_c(y)=\sqrt{u_{\text{tech}}^2+u_{\text{matrix}}^2+u_{\text{MPN}}^2}=\sqrt{0.49^2+0.1^2+0.27^2}=\sqrt{0.323}=0.568$

$\log_{10}\text{MPN/mL}$ ,  $u_c(y)$  乘以包含因子  $k$  ( $k=2$ ) 后, 得出扩展不确定度  $U=1.1\log_{10}\text{CFU/mL}$  (保留 2 位有效数字)。

本示例中, MPN 法检测液态牛奶中大肠菌群结果可表示为  $1.2\pm 1.1\log_{10}\text{MPN/mL}$ 。

注 1:  $u_{\text{MPN}}$  值与所选择的样品稀释梯度无关。在本示例中, 选择三个连续稀释度更改为  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$  和  $10^{-3}$  时, 培养后每个稀释度分别出现阳性结果的管数为 3, 2 和 1, 查表得  $\text{MPN}=150/\text{mL}$ ,  $\log_{10}\text{MPN}=\log_{10}150=2.18\log_{10}\text{MPN/mL}$ , 但  $u_{\text{MPN}}$  值不变, 仍为  $0.27\log_{10}\text{MPN/mL}$ 。

注 2: 如果 MPN 法需要对目标微生物进行确证, MPN 值和  $u_{\text{MPN}}$  取决于确证后的阳性结果数。

## 参考文献

- [1] ISO 5725 (all parts). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
- [2] ISO 6887 (all parts), Microbiology of food and animal feeding stuffs-General requirements and guidance for microbiological examination
- [3] ISO 7218:2007, Microbiology of the food chain-Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examinations
- [4] ISO 8199:2018, Water quality-General requirements and guidance for microbiological examination by culture
- [5] ISO 13528, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison
- [6] ISO 16140-2, Microbiology of the food chain-Method validation-Part 2:Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method
- [7] ISO 16140-3: -, <sup>4</sup> Microbiology of the food chain-Method validation -Part 3: Protocol for the verification of reference and validation alternative methods implemented in a single laboratory
- [8] ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
- [9] ISO/TS 17728: 2015, Microbiology of the food chain- Sampling techniques for microbiological analysis of food and feed samples
- [10] ISO 21748, Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation
- [11] ISO 29201: 2012, Water quality- The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods
- [12] ISO/IEC Guide 98-3: 2008, Uncertainty of measurement- Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM: 1995)
- [13] ISO/IEC Guide 99: 2007, International vocabulary of metrology- Basic and general concepts and associated terms (VIM)
- [14] AH SOON C., CORNU M. Report of 2003/2004, ISO Trials about uncertainty measurement, June 2004, AFSSA, MaisonsAlfort, France. Listed as “Report of 2003/2004 ISO trials about uncertainty measurement (June 2004)” on the web page of the “European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*”: <http://eurl-listeria.anses.fr/en/minisite/listeria/european-union-reference-laboratory-listeria-monocytogenes-0> (accessed 22 November 2018) and freely available for download at <http://standards.iso.org/iso/19036>
- [15] Analytical Methods Committee. Estimating sampling uncertainty- how many duplicate samples are needed? Anal. Methods. 2014, 6 (1), pp. 24-26
- [16] EURACHEM/CITAC. Guide to Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3<sup>rd</sup> edition, QUAM: 2012, available at <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/quam> (accessed 22 November 2018)
- [17] JARVIS B. Chapter 4: The Distribution of Microorganisms in Foods in Relation to Sampling. In: Statistical Aspects of the Microbiological Examination of Foods, 3<sup>rd</sup> Edition. Academic Press, London, 2016
- [18] JARVIS B., HEDGES A.J., CORRY J. E. The contribution of sampling uncertainty to total measurement uncertainty in the enumeration of microorganisms in foods. Food Microbiol. 2012, 30, pp. 362-371
- [19] JARVIS B., WILRICH C., WILRICH P.-Th. Reconsideration of the derivation of Most Probable Numbers, their standard deviations, confidence bounds and rarity values. J. Appl. Microbiol. 2010, 109, pp. 660-667
- [20] United Kingdom Accreditation Service. UKAS Publication ref: LAB 12, The Expression of Uncertainty in Testing,

Edition 2 August 2016 available from:

<http://www.ukas.com/download/publications/publications-relating-to-laboratory-accreditation/LAB%2012%20-%20Edition%202%20-%20August%202016.pdf> (accessed 22 November 2018)

---