

DLA
Dienstleistung
Lebensmittel
Analytik GbR

Auswertungs-Bericht
Laborvergleichsuntersuchung

02/2016

Allergene II:
Soja und Weizen
in „glutenfreier“ Backware

Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR
Waldemar-Bonsels-Weg 170
22926 Ahrensburg, Germany

proficiency-testing@dla-lvu.de www.dla-lvu.de

Koordinator der LVU:
Dr. Matthias Besler

Inhalt

1. Einleitung.....	3
2. Durchführung.....	3
2.1 Untersuchungsmaterial.....	3
2.1.1 Homogenität.....	5
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	5
2.3 Ergebnisübermittlung.....	5
3. Auswertung.....	7
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	7
3.2 Robuste Standardabweichung.....	8
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	8
Ausschluss von Ergebnissen	8
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	9
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	9
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision	9
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen	11
3.5 z-Score.....	12
3.6 Quotient S^*/opt	13
3.7 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts.....	13
3.8 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	13
3.9 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	13
4. Ergebnisse.....	14
4.1 Vergleichsuntersuchung Soja.....	16
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (als Sojaprotein).....	16
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Soja.....	22
4.2 Vergleichsuntersuchung Gluten.....	24
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten.....	24
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Weizen.....	30
5. Dokumentation.....	32
5.1 ELISA: Soja.....	32
5.2 ELISA: Gluten.....	33
5.3 PCR: Soja.....	35
5.4 PCR: Weizen.....	36
6. Verzeichnis der teilnehmenden Institute in alphabetischer Reihenfolge.....	37
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	38

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) ist ein unverzichtbarer Baustein für das Qualitäts-Management-System eines jeden, mit der Untersuchung von Lebensmitteln, Futtermitteln, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen befassten Labors. Die Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen ermöglicht den teilnehmenden Instituten die eigene analytische Kompetenz unter realen Bedingungen nachzuweisen. Gleichzeitig erhalten sie wertvolle Daten für die erforderliche Verifizierung oder Validierung der durchgeführten Untersuchungsmethode [1, 5].

Das Ziel von DLA ist es, LVU für ausgesuchte Parameter in praxisrelevanten Konzentrationen und Matrices anzubieten.

Durchführung und Auswertung der vorliegenden Laborvergleichsuntersuchung erfolgten nach den technischen Anforderungen der DIN EN ISO/IEC 17043 (2010) und DIN ISO 13528-2009 bzw. ISO 13528-2015 [2, 3].

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurden zwei LVU-Proben für den Nachweis von Allergenen im mg/kg-Bereich und eine Dotierungsmaterialprobe zur Verfügung gestellt. Die Dotierungsmaterialprobe enthält die betreffenden allergenen Zutaten im Bereich von 1-10 % und wurde der dotierten LVU-Probe zugesetzt. Die Untersuchungsergebnisse der Dotierungsmaterialprobe sollen im Vergleich zur dotierten LVU-Probe die Möglichkeit geben, die Nachweisbarkeit der Allergene ohne und mit Einfluss der Lebensmittelmatrix bzw. -prozessierung zu charakterisieren.

Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich um mit einer handelsüblichen "glutenfreien" Brotbackmischung gebackenes Brot. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Probe B wurde als weitere Zutat ein mit dem Dotierungsmaterial, das die allergenen Zutaten Sojamehl und Weizenmehl enthält, gebackenes Brot zugesetzt. Hierzu wurde dieselbe Brotbackmischung verwendet und 60 min. bei ca. 190°C gebacken. Diese Teilprobe wurde nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur zerkleinert und Probe B zugesetzt. Nach dem Vorzerkleinern wurden die Brote für 1,5 Stunden bei 70°C getrocknet, erneut zerkleinert, gesiebt (mesh: 2,0 mm) und homogenisiert.

Die Zusammensetzung der Dotierungsmaterialprobe und die Gehalte der allergenen Zutaten in Probe B sind Tabelle 2 zu entnehmen.

Die Proben wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 25 g abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B
Dunkles Brot, glutenfrei (gebacken 190°C, 60 min) Zutaten: Backmischung (Maisstärke, Leinsamenmehl, Buchweizenmehl, Erbsenkleie, Reiskleie, Apfelfaser, Zucker, Verdickungsmittel: Guarkernmehl, Salz), Wasser, Sonnenblumenöl, Trockenhefe, Salz Nährwerte pro 100 g (nur Backmischung): Fett 2,6 g, Kohlenhydrate 63 g, Protein 6,1 g	100 g/100g	66 g/100g *
Dunkles Brot (gebacken 190°C, 60 min) Zutaten: Backmischung (Maisstärke, Leinsamenmehl, Buchweizenmehl, Erbsenkleie, Reiskleie, Apfelfaser, Zucker, Verdickungsmittel: Guarkernmehl, Salz), Wasser, Sonnenblumenöl, Trockenhefe, Salz Nährwerte pro 100 g (nur Backmischung): Fett 2,6 g, Kohlenhydrate 63 g, Protein 6,1 g	-	32 g/100g *
Dotierungsmaterialprobe	-	2,1 g/100g *

* Bezogen auf Gesamtgewicht der gebackenen Teilprobe

Tabelle 2: Zugesezte Mengen allergener Zutaten

Zutaten	Dotierungsmaterialprobe	Probe B
Kartoffelmehl	93 %	1,9 %
Soja: - als Sojamehl - davon Sojaproteine	20100 mg/kg (2,01 %) 8040 mg/kg	413 mg/kg 165 mg/kg
Haselnussmus	1,18 %	0,024 %
Magermilchpulver	1,96 %	0,040 %
Weizen: - als Weizenmehl Typ 1050 - davon Gesamtprotein* - davon Gluten**	15300 mg/kg (1,53 %) 1840 mg/kg 1650 mg/kg	314 mg/kg 37,7 mg/kg 33,9 mg/kg

* gemäß Deklaration

** Definition für "Gluten" der Glutenunverträglichkeit-Kennzeichnungs-Verordnung (EU/41/2009) entspricht laut Literaturdaten ca. 85-91% des Weizenproteins

2.1.1 Homogenität

Die Homogenität der dotierten Probe B und der Dotierungsmaterialprobe wurde anhand des Glutengehalts mittels ELISA-Tests geprüft (s. Abb. 1) und mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von $< 15\%$ für das verwendete Verfahren als hinreichend gesichert angesehen [14, 15, 18, 19]. Falls die Kriterien für eine ausreichende Homogenität des Probenmaterials bezüglich eines Parameters nicht erfüllt sind, werden die Auswirkungen auf die Zielstandardabweichung geprüft. Ggf. erfolgt die Bewertung der Ergebnisse der Teilnehmer unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes (s. 3.8 und 3.11) [3].

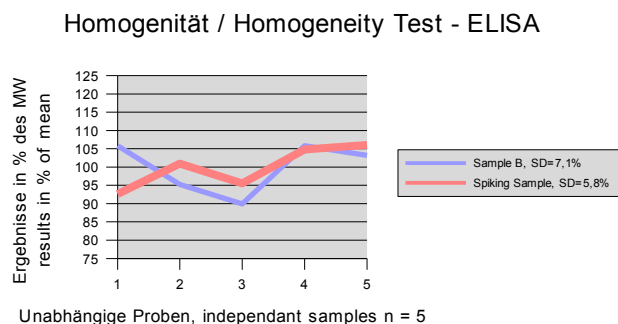


Abb. 1: Homogenitätsprüfung der DLA-Probe B und Dotierungsmaterialprobe
Darstellung der Ergebnisse relativ in Prozent des arithmetischen Mittelwerts

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jedes teilnehmende Institut wurden in der 5. Kalenderwoche 2016 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 18. März 2016.

2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich auf, an die teilnehmenden Institute versandten Übermittlungsbögen bzw. -dateien. Zur Auswertung kamen einerseits die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben und andererseits angegebene Gehalte an allergenen Zutaten in mg/kg z.B. als Sojaprotein bzw. Gluten.

Im Zuge der Auswertung wurde bei einigen Teilnehmern die Art der Angabe der quantitativen Ergebnisse von DLA durch Nachfragen per eMail abgesichert.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, Testkit-Hersteller und Stichpunkte zur Durchführung der Methoden.

Falls Teilnehmer mehrere Ergebnisse für denselben Parameter abgegeben haben, die mit unterschiedlichen Methoden erhalten wurden, wurden diese Ergebnisse mit derselben Auswertenummer mit einem Buchstaben als Suffix un-

ter Angabe der jeweiligen Methode ausgewertet.

Ein Teilnehmer hat keine und ein Teilnehmer verspätet Ergebnisse eingereicht. Alle anderen Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [21, 22, 23, 24]. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse, wenn möglich in der Auswertung verschiedenen Bezugswerten gegenübergestellt.

Dadurch soll jedes einzelne Ergebnis im Vergleich mit dem Mittelwert aller eingesandten Ergebnisse und/oder im Vergleich mit dem Mittelwert der Ergebnisse derselben Methode bewertet werden können. Zum Vergleich mit der rechnerisch zugesetzten Menge wurde das Zusatzniveau in den graphischen Darstellungen der Ergebnisse mit angegeben.

Für quantitative Ergebnisse der Dotierungsmaterialprobe und der dotierten Probe wurden anhand der bekannten Zusammensetzung Wiederfindungsraten berechnet und zur Information angegeben. Hierbei erfolgte keine statistische Auswertung. Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen ausschließlich einer Einschätzung von Matrix- und/oder Prozessierungseinflüssen.

Die ELISA- und PCR-Ergebnisse wurden qualitativ anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern $\geq 75\%$ positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt.

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

Für die Auswertung wurde als zugewiesener Wert (X_{pt}) der **robuste Mittelwert** der eingesandten Ergebnisse verwendet („Konsenswert der Teilnehmer“). Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3].

Voraussetzung ist, dass die Mehrzahl der Ergebnisse der teilnehmenden Laboratorien einer Normalverteilung unterliegen bzw. unimodal und symmetrisch verteilt sind. Hierzu erfolgt eine Prüfung der Verteilung u.a. anhand der Kern-Dichte-Schätzung [3, 12].

Falls Hinweise für Quellen von höherer Variabilität, wie z.B. eine bimodale Verteilung der Ergebnisse, vorliegen, werden Ursachen dafür gesucht. In Frage kommt häufig die Verwendung unterschiedlicher Untersuchungsmethoden. Ist dies der Fall, werden nach Möglichkeit getrennte Auswertungen mit eigenen zugewiesenen Werten (X_{pti}) vorgenommen.

Bei den ELISA-Methoden zur Bestimmung von Allergenen wird, wenn möglich, stets so vorgegangen:

- i) **Robuster Mittelwert aller Ergebnisse** - X_{ptALL}
- ii) **Robuster Mittelwert von Einzelmethoden** - $X_{ptMETHOD\ i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe $> 25\text{ mg/kg}$ oder $< 2,5\text{ mg/kg}$)

oder die Angabe „0“ werden für die statistische Auswertung generell nicht berücksichtigt [3].

3.2 Robuste Standardabweichung

Zum Vergleich mit der Zielstandardabweichung σ_{pt} (Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) wird die robuste Standardabweichung (S^*) verwendet. Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3].

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

- i) **Robuste Standardabweichung aller Ergebnisse** - S^*_{ALL}
- ii) **Robuste Standardabweichung von Einzelmethode** - $S^*_{METHOD\ i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

Ergebnisse können vorab von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, wenn offensichtliche grobe Fehler, wie z. B. falsche Einheiten, Dezimalstellen oder Angaben für einen falschen Prüfgegenstand vorliegen [2]. Alle Ergebnisse sollen mit mindestens 2 signifikanten Dezimalstellen angegeben werden. Die Angabe von 3 Dezimalstellen ist i.d.R. ausreichend.

Ergebnisse, die mit unterschiedlichen Verfahren erhalten wurden und zu einer erhöhten Variabilität und/oder zu einer bi- oder mehrmodalen Verteilung der Ergebnisse führen, werden separat behandelt oder, wenn dafür zu wenige Ergebnisse vorliegen, ausgeschlossen. Hierfür erfolgt die Prüfung der Ergebnisse anhand der Kern-Dichte-Schätzung [3, 12].

Auf Ausreißer wird mittels robuster Statistik geprüft: Ergebnisse, die um mehr als das Dreifache der robusten Standardabweichung vom robusten Mittelwert abweichen, werden als Ausreißer eingestuft [3]. Ermittelte Ausreißer werden informativ genannt sofern gleichzeitig der z-Score des Teilnehmers < -2 oder > 2 ist. Aufgrund der Anwendung der robusten Statistik werden Ausreißer nicht ausgeschlossen, sofern keine anderen Gründe vorliegen [3].

3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

Die Zielstandardabweichung des zugewiesenen Wertes σ_{pt} (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) kann nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt.

In der vorliegenden LVU wurde die Zielstandardabweichung nach 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen ermittelt.

3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung σ_R abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung σ_R kann als relative Zielstandardabweichung σ_{pt} in % des zugewiesenen Wertes verwendet werden und nach untenstehenden Gleichungen berechnet werden [3]. Dabei wird für die Konzentration c der zugewiesene Wert X_{pt} eingesetzt.

Gleichungen	Konzentrationsbereiche	entspricht
$\sigma_R = 0,22c$	$c < 1,2 \times 10^{-7}$	$< 120 \mu\text{g/kg}$
$\sigma_R = 0,02c^{0,8495}$	$1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138$	$\geq 120 \mu\text{g/kg}$
$\sigma_R = 0,01c^{0,5}$	$c > 0,138$	$> 13,8 \text{ g/100g}$

mit c = Massenanteil des Analyten (als relative Größe, z.B. $1 \text{ mg/kg} = 1 \text{ ppm} = 10^{-6} \text{ kg/kg}$)

Die Zielstandardabweichung nach Horwitz wird z.Z. in der Praxis von ELISA-Verfahren mit Messwerten im mg/kg Bereich nur in Ausnahmefällen erreicht.

3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

Aus der Vergleichsstandardabweichung σ_R und der Wiederholstandardabweichung σ_r eines Versuchs zur Präzision einer Methode (Ringversuch oder LVU) kann unter Berücksichtigung der Anzahl der Wiederholmessungen m der Teilnehmer in der vorliegenden Vergleichsuntersuchung die Zielstandardabweichung σ_{pt} abgeleitet werden [3]:

$$\sigma_{pt} = \sqrt{\sigma_R^2 - \sigma_r^2 (m-1 / m)}$$

Da in der vorliegenden Vergleichsuntersuchung die Anzahl der Wiederholmessungen $n = 1$ ist, ist die Vergleichsstandardabweichung σ_R gleich der Zielstandardabweichung σ_{pt} .

Nachstehend sind die relativen Vergleichsstandardabweichungen aus Ringversuchen einiger ELISA-Methoden nach ASU §64 angegeben [25, 26, 27]:

Methoden	Parameter	Matrix	Mittelwerte	Relative σ_R	Literatur
ELISA	Sojaprotein	Brühwurst	0,36 - 4,07%	14 - 28%	L 06.00-56
ELISA (Herst. A)	Erdnuss	Vollmilchschokolade	5,9 - 174 mg/kg	20 - 31%	L 00.00-69
ELISA (Herst. B)	Erdnuss	Vollmilchschokolade	10,1 - 216 mg/kg	14 - 32%	L 00.00-69
ELISA (Herst. A)	Erdnuss	Feinherbschokolade	5,7 - 148 mg/kg	22 - 33%	L 00.00-69
ELISA (Herst. A)	Haselnuss	Feinherbschokolade	1,6 - 16,3 mg/kg	12 - 33%	L 44.00-7
ELISA (Herst. A)	Haselnuss	Feinherbschokolade	2,4 - 21,3 mg/kg	14 - 19%	L 44.00-7

Aus den o.g. Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 12 - 33%.

Für den auch in der vorliegenden Laborvergleichsuntersuchung bestimmten Analyten Soja lagen die relativen Vergleichsstandardabweichungen im Bereich von 14 - 28% in der Matrix Brühwurst [25].

Die Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT) hat Ringversuche zur Validierung von zwei kommerziellen ELISA-Test-Kits zur Gluten-Bestimmung mittels monoklonalem R5 Antikörper durchgeführt [20]. Es wurden 12 Lebensmittelproben mit Gliadinegehalten im Bereich von 0 - 168 mg/kg von 20 Laboratorien untersucht. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 65 und 110%, die relativen Wiederholstandardabweichungen lagen bei 13 - 25% (1. Methode) bzw. 11 - 22% (2. Methode) und die relativen Vergleichsstandardabweichungen bei 23 - 47% (1. Methode) bzw. 25 - 33% (2. Methode). Laut den Autoren erfüllten beide ELISA-Test-Kits damit die Validierungskriterien für ELISA Methoden [20].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [23]. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 - 16,1 mg/kg bzw. 1,2 - 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

Die Zielstandardabweichung kann für die Eignungsbeurteilung auf einen Wert festgesetzt werden, der dem Leistungsfähigkeitsniveau entspricht, das der Koordinator für ein wünschenswertes Ziel für die teilnehmenden Laboratorien hält [3].

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [18], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [15-17], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [19] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [14] erarbeitet worden.

Die hier relevanten ELISA- bzw. PCR-Validierungskriterien der Gremien sind in den Tabellen 3 und 4 angegeben.

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [14-20]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		$\leq 25\%$
CEN 2009		$\leq 20\%$	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% ^(a)	19,5 - 57,2 ^(a)
CAC 2010	70 - 120%	$\leq 25\%$	$\leq 35\%$

(a) = Beispiel aus hypothetischem Ringversuch im Konzentrationsbereich von 0,5 - 5 mg/kg

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [14]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	$\pm 25\%$ ^(a)	$\leq 25\%$	$\leq 35\%$

(a) = Trueness / Richtigkeit

Aufgrund der derzeitigen Leistungsfähigkeiten von ELISA- bzw. PCR-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln, die sich aus den Präzisionsdaten von Versuchen und aus den o.g. Validierungsanforderungen ableiten lassen, legen wir für die relative Zielstandardabweichung σ_{pt} einen Wert von 25% fest.

Diese Zielstandardabweichung wurde zur statistischen Bewertung der Ergebnisse mittels z-Score herangezogen und auf alle unter 3.1 angegebenen Bezugswerte angewandt.

3.5 z-Score

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung (σ_{pt}) das Ergebnis (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert (x_{pt}) abweicht [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z_i = \frac{(x_i - x_{pt})}{\sigma_{pt}}$$

Die Anforderungen an die Analytik gelten im Allgemeinen als erfüllt, wenn

$$-2 \leq z \leq 2 .$$

Zur Bewertung wurden nachstehende z-Scores mit einer Zielstandardabweichung von 25% in der Auswertung angegeben:

- i) **z-Score** - **z_{ALL}** (bezogen auf alle Ergebnisse)
- ii) **z-Score** - **z_{METHOD i}** (bezogen auf Einzelmethoden)

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

Gemäß der ISO 13528 für statistische Verfahren für Eignungsprüfungen wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert $> 3,0$ oder $< -3,0$ ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist [3]. Gleichmaßen ist ein z-Wert $> 2,0$ oder $< -2,0$ als „Warnsignal“ zu beurteilen. Ein einzelnes „Eingriffssignal“ oder aber „Warnsignale“ bei zwei aufeinander folgenden LVU-Runden sind als Beleg dafür zu werten, dass eine Anomalie aufgetreten ist, die untersucht werden muss. Eine Fehler- bzw. Ursachenanalyse kann durch Prüfung des Analysenablaufs inkl. Verständnis und Umsetzung der Messung durch das Personal, Einzelheiten des Messablaufs, Kalibrierung von Geräten und Zusammensetzung von Reagenzien, Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision sowie Einsatz von Referenzmaterial durchgeführt werden. Falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden [3].

DLA stellt in den z-Score-Abbildungen die Grenzen für die Warn- und Eingriffssignale als gelbe bzw. rote Linien dar. Die jeweiligen Werte haben gemäß ISO 13528 nur Gültigkeit sofern ≥ 10 Ergebnisse vorliegen [3].

3.6 Quotient S^*/σ_{pt}

In Anlehnung an den HorRat-Wert kann die Bewertung einer Laborvergleichsuntersuchung als aussagekräftig gelten, wenn der Quotient von robuster Standardabweichung S^* und Zielstandardabweichung σ_{pt} nicht über 2 liegt. Ein über 2 liegender Wert bedeutet, dass die Präzision nicht zufriedenstellend ist, d.h., dass die Präzision aus analytischen Gründen zu variabel ist oder die festgestellte Variation höher ist als für die angewandte Methode geschätzt wurde. Somit ist eine Vergleichbarkeit der Messergebnisse nicht gewährleistet [3].

3.7 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts

Jeder zugewiesene Wert ist mit einer Standardunsicherheit behaftet, die von der Analysenmethode, Unterschieden der eingesetzten Analysenmethoden, dem Probenmaterial und der Anzahl der Teilnehmer (P) einer LVU beeinflusst wird. Die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes ($U_{(x_{pt})}$) wird für die vorliegende LVU wie folgt berechnet [3]:

$$u_{(x_{pt})} = 1,25 \times \frac{s^*}{\sqrt{p}}$$

Ist $U_{(x_{pt})} \leq 0,3 \sigma_{pt}$ muss die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes nicht berücksichtigt werden [3]. Ein deutliches Überschreiten des Wertes von 0,3 ist ein Hinweis darauf, dass die Zielstandardabweichung ggf. zu gering für die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes gewählt wurde. Der Quotient $U_{(x_{pt})}/\sigma_{pt}$ ist in den Kenndaten angegeben.

3.8 Graphische Darstellung der Bezugswerte

Die Bezugswerte (zugewiesene Werte und Zusatzniveau) werden als farbige Linien in den Abbildungen der Ergebnisse dargestellt. Dies ermöglicht einen optischen Vergleich der Einzelergebnisse mit den verschiedenen Bezugswerten für das Zusatzniveau eines Analyten einerseits und die robusten Mittelwerte über alle Methoden bzw. über Einzelmethoden andererseits.

3.9 Wiederfindungsraten: Dotierung

Für die Ergebnisse von Dotierungsmaterialprobe und dotierter Probe werden Wiederfindungsraten in Bezug auf die zugesetzten Allergene (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [19]. Für quantitative PCR-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

4. Ergebnisse

Alle folgenden Tabellen sind anonymisiert. Den teilnehmenden Laboratorien wird mit dem Versand dieser Auswertung ihre individuelle Auswertenummer mitgeteilt.

Die folgenden Ergebnisseiten sind für die allergenen Bestandteile jeweils gleich aufgebaut. Es werden zunächst die Ergebnisse aller Methoden zu einem Parameter für die Probe A und dann für die Probe B angegeben. Die Ergebnisse der Dotierungsmaterialprobe werden zusammen mit der jeweiligen dotierten Probe behandelt.

Um die **Vergleichbarkeit von quantitativen Ergebnissen** zu gewährleisten, wurden Teilnehmerergebnisse mit unterschiedlichen Angaben (z.B. als Protein oder allergenes Lebensmittel) soweit möglich von DLA harmonisiert.

ELISA-Ergebnisse, die als Sojamehl angegeben wurden, sind in Gesamt-Sojaprotein, sofern angegeben unter Berücksichtigung der Angaben des betreffenden Testkit-Herstellers, umgerechnet worden. Dabei wurde ein Proteingehalt von 40% für Sojamehl zugrunde gelegt.

ELISA-Ergebnisse, die als Gliadin angegeben wurden, sind in Gluten umgerechnet worden. Dabei wurde die Gliadin-Angabe mit dem Faktor 2 multipliziert.

Die Auswertung erfolgte getrennt nach ELISA und PCR-Ergebnissen. Die Ergebnisse wurden nach durchgeführten Methoden zusammengefasst und die Auswertenummern innerhalb der Gruppen aufsteigend sortiert.

Qualitativ werden die Ergebnisse anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern ≥ 75 % positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt. Für jeden Teilnehmer wird in Bezug auf die Konsens-Ergebnisse eine qualitative Bewertung vorgenommen. Hier wurde die Übereinstimmung mit den Konsens-Werten in Prozent angegeben.

Gegebenenfalls werden anschließend die Ergebnisse aller Methoden und von Einzelmethode mit mindestens 5 quantitativen Ergebnissen statistisch ausgewertet.

In den Fällen, in denen eine statistische Auswertung der quantitativen Messergebnisse durchgeführt wurde, werden die Ergebnisse tabellarisch folgendermaßen aufgeführt :

Auswertenummer	Ergebnis	Ergebnis	z-Score X_{ALL}	z-Score X_{Mi}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	X All	X Method i		

Die Kenndaten der jeweiligen Vergleichsuntersuchung werden aufgeführt, falls wenigstens 50% positive Ergebnisangaben und mindestens 5 quantitative Messergebnisse vorliegen:

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode i [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{ptALL}	$X_{ptMETHOD i}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Median		
Robuster Mittelwert (X_{pt})		
Robuste Standardabweichung (S^*)		
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}		
untere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}$)		
obere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}$)		
Quotient S^*/σ_{pt}		
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$		
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

Im Anschluss erfolgt die Darstellung der Wiederfindungsraten für die Ergebnisse von Dotierungsmaterialprobe und dotierter Probe. Die Anzahl der Ergebnisse im Akzeptanzbereich von 50-150% wird aufsummiert.

4.1 Vergleichsuntersuchung Soja

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (als Sojaprotein)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
18	negativ	< 1	positiv	5	2/2 (100%)	IL	
2	negativ		positiv	841	2/2 (100%)	RS	Ausreißer Xalle u. XRS
4	negativ	< 4	positiv	52	2/2 (100%)	RS	
5	negativ	< 2,5	positiv	128,63	2/2 (100%)	RS	
6	negativ		positiv	124	2/2 (100%)	RS	
7	negativ	< 2,5	positiv	68,7	2/2 (100%)	RS	
10	negativ	< 10	positiv	51,76	2/2 (100%)	RS	
13a	negativ	< 2,5	positiv	76,36	2/2 (100%)	RS	
15	negativ	< 2,5	positiv	89,7	2/2 (100%)	RS	
19	negativ	< 1,25	positiv	> 20	2/2 (100%)	RS	
13b	negativ	< 1,0	positiv	< 1,0	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet *

* Umrechnung s. S. 14

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	0		11	
Anzahl negativ	11		0	
Prozent positiv	0		100	
Prozent negativ	100		0	
Konsenswert	negativ		positiv	

Methoden:

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Es wurden zum Nachweis von Soja mittels ELISA zu 100% negative Ergebnisse für Probe A und zu 100% positive Ergebnisse für Probe B erhalten. Ein positives Ergebnis lag unterhalb der Bestimmungsgrenze der Methode (Auswertenr. 13b, Veratox).

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe B

Auswertenummer	Sojaprotein [mg/kg]	z-Score X_{ptALL}	z-Score X_{ptRS}	Methode	Hinweis
18	5	-3,8		IL	
2	841	35,6	31,7	RS	Ausreißer X _{alle} u. X _{RS}
4	52	-1,6	-1,8	RS	
5	128,63	2,1	1,5	RS	
6	124	1,8	1,3	RS	
7	68,7	-0,8	-1,1	RS	
10	51,76	-1,6	-1,8	RS	
13a	76,36	-0,4	-0,8	RS	
15	89,7	0,2	-0,2	RS	
19	> 20			RS	
13b	< 1,0			VT	Ergebnis umgerechnet *

* Umrechnung s. S. 14

Methoden:

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

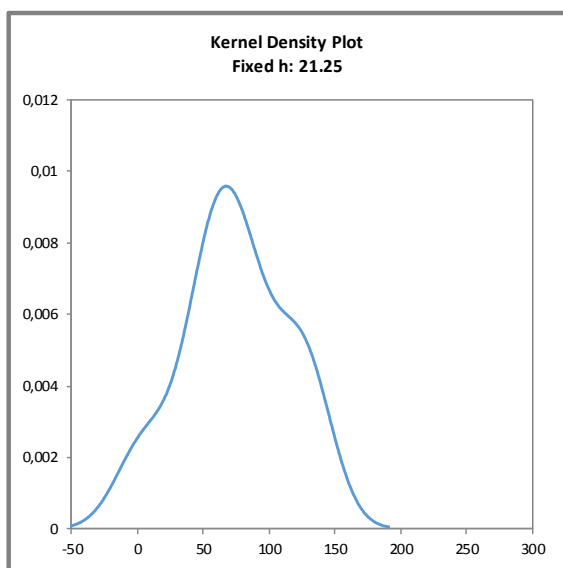


Abb. 2: Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse Sojaprotein ohne Ausreißer (mit $h = \sigma_{pt}$ von X_{ptALL})

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine Normalverteilung der Ergebnisse mit zwei Schultern bei 5 mg/kg (Methode IL) und ca. 120-130 mg/kg (zwei höhere Werte der Methode RS) (s. Abb. 2).

Kenndaten: Quantitative Auswertung Soja (als Sojaprotein)

Probe B

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{ptALL}	$X_{ptMETHOD RS}$
Anzahl der Messergebnisse	9	8
Anzahl der Ausreißer	1	1
Median	76,4	83,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	85,0	94,2
Robuste Standardabweichung (S^*)	55,8	45,6
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	21,2	23,6
untere Grenze des Zielbereichs	42,5	47,1
obere Grenze des Zielbereichs	127	141
Quotient S^*/σ_{pt}	2,6	1,9
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	23,3	20,2
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	1,1	0,86
Ergebnisse im Zielbereich	6	7
Prozent im Zielbereich	67%	88%

Methode:

RS = R-Biopharm, Ridascreen Fast®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine leicht erhöhte Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag deutlich über 2,0. Die Methoden-übergreifende Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist eingeschränkt.

Die Auswertungen der Ergebnisse von Methode RS zeigte eine akzeptable Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag etwas unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethode (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 52% und 57% etwa bei der Hälfte des Zusatzniveaus von Soja zu Probe B, aber innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Soja" S.21).

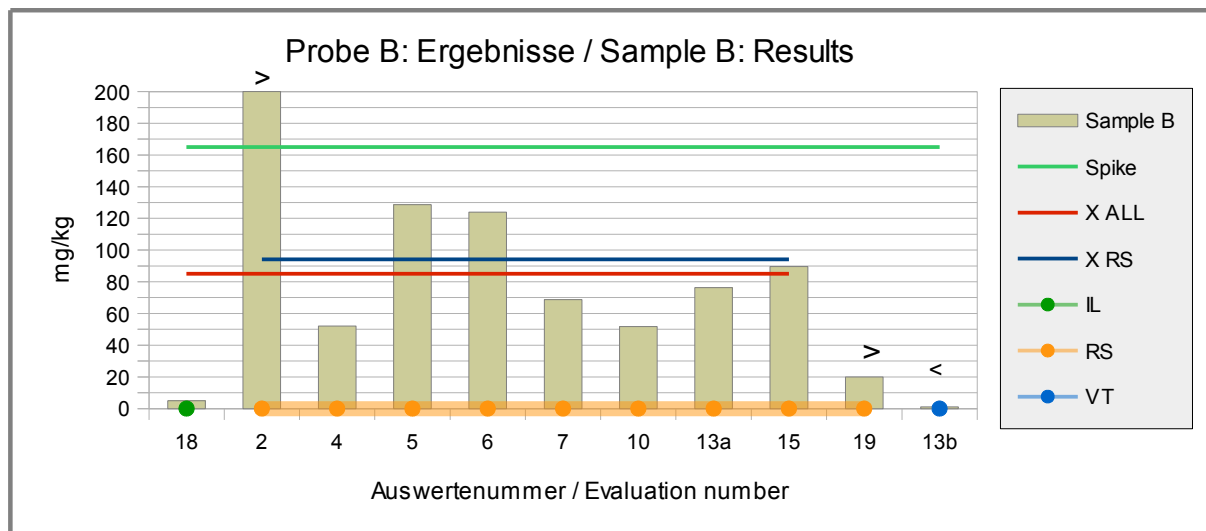


Abb. 3: ELISA-Ergebnisse Soja (als Sojaprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau
 rote Linie = Bezugswert robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

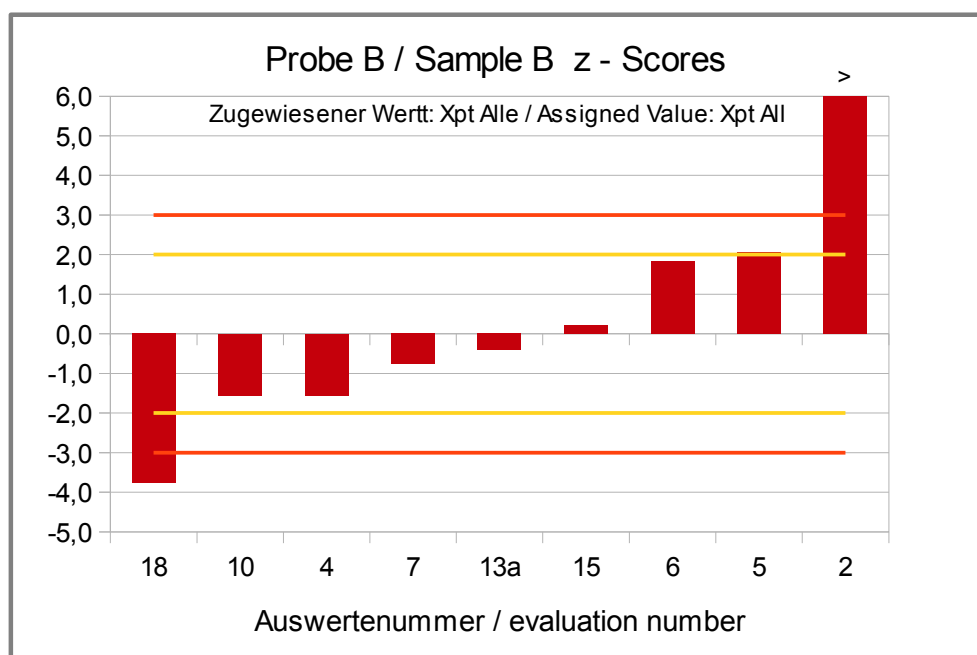


Abb. 4: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sojaprotein)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

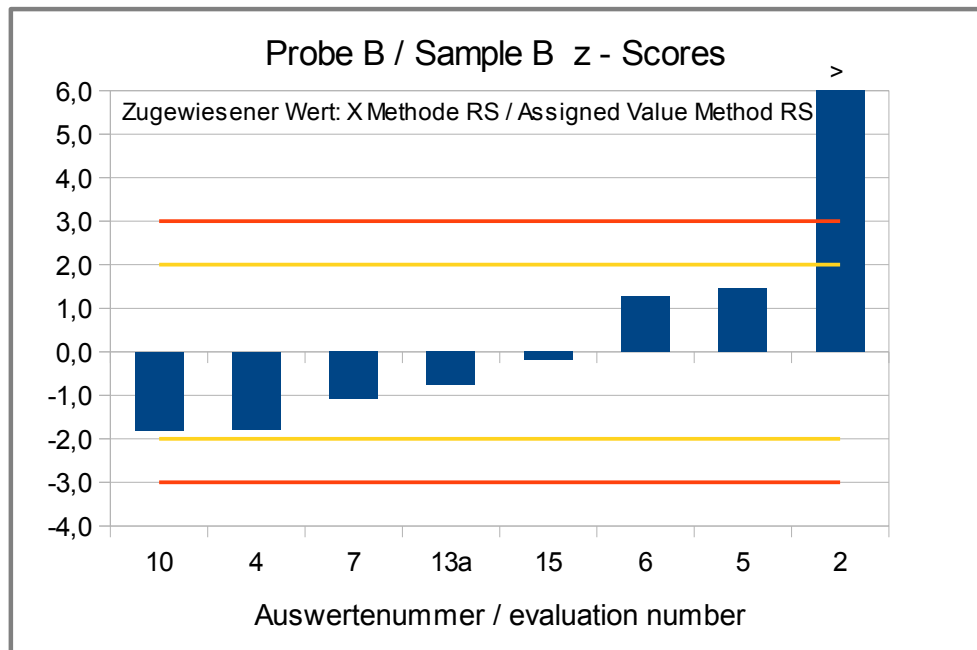


Abb. 5: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sojaprotein)
Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS
(R-Biopharm, Ridascreen Fast)

**Wiederfindungsraten für Soja (als Sojaprotein):
Dotierungsmaterialprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate	Probe B	Wiederfindungsrate	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
18	20000	249	5	3,0	IL	
2	>20		841	510	RS	
4	8530	106	52	32	RS	
5	5698	71	128,63	78	RS	
6			124	75	RS	
7	9860	123	68,7	42	RS	
10	6143,9	76	51,76	31	RS	
13a	5969	74	76,36	46	RS	
15			89,7	54	RS	
19	> 20		> 20		RS	
13b	157	2,0	< 1,0		VT	Ergebnis umgerechnet *

* Umrechnung s. S. 14

AB*	50-150 %	AB*	50-150 %
Anzahl im AB	5	Anzahl im AB	3
Prozent im AB	71	Prozent im AB	33

* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Wiederfindungsrate
100% Bezugsgröße:
Sojaprotein, s. Seite 4

Methoden:

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

71% der Teilnehmer haben in der Dotierungsmaterialprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Bei der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Brot-Probe B lagen 33% der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Soja

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
10	negativ		positiv		1/1 (100%)	ASU	
11	positiv	< 10	positiv	69	1/1 (100%)	ASU	
6	positiv		positiv		1/1 (100%)	SFA ID	
16a	positiv	-	positiv	-	1/1 (100%)	SFA ID	
3	positiv	185	positiv	6982	1/1 (100%)	SFA Quant	
14	positiv		positiv	152	1/1 (100%)	SFA Quant	
16b	positiv	2,5	positiv	114	1/1 (100%)	SFA Quant	
1	negativ	-	positiv	-	1/1 (100%)	div	
8	negativ		positiv	5000	1/1 (100%)	div	Ergebnis als Soja-DNA angegeben
9	negativ		negativ		0/1 (0%)	div	
19	negativ		positiv		1/1 (100%)	div	

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	6		10	
Anzahl negativ	5		1	
Prozent positiv	55		91	
Prozent negativ	45		9	
Konsenswert	keiner		positiv	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode
 SFA ID = Sure Food Allergen ID,
 R-Biopharm / Congen

SFA Quant = Sure Food Allergen Quant,
 R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Zum Nachweis von Soja-DNA mittels PCR wurden 91% positive Ergebnisse für Probe B erhalten. Der Konsenswert für Probe B steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

Für Probe A wurden 55% positive und 45% negative Ergebnisse erhalten. Ein Konsenswert ($\geq 75\%$) konnte somit nicht festgestellt werden. Die positiven Ergebnisse dürften nahe der Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenzen der Methoden liegen. Die quantitativen Angaben der Teilnehmer für Probe A lassen auf Gehalte < 10 mg/kg schließen (Teilnehmer 3 hat ca. um den Faktor 20 höhere Ergebnisse erhalten, s. Wiederfindungsraten S. 23).

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe B

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Ergebnisse vorlagen.

**Wiederfindungsraten für Soja (als Sojabohne / Sojamehl):
Dotierungsmaterialprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate	Probe B	Wiederfindungsrate	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
10					ASU	
11	26000	129	69	17	ASU	
6					SFA ID	
16a	-		-		SFA ID	
3			6982	1691	SFA Quant	
14	11556	57	152	37	SFA Quant	
16b	12149	60	114	28	SFA Quant	
1	-		-		div	
8	17000	85	5000	1211	div	WF nicht gültig, falls Ergebnis als Soja-DNA angegeben (s. Dokumentation)
9					div	
19					div	

AB*	50-150 %	AB*	50-150 %
Anzahl im AB	4	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	100	Prozent im AB	0

Wiederfindungsrate
100% Bezugsgröße:
Sojamehl, s. Seite 4

* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU \$64 Methode
SFA ID = Sure Food Allergen ID,
R-Biopharm / Congen

SFA Quant = Sure Food Allergen Quant,
R-Biopharm / Congen
div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Alle vier Teilnehmer, die quantitative Ergebnisse mittels PCR für die Dotierungsmaterialprobe angegeben haben, erhielten Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich von 50-150%. Bei der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Brot-Probe B lag keine der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Drei Wiederfindungsraten lagen unterhalb von 50% und zwei um den Faktor 12-17 oberhalb von 100%.

4.2 Vergleichsuntersuchung Gluten

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswerte- nummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
12	negativ	< 5	positiv	< 5	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	< 2	positiv	4	2/2 (100%)	IL	Ergebnis umgerechnet *
1a	negativ	< 5	positiv	17	2/2 (100%)	RS1	
2	negativ		positiv	23	2/2 (100%)	RS1	
3	negativ		positiv	30,35	2/2 (100%)	RS1	
4	negativ	< 10	positiv	22	2/2 (100%)	RS1	Ergebnis umgerechnet *
5	negativ	< 2,5	positiv	24,6	2/2 (100%)	RS1	qualitative Methode: Lateral Flow (s. Dokumentation)
6	negativ		positiv	20,4	2/2 (100%)	RS1	
7	negativ	< 5,0	positiv	18,9	2/2 (100%)	RS1	
9	negativ	< 5	positiv	20	2/2 (100%)	RS1	
10	negativ	< 5	positiv	22,64	2/2 (100%)	RS1	
11	negativ	< 5	positiv	16,2	2/2 (100%)	RS1	
13	negativ	< 5	positiv	16,83	2/2 (100%)	RS1	
14	negativ	6	positiv	27	2/2 (100%)	RS1	
15	negativ	< 5	positiv	16	2/2 (100%)	RS1	
19	negativ	< 3	positiv	16,7	2/2 (100%)	RS1	
17	positiv	4,86	positiv	9,73	1/2 (100%)	RS2	
1b	negativ	< 10	positiv	26	2/2 (100%)	VT	
8	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	

* Umrechnung s. S. 14

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	1		18	
Anzahl negativ	18		1	
Prozent positiv	5		95	
Prozent negativ	95		5	
Konsenswert	negativ		positiv	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 IL = Immunolab
 RS1 = Ridascreen®, R-Biopharm

RS2 = Ridascreen Fast®, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Es wurden zum Nachweis von Gluten mittels ELISA zu 95% negative Ergebnisse für Probe A und zu 95% positive Ergebnisse für Probe B erhalten. Ein positives Ergebnis lag im Bereich der Bestimmungsgrenze der Methode (Auswertenr. 17, Methode RS2). Ein negatives Ergebnis wurde mit einer Hausmethode erhalten (Auswertenr. 8). Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe B

Auswerte- nummer	Gluten	z-Score X_{ALL}	z-Score X_{RS}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	Bezug X_{ALL}	$X_{Methode RS}$		
12	< 5			AQ	
18	4	-3,2		IL	Ergebnis umgerechnet *
1a	17	-0,6	-0,7	RS1	
2	23	0,6	0,5	RS1	
3	30,35	2,1	1,9	RS1	
4	22	0,4	0,3	RS1	Ergebnis umgerechnet *
5	24,6	0,9	0,8	RS1	
6	20,4	0,1	0,0	RS1	
7	18,9	-0,2	-0,3	RS1	
9	20	0,0	-0,1	RS1	
10	22,64	0,6	0,4	RS1	
11	16,2	-0,7	-0,9	RS1	
13	16,83	-0,6	-0,7	RS1	
14	27	1,4	1,2	RS1	
15	16	-0,8	-0,9	RS1	
19	16,7	-0,6	-0,8	RS1	
17	9,73	-2,0		RS2	
1b	26	1,2		VT	
8				div	

* Umrechnung s. S. 14

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

IL = Immunolab

RS1 = Ridascreen®, R-Biopharm

RS2 = Ridascreen Fast®, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

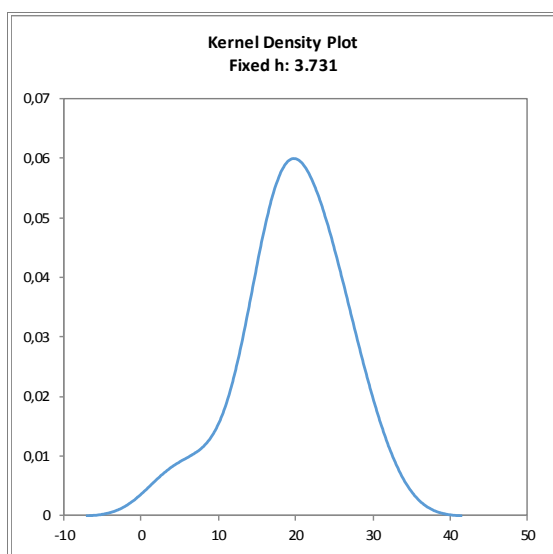


Abb. 6: Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse Gluten (mit $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$ von X_{ptALL})

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Normalverteilung der Ergebnisse mit einer Schulter bei 4 mg/kg (Methode IL) (s. Abb. 6).

Kenndaten: Quantitative Auswertung Gluten**Probe B**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS1 [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{ptALL}	$X_{ptMETHOD RS}$
Anzahl der Messergebnisse	17	14
Anzahl der Ausreißer	0	0
Median	20,0	20,2
Robuster Mittelwert (X_{pt})	19,9	20,6
Robuste Standardabweichung (S^*)	5,77	4,44
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,98	5,15
untere Grenze des Zielbereichs	9,95	10,3
obere Grenze des Zielbereichs	29,9	30,9
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2	0,86
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,75	1,48
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,35	0,29
Ergebnisse im Zielbereich	15	14
Prozent im Zielbereich	88%	100%

Methode:

RS1 = R-Biopharm, Ridascree®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS1 zeigten eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag jeweils deutlich unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für die Methoden IL, RS2 und VT jeweils nur ein Ergebnis vorlag.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit ca. 60% vom Zusatzniveau von Gluten zu Probe B, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Gluten" S.29).

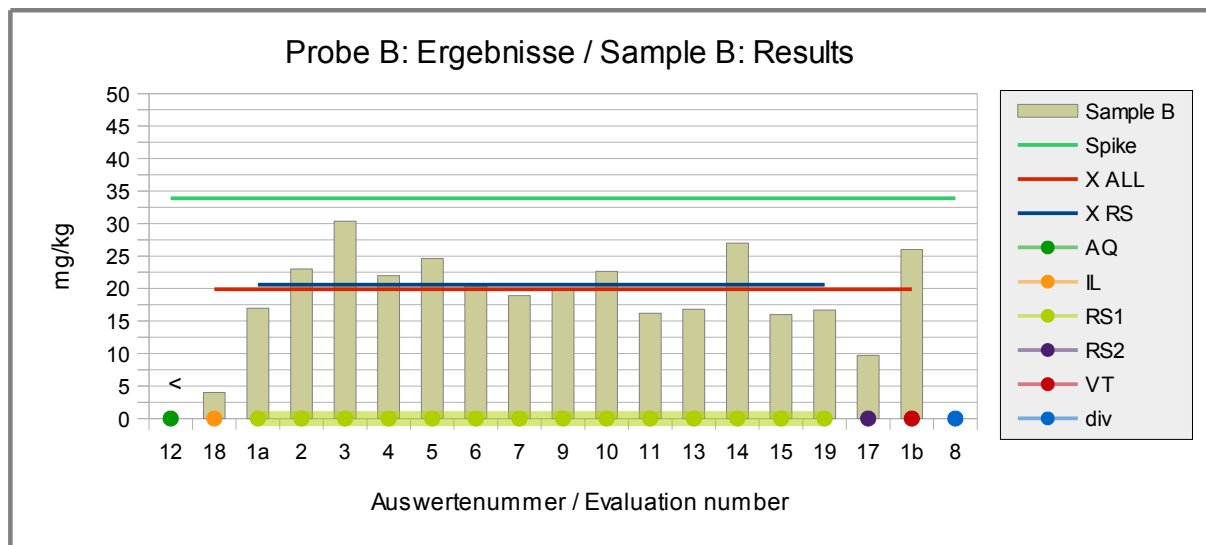


Abb. 7: ELISA-Ergebnisse Gluten
 grüne Linie = Zusatzniveau
 rote Linie = Bezugswert robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS1
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

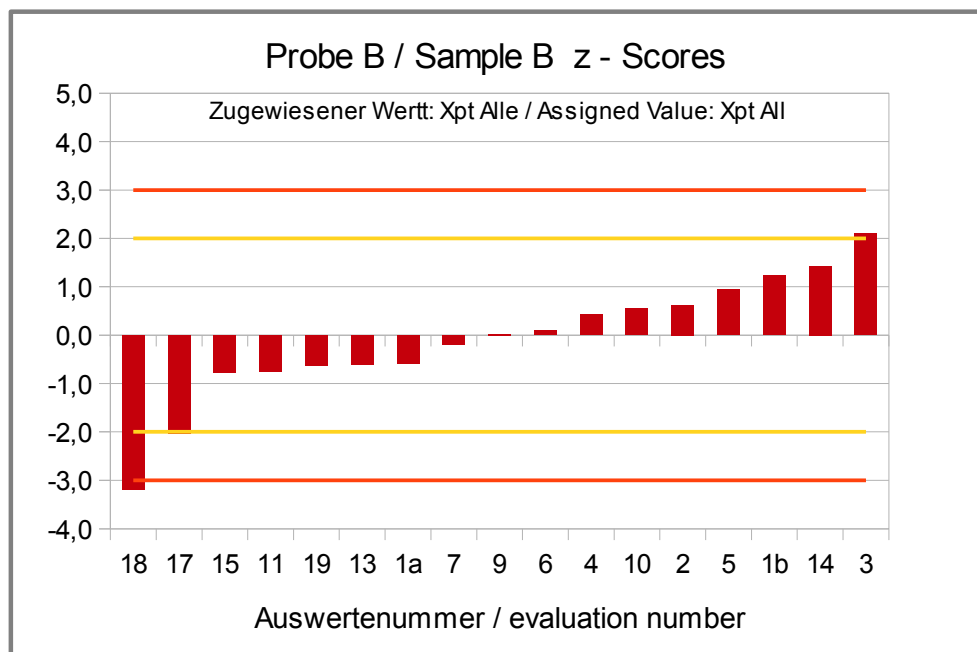


Abb. 8: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

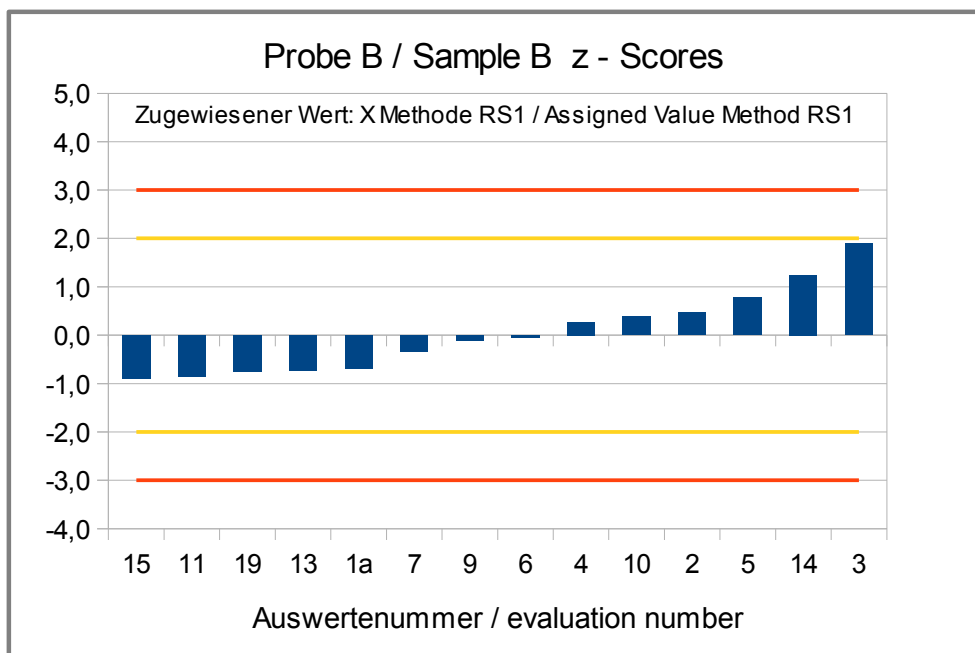


Abb. 9: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)
Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS1
(R-Biopharm, Ridascreen)

**Wiederfindungsraten für Gluten:
Dotierungsmaterialprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate	Probe B	Wiederfindungsrate	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
12	> 20		< 5		AQ	
18	4000	242	4	12	IL	Ergebnis umgerechnet *
1a	740	45	17	50	RS1	
2	500	30	23	68	RS1	
3			30,35	90	RS1	
4	774	47	22	65	RS1	Ergebnis umgerechnet *
5	> 80		24,6	73	RS1	
6			20,4	60	RS1	
7	2164	131	18,9	56	RS1	
9	-		20	59	RS1	
10	701,5	43	22,64	67	RS1	
11	560	34	16,2	48	RS1	
13	673	41	16,83	50	RS1	
14	1000	61	27	80	RS1	
15			16	47	RS1	
19	> 80		16,7	49	RS1	
17	339,71	21	9,73	29	RS2	
1b	1100	67	26	77	VT	
8	77,5	5			div	

* Umrechnung s. S. 14

AB*	50-150 %	AB*	50-150 %
Anzahl im AB	3	Anzahl im AB	11
Prozent im AB	25	Prozent im AB	65

* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Wiederfindungsrate
100% Bezugsgröße:
Gluten, s. Seite 4

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
IL = Immunolab
RS1 = Ridascreen®, R-Biopharm

RS2 = Ridascreen Fast®, R-Biopharm
VT = Veratox, Neogen
div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

25% der Teilnehmer haben in der Dotierungsmaterialprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Bei der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Brot-Probe B lagen 65% der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Weizen

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
6	Spuren		positiv		1/1 (100%)	SFA ID	
19a	positiv		positiv		1/1 (100%)	SFA ID	
16	positiv	< 1	positiv	5,3	1/1 (100%)	SFA Quant	Ergebnis als Glutenhaltige Getreide
1	negativ	-	positiv	-	1/1 (100%)	div	
8	negativ		negativ	0	0/1 (0%)	div	Ergebnis als Weizen-DNA
9	negativ		negativ		0/1 (0%)	div	
10	-		-		0/1 (0%)	div	
11	negativ	< 80	positiv	< 200	1/1 (100%)	div	Ergebnis als Weizen
19b	negativ		positiv		1/1 (100%)	div	

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	2		6	
Anzahl negativ	5		2	
Prozent positiv	29		75	
Prozent negativ	71		25	
Konsenswert	keiner		positiv	

Methoden:

SFA ID = Sure Food Allergen ID,
R-Biopharm / Congen

SFA Quant = Sure Food Allergen Quant,
R-Biopharm / Congen
div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Zum Nachweis von Weizen-DNA mittels PCR wurden 75% positive Ergebnisse für Probe B erhalten. Der Konsenswert für Probe B steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

Für Probe A wurden 29% positive und 71% negative Ergebnisse sowie eine Angabe als „Spuren“ erhalten. Ein Konsenswert ($\geq 75\%$) konnte nicht festgestellt werden.

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe B

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Ergebnisse vorlagen.

**Wiederfindungsraten für Weizen:
Dotierungsmaterialprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate	Probe B	Wiederfindungsrate	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
6					SFA ID	
19a					SFA ID	
16	3041	20	5,3	1,7	SFA Quant	Ergebnis als Glutenhaltige Getreide
1	-		-		div	
8	50000	327	0	0	div	WF nicht gültig, falls Ergebnis als Weizen-DNA angegeben (s. Dokumentation)
9					div	
10					div	
11	73400	480	< 200		div	Ergebnis als Weizen
19b					div	

AB*	50-150 %	AB*	50-150 %
Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	0	Prozent im AB	0

* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Wiederfindungsrate
100% Bezugsgröße:
Weizenmehl, s. Seite 4

Methoden:

SFA ID = Sure Food Allergen ID,
R-Biopharm / Congen

SFA Quant = Sure Food Allergen Quant,
R-Biopharm / Congen
div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Drei Teilnehmer haben quantitative Ergebnisse mittels PCR angegeben. Es wurden dabei sowohl für die Dotierungsmaterialprobe als auch für die mit dem Dotierungsmaterial hergestellte Brot-Probe B keine Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich von 50-150% erhalten.

5. Dokumentation

Angaben der Teilnehmer

5.1 ELISA: Soja

Primärdaten

Auswerte- nummer	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Angabe quantitatives Ergebnis als	Meth. Abk.	Methode
	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein		
18	negativ	< 1	positiv	5	positiv	20000	Sojaprotein	IL	Immunolab Soy ELISA
2	negativ		positiv	841	positiv	>20	Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
4	negativ	< 4	positiv	52	positiv	8530	Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
5	negativ	< 2,5	positiv	128,63	positiv	5698	Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
6	negativ		positiv	124	positiv		Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
7	negativ	< 2,5	positiv	68,7	positiv	9860	Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
10	negativ	< 10	positiv	51,76	positiv	6143,9	Angabe als Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
13a	negativ	< 2.5	positiv	76,36	positiv	5969	Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
15	-	< 2,5	-	89,7	-		Sojaprotein	RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
19	negativ	< 1,25	positiv	> 20	positiv	> 20		RS	Ridascreen Fast Soja / Soja (R7102), r-Biopharm
13b	negativ	< 2,5	positiv	< 2,5	positiv	392	Sojamehl	VT	Veratox Soy, Neogen

Methoden:

IL = Immunolab

VT = Veratox, Neogen

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Auswerte- nummer	Meth. Abk.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
18	IL	STI		
2	RS	Sojaprotein	R-biopharm Methode Version 13-12-10	
4	RS	anti-Sojaprotein		
5	RS		Probenvorbereitung und Testdurchführung wird wie im Testkit enthaltene Anleitung durchgeführt.	
6	RS		nach Arbeitsanleitung	
7	RS		nach Herstelleranleitung	
10	RS		lt. Testkitbeschreibung	
13a	RS	Hitzebehandeltes Sojaprotein	nach Testkitanleitung	
15	RS		10min / 100°C	
19	RS			
13b	VT	Sojaproteine	nach Testkitanleitung	

5.2 ELISA: Gluten*Primärdaten*

Auswertenummer	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Angabe quantitatives Ergebnis als	Meth. Abk.	Methode
	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg			
							z.B. Lebensmittel / Protein		Test-Kit + Anbieter
12	negativ	< 5	negativ	< 5	positiv	> 20	Gluten	AQ	AgraQuant Gluten (COKAL0200), RomerLabs
18	negativ	< 1	positiv	2	positiv	2000	Gliadin	IL	Immunolab Gliadin GLU-E02
1a	negativ	< 5	positiv	17	positiv	740	Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
2	negativ		positiv	23	positiv	500	Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
3	negativ		positiv	30,35	positiv		Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
4	negativ	< 5	positiv	11	positiv	387	Gliadin	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
5	negativ	< 2,5	positiv	24,6	positiv	> 80	Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
6	negativ		positiv	20,4	positiv		Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
7	negativ	< 5,0	positiv	18,9	positiv	2164	Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
9	negativ	< 5	positiv	20	-	-		RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
10	negativ	< 5	positiv	22,64	positiv	701,5	Angabe als Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
11	negativ	< 5	positiv	16,2	positiv	560	Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
13	negativ	< 5	positiv	16,83	positiv	673	Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
14	positiv	6	positiv	27	positiv	1000		RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
15	-	< 5	-	16	-		Gluten	RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
19	negativ	< 3	positiv	16,7	positiv	> 80		RS1	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm
17	-	4,86	-	9,73	positiv	339,71		RS2	Ridascreen Fast Gluten (R7002), r-Biopharm
1b	negativ	< 10	positiv	26	positiv	1100	Gluten	VT	Veratox Gliadin, Neogen
8	negativ		negativ		positiv	77,5	Gluten-Protein	div	in house

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

IL = Immunolab

RS1 = Ridascreen®, R-Biopharm

RS2 = Ridascreen Fast®, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Weitere Angaben zu den Methoden

Auswertenummer	Meth. Abk.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
12	AQ			
18	IL	Gliadin		
1a	RS1			
2	RS1	R5	R-Biopharm Methode Version 12-04-18	
3	RS1	r5	extrahiert mit C. Lösung Mendez	
4	RS1	antigliadin		
5	RS1		Probenvorbereitung und Testdurchführung wird wie im Testkit enthaltene Anleitung durchgeführt. Verwendung von Cocktaillösung R7006	Probe A und B wurden vorab mit RIDA®QUICK Gliadin R7004 (qualitativ) durchgeführt.
6	RS1		nach Arbeitsanleitung	
7	RS1		nach Herstelleranleitung	
9	RS1	R5	nach Arbeitsanleitung	
10	RS1		lt. Testkitbeschreibung	
11	RS1	Gliadin	Cocktail-Extraktionslösung	
13	RS1	Monoklonaler R5 Antikörper	nach Arbeitsanleitung	Mendez R5 Method
14	RS1			
15	RS1	R5-Mendez	Cocktail-Lösung/40min/50°C + Etanol80%/ 1 h / Raumtemperatur	
19	RS1			
17	RS2	Gliadin	RIDA Extraction Solution R7009/2 Stunden/ 60°C Wasserbad	
1b	VT			
8	div			

5.3 PCR: Soja*Primärdaten*

Auswertenummer	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Angabe quantitatives Ergebnis als	Meth. Abk.	Methode
	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein		Test-Kit + Anbieter
10	negativ		positiv		positiv		DNA-Soja	ASU	ASU § 64 LFGB L 00.00-105, Anhang C.2 (modifiziert)
11	positiv	< 10	positiv	69	positiv	26000	Sojamehl	ASU	ASU L 08.00-59 : 2013-01
6	positiv		positiv		positiv		DNA-Soja	SFA ID	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
16a	positiv	-	positiv	-	positiv	-	Sojabohne, gesamt	SFA ID	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
3	positiv	185	positiv	6982	positiv		Sojabohne, gesamt	SFA Quant	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
14	positiv		positiv	152	positiv	11556		SFA Quant	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
16b	positiv	2,5	positiv	114	positiv	12149	Sojabohne, gesamt	SFA Quant	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
1	negativ	-	positiv	-	positiv	-	DNA-Soja	div	interne Methode
8	negativ		positiv	5000	positiv	17000	"Soja-DNA"	div	Hausmethode
9	negativ		negativ		positiv		Soja-DNA	div	Hausmethode
19	negativ		positiv		positiv		Soja-DNA	div	interne Methode

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode

SFA ID = Sure Food Allergen ID,
R-Biopharm / CongenSFA Quant = Sure Food Allergen Quant,
R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Weitere Angaben zu den Methoden

Auswertenummer	Meth. Abk.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gel-elektrophorese / Cyclen	
10	ASU	Lektin Gen (74 bp)	nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufarbeitung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega) Real-time PCR mit 45 Zyklen	Probe B: < 120 haploide Genomkopien; Dotierungsprobe: < 60.500 haploide Genomkopien
11	ASU	Lectin-Gen, 81 bp		
6	SFA ID		nach Arbeitsanleitung	
16a	SFA ID	-	S3401 SureFood®ALLERGEN 4plex Soya/Celery/Mustard+IAC Nachweisgrenze 0,4 mg/kg Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	-
3	SFA Quant		extrahiert mit preo advanced r-biopharm, RT-PCR, 45 Zyklen	
14	SFA Quant			Probe A: Nur Spuren nachweisbar zwischen Nachweis- und Bestimmungsgrenze; quantitative Angabe nicht zulässig
16b	SFA Quant	-	S3201 SureFood®ALLERGEN QUANT Soya Nachweisgrenze 0,4 mg/kg Bestimmungsgrenze 1 mg/kg Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	-
1	div		CTAB / Protease K / Chloroform + Promega Wizard/ Realtime PCR / - / 45 Zyklen	
8	div	Lectin	Wizard	
9	div			
19	div			

5.4 PCR: Weizen*Primärdaten*

Auswertenummer	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Angabe quantitatives Ergebnis als	Meth. Abk.	Methode
	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg			
							z.B. Lebensmittel / Protein		Test-Kit + Anbieter
6	Spuren		positiv		positiv		DNA-glutenhaltiges Getreide	SFA ID	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
19a	positive		positive		positive		Gluten	SFA ID	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
16	positiv	< 1	positiv	5,3	positiv	3041	andere: Glutenhaltige Getreide	SFA Quant	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
1	negativ	-	positiv	-	positiv	-	Weizen, Gerste, Roggen DNA (indirekt Gluten)	div	interne Methode
8	negativ		negativ	0	positiv	50000	"Weizen-DNA"	div	in house
9	negative		negative		positive		Weizen-DNA	div	in house method
10	-		-		positiv		DNA-Weizen/Dinkel	div	nach Iida et al. (2005) J Agric. Food Chem 53: 6294-6300
11	negativ	< 80	positiv	< 200	positiv	73400	Weizen	div	ASU, in Vorbereitung (2016)
19b	negative		positive		positive		Weizen-DNA	div	Internal method

Methoden:

SFA ID = Sure Food Allergen ID,
R-Biopharm / Congen

SFA Quant = Sure Food Allergen Quant,
R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Weitere Angaben zu den Methoden

Auswertenummer	Meth. Abk.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
6	SFA ID		nach Arbeitsanleitung	
19a	SFA ID			
16	SFA Quant	-	S3206 SureFood®ALLERGEN QUANT Gluten Nachweisgrenze 0,4 mg/kg Bestimmungsgrenze 1 mg/kg Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	Probe A wurde positiv unterhalb der Bestimmungsgröße getestet (Gehalt > 0,4 mg/kg und < 1 mg/kg)
1	div		CTAB / Protease K / Chloroform + Promega Wizard/ Endpunkt PCR/ 4% Agarosegel / 45 Zyklen	
8	div	Weizen	Wizard	
9	div			
10	div	waxy-D1 Gen (102 bp)	nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufarbeitung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega) Real-time PCR mit 45 Zyklen	Anwendungsbereich des PCR-Nachweises nicht geeignet für Allergennachweis von Gluten, daher Ergebnisangabe ausschließlich für Dotierungsprobe und keine Ergebnisangaben zu Proben A und B; Dotierungsprobe: < 2.400 haploide Genomkopien
11	div	HMW Glutenin Gen B1-1 von Weizen bzw. 1-R von Roggen, 85 bp		
19b	div			

6. Verzeichnis der teilnehmenden Institute in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		SPANIEN
		Deutschland
		FRANKREICH
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		FRANKREICH
		Deutschland
		FRANKREICH
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		SCHWEIZ
		BELGIEN
		Deutschland
		GROSSBRITANIEN
		SCHWEDEN
		GROSSBRITANIEN

[Die Adressdaten der Teilnehmer wurden für die allgemeine Veröffentlichung des Auswertebereichs nicht angegeben.]

[The address data of the participants were deleted for publication of the evaluation report.]

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. Codex Alimentarius Commission (2010) - Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
15. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by immunological methods - Part 1: General considerations
16. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by molecular biological methods - Part 1: General considerations
17. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen - Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs - Detection of food allergens - General considerations and validation of methods
18. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
19. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
20. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5

- enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
- 21.DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 - 22.EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 - 23.IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 - 24.Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 - 25.ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007)
 - 26.ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003)
 - 27.ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006)

DLA-02/2016-Allergene II

Von 20 Teilnehmern haben 19 mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Soja und Gluten bzw. Weizen für ELISA- (qualitativ und quantitativ) und für PCR-Methoden (qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsmaterialprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Test-kit-Herstellern sind dem Auswertebericht zu entnehmen.

10 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Belgien, Frankreich, Großbritannien, Italien, Schweden, Schweiz, Spanien).