

Proficiency Tests

**DLA**

food  
cosmetics  
consumer goods  
[www.dla-lvu.de](http://www.dla-lvu.de)

## **Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA 08/2016**

### **Allergene VIII:**

### **Lupine, Paranuss und Pistazie**

### **in einer Bratlingmischung**

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

[proficiency-testing@dla-lvu.de](mailto:proficiency-testing@dla-lvu.de)    [www.dla-lvu.de](http://www.dla-lvu.de)

Koordinator der LVU:  
Dr. Matthias Besler

**Allgemeine Informationen zur Eignungsprüfung (EP)**  
**General Information on the proficiency test (PT)**

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p><b>DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR</b>  Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler</p> <p>Waldemar-Bonsels-Weg 170,  22926 Ahrensburg, Germany</p> <p>Tel. ++49(0)171-1954375  Fax. ++49(0)4102-9944976  eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 08/2016
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (20. April 2017)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen.  Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler (Technischer Leiter / Technical Manager)  - <i>gezeichnet / signed M. Besler</i>  Dr. Gerhard Wichmann (QM-Beauftragter / Quality Manager)  - <i>gezeichnet / signed G. Wichmann</i>  Datum / Date: 20. April 2017</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben.  The analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters are subcontracted by DLA.</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben.  Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	11
Ausschluss von Ergebnissen .....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision .....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen .....	15
3.5 z-Score.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient $S^*/opt$ .....	17
3.8 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Lupine.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Lupine (als Lupinenprotein).....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Lupine.....	31
4.2 Vergleichsuntersuchung Paranuss.....	34
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Paranuss.....	34
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Paranuss.....	36
4.3 Vergleichsuntersuchung Pistazie.....	37
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Pistazie.....	37
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Pistazie.....	39
4.3.3 Andere Methoden - Lateral Flow: Pistazie .....	41
5. Dokumentation.....	42
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	42
5.1.1 ELISA: Lupine .....	42
5.1.2 ELISA: Paranuss.....	43
5.1.3 ELISA: Pistazie.....	43
5.1.4 PCR: Lupine.....	44
5.1.5 PCR: Paranuss.....	45
5.1.6 PCR: Pistazie.....	46
5.1.7 Andere Methoden - Lateral Flow: Pistazie.....	46
5.2 Homogenität.....	47
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	47
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	49
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	50

## 1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (PT) ist ein unverzichtbares Element 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 Laboren die eigene analytische Kompetenz unter realen Bedingungen nachzuweisen. Gleichzeitig erhalten sie wertvolle Daten für die erforderliche Verifizierung oder Validierung der durchgeführten Untersuchungsmethode [1, 5].

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

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

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

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

Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich um eine Bratlingmischung aus zwei handelsüblichen Produkten und weiterem Zusatz von Weizenmehl. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Nach Zerkleinern, Sieben und Homogenisieren der Grundmischung wurde die dotierte Probe A folgendermaßen hergestellt:

Das Dotierungsmaterial, das die allergenen Zutaten Lupine, Paranuss und Pistazie enthält, wurde zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 4 weiteren Schritten zugegeben und jeweils maschinell homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

Vor der Verwendung wurden die Grundmatrix mittels Schlagmühle (mesh 1,5 mm) und die Allergenvormischung mittels Zentrifugalmühle (mesh 500 µm) gesiebt.

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

Die Proben A und B wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 25 g und die Dotierungsmaterialprobe von ca. 10 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B
Bratlingmischung „Soja + Gemüse“ Zutaten: Haferflocken, Sojagranulat, Sojaflocken (Soja gesamt ca. 21%), Buchweizenmehl, Buchweizengrütze, Weizenmehl, -grieß und -kleie, Salz, Petersilie, Hefe, Reisvollkornmehl, Röstzwiebeln, Karotten, Pastinaken, Zwiebeln, Sellerieblätter, Lauch, Majoran, Sellerie, Knoblauch, Sonnenblumenöl, Pfeffer, Tomaten, Petersilienwurzel, Macis, Liebstöckel, Kurkuma, natürliches Aroma, Schnittlauch, Lorbeer Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß 21 g, Kohlenhydrate 40 g, Fett 8,8 g	57,2 g/100 g	57,5 g/100 g
Bio-Weizenmehl, Type 1050	42,3 g/100g	42,5 g/100g
Dotierungsmaterialprobe	0,443 g/100 g	-

Tabelle 2: Zugesezte Mengen allergener Zutaten

Zutaten	Dotierungsmaterialprobe	Probe A
Kartoffelmehl	89 %	0,39 %
<i>Lupine:</i> - als Süßlupinenmehl* - davon 37% Gesamtprotein**	9040 mg/kg (0,90 %) 3340 mg/kg	40 mg/kg 15 mg/kg
<i>Paranuss:</i> - als Paranuss* - davon 15% Gesamtprotein**	7780 mg/kg (0,78 %) 1150 mg/kg	35 mg/kg 5,1 mg/kg
<i>Pistazie:</i> - als Pistazie* - davon 26% Gesamtprotein**	11100 mg/kg (1,11 %) 2840 mg/kg	49 mg/kg 13 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid	< 8,5 %	< 0,04 %

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

\*\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl)

**Hinweis:** Die metrologische Rückführung von Temperatur, Masse und Volumen bei der Herstellung der LVU-Proben wird mittels DAkkS-kalibrierter Referenzmaterialien gewährleistet.

### 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  $\mu\text{m}$ -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 A, B und Dotierungsmaterialprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 99%, 70% bzw. 100% 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 0,7, 1,3 bzw. 0,5 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

### **Homogenität der abgefüllten dotierten Probe A**

#### Durchführung der Homogenitätstests

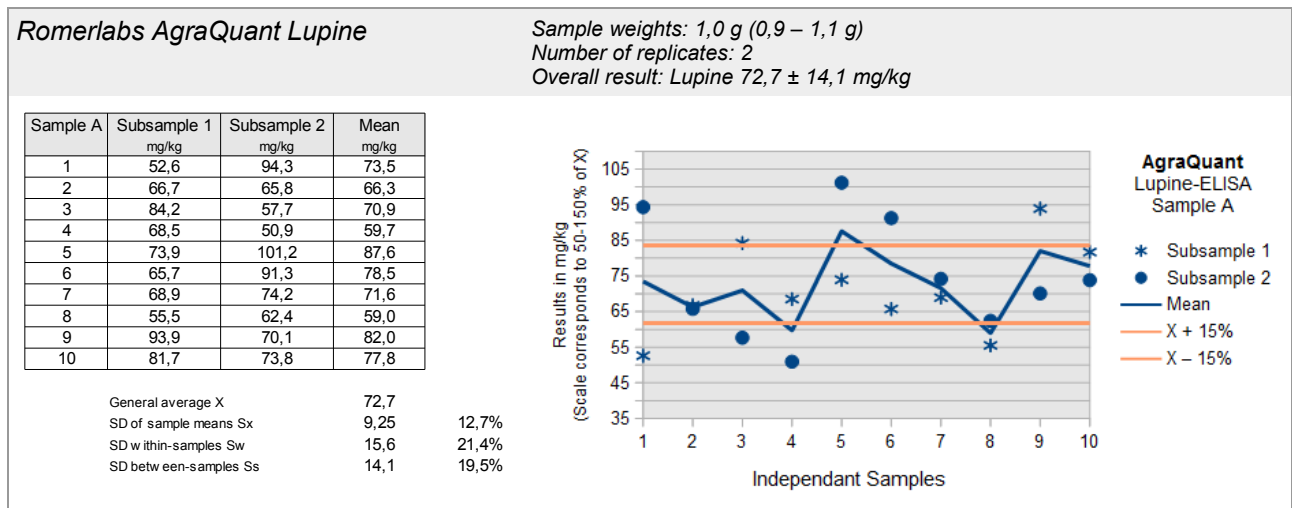
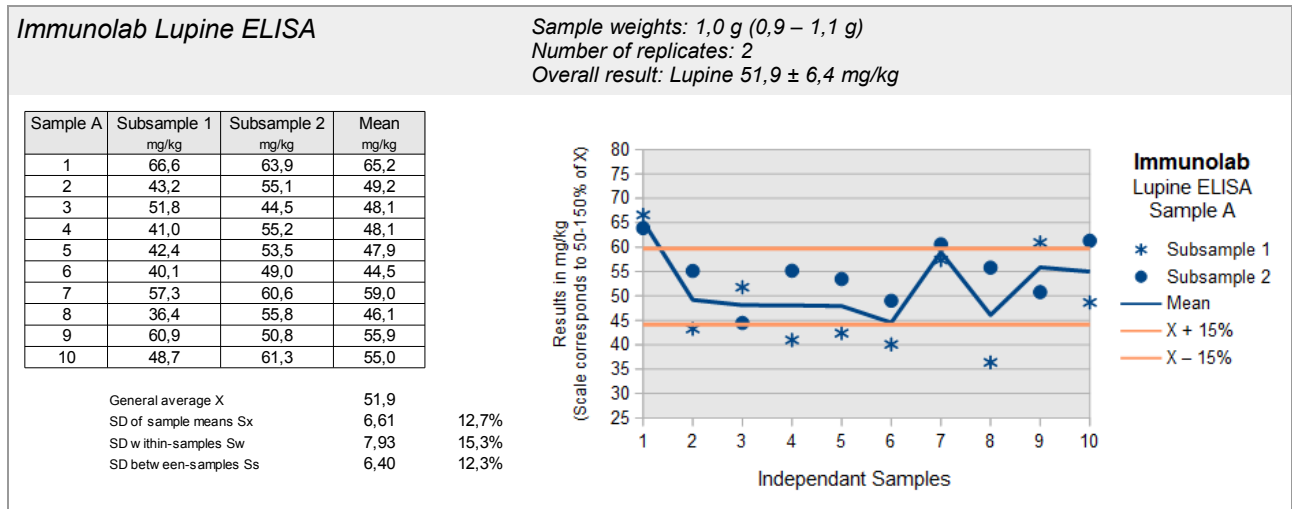
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-coodierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur Analyse zugesickt. Die Einwaagen wurden mit einer Abweichung von  $\pm 10\%$  von der Soll-einwaage der Testkit-Anleitung vorgenommen und den Labors nicht mitgeteilt. Nach Übersendung der Analysenergebnisse durch die Labors wurden die gültigen Ergebnisse anhand der exakten Einwaagen von DLA berechnet und die statistische Berechnung gemäß ISO 13528:2009 Anhang B vorgenommen.

#### Bewertung der Homogenität

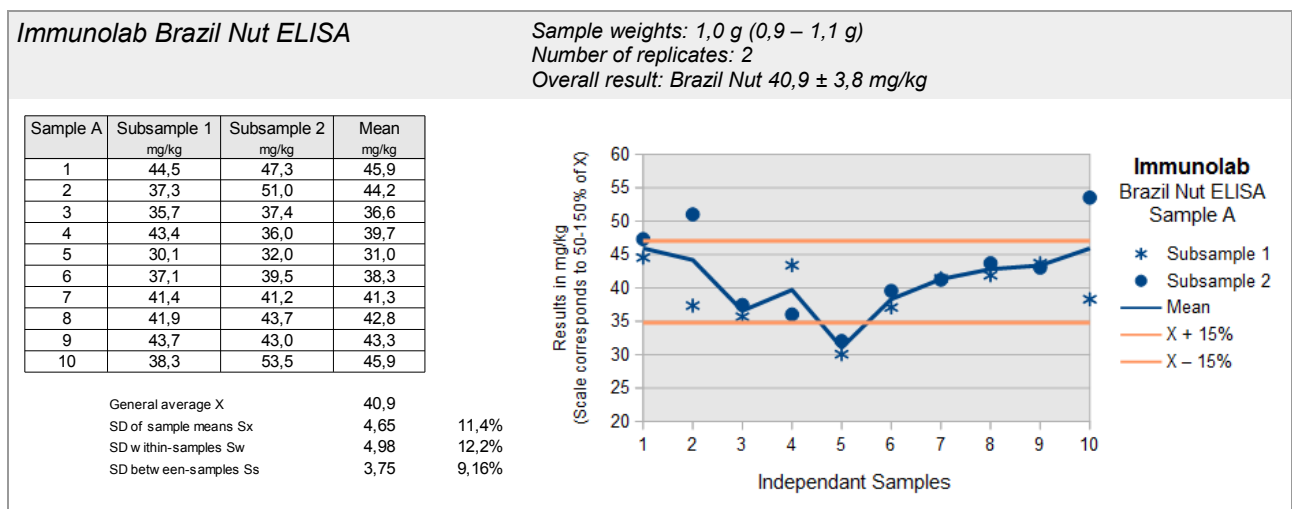
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von  $S_s \leq 15\%$  („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe A in den ELISA-Tests von Immunolab für Lupine, Paranuss und Pistazie erfüllt (s. Seite 7). In den AgraQuant ELISA-Tests lag die Heterogenitätsstandardabweichung für Lupine und Pistazie jeweils bei etwa 20%. Die Anforderung an Wiederholstandardabweichungen von ELISA- und PCR-Verfahren ist üblicherweise  $\leq 25\%$  [16, 17, 20, 21].

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 anhand von z'-Scores (s. 3.6 und 3.8) [3].

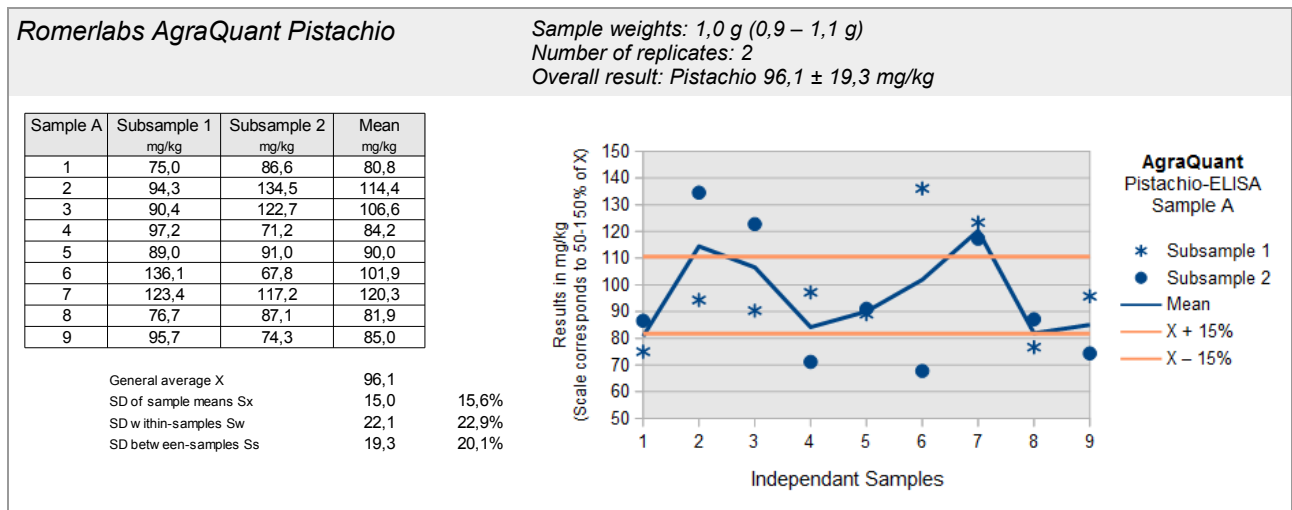
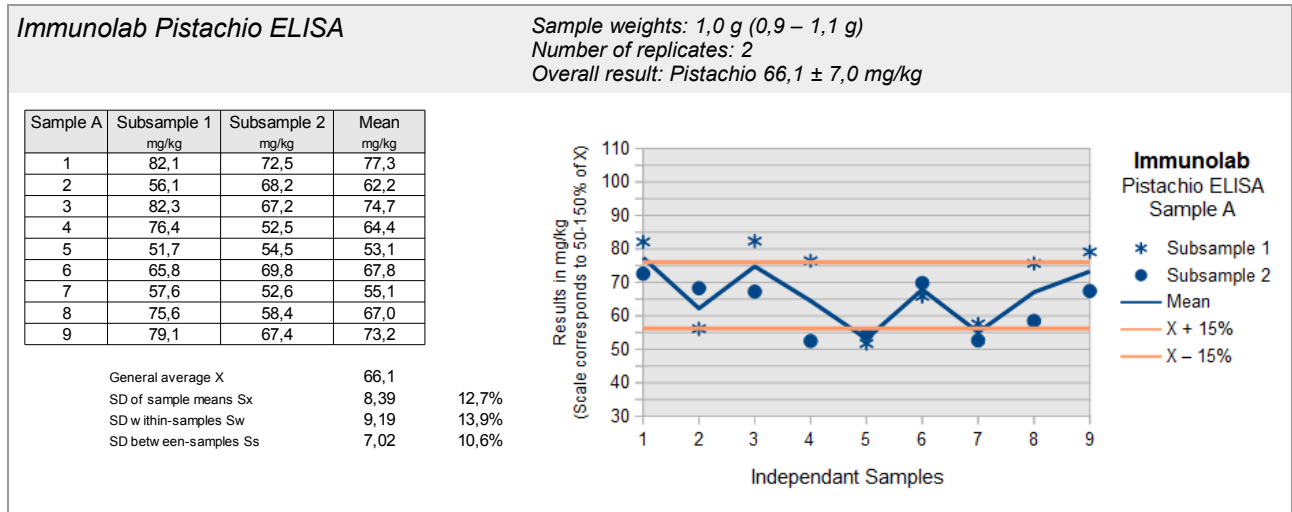
**ELISA-Tests: Homogenität Lupine / Homogeneity Lupine**



**ELISA-Tests: Homogenität Paranuss / Homogeneity Brazil Nut**



**ELISA-Tests: Homogenität Pistazie / Homogeneity Pistachio**





## 2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 49. Kalenderwoche 2016 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 20. Januar 2017.

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

*Bei den beiden Mustern handelt es sich um zwei unterschiedliche Proben einer Bratlingmischung, Probe A und Probe B, mit möglichen Gehalten an den allergenen Lebensmitteln **Lupine**, **Paranuss** und/oder **Pistazien** im mg/kg Bereich. Zusätzlich wird eine „Dotierungsmaterialprobe“ zur Verfügung gestellt, die die allergenen Bestandteile mit einem Gehalt von 1-10% in Kartoffelmehl als Trägermaterial enthält. Die Dotierungsprobe wurde zur Dotierung der Positivprobe verwendet und soll wie eine weitere Probe untersucht werden. Die Materialien wurden auf Homogenität getestet.*

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

*Zum Nachweis oder zur Bestimmung der genannten Analyten können alle geeigneten Methoden eingesetzt werden (z.B. PCR und ELISA).*

## 2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich mittels an die teilnehmenden Labore übergebenen Übermittlungstabellen (per eMail).

Zur Auswertung kamen einerseits die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben und andererseits angegebene Gehalte an allergenen Zutaten in mg/kg z.B. als allergenes Lebensmittel oder Protein.

Im Zuge der Auswertung wird ggf. bei einigen Teilnehmern die Art der Abgabe der quantitativen Ergebnisse von DLA durch Nachfragen per eMail abgesichert.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, Bestimmungsgrenzen, 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 15 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

### 3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [23, 24, 25, 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.

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

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

#### 3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

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

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

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

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

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

Einzelergebnisse 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  $\sigma_{pt}$  (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]. Auch wenn ein Ergebnis z.B. mit einem Faktor  $>10$  deutlich vom Mittelwert abweicht und einen Einfluss auf die robuste Statistik hat, kann ein Ergebnis von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden [3].

Alle Ergebnisse sollen mit mindestens 2 signifikanten Stellen (gültige Ziffern) angegeben werden. Die Angabe von 3 Stellen 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  $\sigma_{pt}$  (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) kann nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt.

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

#### 3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  kann als relative Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  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- und PCR-Verfahren mit Messwerten im  $\text{mg/kg}$  Bereich nur in Ausnahmefällen erreicht.

#### 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

Aus der Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  und der Wiederholstandardabweichung  $\sigma_x$  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  $\sigma_{pt}$  abgeleitet werden [3]:

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

Die in Tabelle 3a (ELISA) und Tabelle 3b (PCR) angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen ( $\text{RSD}_x$ ) und relativen Vergleichsstandardabweichungen ( $\text{RSD}_R$ ) wurden in Ringversuchen mittels der angegebenen Methoden ermittelt. Die resultierenden Zielstandardabweichungen  $\sigma_{pt}$  wurden für eine Anzahl von  $m = 2$  Wiederholmessungen berechnet. Bei einer Anzahl von  $m = 1$  ist die Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  gleich der Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$ .

**Tabelle 3a:** ELISA-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_r$ ) und relative Vergleichsstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  [27, 28]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob $RSD_r$	$RSD_r$	$RSD_R$	opt	Methode / Literatur
Erdnuss	Vollmilchschokolade	173,7	87 %	-	8,8%	31%	30,4%	ELISA Herst. A ASU 00.00-69
		33,8	85 %	-	5,2%	20%	19,7%	
		5,9	59 %	-	7,8%	31%	30,5%	
Erdnuss	Vollmilchschokolade	215,7	108 %	-	5,9%	32%	31,7%	ELISA Herst. B ASU 00.00-69
		40,1	100 %	-	7,2%	14%	13,0%	
		10,1	101 %	-	7,3%	16%	15,1%	
Erdnuss	Feinherbschokolade	148,2	74 %	-	6,0%	22%	21,6%	ELISA Herst. A ASU 00.00-69
		30,9	77 %	-	13%	25%	23,2%	
		5,7	57 %	-	6,1%	33%	32,7%	
Haselnuss	Feinherbschokolade	16,3	81 %	-	4,7%	12%	11,5%	ELISA Herst. A ASU 44.00-7
		7,56	76 %	-	8,9%	15%	13,6%	
		3,73	75 %	-	13%	24%	22,2%	
		1,62	81 %	-	15%	33%	31,2%	
Haselnuss	Feinherbschokolade	21,3	106 %	-	7,1%	14%	13,1%	ELISA Herst. B ASU 44.00-7
		10,7	107 %	-	11%	19%	17,3%	
		4,69	94 %	-	11%	17%	15,1%	
		2,37	119 %	-	9,3%	17%	16,4%	

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 11 - 32% für die ELISA-Methoden und 15 - 43% für die PCR-Methoden (s. Tab. 3a und 3b).

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 [22]. 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 [22].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [25]. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 - 16,1 mg/kg bzw. 1,2 - 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

**Tabelle 3b:** PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_x$ ) und relative Vergleichsstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  [29, 30]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob $RSD_x$	$RSD_x$	$RSD_R$	$\sigma_{pt}$	Methode / Literatur
Paranuss	Reiskeks	100,1 18,5 9,2	89,1% 86,5% 98%	-	34,1% 36,2% 40,2%	34,4% 38,2% 41,8%	24,5% 28,4% 30,7%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Weizenkeks	82,5	65,7%	-	25,6%	36,4%	31,2%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Soßenpulver	46,8	42,6%	-	27,5%	39,7%	34,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Reiskeks	99,3 12,5	96,6% 71%	-	16,8% 54,2%	31,8% 56,5%	29,5% 41,5%	rt-PCR ASU 18.00-22
Paranuss	Weizenkeks	67,1	62,2%	-	15,6%	35,8%	34,1%	rt-PCR ASU 18.00-22
Paranuss	Soßenpulver	45,1	48,4%	-	34,4%	37,5%	28,5%	rt-PCR ASU 18.00-22
Lupine	Reiskeks	99,1 17,5 9,3	102% 87% 95%	-	14,6% 26,5% 39,1%	23,0% 33,1% 42,6%	20,0% 27,3% 32,4%	rt-PCR ASU 18.00-22
Lupine	Weizenkeks	64,8	64,1%	-	10,5%	29,5%	28,6%	rt-PCR ASU 18.00-22
Lupine	Soßenpulver	48,9	53,6%	-	23,9%	48,0%	44,9%	rt-PCR ASU 18.00-22

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 [20], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [17-19], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [21] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [16] erarbeitet worden.

Die hier relevanten ELISA- bzw. PCR-Validierungskriterien der Gremien sind in den Tabellen 4 und 5 angegeben.

Tabelle 4: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [16-22]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% <sup>(a)</sup>	19,5 - 57,2% <sup>(a)</sup>
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 35%

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

Tabelle 5: PCR-Validierungskriterien

Literatur [16]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	± 25% <sup>(a)</sup>	≤ 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  $\sigma_{pt}$  einen Wert von 25% fest.

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

### 3.5 z-Score

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung ( $\sigma_{pt}$ ) 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<sub>ALL</sub>** (bezogen auf alle Ergebnisse)
- ii) **z-Score** - **Z<sub>METHOD i</sub>** (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  $\geq 10$  Ergebnisse vorliegen [3].



### 3.6 z'-Score

Der z'-Score kann u.a. zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes berücksichtigt werden muss (s. 3.8). Der z'-Score drückt das Verhältnis der Abweichung des Ergebnisses ( $x_i$ ) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert zur Wurzel aus der Quadratsumme von Zielstandardabweichung ( $\sigma_{pt}$ ) und Standardunsicherheit ( $U_{(x_{pt})}$ ) aus [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z'_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u_{(x_{pt})}^2}}$$

Sofern eine Bewertung der Ergebnisse mittels z'-Score erfolgt, haben wir im Folgenden den Ausdruck im Nenner als Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}'$  definiert.

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

### 3.7 Quotient $S^*/\sigma_{pt}$

In Anlehnung an den HorRat-Wert kann die Bewertung einer Laborvergleichsuntersuchung als aussagekräftig gelten, wenn der Quotient von robuster Standardabweichung  $S^*$  und Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  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].

### 3.8 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.

### 3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

### 3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

Für die Ergebnisse von Dotierungsmaterialprobe und dotierter Probe werden Wiederfindungsraten in Bezug auf die zugesetzten Allergene (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [21]. Für quantitative PCR-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

## 4. Ergebnisse

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

Die Auswertung erfolgte getrennt nach ELISA und PCR-Methoden. Die Ergebnisse wurden in den entsprechenden Kapiteln nach durchgeführten Methoden (Testkits) zusammengefasst und die Auswertenummern innerhalb der Gruppen aufsteigend sortiert.

Die folgenden Ergebnisseiten sind für die allergenen Bestandteile jeweils gleich aufgebaut. Es werden zunächst die Ergebnisse aller ELISA- bzw. PCR-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 im Abschnitt Wiederfindungsrate behandelt.

Im Ergebnisteil werden alle quantitativen Teilnehmerergebnisse auf 3 signifikante Stellen (gültige Ziffern) formatiert dargestellt. Im Dokumentationsteil sind die Ergebnisse so angegeben wie sie von den Teilnehmern übermittelt wurden.

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.

Die Auswertung der ELISA-Ergebnisse für Lupine wurde als Lupinen-Protein vorgenommen. Dafür wurden Ergebnisse, die als Lupine angegeben wurden, unter Berücksichtigung von Literatur- bzw. Testkit-Angaben mit einem Proteingehalt von 40% umgerechnet (AgraQuant, Immunolab).

ELISA-Ergebnisse, die als Paranuss-Protein angegeben wurden (Elution Technologies), sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt des Rohstoffs (15%) auf das Gesamtlebensmittel (Paranuss) umgerechnet worden.

Für Pistazie wurden in der vorliegenden LVU alle ELISA-Ergebnisse einheitlich als Pistazie angegeben, sodass keine Umrechnungen vorgenommen wurden.

Qualitativ werden die Ergebnisse anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern  $\geq 75$  % positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt. 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 $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{M i}}$	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 ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD i}}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Median		
Robuster Mittelwert ( $X_{pt}$ )		
Robuste Standardabweichung ( $S^*$ )		
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung $\sigma_{pt}$		
untere Grenze des Zielbereichs ( $X_{pt} - 2\sigma_{pt}$ )		
obere Grenze des Zielbereichs ( $X_{pt} + 2\sigma_{pt}$ )		
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$		
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$		
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

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

## 4.1 Vergleichsuntersuchung Lupine

### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Lupine (als Lupinenprotein)

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
8	positiv	33,6	positiv	1,32	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
15	positiv	460	positiv	420	2/2 (100%)	ES	Ergebnis ausgeschlossen
14	positiv	20,0	positiv	0,92	2/2 (100%)	IL	Ergebnis umgerechnet °
3	positiv	21,1	positiv	3,40	2/2 (100%)	RS-F	
5	positiv	34,3	positiv	4,07	2/2 (100%)	RS-F	
6	positiv	17,0	positiv	2,50	2/2 (100%)	RS-F	
7	positiv	30,9	positiv	4,72	2/2 (100%)	RS-F	
10	positiv	22,9	positiv	2,80	2/2 (100%)	RS-F	
11	positiv	13,1	positiv	1,53	2/2 (100%)	RS-F	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	9	9
Anzahl negativ	0	0
Prozent positiv	100	100
Prozent negativ	0	0
Konsenswert	positiv	positiv

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte sind sowohl für die dotierte Probe A als auch die nicht dotierte Probe B positiv. Dieses Ergebnis deckt sich mit den PCR-Ergebnissen. Die nicht-dotierte Probe B enthält demnach geringe Gehalte an Lupinenprotein im Bereich von ca. 0,9 bis 5 mg/kg. Das Ergebnis von Teilnehmer 15 ist vermutlich auf eine hohe Kreuzreaktivität der verwendeten Methode mit Soja zurück zu führen. Soja ist zu ca. 12% in der Grundmatrix enthalten.

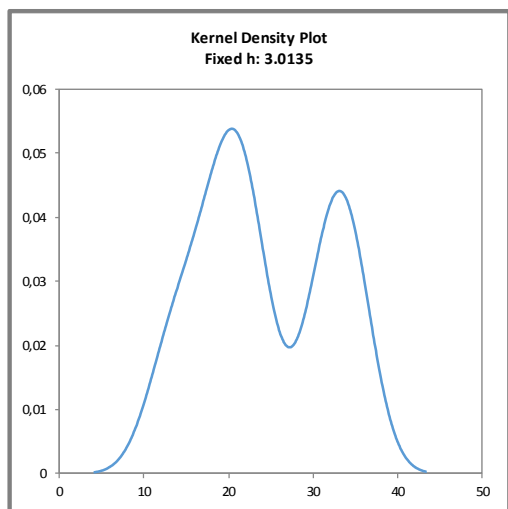
**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A**

Auswertenummer	Lupine [mg/kg]	z-Score X <sub>pt</sub> <sub>ALL</sub>	z-Score X <sub>pt</sub> <sub>RS</sub>	Methode	Hinweis
8	33,6	1,6		AQ	Ergebnis umgerechnet °
15	460			ES	Ergebnis ausgeschlossen
14	20,0	-0,7	3,4	IL	Ergebnis umgerechnet °
3	21,1	-0,5	-0,4	RS-F	
5	34,3	1,7	1,9	RS-F	
6	17,0	-1,2	-1,1	RS-F	
7	30,9	1,1	1,3	RS-F	
10	22,9	-0,2	-0,1	RS-F	
11	13,1	-1,8	-1,7	RS-F	

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm



**Abb. / Fig. 1:**

Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,5 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{ptALL}$ )

Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,5 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{ptALL}$ )

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt ein Hauptmaximum bei ca. 20 mg/kg und einen Nebenpeak bei > 30 mg/kg. Die Ergebnisse des Nebenpeaks lassen sich keiner einzelnen Methode zuordnen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung Lupine (als Lupinenprotein)

**Probe A**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS-F</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL}$	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	8	6
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	24,1	23,2
Median	22,0	22,0
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>24,1</b>	<b>23,2</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>9,00</b>	<b>9,19</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>6,03</b>	<b>5,80</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>12,1</b>	<b>11,6</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>36,2</b>	<b>34,8</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,5	1,6
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	3,98	4,69
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,66	0,81
Ergebnisse im Zielbereich	8	6
Prozent im Zielbereich	100	100

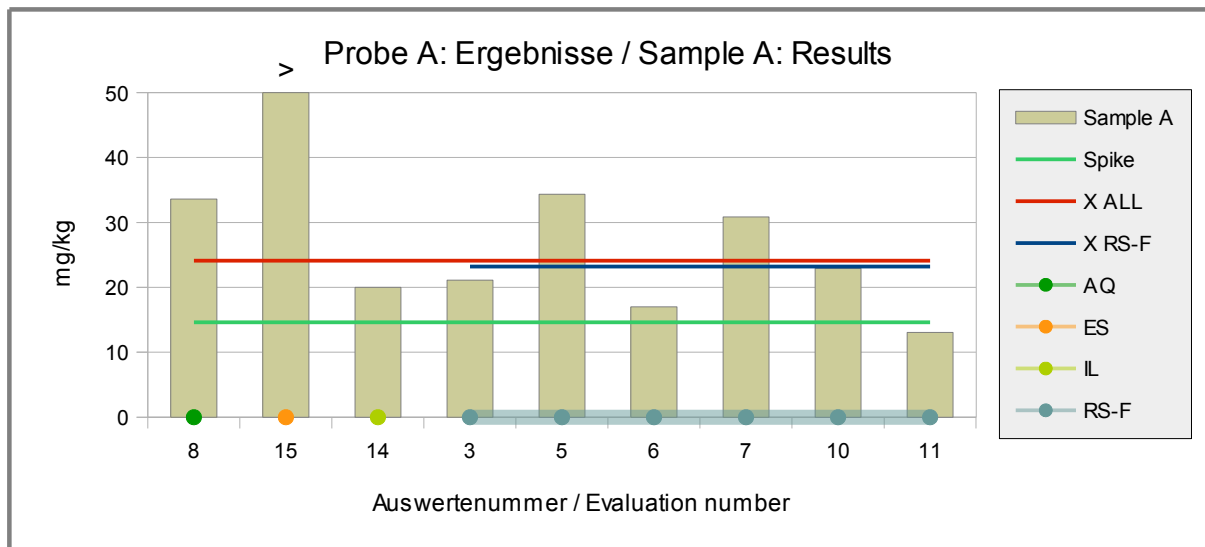
**Methoden:**

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

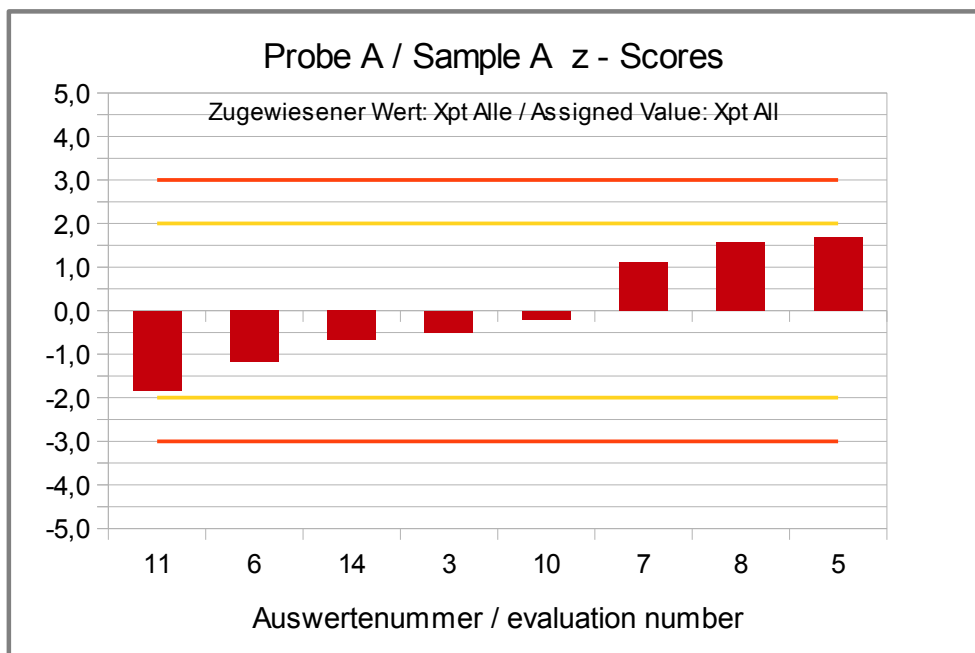
Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung ergab keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede. Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine normale Variabilität. Die Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  lagen jeweils unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen mit 37,3% bzw. 39,6% im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichungen der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 165% bzw. 159% vom Zusatzniveau von Lupine zu Probe A, geringfügig oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3). Dabei ist zu bedenken, dass die Grundmatrix (vgl. Probe B) ebenfalls geringe Gehalte an Lupine enthielt.

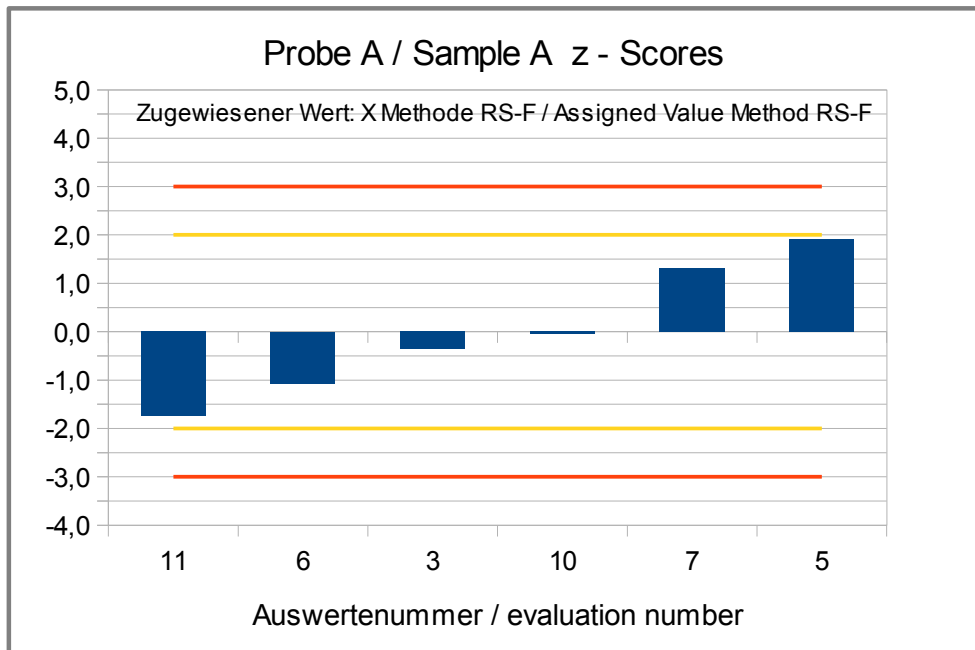


**Abb./Fig. 2:** ELISA-Ergebnisse Lupinen-Protein  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 3:** z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Lupinen-Protein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse





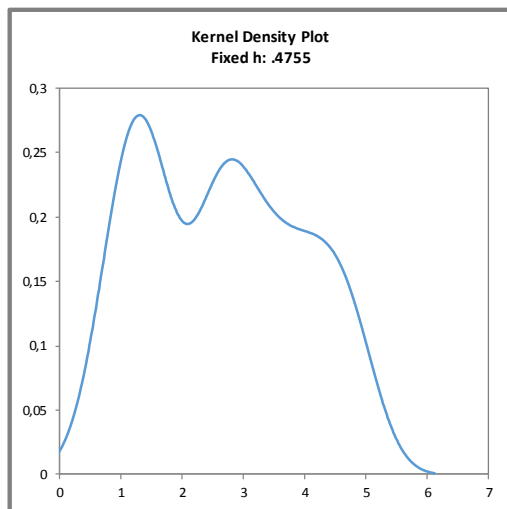
**Abb./Fig. 4:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Lupinen-Protein) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F(R-Biopharm, Ridascreen Fast)

**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe B**

Auswertenummer	Lupine [mg/kg]	z-Score $X_{pt,ALL}$	z-Score $X_{pt,RS}$	Methode	Hinweis
8	1,32	-1,4		AQ	Ergebnis umgerechnet °
15	420			ES	Ergebnis ausgeschlossen
14	0,92	-1,8	1,2	IL	Ergebnis umgerechnet °
3	3,40	0,8	0,3	RS-F	
5	4,07	1,5	1,1	RS-F	
6	2,50	-0,2	-0,8	RS-F	
7	4,72	2,2	2,0	RS-F	
10	2,80	0,1	-0,5	RS-F	
11	1,53	-1,2	-2,1	RS-F	

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

**Abb. / Fig. 5:**Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,5 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{pt,ALL}$ )Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,5 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{pt,ALL}$ )**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt ein Hauptmaximum bei ca. 1 mg/kg und einen breiten Nebenpeak mit einer Schulter bei > 3 mg/kg. Die Maxima bzw. Peaks lassen sich nicht ausschließlich einer Methode zuordnen.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung Lupine (als Lupinenprotein)****Probe B**

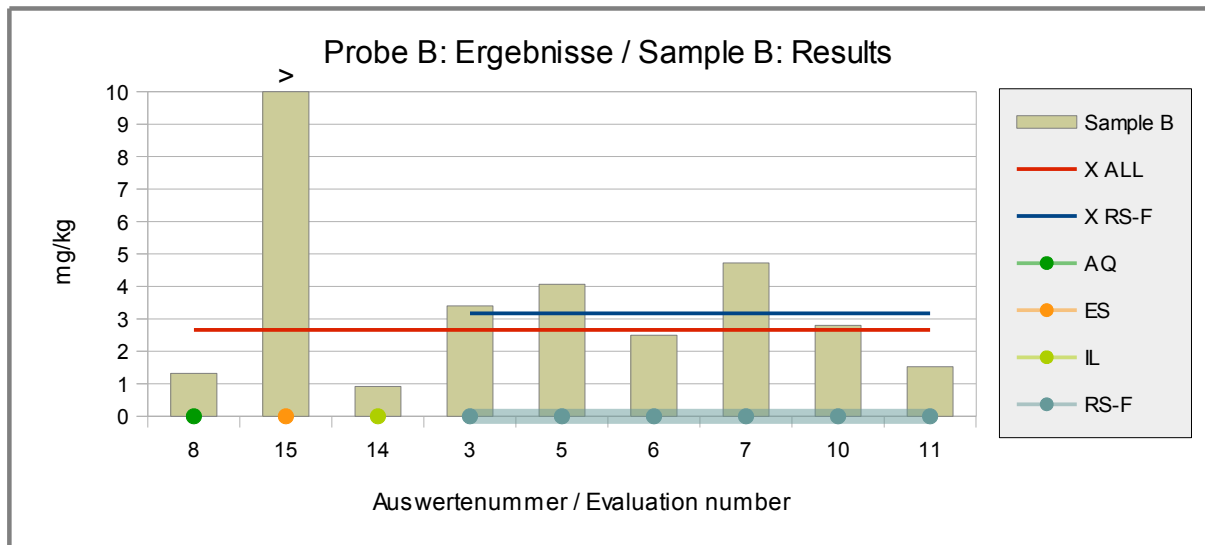
<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS-F</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$
Anzahl der Messergebnisse	8	6
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	2,66	3,17
Median	2,65	3,10
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>2,66</b>	<b>3,17</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>1,54</b>	<b>1,30</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math> bzw. <math>\sigma_{pt}'</math></b>	<b>0,951</b>	<b>0,793</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>0,755</b>	<b>1,59</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>4,56</b>	<b>4,76</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math> bzw. <math>S^*/\sigma_{pt}'</math></i>	1,6	1,6
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	0,681	0,662
<i>Quotient <math>U(X_{pt})/\sigma_{pt}</math></i>	0,72	0,84
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	7	5
<i>Prozent im Zielbereich</i>	88	83

**Methoden:**

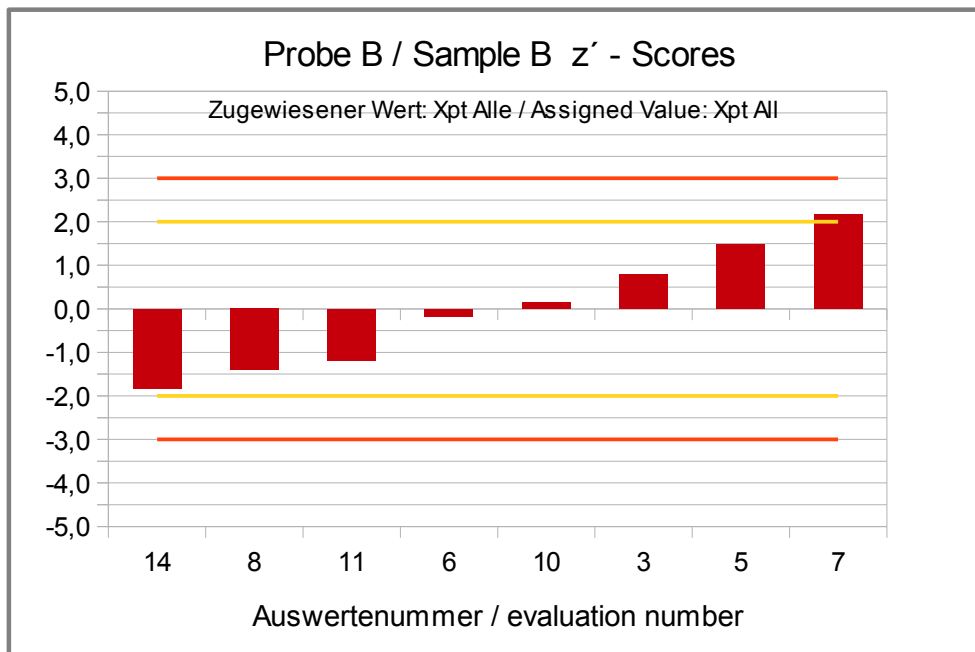
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

**Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:**

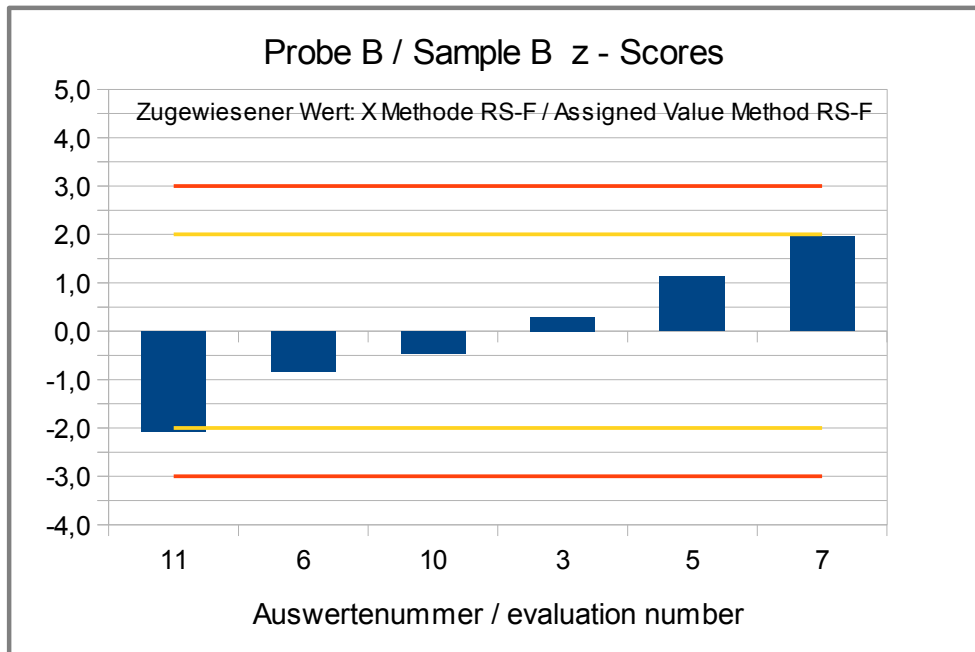
Die Kerndichte-Schätzung ergab keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede. Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine leicht erhöhte Variabilität der Ergebnisse mit einem Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  von 2,3. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}'$  lag dann unter 2,0. Die Auswertungen der Ergebnisse der Methode RS-F zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichungen liegt im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.



**Abb./Fig. 6:** ELISA-Ergebnisse Lupinen-Protein  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 7:** z'-Scores (ELISA-Ergebnisse als Lupinen-Protein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 8:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Lupinen-Protein) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)

**Wiederfindungsraten für Lupine (als Lupinenprotein):  
Dotierungsmaterialprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
8	7270	220	33,6	230	AQ	Ergebnis umgerechnet °
15	7300	221	460	3151	ES	Ergebnis ausgeschlossen
14	4400	<b>133</b>	20,0	<b>137</b>	IL	Ergebnis umgerechnet °
3	4550		21,1	<b>145</b>	RS-F	
5	4353	<b>132</b>	34,3	235	RS-F	
6	3500		17,0	<b>116</b>	RS-F	
7	3489	<b>106</b>	30,9	211	RS-F	
10	4091	<b>124</b>	22,9	157	RS-F	
11	2834	<b>86</b>	13,1	<b>89</b>	RS-F	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>5</b>	Anzahl im AB	<b>4</b>
Prozent im AB	<b>71</b>	Prozent im AB	<b>44</b>

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 ES = ELISA-Systeme  
 IL = Immunolab  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Lupinen-Protein, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

71% (5) der Teilnehmer haben in der Dotierungsmaterialprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Bei der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 44% der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

Es ist zu bedenken, dass die Grundmatrix (vgl. Probe B) ebenfalls geringe Gehalte an Lupine enthielt. Teilnehmer 10 würde unter Berücksichtigung eines zusätzlichen Gehaltes von ca. 3 mg/kg zum Zusatzniveau eine Wiederfindungsrate von ca. 127% innerhalb des Akzeptanzbereichs erhalten.

**4.1.2 PCR-Ergebnisse: Lupine**

**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[m g/kg]	pos/neg	[m g/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
8	positiv		positiv		2/2 (100%)	ASU	
6	positiv	>0,4	positiv	>0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	
9	positiv		negativ		1/2 (50%)	SFA-ID	
13a	positiv		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
5	positiv	16,5	positiv	2,12	2/2 (100%)	SFA-Q	
12	positiv	9,10	positiv	< 2,6	2/2 (100%)	SFA-Q	
13b	positiv	6,87	positiv	1,56	2/2 (100%)	SFA-Q	
1	positiv		positiv		2/2 (100%)	div.	
4	positiv		positiv		2/2 (100%)	div.	
15	positiv		positiv		2/2 (100%)	div.	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	10	9
Anzahl negativ	0	1
Prozent positiv	100	90
Prozent negativ	0	10
Konsenswert	positiv	positiv

**Methoden:**

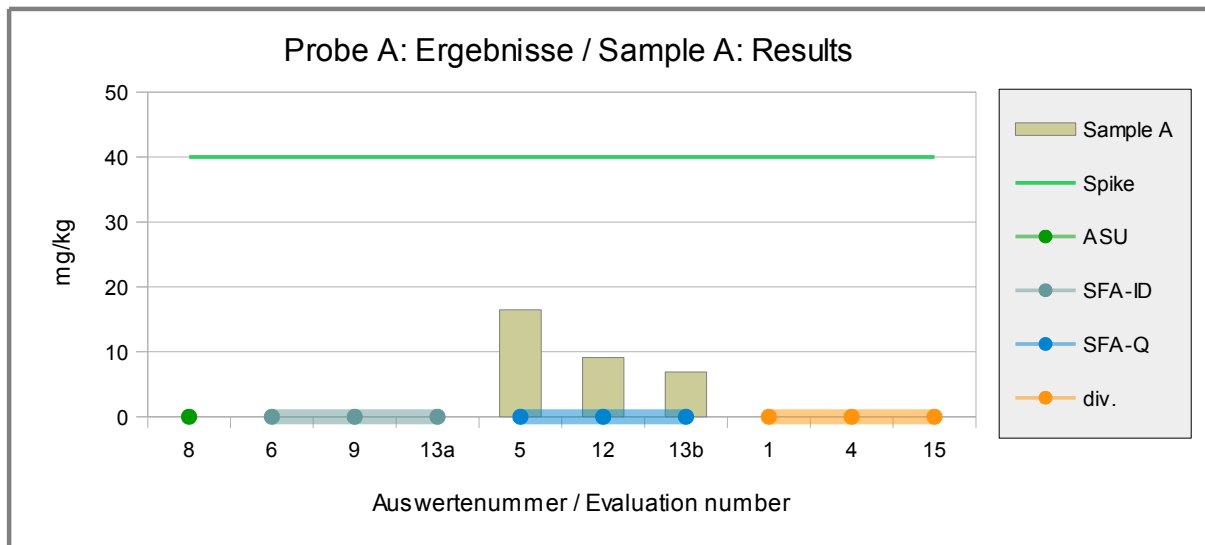
ASU = ASU §64 Methode/method  
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen  
 SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte sind sowohl für die dotierte Probe A als auch die nicht dotierte Probe B positiv. Dies steht in Übereinstimmung mit den ELISA-Ergebnissen. Ein negatives Ergebnis für Probe B wurde mit der Methode SFA-ID erhalten.

**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

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



**Abb./Fig. 9:** PCR-Ergebnisse Lupine  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Wiederfindungsraten für Lupine:  
Dotierungsmaterialprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
8					ASU	
6	>0,4		>0,4		SFA-ID	
9					SFA-ID	
13a					SFA-ID	
5	858	9	16,5	41	SFA-Q	
12	693	8	9,10	23	SFA-Q	
13b	782	9	6,87	17	SFA-Q	
1					div.	
4					div.	
15					div.	

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

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method  
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen  
 SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Lupinen-Protein, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Keiner der Teilnehmer hat in der Dotierungsmaterialprobe bzw. der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Paranuss

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Paranuss

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
2	positiv	20,3	negativ	<6,7	2/2 (100%)	ET	Ergebnis umgerechnet °
11	positiv	22,6	negativ	<6,7	2/2 (100%)	ET	Ergebnis umgerechnet °
14	positiv	50,0	negativ	< 1	2/2 (100%)	IL	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	3	0
Anzahl negativ	0	3
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

#### Methoden:

ET = Elution Technologies ELISA Kit

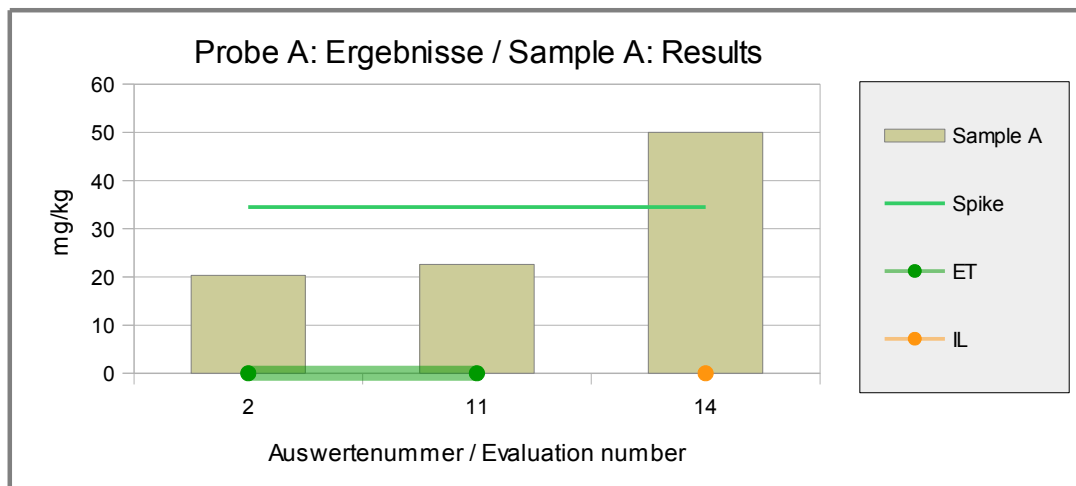
IL = Immunolab

#### Anmerkung:

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

#### Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A

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



**Abb./Fig. 10:** ELISA-Ergebnisse Paranuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten für Paranuss:  
 Dotierungsmaterialprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
2	-		20,3	59	ET	Ergebnis umgerechnet °
11	6360	82	22,6	66	ET	Ergebnis umgerechnet °
14	1200	15	50,0	145	IL	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	3
Prozent im AB	50	Prozent im AB	100

**Methoden:**

ET = Elution Technologies ELISA Kit  
 IL = Immunolab

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Paranuss, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Ein Teilnehmer hat in der Dotierungsmaterialprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Bei der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Lebensmittelmatrix-Probe A lagen drei Wiederfindungsraten (100%) in diesem Akzeptanzbereich.

**4.2.2 PCR-Ergebnisse: Paranuss**

**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
8	negativ		negativ		1/1 (100%)	ASU	keine Positivprobe identifiziert
15	negativ		negativ		1/1 (100%)	ASU	keine Positivprobe identifiziert
15	negativ		negativ		1/1 (100%)	ASU	keine Positivprobe identifiziert
5	positiv		negativ		1/1 (100%)	SFA-ID	
12	positiv	> 0,4	negativ	-	1/1 (100%)	SFA-ID	
1	negativ		negativ		1/1 (100%)	div.	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	2	0
Anzahl negativ	4	6
Prozent positiv	33	0
Prozent negativ	67	100
Konsenswert	keiner	negativ

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Für Probe A wurde kein Konsenswert von  $\geq 75\%$  positive oder negative Ergebnisse erhalten. Der Konsenswert für Probe B steht in Übereinstimmung mit der nicht dotierten Probe B. Die Ergebnisse von Teilnehmer 5 und 12 stehen in Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A**

Anmerkung:

Eine quantitative Auswertung konnte nicht vorgenommen werden, da keine quantitativen Einzelergebnisse vorlagen.

**Wiederfindungsraten für Paranuss:  
Dotierungsmaterialprobe und Probe A**

Eine Berechnung der Wiederfindungsraten konnte nicht vorgenommen werden, da keine quantitativen Einzelergebnisse vorlagen.

### 4.3 Vergleichsuntersuchung Pistazie

#### 4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Pistazie

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
11	positiv	129	negativ	<1	2/2 (100%)	BC	
14	positiv	78,0	negativ	< 1	2/2 (100%)	IL	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	2	0
Anzahl negativ	0	2
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

#### Methoden:

BC = BioCheck ELISA

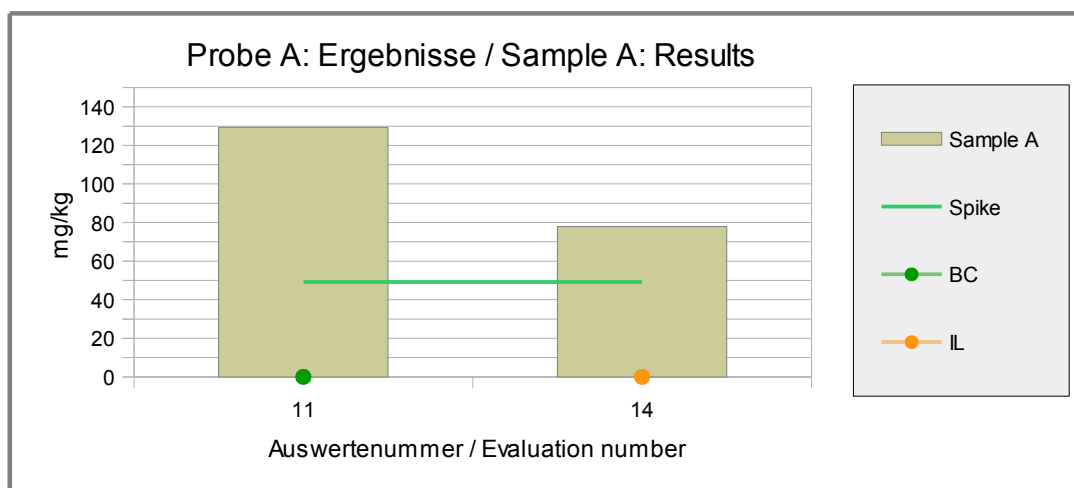
IL = Immunolab

#### Anmerkung:

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

#### Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A

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



**Abb./Fig. 11:** ELISA-Ergebnisse Pistazie  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten für Pistazie:  
 Dotierungsmaterialprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
11	21419	193	129	263	BC	
14	17100	154	78,0	159	IL	

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

**Methoden:**  
 BC = BioCheck ELISA  
 IL = Immunolab

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Pistazie, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Keiner der Teilnehmer hat in der Dotierungsmaterialprobe bzw. der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

Die höheren Wiederfindungsraten können ihren Grund in dem etwas höheren Proteingehalt der Rohware der verwendeten Pistazien (26%) im Vergleich zu den Testkit-Angaben (ca. 20%) haben.

**4.3.2 PCR-Ergebnisse: Pistazie**

**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
6	positiv	>0,4	negativ	<0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	
9	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
12	positiv	5,40	negativ	-	2/2 (100%)	SFA-Q	
1	positiv		positiv		1/2 (50%)	div.	
4	positiv		negativ		2/2 (100%)	div.	
15	negativ		negativ		1/2 (50%)	div.	
15	negativ		negativ		1/2 (50%)	div.	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	6	1
Anzahl negativ	2	7
Prozent positiv	75	13
Prozent negativ	25	88
Konsenswert	positiv	negativ

**Methoden:**

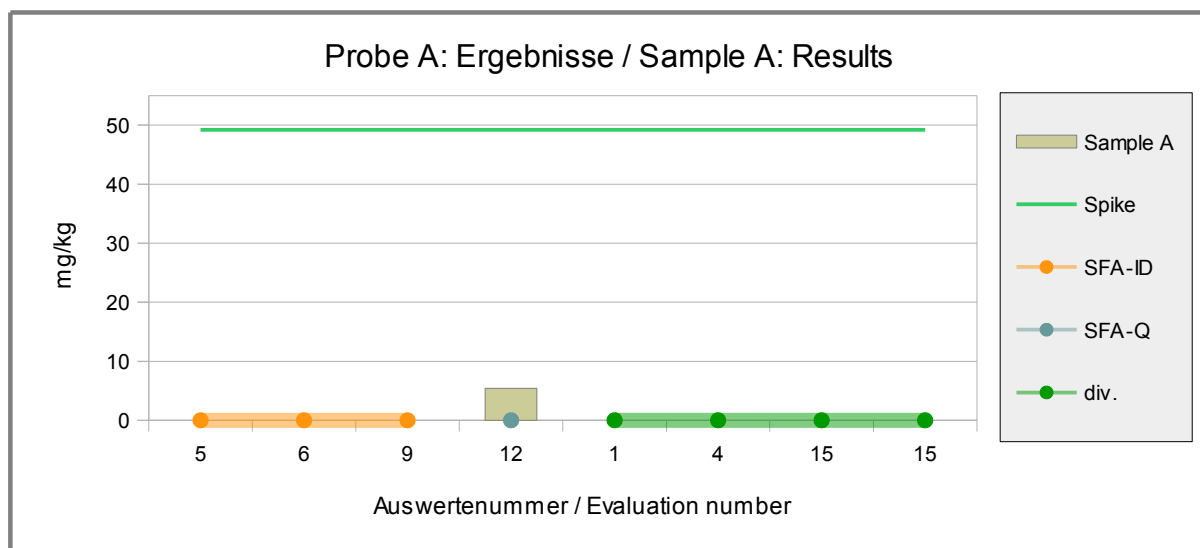
SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen  
 SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A**

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



**Abb./Fig. 12:** PCR-Ergebnisse Pistazie  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten für Pistazie:  
 Dotierungsmaterialprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsmaterial	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
5					SFA-ID	
6	>0,4		>0,4		SFA-ID	
9					SFA-ID	
12	1161	10	5,40	11	SFA-Q	
1					div.	
4					div.	
15					div.	
15					div.	

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

**Methoden:**

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

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Pistazie, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Anmerkung:**

Keiner der Teilnehmer hat in der Dotierungsmaterialprobe bzw. in der mit dem Dotierungsmaterial hergestellten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.



**4.3.3 Andere Methoden - Lateral Flow: Pistazie****Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
2	positiv	>15	negativ	<15	2/2 (50%)	BA	

**Methoden:**

BA = Bioavid, R-Biopharm

Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe A**

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, da keine quantitativen Einzelergebnisse vorlagen.

## 5. Dokumentation

### 5.1 Angaben der Teilnehmer

**Hinweis:** Angaben in englischer Sprache wurden von DLA nach bestem Wissen ins Deutsche übersetzt (ohne Gewähr der Richtigkeit).

#### 5.1.1 ELISA: Lupine

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
AQ	8	27.12.16	positiv	84	positiv	3,3	positiv	18176,3	Lupine	Test-Kit + Anbieter AgraQuant ELISA Lupin (COKAL 1548), RomerLabs
IL	14	08.12.16	positiv	50	positiv	2,3	positiv	11000	Lupine	Immunolab Lupine ELISA (LUP-E01)
ES	15	28.12.	positiv	460	positiv	420	positiv	7300	Lupinenmehlprotein	ELISA-Systems, Lupin Residue Assay (ESLFP-48)
ES	15	27.01.17	positiv	350	positiv	240			Lupinenmehlprotein	ELISA-Systems, Lupin Residue Assay (ESLFP-48)
RS-F	3	03.01.17	positiv	21,1	positiv	3,4	positiv	4550	Lupinen-Protein	Ridascreen Fast Lupine/Lupin (R6102), r-Biopharm
RS-F	5		positiv	34,34	positiv	4,07	positiv	4353	Lupinen-Protein	Ridascreen Fast Lupine/Lupin (R6102), r-Biopharm
RS-F	6	16.01.17	positiv	17	positiv	2,5	positiv	3500	Lupin-Protein	Ridascreen Fast Lupine/Lupin (R6102), r-Biopharm
RS-F	7	13.01.17	positiv	30,87	positiv	4,72	positiv	3489,23	Lupinen-Protein	Ridascreen Fast Lupine/Lupin (R6102), r-Biopharm
RS-F	10	Januar	-	22,9	-	2,8	-	4091	Lupinen-Protein	Ridascreen Fast Lupine/Lupin (R6102), r-Biopharm
RS-F	11	05.01.17	positiv	13,06	positiv	1,53	positiv	2834	Lupin-Protein	Ridascreen Fast Lupine/Lupin (R6102), r-Biopharm

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
AQ	8		gemäß Handbuch	
IL	14	polyklonal		Ergebnis für Probe B leicht über Quantifizierungsgrenze von 2 ppm, ggf. Resultat von geringfügiger Kreuzreaktion zu Soja (CR Sojamehl = 0.0009%)
ES	15	Lupinenmehlproteine	nach Herstellerangaben	
ES	15	Lupinenmehlproteine	nach Herstellerangaben	im Nachmuster
RS-F	3	Lupinen-Protein	lt. Testkitanleitung	
RS-F	5			
RS-F	6			
RS-F	7	Lupinen-Protein	nach Herstellerangaben	Mehrfachbestimmungen: A: 30,90;27,20;30,89;34,50 B: 5,98;4,0;5,01;3,8 C: 3737,97;3392,95;3336,80
RS-F	10	Lupinenprotein	Probe 1 : 5 verdünnt, Dotierungsprobe 1: 500 verdünnt	
RS-F	11	gemäß Testkitangaben	gemäß Testkitangaben	

**5.1.2 ELISA: Paranuss**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
ET	2	23.12.17	positiv	3,05	negativ	<1	-		Paranuss-Protein	Elution Technologies Brazil Nut Protein ELISA Kit
ET	11	06.01.17	positiv	3,39	negativ	<1	positiv	954	Paranuss-Protein	Elution Technologies Brazil Nut Protein ELISA Kit
IL	14	08.12.16	positiv	50	negativ	< 1	positiv	12000	Paranuss	Immunolab Brazil Nut ELISA (PAR-E01)

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur		
ET	2	Paranuss			
ET	11	gemäß Testkitanleitung	gemäß Testkitanleitung		
IL	14	polyklonal			

**5.1.3 ELISA: Pistazie**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
BC	11	19.12.16	positiv	129,31	negativ	<1	positiv	21419	Pistazie	Bio-Ceck Pistachio ELISA Kit
IL	14	08.12.16	positiv	78	negativ	< 1	positiv	17100	Pistazie	Immunolab Pistachio ELISA

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur		
BC	11	gemäß Testkitanleitung	gemäß Testkitanleitung		
IL	14	polyklonal			

**5.1.4 PCR: Lupine**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
ASU	8	03.01.17	positiv		positiv		positiv		Lupinen-DNA	ASU §64 Methode
SFA-ID	6	16.01.17	positiv	>0.4	positiv	>0.4	positiv	>0.4	Lupinen-DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	9	11.01.17	positiv		negativ		positiv		Lupine-DNS	r-biopharm SureFood Allergen Lupine (S3111)
SFA-ID	13a	12.12.17	positiv		positiv		positiv		Lupine	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-Q	5		positiv	16,46	positiv	2,12	positiv	858,25	Lupinen-DNA	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
SFA-Q	12	09.12.	positiv	9,1	positiv	< 2,6	positiv	693	Lupine	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
SFA-Q	13b	15.12.17	positiv	6,87	positiv	1,56	positiv	781,61	Lupine	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
div.	1	09.01.17	positiv		positiv		positiv		Lupinen-DNA	Hausmethode
div.	4	17.01.17	positiv		positiv		positiv		Lupinen-DNA	Hausmethode
div.	15	14.12.	positiv		positiv		positiv		Lupinen-DNA	interne Methode
div.	15	26.01.17	positiv		positiv				Lupinen-DNA	interne Methode

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
ASU	8		2 g Einw aage, Machery & Nagel NucleoSpin Food Kit	
SFA-ID	6			
SFA-ID	9		r-biopharm SureFood Prep Advanced (S1053)	
SFA-ID	13a		SureFood PREP Advanced, Congen / r-Biopharm, nach Herstelleranleitung Protokoll 2	
SFA-Q	5			
SFA-Q	12	-	S3211 SureFood® ALLERGEN QUANT Lupin; Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Bestimmungsgrenze 2,6 mg/kg; Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	-
SFA-Q	13b		SureFood PREP Advanced, Congen / r-Biopharm, nach Herstelleranleitung Protokoll 1, Einw aage reduziert von 100mg auf 50mg	
div.	1	ITS	NucleoSpin Food (Machery Nagel)/Real Time PCR/45 Zyklen	
div.	4		CTAB; Magnetic Beads; Taqman real time PCR	
div.	15		CTAB/Proteinase K/Amylase/Promega Wizard DNA CleanUp/Real Time PCR/45 Zyklen	
div.	15		CTAB/Proteinase K/Amylase/Promega Wizard DNA CleanUp/Real Time PCR/45 Zyklen	im Nachmuster

**5.1.5 PCR: Paranuss**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
		Tag/Monat								Test-Kit + Anbieter
ASU	8	03.01.17	negativ		negativ		positiv		Paranuss-DNA	ASU §64 Methode
ASU	15	14.12.	negativ		negativ		positiv		Paranuss-DNA	ASU §64 Methode
ASU	15	26.01.17	negativ		negativ				Paranuss-DNA	ASU §64 Methode
SFA-ID	5		positiv		negativ		positiv		Paranuss-DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	12	09.12.	positiv	> 0,4	negativ	-	positiv	> 0,4	Paranuss	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
div.	1	09.01.17	negativ		negativ		negativ		Paranuss-DNA	Hausmethode

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
ASU	8		2 g Einw aage, Machery & Nagel NucleoSpin Food Kit	
ASU	15		CTAB/Proteinase K/Amylase/Promega Wizard DNA CleanUp/Real Time PCR/45 Zyklen	
ASU	15		CTAB/Proteinase K/Amylase/Promega Wizard DNA CleanUp/Real Time PCR/45 Zyklen	im Nachmuster
SFA-ID	5			
SFA-ID	12	-	S3117 SureFood® ALLERGEN ID Brazil Nut; Nachweisgrenze 0,4 mg/kg; Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	-
div.	1	schwefelwasser löslich	NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/Real Time PCR/45 Zyklen	

**5.1.6 PCR: Pistazie**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse Tag/Monat	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein	Methode Test-Kit + Anbieter
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
SFA-ID	5		positiv		negativ		positiv		Pistazien-DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	6	16.01.17	positiv	>0.4	negativ	<0.4	positiv	>0.4	Pistachio-DNA	Sure Food Allergen ID, Congen / r-Biopharm
SFA-ID	9	11.01.17	positiv		negativ		positiv		Pistazie-DNS	r-biopharm SureFood Allergen Pistazie (S3114)
SFA-Q	12	09.12.	positiv	5,4	negativ	-	positiv	1161	Pistazie	Sure Food Allergen QUANT, Congen / r-Biopharm
div.	1	09.01.17	positiv		positiv		positiv		Pistazien-DNA	Hausmethode
div.	4	17.01.17	positiv		negativ		positiv		Pistazien-DNA	Hausmethode
div.	15	14.12.	negativ		negativ		positiv		Pistazien-DNA	interne Methode
div.	15	26.01.17	negativ		negativ				Pistazien-DNA	interne Methode

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen		
SFA-ID	5				
SFA-ID	6				
SFA-ID	9		r-biopharm SureFood Prep Advanced (S1053)		
SFA-Q	12	-	S3214 SureFood® ALLERGEN QUANT Pistachio; Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Bestimmungsgrenze 1 mg/kg; Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1		-
div.	1	Dehidrin (cor)	NucleoSpin Food (Macherey Nagel)/Real Time PCR/45 Zyklen		
div.	4		CTAB; Magnetic Beads; Taqman real time PCR		
div.	15		CTAB/Proteinase K/Amylase/Promega Wizard DNA CleanUp/PCR/Gelelektrophorese/45 Zyklen		
div.	15		CTAB/Proteinase K/Amylase/Promega Wizard DNA CleanUp/PCR/Gelelektrophorese/45 Zyklen		im Nachmuster

**5.1.7 Andere Methoden - Lateral Flow: Pistazie**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse Tag/Monat	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		Quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein	Methode Test-Kit + Anbieter
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg		
BA	2	23.12.17	positiv	>15	negativ	<15	-		Pistazie	R-Biopharm Lateral Flow Device Pistachio

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen		
BA	2		NaCl Lösung / 5 Minuten / Raumtemperatur		

## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 08-2016 Probe A

Gewicht Gesamtprobe	3,12	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	12,3	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,13	31	12,1
2	5,27	36	13,7
3	5,00	33	13,2
4	5,04	39	15,5
5	5,12	37	14,5
6	5,02	34	13,5
7	5,10	33	12,9
8	5,05	35	13,9

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	34,8	Partikel
Standardabweichung	2,58	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	1,34	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>99</b>	%
Wiederfindungsrate	111	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	13,7	mg/kg
Standardabweichung	1,01	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,42	%
Horwitz Standardabweichung	10,8	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,69</b>	
Wiederfindungsrate	111	%

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 08-2016 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	3,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	12,7	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,13	31	12,1
2	5,17	42	16,2
3	5,08	33	13,0
4	5,10	26	10,2
5	5,04	36	14,3
6	5,12	31	12,1
7	5,03	37	14,7
8	5,02	35	13,9

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	33,9	Partikel
Standardabweichung	4,78	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	4,71	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>70</b>	%
Wiederfindungsrate	105	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	13,3	mg/kg
Standardabweichung	1,88	mg/kg
rel. Standardabweichung	14,1	%
Horwitz Standardabweichung	10,8	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>1,3</b>	
Wiederfindungsrate	105	%

**Microtracer Homogenitätstest****DLA 08-2016 Dotierungsmaterialprobe**

Gewicht Gesamtprobe	0,725	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	12,8	mg/kg

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,09	26	10,2
2	5,06	28	11,1
3	5,00	30	12,0
4	5,02	28	11,2
5	5,24	28	10,7
6	5,15	27	10,5
7	5,05	29	11,5
8	5,19	29	11,2

**Poisson-Verteilung**

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	28,1	Partikel
Standardabweichung	1,45	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	0,52	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>100</b>	%
Wiederfindungsrate	86	%

**Normalverteilung**

Probenanzahl	8	
Mittelwert	11,0	mg/kg
Standardabweichung	0,57	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,15	%
Horwitz Standardabweichung	11,1	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,46</b>	
Wiederfindungsrate	86	%



## 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		SPANIEN
		KANADA
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		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. 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 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003)
  28. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006)
  29. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (*Bertholletia excelsa*) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014)
  30. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014)

**DLA 08/2016 - Allergene VIII**

Alle 15 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte für ELISA-Methoden hinsichtlich des Parameters Lupine qualitativ und quantitativ und für Paranuss und Pistazie aufgrund der wenigen Ergebnisse nur qualitativ. Die PCR-Methoden wurden für alle 3 Parameter ebenfalls qualitativ bewertet. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsmaterialprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

3 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Spanien) und ein Teilnehmer in Kanada.