

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 16/2017

ALM Verification:

Erdnuss in Kekse-Matrix

**5 Proben mit gerösteten Erdnuss
(Gehalte: 0,50 / 2,5 / 5,0 / 12,5 / 25 mg/kg)**

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)

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler-Scharf Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 16/2017
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	Abschlussbericht / Final report (23. April 2018) 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.
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	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: 23. April 2018
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	Falls im Rahmen der Eignungsprüfung eine Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern durchgeführt wurde, hat DLA diese im Unterauftrag vergeben. In case the analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters was part of the proficiency test, the determinations were subcontracted by DLA.
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	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.

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	5
2.1 Untersuchungsmaterial.....	5
2.1.1 Charakterisierung der PT-Probenreihe.....	7
2.1.2 Homogenität.....	8
2.1.2 Stabilität.....	8
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Action Level Matrix Score (ALM-Score).....	11
3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score).....	11
3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision	12
3.2.2 Werte aus Erkenntnissen	14
4. Ergebnisse.....	15
4.1 Vergleichsuntersuchung Erdnuss.....	16
4.1.1 Qualitativ: Action Level Matrix-Scores (ELISA-Methoden).....	16
4.1.2 Qualitativ: Action Level Matrix-Scores (PCR-Methoden).....	17
4.1.3 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (ELISA-Methoden).....	18
4.1.4 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (PCR-Methoden).....	19
4.1.5 Informative Angaben: Statistische Kenndaten (ELISA-Methoden)	21
5. Dokumentation.....	23
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	23
5.1.1 ELISA-Methoden.....	23
5.1.2 PCR-Methoden.....	25
5.2 Homogenität.....	27
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	27
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	30
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	31
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	32

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].

Das vorliegende PT-Format „**Action Level Matrix - ALM Verification**“ bietet die Möglichkeit anhand einer Art Kalibrierreihe von 5 Proben eines Allergens in einer spezifischen Lebensmittelmatrix sowie einer „Nullprobe“ nachzuweisen, dass mit der analytischen Bestimmungsmethode des teilnehmenden Labors der für die Kennzeichnung des betreffenden Allergens relevante Gehalt sicher erfasst werden kann.

Dabei reichen die Allergen-Konzentrationen der PT-Probenreihe von 1/10 bis mindestens das 5-fache des Action Levels, der i.d.R. auf die Schwellenwertdosis (VITAL Konzept 2.0) bzw. Beurteilungswerte des ALTS/ALS zurückgeht (vgl. Tabelle 3). Die Auswertung der PT-Ergebnisse erfolgt qualitativ in Scores von 1-5 (Score 3 = Action Level erfolgreich erfasst). Quantitative Ergebnisse werden unter Angabe der erzielten Wiederfindungsrate informativ im Bericht angegeben.

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurden 6 LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und ggf. die quantitative Bestimmung von Erdnuss in der Lebensmittelmatrix Kekse zur Verfügung gestellt. Die Erdnuss-Level der PT-Probenreihe lagen im Bereich von 0,5 mg/kg bis 25 mg/kg, der mittlere Wert stellt den „Action Level“ dar (s. Tabelle 1).

Bei der Lebensmittelmatrix des Untersuchungsmaterials handelt es sich um handelsübliche Butterkekse. Die Grundzusammensetzung war für alle 6 Proben gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben mittels Schlagmühle (mesh 1,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert und ein Aliquot als Level „Null“-Probe abgenommen.

Zur Herstellung der erdnusshaltigen Proben wurden zunächst Kekse unter Zusatz einer Mischung gerösteter Erdnüsse (weitere Angaben s.u.) gebacken (150°C, 30 min) und anschließend getrocknet (60°C). Danach wurden die erdnusshaltigen Kekse mittels Messermühle zerkleinert und anschließend homogenisiert.

Anschließend wurde die Reihe der **dotierten Proben** folgendermaßen hergestellt: Nach Zerkleinerung und Homogenisierung wurden die erdnusshaltigen Kekse zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 3-5 weiteren Schritten zugegeben und jeweils maschinell homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

Die 6 PT-Proben wurden zu Portionen von ca. 20 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Zur Dotierung wurde eine gemahlene Mischung von gerösteten Erdnüssen aus insgesamt 18 Einzelprodukten aus 9 Ländern (USA, Asien, Afrika, Südamerika) verwendet. Die unprozessierte (nicht im Keks gebackene) Mischung gerösteter Erdnüsse hat in den Dotierungsniveauproben der Eignungsprüfung DLA 07/2017 für Erdnuss mit diversen ELISA-Methoden eine mittlere Wiederfindungsrate von 264 % ± 88 % (n=11) ergeben.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

PT-Probenreihe	Level 0 „Null“	Level 1 0,5 mg/kg	Level 2 2,5 mg/kg	Level 3 5 mg/kg	Level 4 12,5mg/kg	Level 5 25 mg/kg
Zutaten	g/100 g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g
Butterkekse Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Butter, Gerstenmalzextrakt, Magermilchpulver, Glucose, Glucosesirup, Backtriebmit- tel Ammoniumcarbonat, Salz, Emulgator Lecithine Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß 7,1 g, Kohlenhydrate 76 g, Fett 12 g	100	100	100	99,9	99,8	99,5
Kekse (gebacken 150°C, 30 min) Zutaten: Weizenmehl, Zu- cker, Butter, Eier, Salz sowie Mischung gerösteter Erdnüsse und weitere Zuta- ten (Maltodextrin, Natri- umsulfat, Siliciumdioxid)	-	0,0100	0,0500	0,100	0,249	0,498
Allergen-Gehalte	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
davon geröstete Erdnüsse: - als Erdnuss* - mit 23,2% Gesamtprotein**	-	0,51 0,12	2,52 0,58	5,05 1,17	12,6 2,92	25,3 5,87
erweiterte kombinierte Unsicherheit (k=2) des Erdnuss- Gehalts (= ± 12 %)		± 0,06	± 0,30	± 0,61	± 1,5	± 3,0

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

** Proteingehalt gemäß Laboranalyse des Rohstoffs: 23,2 ± 1,59 %, n=5 (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=5,46 für Erdnussprotein)

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

Jeder zugewiesene Wert, hier die dotierten Allergen-Gehalte, sind mit einer Standardunsicherheit behaftet. Als Unsicherheiten wurden u.a. folgende Faktoren berücksichtigt: Proteingehalt des Dotierungsmaterials, Mischungshomogenität, Homogenität und Stabilität von Erdnuss.

Alle Unsicherheitsbeiträge wurden in Form von Standardabweichungen ausgedrückt und als Varianzen addiert. Die Wurzel aus der Summe der Gesamtvarianzen ergibt die kombinierte Unsicherheit "Uc", die mit dem Erweiterungsfaktor k=2 multipliziert die erweiterte Unsicherheit der zugewiesenen Werte "U(X_{pt})" ergibt [3, 13, 16 - 18].

2.1.1 Charakterisierung der PT-Probenreihe

Die PT-Probenreihe wurde mittels ELISA-Bestimmung charakterisiert (Immunolab Erdnuss ELISA, n=4). Die dotierten Level wurden mit guter Korrelation zwischen Dotierung (Spiking) und Mittelwert der Ergebnisse (Mean) erfasst (s. Abb. 1). Die relativen Standardabweichungen (RSD) lagen im Bereich von ca. 22% bis 1,4% und die Wiederfindungsraten (Recovery) bei 78% bis 101% (Level 1-4) und bei 141% für Level 5.

Tabelle 2: Charakterisierung der PT-Probenreihe Erdnuss in Keks-Matrix mittels ELISA-Bestimmung (Immunolab Erdnuss, n=4)

PT-Sample	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Spiking	0,0	0,510	2,52	5,05	12,6	25,3
Result 1	0,0	0,374	2,07	6,13	12,5	35,7
Result 2	0,0	0,413	2,84	3,92	12,8	34,3
Result 3	0,0	0,505	2,15	4,49	12,5	37,6
Result 4	0,0	0,291	1,81	5,91	13,1	35,2
Mean [mg/kg]	0,0	0,396	2,22	5,11	12,7	35,7
SD	-	0,09	0,44	1,08	0,28	1,39
RSD [%]	-	22,4	19,8	21,1	2,2	3,9
Recovery [%]	-	78	88	101	101	141

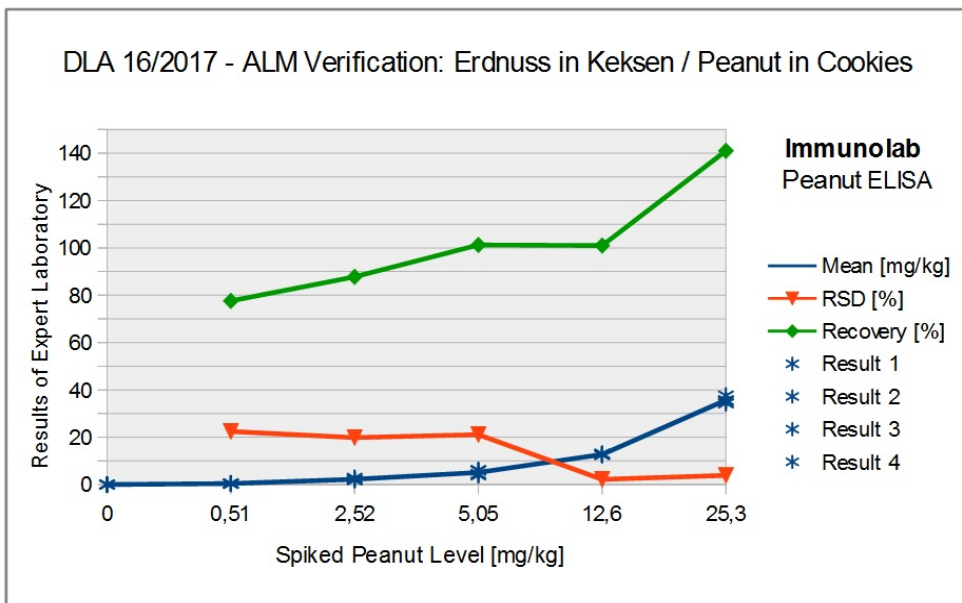


Abb./Fig. 1: Darstellung der ELISA-Ergebnisse der PT-Probenreihe Erdnuss in Keks-Matrix (Immunolab Erdnuss, n=4), Anmerkung: die x-Achse ist zur besseren Erkennbarkeit der niedrigen Gehalte nicht linear dargestellt.

2.1.2 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 Level 1 bis 5 hat eine Wahrscheinlichkeit von 80%, 99%, 73%, 71% bzw. 80% 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 [18]. Es wurden HorRat-Werte von 0,94, 0,58, 0,87, 0,90 bzw. 0,96 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

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 Proben (mikrobieller Verderb) und des Gehalts an dem EP-Parameter Erdnuss. 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 47. Kalenderwoche 2017 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Sample 1 bis 6 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 19. Januar 2018.

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

Die Eignungsprüfung Action Level Matrix (ALM) - Verification umfasst fünf unterschiedliche Proben mit definierten Gehalten an gerösteten Erdnüssen sowie eine „Nullprobe“ in der Matrix Kekse.

- *Die 6 Proben sind in zufälliger Reihenfolge nummeriert.*
- *Es soll qualitativ mit einer geeigneten Methode nachgewiesen werden, dass der sogenannte „Action Level“ von 5 mg/kg Erdnuss erfasst werden kann (= Action Level 1 (VITAL Konzept 2.0) bzw. Beurteilungswert des ALTS/ALS).*
- *Soweit möglich ist die Angabe quantitativer Ergebnisse erwünscht, um einen Vergleich zu den Zusatzniveaus darstellen zu können.*

Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung.

(siehe Dokumentation unter Punkt 5.3 EP-Informationen)

2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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 13 Teilnehmer haben Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [26-29, 40]. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Allergenen sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen.

In der vorliegenden LVU wurde die allergene Zutat in einer speziell prozessierten Lebensmatrix in einer Art Kalibrierreihe mit Konzentrationen um den sogenannten Action Level herum zur Analyse zur Verfügung gestellt. Der hier als „Action Level“ bezeichnete Allergengehalt ist in Tabelle 3 farbig unterlegt.

Die Teilnehmer-Ergebnisse werden *qualitativ* mit einem Action Level Matrix Score (*ALM-Score*) bewertet, der angibt wie viele Konzentrations-Level erfolgreich erfasst wurden.

Die quantitativen Teilnehmer-Ergebnisse werden mit einem Wiederfindungs-Score (*WFR-Score*) bewertet, der angibt wie viele Ergebnisse im Bereich einer Wiederfindungsrate von 50 - 150% des Dotierungs-Levels liegen.

Tabelle 3: Schwellenwerte, Beurteilungswerte und gesetzliche Höchstwerte (farbig unterlegt: Action Level in der vorliegenden LVU) [27, 39-41]

Allergen	Schwellenwert-dosis * (Vital Konzept 2.0)	Beurteilungswert ALTS/ALS	Gesetzliche Höchstwerte zur Kennzeichnung
	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Gluten	100	> 80	20 **
Ei (als Volleipulver)	0,66	> 1	
Erdnuss	8	> 5	
Soja (als Sojamehl)	25	> 20	
Milch (als ent fettetes Milchpulver)	2,8	> 2,5	
Haselnuss	6,4	> 5	
Cashew	106	> 50	
Mandel, Walnuss, Pekannuss, Paranuss, Pistazie, Macadamia	-	> 20	
Sesam, ungeschält	11,8	> 10	
Lupine	100	> 50	
Selleriesaat	-	> 20	
Senfsaat	1,9	> 5	

* berechnet aus Schwellenwert bei Verzehr von 100 g Lebensmittel [40, 41]

** Höchstwert zur Kennzeichnung als „glutenfrei“ gemäß EU-VO 828/2014 [39]

3.1 Action Level Matrix Score (ALM-Score)

Die qualitative Bewertung der Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgt mit sogenannten ALM-Scores von 1 - 5 anhand der Anzahl der Übereinstimmungen der Angaben „positiv“ oder „negativ“ mit den **Dotierungen der LVU-Probenreihe** (siehe Tab. 4). Ein ALM-Score von > 3 bedeutet, dass der Action Level erfolgreich erfasst wurde.

Die Ergebnisse der Matrixprobe Level 0 werden nicht bewertet, sofern das betreffende Teilnehmerergebnis in Übereinstimmung mit ≥75% positiver oder negativer Ergebnisse der Teilnehmer steht (Konsenswert) oder das Ergebnis unterhalb der Bestimmungsgrenze der eingesetzten Methode liegt.

Tabelle 4: Bewertung der Ergebnisse anhand von ALM-Scores

Level 0 „Null“	Level 1 0,5 mg/kg	Level 2 2,5 mg/kg	Level 3 (Action Level) 5 mg/kg	Level 4 12,5 mg/kg	Level 5 25 mg/kg	ALM-Score qualitativ	Bestimmung Action Level
pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Level 1 - 5	
negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	1 (20%)	nicht erfolgreich
negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	2 (40%)	nicht erfolgreich
negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	erfolgreich
negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	erfolgreich
negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	erfolgreich

3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score)

Die Bewertung der quantitativen Ergebnisse jedes Teilnehmers für die **dotierten LVU-Proben** erfolgt anhand der Anzahl von Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich anhand von Wiederfindungs-Scores (*WFR-Scores*). Die Angabe der WFR-Scores wird als Anzahl von Ergebnissen im Akzeptanzbereich (s.u.) pro Anzahl quantitativ bestimmter Proben vorgenommen. Dahinter wird in Klammern der entsprechende Prozentsatz angegeben.

Die Wiederfindungsraten werden in Bezug auf das zugesetzte Allergen (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten der Level 1 bis 5. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [21]. Für quantitative PCR-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

Es werden nur exakte quantitative Angaben berücksichtigt. Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder < 2,5 mg/kg) oder die Angabe „0“ werden nicht berücksichtigt.

Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen u.a. einer Einschätzung von Matrix- und/oder Prozessierungseinflüssen.

3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision

In Ringversuchen der ASU §64 Methoden wurden abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich Wiederfindungsraten im Bereich von 57 - 119% für die ELISA-Methoden und 11 - 145% für die PCR-Methoden erhalten (s. Tab. 5a und 5b). Die angegebenen Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden für eine Anzahl von $m = 2$ Wiederholmessungen berechnet.

Tabelle 5a: ELISA-Methoden - Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision [31-32]

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%	

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 [25]. 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 [25].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [28]. 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 5b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [33-38]

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 <small>multiplex</small> 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 <small>multiplex</small> 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 <small>multiplex</small> 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 <small>multiplex</small> ASU 18.00-22

3.2.2 Werte aus Erkenntnissen

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 [23], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [20-22], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [24] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [19] erarbeitet worden.

Die hier relevanten ELISA- bzw. PCR-Validierungskriterien der Gremien sind in den Tabellen 6 und 7 angegeben.

Tabelle 6: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [19-25]	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 7: PCR-Validierungskriterien

Literatur [19]	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 i.d.R. eine relative Zielstandardabweichung σ_{pt} Wert von 25% und für die Wiederfindungsrate entsprechend 50-150% fest.

4. Ergebnisse

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

Es erfolgte eine getrennte Auswertung von ELISA und PCR-Methoden.

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.

In der vorliegenden LVU wurde ein Ergebnis als Erdnussprotein angegeben und mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe für geröstete Erdnüsse von 23% in das Gesamtlebensmittel Erdnuss umgerechnet (vgl. Tab. 1, S.6). Alle anderen ELISA- und PCR-Ergebnisse wurden als Erdnuss abgegeben, sodass keine Umrechnungen erforderlich waren.

Die qualitativen Ergebnisse und deren Bewertung werden in tabellarischer Form folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3 (Action Level)	Level 4	Level 5	ALM-Score qualitativ	Methode	Hinweis
	„Null“	0,5 mg/kg	2,5 mg/kg	5 mg/kg	12,5 mg/kg	25 mg/kg			
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Level 1 - 5		

Die quantitativen Ergebnisse und deren Bewertung werden in tabellarischer Form folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Level 1 - 0,5 mg/kg		Level 2 - 2,5 mg/kg		Level 3 - 5,0 mg/kg (Action Level)		Level 4 - 12,5 mg/kg		Level 5 - 25 mg/kg		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *			
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		

4.1 Vergleichsuntersuchung Erdnuss

4.1.1 Qualitativ: Action Level Matrix-Scores (ELISA-Methoden)

Auswertenummer	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5	ALM-Score qualitativ	Methode	Hinweis
	„Null“	0,5 mg/kg	2,5 mg/kg	(Action Level) 5,0 mg/kg	12,5 mg/kg	25 mg/kg			
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Level 1 - 5		
1	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	BF	
13a	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	BK	
5b	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	EF	
12	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	IL	
5a	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	MI	
2	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	RS-F	
3	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv	positiv	3 (60%)	RS-F	Level 0 und 3 vertauscht ?
6	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	RS-F	
7	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	RS-F	
9	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	RS-F	
11	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	RS-F	
13b	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	RS-F	
8	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	VT	

	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
Anzahl positiv	1	5	12	12	13	13
Anzahl negativ	12	8	1	1	0	0
Prozent positiv	8	38	92	92	100	100
Prozent negativ	92	62	8	8	0	0
Konsenswert	negativ	keiner	positiv	positiv	positiv	positiv
Dotierung	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv

Methods:

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

MI = Morinaga Institute ELISA

RS-F= Ridascree® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Bis auf eine Ausnahme haben alle Teilnehmer den Action Level von 5 mg/kg erfasst. Auch für Level 2 (1/2 des Action Levels) wurden noch 92% positive Ergebnisse erhalten. Der niedrigste Gehalt von 0,5 mg/kg (1/10 des Action Levels) wurde noch von 38% der Teilnehmer als positiv nachgewiesen. Dieser Gehalt liegt unter den von den Teilnehmern angegebenen Bestimmungsgrenzen der Methoden.

4.1.2 Qualitativ: Action Level Matrix-Scores (PCR-Methoden)

Auswertenummer	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3 (Action Level)	Level 4	Level 5	ALM-Score qualitativ	Methode	Hinweis
	„Null“	0,5 mg/kg	2,5 mg/kg	5,0 mg/kg	12,5 mg/kg	25 mg/kg			
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Level 1 - 5		
13	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	2 (40%)	ASU	NWG < 10 mg/kg
4a	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	SFA-4p	
4b	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	SFA-ID	
2	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	SFA-ID	
6	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	SFA-ID	
11	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	SFA-ID	
7	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	SFA-Q	
10	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	div	

	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
Anzahl positiv	0	2	7	7	8	8
Anzahl negativ	8	6	1	1	0	0
Prozent positiv	0	25	88	88	100	100
Prozent negativ	100	75	13	13	0	0
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv
Dotierung	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

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:

Bis auf eine Ausnahme haben alle Teilnehmer den Action Level von 5 mg/kg erfasst. Auch für Level 2 (1/2 des Action Levels) wurden noch 88% positive Ergebnisse erhalten. Der niedrigste Gehalt von 0,5 mg/kg (1/10 des Action Levels) wurde noch von 25% der Teilnehmer als positiv nachgewiesen. Dieser Gehalt liegt unter den von den meisten Teilnehmern angegebenen Nachweisgrenzen der Methoden.

4.1.3 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (ELISA-Methoden)

Auswertenummer	Level 1 - 0,5 mg/kg		Level 2 - 2,5 mg/kg		Level 3 - 5,0 mg/kg (Action Level)		Level 4 - 12,5 mg/kg		Level 5 - 25 mg/kg		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		
1	1,10	216	2,02	80	6,00	119	12,5	99	27,5	109	4/5 (80%)	BF	
13a	0,70	137	2,90	115	6,00	119	17,0	135	30,0	119	5/5 (100%)	BK	Ergebnis Level 1 < BG
5b	<1		3,70	147	8,00	158	20,0	158	34,0	135	2/4 (50%)	EF	
12	0,395	77	2,22	88	5,11	101	12,7	101	35,7	141	5/5 (100%)	IL	Ergebnis Level 1 < BG
5a	<4,2		<4,2		4,20	83	6,80	54	15,0	59	3/3 (100%)	MI	
2	<1.5		4,80	190	8,10	160	21,0	166	38,0	150	0/4 (0%)	RS-F	
3	0,399	78	3,03	120	< 2,5		16,7	132	43,4	172	3/4 (75%)	RS-F	Ergebnis Level 1 < BG
6	< 2,5		3,40	135	7,60	150	19,4	154	29,8	118	2/4 (50%)	RS-F	
7			14,7 (3,38)	(134)	30,4 (7,00)	(139)	97,8 (22,5)	(178)	141 (32,5)	(129)	0/4 (0%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet * (in Klammern Angabe als Erdnussprotein)
9	<2,5		2,70	107	6,30	125	18,0	143	30,0	119	4/4 (100%)	RS-F	
11	0,650	127	2,50	99	6,70	133	19,8	157	37,2	147	4/5 (80%)	RS-F	Ergebnis Level 1 < BG
13b	0,440	86	3,60	143	9,00	178	26,0	206	50,0	198	2/5 (40%)	RS-F	Ergebnis Level 1 < NWG
8	<2.5		3,00	119	6,70	133	15,0	119	53,0	210	3/4 (75%)	VT	

*Umrechnung S.15

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	5	Anzahl im AB	10	Anzahl im AB	8	Anzahl im AB	7	Anzahl im AB	9
Prozent im AB	83	Prozent im AB	91	Prozent im AB	73	Prozent im AB	58	Prozent im AB	75

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Erdnuss, s. Seite 6

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 BK = BioKits, Neogen
 EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 IL = Immunolab
 MI = Morinaga Institute ELISA
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für die Level 2 bis 5 lagen 58% bis 91% der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse im Akzeptanzbereich von 50-150%. Die quantitativen Ergebnisse für Level 1 lagen alle unter den jeweils von den Teilnehmern angegebenen Bestimmungsgrenzen der Methoden (Ausnahme: Methode BF Bestimmungsgrenze 1 mg/kg) (Darstellung Level 2-4 in Abb. 2).

4.1.4 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (PCR-Methoden)

Auswertenummer	Level 1 - 0,5 mg/kg		Level 2 - 2,5 mg/kg		Level 3 - 5,0 mg/kg (Action Level)		Level 4 - 12,5 mg/kg		Level 5 - 25 mg/kg		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		
13	<10		<10		<10		<100		<100			ASU	
4a	0,200	39	4,00	158	12,0	238	51,0	404	78,0	309	0/5 (0%)	SFA-4p	
4b	0,100	20	1,20	48	2,00	40	6,80	54	10,4	41	1/5 (20%)	SFA-ID	
2	<1		>1		>1		>1		>1			SFA-ID	
6	< 1,0											SFA-ID	
11												SFA-ID	
7			< 4		< 4		< 4		5,40	21	0/1 (0%)	SFA-Q	
10	< 1		< 2		2,20	44	5,50	44	7,40	29	0/3 (0%)	div	
	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %			
	Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	0			
	Prozent im AB	0	Prozent im AB	0	Prozent im AB	0	Prozent im AB	33	Prozent im AB	0			

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Erdnuss, s. Seite 6

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

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:

Mittels PCR haben vier Teilnehmer für mindestens einen Level quantitative Ergebnisse angegeben. Eine Wiederfindungsrate lag für Level 4 im Akzeptanzbereich von 50 -150% (Darstellung Level 2-4 in Abb. 2).

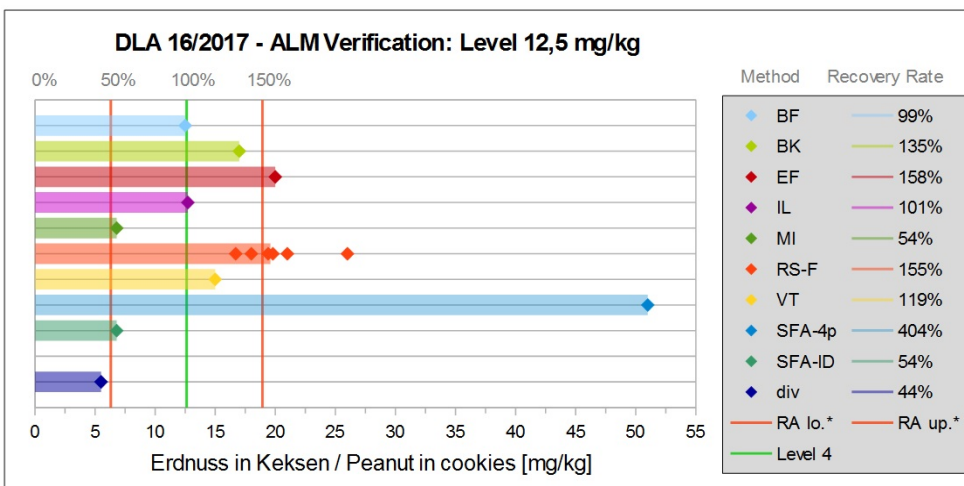
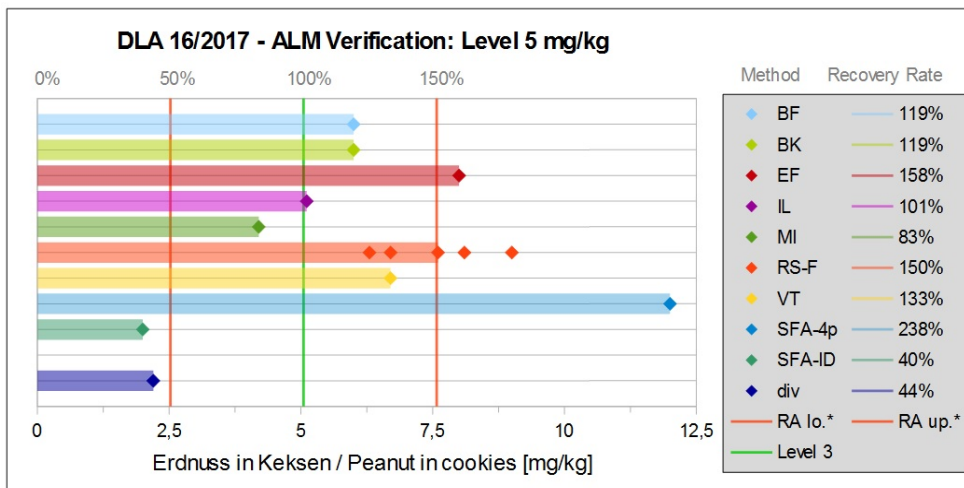
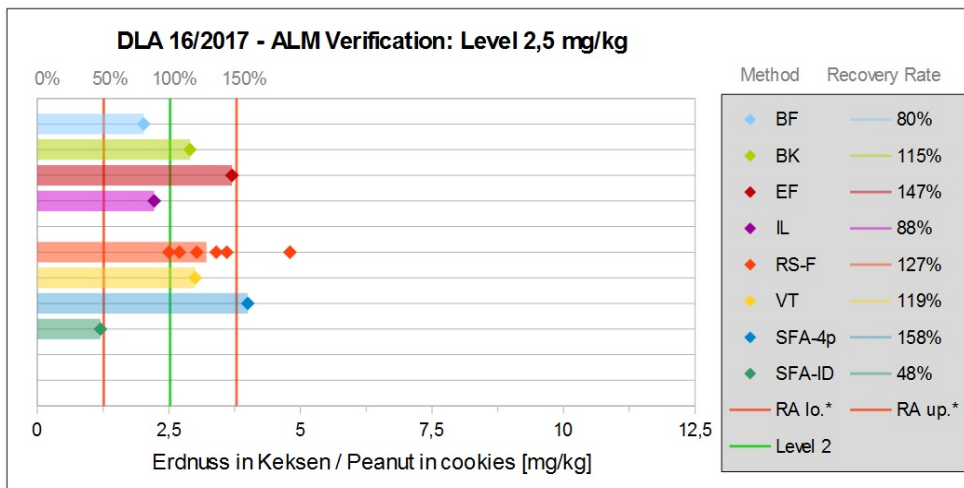


Abb./Fig. 2: Darstellung der Einzelergebnisse (Level 2-4) getrennt nach Methoden mit Angabe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate (Recovery Rate), untere Skala Erdnussgehalt in mg/kg, obere Skala % Wiederfindungsrate in % mit * Akzeptanzbereich von 50% - 150% (* range of acceptance: RA lower limit bis RA upper limit)

4.1.5 Informative Angaben: Statistische Kenndaten (ELISA-Methoden)

Probe: Action Level 5 mg/kg

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	11	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	6,70	7,54
Median	6,70	7,60
Robuster Mittelwert (X_{pt})	6,72	7,54
Robuste Standardabweichung (S^*)	1,55	1,23
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	1,68	1,89
Untere Grenze des Zielbereichs	3,36	3,77
Obere Grenze des Zielbereichs	10,1	11,3
Quotient S^*/σ_{pt}	0,92	0,65
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,585	0,687
Ergebnisse im Zielbereich	11	5
Prozent im Zielbereich	100	100

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen:

Als zugewiesene Werte wurden die robusten Mittelwerte (Algorithmus A) aller Ergebnisse sowie von den angegebenen Einzel-Methoden verwendet. Für die Ermittlung der z-Scores wurde eine Zielstandardabweichung von 25% zugrunde gelegt (s. Abb. 3 u. 4).

Alle Angaben haben rein informativen Charakter.

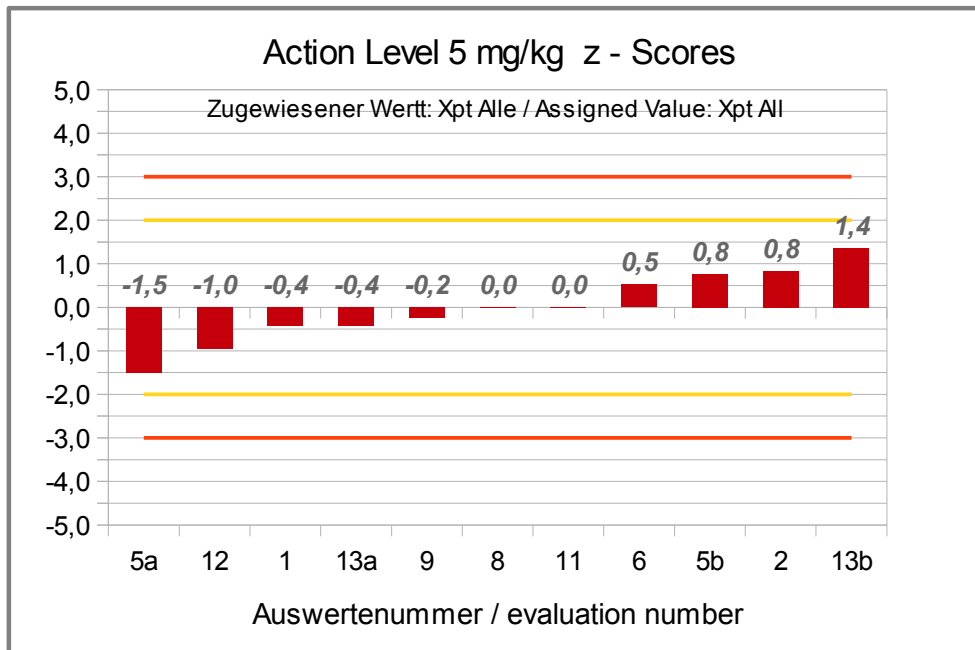


Abb./Fig. 3:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Erdnuss)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

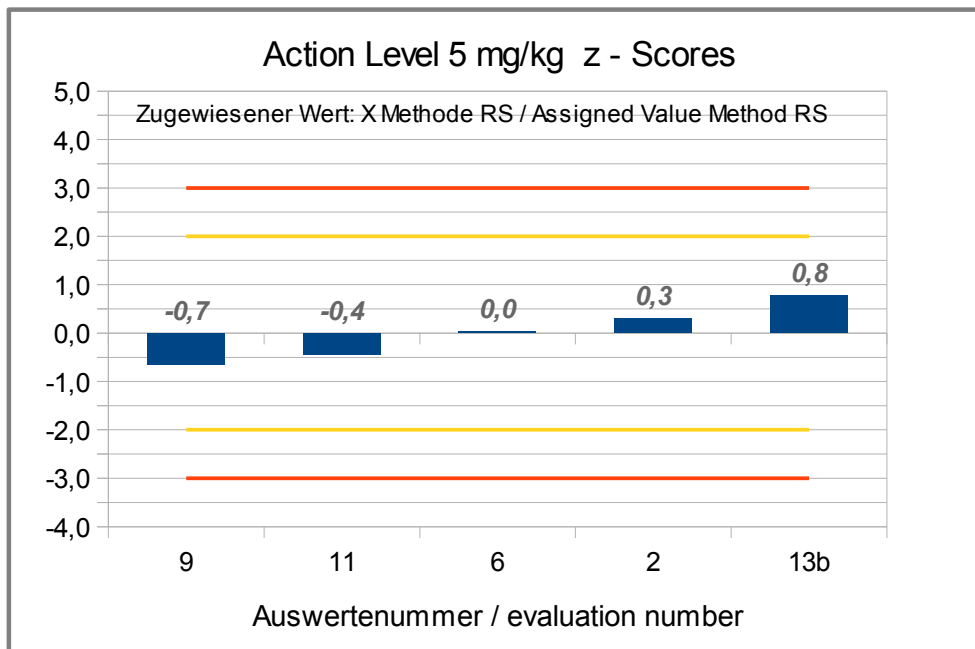


Abb./Fig. 4:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Erdnuss) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreeen Fast)

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-Methoden

Methoden Abk.	Auswerte-nummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 2 Nullprobe		Ergebnis Probe 5 0,5 mg/kg Level		Ergebnis Probe 4 2,5 mg/kg Level		Ergebnis Probe 3 5,0 mg/kg Level		Ergebnis Probe 1 12,5 mg/kg Level		Ergebnis Probe 6 25 mg/kg Level		NWG / LOD *	BG / LOQ *	Angabe quantitatives Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	
BF	1	07.12.18	negativ	0	positiv	1,1	positiv	2,02	positiv	6	positiv	12,5	positiv	27,5	0,24	1	Erdnuss
BK	13a	28/29.12/19.1	negativ	< 0.5	positiv	<1 (0.7)	positiv	2,9	positiv	6	positiv	17	positiv	30	0,5	1	Erdnuss
EF	5b	10.01.18	negativ	<1	negativ	<1	positiv	3,7	positiv	8	positiv	20	positiv	34	0,1	1	Erdnuss
IL	12	28.11.17	negativ	0	positiv	0,395	positiv	2,22	positiv	5,11	positiv	12,72	positiv	35,7	0,1	1	Erdnuss
MI	5a	08.12.17	negativ	<4,2	negativ	<4,2	negativ	<4,2	positiv	4,2	positiv	6,8	positiv	15	1,6	4,2	Erdnuss
RS-F	2		negativ	<1.5	negativ	<1.5	positiv	4,8	positiv	8,1	positiv	21	positiv	38	1,5	2,5	Peanut
RS-F	3	09.01.	positiv	4,85	negativ	< 2,5	positiv	3,03	negativ	< 2,5	positiv	16,7	positiv	43,4	0,13	2,5	Erdnuss
RS-F	6	15.01.18	negativ	< 2,5	negativ	< 2,5	positiv	3,4	positiv	7,6	positiv	19,4	positiv	29,8	2,5	2,5	Erdnuss
RS-F	7	03.01.18	negativ		negativ		positiv	3,375	positiv	7	positiv	22,5	positiv	32,5	0,8	2,4	Erdnussprotein
RS-F	9	02.01.18	negativ		positiv	<2,5	positiv	2,7	positiv	6,3	positiv	18	positiv	30	1,5	2,5	Erdnuss
RS-F	11		negativ		positiv	0,65	positiv	2,5	positiv	6,7	positiv	19,8	positiv	37,2	0,13	2,5	Erdnuss
RS-F	13b	29.12./19.1.	negativ	<1.5	negativ	<1.5 (0.44)	positiv	3,6	positiv	9	positiv	26	positiv	50	1,5	2,5	Erdnuss
VT	8	08.12.	-	<2.5	-	<2.5	-	3	-	6,7	-	15	-	53	2,5	2,5	Erdnuss

Fortsetzung Angaben der Teilnehmer:

Methoden Abk.	Auswertenummer	Methode	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
BF	1	MonoTrace Peanut ELISA kit, BioFront Technologies	Ara h 3	Extraktion für 10 Minuten bei 60°C	Nein	
BK	13a	BioKits Peanut Assay Kit, Neogen				
EF	5b	Eurofins SensiSpec Peanut ELISA Kit	Erdnussproteine	lt. Herstellerangaben	nein	
IL	12	Immunolab Peanut ELISA				
MI	5a	Morinaga Peanut ELISA Kit II, M2116	Erdnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	umgerechnet auf Erdnuss kalibriert gegen NIST Material (Proteingehalt ca. 25%, Umrechnungsfaktor für prozessierte Erdnuss 3,4)
RS-F	2	R6202 Ridascreen Fast Peanut			ja	
RS-F	3	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm		nach Herstelleranleitung, mit Magermilchpulver	ja	Probe 5: Wert unter Bestimmungsgrenze (0,399mg/kg, ermittelt mit weiteren Verdünnungen der Standards)
RS-F	6	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm			ja	
RS-F	7	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm		Quersensitivität zu Linsen, grünen Erbsen, Bockshornklee	ja	
RS-F	9	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm	Ara h 1 und Ara h 2	nach Testkitanleitung	Ja	Probe 5: schwach positiv, < BG 2,5 mg/kg
RS-F	11	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm		Allergenextraktionspuffer / 10 min / 60°C	nein	
RS-F	13b	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm				
VT	8	Veratox Peanut, Neogen				

5.1.2 PCR-Methoden

Methoden Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 2 Nullprobe		Ergebnis Probe 5 Level 0,5 mg/kg		Ergebnis Probe 4 Level 2,5 mg/kg		Ergebnis Probe 3 Level 5,0 mg/kg		Ergebnis Probe 1 Level 12,5 mg/kg		Ergebnis Probe 6 Level 25 mg/kg		NWG / LOD *	BG / LOQ *	Angabe quantitatives Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein
ASU	13	18./19.1.18	negativ	<10	negativ	<10	negativ	<10	negativ	<10	positiv	<100	positiv	<100	10		Bitte auswählen!
SFA-4p	4a		negativ	0	positiv	0,2	positiv	4	positiv	12	positiv	51	positiv	78	< 1mg/kg		Erdnuss-DNA
SFA-ID	4b		negativ	0	positiv	ca. 0,1	positiv	1,2	positiv	2	positiv	6,8	positiv	10,4	< 1 mg/kg	< 5ppm	Erdnuss-DNA
SFA-ID	2		negativ	<1	negativ	<1	positiv	>1	positiv	>1	positiv	>1	positiv	>1	1		DNA Peanut
SFA-ID	6	30.11.18	negativ	< 1,0	negativ	< 1,0	positiv		positiv		positiv		positiv		1		Erdnuss
SFA-ID	11		negativ		negativ		positiv		positiv		positiv		positiv		1		Erdnuss-DNA
SFA-Q	7	04.01.18	negativ		negativ		positiv	< 4	positiv	< 4	positiv	< 4	positiv	5,4	1	4	Erdnuss-DNA
div	4c		negativ	0	positiv	0,25	positiv	2,5	positiv	5	positiv	12,5	positiv	25			Erdnuss-DNA
div	10	27.12.17	negativ	< 1	negativ	< 1	positiv	< 2	positiv	2,2	positiv	5,5	positiv	7,4	1	2	Erdnuss

Fortsetzung Angaben der Teilnehmer:

Methoden Abk.	Auswertenummer	Methode	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	13	ASU §64 Methode/method	Ara H 2 Trypsin-Inhibitor			
SFA-4p	4a	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen		CTAB / Qiaquick	ja	Semiquantitative Auswertung an nicht prozessiertem Standardmaterial (quantitative Angaben entsprechen dem Mittelwert aus 5 Messungen)
SFA-ID	4b	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen		CTAB / Qiaquick	ja	Semiquantitative Auswertung an nicht prozessiertem Standardmaterial (Quantard / Congen) → Unterbewertung (quantitative Angaben entsprechen dem Mittelwert aus 5 Messungen)
SFA-ID	2	SureFood® ALLERGEN Peanut Art.-No. S3103 Congen			ja	
SFA-ID	6	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen			ja	
SFA-ID	11	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen			nein	
SFA-Q	7	Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen			ja	Artikelnr. S3203
div	4c	Auswahl PCR-Methoden		CTAB / Qiaquick		Zuordnung zu den dotierten Gehalten
div	10	andere: Ladenburger et al (2017) J AOAC Intern 101 (1), modifiziert	atp6 (104 bp)	CTAB-Präzipitationsmethode, s. z.B. ASU L 18.00-22	ja	Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Erdnuss, geröstet, entfettet. Probe 5 ergab Amplifikationen mit hohen Ct-Werten, die als "negativ" bewertet wurden (< 1 mg/kg)

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA 16-2017 Probe 1

Gewicht Gesamtprobe 1,00 kg
 Microtracer FSS-rot lake
 Teilchengröße 75 – 300 µm
 Gewicht pro Partikel 2,0 µg
 Tracerzugabe 22,0 mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
2	4,99	52	20,8
3	4,95	66	26,7
4	5,05	60	23,8
5	5,05	69	27,3
6	5,06	64	25,3
8	4,99	60	24,0
9	4,97	70	28,2
10	5,00	65	26,0

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	63,3	Partikel
Standardabweichung	5,87	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,81	
Wahrscheinlichkeit	80	%
Wiederfindungsrate	115	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	25,3	mg/kg
Standardabweichung	2,35	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,28	%
Horwitz Standardabweichung	9,84	%
HorRat-Wert	0,94	
Wiederfindungsrate	115	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA 16-2017 Probe 3

Gewicht Gesamtprobe 1,10 kg
 Microtracer FSS-rot lake
 Teilchengröße 75 – 300 µm
 Gewicht pro Partikel 2,0 µg
 Tracerzugabe 18,6 mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	58	23,2
2	5,09	58	22,8
3	4,98	53	21,3
4	5,14	62	24,1
5	5,01	57	22,8
6	5,04	64	25,4
7	5,10	64	25,1
8	4,96	60	24,2

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	59,5	Partikel
Standardabweichung	3,43	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	1,38	
Wahrscheinlichkeit	99	%
Wiederfindungsrate	127	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	23,6	mg/kg
Standardabweichung	1,36	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,76	%
Horwitz Standardabweichung	9,94	%
HorRat-Wert	0,58	
Wiederfindungsrate	127	%

Microtracer Homogenitätstest**DLA 16-2017 Probe 4**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	38,8	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,10	107	42,0
2	4,99	89	35,7
3	5,09	92	36,1
4	5,08	109	42,9
5	5,02	94	37,5
6	4,97	97	39,0
7	5,01	108	43,1
8	4,99	91	36,5

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	98,4	Partikel
Standardabweichung	7,89	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,44	
Wahrscheinlichkeit	73	%
Wiederfindungsrate	101	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	39,1	mg/kg
Standardabweichung	3,14	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,03	%
Horwitz Standardabweichung	9,21	%
HorRat-Wert	0,87	
Wiederfindungsrate	101	%

Microtracer Homogenitätstest**DLA 16-2017 Probe 5**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	39,4	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,96	101	40,7
2	5,02	105	41,8
3	5,10	91	35,7
4	5,05	85	33,7
5	5,03	87	34,6
6	5,07	102	40,2
7	5,09	93	36,5
8	5,00	89	35,6

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	94,1	Partikel
Standardabweichung	7,83	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,55	
Wahrscheinlichkeit	71	%
Wiederfindungsrate	95	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	37,4	mg/kg
Standardabweichung	3,11	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,31	%
Horwitz Standardabweichung	9,28	%
HorRat-Wert	0,90	
Wiederfindungsrate	95	%

Microtracer Homogenitätstest**DLA 16-2017 Probe 6**

Gewicht Gesamtprobe	1,20	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	25,3	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,04	62	24,6
2	4,95	54	21,8
3	5,03	73	29,0
4	5,03	55	21,9
5	4,97	57	22,9
6	5,00	62	24,8
7	5,03	63	25,0
8	5,06	61	24,1

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	60,9	Partikel
Standardabweichung	5,78	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,84	
Wahrscheinlichkeit	80	%
Wiederfindungsrate	96	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	24,3	mg/kg
Standardabweichung	2,31	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,50	%
Horwitz Standardabweichung	9,90	%
HorRat-Wert	0,96	
Wiederfindungsrate	96	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA 16-2017
EP-Name	ALM-Verification Erdnuss: 5 Proben mit gerösteter Erdnuss in Keks-Matrix (und eine "Null-Probe")
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben 1-6: Butterkekse (gebacken ca. 160°)/ Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Butter, Gerstenmalzextrakt, Glucosesirup, Backtriebmittel Ammoniumcarbonat, Salz, Emulgator Lecithine, weitere Zusatzstoffe, Ei und geröstete Erdnüsse (außer "Null-Probe")
Probenzahl und Probenmenge	5 unterschiedliche Proben je 20 g + 1 „ Null-Probe“ 20 g
Lagerungsinformation	Proben : Raumtemperatur (Langzeit 2 - 10°C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ (optional: quantitativ): Erdnuss / Erdnussprotein Gehalte (Erdnuss): 0,50 / 2,5 / 5,0 / 12,5 / 25 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. Vorzugsweise ist die Gesamtmenge zu homogenisieren.
Ergebnisangabe	Je ein qualitatives Ergebnis (und optional quantitativ) wird für die Proben 1-6 ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	positiv / negativ (optional: mg/kg)
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Abgabetermin	spätestens 19. Januar 2018
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.

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country

[Die Adressdaten der Teilnehmer wurden für die allgemeine Veröffentlichung des Auswertebereichs nicht angegeben.]

[The address data of the participants were deleted for publication of the evaluation report.]

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. EN ISO/IEC 17034:2016; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Referenzmaterialherstellern / General requirements for the competence of reference material producers
17. ISO Guide 34:2000; General requirements for the competence of reference material producers
18. DAkkS 71 SD 1/4 016; Ermittlung und Angabe der Messunsicherheit nach Forderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 (2011) [Estimation and indication of the measurement uncertainty]
19. 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
20. 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
21. 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
 22. 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
 23. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
 24. 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)
 25. 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)
 26. 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)
 27. 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
 28. 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
 29. 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
 30. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007)
 31. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003)
 32. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006)
 33. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016)
 34. ASU §64 LFGB L 18.00-19 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Sesam (Sesamum indicum) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014)
 35. 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)
 36. 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)
 37. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013)
 38. ASU §64 LFGB L 08.00-66 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Weizen (Triticum L.) und Roggen (Secale cereale) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016)
 39. Durchführungsverordnung der Kommission/ Commission Implementing Regulation EU 828/2014; über die Anforderungen an die Bereitstellung von Informationen für Verbraucher über das Nichtvorhandensein oder das reduzierte Vorhandensein von Gluten in Lebensmitteln / on the requirements for the pro-

- vision of information to consumers on the absence or reduced presence of gluten in food
40. Taylor et al. (2014) Establishment of reference doses for residues of allergenic foods: report of the VITAL Expert Panel, Food Chem Toxicol 63: 9-17
41. Demmel et al. (2015) Kap. 4.1 Existierende Aktionswerte, in: Allergene in Lebensmitteln, Behr's Verlag, Hamburg [Chapter 4.1 Existing Action Levels, in Allergens in Foods]

DLA 16/2017 - ALM Verification: Erdnuss

Alle 13 Teilnehmer haben Ergebnisse eingereicht. Es wurden 5 Proben mit unterschiedlichen Erdnussgehalten von 0,5 bis 25 mg/kg in der Matrix Keks, sowie eine Matrix-„Nullprobe“ mit ELISA- und PCR-Methoden untersucht. Als „Action Level“ wurde ein Erdnussgehalt von 5 mg/kg gewählt. Das Dotierungsmaterial bestand aus einer Mischung gerösteter Erdnüsse aus 9 Ländern (USA, Asien, Afrika, Südamerika) und wurde in Keksteig verarbeitet (Backbedingungen 150°C, 30 min).

Bis auf einen Teilnehmer haben alle Teilnehmer die „Action Level“-Probe als „positiv“ erfasst und eine Bewertung in Form von ALM-Scores (1-5) erhalten. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für alle quantitativen Ergebnisse ermittelt (WFR-Scores). Statistische Kenndaten der Action Level Probe wurden informativ für die ELISA-Methoden angegeben. Weitere Details sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

3 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Italien, Schweiz) und ein Teilnehmer in den USA.