

**DLA**  
Dienstleistung  
Lebensmittel  
Analytik GbR

**Auswertungs-Bericht**  
Laborvergleichsuntersuchung

**12/2016**

## **Allergen-Screening II:**

**Crustacea, Ei, Fisch, Milch, Weichtiere,  
Senf und Soja**

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.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	5
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Qualitative Auswertung.....	7
3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer.....	7
3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben.....	7
4. Ergebnisse.....	8
4.1 Vergleichsuntersuchung Crustaceae.....	9
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Crustaceae (Garnelen).....	9
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Crustaceae (Garnelen).....	10
4.2 Vergleichsuntersuchung Ei.....	11
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Ei (Volleipulver).....	11
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Ei (Volleipulver).....	12
4.3 Vergleichsuntersuchung Fisch.....	13
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Fisch (Kabeljau).....	13
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Fisch (Kabeljau).....	14
4.4 Vergleichsuntersuchung Milch.....	15
4.4.1 ELISA-Ergebnisse: Milch, Casein, beta-Lactoglobulin. .	15
4.4.2 PCR-Ergebnisse: Milch (Magermilchpulver).....	16
4.5 Vergleichsuntersuchung Mollusken.....	17
4.5.1 ELISA-Ergebnisse: Mollusken (Tintenfisch).....	17
4.5.2 PCR-Ergebnisse: Mollusken (Tintenfisch).....	18
4.6 Vergleichsuntersuchung Senf.....	19
4.6.1 ELISA-Ergebnisse: Senf.....	19
4.6.2 PCR-Ergebnisse: Senf.....	20
4.7 Vergleichsuntersuchung Soja.....	22
4.7.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (Sojamehl).....	22
4.7.2 PCR-Ergebnisse: Soja (Sojamehl).....	23
5. Dokumentation.....	24
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	24
5.1.1 ELISA: Crustaceae.....	24
5.1.2 ELISA: Ei.....	25
5.1.3 ELISA: Fisch.....	26
5.1.4 ELISA: Milch.....	27
5.1.5 ELISA: Mollusken.....	29
5.1.6 ELISA: Senf.....	29
5.1.7 ELISA: Soja.....	30
5.1.8 PCR: Crustacea.....	31
5.1.9 PCR: Ei.....	32
5.1.10 PCR: Fisch.....	33
5.1.11 PCR: Milch.....	34
5.1.12 PCR: Mollusken.....	35
5.1.13 PCR: Senf, allgemein.....	36

5.1.14 PCR: Senf, Sinapis alba.....37  
5.1.15 PCR: Senf, Brassica juncea.....38  
5.1.16 PCR: Senf, Brassica nigra.....39  
5.1.17 PCR: Soja.....40  
5.2 Homogenität.....41  
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....41  
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....43  
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....44

## 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 vier LVU-Proben für den qualitativen Nachweis der Allergene im mg/kg-Bereich zur Verfügung gestellt. Zur Herstellung der Proben wurden Vormischungen mit Gehalten von ca. 2-20 % der betreffenden allergenen Zutaten verwendet.

Die jeweiligen Rohstoffe für die verwendeten Allergene waren handelsübliche Eipulver, Milchpulver und Sojamehl und von DLA aus handelsüblichen Senfsamen, tiefgefrorenen Garnelen, Kabeljau und Tintenfisch hergestellte Vormischungen (s. Tab. 2). Die Senfsamen wurden zerkleinert, mit weiteren Trägerstoffen vermahlen und gesiebt (mesh 400 µm). Die tiefgekühlten Meerestiere wurden zerkleinert, getrocknet und mit weiteren Trägerstoffen vermahlen und mittels Zentrifugalmühle gesiebt (mesh 500 µm).

Die Zusammensetzung der Allergen-Vormischungen ist in Tabelle 1 angegeben. Die Vormischungen wurden zur Dotierung der LVU-Proben 1 - 4 verwendet (s. Tab. 2).

Die Proben wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 20 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Proben 1 - 4
Kartoffelpulver (Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100)	74 - 76 %
Maltodextrin	24 - 26 %
Allergen-Vormischungen	0,027 - 0,42 %
<u>Zutaten:</u>	
- Maltodextrin (30% - 88%)	
- Natriumchlorid (0,0% - 85%)	
- Natriumsulfat (0,0% - 7,7%)	
- Siliciumdioxid (1,0% - 2,2%)	
- Allergene (je 2,4% - 20%)	

Tabelle 2: Zugesezte allergene Zutaten positiv in mg/kg Bereichen\*\* als Lebensmittel angegeben

Zutaten *	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
<i>Crustaceae</i> : Garnelen ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ), getrocknet (Protein 63%)	positiv (25 - 75)	negativ	positiv (50 - 150)	negativ
<i>Ei</i> : Volleipulver (Protein 47%)	positiv (50 - 150)	positiv (25 - 75)	negativ	negativ
<i>Fisch</i> : Kabeljau ( <i>Gadus morhua</i> ), getrocknet (Protein 56%)	negativ	negativ	positiv (25 - 75)	positiv (50 - 150)
<i>Milch</i> : Magermilchpulver (Protein 37%)	positiv (25 - 75)	negativ	positiv (50 - 150)	negativ
<i>Weichtiere</i> : Tintenfischtuben ( <i>Illex argentinus</i> ), getrocknet (Protein 34%)	negativ	positiv (50 - 150)	negativ	positiv (25 - 75)
<i>Senf, gelb</i> : <i>Sinapis alba</i> (Protein 31%)	negativ	positiv (50 - 150)	negativ	negativ
<i>Senf, braun</i> : <i>Brassica juncea</i> (Protein 24%)	negativ	negativ	negativ	positiv (25 - 75)
<i>Senf, schwarz</i> : <i>Brassica nigra</i> (Protein 27%)	negativ	negativ	negativ	positiv (25 - 75)
<i>Soja</i> : Sojamehl, nicht getoastet (Protein 37%)	negativ	negativ	positiv (50 - 150)	positiv (25 - 75)

\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl)

\*\*Allergen-Gehalte als „Lebensmittel“ wie in Spalte Zutaten angegeben gemäß gravimetrischer Mischung

### 2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in µm-Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von  $\geq 5\%$  ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von  $\geq 25\%$  mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben 1 - 4 hat eine Wahrscheinlichkeit von 98%, 99%, 91% bzw. 82% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Es wurden HorRat-Werte von 0,5, 0,5, 0,7 bzw. 0,9 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

## 2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 29. Kalenderwoche 2016 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 4 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 16. September 2016.

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

*Bei den vier Mustern handelt es sich um unterschiedliche Proben mit möglichen Gehalten an den allergenen Lebensmitteln Crustaceae, Ei, Fisch, Milch, Weichtiere, Senf (gelb/weiß, braun und schwarz) und Soja. Die Allergene liegen in einfacher Trägermatrix (75% Kartoffelpulver / 25% Maltodextrin) mit Gehalten von 50 - 250 mg/kg vor. Die Ergebnisangabe und Auswertung erfolgt **rein qualitativ (positiv / negativ)**.*

*Nachstehende **Analysemethoden** können eingesetzt werden:*

*a) **ELISA** und **Lateral Flow***

*b) **PCR***

*Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren.*

## 2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich auf, an die Teilnehmer versandten Übermittlungsbögen bzw. -dateien. Zur Auswertung kamen die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben für die Analyten.

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.

Alle 17 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

### 3. Qualitative Auswertung

Verschiedene ELISA- und PCR-Methoden zur Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper- bzw. Ziel-DNA-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [23, 24, 25, 26]. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Allergenen sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen.

In der vorliegenden LVU wurden die allergenen Zutaten daher in Proben bestehend aus einer einfachen Matrix ohne weitere Prozessierung zur Analyse zur Verfügung gestellt.

#### 3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer

Die qualitative Bewertung der ELISA- und PCR-Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit dem **Konsenswert der Teilnehmer**. Ein Konsenswert wird festgestellt sofern  $\geq 75\%$  positive oder negative Ergebnisse für einen Parameter vorliegen.

Die Bewertung erfolgt in der Form, dass die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl Proben, für die ein Konsenswert erhalten wurde, angegeben wird. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt.

#### 3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben

Die qualitative Bewertung der ELISA- und PCR-Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit den **Dotierungen der vier LVU-Proben**.

Hierzu wird die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl Proben angegeben. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt angegeben.

## 4. Ergebnisse

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

Die qualitative Auswertung erfolgt für jeden Parameter getrennt nach ELISA- und PCR-Methoden. Lateral Flow Methoden wurden, da sie i.d.R. Antikörper-basierte Testverfahren sind, gemeinsam mit den ELISA-Methoden bewertet.

Die Ergebnisse der Teilnehmer und die Bewertung sind tabellarisch folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv				
Anzahl negativ				
Prozent positiv				
Prozent negativ				
Konsenswert				
Dotierung				

## 4.1 Vergleichsuntersuchung Crustaceae

### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Crustaceae (Garnelen)

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
7	negativ	negativ	negativ	negativ	2/4 (50%)	2/4 (50%)	BA	Lateral Flow
9	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ES	
10	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ES	
13	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IL	
1	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
6	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
17	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	6	0	6	0
Anzahl negativ	1	7	1	7
Prozent positiv	86	0	86	0
Prozent negativ	14	100	14	100
Konsenswert	positiv	negativ	positiv	negativ
Dotierung	positiv	negativ	positiv	negativ

#### Methoden:

BA = Bioavid, R-Biopharm

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

RS = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 4.1.2 PCR-Ergebnisse: Crustaceae (Garnelen)

## Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
14	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IC	
2	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
6	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
11	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
12	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
16	negativ	negativ	negativ	negativ	2/4 (50%)	2/4 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	5	0	5	0
Anzahl negativ	1	6	1	6
Prozent positiv	83	0	83	0
Prozent negativ	17	100	17	100
Konsenswert	positiv	negativ	positiv	negativ
Dotierung	positiv	negativ	positiv	negativ

**Methoden:**

IC = Food Allergen Detection PCR Kit, real Time PCR, InCura

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben. Ein Teilnehmer hat mittels PCR-Hausmethode keine der Proben als positiv nachweisen können.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Ei

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Ei (Volleipulver)

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
					Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4a	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	AQ	
7	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BA	Lateral Flow
16	positiv	positiv	positiv	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	MR	
1	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
3	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
4b	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
6	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
9	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
12	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
13	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
17	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
8	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	
5	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	13	13	1	1
Anzahl negativ	0	0	12	12
Prozent positiv	100	100	8	8
Prozent negativ	0	0	92	92
Konsenswert	positiv	positiv	negativ	negativ
Dotierung	positiv	positiv	negativ	negativ

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BA = Bioavid, R-Biopharm

MR = Morinaga ELISA

RS = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben. Ein Teilnehmer hat mittels ELISA Methode MR alle Proben als positiv eingestuft (eine plausible Nachweisgrenze wurde nicht angegeben).

## 4.2.2 PCR-Ergebnisse: Ei (Volleipulver)

## Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
11	positiv	positiv	negativ	negativ	-	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	1	1	0	0
Anzahl negativ	0	0	1	1
Prozent positiv	100	100	0	0
Prozent negativ	0	0	100	100
Konsenswert	-	-	-	-
Dotierung	positiv	positiv	negativ	negativ

**Methoden:**

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

### 4.3 Vergleichsuntersuchung Fisch

#### 4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Fisch (Kabeljau)

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
8	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	AQ	
6	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BC	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	2	2
Anzahl negativ	2	2	0	0
Prozent positiv	0	0	100	100
Prozent negativ	100	100	0	0
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	positiv
Dotierung	negativ	negativ	positiv	positiv

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 4.3.2 PCR-Ergebnisse: Fisch (Kabeljau)

## Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
2	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
10	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
11	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
12	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
14	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
3	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
16	negativ	negativ	negativ	negativ	2/4 (50%)	2/4 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	7	7
Anzahl negativ	8	8	1	1
Prozent positiv	0	0	88	88
Prozent negativ	100	100	13	13
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	positiv
Dotierung	negativ	negativ	positiv	positiv

**Methoden:**

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

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben. Ein Teilnehmer hat mittels PCR-Hausmethode keine der Proben als positiv nachweisen können.

## 4.4 Vergleichsuntersuchung Milch

### 4.4.1 ELISA-Ergebnisse: Milch, Casein, beta-Lactoglobulin

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
					Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
9a	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	AQ	Casein
7	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BA	Lateral Flow , Milk
9b	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ES	beta-Lactoglobulin
17a	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS1	Milk
4	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS2	Casein, beta-Lactoglobulin
6	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS2	Casein, beta-Lactoglobulin
13	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS2	Casein, beta-Lactoglobulin
15	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS2	Casein, beta-Lactoglobulin
17b	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS2	Casein, beta-Lactoglobulin
1	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS3	beta-Lactoglobulin
17c	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS3	beta-Lactoglobulin
3	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	Milk
5	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	Milk
12	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	Milk
9c	positiv	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	Milk

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	15	0	15	0
Anzahl negativ	0	15	0	15
Prozent positiv	100	0	100	0
Prozent negativ	0	100	0	100
Konsenswert	positiv	negativ	positiv	negativ
Dotierung	positiv	negativ	positiv	negativ

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BA = Bioavid, R-Biopharm

ES = ELISA-Systeme

RS1 = Ridascreen® Fast R4612, R-Biopharm

RS2 = Ridascreen® Fast R4652, R-Biopharm

RS3 = Ridascreen® Fast R4902, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 4.4.2 PCR-Ergebnisse: Milch (Magermilchpulver)

## Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
16	negativ	negativ	negativ	negativ	-	2/4 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	0	0
Anzahl negativ	1	1	1	1
Prozent positiv	0	0	0	0
Prozent negativ	100	100	100	100
Konsenswert	-	-	-	-
Dotierung	positiv	negativ	positiv	negativ

**Methoden:**

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Ein Teilnehmer hat mittels PCR-Hausmethode keine der Proben als positiv nachweisen können.

## 4.5 Vergleichsuntersuchung Mollusken

### 4.5.1 ELISA-Ergebnisse: Mollusken (Tintenfisch)

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
6	negativ	positiv	negativ	positiv	-	4/4 (100%)	ET	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	1	0	1
Anzahl negativ	1	0	1	0
Prozent positiv	0	100	0	100
Prozent negativ	100	0	100	0
Konsenswert	-	-	-	-
Dotierung	negativ	positiv	negativ	positiv

#### Methoden:

ET = Elution Technologies

#### Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben. Der Teilnehmer hat auf eine positive Detektion von Probe 3 hingewiesen und auf den Crustaceae-Gehalt in Probe 3 zurückgeführt (Kreuzreaktivität).

**4.5.2 PCR-Ergebnisse: Mollusken (Tintenfisch)****Qualitative Auswertung der Ergebnisse**

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
1	negativ	positiv	negativ	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	IC	
14	negativ	negativ	negativ	negativ	2/3 (67%)	2/4 (50%)	IC	keine Positivprobe identifiziert
2	negativ	positiv	negativ	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
11	negativ	positiv	negativ	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
12	negativ	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	SFA-ID	Probe mit niedrigerem Gehalt nicht identifiziert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	4	0	3
Anzahl negativ	5	1	5	2
Prozent positiv	0	80	0	60
Prozent negativ	100	20	100	40
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	-
Dotierung	negativ	positiv	negativ	positiv

**Methoden:**

IC = Food Allergen Detection PCR Kit, real Time PCR, InCura  
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse für die Proben 1, 2 und 3 stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

Für die mit niedrigerem Gehalt dotierte Probe 4 wurden uneinheitliche Ergebnisse erhalten.

Ein Teilnehmer hat mittels PCR-Hausmethode keine der Proben als positiv nachweisen können.

## 4.6 Vergleichsuntersuchung Senf

### 4.6.1 ELISA-Ergebnisse: Senf

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
7	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BA	Lateral Flow
12	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ES	
6	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
13	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
17	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
3	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	
8	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	
9	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	8	0	8
Anzahl negativ	8	0	8	0
Prozent positiv	0	100	0	100
Prozent negativ	100	0	100	0
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	positiv
Dotierung	negativ	positiv	negativ	positiv

#### Methoden:

BA = Bioavid, R-Biopharm

ES = ELISA-Systeme

RS = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 4.6.2 PCR-Ergebnisse: Senf

## Qualitative Auswertung der Ergebnisse

## 4.6.2.1 Senf, allgemein

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
6	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
12	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
14	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
9	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
11	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
16	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	6	0	6
Anzahl negativ	6	0	6	0
Prozent positiv	0	100	0	100
Prozent negativ	100	0	100	0
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	positiv
Dotierung	negativ	positiv	negativ	positiv

**Methoden:**

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

4.6.2.2 Senf, gelb (*Sinapis alba*)

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	3/4 (75%)	div	
16	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	3/4 (75%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	2	0	2
Anzahl negativ	2	0	2	0
Prozent positiv	0	100	0	100
Prozent negativ	100	0	100	0
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	positiv
Dotierung	negativ	positiv	negativ	negativ

**Methoden:**

div = keine genaue Angabe / andere Methode

4.6.2.2 Senf, braun (*Brassica juncea*)

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	negativ	negativ	positiv	-	4/4 (100%)	div	
16	negativ	negativ	negativ	negativ	-	3/4 (75%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	0	1
Anzahl negativ	2	2	2	1
Prozent positiv	0	0	0	50
Prozent negativ	100	100	100	50
Konsenswert	negativ	negativ	negativ	-
Dotierung	negativ	negativ	negativ	positiv

**Methoden:**

div = keine genaue Angabe / andere Methode

4.6.2.3 Senf, schwarz (*Brassica nigra*)

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	negativ	negativ	positiv	-	4/4 (100%)	div	
16	negativ	negativ	negativ	negativ	-	3/4 (75%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	0	1
Anzahl negativ	2	2	2	1
Prozent positiv	0	0	0	50
Prozent negativ	100	100	100	50
Konsenswert	negativ	negativ	negativ	-
Dotierung	negativ	negativ	negativ	positiv

**Methoden:**

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Zwei Teilnehmer haben eine Differenzierung der Senf-Arten mittels PCR vorgenommen. *Sinapis alba* wurde von beiden Teilnehmern übereinstimmend in den Proben 2 und 4 nachgewiesen. Mit *Sinapis alba* dotiert war nur die Probe 2. Ein Teilnehmer hat die *Brassica*-Arten in Probe 4 übereinstimmend mit den Dotierungen der Proben nachgewiesen.

## 4.7 Vergleichsuntersuchung Soja

### 4.7.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (Sojamehl)

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
10	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ES	
12	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IL	
3	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
4	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
5	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
6a	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
7	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
13	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
17	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
6b	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	
8	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	
9	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	VT	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	12	12
Anzahl negativ	12	12	0	0
Prozent positiv	0	0	100	100
Prozent negativ	100	100	0	0
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	positiv
Dotierung	negativ	negativ	positiv	positiv

#### Methoden:

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

RS = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 4.7.2 PCR-Ergebnisse: Soja (Sojamehl)

## Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
6	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
12	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
14	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
7	positiv	positiv	positiv	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	SFA-Quant	
9	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
11	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
16	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	1	1	8	8
Anzahl negativ	7	7	0	0
Prozent positiv	13	13	100	100
Prozent negativ	88	88	0	0
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	positiv
Dotierung	negativ	negativ	positiv	positiv

**Methoden:**

MS = Mikrosynth

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

SFA-Quant = Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben. Ein Teilnehmer hat mittels PCR-Methode SFA-Quant alle Proben als positiv eingestuft, als Bestimmungsgrenze wurde 1 mg/kg angegeben.

## 5. Dokumentation

### 5.1 Angaben der Teilnehmer

#### 5.1.1 ELISA: Crustaceae

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ES	9	positiv	negativ	positiv	negativ	0,05	Tropomyosin Krustentiere	ELISA-Systems, Residue Assay
ES	10	positiv	negativ	positiv	negativ	0,05	Protein, gesamt	ELISA-Systems, Residue Assay
IL	13	positiv	negativ	positiv	negativ	0,001	Tropomyosin	Immunolab ELISA
RS	1	positiv	negativ	positiv	negativ	0,172	Crustacean-Protein/Lebensmittel	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	6	positiv	negativ	positiv	negativ	0,5	Lebensmittel, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	17	positiv	negativ	positiv	negativ	2	Protein	r-Biopharm AG FAST Crustacean

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ES	9				
ES	10				
IL	13	CRU-E01	Tropomyosin		
RS	1	R 7302	CRUSTACEAN PROTEIN	Ein-Puffer-Extraktion (60°C)	
RS	6	R7312	Crustacean Protein (Mainly tropomyosin)	nach Testkit-Anleitung	
RS	17	R7312	spezifisch	Allergenextraktionspuffer 10 Minuten 60°C	

**5.1.2 ELISA: Ei***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
AQ	4a	positiv	positiv	negativ	negativ	0,05	Eiklarproteine	AgraQuant, RomerLabs
MR	16	positiv	positiv	positiv	positiv	0,01	Allergen-DNA	Morinage Ei Elisa
RS	1	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Volleipulver	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	3	positiv	positiv	negativ	negativ	0,5	Volleipulver	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	4b	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Volleipulver	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	6	positiv	positiv	negativ	negativ	0,5	Lebensmittel, Trockenmasse	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	9	positiv	positiv	negativ	negativ	0,24	Volleipulver	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	12	positiv	positiv	negativ	negativ	0,5	Volleipulver	Ridascreen, r-Biopharm
RS	13	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Volleipulver	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	17	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Volleipulver	r-Biopharm AG FAST Egg/Ei
VT	8	positiv	positiv	negativ	negativ	2,5	Gesamt-Eiproteine	Veratox Allergen, Neogen
div	5	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Eiklarproteine	andere: bitte eingeben!

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
AQ	4a	COKAL0848	Ovomucoid	Extraktion und Durchführung nach Kitanleitung	Probe 1: 48 mg/kg Eiklarproteine (MW aus 3 Messungen) Probe 2: 15,6 mg/kg Eiklarproteine (MW aus 3 Messungen)
MR	16			Kit	
RS	1	R 6402	OVALBUMIN, OVOMUCOID	Ein-Puffer-Extraktion (60°C)	
RS	3	14136		10min./60°C	
RS	4b	R6402	Eiklar-Proteine	Extraktion und Durchführung nach Kitanleitung	Probe 1: 117,4 mg/kg Volleipulver Probe 2: 52,4 mg/kg Volleipulver
RS	6	R6402	Eiklarproteine - Ovalbumin und Ovomucoid	nach Testkit-Anleitung	
RS	9				
RS	12	R6402		nach Arbeitsanleitung	
RS	13	R6402	Eiklarprotein Ovalbumin + Ovumocoid		
RS	17	R6402	spezifisch	Allergenextraktionspuffer 10 Minuten 60°C	
VT	8	Product 8450 / Lot 224016		Extraktion: 60C vorgew ärrmt PBS / 15 min bei 60C in Schüttelw asserbäd / zentrifugieren, Bestimmung: 4 Parameter-Kurve	
div	5	Hausmethode	gegen Eiklar-Protein		

**5.1.3 ELISA: Fisch***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
AQ	8	negativ	negativ	positiv	positiv	4	Fischprotein	AgraQuant, RomerLabs
BC	6	negativ	negativ	positiv	positiv	5		BioCheck

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
AQ	8	Lot F11013-1601		Extraktion: 60C vorgew ärrt PBS / schüttein für 15 min bei RT / zentrifugieren, Bestimmung: 4 Parameter-Kurve	
BC	6			nach Testkit-Anleitung	Angabe als frischer Kabeljau

**5.1.4 ELISA: Milch***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
AQ	9a	positiv	negativ	positiv	negativ	0,2	Protein, gesamt	AgraQuant, RomerLabs
ES	9b	positiv	negativ	positiv	negativ	0,05	Protein, gesamt	ELISA-Systems, Residue Assay
RS1	17a	positiv	negativ	positiv	negativ	0,7 ppm Milchprotein	FAST Milk: 0,7 ppm Milchprotein	r-Biopharm AG FAST Milk
RS2	4	positiv	negativ	positiv	negativ	0,7	Protein, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS2	6	positiv	negativ	positiv	negativ	2,5	Protein, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS2	13	positiv	negativ	positiv	negativ	0,7	Protein, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS2	15	positiv	negativ	positiv	negativ	0,7	Milchprotein	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS2	17b	positiv	negativ	positiv	negativ	0,71 ppm Casein	FAST Casein: 0,71 ppm Casein	FAST Casein
RS3	1	positiv	negativ	positiv	negativ	0,19	b-lactoglobulin/food	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS3	17c	positiv	negativ	positiv	negativ	0,19 ppm $\beta$ -Lactoglobulin	FAST $\beta$ -Lactoglobulin: 0,19 ppm $\beta$ -Lactoglobulin	FAST $\beta$ -Lactoglobulin
VT	3	positiv	positiv	positiv	negativ	2,5	Total Milk Allergen	Veratox Allergen, Neogen
VT	5	positiv	negativ	positiv	negativ	1	Magermilchpulver	Veratox Allergen, Neogen
VT	12	positiv	negativ	positiv	negativ	2,2	Magermilchpulver	Veratox Allergen, Neogen
div	9c	positiv	negativ	positiv	negativ		Bitte auswählen!	Auswahl ELISA-Kits:

## Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
AQ	9a				
ES	9b				
RS1	17a	R 4612	spezifisch	Extraktor 2 10 Minuten 100°C; dann Allergenextraktionspuffer 10 Minuten 60°C	
RS2	4	R4652	Casein/ $\beta$ -Lactoglobulin	Extraktion nach Kitanleitung; zusätzlich Extraktionsprotokoll für stark quellende Matrices (von R-Biopharm) angewendet	Probe 1: 13,63 mg/kg (MW aus 4 Messungen) Probe 3: 35,2 mg/kg (MW aus 4 Messungen)
RS2	6	R4652	Casein + $\beta$ -Lactoglobulin (Kuh/Schaf/Ziege/Büffel)	nach Testkit-Anleitung	Angabe als Milchprotein
RS2	13	R4652	Casein + $\beta$ -Lactoglobulin (Kuh/Schaf/Ziege/Büffel)		
RS2	15	Art. Nr. 4652	gegen Caseine und $\beta$ -Lactoglobulin	gemäß Herstellervorgabe	
RS2	17b	R 4652	spezifisch	Extraktor 2 10 Minuten 100°C; dann Allergenextraktionspuffer 10 Minuten 60°C	
RS3	1	R4902	Kuh-, Schaf-, Ziege- und Büffelmilch	Zwei-Puffer-Extraktion (100°C; 60°C)	Ridascreen Fast Casein, r-Biopharm R4612, LOD 0,24 mg Protein/kg Lebensmittel, Zwei-Puffer-Extraktion (100°C; 60°C), POSITIVE: Probe 1 und 3
RS3	17c	R 4902	spezifisch	Extraktor 2 10 Minuten 100°C; dann Allergenextraktionspuffer 10 Minuten 60°C	
VT	3	228248		15min./60°C	
VT	5	8470	gegen Milchproteine	gemäß Herstellerangaben	
VT	12	8470		nach Arbeitsanleitung	
div	9c				

**5.1.5 ELISA: Mollusken***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ET	6	negativ	positiv	negativ	positiv	1	Protein, gesamt	Elution Technologies Kit

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ET	6	E-75MSK	Mollusken-Protein	nach Testkit-Anleitung	Hinweis: ein positives Ergebnis für Probe 3 ist auf Kreuzreaktivität zu Krustentieren in der Probe zurückzuführen

**5.1.6 ELISA: Senf***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ES	12	negativ	positiv	negativ	positiv	0,5	Senfpulver	ELISA-Systems, Residue Assay
RS	6	negativ	positiv	negativ	positiv		Lebensmittel, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	13	negativ	positiv	negativ	positiv	0,22	Senfpulver	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	17	negativ	positiv	negativ	positiv	0,22	Senfpulver	r-Biopharm AG FAST Mustard/ Senf
VT	3	negativ	positiv	negativ	positiv	2,5	Total Mustard allergen	Veratox Allergen, Neogen
VT	8	negativ	positiv	negativ	positiv	2,5	Senf	Veratox Allergen, Neogen
VT	9	negativ	positiv	negativ	positiv	1,5	Lebensmittel, gesamt	Veratox Allergen, Neogen

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ES	12	ESMUS-48		nach Arbeitsanleitung	
RS	6	R6152	Gelber, weißer, brauner u. schwarzer Senf	nach Testkit-Anleitung	
RS	13	R6152	Senf allgemein		
RS	17	R 6152	spezifisch	Allergenextraktionspuffer 10 Minuten 60°C	
VT	3	227775		15min./60°C	
VT	8	Product 8400 / Lot 232074		Extraktion: 60C vorgewärmt TRIS-EDTA / 15 min bei 60C in Schüttelwasserbad / zentrifugieren, Bestimmung: 4 Parameter-Kurve	
VT	9				

**5.1.7 ELISA: Soja***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ES	10	negativ	negativ	positiv	positiv	2,5	Protein, gesamt	ELISA-Systems, Residue Assay
IL	12	negativ	negativ	positiv	positiv	16 ppb	Sojaprotein	Immunolab ELISA
RS	3	negativ	negativ	positiv	positiv	2,5	Sojaprotein	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	4	negativ	negativ	positiv	positiv	0,31	Protein, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	5	negativ	negativ	positiv	positiv	0,3	Protein, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	6a	negativ	negativ	positiv	positiv		Protein, total	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	7	negativ	negativ	positiv	positiv	0,31	Sojaprotein	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	13	negativ	negativ	positiv	positiv	0,31	Protein, gesamt	Ridascreen Fast, r-Biopharm
RS	17	negativ	negativ	positiv	positiv	0,24	Protein	r-Biopharm AG FAST Soya
VT	6b	negativ	negativ	positiv	positiv			Veratox Allergen, Neogen
VT	8	negativ	negativ	positiv	positiv	2,5	Sojamehl	Veratox Allergen, Neogen
VT	9	negativ	negativ	positiv	positiv	0,96	Sojamehl	Veratox Allergen, Neogen

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ES	10				
IL	12	SOJ-E01		nach Arbeitsanleitung	
RS	3	16485		10min./100°C	
RS	4	R7102	Sojaprotein	Extraktion und Durchführung nach Kitanleitung	Probe 3: 7,1 mg/kg (MW aus 2 Messungen) Probe 4: 4,6 mg/kg (MW aus 2 Messungen)
RS	5	R7102	gegen erhitzte Sojaproteine	gemäß Herstellerangaben	
RS	6a	R7102	gegen erhitzte Sojaproteine	nach Teskit-Anleitung	Angabe als Sojaprotein
RS	7				BG = 2,5
RS	13	R7102	erhitzte Sojaproteine		
RS	17	R 7102	spezifisch	Extraktor 3 + AEP 10 Minuten 100°C	
VT	6b	8410	keine Angaben	nach Teskit-Anleitung	Angabe als Sojamehl
VT	8	Product 8410 / Lot 230354		Extraktion: 60C vorgew ärrnt PBS / 15 min bei 60C in Schüttelw asserbad / zentrifugieren, Bestimmung: 4 Parameter-Kurve	
VT	9				

**5.1.8 PCR: Crustacea***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
IC	14	positiv	negativ	positiv	negativ	5	Allergen DNA	Incura
SFA-ID	2	positiv	negativ	positiv	negativ	50	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	6	positiv	negativ	positiv	negativ	1	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	11	positiv	negativ	positiv	negativ	5	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	12	positiv	negativ	positiv	negativ	0,4	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
div	16	negativ	negativ	negativ	negativ	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
IC	14				
SFA-ID	2	R-Biopharm, S3112	unbekannt	Phenol Chloroform Extraktion/ Qiagen plant mini kit/ standardisiert auf 10ng/uL mittels 260/280 Verhältnis	
SFA-ID	6	S3112		nach Testkit-Anleitung	
SFA-ID	11		unbekannt	Extraktion: NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/ Real Time PCR/ 35 Cyclen	
SFA-ID	12	S3112		nach Arbeitsanleitung	
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.9 PCR: Ei***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	11	positiv	positiv	negativ	negativ	0,001	ADN/ADN	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
div	11		Cytochrome b/ Ovalbumin/ Vitellogenin	Extraktion: NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/ Real Time PCR/ 45 Cyclen	

**5.1.10 PCR: Fisch***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
SFA-ID	2	negativ	negativ	positiv	positiv	10	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	10	negativ	negativ	positiv	positiv	5 DNA copies	Allergen DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	11	negativ	negativ	positiv	positiv	5	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	12	negativ	negativ	positiv	positiv	0,4	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	14	negativ	negativ	positiv	positiv	0,4	Allergen DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
div	3	negativ	negativ	positiv	positiv		Allergen DNA	in-house method
div	9	negativ	negativ	positiv	positiv	40	Allergen-DNA	Hausmethode
div	16	negativ	negativ	negativ	negativ	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
SFA-ID	2	R-Biopharm, S3110	unbekannt	Phenol Chloroform Extraktion/ Qiagen plant mini kit/ standardisiert auf 10ng/uL mittels 260/280 Verhältnis	
SFA-ID	10				
SFA-ID	11		unbekannt	Extraktion: NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/ Real Time PCR/ 35 Cyclen	
SFA-ID	12	S3110		nach Arbeitsanleitung	
SFA-ID	14				
div	3	Herrero et al., 2014	18S RNA	real time PCR	
div	9				
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.11 PCR: Milch***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	16	negativ	negativ	negativ	negativ	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.12 PCR: Mollusken***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
IC	1	negativ	positiv	negativ	positiv	1 genomische Kopie haploid = 1,6 pg	Allergen DNA	Incura
IC	14	negativ	negativ	negativ	negativ	5	Allergen DNA	Incura
SFA-ID	2	negativ	positiv	negativ	positiv	50	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	11	negativ	positiv	negativ	positiv	5	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	12	negativ	positiv	negativ	negativ		Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
IC	1	MOLLUSKIT REAL TIME PCR IC-02-1008	Muscheln 228 bp, Tintenfisch 150 bp, Gasteropoden 157 bp	FOOD GREES DNA KIT INCURA IC-02-0095	
IC	14				
SFA-ID	2	R-Biopharm, S3113	unbekannt	Phenol Chloroform Extraktion/ Qiagen plant mini kit/ standardisiert auf 10ng/uL mittels 260/280 Verhältnis	
SFA-ID	11		unbekannt	Extraktion: NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/ Real Time PCR/ 35 Cyclen	
SFA-ID	12	S3113		nach Arbeitsanleitung	

**5.1.13 PCR: Senf, allgemein***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
SFA-ID	6	negativ	positiv	negativ	positiv	1	Food item, total	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	12	negativ	positiv	negativ	positiv	0,4	Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden
SFA-ID	14	negativ	positiv	negativ	positiv	0,4	Allergen DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
div	9	negativ	positiv	negativ	positiv	0,4	Allergen-DNA	Hausmethode
div	11	negativ	positiv	negativ	positiv	0,001	ADN/ADN	Hausmethode
div	16	negativ	positiv	negativ	positiv	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
SFA-ID	6	S3109		As Per Kit Instructions	
SFA-ID	12	S3109			
SFA-ID	14				
div	9				
div	11	Mustorp y col., 2008	sinA	Extraktion: NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/ Real Time PCR/ 45 Cyclen	
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.14 PCR: Senf, Sinapis alba***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	4	negativ	positiv	negativ	positiv	0,0001	Allergen-DNA	Hausmethode
div	16	negativ	positiv	negativ	positiv	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
div	4		Sinapis alba	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: doppelte Einw aage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xCQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil	NWG in DNA-Prozent der jeweiligen Pflanze
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.15 PCR: Senf, Brassica juncea***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	4	negativ	negativ	negativ	positiv	0,0001	Allergen-DNA	Hausmethode
div	16	negativ	negativ	negativ	negativ	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
div	4		Brassica juncea/nigra duplex	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: doppelte Einwaage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xCQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil	keine Unterscheidung zw . Brassica juncea und nigra; NWG in DNA-Prozent der jeweiligen Pflanze
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.16 PCR: Senf, Brassica nigra***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	4	negativ	negativ	negativ	positiv	0,0001	Allergen-DNA	Hausmethode
div	16	negativ	negativ	negativ	negativ	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
div	4		Brassica juncea/nigra duplex	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: doppelte Einw aage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xCQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil	keine Unterscheidung zw . Brassica juncea und nigra; NWG in DNA-Prozent der jeweiligen Pflanze
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

**5.1.17 PCR: Soja***Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
MS	4	negativ	negativ	positiv	positiv	0,00005	Allergen-DNA	Microsynth
SFA-ID	6	negativ	negativ	positiv	positiv	1	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	12	negativ	negativ	positiv	positiv	0,4	Lebensmittel, gesamt	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	14	negativ	negativ	positiv	positiv	0,4	Allergen DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-Quant	7	positiv	positiv	positiv	positiv	0,4	Allergen DNA	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
div	9	negativ	negativ	positiv	positiv	40	Allergen-DNA	Hausmethode
div	11	negativ	negativ	positiv	positiv	0,001	ADN/ADN	Hausmethode
div	16	negativ	negativ	positiv	positiv	0,01	Allergen-DNA	Hausmethode

*Weitere Angaben zu den Methoden*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
MS	4	AIIAIIA Tetraplex	Lectin	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: doppelte Einw aage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xC-QW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminations-schritt mit UNG; eigenes Thermoprofil	NWG in DNA-Prozent der jew eiligen Pflanze
SFA-ID	6	S3101		nach Testkit-Anleitung	
SFA-ID	12	S3101		nach Arbeitsanleitung	
SFA-ID	14				
SFA-Quant	7				BG = 1 mg/kg
div	9				
div	11	Koppel y col., 2010	Le1	Extraktion: NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/ Real Time PCR/ 45 Cyclen	
div	16			Wizard Miniprep cleanup	

## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 12-2016 Probe 1

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	40,2	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,40	126	46,7
2	5,12	115	44,9
3	5,10	123	48,2
4	5,03	119	47,3
5	5,04	121	48,0
6	5,06	111	43,9
7	5,05	121	47,9
8	5,19	112	43,2

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	119	Partikel
Standardabweichung	5,13	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	1,56	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>98</b>	%
Wiederfindungsrate	115	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	46,3	mg/kg
Standardabweichung	2,00	mg/kg
rel. Standardabweichung	4,3	%
Horwitz Standardabweichung	9,0	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,5</b>	
Wiederfindungsrate	115	%

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 12-2016 Probe 2

Gewicht Gesamtprobe	1,01	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	24,7	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,08	73	28,7
2	5,04	69	27,4
3	5,08	65	25,6
4	5,15	70	27,2
5	4,97	69	27,8
6	5,12	72	28,1
7	5,09	66	25,9
8	5,06	74	29,2

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	69,8	Partikel
Standardabweichung	3,22	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	1,04	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>99</b>	%
Wiederfindungsrate	111	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	27,5	mg/kg
Standardabweichung	1,27	mg/kg
rel. Standardabweichung	4,6	%
Horwitz Standardabweichung	9,7	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,5</b>	
Wiederfindungsrate	111	%

**Microtracer Homogenitätstest****DLA 12-2016 Probe 3**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	33,7	mg/kg

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,21	105	40,3
2	5,00	101	40,4
3	5,18	104	40,2
4	5,07	112	44,2
5	5,02	105	41,8
6	5,11	107	41,9
7	5,07	96	37,9
8	5,09	92	36,1

**Poisson-Verteilung**

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	102,8	Partikel
Standardabweichung	6,32	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	2,72	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>91</b>	%
Wiederfindungsrate	120	%

**Normalverteilung**

Probenanzahl	8	
Mittelwert	40,3	mg/kg
Standardabweichung	2,48	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,1	%
Horwitz Standardabweichung	9,2	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,7</b>	
Wiederfindungsrate	120	%

**Microtracer Homogenitätstest****DLA 12-2016 Probe 4**

Gewicht Gesamtprobe	1,01	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	23,3	mg/kg

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,11	65	25,4
2	5,06	75	29,6
3	5,15	61	23,7
4	5,02	65	25,9
5	5,04	59	23,4
6	5,05	66	26,1
7	5,05	61	24,2
8	5,01	56	22,4

**Poisson-Verteilung**

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	63,5	Partikel
Standardabweichung	5,72	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	3,60	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>82</b>	%
Wiederfindungsrate	108	%

**Normalverteilung**

Probenanzahl	8	
Mittelwert	25,1	mg/kg
Standardabweichung	2,26	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,0	%
Horwitz Standardabweichung	9,9	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,9</b>	
Wiederfindungsrate	108	%

## 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		GROSSBRITANNIEN
		SPANIEN
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		ITALIEN
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		ÖSTERREICH
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		SLOWAKEI
		CANADA

*[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. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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
20. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
  21. 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)
  22. 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)
  23. 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)
  24. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes<sup>1</sup>, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
  25. 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
  26. 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
  27. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007)
  28. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003)
  29. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006)

### **DLA-12/2016 - Allergen-Screening II**

Von 17 Teilnehmern haben alle mindestens ein ELISA- oder PCR-Ergebnis eingereicht. Die Auswertung der 4 Proben erfolgte rein qualitativ hinsichtlich der Parameter Crustaceae, Ei, Fisch, Milch, Mollusken, Senf und Soja. Es wurden jeweils die Übereinstimmungen bezüglich der Konsenswerte der Teilnehmer und bezüglich der Dotierungen der Proben bewertet. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

10 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Österreich, Schweiz, Slowakei, Spanien) und ein Teilnehmer in Kanada.