

DLA
Dienstleistung
Lebensmittel
Analytik GbR

Auswertungs-Bericht
Laborvergleichsuntersuchung

10/2016

Allergene X:

Gluten in "glutenfreiem" Bier

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.....	4
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	4
2.3 Ergebnisübermittlung.....	5
3. Auswertung.....	6
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	6
3.2 Robuste Standardabweichung.....	7
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	7
Ausschluss von Ergebnissen	7
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	8
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	8
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision	8
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen	10
3.5 z-Score.....	11
3.6 Quotient S^*/σ	12
3.7 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts.....	12
3.8 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	12
4. Ergebnisse.....	13
4.1 Vergleichsuntersuchung Gluten.....	15
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten.....	15
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Glutenhaltige Getreide.....	24
5. Dokumentation.....	25
5.1 ELISA: Gluten.....	25
5.2 PCR: Glutenhaltige Getreide.....	27
6. Verzeichnis der teilnehmenden Institute in alphabetischer Reihenfolge.....	28
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	29

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

Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich um handelsübliche deutsche Biere bzw. Mischungen dieser Biere. Die Sorten "glutenfreies" Bier, Pilsner Bier und Hefeweizen wurden wie in Tabelle 1 angegeben gemischt. Zur Konservierung der Proben wurde Kaliumsorbat zugesetzt.

Die Proben wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 50 mL in PE-Flaschen mit Schraubdeckel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Probe C
"Glutenfreies" Pilsner Bier Kennzeichnung: 4,7%vol Alkohol, 11,5% Stammwürze Zutaten: Mineralwasser, Gerstenmalz , Hopfen Konservierung: Kaliumsorbat*	81 g/100g	100 g/100g	50 g/100g
Pilsner Bier Kennzeichnung: 4,7%vol Alkohol, 11,5% Stammwürze Zutaten: Mineralwasser, Gerstenmalz , Hopfen Konservierung: Kaliumsorbat*	-	-	50 g/100g
Helles Hefeweißbier Kennzeichnung: 5,1%vol Alkohol, 12,5% Stammwürze Zutaten: Mineralwasser, Weizenmalz , Gerstenmalz , Hopfen, Hefe Konservierung: Kaliumsorbat*	19 g/100g	-	-

* Konservierung der LVU-Proben durch DLA

2.1.1 Homogenität

Die Homogenität von Probe A wurde anhand des Glutengehalts mittels ELISA-Test 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].

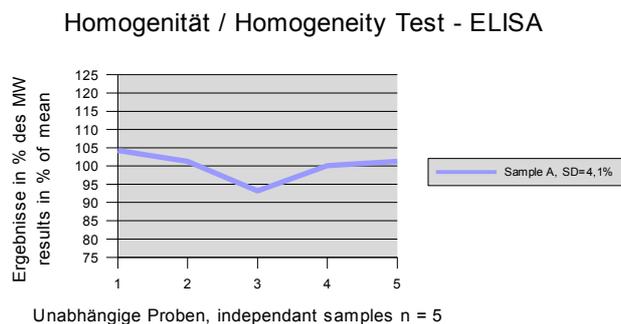


Abb. 1: Homogenitätsprüfung der DLA-Probe A
Darstellung der Ergebnisse relativ in Prozent des arithmetischen Mittelwerts

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jedes teilnehmende Institut wurden in der 20. Kalenderwoche 2016 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A, B und C verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 1. Juli 2016.

Mit dem Proben-Anschreiben wurden den Teilnehmern u.a. nachstehende Informationen mitgeteilt:

Wichtiger Hinweis: Bei Ankunft die Proben bitte kühl lagern (2 - 10°C). Vor der Analyse empfehlen wir, die Bierproben durch vorsichtiges Umschwenken zu homogenisieren.

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 Gluten. 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 unter Angabe der jeweiligen Methode ausgewertet.

20 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben. Zwei Teilnehmer haben keine Ergebnisse eingereicht.

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, 26]. 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.

Die Ergebnisse wurden qualitativ 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.

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 Einzelmethode** - $X_{ptMETHOD i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

Einzelresultate die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder $< 2,5$ 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 werden.

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} .

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].

Die in Tabelle 2 aufgeführten Präzisionsdaten wurden in Ringversuchen mittels eines kommerziellen ELISAs zur Bestimmung von Gluten in fermentierten getreidehaltigen Produkten erhalten (AOAC-Methode AACCI 38-55.02) [25]. Es wurden "glutenfreies" Bier auf Hirse-Basis sowie mit Hordein-Verdau (Gerste) dotierte Hirsebiere untersucht.

Tabelle 2: Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß Auswertungen von Versuchen zur Präzision [25]

Parameter	Matrix	Mittelwerte	RSD_r	RSD_R	Methode / Literatur
Gluten	"glutenfreies" Bier (Hirse-Bier)	2,36 mg/kg	98,0 %	126,1 %	ELISA [25]
Gluten	"glutenfreies" Bier (Hirse-Bier), ge-spiked	26,2 mg/kg	30,2 %	36,8 %	ELISA [25]
Gluten	"glutenfreies" Bier (Hirse-Bier), ge-spiked	119,5 mg/kg	31,2 %	31,2 %	ELISA [25]
Gluten	"glutenfreier" Stärkesirup	1,29 mg/kg	157,3 %	236,1 %	ELISA [25]
Gluten	Stärkesirup	10,6 mg/kg	16,3 %	34,4 %	ELISA [25]
Gluten	Sauerteig	48,4 mg/kg	23,1 %	25,9 %	ELISA [25]
Gluten	Sauerteig	145,6 mg/kg	19,5 %	27,5 %	ELISA [25]

Insbesondere kann auch der Glutengehalt in fermentierten Getreideprodukten von verschiedenen ELISA-Methoden unterschiedlich bewertet werden: Eine Vergleichsstudie von 5 Sandwich-ELISAs und 2 kompetitiven ELISA-Methoden zur Bestimmung von Gluten in verschiedenen Stufen der Bierherstellung wurde von Panda et al. (2015) durchgeführt [26].

Von Colgrave et al. (2014) wurde eine LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Gluten in hydrolysierten Form in Bier im Vergleich zu ELISA-Methoden vorgestellt [27].

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%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% ^(a)	19,5 - 57,2 ^(a)
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 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	± 25% ^(a)	≤ 25%	≤ 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.

Gesetzliche Regelungen und Höchstwert-Empfehlungen

Die Kennzeichnung von Allergenen ist in der Lebensmittel-Informations-VO (EU 1169/2011) geregelt. Für die Kennzeichnung von Gluten bzw. glutenhaltigen Getreiden gilt gemäß EU-Verordnung 828/2014: Lebensmittel mit einem

Glutengehalt <20 mg/kg dürfen als "glutenfrei" und mit Gehalten von maximal 100 mg/kg als mit dem Hinweis "sehr geringer Glutengehalt" bezeichnet werden.

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.

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 Gliadin angegeben wurden, sind in Gluten umgerechnet worden. Es wurde ein der Faktor 2 verwendet (Gliadin x 2 = Gluten).

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 Einzelmethoden 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_{ptALL}	z-Score $X_{ptM i}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

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		

4.1 Vergleichsuntersuchung Gluten

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A, B und C

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Probe C	Probe C	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
1	positiv	534,1	negativ	< 1	positiv	1,75	3/3 (100%)	BC	Ausreißer X _{Alb}
14	positiv	329	positiv	5,4	positiv	16	3/3 (100%)	IG	
20	positiv	186	positiv	2	positiv	2,6	3/3 (100%)	IL	Ergebnis umgerechnet *
2	positiv	330	negativ	< 10	positiv	17	3/3 (100%)	RS1	
3	positiv	258	positiv	10	positiv	19	3/3 (100%)	RS1	
4	positiv	202	negativ	< 10	positiv	10,14	3/3 (100%)	RS1	
5	positiv	> 270	negativ	< 10	positiv	17,3	3/3 (100%)	RS1	Ergebnis umgerechnet *
6	positiv	198,3	negativ		positiv	14,5	3/3 (100%)	RS1	
7	positiv	193,87	negativ	< 10	positiv	18,98	3/3 (100%)	RS1	
8	positiv	250	negativ	< 2,72	positiv	34	3/3 (100%)	RS1	
9	positiv	223,74	negativ		positiv	13,31	3/3 (100%)	RS1	
10	positiv	279,50	negativ	< 10,0	positiv	25,54	3/3 (100%)	RS1	Ergebnis umgerechnet *
11	positiv	242,7	negativ	< 10	positiv	18,3	3/3 (100%)	RS1	Mittelwert von DLA gebildet
12	positiv	218	negativ	< 2,72	positiv	16	3/3 (100%)	RS1	Ergebnis umgerechnet *
13	positiv	295	negativ	< 10	positiv	23	3/3 (100%)	RS1	
15	positiv	268,95	negativ	< 3	positiv	26,29	3/3 (100%)	RS1	
16	positiv	282,75	positiv	18,16	positiv	32,21	3/3 (100%)	RS1	
17	positiv	471	positiv	17	positiv	30	3/3 (100%)	RS1	Ausreißer X _{alle} u. X _{RS1}
18	positiv	188	negativ	< 10	positiv	13	3/3 (100%)	RS1	
19	positiv	81	negativ	< 5	negativ	< 5	2/3 (67%)	RS2	

* Umrechnung S. 13

	Probe A	Probe B	Probe C
Anzahl positiv	20	5	19
Anzahl negativ	0	15	1
Prozent positiv	100	25	95
Prozent negativ	0	75	5
Konsenswert	positiv	entspricht	< 20 positiv

Methoden:

BC = Bio-Check, Tecna
 IG = Ingenasa
 IL = Immunolab

RS1 = Ridascreen Gliadin competitiv R7021, R-Biopharm
 RS2 = Ridascreen Gluten R7001, R-Biopharm

Anmerkung:

Es wurden zum Nachweis von Gluten mittels ELISA zu 100% positive Ergebnisse für Probe A und Probe C erhalten. Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Zusammensetzung der Proben (mit Pilsener Bier und Hefeweizen).

Für Probe B wurden 75% negative und 25% positive Ergebnisse erhalten. Alle Ergebnisse lagen in Übereinstimmung mit der Kennzeichnung als "glutenfrei" unter 20 mg/kg. Für die qualitative Bewertung der Ergebnisse wurde für Probe B die Übereinstimmung mit dem Gehalt <20 mg/kg herangezogen.

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score X _{pt,ALL}	z-Score X _{pt,RS1}	Methode	Hinweis
1	534,1	4,4		BC	Ausreißer X _{Alle}
14	329	1,2		IG	
20	186	-1,1		IL	Ergebnis umgerechnet *
2	330	1,2	1,3	RS1	
3	258	0,1	0,1	RS1	
4	202	-0,8	-0,8	RS1	
5	> 270			RS1	Ergebnis umgerechnet *
6	198,3	-0,9	-0,8	RS1	
7	193,87	-0,9	-0,9	RS1	
8	250	0,0	0,0	RS1	
9	223,74	-0,5	-0,4	RS1	
10	279,50	0,4	0,5	RS1	Ergebnis umgerechnet *
11	242,7	-0,2	-0,1	RS1	Mittelwert von DLA gebildet
12	218	-0,6	-0,5	RS1	Ergebnis umgerechnet *
13	295	0,7	0,7	RS1	
15	268,95	0,2	0,3	RS1	
16	282,75	0,5	0,5	RS1	
17	471	3,4	3,5	RS1	Ausreißer X _{alle} u. X _{RS1}
18	188	-1,0	-1,0	RS1	
19	81	-2,7		RS2	

* Umrechnung S. 13

Methoden:

BC = Bio-Check, Tecna
 IG = Ingenasa
 IL = Immunolab

RS1 = Ridascreen Gliadin competitiv R7021, R-Biopharm
 RS2 = Ridascreen Gluten R7001, R-Biopharm

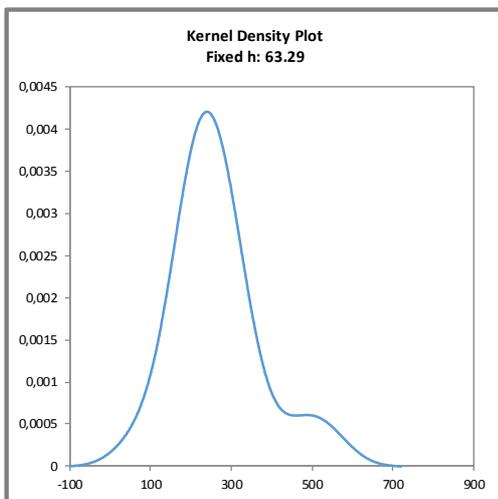


Abb. 2: Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse Gluten (mit $h = \sigma_{pt}$ von $X_{pt,ALL}$)

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Normalverteilung mit einem Neben-Peak bei ca. 500 mg/kg, die auf zwei Ausreißer zurückgeht (s. Abb. 2).

Kenndaten: Quantitative Auswertung Gluten

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS1 [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD\ RS1}}$
Anzahl der Messergebnisse	19	15
Anzahl der Ausreißer	2	1
Median	250	250
Robuster Mittelwert (X_{pt})	253	251
Robuste Standardabweichung (S^*)	69,9	53,4
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	63,3	62,7
untere Grenze des Zielbereichs	127	125
obere Grenze des Zielbereichs	380	376
Quotient S^*/σ_{pt}	1,1	0,85
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	20,0	17,2
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,32	0,28
Ergebnisse im Zielbereich	16	14
Prozent im Zielbereich	84%	93%

Methode:

RS1 = R-Biopharm, Ridascreen Gliadin competitiv R7021

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 Bestimmungsmethode (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

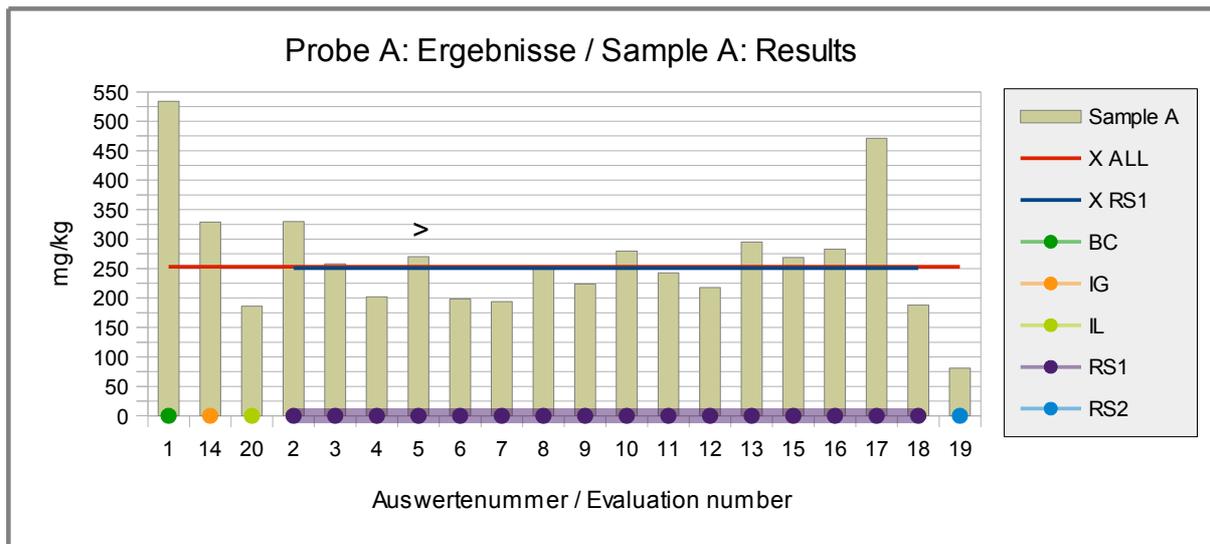


Abb. 3: ELISA-Ergebnisse Gluten
 rote Linie = Bezugswert robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS1
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

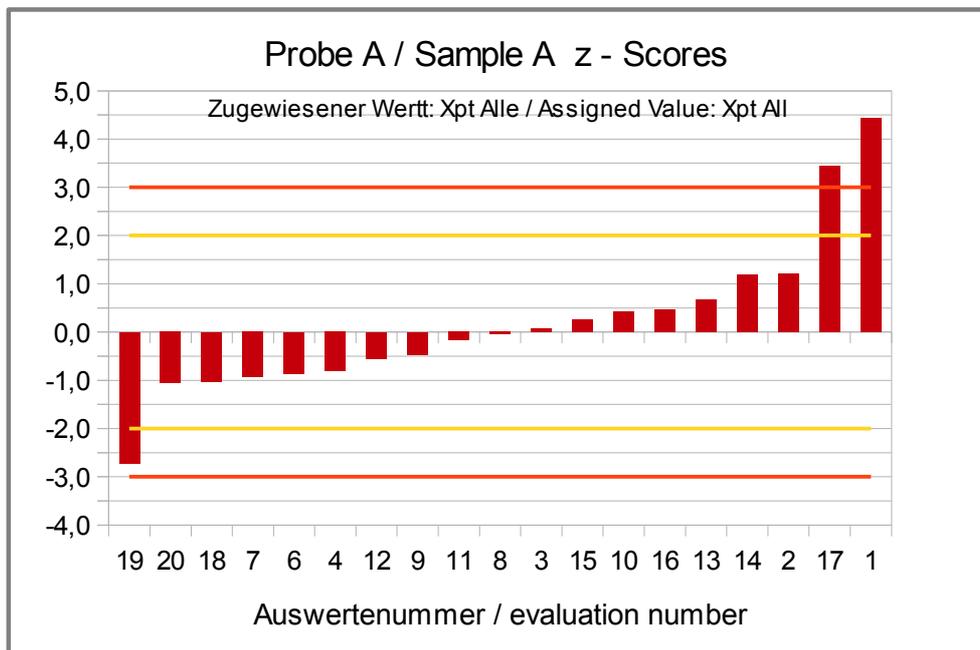


Abb. 4: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

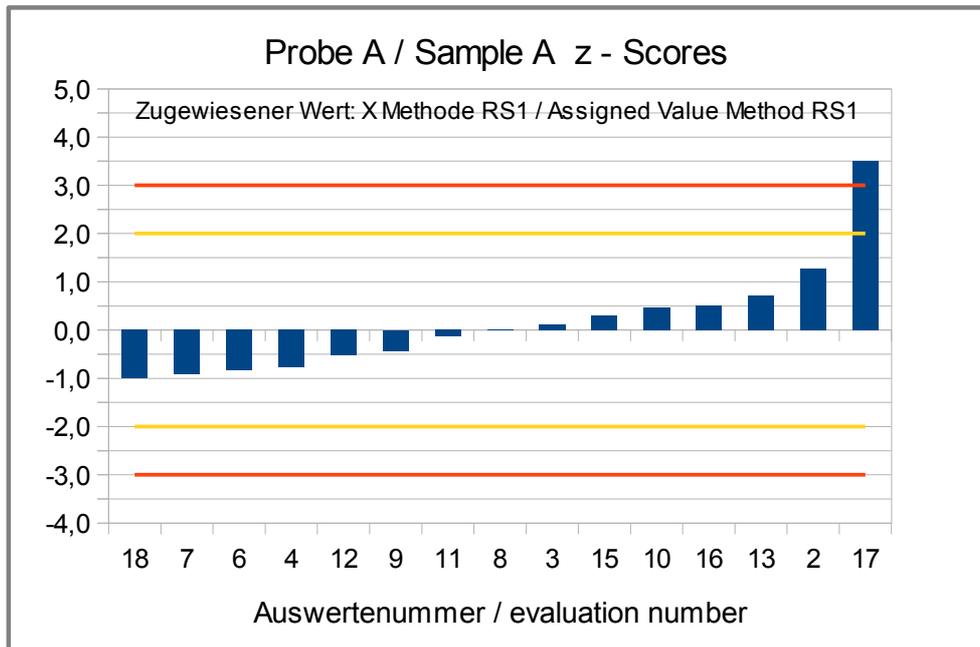


Abb. 5: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)
 Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS1
 (R-Biopharm, Ridascreen competitiv)

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe C

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS1}	Methode	Hinweis
1	1,75	-3,6		BC	
14	16	-0,6		IG	
20	2,6	-3,4		IL	Ergebnis umgerechnet *
2	17	-0,3	-0,7	RS1	
3	19	0,1	-0,3	RS1	
4	10,14	-1,8	-2,0	RS1	
5	17,3	-0,3	-0,6	RS1	Ergebnis umgerechnet *
6	14,5	-0,9	-1,2	RS1	
7	18,98	0,1	-0,3	RS1	
8	34	3,3	2,7	RS1	
9	13,31	-1,1	-1,4	RS1	
10	25,54	1,5	1,0	RS1	Ergebnis umgerechnet *
11	18,3	-0,1	-0,4	RS1	Mittelwert von DLA gebildet
12	16	-0,6	-0,9	RS1	Ergebnis umgerechnet *
13	23	1,0	0,5	RS1	
15	26,29	1,7	1,1	RS1	
16	32,21	2,9	2,3	RS1	
17	30	2,5	1,9	RS1	
18	13	-1,2	-1,5	RS1	
19	< 5			RS2	

* Umrechnung S. 13

Methoden:

BC = Bio-Check, Tecna
 IG = Ingenasa
 IL = Immunolab

RS1 = Ridascreen Gliadin competitiv R7021, R-Biopharm
 RS2 = Ridascreen Gluten R7001, R-Biopharm

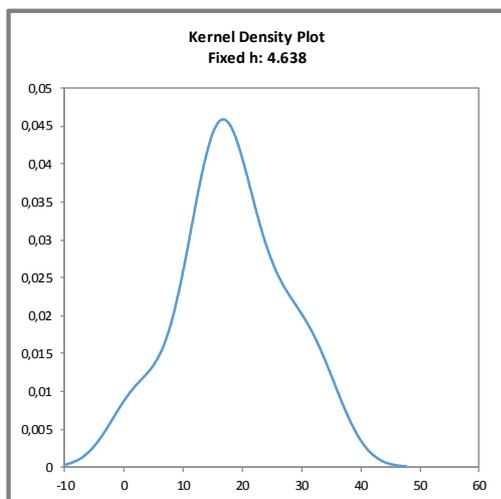


Abb. 6: Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse Gluten
 (mit $h = \sigma_{pt}$ von $X_{pt_{ALL}}$)

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Normalverteilung mit zwei Schultern bei ca. 2 mg/kg (Methoden BC und IL) und 30 mg/kg (s. Abb. 6).

Kenndaten: Quantitative Auswertung Gluten

Probe C

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS1 [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD RS1}}$
Anzahl der Messergebnisse	19	16
Anzahl der Ausreißer	0	0
Median	17,3	18,6
Robuster Mittelwert (X_{pt})	18,6	20,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	9,17	7,95
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,64	5,11
untere Grenze des Zielbereichs	9,28	10,2
obere Grenze des Zielbereichs	27,8	30,6
Quotient S^*/σ_{pt}	2,0	1,6
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,63	2,48
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,57	0,49
Ergebnisse im Zielbereich	14	14
Prozent im Zielbereich	74%	88%

Methode:

RS1 = R-Biopharm, Ridascreen Gliadin competitiv R7021

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS1 zeigten eine normale Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen bei 2,0 bzw. 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.

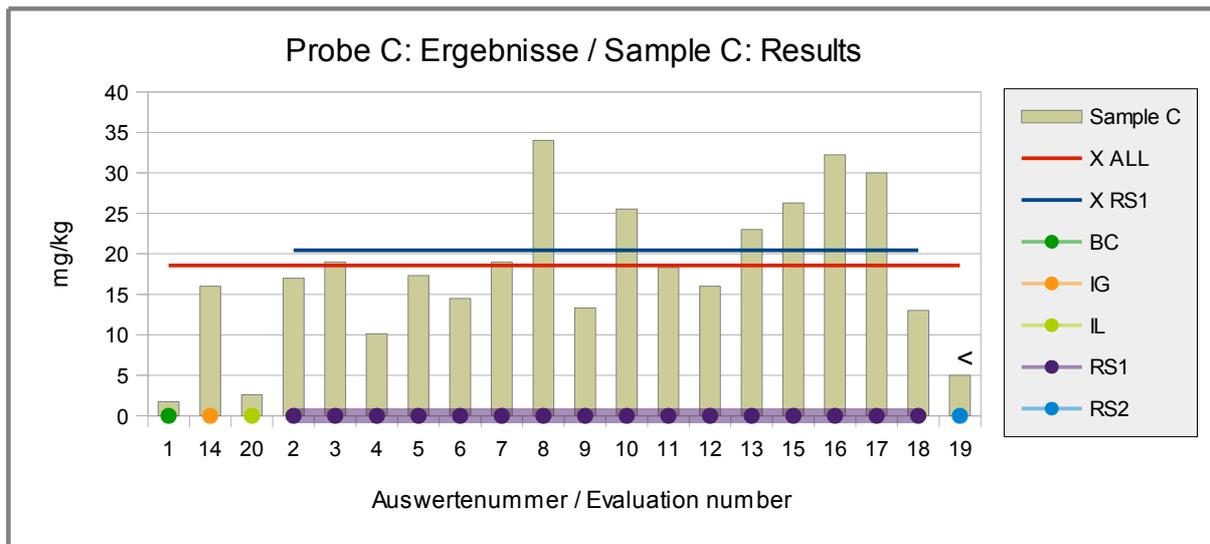


Abb. 7: ELISA-Ergebnisse Gluten
 rote Linie = Bezugswert robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS1
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

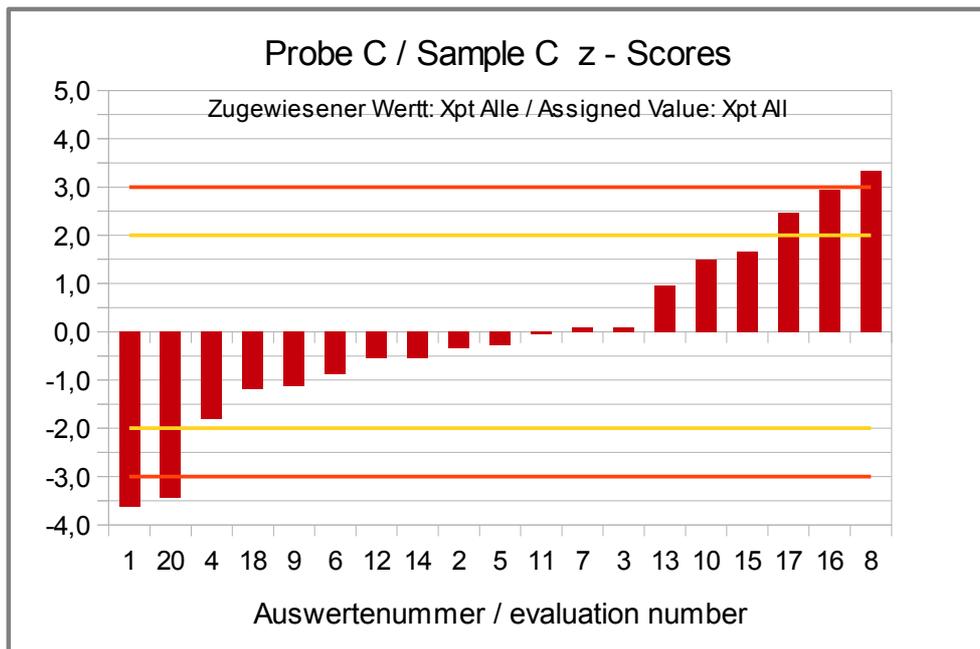


Abb. 8: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

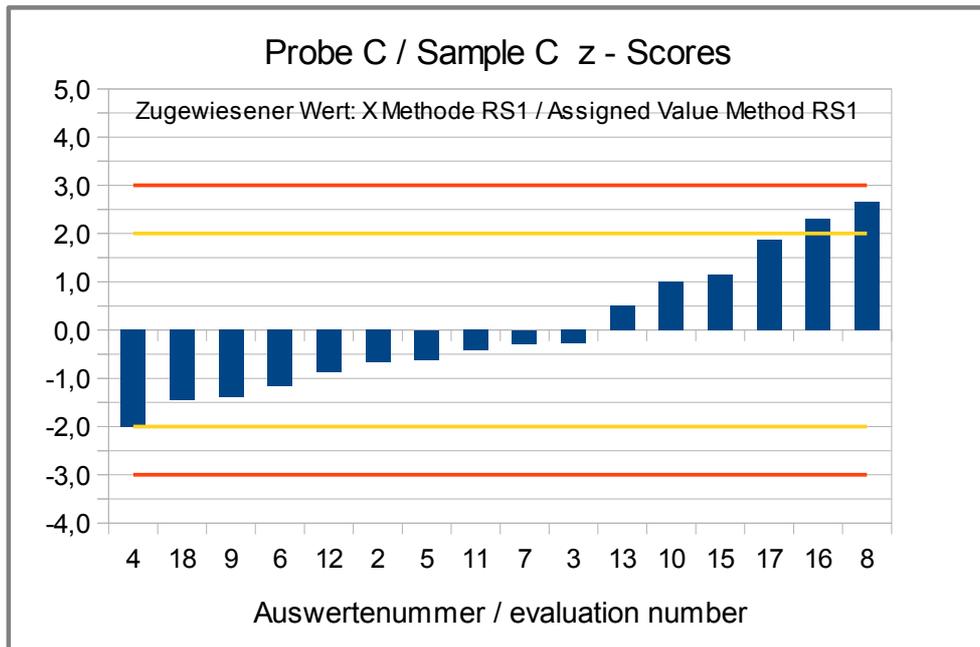


Abb. 9: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)
 Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS1
 (R-Biopharm, Ridascreen competitiv)

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Glutenhaltige Getreide**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A, B und C**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Probe C	Probe C	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
8	negativ	< 0,4	negativ	< 0,4	negativ	< 0,4	-	SFA-ID	
9	negativ		negativ		negativ		-	div	

Methoden:

SFA = Sure Food Allergen,
R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Mittels PCR wurden zum Nachweis von DNA glutenhaltiger Getreide in Bier ausschließlich negative Ergebnisse erhalten.

5. Dokumentation

Angaben der Teilnehmer

5.1 ELISA: Gluten

Primärdaten

Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Probe C		Angabe quantitativen Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein	Meth. Abk.
		qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
1	01.07.16	positiv	534,1	negativ	< 1	positiv	1,75	Gluten	BC
14	06.06.16	positiv	329	positiv	5,4	positiv	16	Gluten	IG
20	20.05.16	positiv	93	positiv	1	positiv	1,3	Weizen-Gliadin	IL
2	09.06.	positiv	330	negativ	<10	positiv	17		RS1
3	29.06.16	positiv	258		10	positiv	19	Gluten	RS1
4	25.05.16	positiv	202	negativ	<10	positiv	10,14	Gluten	RS1
5	30.06.	-	>135	-	<5	-	8,64	Gliadin	RS1
6	29.06.16	positiv	198,3	negativ		positiv	14,5	Gluten	RS1
7	25.06.16	positiv	193,87	negativ	<10	positiv	18,98	Gluten	RS1
8	13.06.16	positiv	250	negativ	< 2,72	positiv	34	Gluten	RS1
9	22.06.16	positiv	223,74	negativ		positiv	13,31	Gluten	RS1
10	08.06.16	positiv	139,75		< 5,00	positiv	12,77	Gliadin	RS1
11	28.06.16	positiv	236,8	negativ	< 10	positiv	16,4	Gluten	RS1
11	28.06.16	positiv	239,6	negativ	< 10	positiv	17,2	Gluten	RS1
11	28.06.16	positiv	252,4	negativ	< 10	positiv	18	Gluten	RS1
11	28.06.16	positiv	242	negativ	< 10	positiv	21,6	Gluten	RS1
12	27.06.16	-	109	-	< 1,36	-	8	Gliadin	RS1
13	09.06.16	-	295	-	<10	-	23	Gluten	RS1
15	10.06.	positiv	268,95	negativ	< 3	positiv	26,29	Gluten	RS1
16	03.06.16	positiv	282,75	positiv	18,16	positiv	32,21	Gluten	RS1
17	31.05.16	-	471	-	17	-	30	Gluten	RS1
18	25.05.16	positiv	188	negativ	<10	positiv	13	Gluten	RS1
19	31.05.16	-	81	-	<5	-	<5		RS2

Methoden:

BC = Bio-Check, Tecna
 IG = Ingenasa
 IL = Immunolab

RS1 = Ridascreen Gliadin kompetitiv R7021, R-Biopharm
 RS2 = Ridascreen Gluten R7001, R-Biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Auswertenummer	Meth. Abk.	Methode	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
1	BC	BIO-CHECK (TECNA)	monoklonale Antikörper	Extraktionslösung / 45/55°C	
14	IG	andere: INGENASA	R5	Extraktion mit ETOH 60 %	
20	IL	Immunolab Gliadin GLU-E02	Gliadin	Kreuzreaktivität von Gerste-Gliadin: 5%	
2	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm			
3	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	Gliadin	gemäss Kit-Anleitung	einzig Probe A wäre zu beanstanden; B bei Bestimmungsgrenze
4	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5	1ml Probe + 9ml ethanolischer Fischgelatine-Puffer	
5	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	Gliadin	60% Ethanol + 10% Fischgelatine/10 min/RT	
6	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm		nach Arbeitsanleitung	
7	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5 monoklonaler Antikörper für potentiell toxische Peptidsequenzen von Gliadin aus Weizen und Prolaminen aus Roggen und Gerste	nach Arbeitsanleitung	
8	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm			
9	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	Gliadin	nach Testkitanleitung des Herstellers	
10	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	Gliadin	nach Testkit-Anleitung	
11	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5		Gluten - LAB
11	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5		Gluten -GE
11	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5		Gluten -VA
11	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5		Gluten -VL
12	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	Gliadin		
13	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5 monoklonaler Antikörper	1 ml Probe + 9 ml Ethanolösung (60%) mit 10% Fischgelatine. Vortexen für 30 sec und Schütteln für 10 min. Zentrifugieren für 10 min bei RT und 2500 g. Überstand vor dem ELISA verdünnt 1:50 mit Probenverdünner	
15	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	Gliadin	nach Testvorschrift für polyphenolhaltige feste Lebensmittel: 60 % Ethanolösg, die 10 % Fischgelatine enthält, weiter wie Vorschrift	
16	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5	Ethanolösung (60 %) mit 10 % Fischgelatine/10 min/Raumtemperatur	
17	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R 5	nach Herstellerangaben	
18	RS1	Ridascreen Gliadin kompetitive (R7021), r-Biopharm	R5		
19	RS2	Ridascreen Gluten (R7001), r-Biopharm	R5	Cocktail-Lösung vor der Extraktion verwendet	

5.2 PCR: Glutenthaltige Getreide*Primärdaten*

Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Probe C		Angabe quantitativen Ergebnis als	Meth. Abk.
		qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
8	13.06.16	negativ	< 0.4	negativ	< 0.4	negativ	< 0.4	Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Dinkel und Kamut-DNA	SFA-ID
9		-		-		-			div

Methoden:

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Weitere Angaben zu den Methoden

Auswertenummer	Meth. Abk.	Methode	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
8	SFA-ID	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm			
9	div		Lipidtransferase(Ltp)-Gens		Alary et al. 2002

6. Verzeichnis der teilnehmenden Institute in alphabetischer Reihenfolge

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

[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 Methodvalidierung / 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 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.Lacorn & Weiss (2015) Partially Hydrolyzed Gluten in Fermented Cereal-Based Products by R5 Competitive ELISA: Collaborative Study, First Action 2015.05. J AOAC Int 98(5):1346-54.
 - 26.Panda et al. (2015) Detection and Quantification of Gluten during the Brewing and Fermentation of Beer Using Antibody-Based Technologies. J Food Prot. 78(6):1167-77.
 - 27.Colgrave et al. (2014) Using mass spectrometry to detect hydrolysed gluten in beer that is responsible for false negatives by ELISA. J Chromatogr A 1370:105-14.

DLA-10/2016-Allergene X

20 von 22 Teilnehmern haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich des Parameters Gluten in 3 unterschiedlichen Bierproben. Die Ergebnisse wurden qualitativ und für Probe A mit Hefeweizen und Probe C mit Pilsner Bier auch quantitativ ausgewertet. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

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