

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 05/2017

Allergene V:

Haselnuss und Walnuss

in Backware (Butterkeks)

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

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

Koordinator der LVU:
Dr. Matthias Besler-Scharf

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

| | |
|--|--|
| <p><i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i></p> | <p>DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler-Scharf</p> <p>Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p> |
| <p><i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i></p> | <p>DLA 05/2017</p> |
| <p><i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i></p> | <p>Dr. Matthias Besler-Scharf</p> |
| <p><i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i></p> | <p>Abschlussbericht / Final report (11. Januar 2018)</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> |
| <p><i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i></p> | <p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Dr. Gerhard Wichmann (QM-Beauftragter / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed G. Wichmann</i> Datum / Date: 11. Januar 2018</p> |
| <p><i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i></p> | <p>Falls im Rahmen der Eignungsprüfung eine Prüfung der Gehalte, Homogenität und/oder Stabilität von EP-Parametern durchgeführt wurde, hat DLA diese im Unterauftrag vergeben. In case the analysis of the content, homogeneity and/or stability of PT-parameters was part of the proficiency test, the determinations were subcontracted by DLA.</p> |
| <p><i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i></p> | <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..... | 9 |
| 2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung..... | 9 |
| 2.3 Ergebnisübermittlung..... | 9 |
| 3. Auswertung..... | 10 |
| 3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)..... | 10 |
| 3.2 Robuste Standardabweichung..... | 11 |
| 3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer..... | 11 |
| 3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)..... | 12 |
| 3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz..... | 12 |
| 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision..... | 12 |
| 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen..... | 15 |
| 3.5 z-Score..... | 16 |
| 3.6 z'-Score..... | 17 |
| 3.7 Quotient S^*/opt | 17 |
| 3.8 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts..... | 17 |
| 3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte..... | 18 |
| 3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung..... | 18 |
| 4. Ergebnisse..... | 19 |
| 4.1 Vergleichsuntersuchung Haselnuss..... | 21 |
| 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Haselnuss..... | 21 |
| 4.1.2 PCR-Ergebnisse: Haselnuss..... | 31 |
| 4.1.3 LC/MS-Ergebnisse: Haselnuss..... | 35 |
| 4.2 Vergleichsuntersuchung Walnuss..... | 38 |
| 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Walnuss..... | 38 |
| 4.2.2 PCR-Ergebnisse: Walnuss..... | 46 |
| 4.2.3 LC/MS-Ergebnisse: Walnuss..... | 51 |
| 5. Dokumentation..... | 52 |
| 5.1 Angaben der Teilnehmer..... | 52 |
| 5.1.1 ELISA: Haselnuss..... | 52 |
| 5.1.2 ELISA: Walnuss..... | 54 |
| 5.1.3 PCR: Haselnuss..... | 55 |
| 5.1.4 PCR: Walnuss..... | 56 |
| 5.1.5 LC/MS: Haselnuss..... | 57 |
| 5.1.6 LC/MS: Walnuss..... | 57 |
| 5.2 Homogenität..... | 58 |
| 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung..... | 58 |
| 5.4 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)..... | 59 |
| 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge..... | 60 |
| 7. Verzeichnis relevanter Literatur..... | 61 |

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 Lebensmittelmatrix 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 handelt es sich um handelsübliche Butterkekse. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben mittels Schlagmühle (mesh 1,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

Anschließend wurde die **dotierte Probe A** folgendermaßen hergestellt:

Der Grundmischung wurde als weitere Zutat ein mit dem Dotierungsmaterial gebackener Keks (170°C, 30 min) zugesetzt, das die allergenen Zutaten Haselnuss und Walnuss enthält. Nach Zerkleinerung und Homogenisierung wurde der die allergenen Zutaten enthaltende gebackene Keks zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 3 weiteren Schritten zugegeben und jeweils maschinell homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

Die **Dotierungsniveauprobe** wurde mit den oben genannten allergenhaltigen Dotierungsmaterialien unter mehrstufiger Zugabe von Kartoffelpulver und Homogenisierung hergestellt. Anschließend wurde die gesamte Menge mittels Zentrifugalmühle (mesh 250 µm) gesiebt.

Die Proben A und B wurden zu Portionen von ca. 25 g und die Dotierungsniveauprobe von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

| Zutaten | Probe A | Probe B | Dotierungs- niveauprobe |
|--|-------------------------|------------|----------------------------|
| Butterkekse Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Butter, Gerstenmalzextrakt, Glucosesirup, Back- triebmittel Ammoniumcarbonat, Salz, Emulgator Lecithine Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß 7,1 g, Kohlenhydrate 76 g, Fett 12 g | 96,0 g/100 g | 100 g/100g | - |
| Kekse (gebacken 170°C, 30 min) Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Butter, Eier, Salz sowie Haselnüsse, Walnüsse und weitere Zutaten (siehe unten) | 4,0 g/100 g | - | - |
| Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100 | - | - | 99,9 g/100 g |
| Haselnüsse, geröstet gemahlen, Mischung (5 Länder / Europa) - als Haselnuss* - davon 14,1% Gesamtprotein** | 25,5 mg/kg 3,6 mg/kg | - | 33,7 mg/kg 4,8 mg/kg |
| Walnüsse, roh gemahlen, Mischung (5 Länder / Nord- u. Südamerika, Europa) - als Walnuss* - davon 13,6% Gesamtprotein** | 31,6 mg/kg 4,3 mg/kg | - | 38,0 mg/kg 5,2 mg/kg |
| weitere Zutaten: Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdi- oxid | <0,15 g/100 g | - | <0,1 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=5,30 für Haselnüsse und Walnüsse)

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 μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben A und Dotierungsmaterialprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 95% bzw. 100% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [16, 17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,7 bzw. 0,4 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe A

Durchführung der Homogenitätstests

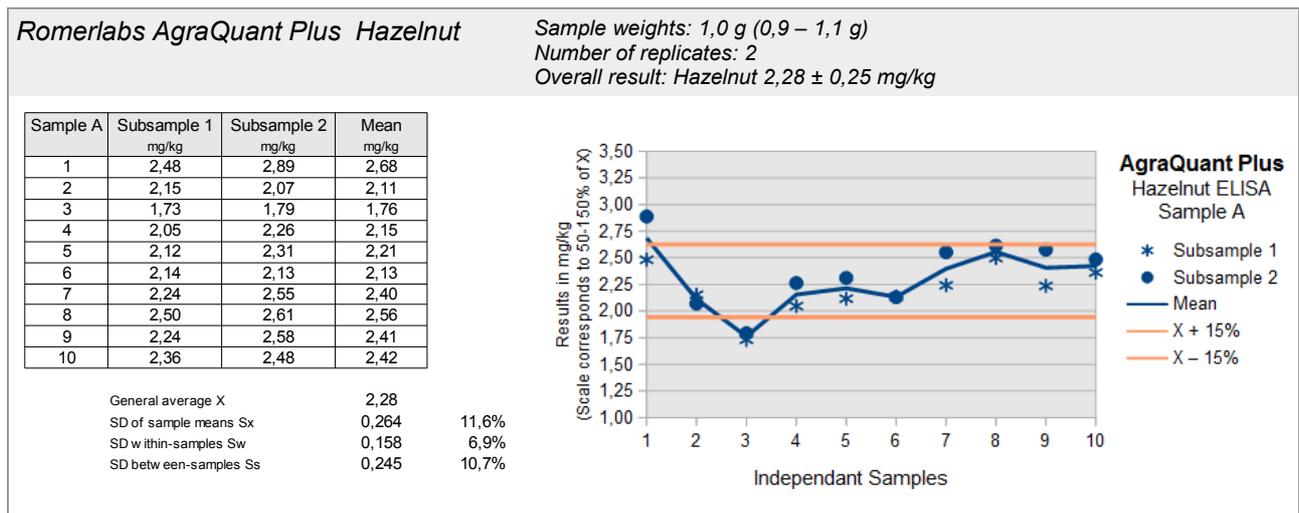
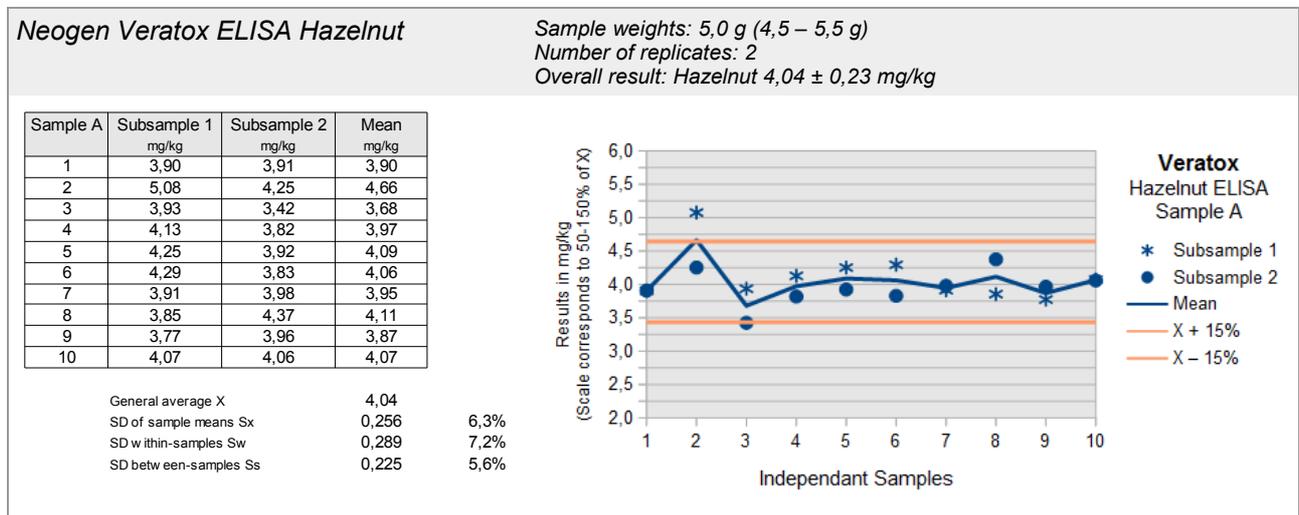
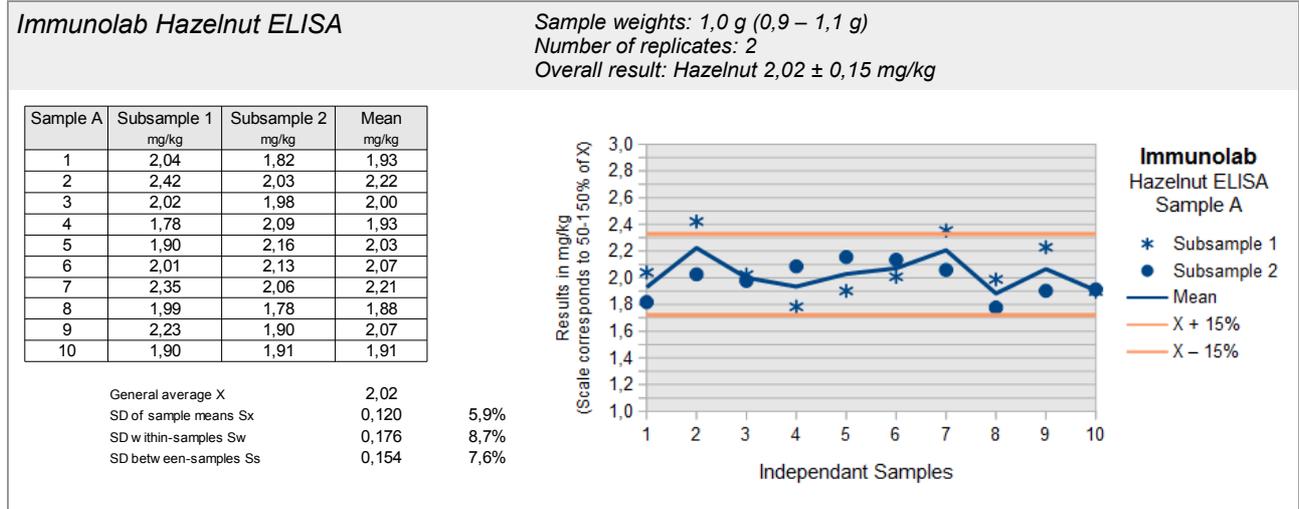
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-coodierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur Analyse 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 A in allen ELISA-Tests sowohl für Haselnuss (Immunolab, Veratox, AgraQuant Plus) als auch für Walnuss (Immunolab, AgraQuant) erfüllt (s. Seite 8 und 9). Die Anforderung an Wiederholstandardabweichungen von ELISA- und PCR-Verfahren ist üblicherweise $\leq 25\%$ [18, 19, 22, 23].

Falls die Kriterien für eine ausreichende Homogenität des Probenmaterials bezüglich eines Parameters nicht erfüllt sind, werden die Auswirkungen auf die Zielstandardabweichung geprüft. Ggf. erfolgt die Bewertung der Ergebnisse der Teilnehmer unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes anhand von z'-Scores (s. 3.6 und 3.8) [3].

ELISA-Tests: Homogenität Haselnuss / Homogeneity Hazelnut



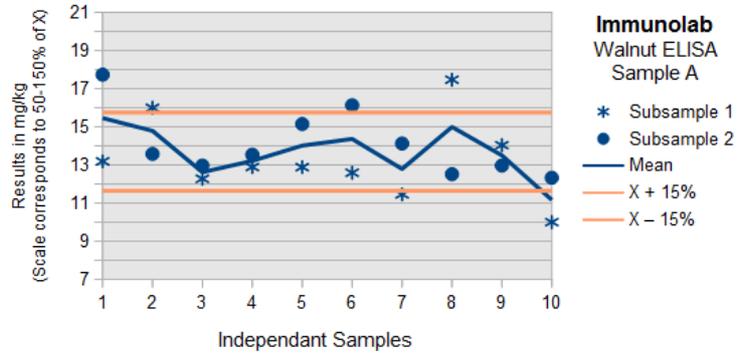
ELISA-Tests: Homogenität Walnuss / Homogeneity Walnut

Immunolab Walnut ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Walnut 13,7 ± 2,0 mg/kg

| Sample A | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|----------------------|----------------------|---------------|
| 1 | 13,2 | 17,7 | 15,5 |
| 2 | 16,0 | 13,6 | 14,8 |
| 3 | 12,3 | 13,0 | 12,6 |
| 4 | 12,9 | 13,5 | 13,2 |
| 5 | 12,9 | 15,1 | 14,0 |
| 6 | 12,6 | 16,1 | 14,4 |
| 7 | 11,5 | 14,1 | 12,8 |
| 8 | 17,5 | 12,5 | 15,0 |
| 9 | 14,0 | 13,0 | 13,5 |
| 10 | 10,0 | 12,3 | 11,2 |

| | | |
|-----------------------|------|-------|
| General average X | 13,7 | |
| SD of sample means Sx | 1,30 | 9,5% |
| SD within-samples Sw | 2,04 | 14,9% |
| SD between-samples Ss | 1,82 | 13,3% |

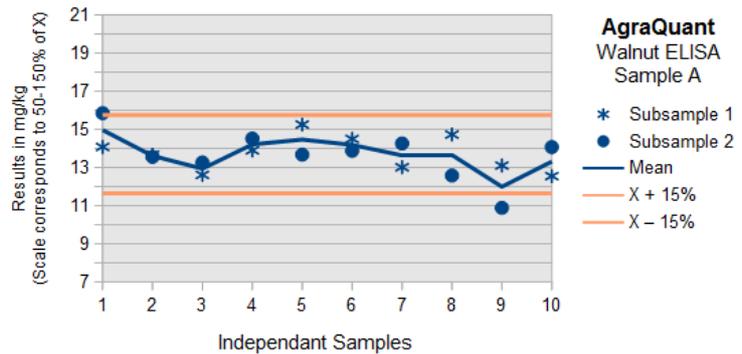


Romerlabs AgraQuant Walnut

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Walnut 13,7 ± 1,2 mg/kg

| Sample A | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|----------------------|----------------------|---------------|
| 1 | 14,1 | 15,8 | 15,0 |
| 2 | 13,7 | 13,6 | 13,6 |
| 3 | 12,6 | 13,3 | 12,9 |
| 4 | 13,9 | 14,5 | 14,2 |
| 5 | 15,2 | 13,7 | 14,5 |
| 6 | 14,5 | 13,9 | 14,2 |
| 7 | 13,0 | 14,3 | 13,6 |
| 8 | 14,7 | 12,6 | 13,7 |
| 9 | 13,1 | 10,9 | 12,0 |
| 10 | 12,5 | 14,1 | 13,3 |

| | | |
|-----------------------|------|------|
| General average X | 13,7 | |
| SD of sample means Sx | 0,84 | 6,1% |
| SD within-samples Sw | 1,01 | 7,3% |
| SD between-samples Ss | 1,17 | 8,5% |



2.1.2 Stabilität

Die Erfahrungen mit diversen DLA-Referenzmaterialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität (a_w -Wert $< 0,5$) eine gute Lagerstabilität bezüglich der Haltbarkeit der Probe (mikrobieller Verderb) und des Gehalts an den EP-Parametern Haselnuss und Walnuss. Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 37. Kalenderwoche 2017 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 27. Oktober 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 Haselnuss und/oder Walnuss im mg/kg Bereich in der *Matrix Butterkekse*.

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, während die *Allergene in Probe A und/oder B gebacken* wurden. Die *Dotierungsniveauprobe* soll wie eine normale Probe untersucht werden.

Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung.
(siehe Dokumentation unter Punkt 5.4 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.

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 20 Teilnehmer haben fristgerecht mindestens ein Ergebnis 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 [25, 26, 27, 28]. 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]. Liegen < 12 quantitative Ergebnisse und eine erhöhte Differenz zwischen robustem Mittelwert und Median vor, ist ggf. der **Median** als zugewiesener Wert zu verwenden (Kriterium: $\Delta \text{Median} - \text{rob. Mittelwert} > 0,3 \sigma_{pt}$) [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) **Zugewiesener Wert aller Ergebnisse** - X_{ptALL}
- ii) **Zugewiesener Wert von Einzelmethoden** - $X_{ptMETHOD i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder $< 2,5$ mg/kg) oder die Angabe „0“ werden für die statistische Auswertung generell nicht berücksichtigt [3].

3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

Ergebnisse können vorab von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, wenn offensichtliche grobe Fehler, wie z. B. falsche Einheiten, Dezimalstellen oder Angaben für einen falschen Prüfgegenstand vorliegen [2]. 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 σ_{pt} (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) kann nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt.

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

3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

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

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

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

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

3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

Die in Tabelle 2a (ELISA) und Tabelle 2b (PCR) angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen (RSD_x) und relativen Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) wurden in Ringversuchen mittels der angegebenen Methoden ermittelt. Die resultierenden Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden für eine Anzahl von $m = 2$ Wiederholmessungen berechnet. Bei einer Anzahl von $m = 1$ ist die Vergleichsstandardabweichung σ_R gleich der Zielstandardabweichung σ_{pt} .

Tabelle 2a: ELISA-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [30-31]

| 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 für die Allergene Erdnuss, Haselnuss und Mandel im Bereich von 11 - 32% für die ELISA-Methoden und 24 - 42% 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 [24]. Es wurden 12 Lebensmittelproben mit Gliadinegehalten im Bereich von 0 - 168 mg/kg von 20 Laboratorien untersucht. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 65 und 110%, die relativen Wiederholstandardabweichungen lagen bei 13 - 25% (1. Methode) bzw. 11 - 22% (2. Methode) und die relativen Vergleichsstandardabweichungen bei 23 - 47% (1. Methode) bzw. 25 - 33% (2. Methode). Laut den Autoren erfüllten beide ELISA-Test-Kits damit die Validierungskriterien für ELISA Methoden [24].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [27]. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 - 16,1 mg/kg bzw. 1,2 - 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

Tabelle 2b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [32-34]

| Parameter | Matrix | Mittelwerte [mg/kg] | Wiederfindung | rob RSD_r | RSD_r | RSD_R | σ_{pt} | Methode / Literatur |
|-----------|----------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| Mandel | Reiskekse | 105,2 18,0 10,5 | 105 % 90 % 105 % | - | 19,3% 44,0% 32,0% | 27,5% 49,1% 38,8% | 23,9% 38,0% 31,5% | rt-PCR ASU 18.00-20 |
| Mandel | Weizenkekse Soßenpulver | 114,3 88,1 | 94,6 % 88,1 % | - | 22,1% 43,9% | 41,8% 43,1% | 38,8% - % | rt-PCR ASU 18.00-20 |
| Mandel | Reiskekse | 109 21,3 12,3 | 109 % 107 % 121 % | - | 17,6% 35,8% 32,0% | 32,8% 45,0% 47,8% | 30,3% 37,2% 42,1% | rt-PCR multiplex ASU 18.00-22 |
| Mandel | Weizenkekse Soßenpulver | 120,7 112 | 98,2 % 94,1 % | - | 15,7% 36,2% | 32,5% 42,8% | 30,5% 34,3% | rt-PCR multiplex ASU 18.00-22 |
| Paranuss | Reiskekse | 89,1 17,3 9,8 | 89,1 % 86,5 % 98 % | - | 34,1% 36,2% 40,2% | 34,4% 38,2% 41,8% | 24,5% 28,4% 30,6% | rt-PCR ASU 18.00-21 |
| Paranuss | Weizenkekse Soßenpulver | 80,8 42,6 | 65,7 % 42,6 % | - | 25,6% 27,5% | 36,4% 39,7% | 31,6% 34,6% | rt-PCR ASU 18.00-21 |
| Paranuss | Reiskekse | 96,6 14,2 | 96,6 % 71 % | - | 16,8% 54,2% | 31,8% 56,5% | 29,5% 41,5% | rt-PCR multiplex ASU 18.00-22 |
| Paranuss | Weizenkekse Soßenpulver | 76,5 48,4 | 62,2 % 48,4 % | - | 15,6% 34,4% | 35,8% 37,5% | 34,1% 28,5% | rt-PCR multiplex ASU 18.00-22 |

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [22], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [19-21], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [23] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [18] erarbeitet worden.

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

| Literatur [18-24] | Wiederfindungsrate | Wiederholstandard- abweichung | Vergleichsstandard- abweichung |
|----------------------|--------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| MHLW 2006 | 50 - 150% | | ≤ 25% |
| CEN 2009 | | ≤ 20% | |
| AOAC 2010 | 50 - 150% | 6,9 - 34,4% ^(a) | 19,5 - 57,2% ^(a) |
| CAC 2010 | 70 - 120% | ≤ 25% | ≤ 35% |

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

| Literatur [18] | Wiederfindungsrate | Wiederholstandard- abweichung | Vergleichsstandard- abweichung |
|-------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| CAC 2010 | ± 25% ^(a) | ≤ 25% | ≤ 35% |

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

Diese Zielstandardabweichung wurde zur statistischen Bewertung der Ergebnisse mittels z-Score 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 (σ_{pt}) das Ergebnis (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert (x_{pt}) abweicht [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

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

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

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

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

3.6 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 (σ_{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 σ_{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^*/σ_{pt}

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

3.8 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 [23]. Für quantitative PCR- oder LC/MS-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

4. Ergebnisse

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

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

Die folgenden Ergebnisseiten sind für die allergenen Bestandteile jeweils gleich aufgebaut. Es werden zunächst die Ergebnisse aller ELISA-, PCR- bzw. LC/MS-Methoden zu einem Parameter für die Proben A und B (qualitativ und ggf. quantitativ) und danach für die Dotierungsniveauprobe (nur quantitativ) 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 **Haselnuss-** und **Walnussprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe auf das Gesamtlebensmittel (Haselnuss, Walnuss) umgerechnet worden (s. S.5).

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

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

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

| Auswertenummer | Ergebnis | Ergebnis | z-Score X_{ptALL} | z-Score $X_{ptM i}$ | Methode | Hinweis |
|----------------|----------|----------|------------------------|------------------------|---------|---------|
| | pos/neg | [mg/kg] | | | | |
| | | | | | | |

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

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

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 Haselnuss

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Haselnuss

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 | | |
| 3 | positiv | 8,33 | negativ | < 5 | 2/2 (100%) | ES | |
| 13 | positiv | 6,24 | negativ | < 0,35 | 2/2 (100%) | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 7 | positiv | 1,80 | negativ | < 1 | 2/2 (100%) | IL | |
| 8 | positiv | 2,30 | negativ | < 0,5 | 2/2 (100%) | IL | |
| 17 | positiv | 1,48 | negativ | < 0,3 | 2/2 (100%) | IL | |
| 1 | positiv | 3,50 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 2 | positiv | 3,90 | negativ | < 1,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 4 | positiv | 3,00 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 12 | positiv | 3,60 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 15 | positiv | 3,90 | negativ | < 1,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 16 | positiv | 3,50 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 18 | positiv | 3,01 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 5 | positiv | 16,2 | positiv | 0,51 | 1/2 (50%) | VT | |
| 9 | positiv | 4,30 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | VT | |
| 11 | positiv | 3,70 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | VT | |

° Umrechnung S. 19

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 15 | 1 |
| Anzahl negativ | 0 | 14 |
| Prozent positiv | 100 | 7 |
| Prozent negativ | 0 | 93 |
| Konsenswert | positiv | negativ |

Methoden:

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Für Probe B wurde ein positives Ergebnis mit der Methode VT (Veratox) erhalten. Der Gehalt lag unterhalb des vom Test-Kit-Hersteller angegebenen Bestimmungsbereichs (Food Allergen Handbook, 9th Ed., Neogen & FARRP).

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

| Auswertenummer | Haselnuss [mg/kg] | z-Score Xpt _{ALL} | z-Score Xpt _{RS-F} | Methode | Hinweis |
|----------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------|------------------------|
| 3 | 8,33 | 4,8 | | ES | |
| 13 | 6,24 | 2,6 | | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 7 | 1,80 | -2,1 | | IL | |
| 8 | 2,30 | -1,6 | | IL | |
| 17 | 1,48 | -2,4 | | IL | |
| 1 | 3,50 | -0,31 | 0,01 | RS-F | |
| 2 | 3,90 | 0,12 | 0,47 | RS-F | |
| 4 | 3,00 | -0,83 | -0,56 | RS-F | |
| 12 | 3,60 | -0,20 | 0,13 | RS-F | |
| 15 | 3,90 | 0,12 | 0,47 | RS-F | |
| 16 | 3,50 | -0,31 | 0,01 | RS-F | |
| 18 | 3,01 | -0,82 | -0,55 | RS-F | |
| 5 | 16,2 | 13,1 | | VT | |
| 9 | 4,30 | 0,54 | | VT | |
| 11 | 3,70 | -0,09 | | VT | |

° Umrechnung S. 19

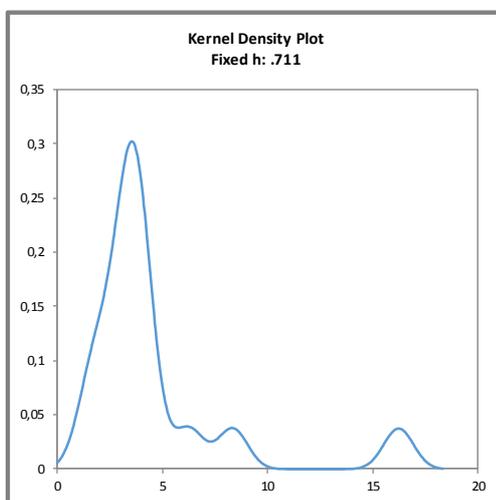
Methoden:

ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

**Abb. / Fig. 1:**

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 annähernd eine Normalverteilung der Ergebnisse mit einer leichten Schulter bei < 3 mg/kg (Methode IL), zwei Nebenpeaks bei > 5 mg/kg (Methode ES) und einem Nebenpeak bei 16 mg/kg (Methode VT), der auf einen Ausreißer zurückgeht (s. Abb. 1).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Haselnuss

Probe A

| Kenndaten | Alle Ergebnisse [mg/kg] | Methode RS-F [mg/kg] |
|--|----------------------------|-------------------------|
| Zugewiesener Wert (X_{pt}) | X_{pt}_{ALL} | $X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$ |
| Anzahl der Messergebnisse | 15 | 7 |
| Anzahl der Ausreißer | 1 | 0 |
| Mittelwert | 4,58 | 3,49 |
| Median | 3,60 | 3,50 |
| Robuster Mittelwert (X_{pt}) | 3,79 | 3,49 |
| Robuste Standardabweichung (S^*) | 1,71 | 0,419 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 0,948 | 0,872 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 1,90 | 1,74 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 5,69 | 5,23 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 1,8 | 0,48 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 0,553 | 0,198 |
| Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$ | 0,58 | 0,23 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 10 | 7 |
| Prozent im Zielbereich | 67 | 100 |

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte zwar Hinweise für methodenabhängige Unterschiede, aufgrund der statistischen Kenndaten (relativ geringe Differenz von Median und rob. Mittelwert, Quotient $S^*/\sigma_{pt} < 2,0$) wurde dennoch eine gemeinsame Auswertung durchgeführt und informativ zur Verfügung gestellt.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden bzw. von Methode RS-F zeigten eine normale bzw. geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag jeweils unter 2,0 bzw. unter 1,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse bzw. Hinweise für methodenabhängige Unterschiede vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 15% bzw. 14% vom Zusatzniveau von Haselnuss zu Probe A deutlich unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Haselnuss" S.31).

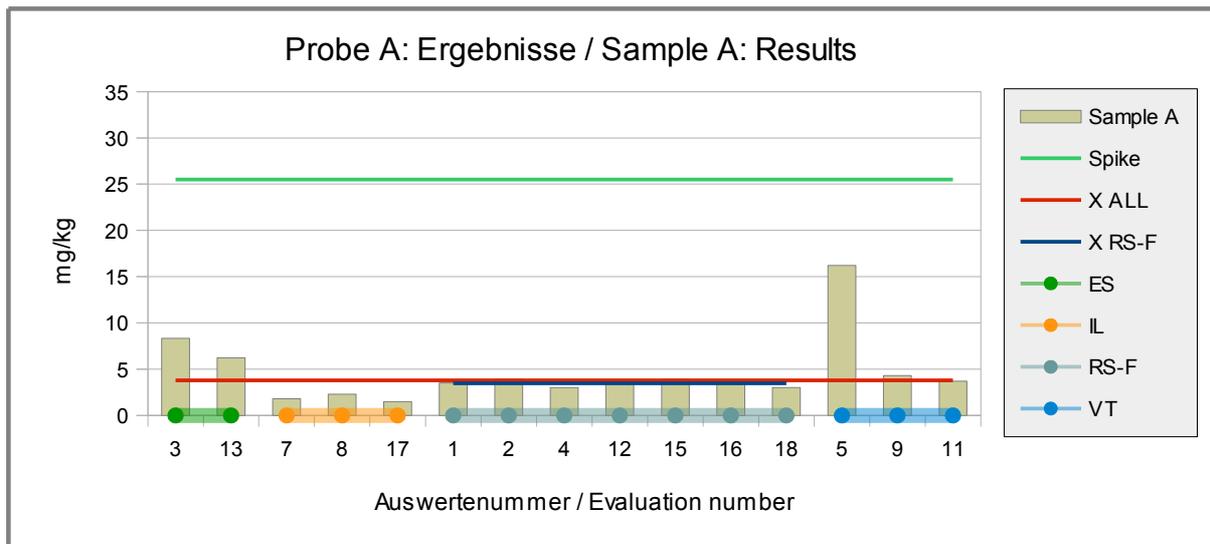


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

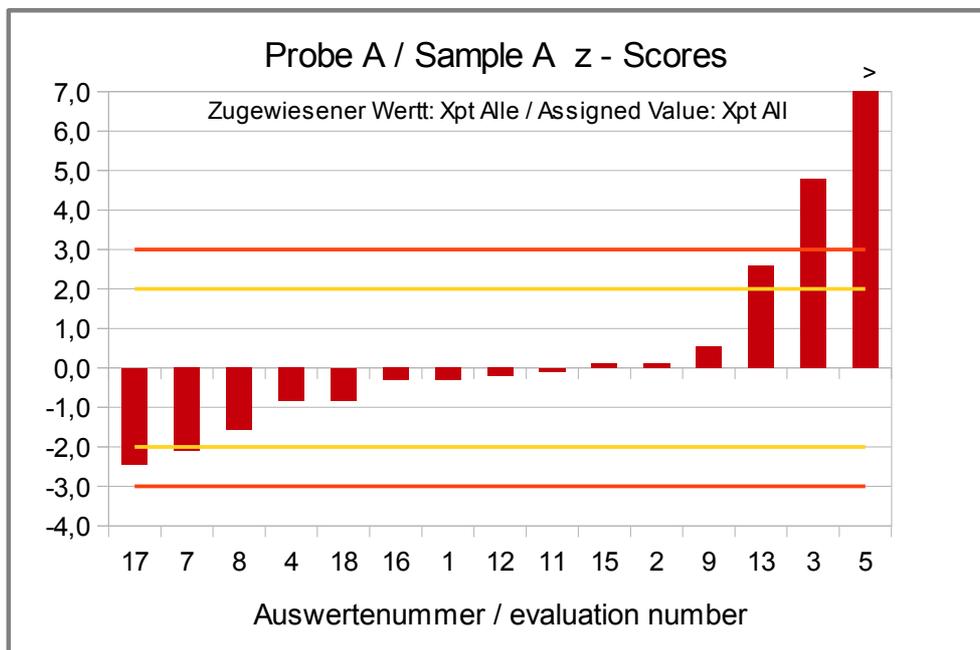


Abb./Fig. 3:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Haselnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

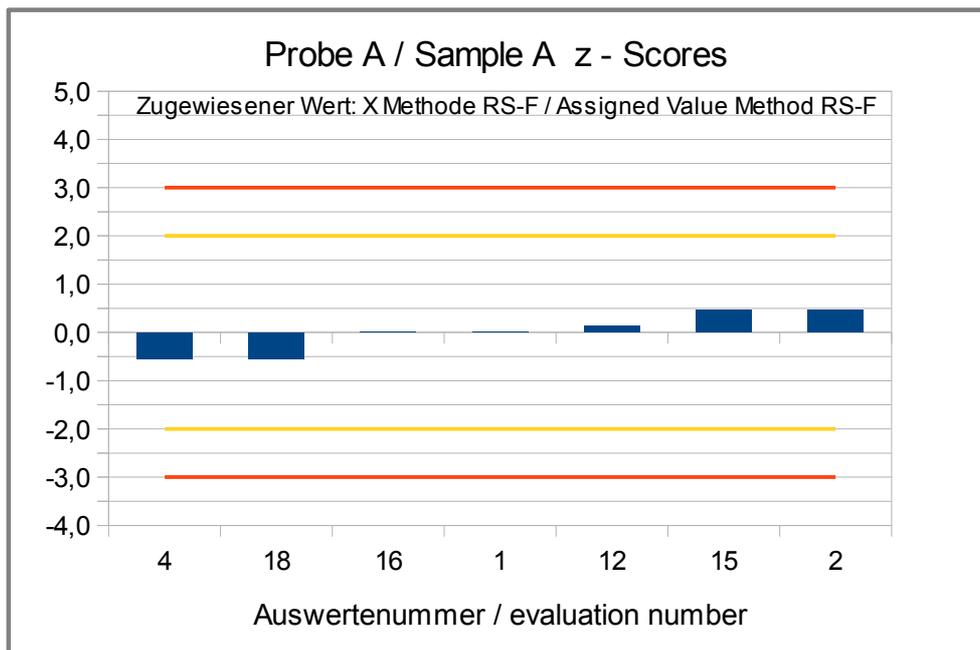


Abb./Fig. 4:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

| Auswertenummer | Haselnuss [mg/kg] | z-Score X _{pt} ALL | z-Score X _{pt} RS-F | Methode | Hinweis |
|----------------|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------|------------------------|
| 3 | 8,13 | -2,7 | | ES | |
| 13 | 18,4 | -1,0 | | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 7 | 31,6 | 1,2 | | IL | |
| 8 | 30,1 | 0,9 | | IL | |
| 17 | 23,5 | -0,2 | | IL | |
| 1 | 36,0 | 1,89 | 1,15 | RS-F | |
| 2 | - | | | RS-F | |
| 4 | 25,0 | 0,09 | -0,42 | RS-F | |
| 12 | 26,8 | 0,39 | -0,16 | RS-F | |
| 15 | 33,0 | 1,40 | 0,72 | RS-F | |
| 16 | 19,0 | -0,89 | -1,28 | RS-F | |
| 18 | 27,82 | 0,56 | -0,02 | RS-F | |
| 5 | 23,62 | -0,1 | | VT | |
| 9 | 16,0 | -1,38 | | VT | |
| 11 | 18,5 | -0,97 | | VT | |

° Umrechnung S. 19

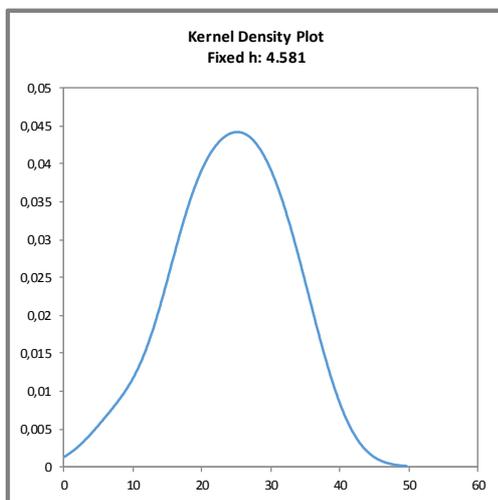
Methoden:

ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

**Abb. / Fig. 5:**

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 (s. Abb. 5).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Haselnuss

Dotierungsniveauprobe

| Kenndaten | Alle Ergebnisse [mg/kg] | Methode RS-F [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 | 24,1 | 27,9 |
| Median | 24,3 | 27,3 |
| Robuster Mittelwert (X_{pt}) | 24,4 | 27,9 |
| Robuste Standardabweichung (S^*) | 7,83 | 6,81 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 6,11 | 6,98 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 12,2 | 14,0 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 36,6 | 41,9 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 1,3 | 0,98 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 2,62 | 3,48 |
| Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$ | 0,43 | 0,50 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 13 | 6 |
| Prozent im Zielbereich | 93 | 100 |

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine Normalverteilung.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden bzw. von Methode RS-F zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag jeweils unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 72% bzw. 83% vom Zusatzniveau von Haselnuss zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Haselnuss" S.31).

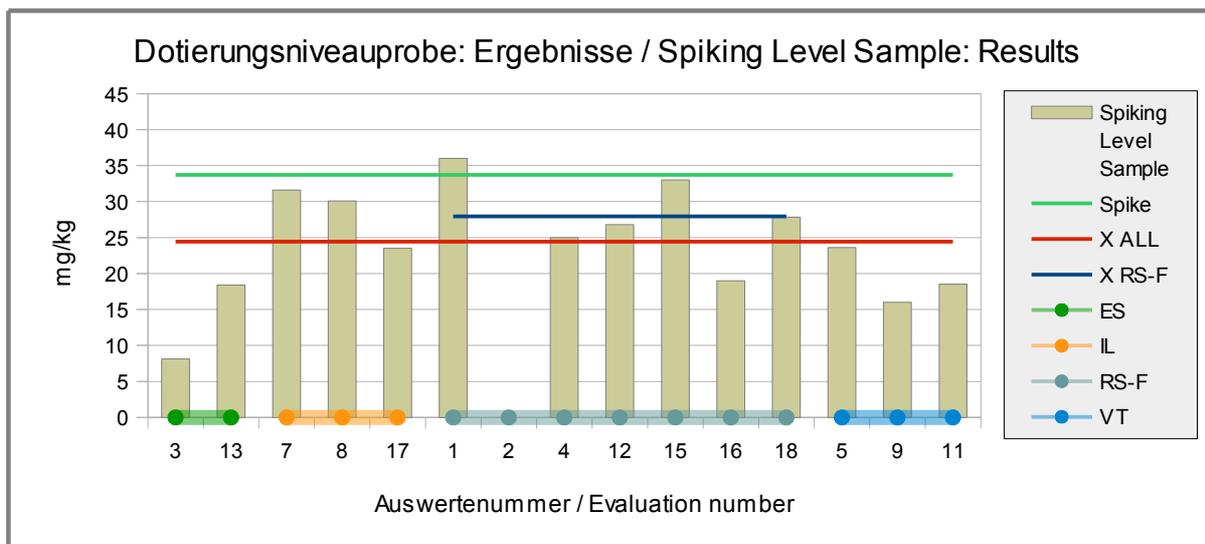


Abb./Fig. 6: ELISA-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

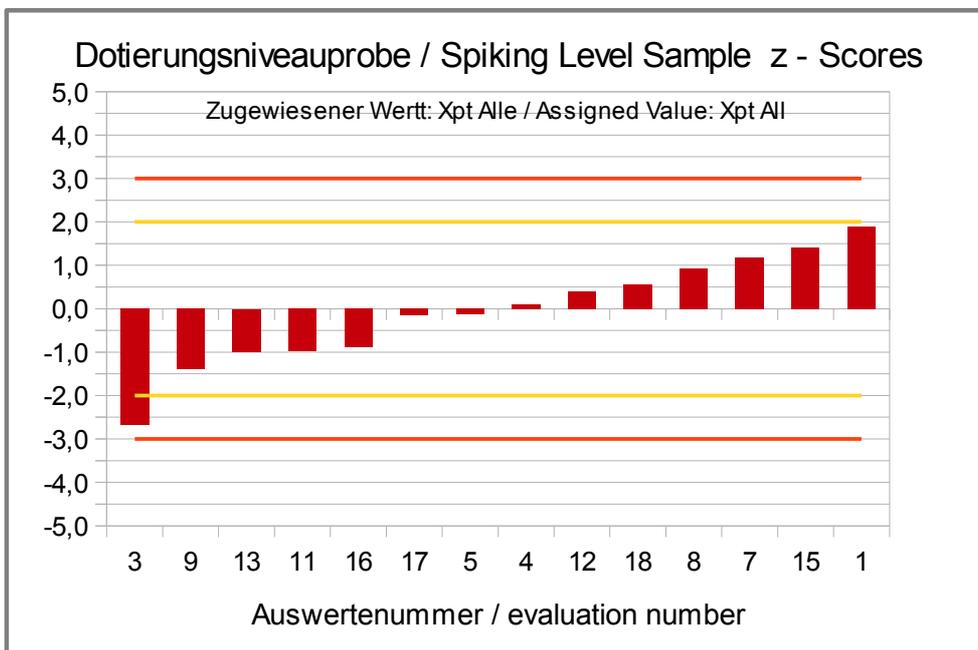


Abb./Fig. 7:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Haselnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

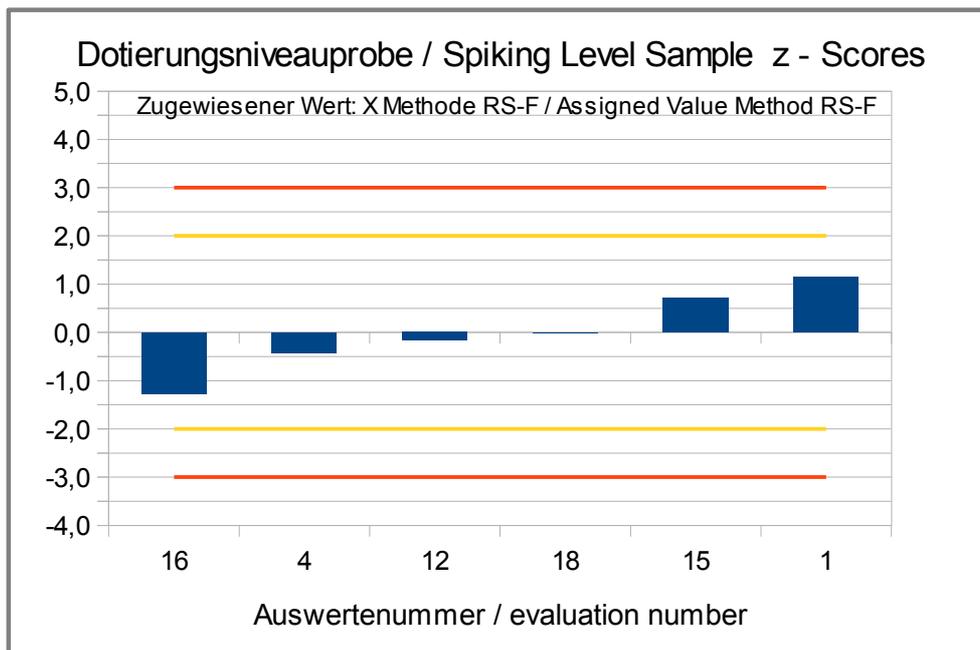


Abb./Fig. 8:

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

**Wiederfindungsraten ELISA für Haselnuss:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | Wiederfindungsrate* | Probe A | Wiederfindungsrate* | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|------------------------|
| | [mg/kg] | [%] | [mg/kg] | [%] | | |
| 3 | 8,13 | 24 | 8,33 | 33 | ES | |
| 13 | 18,4 | 55 | 6,24 | 24 | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 7 | 31,6 | 94 | 1,80 | 7,1 | IL | |
| 8 | 30,1 | 89 | 2,30 | 9,0 | IL | |
| 17 | 23,5 | 70 | 1,48 | 5,8 | IL | |
| 1 | 36,0 | 107 | 3,50 | 14 | RS-F | |
| 2 | - | | 3,90 | 15 | RS-F | |
| 4 | 25,0 | 74 | 3,00 | 12 | RS-F | |
| 12 | 26,8 | 80 | 3,60 | 14 | RS-F | |
| 15 | 33,0 | 98 | 3,90 | 15 | RS-F | |
| 16 | 19,0 | 56 | 3,50 | 14 | RS-F | |
| 18 | 27,8 | 83 | 3,01 | 12 | RS-F | |
| 5 | 23,6 | 70 | 16,2 | 64 | VT | |
| 9 | 16,0 | 47 | 4,30 | 17 | VT | |
| 11 | 18,5 | 55 | 3,70 | 15 | VT | |

° Umrechnung S. 19

| AB** | 50-150 % | AB** | 50-150 % |
|---------------|----------|---------------|----------|
| Anzahl im AB | 12 | Anzahl im AB | 1 |
| Prozent im AB | 86 | Prozent im AB | 7 |

Methoden:

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Haselnuss, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

86% der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lag nur eine der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Alle anderen Ergebnisse lagen deutlich unter 50%.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Haselnuss

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 | | |
| 1 | negativ | | negativ | | 1/1 (100%)* | ASU | *keine Positivprobe identifiziert |
| 3 | negativ | | negativ | | 1/1 (100%)* | ASU | *keine Positivprobe identifiziert |
| 20 | negativ | | negativ | | 1/1 (100%)* | MS | *keine Positivprobe identifiziert |
| 14a | negativ | | negativ | | 1/1 (100%)* | SFA-4p | *keine Positivprobe identifiziert |
| 14b | positiv | < 5 | negativ | | 1/1 (100%) | SFA-ID | |
| 15 | positiv | > 0,4 | negativ | <0.4 | 1/1 (100%) | SFA-ID | |
| 6 | positiv | | negativ | | 1/1 (100%) | SFA-Q | |
| 10 | negativ | < 5 | negativ | < 5 | 1/1 (100%)* | div | *keine Positivprobe identifiziert |
| 19 | negativ | | negativ | | 1/1 (100%)* | div | *keine Positivprobe identifiziert |

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 3 | 0 |
| Anzahl negativ | 6 | 9 |
| Prozent positiv | 33 | 0 |
| Prozent negativ | 67 | 100 |
| Konsenswert | keiner | negativ |

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

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für Probe B wurde ein Konsenswert von 100% negativen Ergebnissen erhalten. Für die dotierte Probe A konnte kein Konsenswert von $\geq 75\%$ festgestellt werden. Es wurden nur 3 positive Ergebnisse für Probe A mittels PCR erhalten.

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

Eine quantitative Auswertung erfolgte nicht, weil keine quantitativen Ergebnisse angegeben wurden.

(Quantitative) Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

| Auswertenummer | Haselnuss pos/neg | Haselnuss [mg/kg] | z-Score Xpt _{ALL} | Methode | Hinweis |
|----------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---------|---------|
| 1 | negativ | | | ASU | |
| 3 | positiv | | | ASU | |
| 20 | negativ | | | MS | |
| 14a | positiv | 30 | | SFA-4p | |
| 14b | positiv | 27,5 | | SFA-ID | |
| 15 | positiv | >0.4 | | SFA-ID | |
| 6 | positiv | | | SFA-Q | |
| 10 | positiv | 15 | | div | |
| 19 | positiv | | | div | |

| | | |
|-----------------|---------|--|
| Anzahl positiv | 7 | |
| Anzahl negativ | 2 | |
| Prozent positiv | 78 | |
| Prozent negativ | 22 | |
| Konsenswert | 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:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 78% positive Ergebnisse und 2 negative Ergebnisse erhalten.

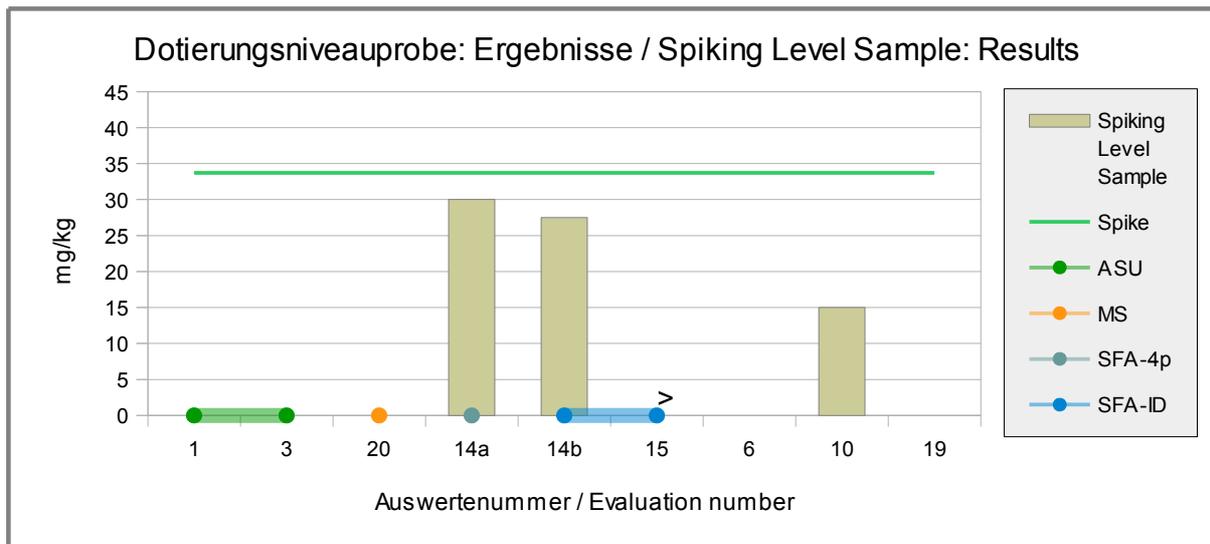


Abb./Fig. 9: PCR-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten PCR für Haselnuss:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | Wiederfindungsrate* | Probe A | Wiederfindungsrate* | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [mg/kg] | [%] | | |
| 1 | | | | | ASU | |
| 3 | | | | | ASU | |
| 20 | | | | | MS | |
| 14a | 30 | 89 | | | SFA-4p | |
| 14b | 27,5 | 82 | < 5 | - | SFA-ID | |
| 15 | >0.4 | | > 0,4 | - | SFA-ID | |
| 6 | | | | | SFA-Q | |
| 10 | 15 | 45 | < 5 | - | div | |
| 19 | | | | | div | |

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

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Haselnuss, 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:

2 von 3 Teilnehmern haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Ein Ergebnis lag etwas unterhalb dieses Bereichs. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen keine quantitativen Ergebnisse vor.

4.1.3 LC/MS-Ergebnisse: Haselnuss

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 Dotierungen | | |
| 6 | positiv | 17,0 | negativ | < 10 | 2/2 (100%) | LC-MS | |

° Umrechnung S. 20

Methoden:

LC-MS = Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie

Anmerkung:

Es wurde nur ein Ergebnissatz mittels LC-MS-Methode eingereicht. Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

Quantitative Auswertung LC/MS: Probe A

Eine quantitative Auswertung erfolgte nicht, weil nur ein Ergebnis vorlag.

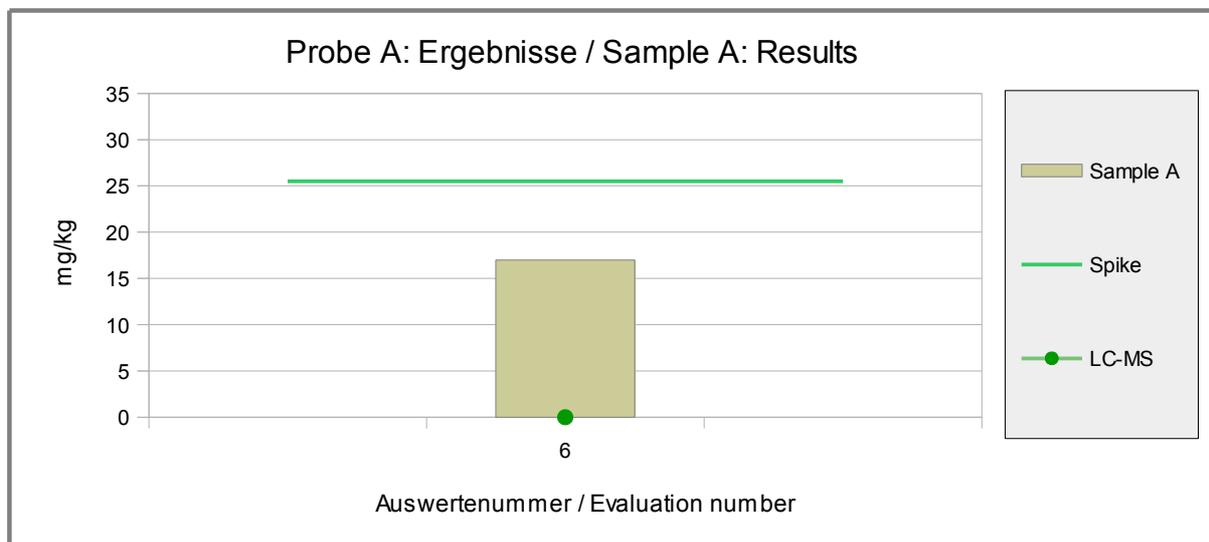


Abb./Fig. 10: LC/MS-Ergebnisse Haselnuss

grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

(Quantitative) Auswertung LC/MS: Dotierungsniveauprobe

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

| Auswertenummer | Haselnuss | z-Score X _{p_tALL} | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------|--|---------|---------|
| | [mg/kg] | | | |
| 6 | 27,6 | | LC-MS | |

Methoden:

LC-MS = Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie

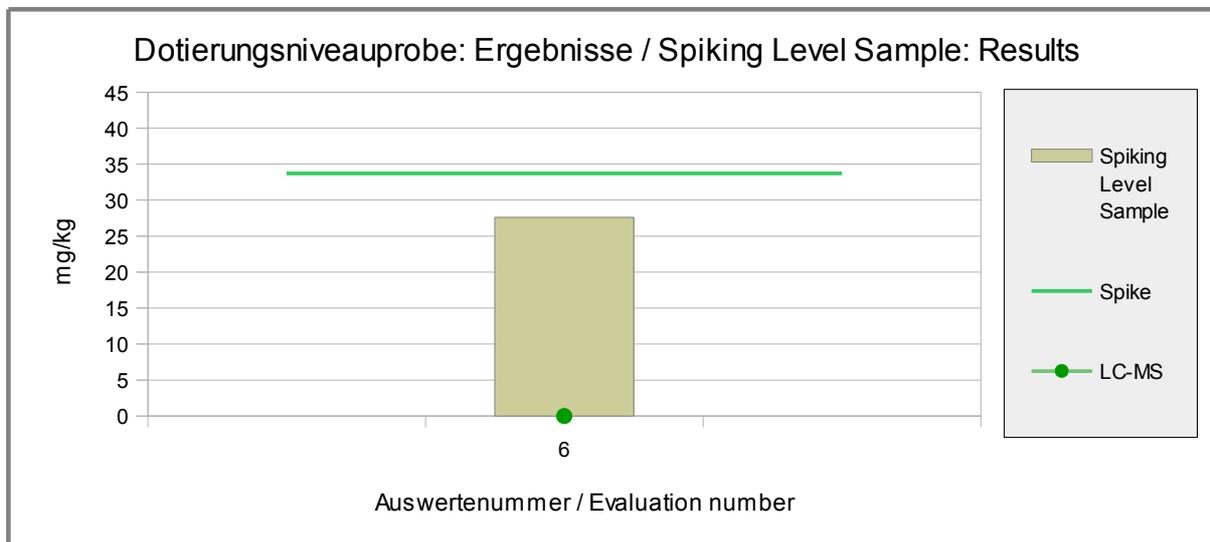


Abb./Fig. 11: LC/MS-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten LC/MS für Haselnuss:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | Wiederfindungsrate* | Probe A | Wiederfindungsrate* | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [mg/kg] | [%] | | |
| 6 | 27,6 | 82 | 17,0 | 67 | LC-MS | |

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

Methoden:

LC-MS = Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Haselnuss, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Der Teilnehmer hat sowohl für die Dotierungsniveauprobe als auch die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A mittels LC/MS-Methode eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

4.2 Vergleichsuntersuchung Walnuss

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Walnuss

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

| Auswertenummer | Probe A | Probe A | Probe B | Probe B | Qualitative Bewertung | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|---------|---------|-------------------------------------|---------|------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | pos/neg | [mg/kg] | Übereinstimmungen mit Konsenswerten | | |
| 2 | positiv | 14,0 | negativ | < 2,0 | 2/2 (100%) | AQ | |
| 20 | positiv | 102 | negativ | | 2/2 (100%) | AQ | Ergebnis umgerechnet ° |
| 18 | positiv | 10,6 | negativ | < 2 | 2/2 (100%) | BC | |
| 11 | positiv | 2,70 | negativ | < 2,0 | 2/2 (100%) | BF | |
| 16 | positiv | 3,40 | negativ | < 2 | 2/2 (100%) | BF | |
| 13 | positiv | 13,0 | negativ | 3 | 2/2 (100%) | BK | |
| 15 | positiv | 13,0 | negativ | < 0,25 | 2/2 (100%) | BK | |
| 5 | positiv | 20,1 | negativ | < 0,5 | 2/2 (100%) | BM | |
| 7 | positiv | 12,8 | negativ | < 2 | 2/2 (100%) | IL | |
| 8 | positiv | 14,6 | negativ | < 1 | 2/2 (100%) | IL | |
| 17 | positiv | 19,6 | negativ | < 1 | 2/2 (100%) | NL | Ergebnis umgerechnet ° |

° Umrechnung S. 20

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

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 BK = BioKits, Neogen
 BM = AlerTox ELISA, Biomedal
 IL = Immunolab
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

| Auswertenummer | Walnuss [mg/kg] | z-Score $X_{pt_{ALL}}$ | Methode | Hinweis |
|----------------|--------------------|---------------------------|---------|---|
| 2 | 14,0 | 0,15 | AQ | |
| 20 | 102 | 26,2 | AQ | Ergebnis umgerechnet ° / und ausgeschlossen |
| 18 | 10,6 | -0,8 | BC | |
| 11 | 2,70 | -3,2 | BF | Ergebnis ausgeschlossen |
| 16 | 3,40 | -3,0 | BF | Ergebnis ausgeschlossen |
| 13 | 13,0 | -0,15 | BK | |
| 15 | 13,0 | -0,15 | BK | |
| 5 | 20,1 | 2,0 | BM | |
| 7 | 12,8 | -0,21 | IL | |
| 8 | 14,6 | 0,33 | IL | |
| 17 | 19,6 | 1,8 | NL | Ergebnis umgerechnet ° |

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

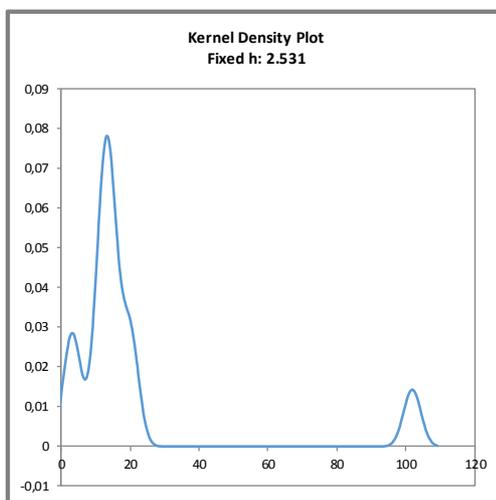
BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

BM = AlerTox ELISA, Biomedal

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

**Abb. / Fig. 12:**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 mit annähernd einer Normalverteilung der Ergebnisse sowie einen Nebenpeak bei ca. 3 mg/kg (Methode BF) und einen Nebenpeak bei ca. 100 mg/kg (Methode AQ), der auf einen Ausreißer zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Walnuss

Probe A

| Kenndaten | Alle Ergebnisse [mg/kg] |
|--|-----------------------------------|
| Zugewiesener Wert (X_{pt}) | X_{pt_ALL} |
| Anzahl der Messergebnisse ** | 8 |
| Anzahl der Ausreißer | 0 |
| Mittelwert | 14,7 |
| Robuster Mittelwert | 14,7 |
| Median (X_{pt}) | 13,5 |
| Robuste Standardabweichung (S^*) | 3,82 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 3,38 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 6,75 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 20,3 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 1,1 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 1,69 |
| Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$ | 0,50 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 8 |
| Prozent im Zielbereich | 100 |

** ohne Auswertenummern 11, 16 u. 20

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte methodenabhängige Unterschiede, daher wurden die Ergebnisse der Methode BF (Nr. 11, 16) vor der gemeinsamen statistischen Auswertung ausgeschlossen. Der Ausreißer Nr. 20 wurde ebenfalls ausgeschlossen.

Als zugewiesener Wert wurde der Median verwendet (vgl. 3.1). Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden (ohne Methode BF) zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag deutlich unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der Median der Auswertungen lag mit 43% vom Zusatzniveau von Walnuss zu Probe A etwas unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Walnuss" S.46).

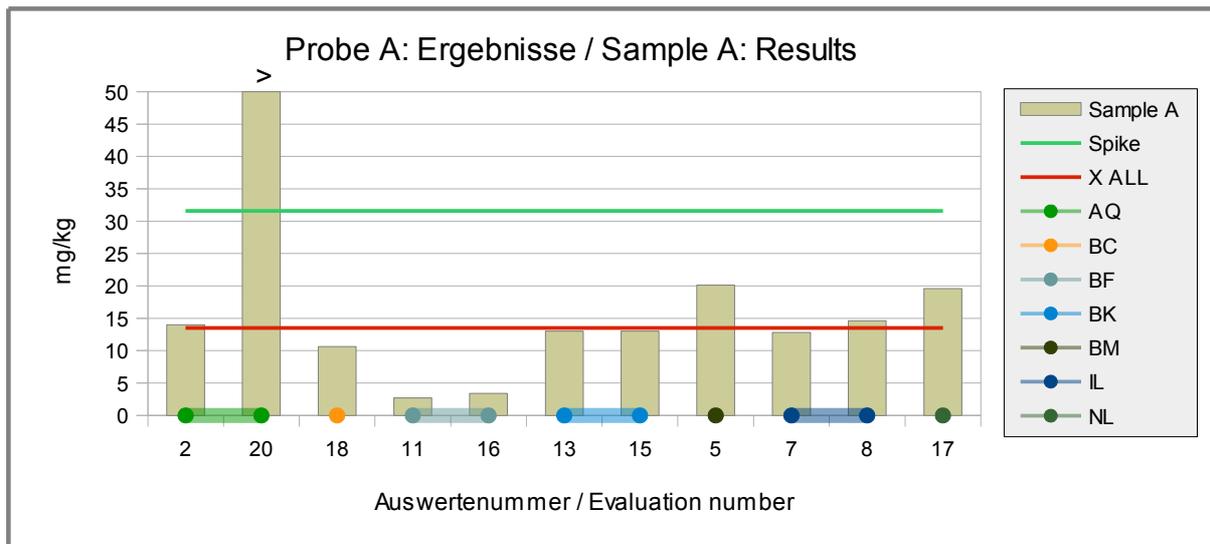


Abb./Fig. 13: ELISA-Ergebnisse Walnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = zugewiesener Wert Median aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

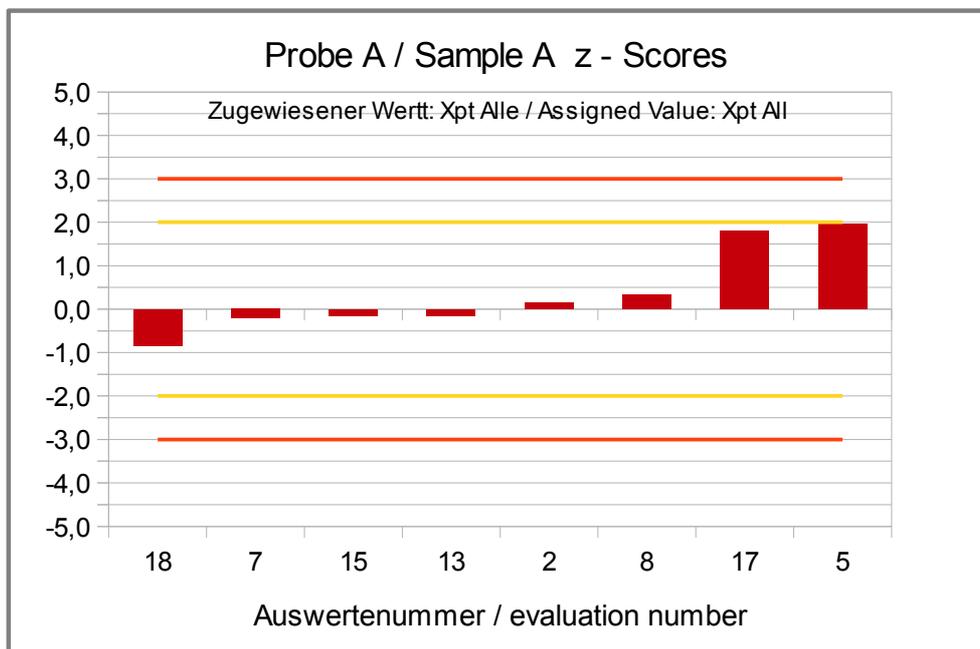


Abb./Fig. 14:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Walnuss)
 Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

| Auswertenummer | Walnuss [mg/kg] | z-Score $X_{pt,ALL}$ | Methode | Hinweis |
|----------------|--------------------|-------------------------|---------|---|
| 2 | - | | AQ | |
| 20 | 499 | 14,5 | AQ | Ergebnis umgerechnet ° / und ausgeschlossen |
| 18 | 113 | 0,21 | BC | |
| 11 | 80,2 | -1,0 | BF | |
| 16 | > 80 | | BF | |
| 13 | 140 | 1,2 | BK | |
| 15 | 120 | 0,46 | BK | |
| 5 | 100 | -0,27 | BM | |
| 7 | 120 | 0,46 | IL | |
| 8 | 104 | -0,14 | IL | |
| 17 | 83,8 | -0,89 | NL | Ergebnis umgerechnet ° |

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

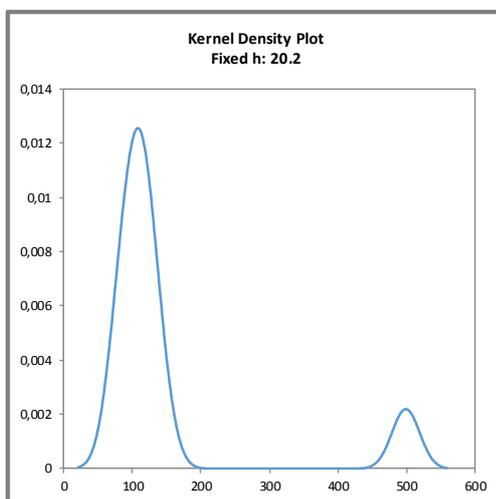
BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

BM = AlerTox ELISA, Biomedal

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

**Abb. / Fig. 15:**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 einem Nebenpeak, der auf eine Ausreißer zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Walnuss

Dotierungsniveauprobe

| Kenndaten | Alle Ergebnisse [mg/kg] |
|--|-----------------------------------|
| Zugewiesener Wert (X_{pt}) | X_{pt_ALL} |
| Anzahl der Messergebnisse ** | 8 |
| Anzahl der Ausreißer | 0 |
| Mittelwert | 108 |
| Median | 109 |
| Robuster Mittelwert (X_{pt}) | 108 |
| Robuste Standardabweichung (S*) | 22,6 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 26,9 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 53,9 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 162 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 0,84 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 9,97 |
| Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$ | 0,37 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 8 |
| Prozent im Zielbereich | 100 |

** ohne Auswertenummern 16 u. 20

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine Normalverteilung.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 1,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lagen mit 284% vom Zusatzniveau von Walnuss zur Dotierungsniveauprobe um fast das Doppelte über den relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Walnuss" S.46).

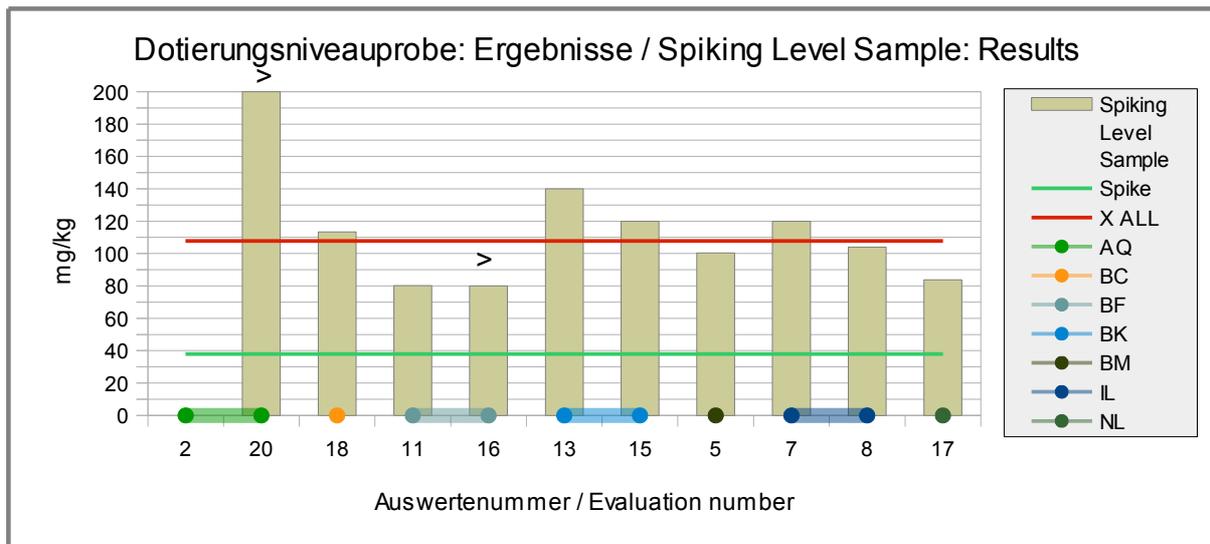


Abb./Fig. 16: ELISA-Ergebnisse Walnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

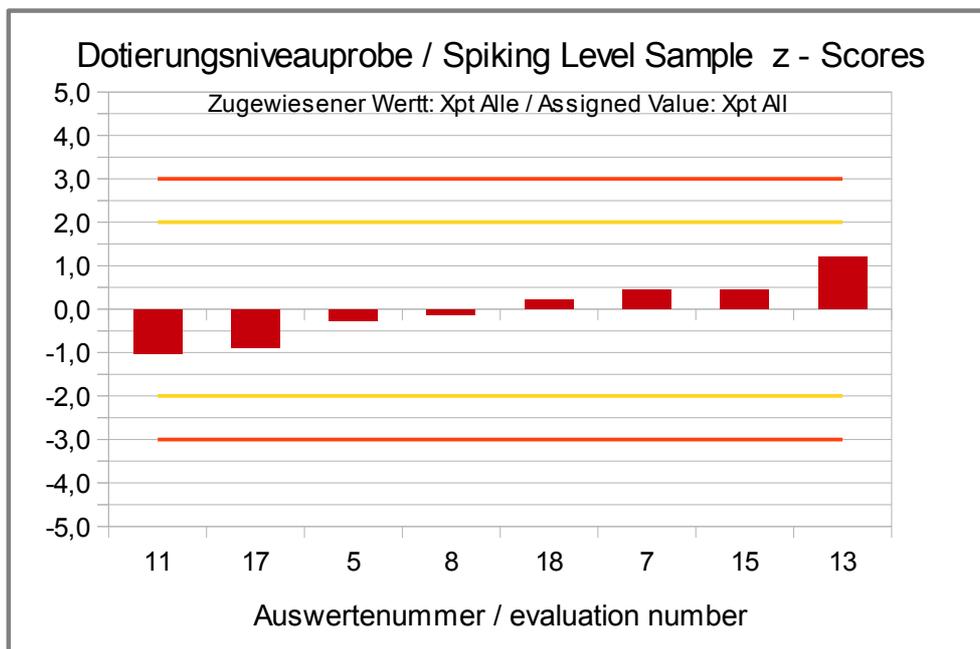


Abb./Fig. 17:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Walnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

**Wiederfindungsraten ELISA für Walnuss:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | Wiederfindungsrate* | Probe A | Wiederfindungsrate* | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|------------------------|
| | [mg/kg] | [%] | [mg/kg] | [%] | | |
| 2 | - | | 14,0 | 44 | AQ | |
| 20 | 499 | 1313 | 102 | 323 | AQ | Ergebnis umgerechnet ° |
| 18 | 113 | 298 | 10,6 | 34 | BC | |
| 11 | 80,2 | 211 | 2,70 | 9 | BF | |
| 16 | > 80 | | 3,40 | 11 | BF | |
| 13 | 140 | 368 | 13,0 | 41 | BK | |
| 15 | 120 | 316 | 13,0 | 41 | BK | |
| 5 | 100 | 264 | 20,1 | 64 | BM | |
| 7 | 120 | 316 | 12,8 | 41 | IL | |
| 8 | 104 | 274 | 14,6 | 46 | IL | |
| 17 | 83,8 | 221 | 19,6 | 62 | NL | Ergebnis umgerechnet ° |

° Umrechnung S. 19

| AB** | 50-150 % | AB** | 50-150 % |
|---------------|----------|---------------|-----------|
| Anzahl im AB | 0 | Anzahl im AB | 2 |
| Prozent im AB | 0 | Prozent im AB | 18 |

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Walnus, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

BM = AlerTox ELISA, Biomedal

IL = Immunolab

NL = nutrilinia® Allergen-ELISA

Anmerkung:

Keine der Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe lag mittels ELISA im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150%. Es ist hierbei zu berücksichtigen, dass der Rohstoff in Form von rohen Walnüssen in der Dotierungsniveauprobe eingesetzt wurde.

Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen zwei der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Mit einer Ausnahme lagen alle anderen Ergebnisse unter 50%.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Walnuss**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 | | |
| 14 | positiv | < 5 | negativ | | 2/2 (100%) | SFA-4p | |
| 4 | positiv | | negativ | | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 15 | positiv | > 0,4 | negativ | < 0,4 | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 18 | positiv | 5,70 | negativ | < 1 | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 1 | negativ | | negativ | | 1/2 (50%) | div | |
| 10 | negativ | < 10 | negativ | < 10 | 1/2 (50%) | div | |
| 12 | positiv | 1,90 | negativ | < 2,5 | 2/2 (100%) | div | |
| 19 | positiv | | negativ | | 2/2 (100%) | div | |

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 6 | 0 |
| Anzahl negativ | 2 | 8 |
| Prozent positiv | 75 | 0 |
| Prozent negativ | 25 | 100 |
| Konsenswert | positiv | negativ |

Methoden:

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 A.

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

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

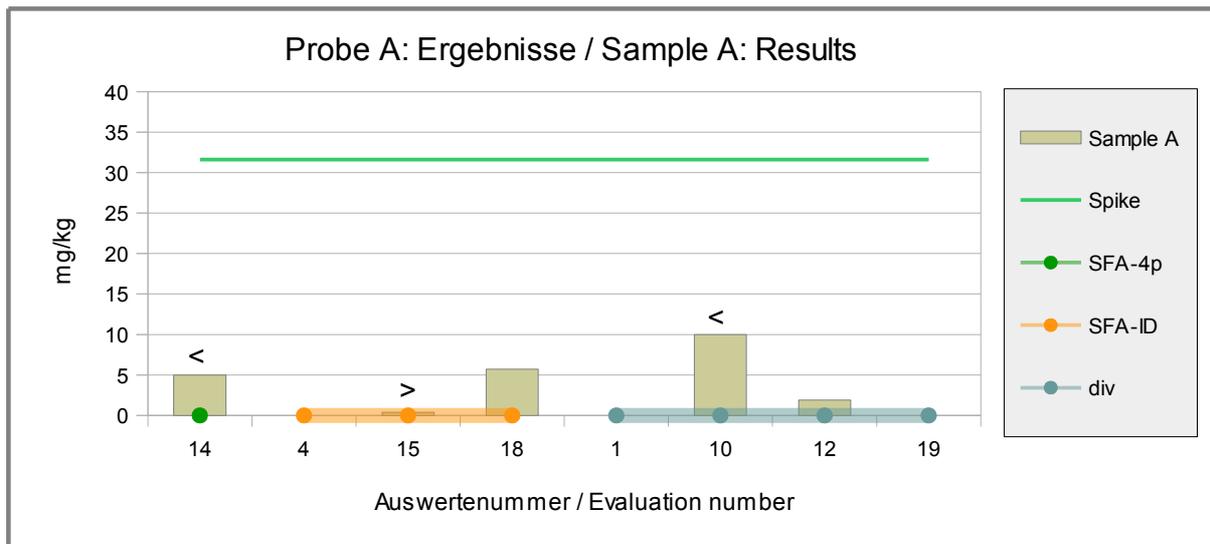


Abb./Fig. 18: PCR-Ergebnisse Walnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

(Quantitative) Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

| Auswertenummer | Walnuss pos/neg | Walnuss [mg/kg] | z-Score Xpt _{ALL} | Methode | Hinweis |
|----------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|---------|---------|
| 14 | positiv | 27 | | SFA-4p | |
| 4 | positiv | | | SFA-ID | |
| 15 | positiv | > 0,4 | | SFA-ID | |
| 18 | positiv | 100 | | SFA-ID | |
| 1 | positiv | | | div | |
| 10 | positiv | 59 | | div | |
| 12 | positiv | 63 | | div | |
| 19 | positiv | | | div | |

| | |
|-----------------|---------|
| Anzahl positiv | 8 |
| Anzahl negativ | 0 |
| Prozent positiv | 100 |
| Prozent negativ | 0 |
| Konsenswert | positiv |

Methoden:

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:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

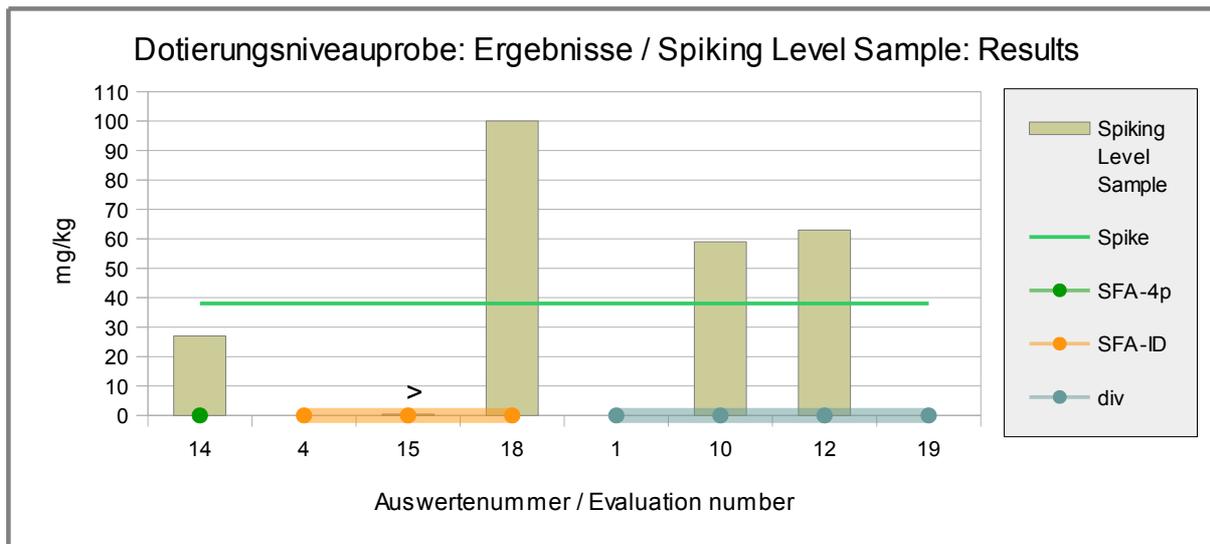


Abb./Fig. 19: PCR-Ergebnisse Walnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten PCR für Walnuss:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | Wiederfindungsrate* | Probe A | Wiederfindungsrate* | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [mg/kg] | [%] | | |
| 14 | 27 | 71 | < 5 | - | SFA-4p | |
| 4 | | | | | SFA-ID | |
| 15 | > 0,4 | - | > 0,4 | - | SFA-ID | |
| 18 | 100 | 263 | 5,70 | 18 | SFA-ID | |
| 1 | | | | | div | |
| 10 | 59 | 155 | < 10 | - | div | |
| 12 | 63 | 166 | 1,90 | 6 | div | |
| 19 | | | | | div | |

| AB** | 50-150 % | AB** | 50-150 % |
|---------------|----------|---------------|----------|
| Anzahl im AB | 1 | Anzahl im AB | 0 |
| Prozent im AB | 25 | Prozent im AB | 0 |

Methoden:

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: Walnuss, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Einer von 4 Teilnehmern hat mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Zwei Ergebnisse lagen etwas oberhalb dieses Bereichs. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A wurden zwei Ergebnisse unterhalb des Akzeptanzbereichs angegeben.

4.2.3 LC/MS-Ergebnisse: Walnuss**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 Dotierungen | | |
| 6 | positiv | | negativ | | 2/2 (100%) | LC-MS | |

° Umrechnung S. 20

Methoden:

LC-MS = Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie

Anmerkung:

Es wurde nur ein Ergebnissatz mittels LC-MS-Methode eingereicht. Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

Quantitative Auswertung LC/MS: Probe A

Eine quantitative Auswertung erfolgte nicht, weil keine quantitativen Ergebnisse vorlagen.

Quantitative Auswertung LC/MS: Dotierungsniveauprobe

Eine quantitative Auswertung erfolgte nicht, weil keine quantitativen Ergebnisse vorlagen (qualitatives Ergebnis s. Dokumentation).

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: Haselnuss

| 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 | | |
| ES | 3 | | positiv | 8,33 | negativ | < 5 | positiv | 8,13 | Lebensmittel Haselnuss | ELISA Systems Hazelnut ESHRD-48 |
| ES | 13 | 26.9. | positiv | 0,88 | negativ | <0,5 | positiv | 2,6 | Haselnussprotein | ELISA Systems Hazelnut ESHRD-48 |
| IL | 7 | 24.10.17 | - | 1,8 | - | <1 | - | 31,6 | Haselnuss | Immunolab Hazelnut ELISA |
| IL | 8 | 18.09.17 | positiv | 2,3 | negativ | < 0,5 ppm | positiv | 30,1 | Haselnuss | Immunolab Hazelnut ELISA |
| IL | 17 | 09.10.17 | positiv | 1,48 | negativ | < 0,3 | positiv | 23,5 | Haselnuss | Immunolab Hazelnut ELISA |
| RS-F | 1 | 29.09.17 | positiv | 3,5 | negativ | <2,5 | positiv | 36 | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| RS-F | 2 | 17.10.17 | positiv | 3,9 | negativ | <1.5 | - | - | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| RS-F | 4 | 06.10.17 | positiv | 3 | negativ | < 2,5 | positiv | 25 | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| RS-F | 12 | 19.10. | positiv | 3,6 | - | <2.5 | - | 26,8 | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| RS-F | 15 | 10.10.17 | positiv | 3,9 | negativ | <1.5 | positiv | 33 | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| RS-F | 16 | 15.09.17 | positiv | 3,5 | negativ | <2,5 | positiv | 19 | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| RS-F | 18 | 04.10.17 | positiv | 3,01 | negativ | <2.5 | positiv | 27,82 | Haselnuss | Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm |
| VT | 5 | 20.10.17 | - | 16,21 | - | 0,51 | - | 23,62 | Haselnuss | Veratox Hazelnut, Neogen |
| VT | 9 | 20.09.17 | - | 4,3 | - | <2.5 | - | 16 | Haselnuss | Veratox Hazelnut, Neogen |
| VT | 11 | 18/10 | positiv | 3,7 | negativ | <2.5 | positiv | 18,5 | Haselnuss | Veratox Hazelnut, Neogen |

Fortsetzung ELISA Haselnuss:

| 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 | |
| ES | 3 | anti-Haselnuss | nach Testanleitung | ja | |
| ES | 13 | Haselnussproteine | lt. Herstellerangaben | ja | |
| IL | 7 | | | nein | |
| IL | 8 | | | | |
| IL | 17 | | | ja | |
| RS-F | 1 | | Extraktion aus 1 g Einwaage mit Milchpulver gemäß Handbuch | ja | |
| RS-F | 2 | | 20mL/10 min bei 60°C | ja | |
| RS-F | 4 | | nach Herstelleranleitung | ja | |
| RS-F | 12 | | | | |
| RS-F | 15 | | | ja | |
| RS-F | 16 | | | ja | |
| RS-F | 18 | nach Testkit-Anleitung | nach Testkit-Anleitung | ja | |
| VT | 5 | | Extraktionslösung TBS | nein | Elisa Rombonik |
| VT | 9 | Haselnussprotein | Extraktionslösung Phosphatpuffer (10 mM PBS) / 15 Min. / 60°C | nein | Probe A) Tester 1=5.1 ppm, Tester 2=3.5 ppm. Probe B) Tester 1=13.4 ppm, Tester 2=18.5 ppm. Dot.-Probe) Tester 1 und 2 je <2.5 ppm. Test 1 am 20.09.17, Test 2 am 24.10.17 |
| VT | 11 | | | ja | |

5.1.2 ELISA: Walnuss

| 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 | 2 | 18.10.17 | positiv | 14 | negativ | <2.0 | - | - | Walnuss | AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs |
| AQ | 20 | 27.09. | positiv | 13,9 | negativ | | positiv | 67,9 | Walnussprotein | AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs |
| BC | 18 | 04.10.17 | positiv | 10,64 | negativ | <2 | positiv | 113,4 | Walnuss | BioCheck ELISA Walnut-Check |
| BF | 11 | 17/10 | positiv | 2,7 | negativ | <2.0 | positiv | 80,2 | Walnuss | BioFront Technologies |
| BF | 16 | 21.09.17 | positiv | 3,4 | negativ | <2 | positiv | >80 | Walnuss | MonoTrace Walnut ELISA kit, BioFront Technologies |
| BK | 13 | 28.9. | positiv | 13 | negativ | 3 | positiv | 140 | Walnuss | BioKits Walnut Assay Kit, Neogen |
| BK | 15 | 10.10.17 | positiv | 13 | negativ | <0.25 | positiv | 120 | Walnuss | BioKits Walnut Assay Kit, Neogen |
| BM | 5 | 27/10/17 | - | 20,1 | - | <0.5 | - | 100,4 | Walnuss | BIOMEDAL Alertox Walnut |
| IL | 7 | 24.10.17 | - | 12,8 | - | <2 | - | 120 | Walnuss | Immunolab Walnut ELISA |
| IL | 8 | 18.09.17 | positiv | 14,6 | negativ | < 1 ppm | positiv | 104 | Walnuss | Immunolab Walnut ELISA |
| NL | 17 | 09.10.17 | positiv | 2,66 | negativ | < 0,09 | positiv | 11,4 | Walnussprotein | nutriLinia® Walnut-ELISA |

| 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 | | | 20mL / 15min / 60°C | ja | |
| AQ | 20 | | Extraktion nach Kit-Anleitung | ja | |
| BC | 18 | nach Testkit-Anleitung | nach Testkit-Anleitung | ja | |
| BF | 11 | | | nein | |
| BF | 16 | | | ja | |
| BK | 13 | Walnussproteine | lt. Herstellerangaben | ja | |
| BK | 15 | | | nein | |
| BM | 5 | | Extraktionslösung TBS | nein | Elisa Rombonik |
| IL | 7 | | | nein | |
| IL | 8 | | | | |
| NL | 17 | | | ja | |

5.1.3 PCR: Haselnuss

| 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 | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | | Test-Kit + Anbieter |
| ASU | 1 | 11.10.17 | negativ | | negativ | | negativ | | Haselnuss-DNA | andere: bitte eingeben! |
| ASU | 3 | | negativ | | negativ | | positiv | | Haselnuss-DNA | ASU §64 L 44.00-8 (PCR Haselnuss) |
| MS | 20 | | negativ | | negativ | | negativ | | Haselnuss-DNA | Microsynth |
| SFA-4p | 14a | 22.09. | negativ | | negativ | | positiv | 30 | Haselnuss | Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 14b | 22.09. | positiv | < 5 | negativ | | positiv | 27,5 | Haselnuss | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 15 | 10.10.17 | positiv | >0.4 | negativ | <0.4 | positiv | >0.4 | Haselnuss DNA | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-Q | 6 | | positiv | | negativ | | positiv | | Haselnuss | SureFood® ALLERGEN QUANT Hazelnut |
| div | 10 | | negativ | < 5 | negativ | < 5 | positiv | 15 | Haselnuss | Köppel et al (2010) Eur. Food Res. Technol. 230: 367-374. |
| div | 19 | 27.10.17 | negativ | | negativ | | positiv | | Bitte auswählen! | andere: Hausverfahren |

| 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 | 1 | Haselnuss | Extraktion aus 2 g Einwaage mit Machery & Nagel NucleoSpin Food Kit, PCR als Multiplex nach §64 44.00-8 | ja | In der Dotierungsprobe schwache Signale erkennbar |
| ASU | 3 | 152 bp Gen corA 1 | Dneasy [®] mericon Food Kit/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen | ja | |
| MS | 20 | | Machery Nagel Nucleo Spin Food mit Optimierungen: erhöhte Einwaage, Umpufferung (Waschschritt mit Lysis Buffer) RNase-Schritt, Chloroform-Schritt, 2xQW; RealTime PCR mit 45 Zyklen, Dekontaminationsschritt mit UNG; eigenes Thermoprofil; Inhibitionskontrolle | ja | NWG 0,005% DNA; Probe A im geringen Spuren-Bereich |
| SFA-4p | 14a | | CTAB + Qiaquick Reinigung | | |
| SFA-ID | 14b | | CTAB + Qiaquick Reinigung | | |
| SFA-ID | 15 | | | ja | |
| SFA-Q | 6 | - | Sure Food Prep Advanced, angelehnt an Prep Allergen | ja | |
| div | 10 | Cor A1 (85 bp) | Extraktion: CTAB-Präzipitationsmethode (s. ASU) | ja | Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Haselnuss entfettet |
| div | 19 | | CTAB und Nanopartikel, Real-Time PCR | ja | |

5.1.4 PCR: Walnuss

| 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 | | |
| SFA-4p | 14 | 22.09. | positiv | <5 | negativ | | positiv | 27 | Walnuss | Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 4 | 13.10.17 | positiv | | negativ | | positiv | | Walnuss-DNA | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 15 | 10.10.17 | positiv | >0.4 | negativ | <0.4 | positiv | >0.4 | Walnuss DNA | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 18 | 07.10.17 | positiv | 5,7 | negativ | <1 | positiv | 100 | Walnut | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| div | 1 | 11.10.17 | negativ | | negativ | | positiv | | Walnuss-DNA | andere: bitte eingeben! |
| div | 10 | | negativ | < 10 | negativ | < 10 | positiv | 59 | Walnuss | Brezna et al (2006) Eur Food Res. Technol 223:373-377 |
| div | 12 | 22.09. | positiv | 1,9 | - | <2.5 | - | 63 | Walnuss | López-Calleja I et al. 2015 |
| div | 19 | 25.10.17 | positiv | | negativ | | positiv | | Bitte auswählen! | andere: Hausverfahren |

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|------------------------|--|---|---|--|
| | | | Antikörper | z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur | | |
| SFA-4p | 14 | | | CTAB + Qiaquick Reinigung | | |
| SFA-ID | 4 | | | nach Herstelleranleitung, Aufarbeitung mit SureFast PREP Advanced, R-Biopharm/Congen | nein | |
| SFA-ID | 15 | | | | ja | |
| SFA-ID | 18 | nach Testkit-Anleitung | | nach Testkit-Anleitung | nein | |
| div | 1 | Walnuss | | Extraktion aus 2 g Einwaage mit Machery & Nagel NucleoSpin Food Kit, ; Brezna et al, Eur Food Res Technol, 2006 | ja | |
| div | 10 | Jug R2 (88bp) | | Extraktion: CTAB-Präzipitationsmethode (s. ASU) | ja | Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Walnuss entfettet |
| div | 12 | | | | | |
| div | 19 | | | CTAB, Real-Time PCR | nein | |

5.1.5 LC/MS: Haselnuss

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse Tag/Monat | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | Quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein | Methode Test-Kit + Anbieter |
|------------|----------------|--------------------------------|------------------|-------|------------------|-------|--------------------------|-------|---|--------------------------------|
| | | | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | | |
| LC-MS | 6 | | positiv | 17 | negativ | < 10 | positiv | 27,6 | Haselnuss | LC-MS/MS |

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|---------------|---|--|---|-------------------|
| | | | | | ja/nein | |
| LC-MS | 6 | Markerpeptide | wässrige Extraktion mit Hamstoff nach Hexan.-Entfettung, anschließend tryptischer Verdau und Festphasenextraktion | | ja | |

5.1.6 LC/MS: Walnuss

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse Tag/Monat | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | Quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein | Methode Test-Kit + Anbieter |
|------------|----------------|--------------------------------|------------------|-------|------------------|-------|--------------------------|-------|---|--------------------------------|
| | | | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | | |
| LC-MS | 6 | | positiv | | negativ | | positiv | | Walnuss | LC-MS/MS |

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|---------------|---|--|---|-------------------|
| | | | | | ja/nein | |
| LC-MS | 6 | Markerpeptide | wässrige Extraktion mit Hamstoff nach Hexan.-Entfettung, anschließend tryptischer Verdau und Festphasenextraktion | | | |

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA 05-2017 Probe A

| | | |
|----------------------|--------------|-------|
| Gewicht Gesamtprobe | 2,64 | kg |
| Microtracer | FSS-rot lake | |
| Teilchengröße | 75 – 300 | µm |
| Gewicht pro Partikel | 2,0 | µg |
| Tracerzugabe | 29,8 | mg/kg |

Analysenergebnisse:

| Probe | Einwaage [g] | Partikel Anzahl | Partikel [mg/kg] |
|-------|--------------|-----------------|------------------|
| 1 | 5,02 | 72 | 28,7 |
| 2 | 5,00 | 61 | 24,4 |
| 3 | 5,12 | 74 | 28,9 |
| 4 | 5,10 | 74 | 29,0 |
| 5 | 5,06 | 72 | 28,5 |
| 6 | 5,07 | 72 | 28,4 |
| 7 | 4,98 | 68 | 27,3 |
| 8 | 5,08 | 63 | 24,8 |

Poisson-Verteilung

| | | |
|---------------------------|-----------|----------|
| Probenanzahl | 8 | |
| Freiheitsgrad | 7 | |
| Mittelwert | 69,5 | Partikel |
| Standardabweichung | 4,71 | Partikel |
| χ^2 (CHI-Quadrat) | 2,24 | |
| Wahrscheinlichkeit | 95 | % |
| Wiederfindungsrate | 92 | % |

Normalverteilung

| | | |
|----------------------------|-------------|-------|
| Probenanzahl | 8 | |
| Mittelwert | 27,5 | mg/kg |
| Standardabweichung | 1,86 | mg/kg |
| rel. Standardabweichung | 6,8 | % |
| Horwitz Standardabweichung | 9,72 | % |
| HorRat-Wert | 0,70 | |
| Wiederfindungsrate | 92 | % |

Microtracer Homogenitätstest

DLA 05-2017 Dotierungsniveauprobe

| | | |
|----------------------|--------------|-------|
| Gewicht Gesamtprobe | 1,52 | kg |
| Microtracer | FSS-rot lake | |
| Teilchengröße | 75 – 300 | µm |
| Gewicht pro Partikel | 2,0 | µg |
| Tracerzugabe | 23,7 | mg/kg |

Analysenergebnisse:

| Probe | Einwaage [g] | Partikel Anzahl | Partikel [mg/kg] |
|-------|--------------|-----------------|------------------|
| 1 | 5,06 | 94 | 37,2 |
| 2 | 4,99 | 89 | 35,7 |
| 3 | 5,03 | 88 | 35,0 |
| 4 | 4,99 | 90 | 36,1 |
| 5 | 5,02 | 87 | 34,7 |
| 6 | 4,99 | 86 | 34,5 |
| 7 | 5,04 | 89 | 35,3 |
| 8 | 5,07 | 84 | 33,1 |

Poisson-Verteilung

| | | |
|---------------------------|------------|----------|
| Probenanzahl | 8 | |
| Freiheitsgrad | 7 | |
| Mittelwert | 88,4 | Partikel |
| Standardabweichung | 2,99 | Partikel |
| χ^2 (CHI-Quadrat) | 0,71 | |
| Wahrscheinlichkeit | 100 | % |
| Wiederfindungsrate | 148 | % |

Normalverteilung

| | | |
|----------------------------|-------------|-------|
| Probenanzahl | 8 | |
| Mittelwert | 35,2 | mg/kg |
| Standardabweichung | 1,19 | mg/kg |
| rel. Standardabweichung | 3,39 | % |
| Horwitz Standardabweichung | 9,36 | % |
| HorRat-Wert | 0,36 | |
| Wiederfindungsrate | 148 | % |

5.4 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

| | |
|--|---|
| EP-Nummer | DLA 05-2017 |
| EP-Name | Allergene V: Haselnuss und Walnuss in Backware |
| Probenmatrix (Prozessierung) | Proben A + B: Butterkekse (gebacken ca. 170°)/ Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Butter, Gerstenmalzextrakt, Glucosesirup, Backtriebmittel Ammoniumcarbonat, Salz, Emulgator Lecithine, weitere Zusatzstoffe, Ei und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: 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: Haselnuss, Walnuss (als Lebensmittel, Protein, DNA) 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. Am besten wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert. |
| 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: pt@dla-lvu.de |
| Abgabetermin | spätestens 27. Oktober 2017 |
| Auswertebericht | Der Auswertebericht 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.

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 inter-laboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über 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. Horwitz Equation as Quality Benchmark in ISO/IEC 17025 Testing Laboratory, Rivera & Rodriguez, Bufete de ingenieros industriales, S.C. (Corrigendum 2014)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. 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
19. 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
20. 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
21. 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
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006

23. 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)
24. 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)
25. 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)
26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
27. 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
28. 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
29. 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]
30. 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]
31. 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]
32. ASU §64 LFGB L 18.00-20 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Mandel (Prunus dulcis) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of almond (Prunus dulcis) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
33. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (Bertholletia exceisa) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (Bertholletia exceisa) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
34. 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]

DLA 05/2017 - Allergene V

Alle 20 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung hinsichtlich der Parameter Haselnuss und Walnuss erfolgte für ELISA-Methoden qualitativ und quantitativ. Die PCR- und LC/MS-Methoden wurden für die beiden Parameter qualitativ bewertet. Zusätzlich wurde für jedes quantitative Ergebnis eine Wiederfindungsrate für die Dotierungsmaterialprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

8 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Österreich, Schweiz, Spanien, Zypern) und zwei Teilnehmer in Kanada.