

Proficiency Tests

**DLA**

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

## **Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA 04/2017**

### **Allergene IV:**

### **Sellerie, Senf und Sesam**

### **in Wurstbrät**

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 04/2017
<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 (7. November 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: 7. November 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
2.1.2 Stabilität.....	8
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	8
2.3 Ergebnisübermittlung.....	8
3. Auswertung.....	9
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	9
3.2 Robuste Standardabweichung.....	10
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	10
Ausschluss von Ergebnissen .....	10
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	11
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	11
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision .....	11
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen .....	14
3.5 z-Score.....	15
3.6 z'-Score.....	16
3.7 Quotient $S^*/\sigma_{pt}$ .....	16
3.8 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts.....	16
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	17
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	17
4. Ergebnisse.....	18
4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen).....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie.....	22
4.2 Vergleichsuntersuchung Senf.....	28
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Senf.....	28
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Senf.....	34
4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam.....	38
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam.....	38
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam.....	48
5. Dokumentation.....	52
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	52
5.1.1 ELISA: Senf.....	52
5.1.2 ELISA: Sesam.....	54
5.1.3 PCR: Sellerie.....	56
5.1.4 PCR: Senf.....	58
5.1.5 PCR: Sesam.....	60
5.2 Homogenität.....	62
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	62
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	63
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	64
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	65

## 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 verschiedene LVU-Proben mit gleicher Lebensmatrix für den Nachweis und die quantitative Bestimmung der Allergene im mg/kg-Bereich und eine Dotierungsniveauprobe mit einfacher Matrix zur Verfügung gestellt. Einer der beiden LVU-Proben (dotierte Probe) sowie der Dotierungsniveauprobe wurden die betreffenden allergenen Zutaten in ähnlichem Konzentrationsbereich zugesetzt. Die Untersuchungsergebnisse der Dotierungsniveauprobe 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 der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um Wurstbrät. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Die Zutaten wurden in einem 9L-Kutter im Gesamtbrätverfahren hergestellt. Nach Zerkleinern und Homogenisieren der Grundmischung wurde die dotierte Probe B folgendermaßen hergestellt:

Das Dotierungsmaterial, das die allergenen Zutaten Sellerie, Senf und Sesam enthält, wurde mit Kartoffelpulver vorgemischt, zu der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Vor der Verwendung wurde die Allergenvormischung mittels Zentrifugalmühle (mesh 250 µm) gesiebt.

Die Proben A und B wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 25 g in Kunststoff-Flaschen mit Schraubdeckel abgefüllt und im kochenden Wasserbad für 1 h auf  $\geq 95^{\circ}\text{C}$  erhitzt.

Die Dotierungsniveauprobe wurde mit den allergenen Zutaten Sellerie, Senf und Sesam (Allergenvormischung, gesiebt s.o.) unter mehrstufiger Zugabe von Kartoffelpulver (gesiebt, mesh 500 µm) und Homogenisierung hergestellt. Anschließend wurde zu Portionen von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Die Zusammensetzung der LVU-Proben und der Dotierungsniveauprobe ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Wurstbrät Zutaten: Hackfleisch (Rind/Schwein) 75%, Wasser 13% / Eis 12%, Salz 0,34%, Natriumcitrat 0,38%	100 g/100g	93,3 g/100 g	-
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	5,73 g/100 g	99,7 g/100 g
<i>Selleriesamen:</i> - als Selleriesamenpulver* - davon 20,0% Gesamtprotein**	-	232 mg/kg 46,4 mg/kg	60,5 mg/kg 12,1 mg/kg
<i>Senf, gelb (Sinapis alba):</i> - als Senfsamenpulver* - davon 30,6% Gesamtprotein**	-	191 mg/kg 58,4 mg/kg	50,0 mg/kg 15,3 mg/kg
<i>Sesam, weiß:</i> - als Sesamsamen* - davon 23,3% Gesamtprotein**	-	181 mg/kg 42,2 mg/kg	47,4 mg/kg 11,0 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> <i>Maltodextrin, Natriumsulfat und</i> <i>Siliciumdioxid</i>	-	< 0,8 g/100 g	< 0,3 g/100 g

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

\*\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=6,25)

**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].

Da nur pulverförmige oder flüssige Proben mit der Microtracer-Analyse untersucht werden können, wurde nur die Dotierungsniveauprobe untersucht. Die Microtracer-Analyse hat eine Wahrscheinlichkeit von 52% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Es wurde ein HorRat-Wert von 1,1 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

### **Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B**

#### 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 zugeschickt. 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.

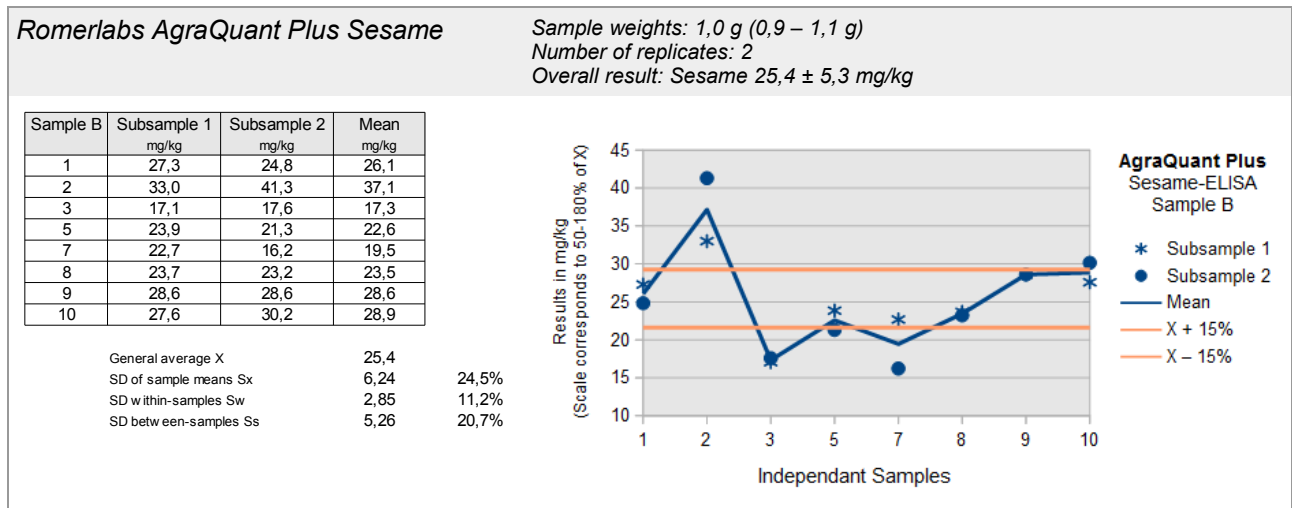
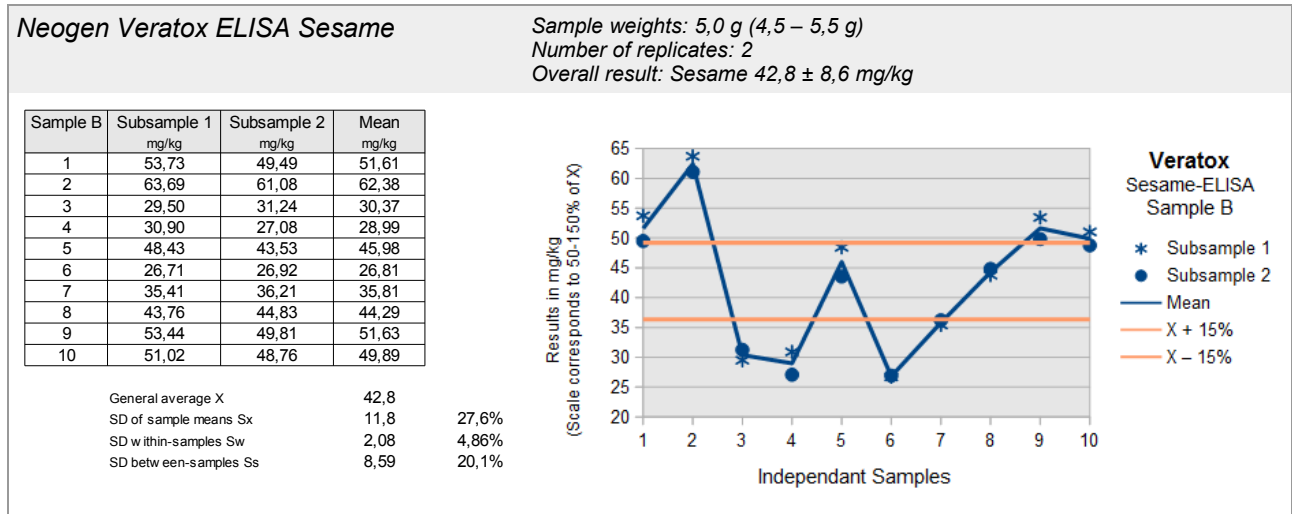
#### Bewertung der Homogenität

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 B in zwei ELISA-Tests für Sesam nicht erfüllt (Veratox, AgraQuant Plus). Die Standardabweichungen  $S_s$  lagen bei 27,6% und 24,5%. Die Standardabweichungen innerhalb der Teilproben  $S_w$  lagen demgegenüber mit 4,9% und 11% in den ELISA-Bestimmungen niedrig (s. Seite 7). 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].

Die von DLA verwendete Zielstandardabweichung für Allergen-LVUs liegt bei 25%, aufgrund der erhöhten Heterogenitätsstandardabweichung  $S_s$  erfolgte die Auswertung der Teilnehmerergebnisse für Sesam unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit (s. 3.6 und 3.8).

**ELISA-Tests: Homogenität Sesam / Homogeneity Sesame**



### 2.1.2 Stabilität

Bei dem Lebensmittelmatrix-Probenmaterial handelt es sich um Wurstbrät, das während der Herstellung für 1 h auf  $\geq 95^{\circ}\text{C}$  erhitzt wurde. Die Lagerstabilität bzw. Haltbarkeit der Proben (mikrobieller Verderb) war somit erfahrungsgemäß während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

### 2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 25. Kalenderwoche 2017 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 18. August 2017.

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

*Es handelt sich um zwei unterschiedliche Proben A und B mit möglichen Gehalten an den allergenen Parametern Sellerie, Senf und/oder Sesam im mg/kg Bereich in der Matrix Wurstbrät.*

*Eine der beiden Proben sowie die "Dotierungsniveauprobe" wurden mit den allergenen Zutaten hergestellt. Die "Dotierungsniveauprobe" enthält die Allergene in einfacher Matrix mit ähnlichen Gehalten ohne weitere Prozessierung. Die Dotierungsniveauprobe soll wie eine normale Probe untersucht werden.*

**Die Gesamtmenge der Proben A und B ist vor der Analyse zu homogenisieren, da sich bei der Wurstbrätherstellung Fett und Wasser absetzen können.**

**Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung.**

(siehe Dokumentation unter Punkt 5.3 EP-Informationen)

### 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 Angabe der quantitativen Ergebnisse von DLA durch Nachfragen per eMail abgesichert.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, 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 30 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis fristgerecht 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 Dotierungsniveauprobe 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 Vergleichstandardabweichung  $\sigma_R$  abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichstandardabweichung  $\sigma_R$  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 mg/kg Bereich nur in Ausnahmefällen erreicht.

#### 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

Aus der Vergleichstandardabweichung  $\sigma_R$  und der Wiederholstandardabweichung  $\sigma_r$  eines Versuchs zur Präzision einer Methode (Ringversuch oder LVU) kann unter Berücksichtigung der Anzahl der Wiederholmessungen  $m$  der Teilnehmer in der vorliegenden Vergleichsuntersuchung die Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  abgeleitet werden [3]:

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

Die in Tabelle 2a (ELISA) und Tabelle 2b (PCR) angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_r$ ) und relativen Vergleichstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) 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 Vergleichstandardabweichung  $\sigma_R$  gleich der Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$ .

**Tabelle 2a:** ELISA-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_r$ ) und relative Vergleichstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  [28-29]

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. 2a und 2b).

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 Vergleichstandardabweichungen 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 Vergleichstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

**Tabelle 2b:** PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_r$ ) und relative Vergleichstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  [30-34]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob $RSD_r$	$RSD_r$	$RSD_R$	$\sigma_{pt}$	Methode / Literatur
Sellerie-samen	Brühwurst (100°C, 60min)	98,1	98,1 %	-	12,6%	20,7%	18,7%	rt-PCR ASU 08.00-65
		45,5	114 %	-	27,9%	34,7%	28,5%	
Sellerie-samen	Wurst, autoklaviert	10,5	10,5 %	-	25,8%	39,4%	34,9%	rt-PCR ASU 08.00-65
Senf, braun / schwarz	Wurst, autoklaviert	146,7	147 %	-	12,3%	22,0%	20,2%	rt-PCR ASU 08.00-64
		50,0	125 %	-	17,2%	31,6%	29,2%	
		15,8	158 %	-	15,4%	27,1%	24,8%	
Senf, braun / schwarz	Wurst, autoklaviert	168,3	168 %	-	11,4%	31,6%	29,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
		52,9	132 %	-	10,0%	23,1%	21,9%	
		17,6	176 %	-	23,1%	46,3%	43,3%	
Senf, weiß	Brühwurst (100°C, 60min)	79,9	80 %	-	13,6%	23,6%	21,6%	rt-PCR ASU 08.00-59
		37,0	93 %	-	15,7%	29,2%	27,0%	
		18,0	90 %	-	14,4%	30,6%	28,9%	
		8,0	80 %	-	15,4%	26,1%	23,7%	
Senf, weiß	Brühwurst (100°C, 60 min)	103,3	103 %	-	11,8%	17,1%	14,9%	rt-PCR ASU 08.00-65
		45,9	115 %	-	14,7%	21,8%	19,2%	
Senf, weiß	Wurst, autoklaviert	11,7	11,7 %	-	24,1%	34,3%	29,8%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sesam	Reiskekse	94,6	95 %	-	22,5%	27,5%	22,4%	rt-PCR ASU 18.00-19
		15,7	79 %	-	26,0%	39,5%	35,0%	
		9,8	98 %	-	20,9%	33,5%	30,0%	
Sesam	Weizenkekse Soßenpulver	96,9	79 %	-	21,8%	33,0%	29,2%	rt-PCR ASU 18.00-19
		59,8	60 %	-	22,2%	43,2%	40,2%	
Sesam	Reiskekse	88,9	89 %	-	18,2%	30,5%	27,7%	rt-PCR ASU 18.00-22
		17,8	89 %	-	34,2%	37,8%	29,1%	
		9,8	98 %	-	26,2%	37,0%	32,0%	
Sesam	Weizenkekse Soßenpulver	115	93 %	-	16,7%	41,1%	39,4%	rt-PCR ASU 18.00-22
		58,5	59 %	-	30,8%	44,4%	38,7%	

### 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 3 und 4 angegeben.

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [16-22]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichstandard- 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 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [16]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichstandard- 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 Dotierungsniveauprobe 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

### Zusammenfassung der Ergebnisse im Überblick:

*Der Nachweis und die Bestimmung der Allergene Sellerie, Senf und Sesam in der vorliegenden LVU-Probenmatrix Brühwurst (erhitzt  $\geq 95^{\circ}\text{C}$ , 1 h) sowie der Dotierungsniveauprobe (keine weitere Prozessierung) mittels ELISA- und PCR-Methoden lässt sich folgendermaßen zusammenfassen:*

- *ELISA-Methoden wurden für die Bestimmung von Senf und Sesam eingesetzt.*
- *Senf mit einem Gehalt von ca. 190 mg/kg in der Wurstbrät-Probe B war mittels ELISA von 81% der Teilnehmer nicht nachweisbar. Die wenigen positiven Ergebnisse lagen mit einer bzw. zwei Ausnahmen unterhalb der Bestimmungsgrenzen der Tests.*
- *In der Dotierungsniveauprobe wurde Senf demgegenüber mit allen ELISA-Methoden, außer einer Methode mit einem Einzelergebnis, mit Wiederfindungsraten von über 100% (max. 250%) erfasst.*
- *Sesam mit einem Gehalt von ca. 180 mg/kg in der Wurstbrät-Probe B war mit 3 der eingesetzten ELISA-Methoden nachweisbar und quantitativ messbar (und 2 Methoden mit je einem Einzelergebnis). Mit zwei weiteren ELISA-Methoden konnte Sesam nicht nachgewiesen werden. Die Höhe der quantitativen Ergebnisse war stark methodenabhängig. Die Wiederfindungsraten lagen mit einer Ausnahme alle unter 50% (1-54%).*
- *In der Dotierungsniveauprobe wurde Sesam mit allen ELISA-Methoden erfasst. Die methodenabhängige Höhe der quantitativen Ergebnissen wurde hier ebenfalls bestätigt. So lag der robuste Mittelwert bei ca. 5,8 mg/kg für eine Methode und für eine andere bei 160 mg/kg, entsprechend Wiederfindungsraten von 12% bzw. 340%.*
- *PCR-Methoden wurden für den Nachweis von Sellerie, Senf und Sesam eingesetzt.*
- *Für alle drei Allergene wurden in der Wurstbrät-Probe B mittels PCR zu 95% bis 100% qualitativ positive Ergebnisse erhalten. Die wenigen vorliegenden quantitativen Ergebnisse wiesen jeweils eine große Streuung auf. Im Fall von Senf und Sesam sowohl für Probe B als auch für die Dotierungsniveauprobe. Eine statistische Auswertung wurde daher nur für Sellerie in der Dotierungsniveauprobe vorgenommen. Die Wiederfindungsrate lag hier bei 28%.*

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 Proben A und B (qualitativ und ggf. quantitativ) und danach für die Dotierungsniveauprobe angegeben. Die Wiederfindungsraten der Ergebnisse für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe A oder B werden anschließend 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 ELISA-Ergebnisse, die als **Senf-** oder **Sesamprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der betreffenden Rohstoffe auf das Gesamtlebensmittel (Senfsamen, Sesamsamen) umgerechnet worden (Gesamtproteingehalte s. S. 5).

In der vorliegenden LVU wurden die anderen Ergebnisse einheitlich als Sellerie (Samen) angegeben, sodass keine weiteren 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 Dotierungsniveauprobe und dotierter Probe. Die Anzahl der Ergebnisse im Akzeptanzbereich von 50-150% wird aufsummiert.

## **4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie**

### ***4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)***

Anmerkung:

*Es wurden keine ELISA-Bestimmungen von den Teilnehmern durchgeführt.*

#### 4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

##### 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		
7	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
12	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
8b	negativ		positiv		2/2 (100%)	MS	
26	negativ		positiv		2/2 (100%)	MS	
30a	negativ	-	positiv	-	2/2 (100%)	SFA-4p	
3	negativ	<1	positiv	121	2/2 (100%)	SFA-ID	
8a	negativ		positiv	61,0	2/2 (100%)	SFA-ID	
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
14	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
20	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
25	negativ	<0.4	positiv	>0.4	2/2 (100%)	SFA-ID	
27a	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
18	negativ	<0,4	positiv	20,3	2/2 (100%)	SFA-Q	
27b	negativ	< 1,0	positiv	5,78	2/2 (100%)	SFA-Q	
30b	negativ	-	positiv	5,00	2/2 (100%)	SFA-Q	
6	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	
13	negativ	-	positiv	55,0	2/2 (100%)	div	
19	negativ	n.n.	positiv	130	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	19
Anzahl negativ	20	1
Prozent positiv	0	95
Prozent negativ	100	5
Konsenswert	negativ	positiv

##### Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

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

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

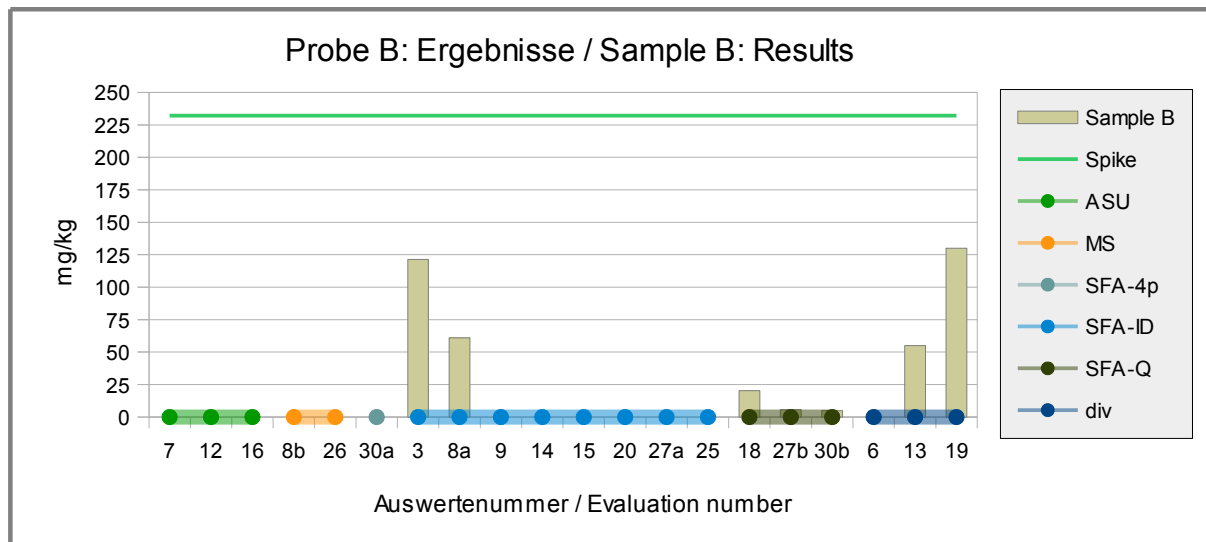
div = keine genaue Angabe / andere Methode

##### Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B. Ein negatives Ergebnis für Probe B wurde mit einer nicht genau angegebenen Methode erhalten.

**Quantitative Auswertung PCR: Probe B**Anmerkung:

Aufgrund der hohen Streuung und der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte keine statistische Auswertung.



**Abb./Fig. 1:** PCR-Ergebnisse Sellerie  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Sellerie [mg/kg]	z-Score X <sub>pt,ALL</sub>	Methode	Hinweis
7			ASU	
12			ASU	
16			ASU	
8b			MS	
26			MS	
30a	-		SFA-4p	
3	119		SFA-ID	Ausreißer X <sub>all</sub> , ausgeschlossen
8a	24,0	1,7	SFA-ID	
9			SFA-ID	
14			SFA-ID	
15			SFA-ID	
20			SFA-ID	
25	>0.4		SFA-ID	
27a			SFA-ID	
18	12,9	-1,0	SFA-Q	
27b	14,5	-0,6	SFA-Q	
30b	13,2	-0,9	SFA-Q	
6			div	
13	20,0	0,7	div	
19			div	

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

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:**

Aufgrund von &lt;8 Einzelergebnissen erfolgte keine Kerndichte-Schätzung.



**Kenndaten: Quantitative Auswertung PCR Sellerie****Dotierungsniveauprobe**

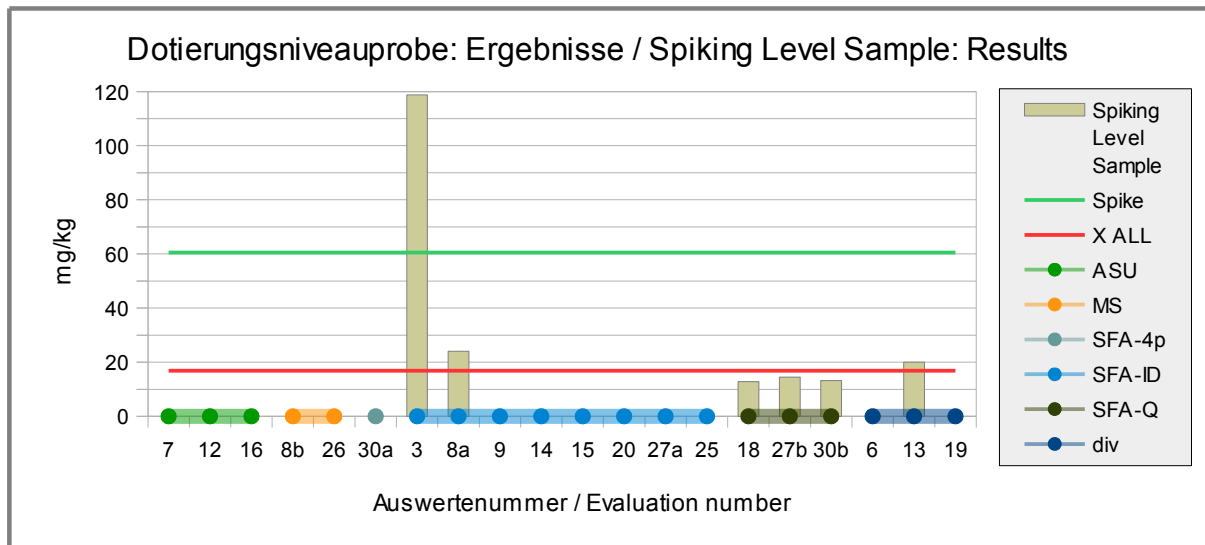
<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL}$
Anzahl der Messergebnisse	5 *
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	16,9
Median	14,5
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>16,9</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>5,55</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>4,23</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>8,46</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>25,4</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,3
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	3,10
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,73
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	100

\* Ergebnis Auswertenr. 3 vorab ausgeschlossen

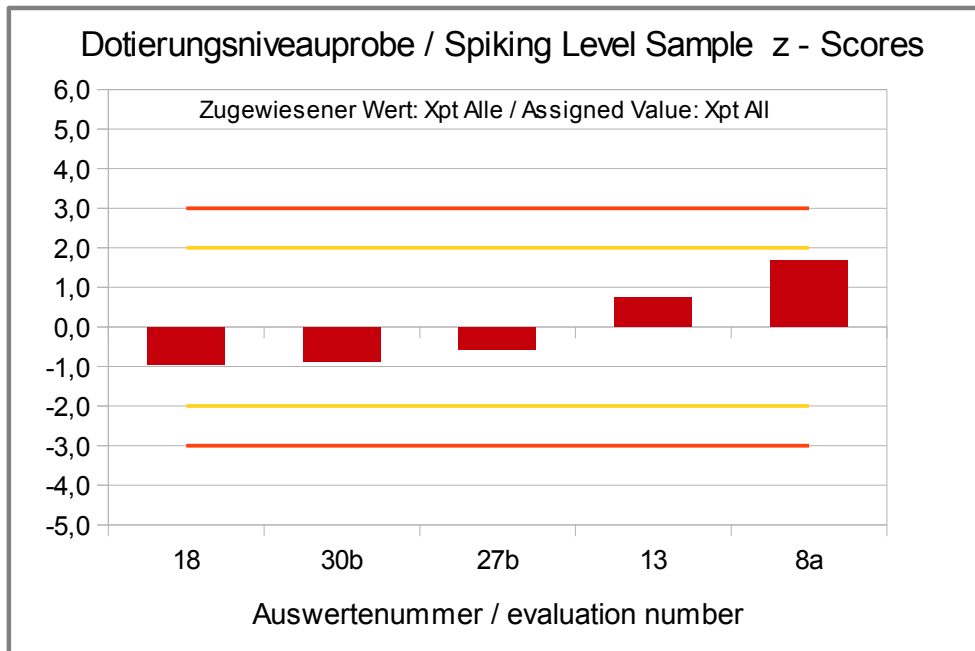
**Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:**

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigt eine normale Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  liegt bei 1,3. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichstandardabweichung 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. Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen ist die statistische Aussagekraft jedoch nur eingeschränkt gültig.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 28% vom Zusatzniveau von Sellerie zur Dotierungsniveauprobe unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sellerie").



**Abb./Fig. 2:** PCR-Ergebnisse Sellerie  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 3:**  
 z-Scores (PCR-Ergebnisse Sellerie)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

**Wiederfindungsraten PCR für Sellerie:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
7					ASU	
12					ASU	
16					ASU	
8b					MS	
26					MS	
30a	-		-		SFA-4p	
3	119	196	121	52	SFA-ID	
8a	24,0	40	61,0	26	SFA-ID	
9					SFA-ID	
14					SFA-ID	
15					SFA-ID	
20					SFA-ID	
25	>0.4		>0.4		SFA-ID	
27a					SFA-ID	
18	12,9	21	20,3	8,7	SFA-Q	
27b	14,5	24	5,78	2,5	SFA-Q	
30b	13,2	22	5,00	2,2	SFA-Q	
6					div	
13	20,0	33	55,0	24	div	
19			130	56	div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	2
Prozent im AB	0	Prozent im AB	29

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

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:

Für die Dotierungsniveauprobe wurde mittels PCR keine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 29% (2) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Senf

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Senf (*Sinapis alba*)

#### 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		
6	negativ	<2	negativ	<2	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	<1	negativ	<1	2/2 (100%)	AQ	
28	negativ	<2,0	negativ	<2,0	2/2 (100%)	AQ	
23	negativ	<2	negativ	<2	2/2 (100%)	BC	
25	negativ	<3,27	negativ	<3,27	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
1	negativ	<1	positiv	2,02	1/2 (50%)	IL	
4	negativ		positiv	<0,5	1/2 (50%)	NL	
2	negativ		negativ		2/2 (100%)	RS-F	
3	negativ	<0,5	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-F	
7	positiv	2,21	negativ	<0,5	1/2 (50%)	RS-F	Proben verwechselt?
9	negativ		negativ		2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	-	positiv	<0,5	1/2 (50%)	RS-F	
16	negativ		positiv		1/2 (50%)	RS-F	
17	negativ	<0,5	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-F	
19	negativ	<0,5	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-F	
22	negativ	<0,5	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-F	
27	negativ	<0,5	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-F	
10	negativ		negativ		2/2 (100%)	VT	
11	negativ	<8,17	negativ	<8,17	2/2 (100%)	VT	
21	negativ		negativ		2/2 (100%)	VT	
29	negativ	<2,5	negativ	<2,5	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	1		4	
Anzahl negativ	20		17	
Prozent positiv	5		19	
Prozent negativ	95		81	
Konsenswert	negativ		negativ	

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BC = BioCheck ELISA  
 ES = ELISA-Systems  
 IL = Immunolab  
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 VT = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen nicht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B, für die nur 4 positive Ergebnisse erhalten wurden (Methoden IL, NL und RS-F). Es wurde ein positives Ergebnis für Probe A angegeben, wobei gleichzeitig Probe B als negativ bewertet wurde.

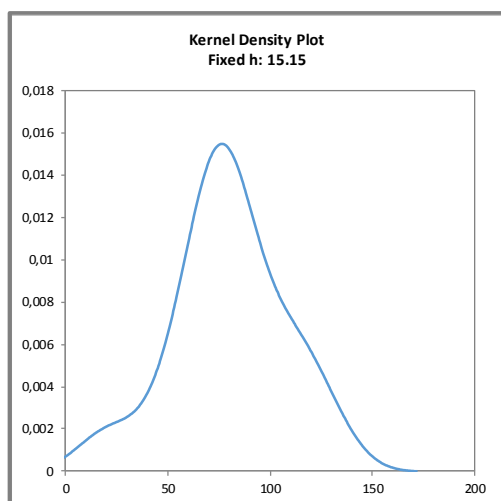
#### Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Die grafische Darstellung und die Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil nur ein quantitatives Ergebnis vorlag.

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Senf	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{RS-F}}$	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
6	127	2,3		AQ	
18	>60			AQ	
28	85,6	0,24		AQ	
23	111	1,5		BC	
25	52,3	-1,4		ES	Ergebnis umgerechnet °
1	95,1	0,71		IL	
4	20,8	-3,0		NL	
2				RS-F	
3	75,6	-0,25	0,03	RS-F	
7	76,3	-0,22	0,07	RS-F	
9				RS-F	
13	60,0	-1,0	-0,80	RS-F	
16				RS-F	
17	>13,5			RS-F	
19	78,0	-0,13	0,16	RS-F	
22	76,0	-0,23	0,05	RS-F	
27	73,5	-0,36	-0,08	RS-F	
10	112	1,6		VT	
11				VT	
21				VT	
29	73,3	-0,37		VT	

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BC = BioCheck ELISA  
 ES = ELISA-Systems  
 IL = Immunolab  
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 VT = Veratox, Neogen

**Abb. / Fig. 4:**

Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{pt_{ALL}}$ )

Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{pt_{ALL}}$ )

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine Normalverteilung der Ergebnisse mit je einer Schulter bei unter 50 mg/kg und über 100 mg/kg, die auf Einzelergebnisse verschiedener Methoden zurückgehen.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Senf****Dotierungsniveauprobe**

<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	14	6
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	79,7	73,2
Median	76,1	75,8
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>80,7</b>	<b>75,0</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>25,1</b>	<b>2,89</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>20,2</b>	<b>18,80</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>40,4</b>	<b>37,5</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>121,0</b>	<b>113,0</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	<i>1,2</i>	<i>0,15</i>
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	<i>8,38</i>	<i>1,47</i>
<i>Quotient <math>U(X_{pt})/\sigma_{pt}</math></i>	<i>0,42</i>	<i>0,08</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>12</i>	<i>6</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>86</i>	<i>100</i>

**Methoden:**

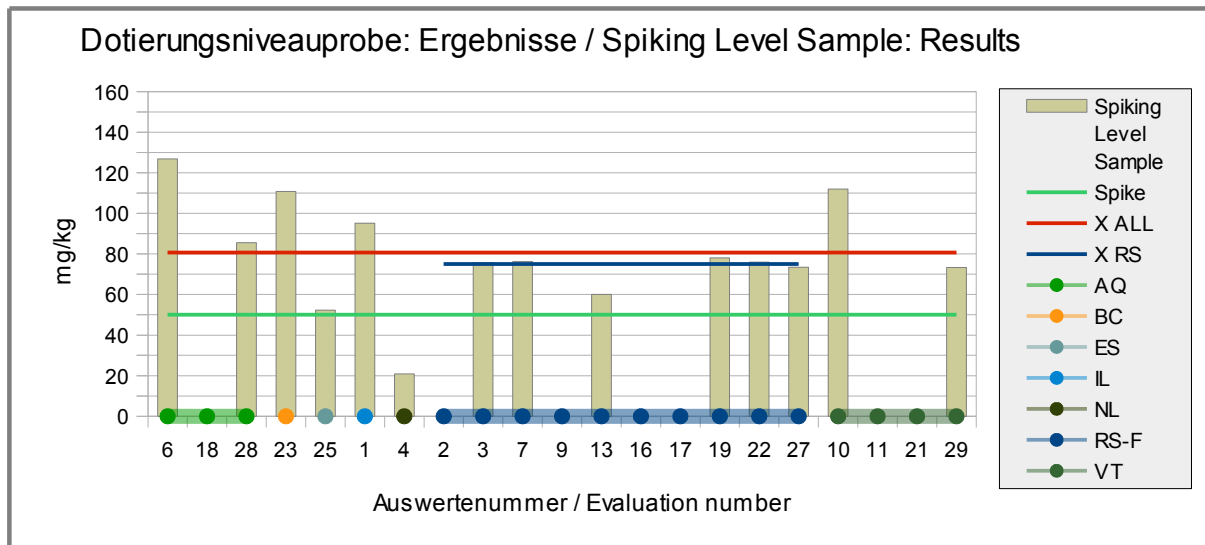
RS-F= R-Biopharm, Ridascreen® FAST

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

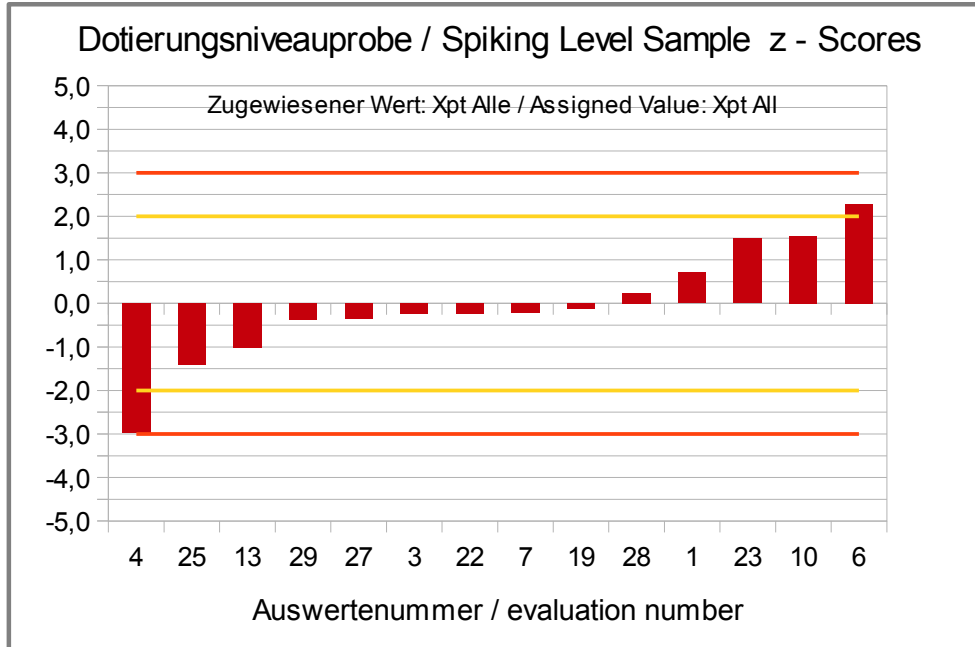
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden sowie für Methode RS-F zeigten jeweils eine normale Variabilität. Die Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  lagen deutlich unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichstandardabweichung 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.

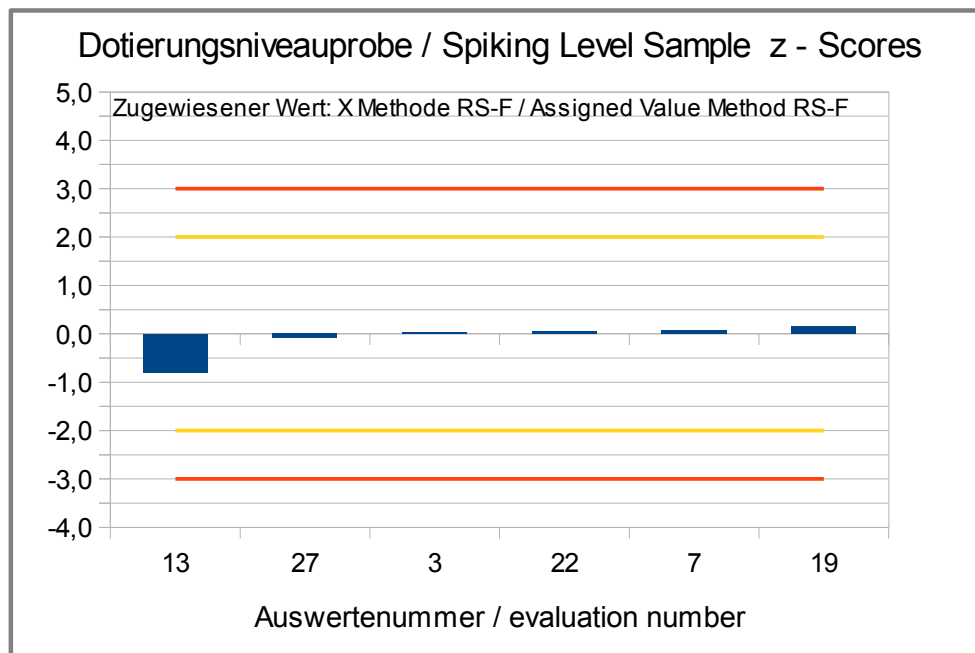
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 161% bzw. 150% vom Zusatzniveau von Senf zur Dotierungsniveauprobe etwas oberhalb bzw. an der Obergrenze der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Senf").



**Abb./Fig. 5:** ELISA-Ergebnisse Senf  
 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. 6:**  
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 7:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf)

Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)



**Wiederfindungsraten ELISA für Senf:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
6	127	254	<2		AQ	
18	>60		<1		AQ	
28	85,6	171	<2,0		AQ	
23	111	222	<2		BC	
25	52,3	<b>105</b>	<3,27		ES	Ergebnis umgerechnet °
1	95,1	190	2,02	1,1	IL	
4	20,8	42	<0,5		NL	
2					RS-F	
3	75,6	151	<0,5		RS-F	
7	76,3	153	<0,5		RS-F	
9					RS-F	
13	60,0	<b>120</b>	<0,5		RS-F	
16					RS-F	
17	>13,5		<0,5		RS-F	
19	78,0	156	<0,5		RS-F	
22	76,0	152	<0,5		RS-F	
27	73,5	<b>147</b>	<0,5		RS-F	
10	112	224			VT	
11			<8,17		VT	
21					VT	
29	73,3	<b>147</b>	<2,5		VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>4</b>	Anzahl im AB	<b>0</b>
Prozent im AB	<b>29</b>	Prozent im AB	<b>0</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

NL = nutrilinia® Allergen-ELISA

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

29% (4) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lag nur ein quantitatives Ergebnis mit sehr niedriger Wiederfindungsrate von ca. 1% vor.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Senf (*Sinapis alba*)

## 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		
8b	negativ		positiv		2/2 (100%)	MS	
30a	negativ	-	positiv	-	2/2 (100%)	SFA-4p	
3	negativ	<1	positiv	82,9	2/2 (100%)	SFA-ID	
8a	negativ		positiv	204	2/2 (100%)	SFA-ID	
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
14	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
25	negativ	<0,4	positiv	>0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	
27	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
12	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
13	negativ	-	positiv	65,0	2/2 (100%)	div	
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
19	negativ	n.n.	positiv	230	2/2 (100%)	div	
26	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
30b	negativ	-	positiv	3,90	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	15
Anzahl negativ	15	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

**Methoden:**

MS = Microsynth

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

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

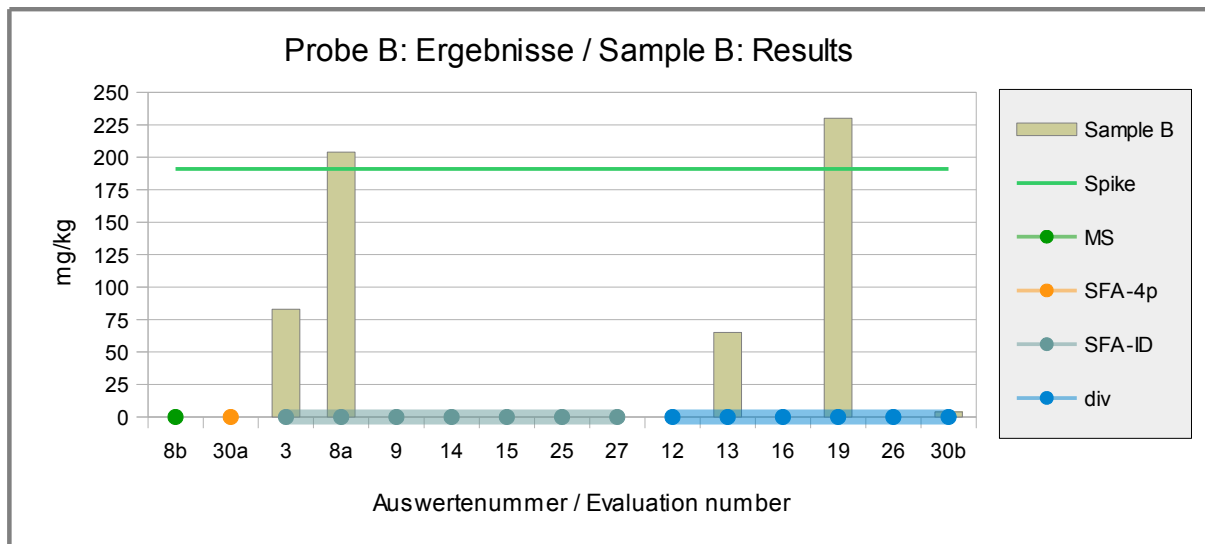
div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung PCR: Probe B**Anmerkung:

Aufgrund der hohen Streuung und der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte keine statistische Auswertung.

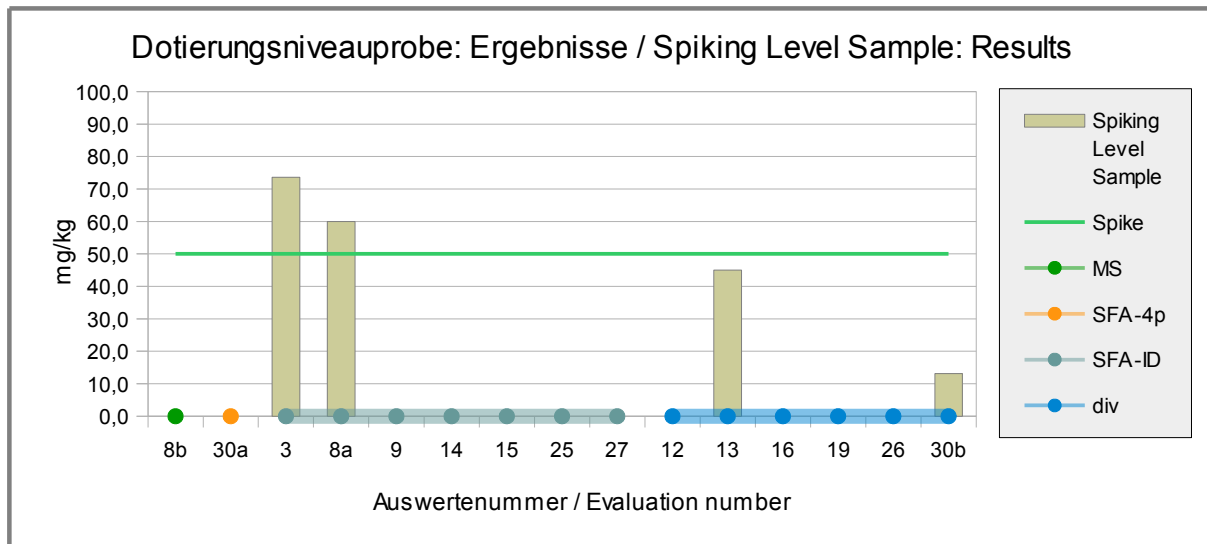
**Abb./Fig. 8:** PCR-Ergebnisse Senf

grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe****Anmerkung:**

Aufgrund der hohen Streuung und der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte keine statistische Auswertung.



**Abb./Fig. 9:** PCR-Ergebnisse Senf

grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten PCR für Senf:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
8b					MS	
30a	-		-		SFA-4p	
3	73,7	147	82,9	43	SFA-ID	
8a	60,0	120	204	107	SFA-ID	
9					SFA-ID	
14					SFA-ID	
15					SFA-ID	
25	>0,4		>0,4		SFA-ID	
27					SFA-ID	
12					div	
13	45,0	90	65,0	34	div	
16					div	
19			230	120	div	
26					div	
30b	13,1	26	3,90	2,0	div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	3	Anzahl im AB	2
Prozent im AB	75	Prozent im AB	40

**Methoden:**

MS = Microsynth

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

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

Anmerkung:

3 von 5 (75%) Teilnehmern haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 2 von 5 (40%) Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

### 4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam

#### 4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam

#### 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]			
6	negativ	<2	negativ	<2	1/2 (50%)	AQ	
18	negativ	<0,2	positiv	1,20	2/2 (100%)	AQ	
23	negativ	<2	negativ	<2	1/2 (50%)	BC	
4	negativ		positiv	76,5	2/2 (100%)	BK	
10	negativ		positiv	48,5	2/2 (100%)	BK	
5	negativ	<2,16	negativ	<2,16	1/2 (50%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
9	negativ		negativ		1/2 (50%)	ES	
11	negativ	<0,5	negativ	<0,5	1/2 (50%)	ES	
17	negativ	<2,16	negativ	<2,16	1/2 (50%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
21	negativ		negativ		1/2 (50%)	ES	
25	negativ	<2,16	negativ	<2,16	1/2 (50%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
28	negativ	<2,16	negativ	<2,16	1/2 (50%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
29	negativ	<2,16	negativ	<2,16	1/2 (50%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
1	negativ	<0,2	positiv	3,78	2/2 (100%)	IL	
2	negativ		positiv	10,3	2/2 (100%)	RS-F	
3	negativ	<2,5	positiv	19,1	2/2 (100%)	RS-F	Ausreißer XR-F
7	negativ	<2,5	positiv	7,76	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	-	positiv	10,0	2/2 (100%)	RS-F	
19	negativ		positiv	10,0	2/2 (100%)	RS-F	
22	negativ	<2,5	positiv	8,50	2/2 (100%)	RS-F	
11	negativ	<2,5	positiv	98,0	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °, Ausreißer X <sub>ab</sub>
24	negativ	<6,25	positiv	38,0	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	12
Anzahl negativ	22	10
Prozent positiv	0	55
Prozent negativ	100	45
Konsenswert	negativ	keiner*

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BC = BioCheck ELISA  
 ES = ELISA-Systeme  
 IL = Immunolab  
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA  
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 VT = Veratox, Neogen

\* Die qualitative Bewertung erfolgte anhand der Dotierung, da kein Konsenswert für verschiedene Methoden ermittelt werden konnte

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit Probe A. Für die dotierte Probe B wurden positive Ergebnisse mit den Methoden BK, IL, RS-F und VT erhalten. Für Methode AQ lag je ein positives und ein negatives Ergebnis vor.

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	Sesam [mg/kg]	z'-Score X <sub>pt</sub> ALL	z'-Score X <sub>pt</sub> RS-F	Methode	Hinweis
6	<2			AQ	
18	1,20			AQ	
23	<2			BC	
4	76,5			BK	
10	48,5			BK	
5	<2,16			ES	Ergebnis umgerechnet °
9				ES	
11	<0,5			ES	
17	<2,16			ES	Ergebnis umgerechnet °
21				ES	
25	<2,16			ES	Ergebnis umgerechnet °
28	<2,16			ES	Ergebnis umgerechnet °
29	<2,16			ES	Ergebnis umgerechnet °
1	3,78			IL	
2	10,3		0,15	RS-F	
3	19,1		3,4	RS-F	Ausreißer X <sub>R-F</sub>
7	7,76		-0,80	RS-F	
13	10,0		0,03	RS-F	
19	10,0		0,03	RS-F	
22	8,50		-0,53	RS-F	
11	98,0			VT	
24	38,0			VT	

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

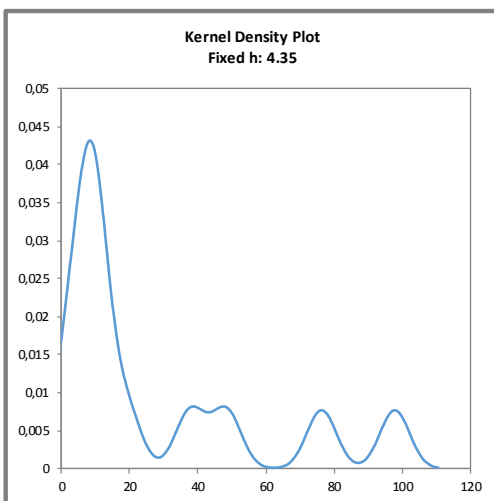
ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

NL = nutrilinia® Allergen-ELISA

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

**Abb. / Fig. 10:**Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{pt}ALL$ )Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{pt}ALL$ )**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt einen Hauptpeak bei ca. 10 mg/kg, der auf die Methode RS-F zurückgeht. Weitere Nebenpeaks gehen auf andere Methoden zurück, für die jeweils nur wenige Ergebnisse vorliegen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Sesam

**Probe B**

<b>Kenndaten</b>	<b>Methode RS-F</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}$ <small>METHOD RS-F</small>
Anzahl der Messergebnisse	6
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	10,9
Median	10,0
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>9,91</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>2,01</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}'</math></b>	<b>2,68</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>4,55</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>15,3</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}'$	0,75
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,03
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}'$	0,38
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	83

**Methode:**

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

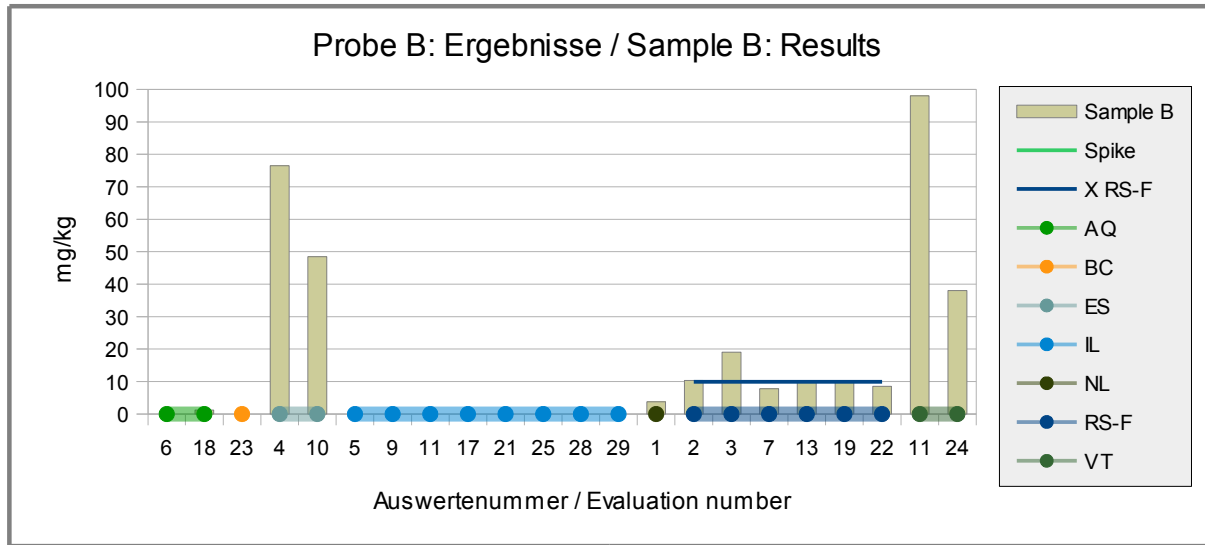
Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte klar methodenabhängige Unterschiede, daher wurde keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen.

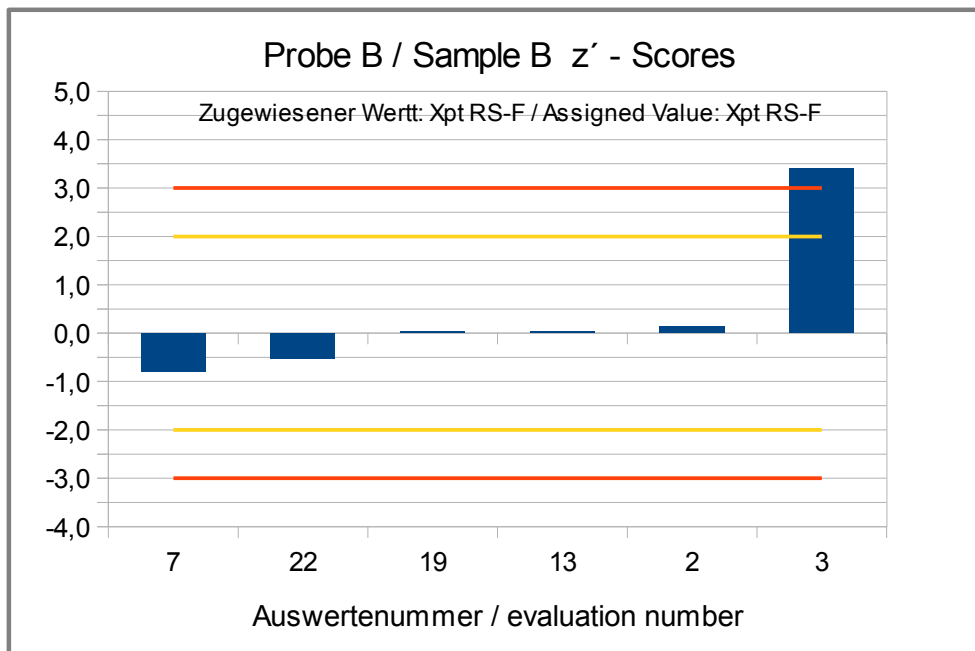
Die Auswertung der Ergebnisse von Methode RS-F zeigte eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Aufgrund der zuvor festgestellten Höhe der Heterogenitätsstandardabweichung  $S_s$  von >15% (vgl. 2.1.1 Homogenität) wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit die Zielstandardabweichung erweitert und mittels z'-Score ausgewertet (s. 3.6 und 3.8).

Der robuste Mittelwert der Auswertung von Methode RS-F lag mit 5,5% vom Zusatzniveau von Sesam zu Probe B deutlich unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sesam").





**Abb./Fig. 11:** ELISA-Ergebnisse Sesam  
 (Zusatzniveau (Spike) mit 181 mg/kg nicht dargestellt)  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 12:** z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)  
 Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe****Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung (Abb. 13) und die Darstellung der Ergebnisse (Abb. 14) zeigen eine deutliche methodenabhängige Verteilung der Ergebnisse, sodass keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen wurde.

Die statistische Auswertung erfolgte daher nur für Methoden mit  $\geq 5$  Einzelergebnissen (ES, RS-F).

Auswertenummer	Sesam	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z-Score Xpt <sub>ES</sub>	z-Score Xpt <sub>RS-F</sub>	Methode	Hinweis
	[mg/kg]					
6	39,8				AQ	
18	60,0				AQ	
23	34,6				BC	
4	330				BK	
10	198				BK	
5	7,07		0,90		ES	Ergebnis umgerechnet °
9					ES	
11					ES	
17	5,60		-0,12		ES	Ergebnis umgerechnet °
21					ES	
25	8,19		1,7		ES	Ergebnis umgerechnet °
28	3,23		-1,8		ES	Ergebnis umgerechnet °
29	4,74		-0,71		ES	Ergebnis umgerechnet °
1	50,6				IL	
2					RS-F	
3	210			1,1	RS-F	
7	197			0,82	RS-F	
13	130			-0,82	RS-F	
19	140			-0,57	RS-F	
22	140			-0,57	RS-F	
11					VT	
24	349				VT	

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

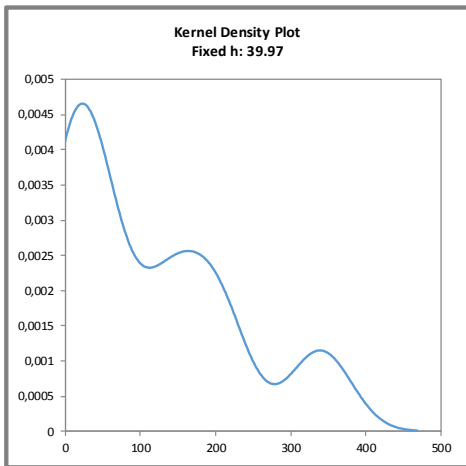
ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen



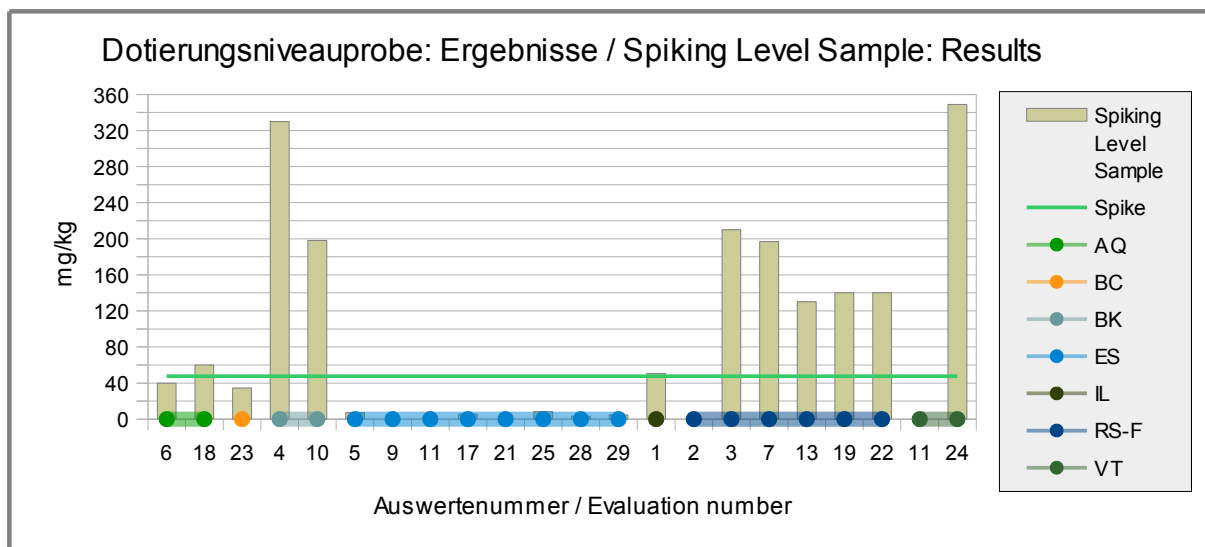
**Abb. / Fig. 13:**

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

Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{ptALL}$ )

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt einen Hauptpeak bei ca. 5-6 mg/kg (Methode ES) und einen Nebenpeak bei ca. 160 mg/kg (Methode RS-F). Diese Peaks überlagern die wenigen Ergebnisse anderer Methoden. Ein weiterer Nebenpeak bei >300 mg/kg wird durch ein Einzelergebnis verursacht (Methode VT).



**Abb./Fig. 14:**

ELISA-Ergebnisse Sesam  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Sesam****Dotierungsniveauprobe**

<b>Kenndaten</b>	<b>Methode ES</b> [mg/kg]	<b>Methode RS-F</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ES}}$	$X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$
Anzahl der Messergebnisse	5	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	5,77	163
Median	5,60	140
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>5,77</b>	<b>163</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>2,20</b>	<b>42,1</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>1,44</b>	<b>40,8</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>2,88</b>	<b>81,7</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>8,65</b>	<b>245</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,5	1,0
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,23	23,5
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,85	0,58
Ergebnisse im Zielbereich	5	5
Prozent im Zielbereich	100	100

**Methoden:**

ES= ELISA-Systems

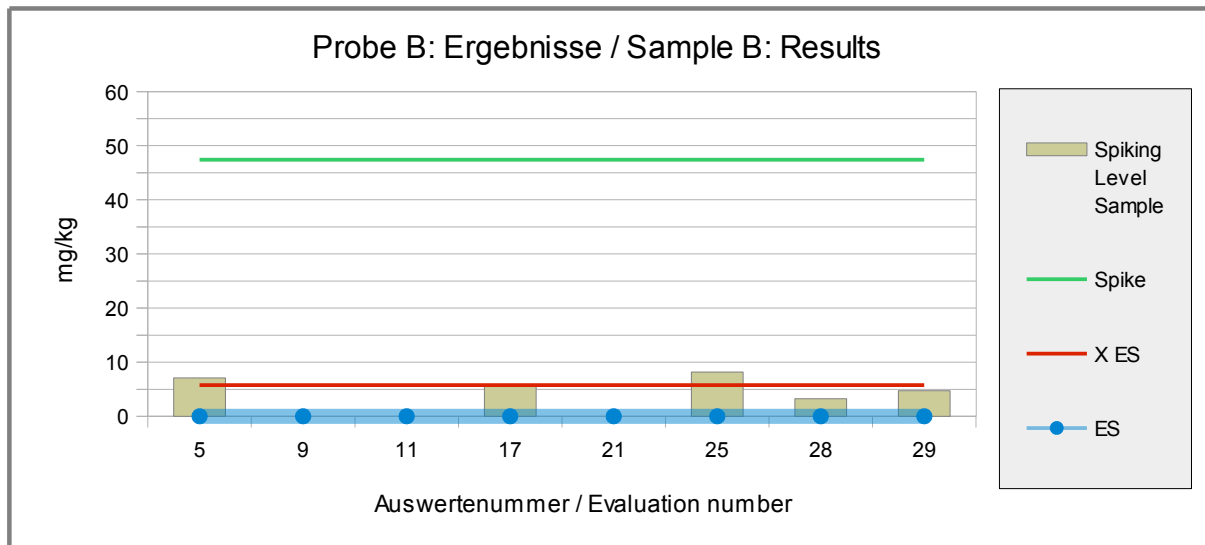
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

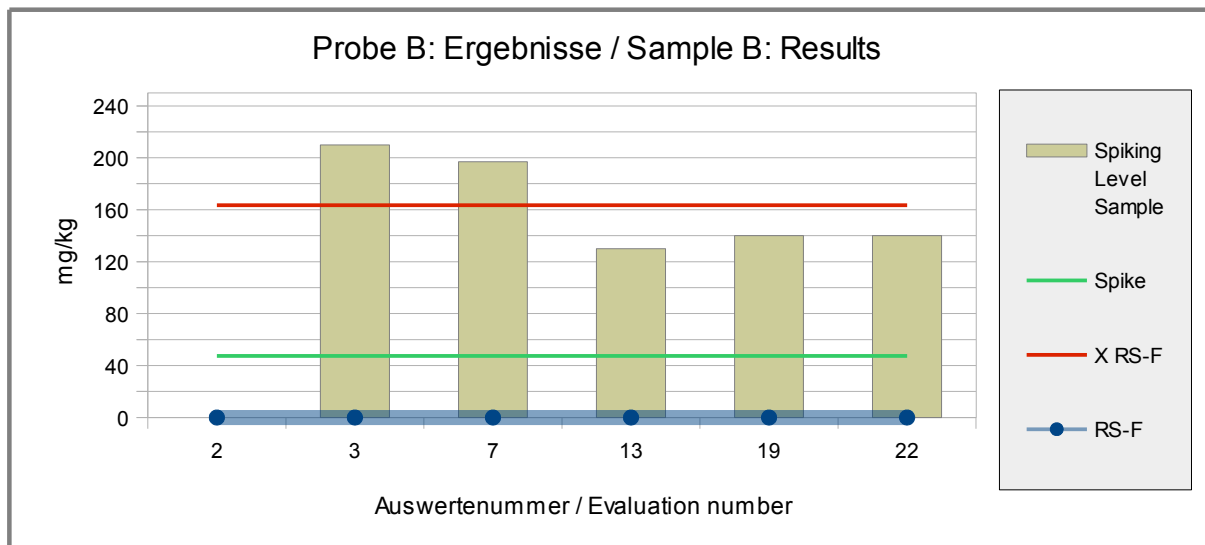
Die Kerndichte-Schätzung zeigte klar methodenabhängige Unterschiede, daher wurde keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen.

Die Verteilung der Ergebnisse für Methode ES sowie für Methode RS-F zeigten jeweils eine normale Variabilität. Die Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  lagen unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichstandardabweichung 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.

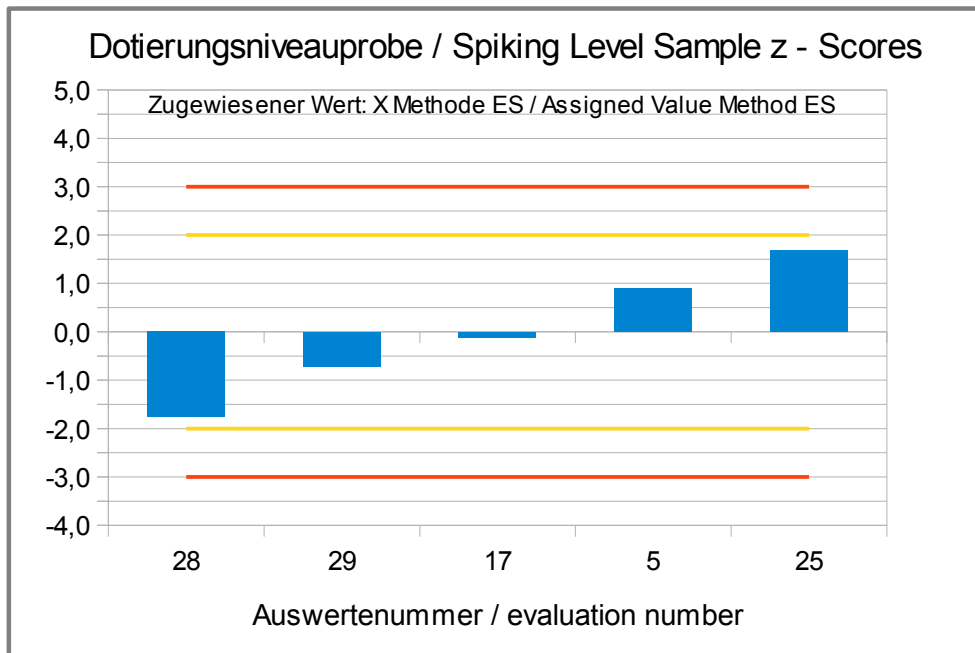
Der robuste Mittelwert für Methode ES lag mit 12% vom Zusatzniveau unterhalb und für Methode RS-F mit 341% oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sesam").



**Abb./Fig. 15:** ELISA-Ergebnisse Sesam Methode ES  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode ES  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



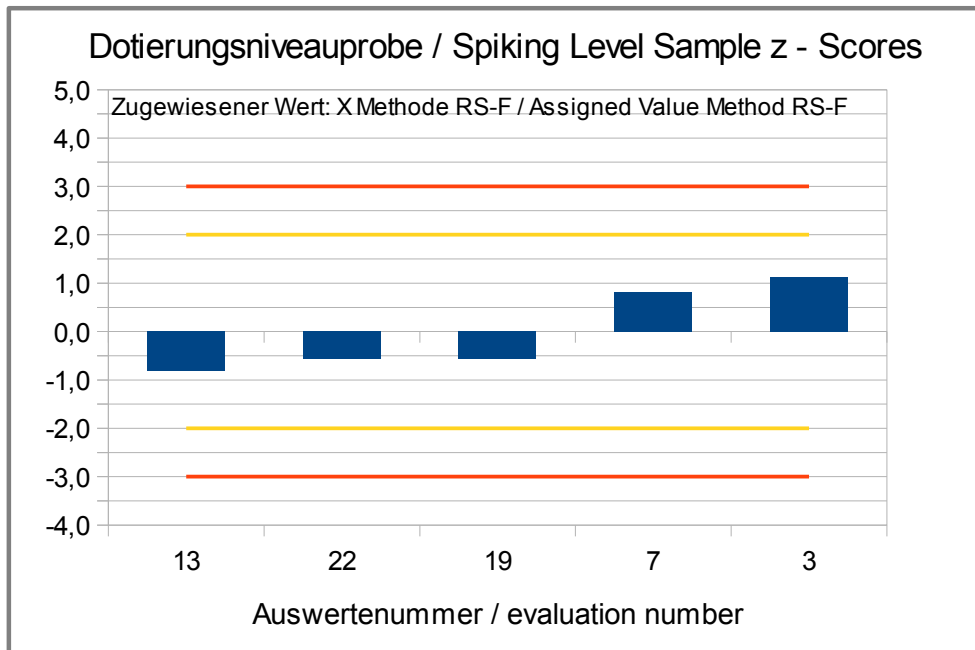
**Abb./Fig. 16:** ELISA-Ergebnisse Sesam Methode RS-F  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 17:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert für Methode ES



**Abb./Fig. 18:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert für Methode RS-F

**Wiederfindungsraten ELISA für Sesam:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
6	39,8	84	<2		AQ	
18	60,0	127	1,20	0,7	AQ	
23	34,6	73	<2		BC	
4	330	696	76,5	42	BK	
10	198	418	48,5	27	BK	
5	7,07	15	<2,16		ES	Ergebnis umgerechnet °
9					ES	
11			<0,5		ES	
17	5,60	12	<2,16		ES	Ergebnis umgerechnet °
21					ES	
25	8,19	17	<2,16		ES	Ergebnis umgerechnet °
28	3,23	7	<2,16		ES	Ergebnis umgerechnet °
29	4,74	10	<2,16		ES	Ergebnis umgerechnet °
1	50,6	107	3,78	2,1	IL	
2			10,3	5,7	RS-F	
3	210	443	19,1	11	RS-F	
7	197	416	7,76	4,3	RS-F	
13	130	274	10,0	5,5	RS-F	
19	140	295	10,0	5,5	RS-F	
22	140	295	8,50	4,7	RS-F	
11			98,0	54	VT	
24	349	736	38,0	21	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	4	Anzahl im AB	1
Prozent im AB	24	Prozent im AB	8

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

NL = nutrilinia® Allergen-ELISA

RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe haben 4 Teilnehmer mit den ELISA-Methoden AQ, BC und IL Wiederfindungsraten im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Die Wiederfindungsraten der Methode ES lagen unterhalb und die Wiederfindungsraten der Methoden BK, RS-F und VT deutlich oberhalb dieses Bereichs.

Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lag eine der Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich.

## 4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam

## 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		
8b	negativ		positiv		2/2 (100%)	MS	
26	negativ		positiv		2/2 (100%)	MS	
8a	negativ		positiv	58,5	2/2 (100%)	SFA-ID	
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
14	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
25	negativ	<0,4	positiv	>0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	
27	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
30	negativ	-	positiv	4	2/2 (100%)	SFA-Q	
7	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
12	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
13	negativ	-	positiv	145	2/2 (100%)	div	
19	negativ	n.n.	positiv	92	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	14
Anzahl negativ	14	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

**Methoden:**

MS = Microsynth

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

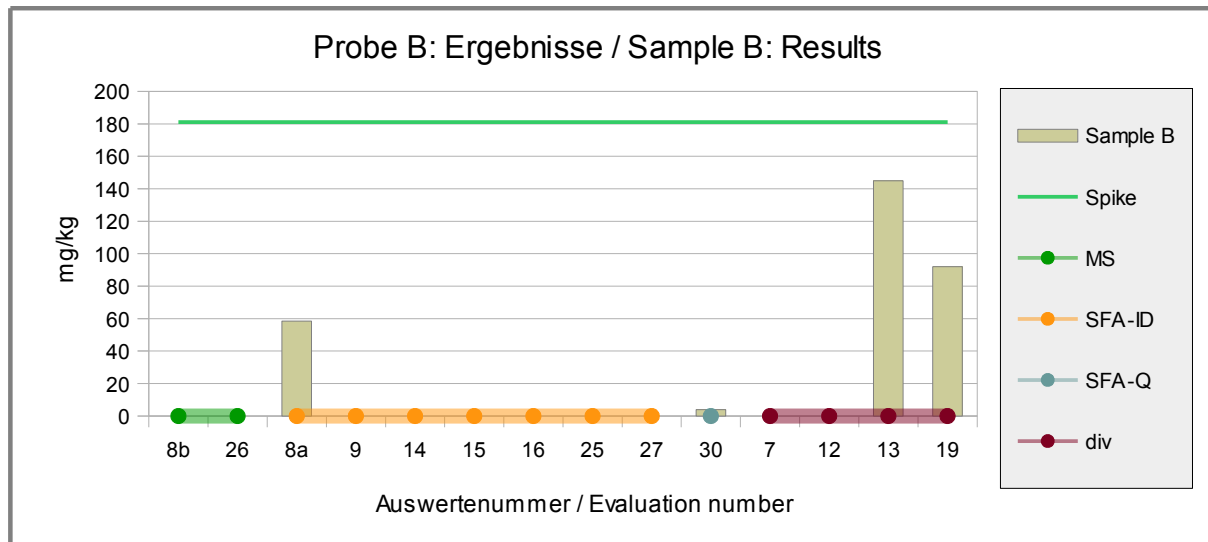
Anmerkung:

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



**Quantitative Auswertung PCR: Probe B**

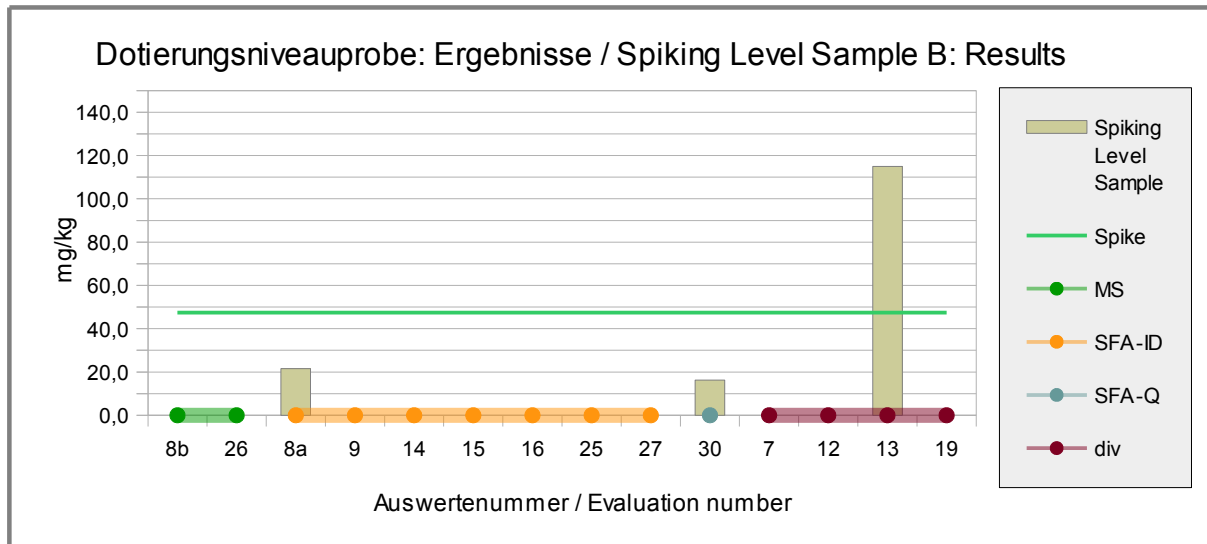
Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Ergebnisse vorlagen.



**Abb./Fig. 19:** PCR-Ergebnisse Sesam  
grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

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



**Abb./Fig. 20:** PCR-Ergebnisse Sesam  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten PCR für Sesam:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe [mg/kg]	Wiederfindungsrate* [%]	Probe B [m g/kg]	Wiederfindungsrate* [%]	Methode	Hinweis
8b					MS	
26					MS	
8a	21,5	45	58,5	32	SFA-ID	
9					SFA-ID	
14					SFA-ID	
15					SFA-ID	
16					SFA-ID	
25	>0,4		>0,4		SFA-ID	
27					SFA-ID	
30	16,2	34	4,0		SFA-Q	
7					div	
12					div	
13	115	243	145	80	div	
19			92	51	div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	2
Prozent im AB	0	Prozent im AB	67

**Methoden:**

MS = Microsynth

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: Sesam, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Keiner der Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

Für die dotierte, prozessierte Lebensmittelmatrix Probe B lagen 2 der Wiederfindungsraten innerhalb dieser Anforderungen.

## 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: Senf

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
AQ	6	26.06.17	negativ	<2	negativ	<2	positiv	126,8	Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
AQ	18	13/7-24/7/17	negativ	<1	negativ	<1	positiv	>60	Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
AQ	28	26/06	negativ	<2.0	negativ	<2.0	positiv	85,6	Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
BC	23	03.07.17	negativ	<2	negativ	<2	-	110,8	Senf	BioCheck ELISA Mustard-Check
ES	25		negativ	<1	negativ	<1	positiv	16	Senfprotein	ELISA Systems Mustard ESMUS-48
IL	1	27.06.17	negativ	<1	positiv	2,02	positiv	95,1	Senf	Immunolab Mustard ELISA
NL	4		negativ		positiv	<0,5	positiv	20,8	Senf	andere: Romer Labs NutriLinia NC-6008
RS-F	2	11.07.17	negativ		negativ		positiv		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	3	16.08.17	negativ	<0.5	negativ	<0.5	positiv	75,64	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	7	05.07.17	positiv	2,21	negativ	<0,5	positiv	76,27	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	9		negativ		negativ		positiv		Bitte auswählen!	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	13		negativ	-	positiv	<0.5	positiv	60	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	16	24.07.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	17	28.07.17	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	>13,5	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	19	05.07.17	negativ	<0.5 entsp. <BG	negativ	<0.5 entsp. <BG	positiv	78	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	22	28.07.17	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	76	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	27		negativ	< 0,5	negativ	< 0,5	positiv	73,5	Senfpulver	RIDASCREEN® FAST Mustard, R6152, Fa. R-Biopharm
VT	10	04.10.02	negativ		negativ		positiv	112	Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	11		negativ	<2.5	negativ	<2.5	-		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	21		negativ		negativ		-		Senfprotein	Veratox Mustard, Neogen
VT	29	11.07.17	negativ	<2.5	negativ	<2.5	positiv	73,3	Senf	Veratox Mustard, Neogen

Fortsetzung ELISA Senf:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	6				
AQ	18	Senf	nach Testkitanleitung	Nein	
AQ	28			Nein	
BC	23	polyklonal	PBS, 15min, 60°C	Nein	
ES	25			Nein	
IL	1	polyklonal			
NL	4	Senf	nach Testkitanleitung	ja	AK gegen weißen Senf; Kreuzreaktivitäten zu schwarzem Senf: < 5% gegen braunen Senf: <5%
RS-F	2	Senfprotein		ja	
RS-F	3	nach Testkitanleitung	nach Testkitanleitung	Ja	Negativ mittels ELISA, aber Positiv mittels PCR
RS-F	7	Senf	nach Testkitanleitung	ja	
RS-F	9		nach Arbeitsanleitung	ja	
RS-F	13		gem. Herstellerangaben	ja	unter Bestimmungsgrenze, auch mit AgarQuant Kit
RS-F	16	Senfprotein	nach Herstellerangaben	nein	
RS-F	17			Nein	
RS-F	19			ja	
RS-F	22	Senfprotein	AEP /10 min/ 60°C	ja	
RS-F	27		nach Herstelleranleitung	ja	
VT	10			Nein	Method wird validiert
VT	11			Ja	
VT	21		5g in 125mL Extraktion für 15 min bei 60°C, 3 Schritte in 10 min Inkubations-assay	Ja	LOQ = 2.5ppm Senf-samenprotein
VT	29				

**5.1.2 ELISA: Sesam**

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	6	23.06.17	negativ	<2	negativ	<2	positiv	39,8	Sesam	Test-Kit + Anbieter AgraQuant ELISA Sesame COKAL1948, RomerLabs
AQ	18	13/7- 24/7/17	negativ	<0,2	positiv	1,2	positiv	60	Sesam	AgraQuant ELISA Sesame COKAL1948, RomerLabs
BC	23	03.07.17	negativ	<2	negativ	<2	-	34,6	Sesam	BioCheck ELISA Sesame- Check
BK	4		negativ		positiv	76,5	positiv	330	Sesam	BioKits Sesame Protein Assay Kit, Neogen
BK	10	04.10.02	negativ		positiv	48,5	positiv	198	Sesam	BioKits Sesame Protein Assay Kit, Neogen
ES	5		negativ	<0.5	negativ	<0.5	positiv	1,64	Sesamsamenprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	9		negativ		negativ		positiv		Bitte auswählen!	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	11		negativ	<0.5	negativ	<0.5	-		Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	17	28.07.17	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	1,3	Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	21		negativ		negativ		-		Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	25		negativ	<0.5	negativ	<0.5	positiv	1,9	Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	28	19/07	negativ	<0.5	negativ	<0.5	positiv	0,75	Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	29	11.07.17	negativ	<0.5	negativ	<0.5	positiv	1,1	Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
IL	1	27.06.17	negativ	<0.2	positiv	3,78	positiv	50,6	Sesam	Immunolab Sesame ELISA
RS-F	2	11.07.17	negativ		positiv	10,3	positiv		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R- Biopharm
RS-F	3	16.08.17	negativ	<2.5	positiv	19,06	positiv	209,9	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R- Biopharm
RS-F	7	15.08.17	negativ	<2,5	positiv	7,76	positiv	197,06	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R- Biopharm
RS-F	13		negativ	-	positiv	10	positiv	130	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R- Biopharm
RS-F	19	04.07.17	-		positiv	10	positiv	140	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R- Biopharm
RS-F	22	07.07.17	negativ	<2,5	positiv	8,5	positiv	140	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
VT	11		negativ	<2,5	positiv	98	-		Sesam	Veratox Sesame Allergen, Neogen
VT	24	07.07.17	negativ	<6.25	positiv	38	positiv	349	Sesam	Veratox Sesame Allergen, Neogen

Fortsetzung *ELISA Sesam*:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	6				
AQ	18	Sesam	nach Testkitanleitung	Nein	
BC	23	polyklonal	PBS, 15min, 60°C	Nein	
BK	4	Sesam	nach Testkitanleitung	ja	
BK	10			Nein	Methode wird validiert
ES	5				
ES	9		nach Arbeitsanleitung	ja	
ES	11			Ja	
ES	17			Nein	
ES	21		1g in 50mL Extraktion für 15 min bei 60°C, 4 Schritte von 15 min Inkubationsassay	Ja	LOQ =0,5ppm sesamsamenprotein
ES	25			Nein	
ES	28			Ja	
ES	29				
IL	1	polyklonal			
RS-F	2	Sesamprotein		ja	
RS-F	3	nach Testkitanleitung	nach Testkitanleitung	Ja	
RS-F	7	Sesam	nach Testkitanleitung	Ja	Fast Sesam mit neuem Kalibriermaterial LOT-Nr. 15287
RS-F	13		gem. Herstellerangaben	ja	
RS-F	19	Ses i 1-7		ja	
RS-F	22	Sesamprotein	AEP /10 min /60°C	ja	
VT	11			Nein	
VT	24		nach Testkitanleitung	Ja	

**5.1.3 PCR: Sellerie**

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	7	12.07.17	negativ		positiv		positiv		Sellerie-DNA	ASU §64 Methode/method
ASU	12	29.06.17/ 17.07.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method
ASU	16	13.07.17	negativ		positiv		positiv		Sellerie-DNA	ASU §64 Methode/method
MS	8b		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Microsynth
MS	26		negativ		positiv		-		Bitte auswählen!	Microsynth
SFA-4p	30a	27.06.17	negativ	-	positiv	-	positiv	-	Bitte auswählen!	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	3	30.06.17	negativ	<1	positiv	121,32	positiv	118,77	Sellerie	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	8a		negativ		positiv	61	positiv	24	Sellerie	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	9		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	14	14.08.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, Cellery, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	15		negativ		positiv		positiv		Sellerie-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	20		negativ		positiv		-		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	25	xx	negativ	<0.4	positiv	>0.4	positiv	>0.4	Sellerie-DNA	andere: bitte auswählen
SFA-ID	27a		negativ		positiv		positiv		Sellerie	SureFood® ALLERGEN ID Celery Fa. Congen
SFA-Q	18	24.07.17	negativ	<0,4	positiv	20,28	positiv	12,85	Sellerie-DNA	Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
SFA-Q	27b		negativ	< 1,0	positiv	5,78	positiv	14,5	Sellerie	SureFood® ALLERGEN QUANT Celery, Fa. Congen
SFA-Q	30b	27.06.17	negativ	-	positiv	5	positiv	13,2	Selleriesamen, getr.	Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
div	6	16.08.17	negativ		negativ		positiv		Sellerie-DNA	andere: Haumethode
div	13		negativ	-	positiv	55	positiv	20	Selleriesamen, getr.	Lauber et al. 2015
div	19	28.06.17	negativ	n.n.	positiv	130	positiv		Sellerie	Eigene Methode



## Fortsetzung PCR Sellerie:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
ASU	7	Mannitoldehydrogenase (101 bp)	CTAB basiertes Extraktionsverfahren mit anschließender Aufreinigung über Wizard-Kit der Fa. Promega; Real-time PCR: 45 Zyklen	ja	
ASU	12	Sellerie -DNA	Extraktion mit Wizard Resin/ Real Time PCR		
ASU	16	Mannitol-Dehydrogenase	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	ja (nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005)	
MS	8b	Sellerie	CTAB/QIAquick/Real-Time PCR	ja	
MS	26	Sellerie	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: erhöhte Einw aage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xCQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil; Inhibitionskontrolle	ja	Probleme beim Nachweis von Sellerie-DNA in der Dotierprobe - wahrscheinlich matrixbedingt; stark inhibiert
SFA-4p	30a	Sellerie	S3401 SureFood®ALLERGEN 4plex Soya/Sellerie/Mustard+IAC, Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	ja	-
SFA-ID	3	nach Testkitanleitung	nach Testkitanleitung	ja	Quantifiziert mittels Quantard 40 Standard
SFA-ID	8a	Sellerie	CTAB/QIAquick/Real-Time PCR	ja	
SFA-ID	9		nach Arbeitsanleitung	ja	Probe B: Spuren
SFA-ID	14			ja	NWG 0,4 ppm
SFA-ID	15			ja	
SFA-ID	20			ja	operator: Poletti
SFA-ID	25	Sellerie Art.-nr. S3105 Congen		nein	
SFA-ID	27a		SureFood® PREP Advanced, Fa. Congen, Protokoll 2	ja	
SFA-Q	18	Sellerie	Real time PCR	nein	
SFA-Q	27b		SureFood® PREP Advanced, Fa. Congen, Protokoll 1	nein	
SFA-Q	30b	Sellerie	S3205 SureFood® ALLERGEN QUANT Sellerie, Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Bestimmungsgrenze 1 mg/kg; Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	nein	-
div	6		Gelelektrophorese, LOD 10ppm		
div	13	Mannitoldehydrogenase Gen	ReliaPrep™ , Promega	ja	
div	19	5'- (TAM) -aac aga taa cgc tga ctc atc aca ccg- (TAMPA) 3'	Wizard/Real Time PCR/45 Cyclen	ja	

**5.1.4 PCR: Senf**

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		
MS	8b		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Microsynth
SFA-4p	30a	27.06.17	negativ	-	positiv	-	positiv	-	Bitte auswählen!	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	3	30.06.17	negativ	<1	positiv	82,94	positiv	73,65	Senf	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	8a		negativ		positiv	204	positiv	60	Senf	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	9		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	14	14.08.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	15		negativ		positiv		positiv		Senf-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	25		negativ	<0.4	positiv	>0.4	positiv	>0.4	Senf-DNA	andere: Bitte auswählen!
SFA-ID	27		negativ		positiv		positiv		Senf	SureFood® ALLERGEN ID Mustard Fa. Congen
div	12	29.06.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Real-Time PCR
div	13		negativ	-	positiv	65	positiv	45	Senf	Lauber et al. 2015
div	16	28.06.17	negativ		positiv		positiv		Senf-DNA	Mustorp et al. 2008 Eur Food Res Technol. 226: 771-778
div	19	28.06.17	negativ	n.n.	positiv	230	positiv		Senf	Eigene Methode
div	26		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Hausmethode
div	30b	27.06.17	negativ	-	positiv	3,9	positiv	13,1	Senf	Hausmethode

## Fortsetzung PCR Senf:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
MS	8b	Senf	CTAB/QIAquick/Real-Time PCR	ja	
SFA-4p	30a	Senf	S3401 SureFood®ALLERGEN 4plex Soya/Celery/Mustard+IAC, Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	ja	-
SFA-ID	3	nach Testkitanleitung	nach Testkitanleitung	ja	Quantifiziert mittels Quantard 40 Standard
SFA-ID	8a	Senf	CTAB/QIAquick/Real-Time PCR	ja	
SFA-ID	9		nach Arbeitsanleitung	ja	Probe B: Spuren
SFA-ID	14			ja	NWG 0,4 ppm
SFA-ID	15			nein	
SFA-ID	25	SureFood® ALLERGEN Mustard Art.-Nr. S3109 Congen		nein	
SFA-ID	27		SureFood® PREP Advanced, Fa. Congen, Protokoll 2	ja	
div	12	Senf -DNA	Extraktion mit Wizard Resin/ Real Time PCR		
div	13	S. alba, B. nigra, B. juncea	ReliaPrep™ , Promega	ja	nur weisser Senf (S. alba) pos.
div	16	Hauptallergen sin a1	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	ja (nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005)	
div	19	5'-(FAM)-TTM GAC AAC AGY TGG GGC AGC AGG G-(BHQ-1)-3'	Wizard/Real Time PCR/50 Cyclen	ja	SinA1-Gen aus Sinapis alba
div	26	Senf	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: erhöhte Einwaage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xCQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil; Inhibitionskontrolle	ja	Sinapis alba nachweisbar; Brassica juncea/nigra nicht nachweisbar
div	30b	Senf	quantitative Hausmethode, Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Bestimmungsgrenze 2,5 mg/kg; Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	nein	-

5.1.5 PCR: Sesam

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		
MS	8b		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Microsynth
MS	26		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Microsynth
SFA-ID	8a		negativ		positiv	58,5	positiv	21,5	Sesam	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	9		negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	14	14.08.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Sure Food Allergen ID, Sesam, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	15		negativ		positiv		positiv		Sesame-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	16	28.06.17	negativ		positiv		positiv		Sesam-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	25		negativ	<0.4	positiv	>0.4	positiv	>0.4		andere: Bitte auswählen!
SFA-ID	27		negativ		positiv		positiv		Sesam	SureFood® ALLERGEN ID Sesam, Fa. Congen
SFA-Q	30	27.06.17	negativ	-	positiv	4	positiv	16,2	Sesam	Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
div	7	12.07.17	negativ		positiv		positiv		Sesam-DNA	Mustorp et al., 2008 Eur Food Res Technol
div	12	29.06.17	negativ		positiv		positiv		Bitte auswählen!	Mustorp et al.2007
div	13		negativ	-	positiv	145	positiv	115	Sesam	Lauber et al. 2015
div	19	28.06.17	negativ	n.n.	positiv	92	positiv		Sesam	Eigene Methode

## Fortsetzung PCR Sesam:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
MS	8b	Sesam	CTAB/QIAquick/Real-Time PCR	ja	
MS	26	Sesam	Macherey Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: erhöhte Einw aage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xCQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil; Inhibitionskontro	ja	
SFA-ID	8a	Sesam	CTAB/QIAquick/Real-Time PCR	ja	
SFA-ID	9		nach Arbeitsanleitung	ja	Probe B: Spuren
SFA-ID	14			ja	NWG 0,4 ppm
SFA-ID	15			nein	
SFA-ID	16	Sesam	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	ja (nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005)	
SFA-ID	25	SureFood® ALLERGEN Sesame Art.-Nr. S3108 Congen		nein	Sesam - DNA -
SFA-ID	27		SureFood® PREP Advanced, Fa. Congen, Protokoll 2	ja	
SFA-Q	30	Sesam	S3208 SureFood® ALLERGEN QUANT Sesame, Nachweisgrenze 0,4 mg/kg, Bestimmungsgrenze 1 mg/kg; Extraktion mit S1053 SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	ja (qualitativ)	-
div	7	2S-albumin (64 bp)	CTAB basiertes Extraktionsverfahren mit anschließender Aufreinigung über Wizard-Kit der Fa. Promega; Real-time PCR: 45 Zyklen	ja	
div	12	Sesam -DNA	Extraktion mit Wizard Resin/ Real Time PCR		
div	13	Oleosin mRNA	ReliaPrep™ , Promega	ja	
div	19	5'-(FAM)-cat ctt ggt ccc cgc cgc cct aat-(BHQ-1)-3'	Wizard/Real Time PCR/50 Cyclen	ja	

**5.2 Homogenität****5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung****Microtracer Homogenitätstest****DLA 04-2017 Dotierungsniveauprobe**

Gewicht Gesamtprobe	1,09	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	35,3	mg/kg

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,06	101	39,9
2	5,00	98	39,2
3	5,03	80	31,8
4	5,11	80	31,3
5	5,10	80	31,4
6	5,09	85	33,4
7	5,08	92	36,2
8	4,97	91	36,6

**Poisson-Verteilung**

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	88,4	Partikel
Standardabweichung	8,83	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	6,18	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>52</b>	%
Wiederfindungsrate	99	%

**Normalverteilung**

Probenanzahl	8	
Mittelwert	35,0	mg/kg
Standardabweichung	3,49	mg/kg
rel. Standardabweichung	10,0	%
Horwitz Standardabweichung	9,4	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>1,1</b>	
Wiederfindungsrate	99	%

**5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)**

Vor der LVU wurden den Teilnehmern im Proben-Anschreiben folgende Informationen mitgeteilt:

EP-Nummer	<b>DLA 04-2017</b>
EP-Name	<b>Allergene IV: Sellerie, Senf und Sesam in Wurstbrät</b>
Probenmatrix (Prozessierung)	<b>Proben A + B:</b> Wurstbrät (erhitzt)/ Zutaten: Rindfleisch, Schweinefleisch, Wasser, Kartoffelpulver, Salz, Natriumcitrat, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) <b>Dotierungsniveauprobe:</b> Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A + B: gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit < -18°C) Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Sellerie, Senf, Sesam Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Von den <b>Proben A + B</b> soll die <b>Gesamtmenge homogenisiert</b> werden.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: <b>pt@dla-lvu.de</b>
Abgabetermin	<b>spätestens 18. August 2017</b>
Auswertebereicht	Der Auswertebereicht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Dr. Matthias Besler

\* Die Kontrolle der Mischungshomogenität wird von DLA durchgeführt. Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben.

### 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country

[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) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
  28. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
  29. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
  30. ASU §64 LFGB L 18.00-19 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Sesam (Sesamum indicum) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of sesame (Sesamum indicum) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  31. 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) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  32. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
  33. ASU §64 LFGB L 08.00-64 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von von schwarzem Senf (Brassica nigra L.) und braunem Senf (Brassica juncea L.) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.) and brown mustard (Brassica juncea L.) in boiled sausages by real-time PCR]
  34. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black

mustard (*Brassica nigra* L.), brown mustard (*Brassica juncea* L.), white mustard (*Sinapis alba*), celery (*Apium graveolens*) and soya (*Glycine max*) in boiled sausages by real-time PCR]

**DLA 04/2017 - Allergene IV**

Alle 30 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Sellerie, Senf und Sesam getrennt nach den Methoden ELISA und PCR. Die ELISA-Ergebnisse für Senf und Sesam wurden quantitativ ausgewertet. Für Sellerie lagen keine ELISA-Ergebnisse vor. Die PCR-Ergebnisse wurden qualitativ bewertet.

Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

13 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Österreich, Spanien, Schweden, Italien, Zypern, Schweiz), 4 Teilnehmer in Kanada sowie 1 Teilnehmer in Israel.